



# آنالیز مایعات بدن

تهیه و تدوین

دکتر نازیلا سرافراز

مسئول فنی بخش انگل شناسی آزمایشگاه مرکزی استان

اردیبهشت ۱۴۰۳

آنالیز مایعات بدن

گروه هدف: کلیه همکاران تکنسین و کاردان و کارشناس و کارشناسی ارشد رشته علوم  
آزمایشگاهی

### **هدف آموزشی:**

#### **هدف کلی :**

افزایش آگاهی و دانش پرسنل آزمایشگاهی درمانی و بهداشتی در تشخیص آزمایشگاهی انگل  
شناسی پزشکی

### **روش و نحوه اجرای آموزش:**

جهت پوشش تعداد بیشتری از آموزش گیرندگان، آموزش به شکل غیر حضوری و در قالب کتاب  
خوانی انجام گیرد

**مدت دوره آموزشی : ۱۰ ساعت**

### **ارزشیابی:**

در پایان دوره به منظور ارزیابی میزان حصول موفقیت و دستیابی به اهداف آموزشی و بررسی  
آگاهی، نگرش و عملکرد آموزش گیرندگان بصورت تست های چهار گزینه ای بعمل خواهد آمد.

## فهرست:

مقدمه

## تشکیل ادارار

آنالیز اداراری پایه ( اجزای روتین )

ارزیابی نمونه

بررسی ماکروسکوپی / فیزیکی

غربالگری شیمیائی

آزمایش رسوب ادارار

## مایع مغزنخاعی

جمع آوری نمونه و فشار باز شدن

اندیکاسیون ها و آزمایشات توصیه شده

آزمایش ماکروسکوپی

آزمایش میکروسکوپی

شمارش افتراقی سلول

آنالیز شیمیایی پروتئین ها

آزمایش میکروبیولوژی

## مایع مفصلی (سینوویال)

جمع آوری نمونه

آزمون های توصیه شده

آزمایش میکروسکوپی

آنالیز شیمیایی

مطالعات ایمنولوژیک

آزمایش میکروبیولوژیک

## مقدمه:

از آنجا که با آزمایش ادرار می توان اطلاعات چشمگیری به دست آورد، آزمایش دقیق ادرار ، منجر به شناسایی بیماری های سیستم ادراری از جنبه های عملکردی ( فیزیولوژیک ) و ساختاری ( آناتومیک ) و گاه غیرقابل پیش بینی می شود . پیشرفت یا بهبود زخم های مختلف را می توان با ایجاد کمترین ناراحتی در بیمار بررسی کرد . فرایندهای بیماری سیستمیک مانند اختلالات اندوکراین یا متابولیک را می توان از طریق دفع مقادیر غیر طبیعی متابولیت های اختصاصی در ادرار شناسایی کرد . تست های آزمایشگاهی ادرار ، همچنان نقش اساسی در طب بالینی بازی می کنند . دونوع اصلی آنالیز ادرار به طور معمول صورت می گیرد که شامل :

۱-تست آنالیز ادرار با نوار ( نوار معرف) که در آزمایشگاه های غربالگری ، مطب ها و نیز توسط خود بیمار در منزل انجام می گیرد .

۲-آنالیز ادراری پایه (روتین) که به وسیله آن بررسی میکروسکوپی رسوب ادراری نیز علاوه بر آنالیز ادراری با نوار معرف انجام می گیرد . این آزمایش ها از زمینه های مختلف آزمایشگاهی ، بخصوص شیمی و میکروسکوپی استفاده می کند. به علاوه ، تکنولوژی های جدیدی مثل ایمونوسیتوشیمی.

## تشکیل ادرار

در یک فرد طبیعی بالغ در هر دقیقه تقریباً ۱۲۰۰ میلی لیتر خون به کلیه ها وارد می شود ، که این مقدار در حدود ۲۵٪ از برون ده قلبی را تشکیل می دهد . گلومرول ها ( به طور طبیعی به تعداد حداقل یک میلیون در هر کلیه ) خون را از طریق شریانچه های آوران دریافت کرده و پلاسمای فیلتر شده از طریق گلومرول ها به فضای بومن وارد می شود . سپس ، به ترتیب از توپول ها و مجاری جمع کننده که مکان های باز جذب یا ترشح مواد مختلف و تغلیظ ادرار هستند ، عبور میکند . در نهایت حجم فیلتراسیون گلومرولی با توجه به وضعیت هیدراسیون از حدود ۱۸۰ لیتر در ساعت به حدود ۱ الی ۲ لیتر کاهش می یابد . در نهایت این ادرار در کلیه تشکیل شده و از طریق مجاری جمع کننده عبور کرده و وارد لگنچه ، حالب ، مثانه و پشابراه شده و دفع می شود .

کلیه ها در اعمال تنظیمی متعددی شرکت میکنند. فراورده های زاید متعددی از جمله محصولات نیتروژن دار حاصل از کاتابولیسم پروتئین ها ، اسید ها و بازهای الی و معدنی از طریق فیلتراسیون گلومرولی ترشح توپولی از بدن دفع می شوند . مایعات ، الکترولیت ها ( شامل سدیم ، پتاسیم ، کلسیم ، منیزیم ) و وضعیت اسید بازی در

طی هومئوستاز تنظیم میشوند . به علاوه ، کلیه ها از طریق تولید اریتروپویتین و رنین و فعال سازی ویتامین D، نقش مهمی را ایفا می کنند . هر اختلالی در این اعمال به وسیله کلیه یا بیماری های سیستمیک می تواند به صورت تغییرات شیمیایی و سیتولوژیکی در ادرار خود را نشان دهد .

### آنالیز ادراری پایه ( اجزای روتین )

آنالیز ادراری پایه ( روتین ) شامل چهار بخش است : ارزیابی نمونه ، بررسی فیزیکی و ظاهری ادرار در سطح ماکروسکوپی ، غربالگری شیمیایی و آزمایش رسوب ادراری .

### ارزیابی نمونه

قبل از انجام هر آزمایش ، نمونه ادرار باید از لحاظ مقبول بودن بررسی نمود . ملاحظات شامل برچسب صحیح ، نمونه مناسب جهت آزمایش خواسته شده ، ماده نگهدارنده مناسب ، علایم قابل رویت آلودگی و هرگونه تاخیر در انتقال نمونه که ممکن است به طور چشمگیر در جواب ها و تفسیر نتایج به مشکل بیانجامد . هر آزمایشگاهی باید دستورالعملی جهت پذیرش یا برگشت دادن نمونه ها اتخاذ کرده و به اجرا درآورد . یک برچسب نمونه مناسب باید شامل نام کامل بیمار، تاریخ و زمان جمع آوری آن نمونه باشد. اطلاعات اضافی نیز ممکن است توسط یک آزمایشگاه درخواست شود. ولی این سه مورد حداقل موارد ضروری برای هر برچسبی می باشند .

بهترین نمونه برای آزمایش ادراری رایج ، ادرار اول صبح می باشد ، که غلیظ ترین ادرار است . گاهی نمونه ادرار ، حاصل از کاتتریزاسیون ( نمونه ای که از سوند گرفته شده ) یا نمونه سوپراپوبیک ( نمونه ای که از ناحیه ی بالای شرمگاهی گرفته شده ) است . اگر یک نمونه واحد برای اندازه گیری های متعدد ارائه شود ، در صورتی که به طور صحیح جمع آوری شده باشد ، ابتدا باید مورد بررسی باکتریولوژیکی قرار گیرد . نمونه مربوط به اطفال و بیماران مبتلا به بیماران حاد کلیه که ممکن است دارای حجم اندکی از ادرار باشد ، لذا در ابتدا باید آزمایش های مورد نیاز جهت تشخیص بیماری را انجام داد . نمونه ادراری ۱۲ یا ۲۴ ساعته برای اندازه گیری های کمی ، به نمونه های تصادفی ترجیح داده می شود .

## بررسی ماکروسکوپی / فیزیکی

**خصوصیات ظاهری:** برخی از تغییرات ماکروسکوپی مهم ادرار در این قسمت شرح داده می شود. رنگ زرد ادرار تا حدود زیادی به رنگدانه اروکروم بستگی دارد که دفع آن متناسب با سرعت متابولیک است. دفع آن به هنگام تب، تیروتوکسیکوز و گرسنگی افزایش می یابد. مقادیر اندکی از اوروبیلین ها و اورواریتترین ها (رنگدانه صورتی) نیز در تشکیل رنگ ادرار مشارکت می کنند. در افراد نرمال، ادرار به رنگ زرد روشن تا تیره می تواند تولید شود و این تفاوت ها نشانگرهای خوبی از هیدراسیون و غلظت ادرار می باشند. ادرار کم رنگ که معمولا دارای وزن مخصوص پایین می باشد، پس از نوشیدن حجم زیادی از مایعات ایجاد می شود. ادرار تیره تر به دنبال کم نوشیدن مایعات دیده می شود. توجه کنید که در دیابت قندی، ادرار رنگ پریده (کمرنگ) با وزن مخصوص بالا دیده می شود. رنگ غیر طبیعی ادرار معمولا به علت صرف غذا یا مصرف دارو می باشد اما همچنین ممکن است نشانه ی یک حالت خاص بیماری نیز باشد.

**ادرار قرمز:** شایع ترین رنگ غیر طبیعی ادرار، قرمز یا قرمز قهوه ای است. در زنان احتمال آلودگی با خون قاعدگی باید در نظر گرفته شود. هماچوری {وجود سلول های قرمز خونی (RBC)}، هموگلوبینوری و میوگلوبینوری ممکن است رنگ های صورتی، قرمز یا قرمز قهوه ای ایجاد نمایند. هر سه توسط تست نواری معرف به راحتی قابل تشخیص هستند، با این حال ارزیابی بیشتر برای تمایز کامل آنها ضروری است.

در پورفیری، رنگ ادرار متغییر است. رنگ ادرار در پورفیری اریتروپوئیتیک مادرزادی و پورفیری کوتانه تاردا معمولا قرمز است، در حالی که در پورفیری نواری ناشی از سرب، رنگ ادرار معمولا طبیعی است. رنگ ادرار در پورفیری متناوب حاد کبدی ابتدا طبیعی است ولی با گذشت زمان تیره می گردد. ادرار قرمز در تست های تشخیصی همچنین می تواند با مصرف داروها و رنگ ها (رنگینه ها) در ارتباط باشد. به عنوان مثال فنل سولفون فتالین که برای بررسی عملکرد کلیه استفاده می شود در ادرار قلیایی، رنگ قرمز ایجاد می کند. بیماران دارای هموگلوبین ناپایدار ممکن است ادرار به رنگ قرمز قهوه ای تولید کنند که نشانگر حضور هموگلوبین یا بیلی روبین در ادرار نمی باشد. رنگ دانه فوق احتمالا یک دیپرول یا بیلی فوشین است. چغندر در افرادی که از نظر ژنتیکی مستعد باشند ادرار قرمز رنگ بی خطری تولید می کند.

**ادرار زرد قهوه ای یا سبز قهوه ای:** ادرار زرد قهوه ای یا سبز قهوه ای معمولا در ارتباط با رنگدانه های صفراوی به خصوص بیلی روبین دیده می شود. با تکان دادن نمونه ادراری، کف زرد رنگی ممکن است دیده شود که همین امر باعث تمایز بیلی روبین از ادرار طبیعی غلیظ و تیره با کف سفید رنگ می شود. ادرار در یرقان انسدادی حاد ممکن است سبز تیره باشد.

**ادرار نارنجی قرمز یا نارنجی قهوه ای :** اوروبیلینوژن دفع شده ، بی رنگ است اما در حضور نور و PH پایین به اوروبیلین تبدیل می شود ، که دارای رنگ زرد تیره تا نارنجی است . اوروبیلین پس از تکان دادن نمونه ، کف رنگی ایجاد نمی کند و با این روش ممکن است با ادرار نرمال اشتباه گرفته شود ؛ تست نواری معرف در این مورد تایید کننده خواهد بود .

**ادرار قهوه ای تیره یا سیاه :** ادرار اسیدی حاوی هموگلوبین با گذشت زمان با تشکیل مت هموگلوبین ، تیره رنگ خواهد شد . در رابدومیولیز و برخی از بیمارانی که L-Dopa دریافت می کنند ، ادرار به رنگ کولا در می آید . علل نادرتر ادرار به رنگ قهوه ای تیره ، شامل اسید هموژنتیسیک ( آلکاپتوری ) و ملانین است . ادرار حاوی هموژنتیسیک اسید موقعی که قلیایی باشد ، سریع تر تیره میشود .

**ادرار آبی ، سبز یا سبز - آبی :** تغییر رنگ ادرار به رنگ آبی ، سبز یا سبز - آبی به علت رنگ ( رنگینه ) های غذایی ، افزودنی های غذایی ، برخی از غذاها و برخی از داروها مانند آمی تریپتیلین ، دوکسوروبیسین ، سایمتیدین ، فلوتامید ، ایندومتاسین ، متاکاربامول ، میتوکسانترون ، فنیل بوتازون ، فنرگان ، پروپوفول ، پرومتازین ، تریامترن ، ریفامپین ( ریفامپسین ) و سیلدنافیل بسیار رایج می باشد . عوامل نادر ایجاد کننده ادرار آبی یا سبز شامل عفونت پسودوموناسی و برخی از بیماری های ارثی مانند بیماری هارت ناپ ، ایندیکانمی ، ایندیکانوری و هیپرکلسمی خانوادگی می باشد . در بیماران سرطانی که تحت شیمی درمانی قرار گرفته اند ، متیلن بلوای که در چندین داروی مرتبط با سوزش ادرار مانند urised ، trac tab ، Prosed Ds ، ur oblue وجود دارد ، ممکن است باعث تغییر رنگ ادرار به سبز یا سبز مایل به آبی گردد .

**ادرار بنفش :** ادرار با رنگ بنفش روشن در کاتتریزاسیون ادراری طولانی مدت همراه با عفونت مجاری ادراری ، گزارش شده است .

**شفافیت:** ادرار به طور معمول شفاف است ، وجود ذرات در نمونه ای که تکان داده نشده است نیازمند بررسی بیشتر است . برای ادرار کدر ( ابری ) روش های تشخیص افتراقی متعدد وجود دارد که شامل چندین روش غیر پاتولوژیک نیز می باشد . کدورت ادرار ممکن است در نتیجه رسوب کریستال ها یا املاح غیر پاتولوژیک تحت نام کلی مواد آمورف ( بدون شکل ) باشد . فسفات ، اورات آمونیوم و کربنات می توانند در ادرار قلیایی رسوب کنند ؛ این ترکیبات با افزودن اسید استیک ، دوباره حل می شوند . اسید اوریک و اورات یک کدورت سفید ، صورتی یا نارنجی رنگی در ادرار اسیدی ایجاد می کنند و با حرارت ۶۰ درجه دوباره حل می شوند .

ادرار کدر ممکن است مربوط به حضور عناصر سلولی مختلفی باشد . لکوسیت ها ممکن است کدورت سفید رنگی مشابه فسفات ها ایجاد کنند که این کدورت بعد از اضافه کردن اسید همچنان باقی می ماند . به طور مشابه رشد باکتری ها کدورت یکنواختی ایجاد می کند که با اسیدی کردن یا فیلتراسیون برطرف نشده و در این موارد



پیشنهاد می شود که ارزیابی کدورت سنجی ( توربیدیمتریک ) یا استفاده از توربیدومتر دارای پرتوهای دوگانه که در غربالگری عفونت ادرار مفید است ، استفاده شود . کدورت ممکن است به علت RBC ها ، سلول های اپی تلیال ، اسپرماتوزوا یا مایع پروستاتی باشد . مایع پروستاتی به طور طبیعی حاوی تعداد کمی لکوسیت و عناصر دیگر است .

موکوس ناشی از قسمت تحتانی دستگاه ادراری یا تناسلی ، لخته های خون ، ترشحات قاعدگی و مواد دیگر از جمله قطعات بافتی ، سنگ های کوچک ، تجمعات چرکی و مواد مدفوعی ، از علل متفرقه ادرار کدر هستند . ماده مدفوع در ادرار می تواند به علت وجود یک فیستول بین کولون یا رکتوم و مثانه باشد . آلودگی با پودرها یا آنتی سبتیک هایی که با آب کدر می شوند ( فنل ) از علل دیگر ادرار کدر می باشند .

**کیلوری :** وضعیت نادری است که در آن ادرار حاوی لنف می باشد . کیلوری در انسداد جریان لنف و پارگی عروق لنفی درون لگنچه کلیه ، حالب ، مثانه و یا پشابه دیده می شود . با این حال عفونت انگلی با ووشریا بانکروفتی ( فیلاریازیس ) متداول ترین علت است . بزرگی غدد لنفاوی شکمی و تومورها نیز با کیلوری مرتبط می باشند . با این حال حتی با وجود فیلاریازیس این وضعیت نادر می باشد .

ظاهر ادرار بسته به مقدار لنف موجود ، از شفاف تا نیمه کدر تا شیری متغیر است . ممکن است لخته هایی تشکیل شود و اگر لنف به مقدار کافی وجود داشته باشد ، لایه ای از شیلو میکرون ها در سطح ادرار و فیبرین و سلول ها در زیر آن قرار می گیرند . شیلو میکرون ها ممکن است در زیر میکروسکوپ قابل تشخیص نباشند مگر اینکه به صورت میکرو گلبول هایی به هم بپوندند . این ماده چرب را می توان با استفاده از یک حجم مساوی از اتر یا کلروفرم از ادرار خارج کرد . برای تشخیص ، فسفات ها با این روش پاک نخواهد شد . کیلوری کاذب در پی درمان عفونت های کاندیدایی با کرم های واژینال دارای پارافین اتفاق می افتد .

**لیپیدوری :** گلبول های چربی اغلب همراه با سندروم نفروتیک در ادرار ظاهر می شوند . این گلبول ها اغلب از چربی های خنثی ( تری گلیسیرید ها ) و کلسترول تشکیل شده اند . لیپیدوری همچنین در بیمارانی که به دنبال ضربه ، دچار شکستگی های استخوان های بلند اصلی یا لگن شده اند رویت میگردد. در این موارد، احتمالاً منشا چربی، مغز استخوان است. باید به خاطر سپرد که علاوه بر چربی های اندوژن، آلوده کننده های روغنی همچون پارافین نیز در سطح ادرار شناور باشند. احتمال دارد آزمایش میکروسکوپی جهت طبقه بندی مواد چربی تحت عناوینی چون قطرات oil red o مثبت یا استر های کلسترول دارای پلاریزاسیون، نیاز باشد.

**بو:** ادرار به طور معمول، یک بوی ضعیف آروماتیک با منشا ناشناخته دارد. نمونه های با رشد باکتریایی بیش از حد به علت بوی تعفن آمونیاکی قابل تشخیص هستند. بعلاوه مارچوبه یا تیمول، بوهای مشخصی در ادرار ایجاد میکنند.

بوهای مشخصه ادرار که با اختلالات اسید های آمینه مرتبط هستند شامل موارد زیر است.

سیستینوری	تخم مرغ فاسد
هاوکینسینوری	استخر
کتواسیدوزیس	شیرینی _ میوه
ایزووالریک اسیدمی و گلوتاریک اسیدمی	عرق پا
بیماری ادراری شربت افرا (MSUD)	شربت افرا
سو جذب متیونین	کلم، رازک
فنیل کتونوری	موش، کپک
تری متیل آمینوری	ماهی گندیده
تیزوزینمی	ماده فاسد شده

فقدان بو در ادرار بیماران مبتلا به نارسایی حاد کلیوی، بیشتر نکرز حاد توبولی ATN را پیشنهاد می کند تا نارسایی های پیش کلیوی.

**حجم ادرار:** در شرایط معمولی، مهم ترین عامل تعیین کننده حجم ادرار میزان آب مصرفی است .

یک شخص بالغ در هر روز به طور میانگین ۶۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی لیتر ادرار تولید می کند و ادرار شبانه بیش از ۴۰۰ میلی لیتر نیست . در بارداری ، این تغییرات روزانه معمولی ، ممکن است معکوس شود . کودکان جوان در مقایسه با بالغین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ، ۳ تا ۴ برابر ادرار بیشتری دفع می کند. اندازه گیری خروجی ادرار در فواصل زمانی مختلف در تشخیص بالینی بیماری ها ارزشمند است .

**افزایش حجم ادرار:** تولید بیشتر از ۲۰۰۰ میلی لیتر ادرار در ۲۴ ساعت پلی اوری نامیده می شود. ناکچوری، دفع ادراری بیشتر از ۵۰۰ میلی لیتر در شب با وزن مخصوص کمتر ۱/۰۱۸ است. عموماً هر چه حجم ادرار بیشتر شود، وزن مخصوص کاهش می یابد. نوشیدن زیاد آب (پرنوشی) و مصرف داروهای با اثر دیورتیک، مانند کافئین، الکل، تیازیدها و دیگر دیورتیکها با پلی اوری می شوند. محلولهای داخل وریدی، خروجی ادرار را افزایش می دهند. مصرف نمک زیاد و رژیمهای غذایی با پروتئین زیاد به آب بیشتری برای دفع نیاز دارند. ناکچوری در افراد مسن با شیوع ۸۰ تا ۹۰ درصد تا سن ۸۰ سالگی در هر دو جنس رایج است.

وضعیت های پاتولوژیکی که منجر به دفع ادرار بیش از حد و کاهش مایع کلیوی می گردند، به سه دسته تقسیم می گردند:

**نقص در تنظیم هورمونی هموستاز حجمی:** دیابت بی مزه یا به علت کمبود هورمون آنتی دیورتیک (نوع مرکزی / هیپوفیزی) و یا در نتیجه عدم پاسخ دهی کلیوی (نفروتیک) به این هورمون میتواند ایجاد شود. در این شرایط، تشنگی و مصرف آب بیش از حد رخ می دهد که با پلی اوری و ناکچوری مشخص می شود. در این بیماری ممکن است تا ۱۵ لیتر ادرار در روز تولید گردد.

**نقص در جذب کلیوی نمک / آب:** مصرف عوامل دیورتیک یا اختلالات توبول های کلیوی منجر به از دست رفتن سدیم یا اختلال در مکانیسم جریان متقابل میشود. در نارسایی کلیوی مزمن پیشرونده، عملکرد بافت کلیوی کاهش یافته و به تدریج توانایی تغلیظ ادرار از دست می رود و این امر موجب افزایش در حجم ادرار، به ازای هر نفرون باقیمانده جهت دفع روزانه آب کلیه و مواد زاید شده و سرانجام ادرار با اولترافیلتره پلاسما، ایزواسموتیک می شود.

**دیورزاسموتیک:** در دیابت ملیتوس با هیپرگلیسمی، مقدار زیادی گلوکز دفع می گردد که منجر به دیورز اسموتیک می شود.

**کاهش حجم ادرار:** اولیگوری، دفع مقادیر کمتر از ۵۰۰ میلی لیتر ادرار در ۲۴ ساعت است و آنوری، قطع نسبتاً کامل تشکیل ادرار است. محرومیت از آب موجب کاهش حجم ادرار قبل از ظاهر شدن علائم دهیدراتاسیون می شود. اولیگوری می تواند ناگهانی باشد مانند نارسایی حاد کلیه و یا در ادامه یک بیماری کلیوی مزمن و پیشرونده، رویت گردد. در هر دو حالت، احتباس محصولات نیتروژن دارزاید (ازوتمی) ممکن است اتفاق بیافتد.

## علل نارسایی حاد کلیوی به طور کلاسیک به صورت زیر طبقه بندی می شود :

**پیش کلیوی :** از دست رفتن حجم داخل عروقی ممکن است ناشی از خونریزی و یا ناشی از دهیدراتاسیون مرتبط با اسهال طولانی ، استفراغ ، تعریق زیاد یا سوختگی شدید باشد. جابجایی مایع داخل عروقی به فضای خارج سلولی (**فضای سوم**) نیز باعث کاهش حجم داخل عروقی می شود. به علاوه حالاتی مثل نارسایی احتقانی قلب ، سپسیس ، آنافیلاکسی یا انسداد آمبولیک شریان کلیوی نیز ممکن است باعث کاهش جریان خون کلیوی نیز شوند .

**پس کلیوی :** هیدرونفروز دو طرفه که در نتیجه انسداد شدید یا طولانی مدت دستگاه ادرار رخ می دهد ممکن است سبب افت شدید جریان ادرار و حتی آنوری شود . این حالت می تواند همراه با هیپرپلازی و کارسینوم پروستات ایجاد گردد . انسداد دو طرفه حالب به علت سنگ ، لخته و بافت های ریزش یافته و همچنین انسداد پشابه به سبب تنگی ها یا دریچه ها ، علل دیگر آن هستند . آنوری مرتبط با درمان با سولفونامید و دهیدراتاسیون ، به دلیل انسداد ناشی از رسوب کریستال ها در توبول های کلیوی می باشد وقتی که ادرار اسیدی باشد .

**بیماری پارانشیم کلیوی:** این مورد باید بعد از رد کردن علل پیش کلیوی و پس کلیوی اولیگوری مورد توجه قرار بگیرد . فهرست این حالات گسترده است و شامل اختلالات عروقی متعدد ، گلومرولونفریت ، نفریت بینابینی و نکروز حاد توبولی ATN می باشد . یکی از علل معمول نکروز حاد توبولی ، ایسکمی ناشی از نارسایی قلبی یا هیپوتانسیون است . عوامل نفروتوکسیک متعددی مانند برخی از آنتی بیوتیک ها ، جیوه ، کادمیوم ، تتراکلرید کربن و گلیسرول ممکن است باعث ایجاد ATN شوند . هموگلوبینوری ناشی از همولیزو میوگلوبینوری ایجاد شده در آسیب عضلانی و همچنین مقادیر بالای پروتئین ها و یا کریستال های داخل توبولی ، علل دیگر ایجاد کننده ATN هستند.

نارسایی مزمن کلیه و از دست رفتن غیرقابل برگشت و پیشرونده عملکرد کلیوی ، در نتیجه بیماری های متعدد مثل نفروواسکلروز مرتبط با دیابت و افزایش فشار خون ، گلومرولونفریت مزمن ، بیماری پلی کیستیک کلیه و اختلالات اورولوژیک دیگر ایجاد می شود . وزن مخصوص ادرار پایین است و پروتئینوری ، کست و سلول های کلیوی ممکن است دیده شوند . پیلونفریت یا نفریت بینابینی اغلب موجب اختلال عملکرد توبولار همراه با تکررودفع زودرس ادرار می شود ولی با گذشت زمان ، اولیگوری ناشی از نارسایی مزمن کلیه ایجاد می شود .

**وزن مخصوص و اسمولالیت:** حجم ادرار دفع شده و غلظت مواد محلول آن ، توسط کلیه برای حفظ هموستاز مایعات و الکترولیت های بدن تغییر می یابد. اندازه گیری وزن مخصوص و اسمولالیت ، منعکس کننده غلظت یا رقت نسبی نمونه ادراری است و نهایتاً توانایی کلیه ها را در غلیظ و رقیق کردن ادرار ارزیابی می نماید . هریک از این دو مورد همراه با رنگ ادرار، شاخص های قابل اطمینانی برای وضعیت دهیدراتاسیون هستند .

وزن مخصوص یک نمونه، نشان دهنده نسبت اجزاء جامد حل شده به حجم کل نمونه است یا به عبارتی منعکس کننده چگالی نمونه است. از سوی دیگر، اسمولالیت، تعداد ذرات ماده حل شده به ازای هر واحد محلول است. ذرات بزرگتر مانند پروتئین ها و قند ها، وزن مخصوص را بیشتر از سایر الکترولیت های کوچکتر بالا می برند. در موارد بحرانی، اندازه گیری اسمولالیت ادرار ( و پلاسما ) نسبت به اندازه گیری وزن مخصوص ارجحیت دارد.

**وزن مخصوص:** اوره (۲۰٪)، کلرید سدیم (۲۵٪)، سولفات و فسفات تشکیل دهنده قسمت اعظم وزن مخصوص ادرار طبیعی هستند. بالغین طبیعی با مصرف کافی مایعات، ادراری با وزن مخصوص ۱/۰۱۶ تا ۱/۰۲۲ در طی ۲۴ ساعت تولید می نمایند؛ با این وجود، کلیه ها توانایی تولید ادراری با وزن مخصوص ۱/۰۰۳ تا ۱/۰۳۵ را هم دارند. اگر یک نمونه تصادفی ادرار، وزن مخصوص ۱/۰۲۳ یا بالاتر داشته باشد، توانایی تغلیظ ادرار را طبیعی در نظر می گیرند. حداقل وزن مخصوص پس از دریافت یک حجم استاندارد آب باید پایین تر از ۱/۰۰۷ باشد. ادرار با وزن مخصوص پایین (کمتر از ۱/۰۰۷)، هیپوستنوریک نامیده میشود. در دیابت بی مزه فقدان توانایی تغلیظ منجر به تولید حجم بالای ادرار با وزن مخصوص کم تا حدود ۱/۰۰۱ میگردد (وزن مخصوص آب ۱ است). دفع طولانی مدت ادرار با وزن مخصوص پایین میتواند در اختلالات کلیوی مختلفی شامل پیلو نفریت و گلومرولونفریت نیز دیده شود. وزن مخصوص بالاتر از حد طبیعی می تواند متعاقب از دست رفتن مقادیر زیاد آب /دهیدراتاسیون، عدم کفایت آدرنال، بیماری کبدی یا نارسایی احتقانی قلب مشاهده شود. زمانیکه وزن مخصوص بین چندین نمونه از یک بیمار بدون تغییر یا با تغییر ناچیزی ثبت شود و وزن مخصوص در حدود ۱/۰۱۰ ثابت باشد؛ این حالت را ایزوستنوری میگویند. این یافته، نشان دهنده آسیب کلیوی شدید همراه با اختلال هم در توانایی تغلیظ و هم در رقیق سازی می باشد.

### روش های متعددی برای اندازه گیری وزن مخصوص در دسترس هستند:

نوار معرف، رفراکتومتر، یورینومتر، روش قطره افتان.

**نوار معرف:** این روش یک شیوه غیر مستقیم برای اندازه گیری وزن مخصوص است. ناحیه معرف دارای سه جز اصلی است. پلی الکترولیت، ماده معرف و بافر. اساس این روش بر مبنای تغییر  $pka$  پلی الکترولیت بعد از تماس با غلظت یونی ادرار است. وقتی که غلظت یونی بالا باشد،  $pka$  ثابت تفکیک اسید کاهش می یابد؛ همانطور که  $ph$  کاهش می یابد. پس از آن، ماده معرف به صورت وابسته به غلظت یونی، تغییر رنگ داده و این تغییر رنگ به صورت مقادیر وزن مخصوص ترجمه می شود. نتایجی که توسط این روش به دست می آید باید با احتیاط مورد استفاده قرار گیرند زیرا تحت تاثیر مقادیر بالای گلوکز، پروتئین یا ماده حاجب رادیوگرافی (عامل کنتراست) قرار نمی گیرند. همه ی این موارد تمایل به افزایش وزن مخصوص خوانده شده توسط رفراکتومتر و یورینومتر دارند. سنجش  $ph$

ادرار با نوار معرف ، برای جلوگیری از لبریز شدن ادرار روی نواحی معرف مجاور که باعث خواندن غلط نتایج می شوند، باید با دقت صورت گیرد.

**رفراکتومتر:** این روش هم یک شیوه غیرمستقیم است . اندکس انکساری محلول در ارتباط با میزان ماده جامد محلول است . رفراکتومتر دستی آنالوگ نوری بالینی ، وسیله ای است که تنها به چند قطره ادرار نیاز دارد (برای استفاده در یورینومتر ، ۱۵ میلی لیتر ادرار مورد نیاز است ). گرچه رفراکتومتر ، شاخص انکساری یک محلول را مشخص می کند ولی درجه بندی استفاده شده فقط برای ادرار اعتبار دارد و برای اندازه گیری وزن مخصوص محلول های نمکی یا قندی نمی توان آن را بکار برد. برای کالیبره کردن اگر از محلول های نمکی استفاده می کنید ، باید این موضوع را در نظر بگیرید . نمودارها یا جداول مخصوصی برای تبدیل اعداد مقیاس شاخص های انکساری به غلظت در محلول های آبی مورد نیاز است . میزان وزن مخصوص خوانده شده در رفراکتومتر معمولا اندکی ( حدود ۰/۰۰۲ ) کمتر از یورینومتر برای همان نمونه ادرار است . امروزه رفراکتومترهای دیجیتال برای استفاده در کلینیک ها در دسترس می باشند .

**روش کار:** مدل دستی انطباق یافته با دماهای ۶۰ تا ۱۰۰ درجه فارنهایت ( ۱۵ تا ۳۸ درجه سانتی گراد) به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد . این مدل با دمای بالای ۱۵۰ درجه فارنهایت (۶۶ °) و با غوطه ور کردن قطعه چشمی و حلقه فوکوسینگ در آب آسیب می بیند و هنگامی که در آب مقطر برده می شود باید عدد صفرخوانده شود. در صورت لزوم می توان خوانش صفر را مجددا تنظیم کرد که این کار را با برداشتن پوشش روی پیچ ، تنظیم و چرخاندن آن با پیچ گوشتی کوچک و گذاشتن مجدد در پوش آن انجام می دهند . دستگاه باید هر روز کالیبره شود. می توان از محلول سولفات مس به عنوان تنظیم کننده جهت کنترل مضاعف در سطوح بالای وزن مخصوص استفاده کرد. برای مشخص کردن یک وزن مخصوص ادرار، سطح صفحه پوشاننده و منشور را با یک قطره آب مقطر و یک پارچه مرطوب تمیز نموده و بگذارید تا خشک شود. صفحه پوشاننده را ببندید . درحالتی که دست خود را به حالت افقی نگه داشته اید ، یک قطره از ادرار در حفره فرو رفته زیر صفحه پوشاننده قرار دهید . حرکت مویبندی موجب حرکت قطره ادرار روی سطح منشور می شود . دستگاه را با زاویه مناسبی در جلوی منبع قرار دهید که بهترین کنتراست را ایجاد نماید . قطعه چشمی را بر روی درجه بندی مناسب بچرخانید و درجه وزن مخصوص که بین کنتراست تاریکی و روشنایی است را به طور مستقیم بخوانید . تمامی مراحل بالا باید با ریختن دومین قطره از همان نمونه ادراری تکرار شود.

**یورینومتر:** یورینومتر یک هیدرومتر است که برای اندازه گیری مستقیم وزن ادرار در دمای اتاق سازگاری یافته است. این وسیله باید هرروز با اندازه گیری وزن مخصوص آب مقطر کنترل شود . در صورتی که یورینومتر نتواند ۱/۰۰۰ را بخواند باید یک تصحیح مناسبی برای تمامی اعدادی که توسط آن یورینومتر خوانده شده است ، در نظر

گرفته شود. برای کنترل بیشتر صحت اندازه گیری یک یورینومتر می توان مقادیر به دست آمده از آن را با مقادیر مربوط به محلول هایی با وزن مخصوص مشخص ، چک نمود . یک یورینومتر خودکار با استفاده از سنسور خازنی تعریف شده است .

قبل از خواندن درجه ، باید دمای نمونه ادرار با اتاق هم دما شود زیرا دما بر وزن مخصوص تاثیر دارد و یا اینکه به ازای هر  $3^{\circ}$  سانتی گراد بالا یا پایین تر از دمای کالیبره کردن دستگاه ، عدد خوانده شده به میزان  $0/001$  تصحیح شود. اصطلاحات ، همچنین باید در مواردی که پروتئین یا گلوکز حضور دارند انجام گیرد ؛ به ازای هر  $1$  گرم در دسی لیتر از پروتئین ، مقدار  $0/003$  و به ازای هر  $1$  گرم در دسی لیتر گلوکز ، به مقدار  $0/004$  باید از عدد خوانده شده کسر شود .

**روش کار :** ظرف یورینومتر تا سه چهارم حجمش با ادرار پر می شود (حداقل حجم مورد نیاز  $15$  میلی لیتر است) . بعد با حرکت چرخشی ، یورینومتر را درون ظرف قرار داده و از آزادانه معلق بودن آن اطمینان حاصل کنید ( هنگام خواندن یورینومتر از عدم برخورد آن به اطراف یا ته ستون مطمئن شوید . از حباب های سطحی اجتناب کنید چون باعث پنهان نمودن سطح هلالی می شوند). قسمت پایین سطح هلالی را خوانش کنید .

**روش قطره افتان :** این روش یک شیوه مستقیم اندازه گیری وزن مخصوص است . این روش صحت بیشتری از رفاکتومتر داشته و دقیق تر از یورینومتر است . در این روش از یک ستون مخصوص پر از روغن غیرقابل مخلوط با آب استفاده می شود . یک قطره اندازه گیری شده ادرار را به درون ستون می اندازیم . هنگامی که این قطره می افتد با  $2$  پرتو نور مواجه می شود ؛ هنگام شکست اولین پرتو نور، تایمر روشن می شود و شکست دومین پرتو ، آن را خاموش می کند . زمان افتادن به صورت الکترونیکی اندازه گیری شده و به صورت وزن مخصوص بیان می شود . این روش با وجود دقت و مصرف حجم کمی از نمونه ، به صورت گسترده مورد استفاده قرار نمی گیرد.

**پروتئین در ادرار:** به طور طبیعی ، به صورت روزانه تا  $150$  میلی گرم پروتئین در ادرار دفع می شود که بسته به حجم ادرار ، میانگین پروتئین آن در حدود  $2$  تا  $10$  میلی گرم در دسی لیتر متغییر است . اندرسون بیش از  $200$  نوع پروتئین ادراری مشتق شده از پلاسما و مجاری ادراری را معرفی کرده است . در حدود یک سوم آنها آلبومین است و در بقیه موارد پروتئین های پلاسما ، شامل گلوبولین های کوچک مانند آلفا و بتا و گاما گلوبولین ها هستند . پروتئین های پلاسما زا وزن مولکولی کمتر از  $50000$  تا  $60000$  از غشای پایه گلومرول ها عبور کرده و دوباره توسط سلول های توبول پروکسیمال بازجذب می شوند. آلبومین با وزن مولکولی  $69000$  به میزان کمی فیلتره میشود . پروتئین اتصالی به رتینول ، بتا  $2$  میکروآلبومین، زنجیره سبک ایمونوگلوبولین ها و لیزوزیم به مقدار کمی دفع می شوند. گلیکوپروتئین تام هورسفال ( اوروموکوئید ) که توسط سلول های توبول دیستال و سلول های قوس صعودی هنله ترشح میشود ، یک سوم یا حتی بیشتر کل پروتئین از دست رفته را تشکیل می دهد .

ایمونوگلوبولین A (IgA) موجود در ترشحات مجرای ادراری، آنزیم‌ها و پروتئین‌های ناشی از سلول‌های اپی‌تلیالی توبولی، سلول‌های ریخته شده و لکوسیت‌ها هم بخشی از پروتئین ادرار را تشکیل می‌دهند. مقادیر غیر طبیعی پروتئین در ادرار شاخص مهمی برای بیماری کلیوی محسوب می‌شود زیرا حداکثر میزان بازجذب پروتئین بسیار پایین بوده و فیلتره شدن مقادیر زیادی پروتئین مکانیزم بازجذب آن را به سرعت اشباع می‌کند. روش‌های غربالگری برای افتراق دفع طبیعی و غیر طبیعی پروتئین به طور معمول به کار برده می‌شوند بنابراین نباید در این روش‌ها در افراد بالغ طبیعی با سرعت نرمال جریان ادراری، مقادیر کمتر از ۸ تا ۱۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر پیدا شود. روش نوار معرف به آلبومین حساس است؛ در حالیکه روش‌های رسوب اسیدی، همه پروتئین‌ها را جستجو می‌کنند و بنابراین حضور گلوبولین‌ها را همانند آلبومین نشان خواهند داد. این نکته باید ذکر شود که یک نمونه تصادفی ادراری بسیار رقیق ممکن است حجم پروتئین را به طور کاذب پایین نشان دهد. به علت اینکه یک نتیجه مثبت برای پروتئین با اهمیت است، این حالت باید توسط یک روش ثانویه و نمونه‌های تکرار شده اثبات شود. بسته به تاریخچه و آزمایش، اندازه‌گیری‌های تایید کننده برای پروتئین افزایش یافته، باید با ارزیابی عملکرد کلیوی، آزمایش رسوب ادراری و کشت ادرار همراه باشد. پروتئینوری عملکردی معمولاً کمتر از ۰/۵ گرم در روز است و در مواقعی که دهیدراتاسیون در میزان پروتئین اندازه‌گیری شده در ادرار تاثیر گذاشته است دیده می‌شود. در هنگام ورزش شدید و سنگین، در ادرار پروتئین‌هایی با وزن مولکولی پائین و بالا دیده می‌شوند و همچنین بسیاری از کست‌ها هم هیالین و هم گرانولار ممکن است مشاهده شود. پروتئینوری عملکردی را همچنین می‌توان در نارسایی احتقانی قلب، مواجهه با سرما و تب نیز مشاهده کرد. به هر حال پروتئینوری با درمان مناسب یا استراحت پس از ۲ تا ۳ روز، برطرف می‌شود. پروتئینوری متناوب گذرا می‌تواند گاهی در بیماران با یک تاریخچه طبیعی، یافته‌های آزمایشگاهی فیزیکی نرمال و عملکرد طبیعی کلیه، دیده شود. به جز پروتئینوری در این بیماران، آنالیز ادراری نیز طبیعی است. این بیماران برای هر ۶ ماه به منظور ارزیابی فشار خون یا اختلالات دیگر بررسی می‌شوند و در مجموع پروگنوز مطلوبی دارند. پروتئینوری گذرا ممکن است در حاملگی طبیعی هم رخ دهد ولی هر پروتئینوری در حاملگی یک یافته مهم است و نیاز به ارزیابی دارد. پروتئینوری پایدار با دفع ۲-۱ گرم در روز در یک فرد بدون علامت، یا زمانی که همراه با هماچوری است، دارای پروگنوز بدتری نسبت به پروتئینوری متناوب (گذرا) یا پروتئینوری وضعیتی است.

**پروتئینوری وضعیتی:** پروتئینوری وضعیتی (اورتوستاتیک) در ۳ تا ۵ درصد از جوانان به ظاهر سالم رخ می‌دهد. در چنین موقعیتی، پروتئینوری در طول روز دیده می‌شود ولی در شب زمانی که فرد در حال دراز کشیده است وجود ندارد. پروتئینوری پایدار ممکن است در بعضی از این موارد، با گذشت زمان ایجاد شود و بیوپسی کلیه، اختلالات گلوبولینی یا انسداد ورید کلیه چپ را در تعداد کمی از این افراد نشان می‌دهد. پروتئینوری گاهی بسته به یک وضعیت لوردوتیک تشدید یافته ظاهر می‌شود و ممکن است نتیجه احتقان یا ایسکمی کلیه باشد. دفع



روزانه پروتئین به ندرت از یک گرم تجاوز کرده و در اکثر موارد علامت دیگری که نشانه بیماری کلیوی باشد بروز پیدا نمی کند. برای ارزیابی احتمال پروتئینوری وضعیتی به بیمار گفته شده که قبل از خواب شبانه، مثانه خود را تخلیه نماید. به محض بیدار شدن در صبح باید ادرار کرده و نمونه را جمع آوری کند. با گذشت ۲ ساعت از زمان بیدار شدن و ایستادن و راه رفتن، مجددا ادرار کرده و این نمونه را هم جمع آوری کند. این دو نمونه از نظر وجود پروتئین آزمایش می شوند. اگر نمونه ابتدایی منفی و نمونه دوم مثبت بود، بیمار احتمالا مبتلا به پروتئینوری وضعیتی است. آزمایش مکرر بیمار برای ارزیابی مجدد این وضعیت ضروری است.

**پروتئینوری در سالمندان:** شیوع پروتئینوری قابل توجه در آنالیز ادرار سالمندان، در مقایسه با بیماران جوان تر که سن زیر ۶۰ سال دارند، به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافته است. تخمین زده می شود که بروز گلومرولونفریت در سالمندان ۳ تا ۴ برابر سایرین بوده و در حدود یک چهارم این افراد دارای اختلالی مشابه بیماری کلیوی با حداقل تغییرات (MCD) می باشند که ممکن است به درمان با استروئید پاسخ دهند. بدخیمی های پنهان هم در این گروه جمعیتی ممکن است سبب گلومرولونفریت غشایی و در نتیجه پروتئینوری شود.

**سنجش کمی پروتئینوری:** اطلاعات سودمند بیشتری برای تشخیص بیماری کلیوی و برای پیگیری پاسخ به درمان، به وسیله آنالیز کمی مقدار پروتئین دفع شده در طی یک دوره ۲۴ ساعته بدست می آید. این مسئله باید مورد توجه قرار بگیرد که صحت اندازه گیری هر نوع آزمایش کمی ادرار به کفایت و انجام صحیح جمع آوری ادرار بستگی دارد. نتایج اشتباه اغلب مربوط به اشکالات مرتبط با نحوه جمع آوری نمونه است. برای افتراق پروتئینوری متناوب از پایدار گاهی نیاز به اندازه گیری های مکرر است. در صورتی که جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته مقدور نباشد؛ برای تعیین نسبت آلبومین ادرار (ACR) یا نسبت پروتئین کل ادرار به کراتینین (PCR)، نمونه تصادفی ادرار در هر زمان به عنوان یک نمونه جایگزین قابل قبول توسط گروه کاری آزمایشگاهی برنامه آموزش ملی بیماری های کلیه و دیگر مولفان، توصیه می شود. برای تعیین نسبت پروتئین به کراتینین، پروتئین ادرار (برحسب mg/dl) که از روی نوار معرف خوانده شده بر کراتینین ادرار (برحسب mg/dl) تقسیم می شود. این نسبت به طور نرمال در بالغین و کودکان بالای دو سال، کمتر از ۰/۲ گرم پروتئین به ازاء هر گرم کراتینین و در کودکان زیر ۲ سال، کمتر از ۰/۵ گرم پروتئین به ازاء هر گرم کراتینین می باشد از آنجایی که سرعت دفع کراتینین متناسب با سن، جنس و وزن بیماران می باشد و نیز می تواند از روی کراتینین سرم پیش بینی گردد، سرعت تخمینی دفع پروتئین ۲۴ ساعته می تواند از روی ضرب کردن نسبت پروتئین به کراتینین در سرعت دفع کراتینین بدست آید. نتیجه معمولا برای مساحت سطح بدن تنظیم شده و به عنوان دفع پروتئین ۲۴ ساعته به صورت گرم بر روز (g/day) به ازای هر ۱/۷۳ متر مربع مساحت سطح بدن بیان می گردد. نسبت آلبومین به کراتینین توسط برخی از مولفان به عنوان جایگزینی برای نسبت پروتئین به کراتینین در نمونه های ادراری

تصادفی توصیه شده است. نسبت آلبومین به کراتینین بالای ۳۰ میلی گرم آلبومین به ازاء هر گرم کراتینین، غیر طبیعی در نظر گرفته می شود.

**پروتئینوری شدید (< ۴ گرم در روز):** از دست رفتن شدید پروتئین مشخصا همراه با سندرم نفروتیک دیده می شود. به صورت کلاسیک، سطح پایین آلبومین سرم، ادم عمومی و افزایش لیپید های سرم (کلسترول، تری گلیسیرید و فسفاتیدها) این اختلال را همراهی می نمایند. لیپوپروتئین های LDL با چگالی کم و VLDL با چگالی خیلی کم در سرم افزایش نشان داده در حالی که HDL لیپو پروتئینی با چگالی زیاد که مولکول کوچکتری است، در ادرار دیده می شود. پیشنهاد شده که دفع لیپوپروتئین لیپاز در ادرار به بالا رفتن سطوح چربی در سرم کمک می کند. گاماگلوبولین هم در ادرار دفع شده که این مسئله ممکن است در مستعد بودن فرد به ابتلا به عفونت های باکتریال که به صورت معمول در بیماران نفروتیک دیده می شوند، نقش داشته باشد. همزمان با دفع لیپید در ادرار، کست های گرانولار، کست های چربی و سلول های اپی تلیالی توبول کلیوی که با چربی پر شده اند (اجسام چربی بیضی شکل) در رسوب ادراری دیده می شوند. قطرات استر کلسترول هم با استفاده از پلاریزاسیون مشخص هستند.

سندرم نفروتیک اساسا همراه با آسیب / اختلال عملکرد گلومرولی است که به دنبال:

(۱) بیماری های کلیوی اولیه که شامل موارد ایدیوپاتیک می شوند

(۲) بیماری های سیستمیک همراه با درگیری کلیه رخ می دهد. علل گذرا یا علل مکانیکی آن شامل نارسایی شدید احتقانی قلب، پریکاردیت فشارنده و ترومبوز ورید کلیه می باشند. مورد آخر می تواند یکی از عواقب سندرم نفروتیک باشد زیرا سندرم نفروتیک سبب از دست رفتن فاکتورهای ضد انعقادی در ادرار و افزایش فیبرینوژن سرم می شود. در کودکان یک علت معمول سندرم نفروتیک، بیماری کلیوی با حداقل تغییرات است (همچنین به عنوان اختلال بدون ضایعه هم شناخته می شود) که یک اختلال گلومرولی پاسخ دهنده به استروئید است. انواع حاد، سریعا پیش رونده و مزمن گلومرولونفریت علل پروتئینوری شدید بوده و ممکن است با اریتروسیت ها یا کست های اریتروسیتی در ادرار همراه باشند. دیابت ملیتوس و لوپوس اریتماتوز بیماری های سیستمیکی بوده که به فراوانی سبب آسیب گلومرولی و پروتئینوری شدید می شوند. رسوب ادراری ممکن است تلسکوپي شود یعنی در آن تمام انواع سلول ها و کست ها دیده شود و این در نفریت لوپوسی یا واکنش ازدیاد حساسیت وجود دارد. مالاریا، افزایش فشار خون بدخیم، مسمومیت حاملگی، فلزات سنگین (طلا، جیوه)، داروها (پنی سیلامین)، به طور کلی نئوپلازی ها، آمیلوئیدوز، بیماری سلول داسی شکل، رد پیوند کلیه و به ندرت سندرم آنتی فسفولیپید اولیه علل دیگر پروتئینوری شدید هستند.

**پروتئینوری متوسط ( کمتر از یک گرم در روز ) :** ممکن است پروتئینوری متوسط در گستره وسیعی از بیماری های کلیوی ذکر شده در بالا و همچنین نفرواسکلروز ، میلوم متعدد و نفروپاتی های توکسیک قابل مشاهده باشد. از دیگر علل آن وضعیت های دژنراتیو بدخیم و التهابی دستگاه ادراری تحتانی شامل مواد تحریک کننده از جمله سنگ ها را باید مدنظر داشت .

**پروتئینوری خفیف ( کمتر از یک گرم در روز ) :** پروتئینوری خفیف ممکن است در پیلونفریت مزمن که تظاهر پروتئینوری گاهی به صورت متناوب است و همچنین در مراحل نسبتا غیرفعال بیماری گلومرولی دیده شود . نفرواسکلروز ، بیماری نفریت بینابینی مزمن ، بیماری های مادرزادی مانند بیماری پلی کیستیک و بیماری کیستیک مدولاری و اختلالات توبولی کلیه از دیگر علل آن هستند . رسوب ادراری در بیماری توبولی معمولا غیر طبیعی نیست ولی ممکن است اریتروسیت ها ، لکوسیت ها و سلول های توبولی با نفریت بینابینی دیده شوند . به هر حال یافته های مهم رسوب ادراری در برخی مواقع ممکن است همراه با مقادیر جزئی پروتئین باشند. پروتئینوری خفیف همچنین در پروتئینوری های وضعیتی و پروتئینوری گذرا نیز دیده می شود .

**طبقه بندی های کیفی پروتئینوری :** جستجوی انواع پروتئین موجود در ادرار نیازمند جداسازی الکتروفورزی پروتئین های ادرار است. برپایه این نتایج وبا توجه به یافته های بالینی ، پروتئینوری ممکن است ، به الگوی گلومرولی و توبولی تقسیم شود، که نشان دهنده منطقه درگیر در نفرون است. با این وجود مناطق درگیر آناتومیک با پیشرفت بیماری ، درهم ادغام می شوند .

**الگوی گلومرولی :** بیماری گلومرولی منجر به پروتئینوری می شود که ممکن است شدید باشد ( بیشتر از ۳ تا ۴ گرم در روز). از بین رفتن یا کاهش بار منفی ثابت غشاء پایه گلومرولی باعث می شود تا آلبومین بتواند به مقدار زیاد و بیشتر از حد توانایی بازجذب سلول های توبولی نزدیک ، وارد فضای بومن شود. در زمانی که آلبومین سرم در ادرار دفع می شود ، پروتئین های دیگر با اندازه یا بار مشابه هم دفع می شوند( از جمله آنتی ترومبین ، ترانسفرین ، پره آلبومین ، آلفا ۱ اسید گلیکوپروتئین و آلفا ۱ آنتی تریپسین ). چون ممکن است عملکرد توبولی هنوز طبیعی باشد ، پروتئین های پلاسمایی خیلی کوچک به مقدار زیاد بازجذب می شوند. برخلاف این ها، پروتئین های بزرگ تا زمانی که گلومرول ، انتخابی عمل می کند در ادرار دیده نمی شوند( مانند آلفا ۲ ماکروگلوبولین ، بتا لیپو پروتئین ) . هرچه پروتئین های بزرگتری در ادرار ظاهر شود، پروتئینوری هم کمتر انتخابی بوده و نشان دهنده آسیب های بزرگتری به گلومرول هاست که در نفروپاتی غشایی و گلومرولو نفریت پرولیفراتیو قابل رویت می باشد . بررسی مکانیسم پروتئینوری با توجه ویژه به آسیب گلومرولی در بیماری مزمن کلیوی ( CKD ) در واقع مخلوطی از آسیب گلومرولی و بیماری توبولی \_بینابینی کلیه است .

**الگوی توبولی:** این الگو همراه با ازدست رفتن مقادیر کم پروتئین هایی است که در حالت طبیعی به مقدار زیادی باز جذب می شوند. این پروتئین ها دارای وزن مولکولی کمی بوده (مانند آلفا ۱ میکرو گلوبولین، N<sub>2</sub>-استیل-بتا<sub>2</sub>-D گلوکز آمینیداز (NAG)، بتا گلوبولین هایی مانند بتا ۲ میکرو گلوبولین، ایمونو گلوبولین های زنجیره سبک، سیستاسین C و لیزوزیم) و اغلب هم فاقد تمایل مشخصی برای مولکول هایی در اندازه آلبومین می باشد.

با روش های رادیو ایمنونواسی، دفع بتا ۲ میکرو گلوبولین در ادرار، در حد میکرو گرم به عنوان یک شاخص آسیب توبولی اندازه گیری شده است. دفع طبیعی آن در حدود ۱۰۰ میکرو گرم در روز است. پروتئینوری با الگوی توبولی همراه با بیماری توبولی کلیه مانند سندرم فانکونی، سیستینوزیس، بیماری ویلسون، پیلونفریت و همچنین در رد پیوند کلیه به وجود می آید. مقدار پروتئینوری به طور مشخصی پایین تر از آنچه که در بیماری گلومرولی دیده می شود بوده و در حدود ۱ تا ۲ گرم در روز است. پروتئینوری توبولی ممکن است توسط نوار معرف به دلیل عدم وجود یا مقدار پایین آلبومین تشخیص داده نشود ولی با روش رسوب اسید می تواند مشخص شود. به علاوه شاخص های توبولی ادراری که پروتئین های توبولی را با آلبومین مقایسه میکند، به ویژه نسبت آلفا ۱ میکرو گلوبولین به آلبومین و NAG به آلبومین، در تمایز بین بیماری توبولی بینابینی اولیه و بیماری گلومرولی اولیه دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی هستند. در حال حاضر علاقه ی شدیدی به استفاده از مولکول های ویژه ای که در طول آسیب توبولی به ادرار آزاد شده و نارسایی کلیه را در بیماران دارای نفروپاتی دیابتی پایش میکند، وجود دارد. بیو مارکرها تحت بررسی شامل لیپوکالین مرتبط با ژلاتیناز نوتروفیلی (NGAL) مولکول آسیب کلیوی (KIM-1) پروتئین اتصالی به اسیدهای چرب کبد (L-FABP) کالپروتکتین، سایتوکاین های التهابی و سایر موارد می باشد.

**پروتئینوری سرریز شده:** این پروتئینوری به دلیل سرریز بیش از حد سطوح پروتئین در گردش می باشد و می تواند همراه با از دست رفتن هموگلوبین، میوگلوبین یا ایمونوگلوبولین در ادرار مشاهده شود. این پروتئین ها به صورت اولیه با بیماری های گلومرولی یا توبولی در ارتباط نمی باشند ولی ممکن دیابت میکرو آلبومینوری با افزایش چهار تا شش برابری در میزان مرگ و میر قلبی عروقی در ارتباط است و یک عامل خطر مستقل برای میزان مرگ و میر کلیوی محسوب می شود. هم چنین در افراد با فشار خون بالا به صورت شایع دیده می شود و ممکن است شاخص آسیب تحت بالینی کلیه و اندام خارج از کلیه باشد. روشهای متعددی برای اندازه گیری معرفی شده اند که شامل سیستمهای آزمایش ایمنولوژیک و اتصال با رنگ در نوارهای تست شیمیایی هستند که هر دو آنها در زیر مورد بحث قرار می گیرند.

**روشها:** چندین روش غربالگری و روش کمی برای آنالیز پروتئین در ادرار موجود است به علت اینکه یک تست غربالگری مثبت ممکن است علامت عارضه ای جدی باشد بنابراین این موضوع مهم است که ما قادر باشیم نتایج مثبت را توسط یک روش ثانویه متفاوت اثبات نماییم. تستهای غربالگری معمول شامل آزمایش کیفی / نیمه کمی

با نوار معرف کالریمتری و تست بر پایه رسوب است . نتایج صحیح تنها زمانی با استفاده از نوار معرف به دست خواهد آمد که آلومین افزایش یافته باشد . به علت فقدان حساسیت نوارهای معرف به گلوبولینها ممکن است لازم باشد که از روش رسوب با اسید برای مقاصد غربالگری استفاده شود این امر به جمعیت بیماران و بیماری ای که غربالگری میگردد بستگی دارد نوارهای معرف این مزیت را دارند که از واکنش مثبت کاذب با یدهای ارگانیک مانند آنچه برای کنتراست رادیوگرافی به کار می رود و توبوتامیدها یا دیگر داروها جلوگیری کنند . بیشتر روشهای غربالگری کیفی دیگر بر پایه رسوب پروتئین قرار دارند مثلاً گرما و اسید استیک اسید نیتریک سولفوسالیسیلیک اسید (SSA) و تری کلرواستیک اسید . این روشها گلوبولینها را نیز مانند آلومین رسوب می دهند در عمل نوارهای معرف منفی همراه با روش سولفو سالیسیلیک اسید مثبت در نمونه های ادراری را می توان به رنگ رادیو گرافی پنی سیلین ها و به ندرت به یک افزایش جداگانه در گلوبولین ها نسبت داد . سولفوسالیسیلیک اسید و تری کلرواستیک اسید برای رسوب پروتئین ها در سرما به کار برده شده و به عنوان یک روش غربالگری است خودشان سبب آسیب کلیوی می شوند . میوگلوبولین ممکن است سبب نکروز حاد توبولی بشود . به نظر نمی رسد که هموگلوبین در مقادیر کم سمی باشد ، مگر در شرایطی که هیپوولمی ( کم حجمی خون ) هم وجود داشته باشد .

**پروتئینوری بنس جونز:** بنس جونز زنجیره سبک ایمونوگلوبولین مونوکلونال است که در کلیه فیلتر می شود . پروتئینوری بنس جونز همراه با مولتیپل میلوما ، ماکروگلوبولینما و آمیلوئیدوز اولیه ( AL ) لنفوم بدخیم دیده می شود . بروز پروتئینوری بنس جونز در مولتیپل میلوما در ۵۰ تا ۸۰ درصد موارد به طور تخمینی دیده شده است . با این حال اثبات آن به طور ویژه ای به تکنیک های مورد استفاده بستگی دارد . در صورتی که تنها از نوار معرف استفاده شود ، ممکن است پروتئین بنس جونز شناسایی نشود . بهترین روشهای تشخیص و تعیین کمیت این پروتئین ، روش های الکتروفورز و الکتروفورز ایمونوفیکساسیون (IFE) همراه با اندازه گیری ایمونواسی زنجیره سبک آزاد هستند .

دفع پروتئین بنس جونز به مقادیر زیاد ، حتی گاهی تا چندین گرم در ۲۴ ساعت ، به دلیل مقادیر بالای پروتئین جذب شده ، سبب تخریب و زوال سلول های توبولی می شود . انکلوزیون ها ممکن است در سلول ها تشکیل شوند و سلول های ریخته شده می توانند سبب تشکیل کست ها در مجرای توبولی شوند . کست ها همچنین ممکن است از مخلوط ایمونوگلوبولین ها و پروتئین تام هورسفال به وجود آیند . متعاقباً با نارسایی کلیه ، پروتئین کمتری باز جذب شده و مقادیر بالاتری پروتئین بنس جونز و دیگر پروتئین ها در ادرار دیده می شوند . کلیه آسیب دیده گاهی به عنوان کلیه میلومی نامیده شده و ممکن است به دنبال آن ، سندرم نفروتیک هم به وجود آید .

**میکروآلبومینوری:** میکروآلبومینوری به صورت حضور آلبومین در ادرار به مقادیر بالاتر از حد طبیعی ولی کمتر از آن که توسط نوار معرف شناسایی شود، تعریف می شود. مولفین متعددی بیا کرده اند که این مقادیر کم آلبومین در ادرار که بین ۲۰ تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر است (یا سرعت تقریبی دفع بین ۲۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر دقیقه) علامت آسیب گلوبولین زدورس و احتمالاً برگشت پذیر می باشد. در بیماران مبتلا به دیابت، میکروآلبومینوری با افزایش چهار تا شش برابری در میزان مرگ و میر قلبی عروقی در ارتباط است و یک عامل خطر مستقل برای میزان مرگ و میر کلیوی محسوب می شود و ممکن است شاخص آسیب تحت بالینی کلیه و اندام خارج از کلیه باشد. روش های متعدد برای اندازه گیری معرفی شده اند که شامل سیستم های آزمایش ایمونولوژیک و اتصال با رنگ در نوارهای تست شیمیایی هستند که هر دو آنها در زیر مورد بحث قرار می گیرند.

**روش ها:** چندین روش غربالگری و روش کمی برای آنالیز پروتئین در ادرار موجود است. به علت اینکه یک تست غربالگری مثبت ممکن است علامت عارضه ای جدی باشد بنابراین این موضوع مهم است که ما قادر باشیم نتایج مثبت را توسط یک روش ثانویه متفاوت اثبات نماییم. تستهای غربالگری معمول شامل آزمایش کیفی / نیمه کمی با نوار معرف کالریمتری و تست بر پایه رسوب است.

نتایج صحیح تنها زمانی با استفاده از نوار معرف به دست خواهد آمد که آلبومین افزایش یافته باشد. به علت فقدان حساسیت نوارهای معرف به گلوبولینها ممکن است لازم باشد که از روش رسوب با اسید برای مقاصد غربالگری استفاده شود این امر به جمعیت بیماران و بیماری ای که غربالگری می گردد بستگی دارد نوارهای معرف این مزیت را دارند که از واکنش مثبت کاذب با ایده های ارگانیک مانند آنچه برای کنتراست رادیوگرافی به کار می رود و تولهوتامیدها یا دیگر داروها جلوگیری کنند.

بیشتر روشهای غربالگری کیفی دیگر بر پایه رسوب پروتئین قرار دارند (مثلاً گرما و اسید استیک اسید نیتریک سولفوسالیسیلیک اسید [SSA] و تری کلرواستیک اسید). این روشها گلوبولین ها را نیز مانند آلبومین رسوب می دهند در عمل نوارهای معرف منفی همراه با روش سولفو سالیسیلیک اسید مثبت در نمونه های ادراری را میتوان به رنگ رادیوگرافی، پنی سیلین ها و به ندرت به یک افزایش جداگانه در گلوبولین ها نسبت داد. سولفوسالیسیلیک اسید و تری کلرواستیک اسید برای رسوب پروتئینها در سرما به کار برده شده و به عنوان یک روش غربالگری راحت مورد استفاده قرار میگیرند حساسیت ممکن است بسته به تکنیک مورد استفاده به پایین تر از ۰/۲۵ میلی گرم در هر دسی لیتر برسد. به علت علاقه زیاد در استفاده از پروتئینوری به منظور طبقه بندی میزان خطر برای نروپاتی، هم در بیماران دیابتی و هم در غیر دیابتی ها همانند موقعیتهای دیگری مانند پره اکلامپسی و بیماری شریان کرونری پیشنهاد می شود به منظور اندازه گیری، بر روی روش هایی متمرکز شوند که بیشتر، آلبومین ادراری را میسنجند، تا آنهایی که پروتئین تام را اندازه گیری میکنند. اندازه گیری آلبومین ادراری در غلظت های

پایین در جایی که ارزیابی خطر پیشرفت در بیماری مزمن کلیوی برای تشخیص و برنامه ریزی برای درمان مهم می باشد بسیار استانداردتر و قابل اعتمادتر از پروتئین تام است.

**نوار معرف:** این روش از مزیت خطای پروتئین در معرفهای pH بهره برده است. چون پروتئینها در pH فیزیولوژیک، باردار هستند. حضور آنها سبب یک تغییر در pH می شود. نوار معرف یا با تترابروموفنل بلو که برای pH اسیدی ۳ بافری شده است یا با تتراکلروفنل تترابرو موسولفو فتالین آغشته می شود. در غیاب پروتئین، نوار ادراری زرد رنگ است و ۳۰ تا ۶۰ ثانیه پس از تماس با ادرار به نسبت نوع و غلظت پروتئین موجود، سایه های سبزرنگی ظاهر خواهد شد. نتایج بر مبنای سیستم plus به عناوین منفی، جزئی (Trace) و +۱ تا +۴ بیان می شوند. اکثر روشها ۵ تا ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر آلبومین را نشان می دهند. همان گونه که قبلاً گفته شد، نوارهای معرف حساسیت بیشتری به آلبومین نسبت به گلوبولین ها، پروتئین بنس جونز یا موکوپروتئینها دارند نتایج جزئی (Trace) ممکن است با دفع طبیعی فیزیولوژیک پروتئین در نمونه های ادراری تغلیظ شده افراد سالم دیده شوند. سطوح بالای نمک نتایج را کمتر نشان می دهد. به طور استثناء، ادرار قلیایی یا به شدت بافری شده ممکن است در غیاب پروتئینوری قابل ملاحظه نتایج مثبت بدهد (مثلا با مصرف یک داروی قلیایی یا پس از آلودگی باکتریایی). نتایج مثبت کاذب با ادرار بسیار پررنگ، با ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم، آمیدوآمینهای موجود در نرم کننده های پارچه کلرگزیدین و شسته شدن بیش از حد بافر اسیدی موجود در نوار ادراری بدنبال خیس شدن زیادی آن دیده می شود. این روش توسط کدورت ادرار، ماده حاجب رادیوگرافی واکثر داروها و متابولیت هایشان تحت تأثیر قرار نمی گیرد.

**روش سولفوسالیسیلیک اسید کیفی:** این روش بر پایه ی رسوب برای تشخیص حضور پروتئین استوار است. **پروسه:** نمونه ها باید سانتریفیوژ شده و از مایع رویی شفاف استفاده شود تقریباً به ۳ میلی لیتر از مایع رویی ادرار، در یک لوله آزمایش تمیز، حجمی برابر آن از اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد را اضافه کنید. لوله را سر و ته کرده تا مخلوط شود. دقیقاً ۱۰ دقیقه صبر کرده، دوبار دیگر لوله را سر و ته کرده و با استفاده از نور معمولی اتاق (نه در مقابل لامپ) میزان کدورت و یا رسوب را مشاهده کرده و درجه آن را براساس زیر بیان نمایید:

منفی عدم کدورت (حدود ۵ میلی گرم در دسی لیتر یا کمتر)

جزئی کدورت قابل تشخیص (حدود ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر) +۱ کدورت مشخص ولی بدون گرانولاسیون مجزا (حدود ۵۰ میلی گرم در دسی لیتر)

۲+ کدورت همراه با گرانولاسیون ولی بدون لخته (حدود ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر)  
۳+ کدورت همراه با گرانولاسیون و لخته (حدود ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر)  
۴+ توده پروتئین رسوب کرده یا رسوب جامد (حدود یک گرم در دسی لیتر یا بیشتر)

این روش در حدود ۵ تا ۱۰ میلی گرم در دسی لیتر را تشخیص خواهد داد. آلبومین، گلوبولین ها، گلیکوپروتئینها و پروتئینهای بنس جونز قابل تشخیص هستند. مقادیر بالا از شویندهها نتایج را کاهش میدهد. در صورت وجود رنگ رادیوگرافی با گذشت زمان رسوب سولفوسالسیلیک اسید افزایش یافته و در آزمایش رسوب میکروسکوپی کریستالهای مشخص دیده می شود. در این حالت باید یک نمونه ادراری دیگر از بیمار مورد بررسی قرار گیرد. با این وجود، اثرات ماده رادیوگرافیک ممکن است تا ۳ روز پایدار باشد. ممکن است یک تست نوار معرف به طور جایگزین به کار رود یا روش گرما و اسید استیک مورد استفاده قرار بگیرند. در روش استیک اسید ماده حاجب رادیوگرافی با گرما از بین رفته، در حالی که پروتئین کدورت را افزایش خواهد داد.

**تعیین کمی پروتئین و روشهای تأییدی آن:** برای اندازه گیری کمی پروتئین ادرار از یکی از روشهای رسوبی متعادل شده و یا رنگ سنجی استفاده میشوند. SSA و تری کلرواستیک (TCA) به طور معمول به عنوان رسوب دهنده به کار میروند؛ نتایج کدورت می توانند توسط فتومتر یا یک نفلومتر اندازه گیری شوند اگر تفسیر چشمی انجام شود، ممکن است مجموعه ای از استانداردهای تجارتي مطابق با ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر استفاده شود که بر مبنای آنها نتایج به میلی گرم در دسی لیتر گزارش میشود که در مقابل روش «plus» در تستهای رسوبی غربالی است. با SSA کدورت ناشی از آلبومین، ۲/۴ برابر گلوبولین است و همچنین پلی پپتیدها، گلیکوپروتئینها و پروتئینهای بنس جونز هم با کنند این روش رسوب می کنند. درنکات تاریخی آمده است که معرف اکستون (Exton) حاوی SSA، سدیم سولفات و یک معرف (بروموفنول بلو) بوده است. TCA برخلاف آن، باعث می شود که گاما گلوبولین با کدورت بیشتری نسبت به آلبومین رسوب کند، گرچه این تفاوت قابل توجه نیست.

اندازه گیری های دقیق تری برای مقادیر پایین پروتئین در دسترس قرار دارند و در این روش یک رسوب TCA در سدیم هیدروکسید حل شده و با استفاده از واکنش بیوره اندازه گیری می گردد. روش کمی TCA بیوره خسته کننده است ولی دقت خوبی دارد. در اینجا از یک بلانک تصحیح کننده رنگ استفاده می شود. مقایسه چندین روش رنگ سنجی بر مبنای اتصال رنگ با پروتئین ها برای ارزیابی کمی پروتئین ادرار وجود دارد. این روشها شامل کوماسی بلو، پونزواس S و روشهای کدورتی بنزاتونیوم کلراید هستند. پیرو گالول رد مولیبدات هم با پروتئین واکنش داده که نتیجه آن شکل گیری ترکیبی مایل به آبی ارغوانی است که در ۶۰۰ نانومتر جذب دارد. روشهای مورد استفاده برای سنجش کمی پروتئین ادرار رضایت بخش نبوده اند. اعضاء کالج پاتولوژیستهای آمریکا بررسی هایی انجام دادند که نشان دهنده این بود که مقادیر متوسط گزارش شده بین روشهای مختلف تا



۲ برابر با هم اختلاف دارند که در روش SSA بیشترین مقدار دیده می شود. دقت پایین بوده و خصوصاً روش کدورت سنجی SSA بدترین ضریب تغییر را نشان می دهد.

TCA- بیوره، کوماسی بلو و روشهای کدورت سنجی TCA نتایج نزدیکتری داشته و ضریب تغییری در حدود نصف روش SSA را نشان میدهند. این مشکلات ناشی از استاندارد نشدن این روشها است. به عنوان نمونه در روشهای مختلف کدورت سنجی غلظت های مختلف اسید، زمان متفاوت و تنوع در استاندارد پروتئین از جمله این مسائل هستند.

**روش های تعیین میکروآلبومینوری:** مقادیر بسیار کم پروتئین ها، مانند آلبومین و بتا ۲ میکرو گلوبولین، توسط روشهای ایمونولوژیکی، که از آنتی بادی ها علیه پروتئین ها استفاده می کند، روش های نفلومتری، رادیوایمونواسی، الکتروفورز نوار پروتئین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) یا روشهای دیگر اندازه گیری می شوند.

نوار تست Micral II یک سیستم آزمایش ایمونولوژیک است که یک ارزیابی سریع نیمه کمی و مطمئن را از غلظت های پایین آلبومین ادراری به دست می دهد. اکسی تتراسایکلین ممکن است با این روش تداخل داشته باشد و سبب افزایش آن شود. در اینجا هیچگونه تداخلی با pH وجود ندارد.

یک روش جدیدتر، به نام میکروآلبومین کلینیتک می باشد که یک روش اتصال به رنگ با حساسیت بالا است. این روش مزیتی که دارد این است که به طور همزمان، قادر به اندازه گیری کراتینین نیز میباشد. این روش کاملاً برای آلبومین اختصاصی نیست و ترکیب رنگی آن با موکوپروتئین تام هورسفال نیز واکنش می دهد.

HPLC، یک روش بسیار حساس برای تشخیص زودهنگام و اولیه میکروآلبومینوری می باشد ولی در حال حاضر به صورت گسترده مورد استفاده قرار نمی گیرد. **روش تعیین پروتئینوری بنس جونز:** روش های جستجوی پروتئین بنس جونز در ادرار شامل الکتروفورز پروتئینها، الکتروفورز ایمونوفیکسایون (IFE)، الکتروفورز منطقه موئینه و ایمونواسی برای زنجیره های سبک است. در روش کار سنتی الکتروفورز، از رنگ آمیزی آمیدوبلاک بر روی ادرار ۲۰۰ برابر غلیظ شده استفاده می شود. روشهای جدیدتر، بر روی ادرار با غلظت کمتر انجام می گیرد و شامل رنگ آمیزی کوماسی بریلیانت بلو اصلاح شده می باشد که از حساسیت و ویژگی قابل مقایسه ای برخوردار است. حضور گلوبولین بنس جونز یا تولید کلونال ایمنوگلوبولین با دیدن یک قله نوک تیز در منطقه گلوبولین الکتروفورز پروتئین قابل تشخیص است. گلوبولین بنس جونز، نماینده زنجیره سبک ایمنوگلوبولین، کاپا یا لامبدا است. پروتئین بنس جونز در دمای بین ۴۰ تا ۶۰ درجه سانتی گراد، رسوب می کند و دوباره در دمای نزدیک به ۱۰۰ درجه محلول می شود. روش های دیگر بر پایه رسوب در سرما با نمک، آمونیوم سولفات و اسید هستند. در حضور

پروتئینوری بنس جونز قابل توجه ، اکثر روش ها نتایج مثبت را نشان می دهند. در زمانی که فقط مقدار کمی از پروتئین بنس جونز وجود داشته باشد و یا زمانی که دیگر گلبولین ها حضور داشته باشند، نتایج ممکن است مشکوک باشند. واکنش های مثبت کاذب زمانی دیده می شوند که گلبولین های دیگر توسط اسید استیک در روش رسوب گرمایی، رسوب کنند. زمانی که پروتئین بنس جونز بسیار غلیظ باشد و یا رسوبات در دمای جوش دوباره حل نشوند ، واکنش منفی کاذب ممکن است ایجاد شود.

**گلوکز و قندهای دیگر در ادرار**

قندهای متنوعی ممکن است در شرایط مشخص، چه پاتولوژیک و چه فیزیولوژیک، در ادرار یافت شوند. این قندها شامل گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، لاکتوز، مالتوز، پنتوز و سوکروز هستند. گلوکز بیشتر معمول بوده است. **گلوکز:** حضور مقادیر قابل شناسایی گلوکز در ادرار **گلوکزوری** نامیده می شود و این حالت وقتی اتفاق می افتد که سطح گلوکز در خون از حد ظرفیت توبول کلیوی برای باز جذب و آن بالاتر رود. در مقادیر مختلفی از گلوکز، خون گلوکز ممکن است در ادرار ، ظاهر شده و در همه موارد همراه با گلوکزوری، هیپرگلیسمی وجود ندارد. جریان خون گومرولی ، سرعت باز جذب توبولی و همچنین ، جریان ادرار ظهور آن در ادرار را تحت تأثیر قرار می دهند . زمانی که هیپرگلیسمی وجود داشته باشد ، گلوکزوری هم وقتی که سطح خونی آن بالاتر از ۱۸۰ تا ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر شد، رخ می دهد گلوکزوری ممکن است در چندین حالت و متفاوت دیده شود که در زیر آورده شده است.

**دیابت ملیتوس:** اگر چه هیپرگلیسمی به تنهایی شاخص قطعی دیابت ملیتوس نیست ولی حضور گلوکز در ادرار نیازمند پیگیریهای بعدی است. زمانی که گلوکزوری وجود داشته باشد، مشخصاً با پلی اوری و تشنگی همراه است. مصرف ناکافی کربوهیدرات در این بیماران منجر به افزایش سطوح اجسام کتون در خون و ادرار به علت افزایش متابولیسم چربیها میشود.

در بیماران دیابتی، مزیت یک روش ادراری نسبت به تست خون از نظر وجود گلوکز، بدون درد بودن و گران نبودن آن است. اندازه گیری گلوکز ادرار برای کنترل افراد دیابتی ای که به خوبی تحت کنترل بوده اند و نیاز به تعدیل کردن مکرر انسولین / عوامل کاهنده قندخون ندارند استفاده بیشتری دارد. در بیماران دیابتی وابسته به انسولین، عدم وجود گلوکز در تست ادرار میتواند با گستره ی وسیعی از مقادیر گلوکز سرم همراه باشد که این موضوع به تنوع زیاد آستانه ی کلیه برای گلوکز در بیماران دیابتی نسبت داده شده است. پس اندازه گیریهای ادرار ممکن است گمراه کننده بوده باشد و پایش گلوکز خون در منزل ارجحیت دارد.

پایش گلوکزوری در بیماران دیابتی بدون مشکل نیست. نوارهای معرف ممکن است برای تفسیر کردن در سطوح گلوکز ۱ گرم در دسی لیتر (۱٪) تا ۲ گرم در دسی لیتر مشکل باشند و تستهای احیای مس یا نوارهای معرف جدیدتر و حساس تر ممکن است کارآمدتر باشند. با روش قرص کلینی تست ، بیماران دیابتی قادر به تخمین سطح

ماده احیا کننده در ادرار تا حد ۱۰ گرم در دسی لیتر هستند و از یک قطره از نمونه به جای ۲ یا ۵ قطره نمونه استفاده میشود در برخی کلینیکها گفته شده است که اندازه گیری گلوکز ادرار ۲۴ ساعته برای پایش بیماران مناسب بوده است. این آزمایش مدت زمان مشخص و طولانی تری داشته و همراه با مقادیر هموگلوبین گلیکوزیله در خون، در کنترل دراز مدت و منظم بیماری کاربرد دارد .

**علل دیگر گلوکزوری:** گلوکزوری همراه با هیپرگلیسمی در اختلالات درون ریز متعددی دیده میشود. از این اختلالات می توان اختلالات مربوط به هیپوفیز و آدرنال از جمله آکرومگالی، سندرم کوشینگ، هیپرآدرنو کورتیزولیسم، تومورهای سلولهای عملکردی آلفا و بتا پانکراس، هیپرتیروئیدیسم و فئوکروموسیتوما را نام برد . بیماری پانکراس با از دست دادن عملکرد سلولهای جزیره مثلا در موارد کارسینوم، التهاب پانکراس و فیبروز کیستیک، با گلوکزوری همراهی می شود . علل بی شمار دیگری از گلوکزوری همراه با هیپرگلیسمی تشخیص داده شده اند . این موارد شامل اختلالات سیستم عصبی مرکزی هستند که شامل تومور مغزی یا خونریزی مغزی ، بیماری هیپوتالاموس و آسفیکسی می باشند . اختلالات متابولیسم مرتبط با سوختگی، عفونت، شکستگی، انفارکتوس میوکارد ، اورمی و همچنین بیماریهای کبدی، بیماریهای ذخیره ای گلیکوژن، چاقی ، مصرف غذا پس از دوره طولانی مدت گرسنگی و داروهای خاصی (مانند تیازیدها ، کورتیکواستروئیدها و هورمون آدرنو کورتیکوتروپیک و قرصهای ضدبارداری) همگی می توانند همراه با گلوکزوری باشند. در حاملگی یک افزایش در سرعت فیلتراسیون گلومرولی رخ داده و ممکن است که همه گلوکز فیلتره شده باز جذب نگردد. در چنین موقعیتی ممکن است گلوکزوری با وجود قند خون پایین رؤیت گردد . گلوکزوری پایدار یا گلوکزوری بالاتر از حد جزئی (Trace) باید تحت پیگیری قرار بگیرد. در برخی بیماران، دیابت تنها در حین بارداری اتفاق می افتد. گلیکوکزوری بعد از یک چالش برای تحمل گلوکز در بارداری صورت می گیرد. اما مقدار قابل پیش بینی آن برای افراد دیابتی باردار، پری اکلامپسی و افرادی که با وزن کم متولد میشوند به صورت سوال باقی مانده است . تحمل گلوکز نیز همچنین ممکن است در افراد مسن مختل شود به خصوص زمانی که بیماران مقدار کمی کربوهیدرات دریافت کرده باشند، ولی این حالت ضرورتاً همراه با گلوکزوری نیست.

گلوکزوری بدون هیپرگلیسمی اغلب همراه با عملکرد ناقص توپول کلیوی است . گلوکزوری کلیوی ارثی حقیقی معمول نیست و همراه با کاهش باز جذب گلوکز است . در بیماری های انتقالی توپول کلیه ، گلوکزوری امکان دارد همراه با نقص باز جذب آب ، اسیدهای آمینه ، بی کربنات، فسفات و سدیم (الگوی دیده شده در سندرم فانکونی ) باشد. گالاکتوزمی ، سیستینوزیس، مسمومیت با سرب و میلوم مثال های دیگری از حالات همراه با اختلال توپول کلیه و گلوکزوری احتمالی هستند.

**قندهای دیگر در ادرار:** به طور طبیعی مقادیر کمی از دی ساکاریدها در ادرار دفع می شوند در حدود ۵۰ میلی گرم در ۲۴ ساعت. در بیماری های رودهای مانند اسپروی شدید (Sprue) یا التهاب حاد روده، این مقادیر افزایش یافته و تا ۲۵۰ میلی گرم یا بیشتر می رسد. فروکتوز، گالاکتوز، لاکتوز، مالتوز و L-گزیلولوز در ادرار در بیماری های ارثی متابولیکی قابل جستجو هستند. اگر مشکوک به یک اختلال ارثی هستید، ممکن است بتوانید نوع قند را با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک تشخیص دهید. آزمایش های رضایت بخشی برای تأیید کیفی قندها وجود ندارد.

**فروکتوز:** ظهور فروکتوز در ادرار همراه با نواقص ارثی آنزیم هایی است که سبب فروکتوزوری اساسی خوش خیم و عدم تحمل فروکتوز شدید همراه با استفراغ شدید و بیماری کبدی و کلیوی می شوند. فروکتوزوری ممکن است در تغذیه وریدی دارای فروکتوز هم دیده شود. فروکتوز ادراری به عنوان مارکر دریافت سوکروز در مطالعات مداخله ای تغذیه ای به کار می رود.

**گالاکتوز:** گالاکتوز در اختلالات ژنتیکی متابولیسم گالاکتوز که همراه با نقص در گالاکتوز ۱ فسفات یوریدیل ترانسفراز یا گالاکتوکیناز است، در ادرار دیده می شود. در این بیماریها گالاکتوزی که از لاکتوز غذا مشتق شده، نمی تواند به گلوکز تبدیل شود و تشخیص سریع و ایجاد محدودیت های غذایی ممکن است بیماری را کنترل کند.

**لاکتوز:** لاکتوز ممکن است در اواخر دوران بارداری یا در طی شیردهی در ادرار ظاهر شود. در عدم تحمل لاکتوز، سطوح بالایی از قندها در روده تجمع پیدا می کنند و لاکتوز جذب شده و بدون تغییر در ادرار دفع می شود.

**پنتوز:** پنتوزوری ممکن است متعاقب مصرف مقدار زیادی میوه که منجر به دفع L-گزیلولوز و L-آرابینوز در مقادیر تا ۰/۱ گرم در روز می شود، ایجاد گردد. همچنین این حالت ممکن است در طی درمان با داروهای خاص و همراه با پنتوزوری اساسی خوش خیم هم دیده شود.

**سوکروز:** سوکروز در ادرار ممکن است پس از مصرف مقدار زیادی سوکروز، ظاهر شود. نقص آنزیم سوکراز، همراه با بیماریهای روده ای مانند اسپرو همانند آنچه در کمبود لاکتاز دیده می شود وجود دارد. عدم تحمل سوکروز یک اختلال ارثی بوده که همراه با نقص سوکراز و آلفا دکستریناز (ایزومالتاز) است. علائم دیده شده، مشابه آن چیزی است که در نقص لاکتاز وجود دارد و در اولین هفته زندگی متعاقب مصرف غذای شیرین، ایجاد می شوند. ممکن است که تحمل ایجاد شود ولی باید مصرف سوکروز به طور همیشگی قطع شود. سوکروزوری مصنوعی (ساختگی) امکان دارد ادراری با وزن مخصوص بالا ایجاد نماید که در آن تستهای گلوکز اکسیداز و احیای مس منفی

**روشها:**

**نوار معرف:** این روش بر پایه یک روش اختصاصی گلوکز اکسیداز و پراکسیداز بنا شده که یک واکنش آنزیمی متوالی است و نوارهای معرف فقط در کروموژن به کار رفته در آنها تفاوت دارند. این روش برای گلوکز اختصاصی است و هیچ واکنشی با لاکتوز، گالاکتوز، فروکتوز یا متابولیت های احیایی داروها دیده نشده است. نوارهای معرف ممکن است برای نتایج نیمه کمی به کار روند و نتایج باید به صورت تقریبی گرم به ازای هر دسی لیتر گزارش شوند. نوارهای ترکیبی معرف کتون و گلوکز، نه تنها کتونوری را جستجو کرده و نشان می دهند بلکه همچنین سرکوب واکنشهای گلوکز توسط کتونها نیز با برخی نوارهای معرف دیده می شوند. در مواردی که از عوامل پاک کننده اکسیدان قوی در ظرف محتوی ادرار استفاده شده باشد، ممکن است نتایج مثبت کاذبی دست آید. وزن مخصوص پایین هم ممکن است نتایج را به صورت کاذب افزایش دهد. سدیم فلوراید (که به عنوان نگه دارنده بکار می رود،) وزن مخصوص بالا و گاهاً آسکوربیک اسید باعث ایجاد نتایج منفی کاذب خواهند شد. آنزیمهای گلیکولیتیکی آزاد شده از سلولها و باکتریها هم سطح گلوکز را در ادرار مانده، کاهش می دهند و بنابراین نگه داشتن نمونه در یخچال و انجام سریع آزمایش ضروری است.

کروموژنهای استفاده شده در برخی از نوارهای معرف (dipstick) رایج شامل موارد زیر می باشند: **clinistix**: کروموژن -O- تولوئیدن: تغییر رنگ از صورتی تا ارغوانی وجود دارد. این فرمولاسیون ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر گلوکز را جستجو کرده و در مقایسه با نوارهای زیر نسبت به مواد مداخله کننده مثل آسکوربیک اسید حساس تر است.

**Multistix**: کروموژن پتاسیم یدید: رنگ از آبی تا قهوه ای در طی ۳۰ ثانیه تغییر می کند. **Chemstrip**: کروموژن یک آمینوپروپیل کربازول: رنگ در طی ۶۰ ثانیه از زرد به قهوه ای نارنجی تغییر می کند. **تستهای احیای مس:** روش گلوکز اکسیداز که یک تست غربالگری می باشد، سطوح افزایشی گالاکتوز یا قندهای دیگر را در ادرار آشکار نمی کند. بنابراین مهم است که از روش مس به خصوص در بیماران کودک کم سن استفاده کرد. باید یک سیاست برای غربالگری قندهای احیا شده توسط آزمایشگاه ها به صورت جداگانه پس از مشورت با اعضای کلینیک اتخاذ شود. در موارد فراوانی، روشهای وابسته به انجام این غربالگری ها، قبل از الزامی شدن گسترده غربالگری نوزادان تازه متولد شده از نظر خطاهای متابولیسمی، در دهه ۱۹۶۰ به وجود آمد. با این تعهد الزامی در غربالگری کودکان تازه متولد شده، جستجوی یک مورد از ماده احیا کننده غیر منتظره در ادرار نادر است و اجرای معمول این آزمایش، بدون اینکه از سوی پزشک بیمار درخواستی برای آن صورت گیرد، موجب زنده ماندن بیشتر افراد بیمار میشود. روش احیای مس، مقدار کافی از هر ماده ی احیایی در ادرار شامل قندهای احیا کننده لاکتوز، فروکتوز، گالاکتوز مالتوز و پنتوز را شناسائی می کند. در مواردی که در آن روش احیای مس، مثبت و روش گلوکز اکسیداز منفی باشد، گلوکزوری نفی میشود ولی قبل از جستجوی قندهای دیگر باید یافته

های بالینی و تاریخچه دارویی را ارزیابی کرد . با این وجود، روش احیای مس، قندهای احیا کننده غیر از گلوکز را آشکار می کند ، اما بازده برای این قندها بسیار پایین است. ممکن است نوزادان طبیعی در ده تا چهارده روز اول زندگی ، ادراری با واکنش مثبت داشته باشند که این به علت گلوکز ، لاکتوز، گالاکتوز و فروکتوز می باشد . زنان در زمان بارداری و دوران پس از زایمان به طور طبیعی می توانند به علت حضور لاکتوز در ادرار، واکنش مثبت داشته باشند.

روش کیفی بندیکت در میان روشهای احیای مس مورد استفاده برای اهداف غربالگری ، نسبت به روش احیای مس قرص واحد (clinitest) برای احیای مواد در ادرار از حساسیت بیشتری برخوردار است. مواد زیادی در ادرار، متابولیتها و متابولیتهای وابسته به دارو، بر روی روشهای قند ادرار تأثیر میگذارد. ممکن است مواد احیا کننده قوی مانند آسکوربیک اسید، ژنتیسیک اسید یا هموژنتیسیک اسید ، روش آنزیمی را مهار کنند و این در حالی است که به مثبت شدن روش احیای مس کمک می کنند . روش قرص به اندازه ی روش بندیکت تحت تأثیر قرار نمی گیرد. مقادیر بسیار زیاد آسکوربیک اسید بر روی روش احیای مس دو قطره ای اثری ندارد. داروها به ویژه سفالوسپورین ها و ماده حاجب رادیوگرافیک ، با clinitest نتیجه مثبت کاذب یا رنگ های غیر معمول ایجاد میکنند. گرچه مقادیر زیاد آسکوربیک اسید به روش clinitest دو قطره ای برای قندها بی تأثیر است (به عبارتی نتایج مثبت کاذب نمی دهد) ولی این احتمال وجود دارد که در پیدایش رنگ با روش گلوکز اکسیداز تأخیر ایجاد کند.

**روش آزمایش:** قرص های معرف Clinitest ۲۵۰ میلی گرم ماده احیاکننده در هر دسی لیتر ادرار را آشکار می سازد. دوروش پنج قطره ای و دو قطره ای Clinitest را می توان استفاده کرد. نمودارهای رنگ مربوط به هر کدام در دسترس هستند. در پاسخ به پدیده ای به نام **پدیده ی گذر از میان** ( pass \_through phenomenon ) روش دو قطره ای به وجود آمد، که این پدیده وقتی ۲ گرم در دسی لیتر قند در ادرار وجود دارد، اتفاق می افتد. در پدیده گذر از میان ، بعد از اضافه کردن قرص clinitest محلول حاصل از تمام طیف رنگ ها گذر کرده و به رنگ قهوه ای مایل به سبز تیره باز می گردد . این رنگ نهایی با هیچ یک از رنگهای مربوط به نمودار رنگ ادرار همخوانی ندارد ولی با این حال، به طور نزدیکی با نتیجه ی بسیار پایین تر مطابقت دارد. این مسئله خیلی اهمیت دارد که باید از ابتدا تا پانزده ثانیه بعد از اتمام جوشیدن ، همه واکنشها را در لوله آزمایش زیر نظر داشت تا این گذر از رنگ ها را از دست نداده و نتیجه پایین کاذبی را گزارش نکنید.

**روش پنج قطره ای:** ۵ قطره از ادرار را در یک لوله آزمایش خشک قرار داده و سپس ۱۰ قطره آب به آن اضافه کنید . یک قرص clinitest را بدون اینکه به آن دست بزنید، به داخل لوله بیاندازید ، زیرا قرص حاوی قلیای قوی است . جوشیدن را ملاحظه کنید ولی لوله را تکان نداده و به ته آن دست نزنید زیرا داغ است . بعد از توقف جوشیدن ، تا ۱۵ ثانیه صبر کنید و به آرامی لوله را تکان دهید و بلافاصله رنگ محلول را با مقیاس رنگ مقایسه

کنید. نتایج با غلظت های تقریبی زیر مطابقت می کند: منفی، ۰/۲۵ گرم بر دسی لیتر، ۰/۵ گرم بر دسی لیتر، ۰/۷۵ گرم بر دسی لیتر، یک گرم بر دسی لیتر، دو گرم بر دسی لیتر و پدیده گذر از میان. در هنگام جوشیدن، محلول را به دقت نگاه کنید، این مسئله مهم است. اگر رنگ محلول از نارنجی به قهوه ای تیره مایل به سبز تغییر رنگ دهد، علت آن است که مقدار قند آن بیش از ۲ گرم بر دسی لیتر است و بدون مراجعه به مقیاس رنگ میتوان نتیجه را بیش از دو گرم بر دسی لیتر در نظر گرفت. در صورتی که نمونه های ادرار پدیده گذر از میان را نشان دهند، باید به روش دو قطره ای مورد آزمایش قرار گیرند.

**روش دو قطره ای:** دو قطره ادرار را در یک لوله آزمایش قرار داده و ۱۰ قطره آب به آن اضافه کنید. یک قرص Clinitest به داخل آن بیفزایید. بدون آنکه لوله را تکان دهید جوشیدن را مشاهده کنید. ۱۵ ثانیه بعد از اینکه جوشیدن متوقف شد لوله را به آرامی تکان داده و رنگ محلول را با مقیاس رنگ آماده شده برای روش دو قطره مقایسه کنید. اگر در روش دو قطره ای غلظت قند بیش از ۵ گرم بر دسی لیتر باشد ممکن است پدیده گذر از میان اتفاق بیفتد نتایج را به صورت یک گرم بر دسی لیتر، دو گرم بر دسی لیتر، سه گرم بر دسی لیتر، ۵ گرم بر دسی لیتر و بیش از ۵ گرم بر دسی لیتر در صورتیکه واکنش گذر از میان رخ داده باشد گزارش کنید. اگر نتایج منفی یا پائین باشد روش ۵ قطره ای را انجام دهید.

**موارد احتیاط:** بر روی بروشور قرصهای Clinitest نکات احتیاطی را ملاحظه کنید. درب بطری همیشه باید به طور محکمی بسته باشد تا مانع جذب رطوبت شود. بطری را به دور از حرارت و نور مستقیم خورشید در مکانی خشک و خنک نگهداری کنید. ظاهر قرص های طبیعی، سفید متمایل به آبی منقوط است. اگر قرص ها به شکل صحیحی نگهداری نشوند، رطوبت را جذب کرده یا به علت حرارت خراب می شوند در این صورت رنگ قرص ها به آبی یا قهوه ای تیره تبدیل شده و نتایج قابل اعتمادی حاصل نخواهد شد. برای جلوگیری از جذب رطوبت قرص ها در بسته های آلومینیومی قرار دارند. این بسته بندی گران می باشد ولی در صورت محدود بودن تعداد اندازه گیری ها مفید است.

**کتون ها در ادرار:** در صورت نقص در متابولیسم یا جذب کربوهیدرات و یا وجود کربوهیدرات ناکافی در رژیم غذایی، بدن با متابولیسم مقادیر بیشتری از اسیدهای چرب، آن را جبران می کند. در صورت بالا بودن متابولیسم اسیدهای چرب، کتون بادی ها (محصولات ناشی از متابولیسم ناقص چربی) در خون ظاهر شده و به دنبال آن در ادرار دفع می شوند. در کتونوری سه نوع کتون بادی در ادرار دیده می شوند که شامل: اسید استواسستیک (دی استیک) (۲۰٪)، استون (۲٪) و ۳-هیدروکسی بوتیرات (حدود ۷۸٪) می باشند. استواسستیک اسید به طور غیرقابل برگشت به استون تبدیل می شود. همچنین استواسستیک اسید، به طور برگشت پذیر به بتا هیدروکسی بوتیرات (۳-هیدروکسی بوتیرات) نیز تبدیل می شود.

**کتونوری دیابتی:** کتونوری به حضور کتواسیدوز (کتوزیس) دلالت دارد که منجر به کمای قریب الوقوع می شود ، تا ۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر اسید استواستیک در غیاب شواهد بالینی کتوزیس محتمل است . بیماران دیابتی نوع یک بیشتر مستعد حملات کتوزیس هستند که اغلب با عفونت ، استرس و سایر مشکلات در مدیریت و کنترل آن همراه می باشد . درحالیکه مقدار زیادی کتون و گلوکز در ادرار فرد دیابتی مبتلا به کتواسیدوز وجود دارد ولی در کمای هیپرگلیسمیک هیپراسمولار که گاهی در دیابت نوع ۲ اتفاق می افتد ، کتونوری دیده نمی شود . کتواسیدوز با افزایش خفیف تا متوسط گلوکز (کتواسیدوز یوگلیسمیک) یک عارضه ی گزارش شده ی داروهای ضد دیابت جدید مهار کننده ی پمپ هم انتقالی سدیم - گلوکز ۲ (SGLT2) است.

**کتونوری غیر دیابتی:** در شیرخواران و کودکان در شرایطی چون بیماری های حاد تب دار و حالات توکسیک همراه با اسهال و استفراغ کتونوری ایجاد می شود . در کتوزیس شدید و پایدار نوزادی باید بیماری متابولیک ارثی را در نظر داشت . کتونوری ممکن است در استفراغ شدید حاملگی ، کاشکسی و پس از بیهوشی ایجاد شود . در این موارد ، کتونوری احتمالاً (مربوط به افزایش کاتابولیسم بافتی (به خصوص چربی) ، در مواجهه با مصرف محدود غذا می باشد . در حاملگی ممکن است یک فرد بیمار طبیعی در حالت ناشتا ، سطح پایینی از گلوکز خون و کتونوری خفیف داشته باشد . گاهی اوقات در بیماران هیپرتیروئیدیسم و متعاقب سرما یا فعالیت شدید یا به دنبال رژیم کم کربوهیدرات (کتوژنیک) جهت کاهش وزن، کتونوری مشاهده می شود.

**اسیدوز لاکتیک:** ممکن است در مواردی چون شوک، دیابت قندی ، نارسایی کلیه ، بیماری کبدی ، عفونت ها و در پاسخ به داروهای معینی به خصوص فن فورمین و مسمومیت با سالیسیلات دیده شود . هیپر لاکتاتمی در بیماری های متابولیک ارثی معین شامل بیماری ذخیره ای گلیکوژن تیپ ۱ ، (GSD) نقص در آنزیم پیرووات دهیدروژناز (PDH) و تعداد زیادی از بیماری های میتوکندریایی گزارش شده است . استواستات و ۳ هیدروکسی بوتیرات ممکن است بسیار بالا بوده گرچه به طور معمول ، بوتیرات بالا و استواستات پایین است . در این شرایط کتونوری ممکن است توسط تست روتین نیتروپروساید شناسایی نشود.

**روشها:** به علت اینکه استون ، اسید استواستیک و ۳- هیدروکسی بوتیرات همگی در ادرار فرد دارای کتونوری حضور دارند ، روشهایی که هر کدام از این سه جسم کتونی را در ادرار جستجو می کنند برای تشخیص کتونوری مفید هستند، از جمله تستهای رایج ، نوار نیتروپروساید و قرص بر مبنای روش روترا بوده و استواستیک اسید و استون را مشخص می کند . روشهای متفاوتی وجود دارند که تنها اسید استواستیک یا اسید استواستیک و استون را اندازه گیری می نمایند . کلرید فریک (Gerhardt,s test) اسید استواستیک را مشخص می سازد . این روشها ۳- هیدروکسی بوتیرات یعنی جسم کتونی غالب را اندازه گیری نمی کنند . در ادرار و پلاسما ، نوارها و قرصهای معرف با ۱۰ میلی گرم در دسی لیتر اسید استواستیک واکنش می دهند و به استون حساسیت کمتری نشان می دهند. سطح خونی اجسام کتونی را می توان توسط نوار ادراری کتون ، در کنار بستر بیمار تخمین زد . این روش



بخصوص برای تعیین شدت کتوزیس در درمان اسیدوز دیابتی سودمند می باشد. وقتی بیمار با آزمایشهای کیفی استون و اسید استواسستیک پیگیری می شود، گزارشهای مکرر سطوح به شدت افزایش یافته، تغییرات رخ داده را منعکس نخواهند کرد. در چنین مواردی توسط اندازه گیری رقت های مختلف تهیه شده از هر نمونه با روش تست قرص Rothera یا نوامعرف، میتوان نتایج نیمه کمی را به دست آورد. به علت معرفها و کتونهای ناپایدار، نتایج منفی کاذب میتوانند مشکلاتی را ایجاد کنند. فعالیت باکتریایی باعث از دست رفتن اسید استواسستیک می شود که در *in Vivo* می تواند مانند *in Vitro* اتفاق بیافتد. استون در دمای اتاق تبخیر می شود اما اگر در ظرف دربسته و در یخچال نگهداری شود پایدار می ماند. نمونه های داخل یخچال برای آزمایش باید به دمای اتاق باز گردند. نگهدارنده ها از زائل شدن کتونها جلوگیری نمی کنند. در صورتی که نتایج غیر قابل قبول باشد، معرفهای تازه ای را که در برابر کنترل های مثبت و منفی تست شده اند باید استفاده کرد.

**نوار معرف:** این روش بر پایه واکنش نیتروپروساید (نیتروفری سیانید سدیم) برای کتونها می باشد. ترکیبات مختلفی از این ماده وجود دارند. نوارهای معرف بدون قلیا با اسید استواسستیک واکنش می دهند ولی با استون واکنش نمی دهند. با نتایج بالا (+۳) ادرار را میتوان رقیق کرد و دوباره اندازه گیری کرد و نتیجه را به شکل متوسط همراه با فاکتور رقت گزارش کرد.

نوارهای معرف Chemstrip که حاوی نیتروفری سیانید سدیم و گلیسین هستند، با اسید استواسستیک و استون در محیط قلیایی واکنش داده و رنگ بنفش ایجاد می کنند. در صورتی که در شصت ثانیه تغییر رنگ نخودی به بنفش دیده شود، نتیجه مثبت خواهد بود. این روش حدود ۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر اسید استواسستیک و ۷۰ میلی گرم بر دسی لیتر استون را نشان می دهد. حساسیت و واکنش نوار معرف شبیه قرص Acetest است که در زیر مورد بحث قرار می گیرد.

Multistix حاوی بافرها و نیتروفری سیانید سدیم است که با اسید استواسستیک واکنش داده و ظرف ۱۵ ثانیه رنگی صورتی خرمایی مایل به قرمز تولید می کند. ناحیه معرف ۵ تا ۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر اسید استواسستیک را در ادرار نشان می دهد. این نوار با استون واکنش نمی دهد. نوارهای معرف با مقادیر اندک استواستات پلاسما به طور متوسط و کتونهای تام خون به طور ضعیف در ارتباط هستند. بعد از استفاده از فتالئین ها (سولفو بر موفتالئین) [BSP] یا رنگ فنول سولفون فتالئین [PSP] یا در حضور مقادیر بسیار زیاد فنیل کتونها و ۸هیدروکسی کوئینولین نگهدارنده یا متابولیت های L- دوپا واکنشهای رنگی (مثبت کاذب) مشاهده می شود. استیل سیستئین (آئروسل) رنگ قرمز پررنگی ایجاد می کند. داروهای ضد فشارخون متیل دوپا و کاپتوپریل و همچنین سدیم مرکاپتواتان سولفونات [MESNA] داروی شیمی درمانی ادجوان، نتایج مثبت ایجاد می کنند. در صورت از بین رفتن واکنش دهندگی معرف، نتایج منفی کاذب دیده میشود.

**تست قرص نیتروپروساید :** روش تست با قرص زمانی مفید واقع میشود که ادرار دارای یک رنگ مداخله کننده باشد ، با این حال استفادهی روتین از قرص نیتروپروساید برای تأیید نتیجه ی مثبت نوار معرف برای کتونها غیر ضروری است . این قرصها به رطوبت بسیار حساس می باشند و اگر به طور صحیح نگهداری نشوند از بین خواهند رفت . قرص Acetest حاوی نیتروپروساید سدیم ، گلیسین و یک بافر قلیایی قوی است . این قرص می تواند برای ارزیابی خون کامل ، پلاسما ، سرم یا ادرار استفاده شود .

Acetest مقدار ۵ تا ۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر اسید استو استیک و ۲۰ تا ۲۵ میلی گرم بر دسی لیتر استون را در ادرار نشان میدهد و مشابه نوارهای معرف قادر به واکنش با ۳ هیدروکسی بوتیرات نیست . L\_ دوپا و مقادیر زیاد فنیل کتونها و نیز رنگهای BSP و رنگهای PSP که با قلیای موجود در قرصها واکنش میدهند ، نتایج مثبت ایجاد می کنند .

**روش کار:** قرص را روی یک سطح تمیز ترجیحاً یک قطعه کاغذ سفید بگذارید . یک قطره ادرار، سرم، پلاسما یا خون کامل را روی قرص قرار دهید . برای اندازه گیری های ادرار، پس از ۳۰ ثانیه رنگ قرص را با نمودار رنگ مقایسه کنید . برای اندازه گیریهای سرم یا پلاسما پس از دو دقیقه رنگ قرص را با نمودار رنگ مقایسه کنید . برای اندازه گیریهای خون کامل ، لخته خون را از روی قرص برداشته و رنگ قرص را ۱۰ دقیقه پس از قرار دادن نمونه با نمودار رنگ مقایسه کنید .

نمونه	با	نمودار	رنگ	مقایسه	کنید
-------	----	--------	-----	--------	------

قرص با استون و اسید استواستیک رنگ بنفش کمرنگ تا ارغوانی پررنگ را نشان میدهد . نتایج را به صورت منفی ، کم ، متوسط یا زیاد گزارش کنید . اگر نتیجه زیاد بود ، نمونه را میتوان رقیق کرد . این موارد را مانند زیر گزارش کنید : رقیق نشده «زیاد» ، با رقت ۱ به ۲ «زیاد» ، با رقت ۱ به ۴ «متوسط» و به همین ترتیب الی آخر .

**آزمایشهای دیگر برای کتونها :** سالیان متعددی برای اندازه گیری اسید استواستیک ، تست کلرید فریک Gerhardt استفاده میشود ولی روشهای کلرید فریک خیلی اختصاصی نمی باشد و حساسیت آنها پایین و حدود ۲۵ تا ۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر است . روش کلرید فریک با سالیسیلات و ال دو پا نتایج مثبت می دهد . روش لوله ای نیتروپروساید روترا به اسید استواستیک با میزان تقریبی ۱ تا ۵ میلی گرم بر دسی لیتر و استون در میزان تقریبی ۱۰ تا ۲۵ میلی گرم بر دسی لیتر حساسیت نشان می دهد .

### خون هموگلوبین هموسیدرین و میوگلوبین

به حضور تعداد غیر طبیعی سلولهای خونی در ادرار **هماچوری** گفته میشود و به حضور هموگلوبین آزاد در ادرار **هموگلوبینوری** اطلاق می شود . هماچوری نسبتاً شایع است ولی هموگلوبینوری ناشایع بوده و **میوگلوبینوری** به

**هماچوری:** هماچوری آشکار ، حضور تعداد افزایش یافته ی گلبول های قرمز خون در یک نمونه ی ادراری که به درستی جمع آوری شده است ، می باشد . این نوع هماچوری با چشمان غیر مسلح نیز قابل رؤیت می باشد در حالیکه هماچوری میکروسکوپی به حضور ۳ یا تعداد بیشتری گلبول قرمز خون در هر میدان با بزرگ نمایی بالا گفته می شود . اگرچه هماچوری میکروسکوپی بدون علامت ممکن است توسط تست نوار معرف در ۱۶ درصد از جمعیت تحت غربالگری دیده شود ، ولی تعداد زیادی از بیماریهای جدی دستگاه ادراری منجر به آزاد شدن گلبولهای قرمز به داخل ادرار می شوند . یک مطالعه ی گذشته نگر در افرادی که با هماچوری میکروسکوپی تحت بیوپسی کلیه قرار گرفته اند، یافته های هیستوپاتولوژیک متعددی شامل نفروپاتی غشایی ، نفروپاتی IgA، گلومرولونفریت مزانژیوپرولیفراتیو غیر IgA، گلومرولواسکلروز کانونی و اختلالات گلومرولی خفیف را نشان داده است و بیش از ۱۵ درصد بیماران تحت این مطالعه دارای هیستولوژی طبیعی بودند . هماچوری میتواند در مواردی مانند بیماریها (نئوپلاستیک و غیر نئوپلاستیک ) ، تروما (شامل سنگها) در قسمتهای مختلف دستگاه ادراری و در اختلالات خونریزی دهنده و مصرف ضد انعقادها و در زمان استفاده از داروهای دیگر مانند سیکلوفسفامید نیز مشاهده شود . هماچوری ممکن است در اشخاص سالم به دنبال فعالیت شدید (دوندگان ماراتن) و همچنین در خونریزی با منشاء مخاط مثانه به وقوع بپیوندد . به علت اهمیت تشخیص مقادیر اندک هماچوری و نیز به علت تمایل اریتروسیتها به لیز شدن در ادرار، یک تست غربالگری برای هموگلوبین همراه با آزمایش میکروسکوپی رسوب ادراری مفید میباشد . بعضی مطالعات بیانگر این مطلب هستند که جهت شناسایی هماچوری غربالگری هموگلوبین توسط نوار معرف نسبت به آزمایش میکروسکوپی ادرار از حساسیت بیشتری برخوردار است . با این اوصاف مشکل شایع این روش مهار نوار معرف هموگلوبین توسط مواد مداخله گر شایع به خصوص اسید آسکوربیک است که نیاز به یک آزمایش میکروسکوپی متداول برای غربالگری هماچوری و تأیید وجود هماچوری در بیماران دارای نوار معرف مثبت به هموگلوبین را ایجاب می کند .

در صورت مثبت بودن تست برای هموگلوبین همراه با رسوب ادراری نرمال ، لازم است که یک نمونه تازه ادرار را از جهت اریتروسیتها آزمایش کنیم زیرا pHقلیایی یا وزن مخصوص کمتر از ۱/۰۱۰ ممکن است موجب لیز اریتروسیتها گردد . تست ژنتیکی برای کمک به تشخیص کودکان دارای هماچوری میکروسکوپی ایزوله ، دارای طرفداران زیادی می باشد .

**هموگلوبینوری:** عوامل ایجاد کننده همولیز همچنین میتوانند سبب بروز هموگلوبینوری شوند ، اما وجود هموگلوبینوری مربوط به همولیز داخل عروقی است و به همولیز خارج عروقی مربوط نمیشود . هموگلوبین به هاپتوگلوبین پلاسما متصل میشود و به محض اشباع ظرفیت اتصال هموگلوبین آزاد به صورت دایمرهای آلفا بتا با وزن مولکولی ۳۲۰۰۰، از گلومرولها عبور میکند . مقادیری از هموگلوبین توسط سلولهای توبولی پروگزیمال

بازجذب شده و باقیمانده آن در ادرار دفع می شود. پس از فعالیت شدید و به دنبال آن ترومای مستقیم عروق خونی کوچک، احتمال پیدایش هموگلوبینوری وجود دارد. رنگ پلاسما توسط حدود ۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر هموگلوبین به رنگ صورتی در می آید و با همولیز شدید نیز سطوح پلاسمایی ممکن است به یک گرم بر دسی لیتر برسد. افزایش هموگلوبین پلاسما در آنمی همولیتیک اکتسابی شدید اغلب بیشتر از آنمی همولیتیک ارثی می باشد. با این وجود در بیماری سلول داسی شکل تالاسمی هموزیگوت افزایش متوسط هموگلوبین وجود دارد. هموگلوبین ناپایدار موجب ادرار با رنگدانه قهوه ای شده که علت آن یک دیپیرول یا بیلی فوشین می باشد و با نوار معرف برای هم واکنش نمیدهد.

**هموسیدرین در ادرار:** هموگلوبین آزاد به آسانی توسط گلمرولها فیلتره می شود و سپس توسط سلولهای توبولی نزدیک بازجذب شده و در آنجا به فریتین و هموسیدرین کاتابولیزه میگردد. دو تا سه روز بعد از یک حمله همولیتیک حاد که منجر به هموگلوبینوری می شود، هموسیدرین ظاهر میشود. در این زمان نوار معرف برای هموگلوبین اغلب منفی میباشد. با این وجود هموسیدرین را میتوان به صورت گرانولهای زرد قهوه ای به صورت آزاد یا در سلولهای اپیتلیالی و گاهی در کست ها مشاهده نمود. هموسیدرین در رسوب ادراری بیماریهایی که باعث سیدروز حقیقی پارانشیم کلیوی میشوند (هموکروماتوز) ظاهر میشوند. با وجود اینکه هموسیدرینوری نشان دهنده یک وضعیت همولیتیک مزمن است، حضور آن برای تشخیص همولیز الزامی نیست. آزمایشهای دیگر مانند سطح بیلی روبین، لاکتات دهیدروژناز و هاپتوگلوبین سرم معمولاً نشان دهنده تشخیص صحیح می باشند. به علت حضور متناوب هموسیدرینوری، برای اثبات وجود همولیز داخل عروقی مزمن، میتوان مقادیر آهن ادراری را تعیین نمود. دفع طبیعی آهن دارای ۰/۱ میلی گرم در روز است و در هموکروماتوز و یا ترومای اریتروسیت ها توسط دریچه های مصنوعی قلب، افزایش می یابد. سطوح آهن ادرار در آنمی پرنیشیوز و اسفروسیتوز ارثی طبیعی است.

**میوگلوبینوری:** زمانی که فیبرهای عضلانی تخریب می شوند (رابدومیولیز) مثلاً در تروما، میوگلوبین آزاد میشود و به سرعت از خون پاک شده و به صورت رنگدانه قرمز قهوه ای در ادرار دفع می شود. میوگلوبین آزاد مونومری با وزن مولکولی ۱۷۰۰۰ بوده که به سرعت دفع میشود، این در حالی است که کمپلکس هموگلوبین-هاپتوگلوبین به آهستگی از خون حذف میشود. در نتیجه تعدادی از ورزشهای شدید مانند دو ماراتن و کاراته، میوگلوبینوری دیده میشود. دیگر علل کمتر شایع با میوگلوبینوری پایدار یا عود کننده شامل درماتومیوزیت، نقص های فسفوفروکتوکیناز و آدنوزین مونوفسفات دامیناز عضلانی، کمبود پروتئین سه کاره میتوکندریایی و بیماریهای متابولیک عضله می باشد.

رابدومیولیز و میوگلوبینوری معمولاً از تاریخچه و پیگیری دیگر یافته های آزمایشگاهی تشخیص داده می شوند. به طور معمول بیماران دچار رابدومیولیز دارای حساسیت به لمس عضلات یا گرفتگی عضلات بوده و طی یک تا

دو روز بعد از فعالیت ، ادرار قرمز قهوه ای تولید می کند . نوار معرف ادرار برای هموگلوبین به شدت مثبت بوده و پروتئین و تعداد کمی گلبول قرمز وجود دارد . سرم بوده و کراتین کیناز (CK) آلدولاز به شدت افزایش یافته و سطح هاپتوگلوبین طبیعی است. کراتینین سرم ممکن است افزایش یابد. ادرار طی دو تا سه روز شفاف شده و سطح CK سرم کاهش می یابد . در تمییز میوگلوبینوری از هموگلوبینوری ، تاریخچه و اندازه گیری های سرم می توانند کمک کننده باشند .

بر اساس آزمایش ادرار ، تمایز بین هماچوری ، هموگلوبینوری و میوگلوبینوری می تواند مشکل باشد . در همه این موارد ، ادرار قرمز تیره تا قهوه ای بوده و تعدادی اریتروسیت (حتی به میزان بیشتری نسبت به آنچه در هماچوری وجود دارد) در رسوب دیده می شود . در همه این موارد ، نوار معرف برای خون مثبت می باشد . اگر سرم قابل آزمایش باشد، سرم در هموگلوبینمی صورتی رنگ است این در حالی است که در میوگلوبینمی رنگ سرم طبیعی است که به علت پاک شدن سریع آن از خون است . اندازه گیری صحیح کمی میوگلوبین ادرار می تواند توسط ایمونواسی صورت گیرد گرچه تداخل مختصری با هموگلوبین میتواند رخ دهد ولی این یک روش فوق العاده برای آشکار ساختن و تعیین کمیت میوگلوبین در ادرار است .

**تست کیفی برای میوگلوبین : ۱-** نمونه تازه ادرار استفاده کنید . رنگ آن را ببینید . ادرار تازه همراه با میوگلوبینوری به طور واضحی قرمز رنگ است و با گذشت زمان قهوه ای رنگ میشود اما مقداری از میوگلوبین ممکن است در ادرار باشد بدون اینکه تغییر رنگ ایجاد کند . میوگلوبین ، پایداری کمتری در pH اسیدی دارد بنابراین هنگام آزمایش ، نمونه را خنثی نموده و در یخچال نگهداری کنید .

۲- برای سنجش پروتئین ، یک میلی لیتر ادرار و ۳ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳% را با هم مخلوط کنید . اگر رنگدانه رسوب کرد ، پروتئین است . مخلوط را صاف کنید ، در صورتی که مایع فیلتره دارای رنگ طبیعی باشد هیچ رنگدانه غیر پروتئینی غیر طبیعی وجود ندارد ( نکته : تست حرارت و اسید استیک ، میوگلوبین یا هموگلوبین را رسوب نمی دهند) .

۳- ۲/۸ گرم سولفات آمونیوم را به ۵ میلی لیتر ادرار در یک لولهی آزمایش اضافه نمایید، سپس مخلوط کرده تا حل شود . اکنون ادرار توسط سولفات آمونیوم به میزان ۸۰ درصد اشباع شده است که این مرحله برای رسوب هموگلوبین مطلوب است . سپس آن را صاف نموده و یا سانتریفیوژ کنید در صورتی که مایع رویی رنگ طبیعی را نشان داد ، رنگدانه رسوب کرده ، هموگلوبین است . در صورت رنگی بودن مایع رویی ، احتمال حضور میوگلوبین وجود دارد. تست رسوب عمدتاً با ایمونواسی اختصاصی میوگلوبین جایگزین شده است .

الکتروفورز موینگی بر پایه اختلاف تحرک الکتروفوریک هموگلوبین ادراری را از میوگلوبین جدا می کند .

**تشخیص هموسیدرین در ادرار:** واکنش آبی پروسی برای نشان دادن آهن در هموسیدرین کاربرد دارد .

**روش خشک:** هنگام رنگ آمیزی با معرف آبی پروس، هموسیدرین به صورت گرانولهای آبی ظاهر میشود. این گرانولها به اندازه ۱ تا ۳ میکرومتر، منفرد یا به صورت گروهی، در سلولهای اپیتلیالی توبولی کلیه، به صورت رسوب بی شکل یا به صورت گرانولهای آبی در کست ها دیده می شوند. برای نشان دادن سیدروسیت ها در خون یا مغز استخوان، رنگ آمیزی آهن مناسب میباشد. ادرار شبانه را در یک ظرف شیشه ای بدون آهن جمع کنید. دو ساعت کنید سپس سه چهارم آن را دور ریخته و باقیمانده را سانتریفیوژ کنید. از رسوب آن یک یا چند گستره تهیه نموده و اجازه دهید در هوا خشک شود (توجه کنید: همه لوله های آزمایش، لامها، لاملها و غیره باید فاقد آهن باشند. آب نیز باید دمینرالیزه باشد).

**روش کار**

- ۱- اسمیر را در متیل الکل به مدت ۱۰ دقیقه فیکس کنید.
- ۲- آن را با آب بدون آهن (دمینرالیزه) شستشو داده و در مجاورت هوا خشک کنید.
- ۳- ۳۰ دقیقه در معرف آبی پروس قرار دهید.
- ۴- به مدت چهار دقیقه و به ملایمت آن را در آب بدون آهن شستشو داده و در هوا خشک کنید.
- ۵- یک تا ۵ دقیقه در رنگ مخالف سافرانین آ بگذارید.
- ۶- با آب بدون آهن شستشو داده و در هوا خشک کنید.
- ۷- لامل را قرار دهید.

**روش مرطوب**

۱- یک نمونه صبحگاهی یا یک نمونه تصادفی ادرار را به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده و سپس رسوب حاصله را جمع آوری کنید. چند قطره رسوب را برای یافتن گرانولهای خشن زرد قهوه ای به ویژه در داخل سلولهای اپیتلیالی توبولی کلیه یا کستها توسط میکروسکوپ بررسی کنید.

۲- در صورتی که این گرانولها مشاهده شدند، باقیمانده رسوب را در یک مخلوط تازه ۵ میلی لیتر محلول فروسیانید پتاسیم ۲ درصد و ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۱ درصد وارد کرده و برای ۱۰ دقیقه صبر کنید.

۳- سانتریفیوژ کرده و مایع رویی را دور بریزید. رسوب را با میکروسکوپ بررسی کنید. گرانولهای خشن و آبی رنگ هموسیدرین در سلولها، کستها و ماده بی شکل دیده میشوند. در صورتی که گرانول رنگ نگرفته باشد، بعد از ۳۰ دقیقه آزمایش را تکرار کنید (گاهی واکنش با تأخیر صورت میگیرد).

**بیلی روبین در ادرار:** محصول تجزیه هموگلوبین، بیلی روبین است که در سلولهای رتیکولواندوتلیالی، طحال، کبد و مغز استخوان تشکیل می شود که در ابتدا به صورت متصل به آلبومین در خون حمل می گردد. این بیلی روبین

غیر کونژوگه (یا بیلی روبین غیر مستقیم) غیر محلول در آب بوده و قادر به عبور از سد گلوبومرولی کلیه نیست . بیلی روبین غیر کونژوگه به کبد انتقال یافته و با اسید گلوکورونیک کونژوگه شده و به بیلی روبین گلوکورونید تبدیل می شود . این شکل کونژوگه بیلی روبین (بیلی روبین مستقیم ) در آب محلول بوده و قادر به عبور از گلوبومرول های کلیه به داخل ادرار است . بیلی روبین کونژوگه به طور طبیعی از طریق صفرا به دوازدهه وارد می شود . ادرار شخص بالغ سالم تنها ۰/۰۲ میلی گرم بر دسی لیتر بیلی روبین دارد که این مقدار کم توسط روشهای آزمایشگاهی معمول قابل شناسایی نمی باشد، دفع بیلی روبین در آلكالوز افزایش می یابد .

بیلی روبین کونژوگه موجود در ادرار نشانگر افزایش بیلی روبین کونژوگه در جریان خون است که در اثر یکی از دو حالت زیر رخ میدهد :

#### ۱- انسداد جریان صفرا از کبد (داخل یا خارج کبدی)

۲- بیماری سلول کبدی ، که باعث عدم توانایی هپاتوسیتها برای دفع بیلی روبین کونژوگه به داخل صفرا می شود . مثلاً هنگامی که فشار داخل کانالیکول ها ثانویه به التهاب پری پورتال ، فیروز و یا تورم هپاتوسیتها افزایش می یابد ، ممکن است بیلی روبینوری ظاهر شود . سنگهای صفراوی در مجرای صفراوی مشترک یا کارسینوم سر پانکراس از علل انسداد صفراوی خارج کبدی هستند، که منجر به بیلی روبینوری می شوند . در صورت بروز هپاتیت ویروسی حاد یا کلستاز دارویی ، بیلی روبینوری قبل از پیدایش زردی دیده می شود و به طور برجسته با زردی ناشی از هپاتیت الکلی حاد همراه می باشد . در اشخاصی که در معرض سموم یا داروهای بالقوه هپاتوتوکسیک قرار گرفته اند ، علامت زودرس کلستاز یا آسیب کبدی ، تست مثبت بیلی روبینوری می باشد . در هیپر بیلی روبینمی مادرزادی ، از جمله در بیماری های دوبین جانسون و روتور ، بیلی روبین در ادرار دیده می شود ، اما در بیماریهای ژیلبرت و کریگلر نجار دیده نمی شود . بیلی روبینوری همراه با ادرار زرد قهوه ای تا قهوه ای مایل به سبز دیده می شود و ممکن است کف زرد رنگی نیز بر روی آن رؤیت گردد . افزایش بیلی روبین سرم ( کونژوگه ) زردی و مدفوع کمرنگ نیز مشاهده می شوند که مدفوع بدون صفرا نام دارد زیرا فاقد رنگدانه مشتق از بیلی روبین است . یک تست مثبت برای بیلی روبین ادرار همراه با یک تست منفی برای اوروبیلینوزن ادرار ، بیانگر انسداد صفراوی داخل یا خارج کبدی است . این تست در تشخیص افتراقی زردی مفید است زیرا بیلی روبینوری در یرقان همولیتیک دیده نمی شود .

**تستهای تأییدی بیلی روبین :** تست دیازو که در آن بیلی روبین با پارا نیتروبنزن دیازونیوم پارا تولوئن سولفونات همراه بوده و رنگ تشکیل شده آبی یا ارغوانی می باشد کاربرد شایعی دارد ( به شکل قرص یا نوار معرف ) تست نوار معرف نسبت به قرص ، واکنش دهی کمتری به بیلی روبین آزاد دارد به گونه ای که با افزایش عمر ادرار،

تفاوت در نتایج بیشتر ظاهر می شود. تست به کار رفته دیگر معرف کلرید فریک است که بیلی روبین را به بیلی وردین سبز رنگ اکسید می کند. روش قرص دیازو در زیر مورد بحث قرار می گیرد.

توجه: قرصهای معرف هیگروسکوپیک هستند و باید از نم یا رطوبت زیاد به دور باشند. قرص باید در بطری قهوه ای نگهداری شود زیرا تماس مستقیم و طولانی با نور قوی، ترکیب ثابت دیازونیوم را به هم می ریزد. در معرض قرار گرفتن چند هفته ای با حرارت های ۱۰۰ درجه فارنهایت یا بالاتر نیز می تواند منجر به از بین رفتن قرص ها شود. قهوه ای شدن قرص نشانه خرابی آنهاست و هر زمان که بطری جدیدی باز می شود باید قرصها را از نظر واکنش دهی مثبت و منفی کنترل نمود.

**روش کار**

۱- ۱۰ قطره از نمونه را بر روی یک صفحه آزیستوز سلولز موجود در کیت قرار دهید در صورتی که بیلی روبین موجود باشد، جذب صفحه میشود.

۲- یک قرص معرف را روی ناحیه ی مرطوب صفحه بگذارید.

۳- یک قطره آب روی قرص بگذارید ۵ ثانیه صبر کنید و سپس قطره دوم را طوری قرار دهید که از سطح قرص به روی صفحه جریان یابد. در صورت حضور بیلی روبین، با پارا نیتروبنزن دیازونیوم و پاراتولون سولفونات موجود در قرص جفت شده و طی ۳۰ ثانیه رنگ آبی تا ارغوانی تشکیل میشود. برای آشکار شدن رنگ ارغوانی باید قرص را برداشت. رنگ صورتی یا قرمز، منفی است.

تست دیازو با مقادیر ۰/۰۵ تا ۰/۱ میلی گرم بر دسی لیتر بیلی روبین، به طور مثبت واکنش می دهد. هیچ واکنش ارغوانی با بیلی روبین یا رنگدانه های دیگر دیده نمی شود ولی سطوح بالای اوروبیلین یا ایندیکان رنگ قرمز می دهند. ترکیبات آزو (مانند فنازوپیریدین) منجر به رنگ غیر عادی می شوند. ریفامپین نیز ممکن است تداخل ایجاد کند. متابولیت های کلروپرومازین در مقادیر زیاد، رنگ ارغوانی می دهند و متابولیت های داروهای ضدالتهاب اسید مفنمیک و اسید فلوفنامیک نتایج مثبت کاذب ایجاد میکنند.

**روش قرص شستشو:** زمانی که احتمال واکنش مثبت کاذب (به طور مثال با کلرپرومازین) وجود دارد، میتوان آلوده کننده را با رقیق نمودن توسط آب از سطح صفحه شستشو داد.

**روش کار:** دو عدد صفحه برداشته و بر روی هر کدام ۱۰ قطره ادرار بگذارید. ۱۰ قطره آب به یکی از صفحه اضافه کنید. یک قرص معرف را روی هر کدام از صفحات قرار داده و دو قطره آب روی هر قرص بچکانید. در صورتی که بیلی روبین وجود داشته باشد به فیبرهای صفحه جذب شده و به طور مشابه روی هر دو صفحه نمایان خواهد شد اما در صورت وجود ماده تداخل کننده روی صفحه ای که آب اضافی قرار داده شده، رنگ روشن ایجاد میگردد و یا اصلا رنگ نمی گیرد.



سرانجام بیلی روبین کونژوگه از کبد به دوازدهه رسیده و به صورت ترکیب با کلسترول ، نمک های صفراوی و فسفولیپیدها در صفرا دفع میشود . بیلی روبین کونژوگه توسط روده باریک بازجذب نمیشود بلکه در عوض با ورود به کولون، باکتریهای موجود ، عامل کونژوگه را هیدرولیز میکنند . سپس بیلی روبین آزاد به اوروبیلینوژن ، مزوبیلی روبینوژن و استر کوبیلینوژن احیا میگردد . تا ۵۰ درصد از اوروبیلینوژن به داخل جریان خون پورتال بازجذب شده و مجدداً به صورت غیر کونژوگه به داخل صفرا دفع میشود . قسمت عمده ای از اوروبیلینوژن باقیمانده با برداشت بیشتر هیدروژن به صورت اوروبیلینهای رنگی با استر کوبیلین در مدفوع از بدن دفع میشوند . مقدار کمی نیز از طریق ادرار دفع میگردد .

اوروبیلینوژن نشان دهنده یک گروه از ترکیبات تترا پیرولی بهم مرتبط است و از آنجا که مخلوطی از مواد اندازه گیری میشوند ، غالباً اصطلاح نام واحدها به جای عنوان صحیح تر میلی گرم بر دسی لیتر به کار میرود . کلمات معادل یکدیگر هستند . میزان طبیعی دفع اوروبیلینوژن در ادرار ۰/۵ تا ۲/۵ میلی گرم یا واحد در ۲۴ ساعت است . این مواد بیرنگ و ناپایدار هستند . برخلاف اوروبیلین ها که محصولات اکسیداسیون اوروبیلینوژن بوده و به ادرار طبیعی ، رنگ زرد نارنجی میدهند ، دفع اوروبیلینوژن در ادرار قلیایی ، افزایش و در ادرار اسیدی ، کاهش می یابد . در صورتی که کبد توانایی برداشت کافی اوروبیلینوژن بازجذب شده از جریان خون پورتال را نداشته باشد ، اوروبیلینوژن بیش از مقدار طبیعی از کلیه عبور کرده و در ادرار دفع میشود . این مورد در آسیب سلول کبدی به علت هپاتیت ویروسی، داروها یا مواد سمی و در بعضی موارد سیروز دیده می شود . در نارسایی احتقانی قلب ، احتقان کبد از تنظیم مؤثر اوروبیلینوژن جلوگیری کرده و دفع مجدد آن به داخل صفرا آسیب میبندد . اگر عفونتی مانند کلانژیت همراه با انسداد وجود داشته باشد، مقادیر زیادی اوروبیلینوژن همراه با بیلی روبین در ادرار دفع می شود .

در همولیز مقدار زیادی اوروبیلینوژن در ادرار در غیاب بیلی روبین ایجاد میشود. این مورد را میتوان به دنبال لیز حاد اریتروسیتها و همچنین با تخریب پیش سازهای اریتروسیتی مغز استخوان در آنمی مگالوبلاستیک مشاهده کرد . خونریزی بافتی و به دنبال آن تشکیل بیلیروبین اضافی نیز منجر به افزایش اوروبیلینوژن میشود. مدفوع بیماران یرقانی به علت دفع اوروبیلینوژن اضافی در آن تیره رنگ است . تب همراه با دهیدراسیون و ادرار غلیظ نیز میتواند اوروبیلینوژن ادرار را افزایش دهد .

فقدان مداوم اوروبیلینوژن در ادرار همراه با انسداد کامل جریان صفرا به داخل روده همراه با مدفوع رنگ پریده اتفاق میافتد . در نوزادان ، آترزی صفراوی منجر به کاهش قابل توجه اوروبیلینوژن ادرار می شود.

مطالعه ای نشان داد که اوروبیلینوژن ادراری اندازه گیری شده با روش Ehrlich به هنگام ترکیب با اندازه گیری گاماگلوتامیل ترانسفراز سرم ، در تمایز آترزی صفراوی از دیگر علل کلستازی دارای حساسیت ۰.۸٪ و اختصاصیت ۱۰۰٪ میباشد. آنتی بیوتیکهای وسیع الطیف که فلور طبیعی روده را بر هم می زنند ، میتوانند از تبدیل بیلی روبین به اوروبیلینوژن جلوگیری کرده و بنابراین دفع ادراری و مدفوعی آن را کاهش می دهند . رنگدانه قهوه ای مزوبیلی فوشین یک دی پیرول است که به طور طبیعی در رنگ ادرار و مدفوع شرکت میکند . این ماده با تستهای خون یا بیلی روبین واکنش نمی دهد . این رنگدانه محصول جانبی سنتز هم است ولی همانند اوروبیلینوژن از بیلی روبین مشتق نمی شود . مقدار اضافی این رنگدانه ادرار را قهوه ای تیره کرده که میتواند در بتا تالاسمی هموزیگوت یا هر موقع که اجسام Heinz در اریتروسیت ها تشکیل میشوند دیده شود (به عنوان مثال در هموگلوبین های ناپایدار).

بهترین نمونه برای آزمایش ، نمونه تازه ادرار است زیرا اوروبیلینوژن کاملا ناپایدار بوده و در ادرار اسیدی به اوروبیلین غیر واکنش دهنده تبدیل می شود . هر دو نوع نوارهای معرف توسط متابولیت های دارویی نظیر فنازوپیریدین که در محیط اسیدی ، ادراری به رنگ نارنجی قرمز ایجاد میکنند و ترکیبات دیگری از جمله - Azo- Gantrisin تحت تأثیر قرار میگیرند . تمام این مواد ممکن است واکنش با اوروبیلینوژن را مخفی نموده یا نتیجه مثبت کاذب را ایجاد نمی کند . بیلی روبین و خون معمولا اثری بر تست ندارند اما بیلی روبین گاه رنگ سبز ایجاد می کند .

**تست های دیگر اوروبیلینوژن و پورفوبیلینوژن :** در صورتی که آزمایش با نوار معرف حضور بیش از ۱ میلی گرم بر دسی لیتر ماده واکنش دهنده با معرف اریلیخ رانسان دهد میتوان از یک تست کیفی برای اوروبیلینوژن و پورفوبیلینوژن استفاده نمود. تست های کمی به ندرت برای اوروبیلینوژن ادراری به کار می روند . در صورتی که هدف مقایسه کمی در بیماران مشابه باشد ، یک تست دو ساعته استفاده می شود که طی آن ادرار بعد از نهار از ساعت ۲ تا ۴ بعد از ظهر جمع آوری می گردد . این بازه زمانی بعد از غذا همزمان با افزایش دفع اوروبیلینوژن است زیرا pH ادرار تقریبا خنثی است . برای مقایسه می توان بازه های زمانی ۲ ساعته دیگری را آزمایش کرد .

**آزمایش رسوب ادراری:** ارزیابی میکروسکوپی ادرار همراه با آنالیز شیمیایی به وسیله نوار ادرای، به شناسایی فرایندهای بیماری دستگاه ادراری و کلیوی کمک می کند . با میکروسکوپ می توان عناصر سلولی و غیر سلولی ادرار را که واکنش های شیمیایی معینی نمی دهند تشخیص داد. میکروسکوپ همچنین می تواند به عنوان تست تاییدی در برخی موارد به کار گرفته شود (مثلا اریتروسیت ها، لکوسیت ها و باکتری ها) و در ۶۶٪ موارد اطلاعات جدیدی را فراهم کند . در آزمایشگاه های روتین، آزمایش رسوب ادراری برای نمونه های با نتایج نوار معرف غیر طبیعی بهترین و مفیدترین روش است . برای انجام ارزیابی میکروسکوپی ادرار ، باید شناخت کاملی در مورد مورفولوژی یافته ها داشت (مانند ارگانیزم ها، سلول های هماتوپوئیتیک و اپی تلیال ، کرسنال ها و کست ها). افرادی

که با میکروسکوپ کار می کنند باید از ارتباط بالینی یافته های ادراری و نیز اختلالات شیمیایی شایع مرتبط با تفسیرهای میکروسکوپی آگاه باشند. اختلالات باید پیش از انتشار گزارش، بررسی شوند. کیفیت آنالیز میکروسکوپی ادرار به مهارت و تجربه آزمایشگر بستگی دارد. رسوب ادراری سانتریفیوژ شده باید حاوی تمام عناصر تشکیل دهنده باشد که به دنبال فیلتراسیون گلومرولی و عبور مایع از میان توبول های کلیه و دستگاه ادراری تحتانی در ادرار جمع می شوند.

عناصر سلولی از دو منبع نشأت می گیرند:

- ۱- پوسته ریزی | ریزش خودبخود سلول های پوششی اپی تلیوم کلیه و دستگاه ادراری تحتانی
  - ۲- سلول های با منشاء خونی (لکوسیت ها و اریتروسیت ها).
  - ۳- کست های سلولی و غیر سلولی که در توبول ها و مجاری جمع کننده کلیه تشکیل می شوند ممکن است دیده شوند.
  - ۴- کریستال هایی با اهمیت کلینیکوپاتولوژیک متنوع ممکن است حضور داشته باشند.
  - ۵- ارگانیزم ها (باکتری ها، قارچ ها، سلول های حاوی انکلوژیون های ویروسی و انگل ها) و سلول های نئوپلاستیک عناصری هستند که مشخصا برای ادرار بیگانه بوده و در صورت شناسایی نیاز به بررسی بیشتری دارند.
- مقادیر طبیعی یا مرجع برای عناصر تشکیل دهنده در میان آزمایشگاه ها متفاوت می باشد. این تفاوت ها بعلت:

- ۱- تفاوت در غلظت نمونه اتفافی ادرار
- ۲- روش های مختلف به کار رفته برای تغلیظ رسوب توسط سانتریفیوژ می باشد.

### **مواد میکروسکوپی تشکیل دهنده ادرار :**

- ۱- اریتروسیت ها
  - ۲- لکوسیت ها شامل: (نوتروفیل ها ، لنفوسیت ها، لکوسیت های تک هسته ای)
  - ۳- سلول های اپی تلیال شامل: (سلولهای اپی تلیالی سنگفرشی، سلولهای اپی تلیال ترانزیشنال (اوروتلیال)
  - ۴- سلول های اپی تلیال توبولی کلیه
  - ۵- کست ها: ( تنها عناصر تشکیل دهنده ادرار هستند که از کلیه منشا می گیرند).
- انواع کست: کست هیالینی، مومی، اریتروسیتی لکوسیتی کست سلول اپی تلیال توبول کلیه ، گرانولولار، کست های رنگدانه دار و کست پهن.

کریستال ها:

**ادرا راسیدی:** انواع اورات بی شکل ( اورات های کلسیم ، منیزیم، سدیم و پتاسیم )- اورات های کریستالی ( سدیم ، پتاسیم و آمونیوم) و اسید اوریک کریستالی

**ادرا ر قلیایی:** فسفات های بی شکل (کلسیم ، منیزیم)- فسفات های کریستالی- کربنات کلسیم – آمونیوم بیورات

**کریستال های یافت شده در ادرا ر غیر طبیعی:** سیستین- تیروزین- لوسین – کریستال های سولفونامید(سولفادیازین)- آمپی سیلین( دوز بالا)- ماده حاجب رادیوگرافی

### مایع مغزی نخاعی

در افراد بالغ ، به طور طبیعی هر روز ۵۰۰ میلی لیتر مایع مغزی نخاعی ( CSF) تولید می شود ( ۰/۴ ml/min در بزرگسالان حجم کلی از ۹۰ تا ۱۵۰ میلی لیتر متغیر است و در حدود ۲۵ میلی لیتر از آن ، در بطن ها و مابقی در فضای زیر عنکبوتیه می باشد . در نوزادان این حجم ۱۰ تا ۶۰ میلی لیتر می باشد . حجم کلی CSF هر ۵ تا ۷ ساعت جایگزین می شود . تقریبا ۷۰ درصد از CSF توسط اولترافیلتراسیون و ترشح از طریق شبکه کورویید به وجود می آید . پوشش اپاندیم بطنی و فضای زیر عنکبوتیه مغزی ۳۰٪ باقی مانده را تولید می کنند . CSF از طریق سوراخهای جانبی و میانی سیستم بطنی را ترک کرده و از طریق فضای زیر عنکبوتیه در سطح طناب نخاعی و مغزی جریان می یابد . CSF توسط پرزهای عنکبوتیه و به خصوص در طول سینوس ساژیتال فوقانی باز جذب می شود .

CSF چندین عملکرد اصلی دارد که عبارتند از :

۱ ) حمایت فیزیکی؛ به این ترتیب که مغز ۱۵۰۰ گرمی با معلق شدن در CSF حدود ۵۰ گرم وزن پیدا می کند

۲ ) اثر حفاظتی در برابر تغییرات ناگهانی فشار وریدی (ناشی از تنفس و تغییر وضعیت) و فشار شریانی یا فشار ضربه.

۳ ) CSF دارای یک عملکرد دفعی برای مواد زائد می باشد زیرا مغز فاقد دستگاه لنفاوی است، مسیری را فراهم می کند که فاکتورهای آزاد کننده هیپوتالاموسی از طریق آن به سلول های برجستگی میانی منتقل میشوند .

۵- هومئوستاز یونی سیستم عصبی مرکزی را محافظت می کند . مفهوم سد خونی مغزی (BBB) از مطالعات بر روی راه ندادن رنگ ( آبی تریفان ) به دست آمده است و دارای دو جزء مورفولوژیک مجزا میباشد: یک اندوتلیوم مویرگی منحصر به فرد که توسط اتصالات محکم بین سلولی در کنار هم نگه داشته شده اند؛ و شبکه کوروئید، که دارای یک لایه از سلولهای اپاندیمی کوروئیدی تخصص یافته با اتصالات محکم می باشد که بر روی مویرگهای منفذدار قرار دارند . محتوای یونی CSF ( از جمله H و K و Can و Mg و بیکربنات ) به دقت توسط سیستم های انتقالی ویژه ای تنظیم می شوند در حالی که گلوکز، اوره و کراتینین آزادانه منتشر می شوند و برای متعادل شدن به ۲ ساعت یا بیشتر زمان نیاز دارند . پروتئینها با روش انتقال غیر فعال منتقل می شوند و سرعت انتقال شان با گرادیان غلظت پلاسما به CSF نسبت مستقیم و با وزن مولکولی و حجم هیدرودینامیک نسبت عکس دارد. بنابراین سد خونی مغزی هومئوستاز نسبی محیط CNS را در طی آشفتگی های حاد محتویات پلاسما حفظ می کند .

### جمع آوری نمونه و فشار بازشدن

مایع مغزی نخاعی ممکن است پونکسیون کمری ، سیسترنال و گردنی جانبی و یا از طریق کانولا و یا شانت های بطنی جمع آوری گردد . قبل از اخذ مایع باید یک فشارسنج برای اندازه گیری فشار بازشدن تعبیه شود . فشار CSF با تغییرات موقعیتی ، فشارخون ، بازگشت وریدی ، مانور والسالوا و فاکتورهایی که جریان خون مغز را تغییر می دهند ، تغییر می باید . فشار باز شدن طبیعی در افراد بزرگسال در موقعیت خوابیده به پهلو به صورتی که اندام تحتانی و گردن در وضعیت خنثی باشند ، بین ۹۰ تا ۱۸۰ میلی متر آب است . اگر بیمار در موقعیت نشسته باشد این فشار اندکی بالاتر است . و در هنگام دم نیز تا ۱۰ میلی لیتر آب تغییر میابد. با این وجود در بیماران چاق ، فشار حتی به ۲۵۰ ملی لیتر آب هم می رسد. در شیرخواران و خردسالان محدوده طبیعی فشار بازشدن ۰ تا ۱۰۰ میلی لیتر آب است و در سن ۶ تا ۸ سالگی به محدوده طبیعی در بزرگسالان می رسد .

فشار بازشدن بالاتراز ۲۵۰ میلی لیتر آب نشانه افزایش فشار درون جمجمه ای است که ممکن است ناشی از مننژیت ، خونریزی داخل جمجمه ای و تومورها باشد. اگر فشار بازشدن در بیماران در حال استراحت ، بیشتر از ۲۰۰ میلی لیتر آب باشد ، نباید بیشتر از ۲ mL مایع بیرون کشیده شود .

افزایش فشار درون جمجمه ای ایدیوپاتیک ، بیشتر در زنان چاق و در دوران حاملگی آنها دیده میشود . در صورت تشخیص بالا بودن فشار بازشدن ، CSF باید به آرامی و همراه با پایش دقیق فشار، بیرون کشیده شود . وقتی که فشار ، به ۵۰٪ فشار بازشدن برسد ، نباید از بیمار، مایع CSF بیشتری اخذ گردد . فشار افزایش یافته ممکن است در بیماران که تحت تنش یا کشش قرار دارند ، یا مبتلا به نارسایی احتقانی قلب ، مننژیت ، سندرم ورید اجوف فوقانی ، ترومبوز سینوس های وریدی ، ادم مغزی ، ضایعات توده ای ، هیپواسمولالیته و یا وضعیت های مهار کننده

جذب CSF هستند ، دیده شود . افزایش فشار باز شدن ممکن است تنها اختلال موجود در مننژیت کریپتوکوکوسی و تومور کاذب مغزی باشد . کاهش فشار CSF ممکن است در انسداد نخاعی زیرعنکبوتیه ای ، دهیدراسیون ، کلایس گردش خون و نشت CSF دیده شود . یک افت فشار مشخص پس از اخذ ۱ تا ۲ میلی لیتر ، بیانگر وجود فتق یا انسداد نخاعی در بالای محل پونکسیون می باشد و در این موقعیت باید از اخذ مایع بیشتر اجتناب شود . به طور طبیعی میتوان تا ۲۰ میلی لیتر مایع نخاعی گرفت . با این وجود پزشک نه تنها باید از مقادیر CSF مورد نیاز برای آزمون های توصیه شده آگاه باشد تا مقدار کافی نمونه اخذ گردد ، بلکه باید برای آزمایشگاه تاریخچه بالینی مناسبی از بیمار فراهم نماید . محل اخذ نمونه (مانند کمری، سیسترنال) باید ذکر شود زیرا پارامترهای سیتولوژی و شیمیایی در مکان های مختلف متفاوت می باشند . اندازه گیری همزمان قند سرم الزامی است . به علت تأخیر در تعادل سرم CSF، بهترین زمان گرفتن قند سرم ۲ تا ۴ ساعت قبل از پونکسیون کمری است .

نمونه CSF به طور معمول در سه لوله آزمایش استریل تقسیم میشود . لوله اول برای مطالعات ایمونولوژی و شیمیایی ، لوله دوم برای آزمایش های میکروبیولوژی و لوله سوم برای شمارش و افتراق سلولی . در صورتی که به بدخیمی مشکوک شویم یک لوله اضافی نیز برای سیتولوژی در کنار لوله سوم قرار داده می شود . البته در موقعیت های مشخص ، ایجاد برخی تغییرات الزامی است . مثلا اگر لوله اول در اثر پونکسیون تروماتیک ، آلوده به خون و هموراژیک باشد ، نباید برای اندازه گیری پروتئین به عنوان هدف اصلی آزمایش CSF مانند موارد مشکوک به اسکروز متعدد ( از این نمونه استفاده شود. در واقع بهتر است لوله سوم به مواردی اختصاص داده شود که هدف اصلی تهیه نمونه CSF است . شاید تنها اظهار نظر قطعی این باشد که لوله اول را هرگز نباید برای میکروبیولوژی به کار برد زیرا امکان دارد به باکتری های پوست آلوده باشد . به علت اینکه ایجاد چسبندگی سلولها به شیشه بر شمارش و افتراق سلولها تأثیر گذار است ، باید از استفاده از لوله های شیشه ای پرهیز کرد . لازم است نمونه ها به سرعت به آزمایشگاه فرستاده شود و تحت آزمایش قرار گیرد تا تخریب سلولی که یک ساعت پس از اخذ نمونه شروع می شود به حداقل برسد . قرار دادن نمونه های کشت در یخچال ممنوع است زیرا ارگانسیم های حساس مانند هموفیلوس آنفلوانزا و نایسریا مننژیتیدیس زنده نمی مانند . در نمونه هایی که احتمالا فلوسایتومتری برای تشخیص سلولهای لوکمی یا لنفوم مورد نیاز است ، نگهداری نمونه در یخچال ممکن است بیان و یا تشخیص آنتی ژنهای سطحی مشخصی را روی این سلولها تحت تأثیر قرار دهد .

**اندیکاسیونها و آزمایشهای توصیه شده :** می توان اندیکاسیونهای پونکسیون کمری را به چهار گروه اصلی بیماری تقسیم کرد: عفونت مننژی ، خونریزی زیر عنکبوتیه ، بدخیمی های اولیه یا متاستاتیک و بیماریهای از بین برنده

میلین . تشخیص مننژیت عفونی ، به خصوص نوع باکتریال آن ، مهمترین علت آزمایش CSF است . تستهای آزمایشگاهی توصیه شده برای تعیین این بیماریها به کار می روند . در سایر اختلالات ، آزمایش CSF کمتر کمک کننده است ولی اغلب مدرک حمایت کننده ای از یک تشخیص بالینی فراهم آورده یا به رد بیماریهای دیگر کمک می کند.

**آزمایش ماکروسکوپی:** CSF بیعی ، شفافیتی مانند کریستال داشته ، بی رنگ بوده و ویسکوزیته آن مشابه آب می باشد . CSF غیر طبیعی ممکن است کدر، چرکی یا آغشته به پیگمان باشد . کدورت یا حالت ابری پیدا کردن زمانی آغاز می شود که تعداد گلبولهای سفید ، بیشتر از ۲۰۰ عدد در هر میکرولیتر یا گلبولهای قرمز، بیشتر از ۴۰۰ عدد در هر میکرولیتر باشند . با این وجود تعداد RBC در مایعاتی که به طور واضح خونی می باشند بیشتر از ۶۰۰۰ عدد در هر میکرولیتر می باشد . میکروارگانیزم ها (باکتری ها ، قارچ ها و آمیب ها ) ، ماده حاجب رادیوگرافی ، آسپیراسیون چربی اپی دورال و افزایش پروتئین بیشتر از ۱۵۰ میلی گرم بردسی لیتر (۱/۵ گرم برلیتر) نیز ممکن است درجاتی از کدورت را ایجاد کند . افراد باتجربه و سابقه دار ممکن است بتوانند با چشم غیر مسلح تعداد سلول کمتر از ۵۰ عدد در هر میکرولیتر را با استفاده از اثر تیندال تشخیص دهند . تابش مستقیم نور خورشید که بازایه ۹۰ درجه از مشاهده گر بر روی لوله آزمایش متمرکز شده ، منجر به ایجاد یک ظاهر درخشنده یا برف مانند میشود که به علت پراکندگی نور توسط ذرات معلق میباشد .

**تشکیل لخته** ممکن است درپونکسیون تروماتیک ، انسداد کامل نخاعی (سندرم فروین ) ومننژیت چرکی وسلی دیده شود . این حالت در بیماران با خونریزی زیرعنکبوتیه دیده نمیشود . غشاهای ظریف سطحی ممکن است بعد از قرار دادن در یخچال به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت مشاهده شوند . لخته ها ممکن است با به دام انداختن سلولهای التهابی یا تداخل با دستگاه های شمارشگر خودکار ، در شمارش صحیح سلول ها تداخل ایجاد کنند .

**CSF چسبنده :** ممکن است در موارد آدنوکارسینوم مستاتیک تولید کننده موسین ، مننژیت کریپتوکوکی ( به علت پلی ساکارید کپسول ) یا نوکلئوس پولپوزوس مایع ناشی از آسیب سوزن به آنولوس فیبروزوس دیده شود **CSF صورتی - قرمز** به طور معمول نشان دهنده حضور خون بوده و زمانی خون به نظر میرسد که تعداد RBC در آن به بیش از ۶۰۰۰ در هر میکرولیتر برسد و این حالت می تواند از خونریزی زیر عنکبوتیه، خونریزی داخل مغزی، سکتة مغزی یا پونکسیون تروماتیک نخاعی گرفته باشد.

**گزانتو کرومی:** منظور از گزانتو کرومی وجود رنگ صورتی روشن تا زرد در مایع رویی CSF پس از سانتریفیوژ میباشد ، با این وجود ممکن است در رنگهای دیگر نیز دیده شود. برای تشخیص گزانتو کرومی ، باید CSF را ابتدا سانتریفیوژ کرد و سپس مایع رویی آن را با لوله محتوی آب مقطر مقایسه کرد . CSF گزانتو کرومیک به علت لیز RBC و تخریب هموگلوبین ، صورتی، نارنجی و یا زرد رنگ می باشد . گزانتو کرومی صورتی کمرنگ تا نارنجی که

به علت آزاد شدن اکسی هموگلوبین می باشد، دو تا چهار ساعت بعد از شروع خونریزی زیر عنکبوتیه در پونکسیون کمتری دیده می شود. با این وجود ممکن است این زمان تا ۱۲ ساعت نیز طول بکشد. حداکثر شدت حدود ۲۴ تا ۳۶ ساعت اتفاق می افتد و به تدریج طی ۴ تا ۸ روز ناپدید می شود. گزانتو کرومی زرد رنگ ناشی از بیلی روبین می باشد که ۱۲ ساعت بعد از خونریزی زیر عنکبوتیه ایجاد می شود و طی ۲ تا ۴ روز به اوج خود رسیده و ممکن است ۲ تا ۴ هفته باقی بماند.

گزانتو کرومی قابل رؤیت CSF ممکن است در موارد زیر نیز دیده شود:

۱- اکسی هموگلوبین ناشی از لیز مصنوعی گلبول قرمز به علت آلودگی سوزن یا لوله آزمایش با دترجنت یا یک تأخیر بیشتر از یک ساعت برای قرار ندادن نمونه در یخچال تا زمانی که بر روی آن آزمایش صورت گیرد.

۲- بیلی روبین (بیلی راشیا) در بیماران یرقانی ۳- پروتئین CSF بیش از ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر که در پونکسیون تروماتیک با بیش از ۱۰۰۰۰۰ RBCs در هر میکرولیتر، انسداد کامل نخاعی، پولی نوریت و مننژیت وجود دارد. ۴- آلودگی با ضد عفونی کننده. ۵- کاروتنوئیدها (نارنجی) در افرادی که هیپر کاروتنمی تغذیه ای دارند (مثل هیپر ویتامینو A-۶- ملانین (مایل به قهوه ای) ناشی از متاستاز ملانوم به مننژ. ۷- درمان با ریفامپین (قرمز نارنجی). با وجود اینکه اسکن جذب طیفی در تشخیص گزانتو کرومی دارای ارزش عینی می باشد، حساسیت آن معادل مشاهده دقیق با چشم غیر مسلح گزارش شده است. اسپکتروفتومتری میتواند به افتراق بین مواد مشتق از هموگلوبین با سایر رنگدانه های گزانتو کرومی که دارای حداکثر جذبهای متفاوت می باشند کمک کند.

**تشخیص افتراقی**

**CSF خون**

حدود ۲۰٪ از پونکسیونهای کمتری، تروماتیک میباشند. افتراق پونکسیون تروماتیک از خونریزی پاتولوژیک دارای اهمیت حیاتی می باشد. با این وجود حضور گلبولهای قرمز خاردار مفید نیست و ارزشی ندارد ولی مشاهدات زیر در افتراق این دو شکل از خونریزی ممکن است مفید واقع شود:

۱- در پونکسیون تروماتیک مایع خونی معمولاً بین اولین و سومین لوله جمع آوری نمونه به تدریج شفاف خواهد شد ولی در خونریزی زیر عنکبوتیه نسبتاً یکنواخت باقی می ماند.

۲- گزانتو کرومی و شواهد میکروسکوپی اریتروافگوسیتوز یا ماکروفاژهای سرشار از هموسیدرین در غیاب پونکسیون تروماتیک قبلی، نشانگر خونریزی زیر عنکبوتیه می باشد. لیز RBC بلافاصله در مدت ۱ تا ۲ ساعت پس از پونکسیون تروماتیک آغاز میشود. بنابراین سنجش سریع نمونه ضروری می باشد تا از نتایج مثبت کاذب



اجتناب

شود.

۳- یک تست ایمونواسی آگلوتیناسیون لاتکس برای D دایمرهای مشتق از فیبرین دارای پیوند متقاطع ، به صورت تجاری در دسترس بوده که برای تشخیص تخریب فیبرین اختصاصی است و در موارد پونکسیون تروماتیک منفی می باشد. با این حال نشان داده شده است که نمی تواند به طور موثر خونریزی تحت عنکبوتیه را از پونکسیون کمري تروماتیک، تشخیص دهد.

## آزمایش

### میکروسکوپی

**شمارش کلی سلولها:** اگر چه روش سنتی شمارش دستی سلولها بر روی نمونه های رقیق نشده CSF به عنوان یک روش مفید تلقی می گردد ولی به علت اینکه به طور معمول با شمارش پایین سلولها در CSF مواجه هستیم دقت شمارش دستی در این نمونه ها به طور ذاتی محدود است . امروزه پیشرفت در زمینه سخت افزاری و نرم افزاری فلوسیتومترها ، استفاده مطمئن از این ابزار را در زمینه شمارش کلی و افتراقی WBC به صورتی خودکار فراهم آورده و حتی در نمونه های CSF باکتری ها را نیز مشخص می کند . اگرچه این دستگاهها به طور فزاینده ای در کلینیک ها برای انجام اینگونه شمارشها روی نمونه های CSF استفاده می شوند ، سطوح تصمیم گیری کلینیکی پایین برای شمارش WBC تام در CSF و محدودیتهای تکنیکی دائم فلوسیتومترها و انواع مشخصی از WBC نگرانی هایی برای استفاده از این دستگاهها برای CSF به وجود آورده است . زمانی که موضوع هزینه و زمان انجام فرایند در نظر گرفته می شود ، ممکن است شمارش WBC توتال و شمارش افتراقی WBC به روش خودکار جایگزین معقولی برای شمارش دستی باشد . شمارش دستی را میتوان برای جلوگیری از خطای گزارش نکردن انواع سلولی پاتولوژیک به روش خودکار اضافه کرد . هنگام در نظر داشتن استفاده از یک شمارنده سلول خودکار برای نمونه های CSF آزمایشگاه ها باید به دقت راهنماهای انستیتوی استانداردهای آزمایشگاهی و کلینیکی و نیز دستورالعملهای تولید کنندگان را دنبال کنند . شمارش طبیعی لوکوسیت ها در بزرگسالان بین ۰ تا ۵ سلول در میکرولیتر است . این مقدار در نوزادان تازه متولد شده بالاتر است و بین ۰ تا ۳۰ سلول در میکرولیتر است و حد بالایی این طیف تا رسیدن به سن نوجوانی به مقادیر بالغین کاهش پیدا می کند . هیچ گلبول قرمزی نباید در CSF نرمال دیده شود . اگر گلبولهای قرمز متعددی ( به جز در موارد پونکسیون تروماتیک) دیده شود باید احتمال یک فرایند پاتولوژیک را در نظر داشت (مثلا ضربه ، بدخیمی ، انفارکتوس و خونریزی) . همچنین گرچه شمارش سلولهای قرمز ارزش تشخیصی محدودی دارد ولی میتواند تخمین مناسبی از تعداد صحیح گلبولهای سفید خون CSF یا مقدار پروتئین تام در حضور یک پونکسیون تروماتیک ، با تصحیح لوکوسیتها یا پروتئین های ایجاد شده به وسیله پونکسیون تروماتیک ، فراهم

آورد. به منظور معتبر بودن نتایج، تمام اندازه گیری ها ( WBC RBC و پروتئین) باید بر روی محتویات یک لوله آزمایش مشابه انجام شود. همچنین در این پروسه فرض میشود که خون منحصراً از پونکسیون تروماتیک به دست آمده باشد.

تعداد WBC تصحیح شده عبارت است از:

$$\text{WBC (اصلاح شده)} = \text{WBC (مشاهده شده)} - \text{WBC (اضافه شده)}$$

$$\text{RBC (خون)} / \text{RBC (CSF)} \times \text{WBC (خون)} = \text{WBC (اضافه شده)}$$

تعداد لکوسیت‌های CSF = WBC (مشاهده شده) (شده)  
 لوکوسیت اضافه شده به CSF توسط پونکسیون تروماتیک = WBC (اضافه شده)

$$\text{WBC (خون)} = \text{تعداد لوکوسیت در خون محیطی}$$

تعداد گلبول قرمز در CSF = RBC (خون) (شده)  
 تعداد گلبول قرمز در خون محیطی = RBC (خون)  
 ممکن است از یک فرمول شیمیایی مشابه برای تصحیح کل پروتئین (TP) اضافه شده استفاده شود:

$$\text{TP (اضافه شد)} = [\text{TP (سرم)} \times (\text{HCT} - 1)] \times \text{RBC (CSF)} / \text{RBC (خون)}$$

در حضور مقادیر طبیعی RBC خون محیطی و پروتئین سرم، یک WBC به ازای هر ۷۰۰ عدد RBC و ۸ میلی گرم در دسی لیتر پروتئین به ازای هر ۱۰۰۰۰ عدد RBCs در میکرولیتر محاسبه می شود. استفاده از ضریب تصحیح RBC زمانی دقیق است که شمارش WBC خون محیطی خیلی بالا و خیلی پایین نباشد. اگر نسبت تعداد WBC مشاهده شده به مورد انتظار (اضافه شده) بیش از ۱۰ باشد، برای مننژیت باکتریایی، حساسیت ۸۸ درصد و اختصاصیت ۹۰ درصد خواهد بود. زمانی که WBC پیش بینی شده کمتر از تعداد مشاهده شده باشد، احتمال مننژیت باکتریایی پایین می باشد.

### مایع مفصلی (سینوویال)

**سینوویوم** به بافت پوشاننده غلافهای تاندونی سینوویال، بورس ها و مفاصل دی آرترودیال به جز سطح مفصلی اطلاق می شود. این بافت دارای یک تا سه لایه سلولی بوده و به صورت غیر پیوسته بافت چربی مفصل، فیبروز

یا پریوستال را می پوشاند .

**مایع سینوویال (SF)** یک اولترافیلترای ناقصی از پلاسما همراه با اسید هیالورونیک تولید شده توسط سلولهای سینوویال می باشد . یونها و مولکولهای کوچکی (نظیر گلوکز، اوره و  $K^+$  و  $Na^+$ ) به آسانی به داخل فضای مفصلی وارد شده و بنابراین غلظتی مشابه پلاسما دارند در حالی که مولکولهای بزرگ وجود نداشته یا تنها به مقدار اندکی دیده می شوند . بازجذب مولکولهای سینوویال توسط لنفاتیک ها صورت گرفته و وابسته به اندازه نمی باشد . مایع سینوویال به عنوان یک ماده نرم کننده و چسبنده عمل نموده و مواد غذایی لازم برای غضروف مفصلی فاقد عروق را فراهم مینماید . آزمایش مایع سینوویال برای افتراق آرتریت عفونی از غیر عفونی ضروری است . نتایج آزمایش ماکروسکوپی و میکروسکوپی مایع سینوویال بر اساس نوع واکنش تقسیم بندی می شوند . گروههای فوق عمدتاً توصیفی بوده و همپوشانی قابل توجهی بین آنها وجود دارد به استثنای رنگ آمیزی گرم ، کشت و آزمایش های کریستال ، پارامترهای مایع مفصلی میتوانند غیر اختصاصی باشند و باید در زمینه یافته های بالینی تفسیر شوند .

**تظاهرات غیر التهابی :** (گروه I) به طور شاخص دارای شمارش لکوسیتی کمتر از ۳۰۰۰ در میکرولیتر بوده و نوتروفیل ها در اقلیت قرار دارند . استئوآرتریت ، آرتریت تروماتیک ، استئوآرتروپاتی نوروپاتیک ، سینوویت ویلوندولار پیگمانته و تب روماتیسمی اولیه با پاسخ التهابی کمی تظاهر پیدا می کنند . گاهی تب روماتیسمی اولیه و عفونتهای باکتریایی اولیه و آرتریت های ویروسی به صورت تظاهرات غیر التهابی تظاهری می یابند .

**تظاهرات التهابی** (گروه II) شمارش لکوسیتی بین ۳۰۰۰ و ۷۵۰۰۰ در میکرولیتر دارند به گونه ای که نوتروفیل ها بیشتر از ۵۰٪ از آنها را تشکیل می دهند . آرتریت روماتوئید ، لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) ، سندرم رایتز، تب روماتیسمی ، آرتریت حاد ناشی از کریستال ، آرتریت همراه با بیماری التهابی روده ، آرتریت پسوریاتیک و سینوویت قطرات چربی مثال هایی از این گروه واکنشی هستند .

**تظاهرات چرکی (عفونی)** (گروه III) به طور شاخص شمارش لکوسیتی بیشتر از ۵۰،۰۰۰ در میکرولیتر دارند به طوری که نوتروفیل ها بیش از ۹۰٪ آنها را تشکیل می دهند . عفونتهای مفصلی باکتریایی ، قارچی و سلی از این گروه باشند .

**تظاهرات خونی** (گروه IV) ممکن است در ارتباط با آرتریت تروماتیک ، سینوویت ویلوندولار پیگمانته ، همانژیوم سینوویال ، استئوآرتروپاتی نوروپاتیک ، پروتزهای مفصل و اختلالات هماتولوژیک (هموفیلی ، درمان ضدانعقادی ، بیماری یا صفت سلول داسی شکل) دیده شوند .

**جمع** **آوری** **نمونه**

آسپیراسیون مایع مفصلی (ارتروسنتر) باید به بیمارانی محدود شود که دارای افیوژن تشخیص داده نشده بوده با یک تغییر بالینی چشمگیر مرتبط با یک افیوژن شناخته شده دارند. این عمل باید توسط یک فرد با تجربه و با

استفاده از تکنیک کاملاً استریل انجام شود باید احتیاط کرد که عفونت را از باکتری می خون یا از یک کانون عفونت بافت نرم اطراف مفصل به داخل مفصل استریل منتقل نکنیم. مفاصل بزرگی مانند زانو به طور طبیعی بیش از ۴ میلی لیتر مایع مفصلی ندارند بنابراین به جز در موارد افیوژن، حجم کم نمونه معمول است.

مایع سینوویال را با سوزن های یکبار مصرف استریل و سرنگ های پلاستیکی جمع آوری کنید تا از آلودگی با ذرات ریز دارای انکسار جلوگیری شود. در آرتروسنتز روتین سرنگ با ۲۵ واحد هپارین سدیم به ازای هر میلی لیتر SF، هپارینه می شود. از ضد انعقاد های اگرالات، پودر اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و هپارین لیتیم باید اجتناب کرد زیرا آنها با تشکیل آرتیفکت های کریستالی طی آزمایش میکروسکوپی همراه کننده هستند. برای اطمینان از مخلوط شدن محتویات مفصل، قبل از انجام اسپیراسیون مفصل را برگردانده یا مالش دهید. بهتر است نمونه را به سه قسمت تقسیم نمود: ۳ تا ۱۰ میلی لیتر در داخل یک لوله یا سرنگ هپارینه استریل برای مطالعات میکروبیولوژیک، ۲ تا ۵ میلی لیتر در یک لوله ضد انعقاد (هپارین سدیم یا EDTA مایع) برای آزمایش میکروسکوپی و حدود ۵ میلی لیتر در داخل یک لوله عادی (فاقد ضد انعقاد) برای آنالیز شیمیایی (مایع مفصلی طبیعی لخته نمیشود زیرا فیبرینوژن ندارد). غلظت های هپارین بیشتر از ۱۲۵ واحد بر میلی لیتر اثر مهارتی بر روی تعدادی از باکتری های بیماری زا دارد. بنابراین اگر نمونه های مربوط به کشت در لوله های هپارین با درب سبز رنگ حاوی ۱۴۳ واحد هپارین یا در سرنگ های سرپوش دار شده بعد از این که سوزن و هوای اضافی آنها خارج شده ارسال شوند، باید حداقل حجمی معادل ۱ تا ۲ میلی لیتر داشته باشند. در پونکسیون های (Dry taps) ممکن است مقدار کمی مایع در داخل سوزن وجود داشته باشد که برای بیشتر تست های قطعی کفایت می کند. سوزنی که هنوز به سرنگ است را به داخل یک چوب پنبه استریل فرو برده و ارسال میکنیم. ارتباط مناسب با آزمایشگاه برای پردازش چنین نمونه هایی حیاتی است. همچنین در جمع آوری مایع سینوویال تزریق سالین و اسپیراسیون متعاقب پونکسیون Dry tap مفید است.

**آزمونهای توصیه شده:** سنجش آزمایشگاهی مایع سینوویال اهمیت بسیاری در تشخیص بیماری های مفصلی به ویژه آرتريت عفونی و آرتريت ناشی از کریستال دارد. در صورت شک به هر یک از موارد فوق آرتروسنتز و آزمایش سیستمیک مایع سینوویال ضروری می باشد و اگر آزمایش به درستی انجام شود معمولاً تشخیص صورت می گیرد. در سایر بیماری های مفصلی، رسیدن به تشخیص خاصی ممکن است عملی نباشد ولی آزمایش تنها به این علت که آرتريت عفونی را نفی می کند اهمیت دارد زیرا این تشخیص بسیار مهم و در صورت عدم تشخیص و درمان زودرس می تواند در عرض ۲ تا ۳ روز منجر به تخریب برگشت ناپذیر مفصل شود. این مورد در ارتباط با استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان ارگانیزم عفونی صدق می کند بنابراین تست روتین باید بر تشخیص دو اختلال فوق متمرکز شود. گرچه دیگر آزمایشها ارزش عملی برای استفاده های روتین ندارند ولی می توانند در شرایط

مشخصی ، اطلاعات ، تشخیصی مهم فراهم نمایند .  
**آزمایش ماکروسکوپی**

**حجم تام** باید در کنار بیمار ثبت شود به خصوص اگر نمونه برای ارسال به بخش های مختلف آزمایشگاه به چند جزء تقسیم شود .  
**رنگ** نمونه باید در یک لوله شیشه ای تمیز در برابر یک زمینه سفید مورد ارزیابی قرار بگیرد. مایع سینهویال طبیعی بی رنگ است اما اغلب به علت نفوذ تعداد کمی RBC حتی با ترومای اندک ، زرد کم رنگ به نظر می رسد در بیماری های غیر التهابی و التهابی معمولا به رنگ کاهی تا زرد (گزانتو کرومی) دیده می شود . مایع عفونی ممکن است زرد ، قهوه ای یا سبز دیده شود که به علت کروموژن های تولید شده توسط ارگانیزم های مهاجم و پاسخ میزبان (حضور WBC ها و RBC ها) می باشد.  
**پونکسیون تروماتیک** طی آرتروسنتز باعث ایجاد انتشار غیریکنواخت یا رگه رگه شدن خون در داخل سرنگ می گردد . اگر چه تمایز رنگ زرد کم رنگ گزانتو کرومی از حالت طبیعی مشکل است اما ایجاد رنگ قرمز قهوه ای به دنبال سانتریفیوژ، دلیل خوبی برای همارتروز پاتولوژیک می باشد .

**شفافیت** به تعداد و نوع ذرات موجود در مایع سینهویال بستگی دارد. به علت اینکه مایع سینهویال طبیعی شفاف می باشد کاغذ روزنامه در پشت لوله به راحتی خوانده می شود با این وجود مایع نیمه شفاف جزئیات را می پوشاند اما مناطق سیاه و سفید قابل تشخیص هستند در حالی که مایع کدر به طور کامل زمینه را مخفی می کند .  
لکوسیت ها شایع ترین عامل تغییرات شفافیت است با این وجود تعداد فراوان کریستال ها در غیاب لوکوسیت ها مایع کدر شیری رنگی ایجاد می کنند . یک نمونه درخشان با ظاهری روغنی مطرح کننده تعداد زیادی کریستال کلسترولی است که ممکن است شبیه چرک به نظر آید. افزایش کدورت با شیوع کمتر در نتیجه غلظت فیبرین ، (اجسام دانه برنجی شناور) قطعات سلول های سینهویال تکثیر یافته دژنره یا سینهویوم دارای انفارکت های کوچک ، ذرات فلزی یا پلاستیکی مشتق شده از پروتزهای مفصلی یا قطعات غضروفی در استئوآرتریت میباشد .  
نمای **زمینه فلفلی** ، ناشی از قطعات رنگدانه دار غضروفی بوده که ممکن است در اختلالات متابولیک مانند آکرونوز مشاهده شود .

آزمایش شمارش سلولی  
میکروسکوپی تام

برای جلوگیری از تغییرات دژنراتیو سلولی که در عرض یک ساعت از آرتروس و سنتز آغاز می شود ، باید شمارش تام لکوسیت ها را به سرعت انجام داد. به طور معمول در آزمایشگاه های کوچک شمارش در یک هماسیتومتر استاندارد صورت می گیرد. این حال ، امروزه جهت نتایج قابل اعتمادتر شمارش سلولی خودکار پیشنهاد می شود

شمارش لکوسیت ها با بیش از ۵۰۰۰۰ در هر میکرولیتر نیاز به رقیق سازی دارد که باید از سالین استفاده شود و نه استیک اسید ، تا از تشکیل لخته موسین و تجمع سلولی جلوگیری شود .شمارنده های خودکار نیز ممکن است به کار رود اما خطر انسداد منفذ دستگاه یا به دست آمدن شمارش کاذب بالا به علت ذراتی غیر از لکوسیت ها ( کریستال ها و گلبول های چربی (وجود دارد )به خصوص در دستگاه های چند کانالی و دستگاه مبتنی بر جریان سلول .(در معرض قرار دادن نمونه های مایع مفصلی بسیار لزج با هیالورونیداز، شمارش سلولی خودکار این نمونه ها را بهبود می بخشد .شمارش سلولی خودکار در نمونه های SF با استفاده از تکنولوژی دیجیتال مبتنی بر تصویر ، مشکل انسداد منفذ و شمارش کاذب را حل کرده و امروزه یک روش قابل اعتماد برای چنین شمارش هایی می باشد .

لکوسیت بیش از ۱۰۰۰۰ و اغلب بیش از ۵۰۰۰۰ در هر میکرولیتر، مشخصه آرتریت ناشی از کریستال (نقرس ، نقرس کاذب (، آرتریت التهابی مزمن )آرتریت روماتوئید ، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، اسپوندیلیت آنکلیوزان ) و آرتریت چرکی است .در استئوآرتریت ، استئو کندریت دسیکان، تروما و سینوویوما ، شمارش تام WBC کمتر از ۱۰۰۰۰ در هر میکرولیتر می باشد .جز در موارد پونکسیون تروماتیک، اریتروسیت ها به طور روتین باید شمارش شوند .اگر شمار زیاد سلول قرمز با شمارش لکوسیت ها تداخل ایجاد کرد باید آن را با سالین نرمال ۰/۳ یا ساپونین ۱% در سالین رقیق کرده تا RBCها لیز شوند .حداکثر سطح مرجع برای لکوسیت های مایع سینوویال ۱۵۰-۲۰۰، در هر میکرولیتر است. افزایش تعداد سلول ها در جهت کمک به افتراق گروه های مختلف بیماری مورد استفاده قرار می گیرند اما به علت هم پوشانی شدید برای هیچ بیماری اختصاصی نیستند .

**شمارش افتراقی لکوسیت ها**

گستره های تهیه شده با سایتواسپین از نمونه های سانتریفیوژ شده مایع سینوویال ، نسبت به اسمیرها ارجحیت دارند ، زیرا مورفولوژی سلولی به طور چشمگیری بهتر حفظ می شود .برای ایجاد گستره های نازک از نمونه های چسبنده، بکارگیری هیالورونیداز ممکن است ضروری باشد . ابزارهای پردازشگر لایه های نازک مبتنی بر مایع نیز ممکن است به صورت مؤثری برای تهیه ی نمونه های SF دارای کیفیت خوب جهت مطالعات میکروسکوپی مورد استفاده قرار گیرند .شمارش افتراقی خودکار لکوسیت با استفاده از فلوسیتومترها ممکن است بر روی نمونه های مایع مفصلی به صورت قابل اطمینانی انجام گیرد .این دستگاه عملکردهای بهتری از جمله تشخیص کریستال ها با استفاده از ابزارهای دیجیتال مبتنی بر تصویر دارد .

**نوتروفیل ها** حدود ۲۰٪ لکوسیت های مایع سینوویال را تشکیل میدهند . در نقرس اورات ، نقرس کاذب و آرتریت روماتوئید (RA)، آنها معمولاً بیش از ۵۰٪ و در آرتریت حاد باکتریایی اغلب بیش از ۷۵٪ هستند . زمانی که ۷۵٪ مرز تشخیص باشد ، حساسیت برای یک فرایند انتهایی ۷۵٪ و برای ویژگی آن ۹۲٪ است . نوتروفیل ها تمایل به

دژنره شدن دارند و ممکن است حاوی باکتری ها ، کریستال ، قطرات چربی ، واکوئل ها یا انکوزیون های گرانوله آبی تیره تا سیاه که احتمالا شامل کمپلکس های ایمنی (راگوسیت ها و سلول های RA) هستند ، باشند . وجود راگوسیت در مبتلایان به RA نشان دهنده ی پیش آگهی ضعیف تر است .

**سلول لوپوس اریتماتوز (LE)**، که به طور نادری ممکن است در مبتلایان به آرتریت لوپوسی رؤیت گردد ، در اصل یک نوتروفیل است که هسته سلولهای دژنره را بلعیده است. البته سلولهای LE برای لوپوس اریتماتوز منتشر پاتوگنومیک نیست زیرا در مایع سینوویال مبتلایان به RA نیز دیده میشود.

**لنفوسیت ها** به طور طبیعی حدود ۱۵ درصد سلول های SF را شامل میشوند و در اوایل RA و سایر اختلالات اتوایمیون و نیز عفونت های مزمن غلبه دارند . اشکال واکنشی مانند ایمونوبلاست ها نیز گاهی اوقات حضور دارند .

**مونوسیت ها و ماکروفاژها** معمول ترین سلول هایی میباشند که در SF طبیعی حضور داشته و تقریبا ۶۵ درصد شمارش سلولی را به خود اختصاص میدهند. مونوسیتوز در آرتریت ویروسی یا بیماری سرم میتواند خود محدود شونده باشد و در SLE یا بیماری های تمایز نیافته بافت همبند به طور مزمن دیده میشوند . سلول های رایتر که ماکروفاژهای حاوی نوتروفیل های دژنره شده هستند، برای سندرم رایتر اختصاصی میباشند .

**اؤزینوفیلی** با شمارش بیشتر از ۲٪ اؤزینوفیل در کل لکوسیت ها تعریف میشود و در آرتریت روماتوئید، تب روماتیسمی ، کارسینوم متاستاتیک، بیماری لایم، عفونت های انگلی، کهیر مزمن، آنژیوادم، به دنبال آرتروگرافی (واکنش آلرژیک با رنگ) و پرتوتابی گزارش شده است.

**سلولهای سینوویال** تحت عنوان سینوویوسیت ها، اهمیت پاتولوژیک ندارند. آنها شبیه سلولهای مزوتلیال بوده و تشخیص آنها از مونوسیت ها و ماکروفاژها دشوار است .

**اجسام چربی** با تروما و نکروز آسپتیک و IRA ارتباط دارند. این قطرات در زیر نور پلاریزه اغلب به صورت صلیب های مالتی دیده میشوند و میتوانند با یک پاسخ لکوسیتی همراه باشند و ممکن است سبب افزایش کاذب تعداد WBC در شمارشگر خودکار شوند.

## آزمایش کریستال

کریستال در مایع سینوویال منجر به التهاب حاد با افزایش شمارش WBC با اکثریت نوتروفیلی میشود. شناسایی کریستال به ویژه اگر داخل نوتروفیل یا ماکروفاژ باشد، برای آرتریت ناشی از کریستال، پاتوگنومونیک است.

**نقرس** به فرایند رسوب کریستال در بافت مفصلی اشاره دارد . استفاده رایج از این کلمه به طور برجسته به نقرس اوراتی اشاره میکند و پاسخ التهابی به ذخیره کریستال نیز به آرتریت نقرسی معروف است .شایع ترین کریستال

های اندوژن مسئول آرتريت نقرس عبارتند از: **مونوسديم اورات** **مونوهيدرات** (نقرس اوراتی)، **کلسيم پيروفوسفات** **دی هيدرات** (نقرس پيروفوسفاتی، کندرو کلسیتوزيس یا نقرس کاذب)، **آپاتيت** و **سایر فسفات های کلسيم قلیائی**، **BCP** (نقرس آپاتیتی)، **اگزالات کلسيم** (نقرس اگزالاتی) و **چربی ها** (نقرس چربی).

به غیر از BCP، تمام کریستال های بالا با میکروسکوپ نوری پلاریزه ميتوانند شناسایی شوند. باید یک میکروسکوپ پلاریزان با کیفیت بالا و یک صفحه قرمز متعادل کننده در زده اول به کار رود. فیلتر **پلاریزه**، به طور مستقیم در بالای منبع نور قرار می گیرد. **آنالیزر** (فیلتر پلاریزان دیگر) بین نمونه و عدسی های چشمی میکروسکوپ و با زاویه ۹۰ درجه نسبت به پلاریزر واقع می شود تا یک زمینه تاریک ایجاد کند. خنثی کننده معمولاً با زاویه ۴۵ درجه بین صفحات پلاریزر و آنالیزر قرار میگیرد.

آزمایش اولیه باید بر روی نمونه مرطوب و با استفاده از نور پلاریزه صورت گیرد. میکروسکوپ فاز کنتراست قدرت تشخیص کریستال را افزایش می دهد. برای جلوگیری از نشست ذرات آرتیفکت غبار که دارای انکسار مضاعف هستند باید لام و لامل را پیش از استفاده، تمیز کرده و به دقت خشک نمود. لبه های لامل را با لاک ناخن یا سایر درزگیرها محکم میکنیم تا تبخیر را به تأخیر اندازد ولی کاملاً مانع از آن نمیشود. لبه لامل برای یافتن سطح تمرکز صحیح مورد استفاده قرار میگیرد ولی کریستال های موجود در این ناحیه باید نادیده گرفته شوند زیرا به احتمال زیاد آرتیفکت هستند. اکثر کریستال ها با عدسی شیئی ۱۰x جستجو شده و حداقل با یک عدسی شیئی ۴۰x با تمرکز ویژه بر روی مناطق سلولی ارزیابی میشوند. بررسی کامل نیاز به عدسی غوطه ور در روغن ۱۰۰x دارد زیرا مایعات فاقد کریستال در بررسی ممکن است حاوی جمعیت انبوهی از کریستال های کوچک باشند. با گرداندن صفحه میکروسکوپ یا خنثی کننده و در نتیجه قرار دادن محور کریستالها در امتداد صفحه شناسایی و تشخیص آنها آسان می شود. مورفولوژی کریستال، زاویه خاموش شدن، قدرت و جهت هر انکسار مانند توانایی برگرداندن و شکستن نور به دو پرتو: یک پرتوی دارای حرکت سریع و یک پرتوی دارای حرکت کند) باید ذکر گردند. به هر حال، حساسیت و ویژگی میکروسکوپ پلاریزان برای کریستال ها به ترتیب ۷۸٪ و ۷۹٪ برای مونوسديم اورات و ۱۲٪ و ۶۷٪ برای کلسيم پيروفوسفات دی هيدرات می باشد. البته تکرار آزمایش به فاصله ۲۴ ساعت پس از نگهداری در یخچال ۴ درجه سانتیگراد ممکن است باعث افزایش چشمگیر موارد مثبت کریستال شود. آماده سازی سیتو اسپین نیز به صورت مؤثری در تشخیص کریستال ها در نمونه های SF استفاده می شود.

رنگ آمیزی دیف کوئیک ممکن است جایگزین مطمئنی برای میکروسکوپ پلاریزان باشد. ویژگی، حساسیت و صحت آن به طور کلی ۸۷/۵٪، ۹۴/۴٪ و ۹۱/۹٪ است، ارزش پیش بینی کننده مثبت ۹۲/۷٪ و ارزش پیش بینی کننده منفی ۹۰/۳٪ می باشد. به علاوه روش های پیچیده تر و مطمئن تری برای شناسایی و تشخیص کریستال



در نمونه های بیولوژیک پیشنهاد شده اند که از جمله آنها می توان به کریستالوگرافی اشعه X و طیف نگاری مادون قرمز فوریر اشاره کرد ولی به ندرت از نظر بالینی استفاده می شود.

**کریستال های مونوسدیم اورات (MSU)** به صورت میله های سوزنی شکل به طول ۲۰-۵ میکرومتر می باشند . اما ممکن است تنها ۲-۱ میکرومتر طول داشته یا به ندرت به صورت اجسام گرد دیده شوند. آنها دارای انکسار مضاعف قوی می باشند. وقتی با خنثی کننده موازی باشند زرد رنگ و هنگام عمود بر آن، آبی رنگ هستند امتداد یا انکسار مضاعف منفی . برای مقایسه لازم است که یک لام کنترل حاوی کریستال های MSU مورد استفاده قرار گیرند . روش دیگر، استفاده از بتامتازون است . این استروئید به شکل استوانه های دارای انکسار مضاعف به شدت منفی به عنوان لام مرجع برای میکروسکوپ پلاریزان مورد استفاده قرار می گیرند . کریستال های MSU در ۹۰ درصد نقرس های اوراتی حاد و ۷۵٪ بیماران در بین حملات یافت می شوند . کریستال های داخل سلولی MSU مشخصه نقرس اوراتی حاد می باشد . آنها گاهی اوقات به علت التهاب موجود در آرتريت سپتیک نیز مشاهده می شوند .

**کریستال های کلسیم پیروفسفات دی هیدرات (CPPD)** در گروهی از شرایط ، تحت نام کلی بیماری رسوب کریستال های CPPD دیده می شوند . این کریستال ها به صورت لوزی، میله یا مستطیل هایی به طول ۲۰-۱ میکرومتر ظاهر میشوند . کریستال های CPPD در حالت امتداد مثبت ، انکسار مضاعف ضعیفی از خود نشان می دهند (اگر هم جهت محور خنثی کننده قرار گیرند آبی به نظر می رسند). بسیاری از آنها به علت کوچکی قادر به پلاریزه کردن نور نبوده و بدون میکروسکوپ فاز کنتراست شناسایی نمی شوند . کریستال های CPPD با آرتريت دژنراتیو و آرتريت های مرتبط با هیپومنیزیمی ، هموکروماتوز ، هیپرپاراتیروئیدیسم و هیپوتیروئیدیسم در ارتباط می باشند .

**هیدروکسی آپاتیت کلسیم** و سایر کریستالهای BCP بسیار کوچک و فاقد انکسار مضاعف (ایزوتروپیک) بوده و با میکروسکوپ نوری دیده نمی شوند مگر اینکه اجتماعات کوچک کروی ۵۰-۱ میکرومتری تشکیل شوند . رنگ آلیزارین رد S ممکن است برای رنگ آمیزی این کریستال ها و سایر کریستال های حاوی کلسیم به کار رود . در حال حاضر شناسایی کریستال های BCP برای تشخیص ، پروگنوز و راهنمای درمان فاقد اهمیت است . **کریستال های کلسیم اگزالات دی هیدرات** به صورت پاکت های دو هرمی هشت وجهی ۳۰-۵ میکرومتری با انکسار مضاعف متغیر و امتداد مثبت میباشند و در آرتروپاتی مرتبط با دیالیز مزمن کلیه و اگزالوز اولیه ،(یک مشکل ذاتی نادر متابولیسمی) دیده می شوند . شکل مونوهیدرات آنها دارای انکسار مضاعف است اما شکل تیپیک و قابل توصیفی ندارد .

**کریستال های چربی** به صورت دایره های ۲۰-۱ میکرومتری با ظاهر صلیب مالتی ظاهر می شوند که با نور پلاریزه

خنثی کننده ، انکسار مضاعف مثبتی را از خود نشان می‌دهند . این کریستال ها از علل آرتريت حاد می باشند .  
**کورتیکواستروئیدهای کریستالی** مورد استفاده در تزریق مفصلی ممکن است ظاهری شبیه به کریستال های MSU یا CPPD داشته و تا یک ماه پس از تزریق حضور داشته باشند ، در اکثر موارد دارای لبه های کند و دنداندار بوده، ساختمان کریستالی واضح را نشان نمی‌دهند زیرا از خرد شدن اشکال کریستالی بزرگتر به وجود می آیند .  
تریامسینولون هگزاستونید انکسار مضاعف منفی دارد اما اکثر موارد دیگر انکسار مضاعف مثبت دارند .

**کریستال های کلسترولی** به طور تیپیک به صورت صفحات نامنظم با لبه های شکاف دارو دارای انکسار مضاعف ظاهر میشوند . در تظاهرات مزمن (مانند آرتريت سلی ، RA ، SLE) ممکن است کریستال های سوزنی یا لوزی شکل شبیه به MSU یا CPPD ظاهر شوند . کریستال های کلسترولی بسیار کوچک (۵-۱ میکرونی) ، نامنظم ، میله ای و سوزنی شکل ، با روش های انکسار اشعه X و مطالعات فراساختاری در افیوژنهای استئوآرتريت شناسایی شده اند . کریستال های کلسترولی محلول در اتانول یا اثر بوده و توسط لکوسیت ها بلعیده نمیشوند . اگر کریستال های کلسترول یافت شوند، آنالیزهای کمی باید نشان دهند که سطح کلسترول SF بیشتر از سطح پلاسمایی آن است .

**پودر دستکش** (نشاسته ی ذرت تغییر یافته) که در حین جراحی مفصل وارد میشود ، به صورت ذرات گرد با انکسار مضاعف شدید با قطر ۳۰-۵ میکرومتر و یک فرورفتگی مرکزی دیده میشود که زیر نور پلاریزه صلیب مالتي را تشکیل می‌دهند . انواع دیگری از کریستال ها یا ذرات ممکن است در مایع سینوویال دیده شوند . این موارد عبارتند از کریستال های ایمنوگلوبولین مونوکلونال یا کرایوگلوبولین ها، کریستال های شارکوت لیدن، قطعات آمیلوئید، قطعات غضروفی، رشته های کلاژن و فیبرین، کریستال های هماتوئیدین ناشی از خونریزی قبلی، کریستال های ناشی از ضدانعقادهای خاص، لاک ناخن، قطعات پروتز و ذرات غبار.

#### آنالیز شیمیایی

آنالیز شیمیایی مایع سینوویال تنها اطلاعاتی حمایت کننده نسبت به تستهای روتین ارائه می‌دهند . چسبندگی زیاد با رقیق نمودن توسط سالین نرمال ، ارتعاشات صوتی یا با هیالورونیداز قابل اصلاح است .

#### تست موسین

#### لخته

اضافه کردن اسید استیک به مایع سینوویال باعث رسوب هیالورونیک اسید به صورت لخته موسینی شده و به صورت ، خوب متوسط یا ضعیف دسته بندی میشود . یک تست لخته موسینی متوسط تا ضعیف دلالت بر رقت و دپلمریزاسیون اسید هیالورونیک دارد که یافته ای غیراختصاصی در آرتريتهای التهابی متعدد میباشد . آزمون لخته موسین گرچه جاذبه تاریخی دارد ولی امروزه کاربرد بالینی اندکی دارد .

#### گلوکز

تفسیر صحیح سطح گلوکز مایع سینوویال به مقایسه با سطح سرمی آن نیاز دارد . در حالت مطلوب برای اینکه

گلوکز با گذشتن از غشای سینه‌ویال به تعادل برسد باید گلوکز SF را بعد از ۸ ساعت ناشتایی اندازه‌گیری کرد . اختلاف سرم و سینه‌ویال در حالت طبیعی و بسیاری از وضعیت های غیرالتهابی کمتر از ۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر است . در آرتريت سپتيك اين اختلاف به ۶۰-۲۰ میلی گرم بر دسی لیتر متغير است اما به طور چشمگیری با ساير وضعیت های التهابی هم پوشانی دارد که اين موضوع سودمندی بالینی آن را محدود میسازد . با در نظر گرفتن مقدار ۷۵ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان حد نهایی ، حساسیت گلوکز پایین برای تشخیص بیماری التهابی مفصل، تنها ۲۰٪ و ویژگی آن ۸۴٪ است . گلیکولیز ناشی از تعداد زیادی لکوسیت ها در خارج بدن ممکن است موجب کاهش کاذب میزان گلوکز SF شود مگر اینکه آزمون طی یک ساعت از زمان جمع آوری نمونه انجام شده باشد با این وجود لوله های آزمایش حاوی فلوراید سدیم که یک مهارکننده گلیکولیز است از مصرف گلوکز جلوگیری می کند .

### پروتئین

در داوطلبان زنده ، غلظت متوسط پروتئین به طور طبیعی ۱/۳۸ گرم بر دسی لیتر میباشد . محدوده ی مرجع قابل اطمینان ، بین ۱ تا ۳ گرم بر دسی لیتر میباشد . با افزایش التهاب ، پروتئینهای بزرگتری مانند فیبرینوژن وارد مایع سینه‌ویال میشود . تشکیل خودبخودی لخته در نمونه های بدون ضد انعقاد ممکن است قابل تشخیص باشد (آزمون لخته فیبرین) . اگرچه اندازه گیری سطح پروتئین SF ممکن است با حالت های التهابی و عفونی مرتبط باشد ، اندازه گیری پروتئین SF بسیار غیر اختصاصی میباشد . برای اختلالات التهابی ، حساسیت برابر ۵۲٪ و ویژگی ۵۶٪ میباشد .

### آنزیم ها

آنزیم های متعددی در مایع سینه‌ویال مورد مطالعه قرار گرفته اند از جمله : **لاکتات دهیدروژناز** ، آسپارات آمینوترانسفراز ، آدنوزین دامیناز ، فسفاتاز اسیدی و قلیایی و لیزوزیم . لاکتات دهیدروژناز در RA ، نقرس ، آرتروپلاستی های ناموفق و آرتريت های عفونی افزایش می یابد . این افزایش بیشتر ارتشاح نوتروفیلی را نشان می دهد . افزایش **اسید فسفاتاز** در IRA ارزش پیش آگهی منفی دارد ، اما با این حال اختصاصی نیست .

### اسیده‌های آلی

**اسید لاکتیک** مایع سینه‌ویال مبتلایان به آرتريت چرکی معمولاً بیشتر از آرتريت های تک مفصلی غیر چرکی میباشد . مقادیر بالاتر از ۳۰ میلیگرم بر دسی لیتر (۷/۳ میلی مول بر لیتر) معمولاً ناشی از آرتريت چرکی کوکسی های گرم مثبت و باسیل های گرم منفی است بنابراین اندازه گیری D-لاکتات مایع سینه‌ویال میتواند روش مفیدی برای تشخیص سریع سینه‌ویت باکتریایی باشد . در مطالعات دیگر مشخص گردید مقادیر طبیعی یا حد متوسط لاکتات ، تشخیص را نفی یا ثابت نمیکند . به علاوه در آرتريت گنوکوکی ، سطح لاکتات مایع سینه‌ویال ، طبیعی است .

شناسایی سایر اسیدهای آلی که در حالت طبیعی در مایع سینوویال وجود ندارند (مانند **اسید n والریک**، **اسید n هگزانویک** و **اسید سوکسینیک**) با استفاده از روش کروماتوگرافی گاز مایع، میتواند در افتراق آرتريت چرکی از غیر چرکی بسیار مفید باشد.

### اسیداوریك

در نقرس و آرتروپاتی های غیرالتهابی مقادیر اسیداوریك در مایع سینوویال عموماً و نه همیشه به موازات سطح سرمی آن تغییر میکند. این آزمون ارزش بالینی کمی در آنالیز مایع سینوویال به خود اختصاص می دهد، به جز مواردی که مشکوک به نقرس میباشیم ولی کریستال مشاهده نمیشود یا زمانی که آنالیز کریستال میکروسکوپی در دسترس نباشد. افزایش اسیداوریك در این موارد تشخیص نقرس را حمایت میکند.

### چربی ها

برخلاف پلاسما، مایع سینوویال طبیعی دارای چربی بسیار اندکی است. اختلالات چربی مایع سینوویال عبارتند از: ۱- تظاهرات نادر پسودوشیلوویس مملو از کلسترول که به طور برجسته همراه با RA مزمن است. ۲- قطرات چربی، معمولاً در نتیجه تروما ۳- تظاهرات بسیار نادر شیلوویس که در ارتباط با RA، لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE)، فیلاریازیس، پانکراتیت و تروما میباشند. این بیماری ها را به طور معمول میتوان با علایم بالینی، بررسی های ماکروسکوپی و میکروسکوپی از هم تمییز داد. به طور معمول اندازه گیری کمی چربی ها، در تجزیه مایع مفصلی فاقد ارزش بالینی است به جز در مواردی که کریستال های کلسترول شبیه MSU یا CPPD باشند. در این موارد، سطح کلسترول بالاتر از کلسترول پلاسما بیانگر حضور کریستال های کلسترول است.

### مطالعات ایمونولوژیک

**فاکتور روماتوئید (RF)** در مایع سینوویال حدود ۶۰٪ از بیماران مبتلا به RA دیده میشود که معمولاً تیتري معادل سرم داشته یا اندکی کمتر از آن است. **آنتی بادی های ضد هسته ای (ANA)** در مایع سینوویال حدود ۷۰٪ بیماران مبتلا به SLE در ۲۰٪ بیماران مبتلا به RA دیده میشود. هیچ کدام برای استفاده عملی به اندازه کافی اختصاصی نیستند. سطوح کمپلمان در مایع سینووتال به طور طبیعی حدود ۱۰ درصد مقدار سرمی است که متناسب با افزایش تراوش پروتئین در التهاب به ۴۰-۷۰ درصد فعالیت سرمی آن می رسد. مصرف کمپلمان در SLE و به خصوص RA منجر به سطح کمتر از ۳۰٪ کمپلمان سرم میشود.

### آزمایش میکروبیولوژیک

انتقال سریع مایع مفصلی و برقراری ارتباط خوب با آزمایشگاه در موارد شک بالینی، احتمال شناسایی یک عامل عفونی را به حداکثر می رساند. آرتريت چرکی ممکن است حاد یا مزمن باشد و رنگ آمیزی گرم و کشت باید به عنوان قسمتی از ارزیابی روتین

مایع سینوویال به انجام برسد. حساسیت رنگ آمیزی گرم از ۷۵ درصد برای عفونت‌های استافیلوکوکی، ۵۰ درصد برای اکثر ارگانیزم های گرم منفی تا کمتر از ۲۵ درصد برای عفونت های گونوکوکی متغیر است. روش های تغلیظی شامل سیتوسانتریفیوژ ممکن است حساسیت رنگ آمیزی گرم را افزایش دهد. کشت مایع سینوویال برای عفونت های غیرگونوکوکی در بیمارانی که آنتی بیوتیک دریافت نکرده اند حساسیتی معادل ۹۵-۷۵٪ دارد. این میزان برای بیماران مبتلا به گونوره تنها حدود ۵۰-۱۰٪ می باشد. در بیماران نسبتا درمان شده استفاده از بطری های کشت خون حاوی رزین برای کشت مایع سینوویال ممکن است جداسازی و تشخیص ارگانیزم مورد نظر را بهبود بخشد.

گرچه استفاده از PCR با پرایمر برای شناسایی DNA باکتریال مفید میباشد، به ویژه برای پاتوژنهای مشکل پسند و غیرقابل کشت (مانند بورلیا بورگدورفری، گونه های کلامیدیا و مایکوپلاسما،) ولی هنوز در استفاده روزمره کاربرد پیدا نکرده است. ویروسه اغلب منجر به آرتریت عفونی حاد میشوند و با توجه به نوع ویروس میتوان از سرولوژی، کشت ویروس یا تکثیر DNA ویروس استفاده کرد.

بر اساس شرح بالینی، آرتریت عفونی ممکن است با سابقه برخورد با عامل مشخص و پاتوژن های مرتبط با آنها همراه باشد. آرتریت تقریبا در ۶۰ درصد موارد بیماری لایم ناشی از برخورد با کنه های آلوده به بورلیا بورگدورفری گسترش مییابد. تست PCR برای DNA بورلیا بورگدورفری در مایع سینوویال در ۹۶ درصد موارد درمان نشده مثبت بوده است. در بیمارانی که سابقه مسافرت یا فعالیت در هوای آزاد دارند، آزمایش مایع یا بافت سینوویال از نظر پاتوژن های قارچی با استفاده از KOH یا رنگ آمیزی کالکوفلور سفید و کشت در محیط های قارچی انتخابی توصیه می شود. برای مثال یک بیماری که اخیرا سفری به آریزونا داشته است ممکن است دارای آرتریت تک مفصلی مربوط به کوکسیدیوئیدس ایمیتیس باشد.

مبتلایان به آرتریت مزمن و فاکتورهای خطر ساز برای مایکوباکتریوم توپرکلوزیس یا عفونت های غیرسلولی باید تحت عمل بیوپسی سینوویال قرار گیرند. رنگ آمیزی زیل نیلسون یا کینیون برای ارگانیزم های اسید فاست حساسیتی حدود ۲۰ درصد دارند کشت های مایکوباکتریوم توپرکلوزیس در حدود ۸۰ درصد از موارد ثابت شده، مثبت هستند. با توجه به طولانی بودن زمان کشت معمولی برای مایکوباکتریوم توپرکلوزیس، استفاده از PCR در SF به عنوان تکنیکی جدید و امیدبخش برای تشخیص سریع مطرح شده است.

منابع:

تشخیص و پیگیری بالینی بیمارها به کمک روش های آزمایشگاهی ادرار و دیگر مایعات بدن (هنری - دیویدسون  
۲۰۲۲)