

Analisi della composizione di 2.700 calcoli urinari, esaminati con spettrofotometria nell'infrarosso, nel periodo 1979-1989

M. ROTUNNO*, M. RACCA**

*Ospedale Maggiore S. Giovanni Battista e della Città di Torino - Laboratorio e Divisione di Nefrologia Università di Torino - Cattedra di Nefrologia

**Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche ANSA srl - Torino

Analysis of 2700 urinary calculi by infrared spectroscopy between 1979-1989

Two thousand seven hundred samples, received as urinary calculi, in a Turin based laboratory, in the period between March 1979 and February 1989, were examined by infrared spectroscopy to identify components even of difficult characterization: a special procedure was used and it is described. Knowing the composition of each calculus, a comparison was made between the incidence of each compound in the first 1500 samples (1979-1984) and in the remaining 1200 ones (1984-1989). Besides an increase in calcium oxalate as main component, a marked reduction in incidence of struvite was found in the calculi belonging to the second period of observation. The possible interference in calculi composition by various therapy for renal infection is discussed.

[*Minerva Urol Nefrol* 1989;41:225-234].

Key words: Urinary calculi, analysis - Infrared spectroscopy.

A dieci anni dalla attivazione di un servizio per lo studio della calcolosi presso un laboratorio operante nell'area torinese, abbiamo ritenuto opportuno analizzare dettagliatamente la composizione dei 2700 campioni pervenuti come calcoli urinari in tale arco di tempo.

Con l'adozione, dall'inizio della attività, di alcuni accorgimenti analitici, applicati alla ormai tradizionale analisi spettrofotometrica nell'infrarosso, sono state superate alcune difficoltà interpretative nella valutazione degli spettrogrammi di alcune tipologie di calcoli.

Tali accorgimenti hanno consentito la presentazione di una tabella analitica particolarmente dettagliata della composizione dei campioni esaminati.

L'elevato numero di campioni pervenuti e l'ampio periodo di osservazione hanno consentito un confronto statistico tra la tipologia dei calcoli giunti nel primo quinquennio con quella del secondo.

Da tale confronto si sono evidenziate alcune differenze significative, ipotizzandone la correlazione con i progressi terapeutici nella prevenzione di alcune calcolosi o con modificate abitudini alimentari.

Materiali e metodi

Duemilasettecento campioni, provenienti, per la quasi totalità, da pazienti residenti nell'area torinese, giunti come calcoli urinari, sono stati analizzati presso l'ANSA srl, Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologiche di Torino.

Nel primo quinquennio, tra il marzo 1979 ed il febbraio 1984, sono pervenuti 1500 calcoli, gli ulteriori 1200 sono giunti tra il marzo 1984 ed il febbraio 1989.

È stata adottata una procedura di analisi che ha consentito di migliorare il riconoscimento dei componenti dei calcoli, talora a composizione mista molto complessa, un centinaio dei quali, per conferma, sono stati esaminati in doppio dal Laboratorio Luis C. Herring & C. di Orlando, Florida, USA.

Alla valutazione globale della composizione dei campioni, si è affiancato il confronto statistico (Yates' Corrected Chi SQ) tra l'incidenza di presentazione dei vari componenti riscontrata nei primi cinque anni, e quella del secondo quinquennio.

L'analisi dei campioni è stata effettuata mediante spettrofotometria a scansione nell'infrarosso (Infrared Spectrophotometer Model 297, Perkin-Elmer), tra 4.000 e 600 cm^{-1} di lunghezza d'onda, su campione inglobato in compresse di potassio bromuro.

I campioni pervenuti sono stati lavati, quando necessario, asciugati a 37°C, pesati e descritti nella loro presentazione, secondo i metodi tradizionali.

Quando possibile, il calcolo è stato diviso in due parti, tentando di mantenerne analoghe le caratteristiche compositive.

Una metà, triturrata in toto finemente, forniva l'aliquota di circa 1 o 2 mg, da mescolare con circa 300 mg di KBr essiccato, puro per spettrofotometria (ditta Merck) per la preparazione di una compressa da 13 mm di diametro, mantenuta per alcuni minuti sotto pressa idraulica a 15 tonnellate.

A differenza delle tradizionali metodiche di analisi dei campioni¹⁻⁷, al fine di migliorare la definizione di alcuni componenti, è stata adottata una doppia scansione della compressa dei campioni da esaminare.

Dopo una prima scansione, le compresse dei campioni venivano essiccate per un paio d'ore in stufa a 160°C, ripressate e riesaminate con ulteriore scansione nell'infrarosso.

L'eventuale presenza di ione carbonato veniva altresì confermata, su una aliquota di campione triturrato, dalla liberazione di bollicine di CO_2 all'aggiunta di qualche goccia di acido cloridrico diluito.

Risultati

La composizione dei campioni pervenuti ed esaminati, viene presentata nella tabella I.

Alla suddivisione sulla base del componente principale, viene fatta seguire quella dei componenti secondari, anch'essi ordinati sulla base della loro incidenza percentuale.

Il componente principale più frequente nella valutazione dell'analisi globale è risultato essere l'ossalato di calcio (71,296%), seguito dai fosfati (13,333%) e dai composti dell'acido urico (13,037%), segue la cistina (0,814%) ed altri componenti più rari.

La seconda parte della tabella riporta

il confronto tra l'incidenza percentuale dei componenti nei due periodi di osservazione e la valutazione di significatività statistica, P (Yates).

Da tale analisi risulta, per quel che riguarda il componente principale, un incremento significativo dell'ossalato di calcio, nel secondo periodo, accompagnato da una ancor più significativa riduzione, nel gruppo dei fosfati, del riscontro di fosfato ammonio magnesiacio.

Altamente significativo risulta pure l'incremento di acido urico come componente secondario nei calcoli, giunti nel secondo periodo, a prevalenza di ossalato di calcio.

Nelle figure 1, 2, 3, 4 e 5 sono presentati gli spettrogrammi dei componenti più caratteristici e più frequenti.

Discussione e considerazioni conclusive

L'accorgimento tecnico adottato per l'analisi dei campioni, consistente nella doppia lettura degli spettrogrammi prima e dopo riscaldamento della compressa di KBr, consentiva, dal confronto dei due tracciati, una più precisa identificazione dei componenti.

In particolare, tra i sali fosfatici, risulta nettamente facilitato il riconoscimento del fosfato ammonio magnesiacio, evidenziando per tale sale, dopo la procedura sopra descritta, un netto picco di assorbimento a 1400 cm^{-1} , ed un assorbimento caratteristico intorno ai 3200 cm^{-1} (fig. 3a-3b), ben differenziabile dallo spettro degli altri componenti fosfatici (fig. 3c-3d).

La disidratazione conseguente a tale periodo di riscaldamento ha altresì consentito una migliore definizione della componente secondaria di ossalato nei calcoli misti di acido urico, particolarmente quando i costituenti si presentavano nella forma diidrata, riconducendo l'assorbimento nella zona di 3400-3500 cm^{-1} alla sola componente ossalatica, oltre a meglio acuire l'incidenza dei picchi della stessa a 1310 e 780 cm^{-1} (fig. 2b).

La migliore risoluzione ottenuta ha consentito una più dettagliata presentazione della composizione dei campioni esaminati, come risulta dalla tabella I.

Anche in questa, come in tutte le casistiche di una certa ampiezza, non selezionate, si è avuto riscontro di qualche caso di componente anomalo, comunque riportato, dovuto o a mitomani o a errori nella individuazione di supposti calcoli urinari da parte del paziente, o a calcoli colecistici inviati come renali.

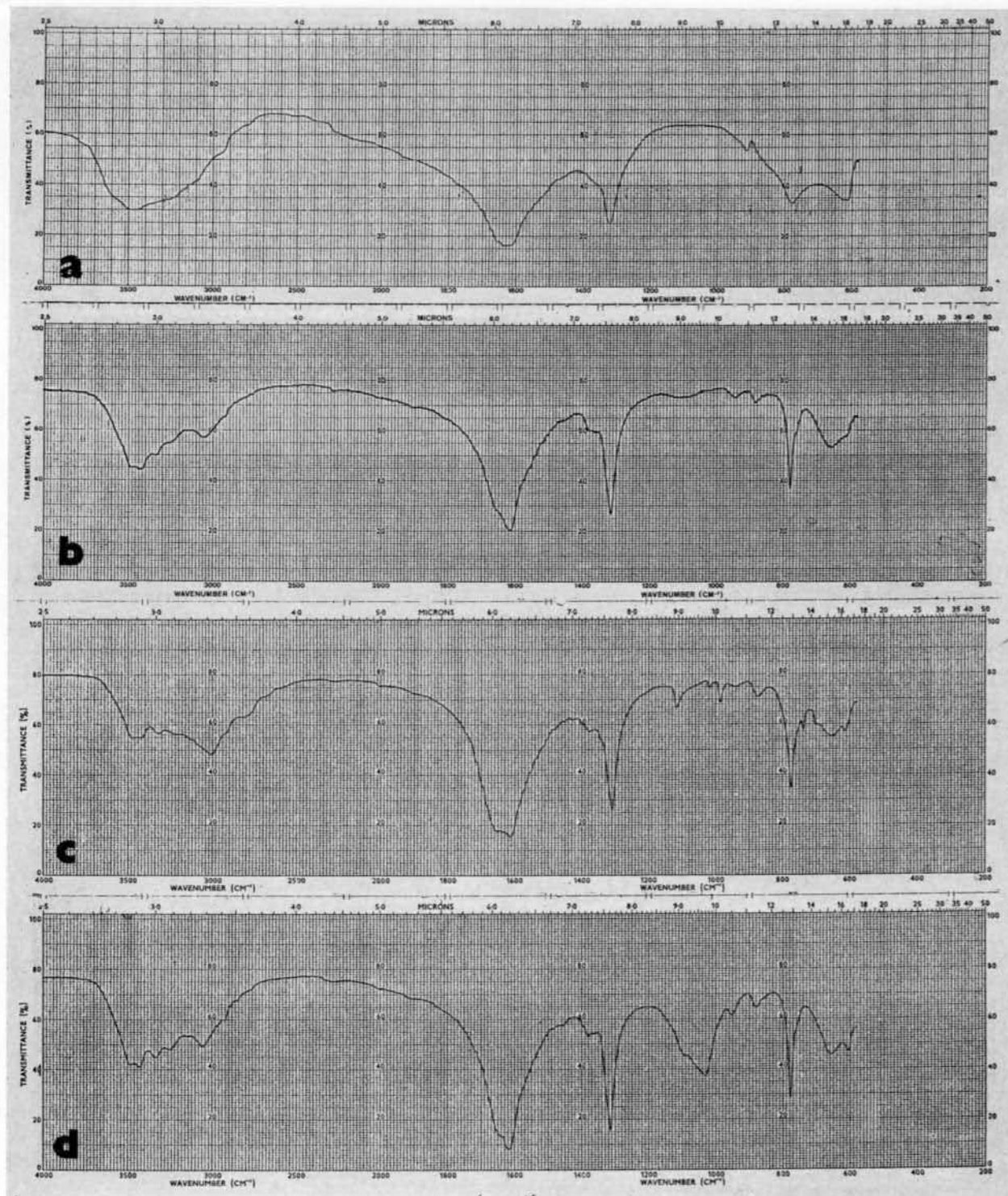


Fig. 1. — Ossalato di calcio diidrato (weddellite); b) ossalato di calcio monidrato (whewellite); c) ossalato di calcio + acido urico; d) ossalato di calcio (monidrato) + calcio apatite.

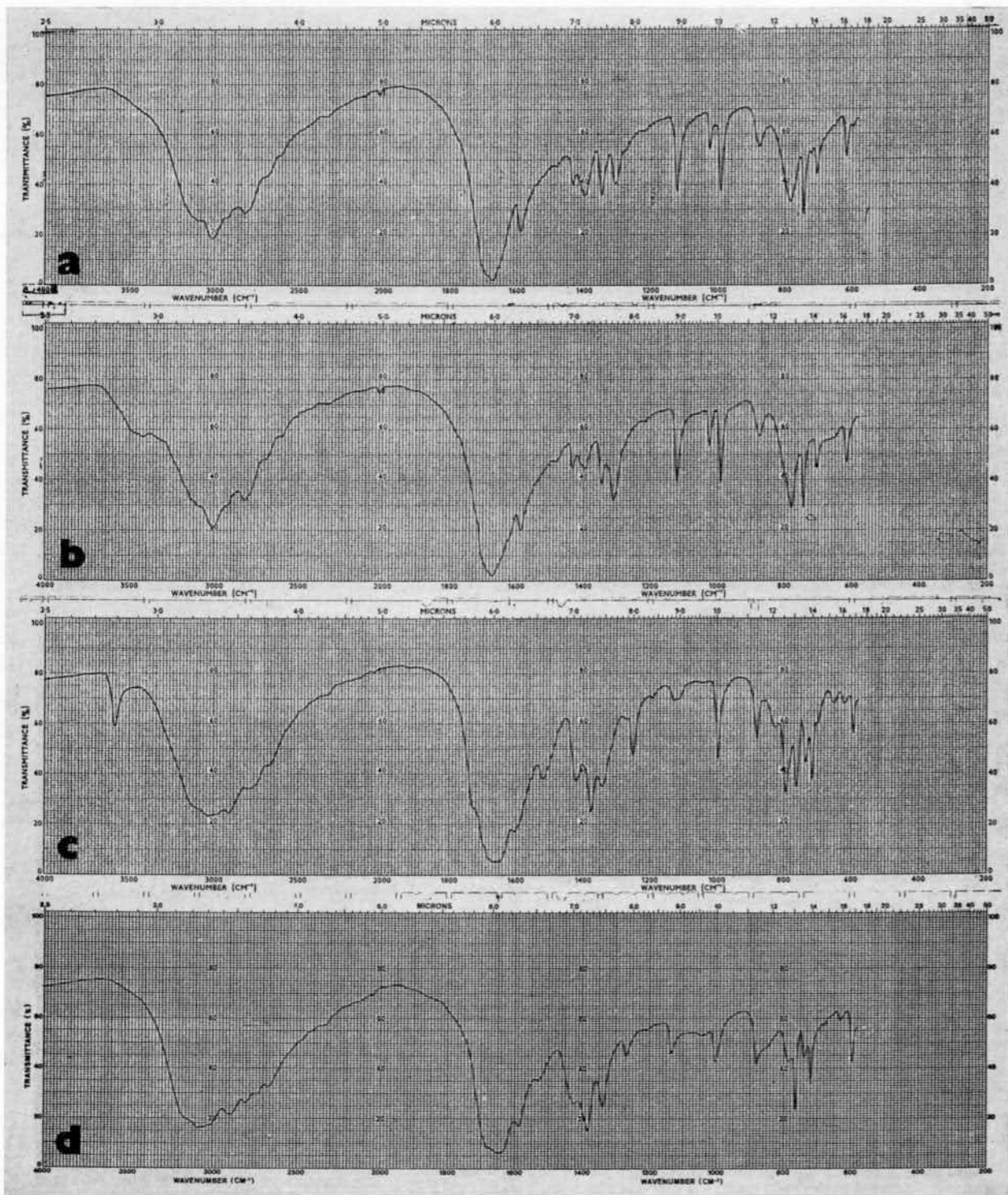


Fig. 2. — a) Acido urico anidro; b) acido urico + ossalato di calcio (dopo stufa); c) urato di sodio; d) urato di ammonio.

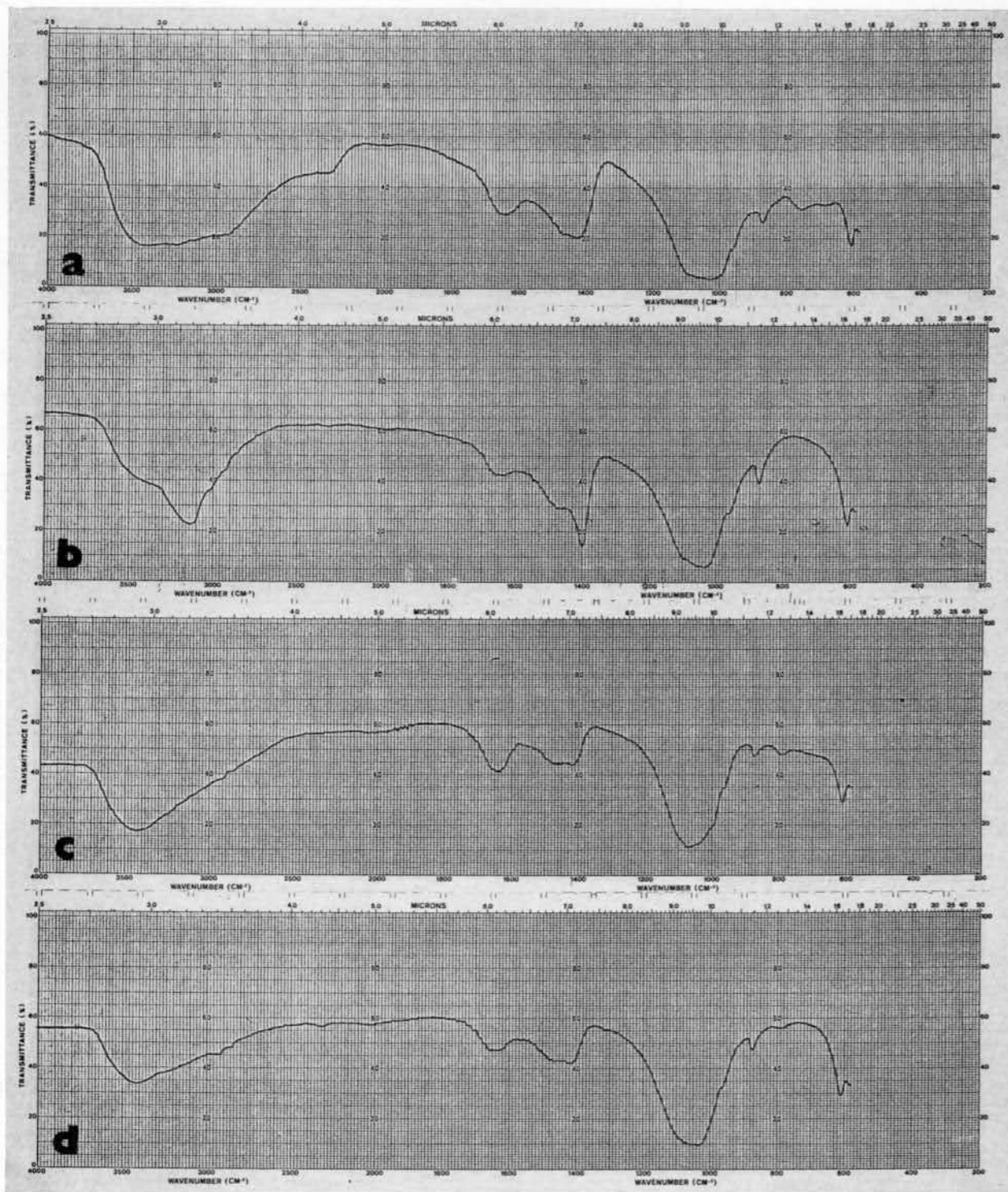


Fig. 3. — a) Fosfato ammonio magnesiaco esaidrato (struvite) (prima di stufa); b) fosfato ammonio magnesiaco esaidrato (struvite) (dopo stufa); c) calcio apatite (prima di stufa); d) calcio apatite (dopo stufa).

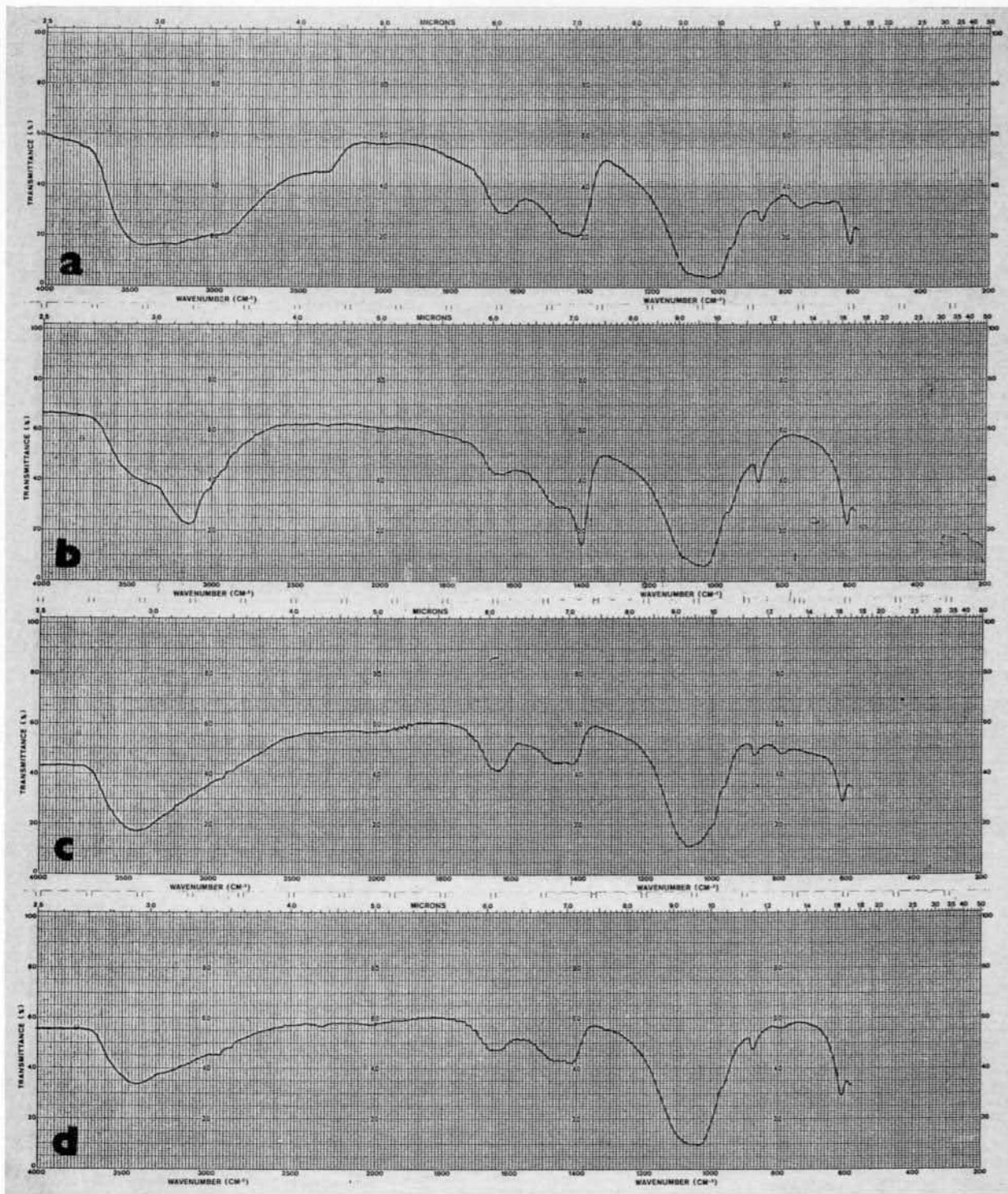


Fig. 3. — a) Fosfato ammonio magnesiano esaidrato (struvite) (prima di stufa); b) fosfato ammonio magnesiano esaidrato (struvite) (dopo stufa); c) calcio apatite (prima di stufa); d) calcio apatite (dopo stufa).

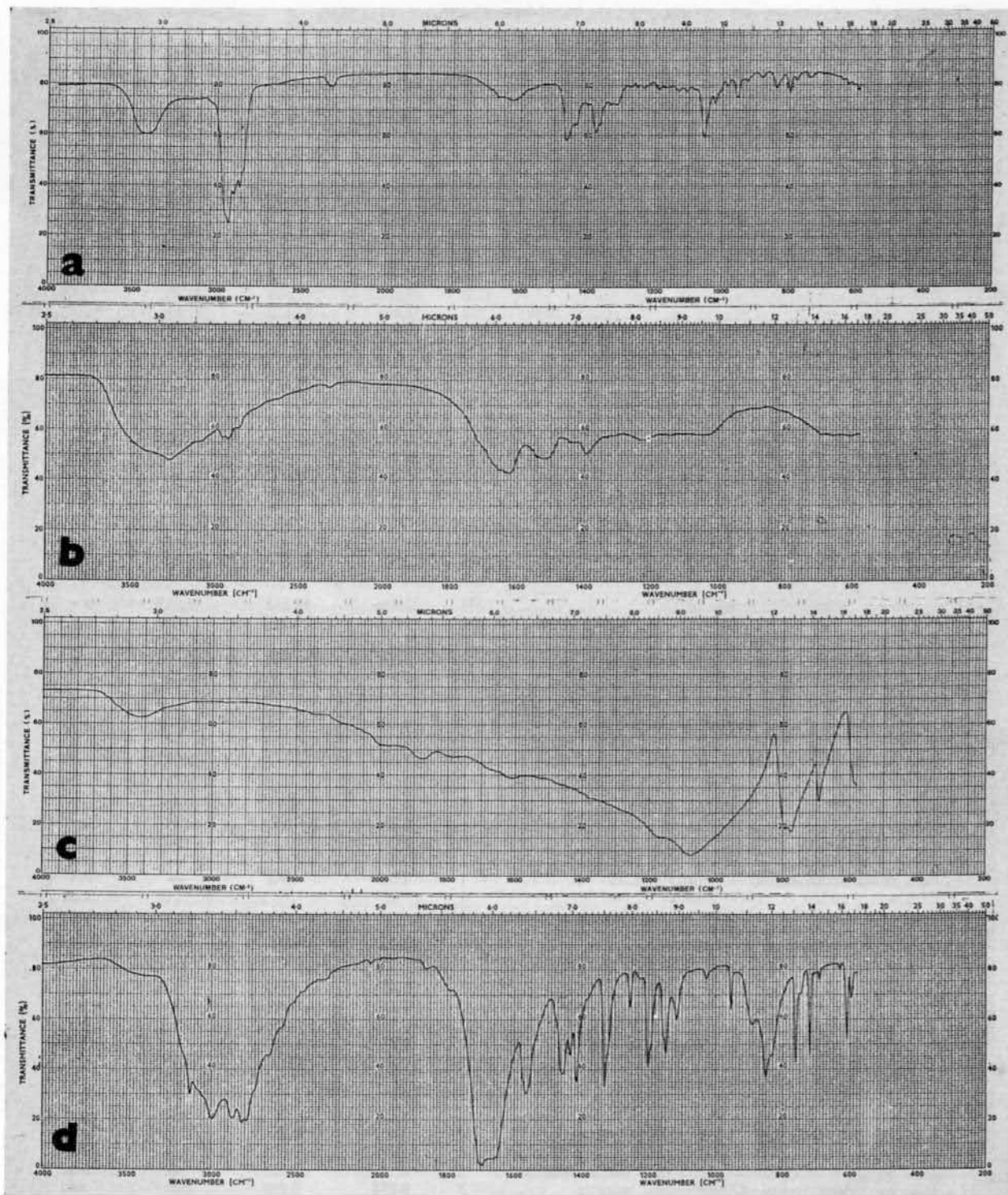


Fig. 5. — a) Colesterolo; b) materiale proteico; c) silicato di magnesio diidrato; d) xantina.

TABELLA I. — *Analisi composizione campioni esaminati.*

Campioni esaminati	PERIODO				p
	Marzo 1979 Febbraio 1989		Marzo 1979 Febbraio 1984	Marzo 1984 Febbraio 1989	
	N.	%	%	%	
	2700		1500	1200	
Componente principale: Ossalato di calcio	1925	71,296	68,533	74,750	0,0004
Prevalenza della forma monoidrata (whewellite)			n.d.	46,387	
Prevalenza della forma diidrata (weddelite)			n.d.	41,699	
Puro o con calcio apatite uguale o inferiore al 5 %	1220	45,185	41,600	49,666	0,0000
Con calcio apatite compresa tra il 6 ed il 20 %	337	12,481	14,133	10,416	0,0043
Con calcio apatite compresa tra il 21 ed il 50 %	314	11,629	11,066	12,333	n.s.
Con calcio apatite + carbonato apatite	4	0,148	0,200	0,083	n.s.
Con calcio apatite + struvite	6	0,222	0,266	0,166	n.s.
Con calcio apatite + sodio urato	2	0,074	0,133	—	n.s.
Con calcio apatite + urato di ammonio	2	0,074	—	0,166	n.s.
Con carbonato apatite + struvite	4	0,148	0,266	—	n.s.
Con struvite + carbonato apatite	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Con acido urico	23	0,851	0,200	1,666	0,0001
Con acido urico + calcio apatite	8	0,296	0,400	0,166	n.s.
Con acido urico + urato di ammonio	1	0,037	0,066	—	n.s.
Con urato di ammonio	2	0,074	0,133	—	n.s.
Componente principale: composti dell'Acido urico	352	13,037	12,933	13,166	n.s.
Componente principale: Acido urico	342	12,666	12,533	12,833	n.s.
Puro	259	9,592	9,666	9,500	n.s.
Con ossalato di calcio	80	2,962	2,733	3,250	n.s.
Con ossalato di calcio + calcio apatite	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Con urato di ammonio	1	0,037	0,066	—	n.s.
Componente principale: Urato di ammonio	3	0,111	0,133	0,083	n.s.
Puro	2	0,074	0,133	—	n.s.
Con ossalato di calcio	1	0,037	—	0,083	n.s.
Componente principale: Urato di sodio	9	0,333	0,266	0,416	n.s.
Puro	4	0,148	0,133	0,166	n.s.
Con acido urico	2	0,074	—	0,166	n.s.
Con calcio apatite	1	0,037	0,066	—	n.s.
Con ossalato di calcio + calcio apatite	1	0,037	0,066	—	n.s.
Con acido urico + calcio apatite	1	0,037	—	0,083	n.s.
Componente principale: Fosfati	360	13,333	16,200	9,750	0,0000
Componente principale: Calcio apatite	153	5,666	6,333	4,833	n.s.
Puro	33	1,222	0,466	2,166	0,0001
Con carbonato apatite	22	0,814	1,066	0,500	n.s.
Con carbonato apatite + ossalato di calcio	7	0,259	0,466	—	0,0465
Con struvite	8	0,296	0,133	0,500	n.s.
Con struvite + carbonato apatite	5	0,185	0,200	0,166	n.s.
Con struvite + ossalato di calcio	1	0,037	0,066	—	n.s.
Con ossalato di calcio	44	1,629	2,000	0,166	n.s.
Con ossalato di calcio + carbonato apatite	11	0,407	0,533	0,250	n.s.
Con ossalato di calcio + struvite	8	0,296	0,533	—	0,0292
Con ossalato di calcio + struvite + carb. apatite	5	0,185	0,333	—	n.s.
Con ammonio urato + carbonato apatite	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Con amm. urato + carb. apatite + oss. di calcio	1	0,037	0,066	—	n.s.
Con proteine	6	0,222	0,400	—	n.s.
Componente principale: Brushite	6	0,222	0,200	0,250	n.s.
Puro	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Con ossalato di calcio	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Con calcio apatite	2	0,074	0,066	0,083	n.s.

(continua)

(segue tabella I)

	PERIODO				P
	Marzo 1979 Febbraio 1989		Marzo 1979 Febbraio 1984	Marzo 1984 Febbraio 1989	
	N.	%	%	%	
Componente principale: Carbonato apatite	14	0,518	0,533	0,500	n.s.
Con calcio apatite	5	0,185	0,066	0,333	n.s.
Con ossalato di calcio	5	0,185	0,266	0,083	n.s.
Con ossalato di calcio + struvite	4	0,148	0,200	0,083	n.s.
Componente principale: Struvite	187	6,925	9,133	4,166	0,0000
Puro	52	1,925	1,933	1,916	n.s.
Con carbonato apatite	79	2,925	4,800	0,583	0,0000
Con calcio apatite	17	0,629	0,533	0,750	n.s.
Con calcio apatite + carbonato apatite	3	0,111	0,200	—	n.s.
Con ossalato di calcio	9	0,333	0,466	0,166	n.s.
Con ossalato di calcio + calcio apatite	6	0,222	0,133	0,333	n.s.
Con ossalato di calcio + carbonato apatite	9	0,333	0,466	0,166	n.s.
Con urato di ammonio	3	0,111	0,200	—	n.s.
Con urato di ammonio + carbonato apatite	5	0,185	0,200	0,166	n.s.
Con urato di ammonio + calcio apatite	1	0,037	0,066	—	n.s.
Con urati + calcio apatite + carbonato apatite	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Con proteine	1	0,037	0,066	—	n.s.
Componente principale: Carbonato di calcio	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Puro	2	0,074	0,066	0,083	n.s.
Componente principale: Cistina	22	0,814	0,733	0,916	n.s.
Puro	22	0,814	0,733	0,916	n.s.
Componente principale: 2-8 Diidrossiadenina	2	0,074	0,133	—	n.s.
Puro	2	0,074	0,133	—	n.s.
Componente principale: Colesterina	7	0,259	0,200	0,333	n.s.
Puro	7	0,259	0,200	0,333	n.s.
Componente principale: Proteine	19	0,703	0,933	0,416	n.s.
Puro	15	0,555	0,666	0,416	n.s.
Con ossalato di calcio + calcio apatite	2	0,074	0,133	—	n.s.
Con carbonato di calcio + carbonato apatite	2	0,074	0,133	—	n.s.
Componente principale: Materiale siliceo	4	0,148	0,133	0,166	n.s.
Componente principale: Sughero	1	0,037	—	0,083	—
Componenti: Non identificati	4	0,148	0,133	0,166	—

L'ordine dei componenti secondari, nei calcoli misti, è in relazione alla loro incidenza percentuale (n.d. = non determinato; n.s. = non significativo).

Dalla osservazione tra l'incidenza percentuale del primo e secondo periodo emerge una forte riduzione di riscontro del fosfato come componente principale, fondamentalmente dovuta alla netta riduzione della componente struvite, più che dimezzata rispetto al primo gruppo.

Come già rilevato da altri A.⁸, pare plausibile supporre che tale riduzione sia relazionabile al migliorato controllo delle

infezioni urinarie, grazie al progresso della terapia farmacologica ad esse mirata.

Tra i componenti secondari, merita forse la segnalazione dell'aumento, nel secondo periodo, di acido urico nei calcoli misti a componente principale di ossalato di calcio. Essa peraltro non è confermata da una significativa variazione nell'incidenza dell'acido urico come componente primario,

e può forse essere imputabile a variazione delle abitudini alimentari, possibile concausa anche dell'incremento della componente ossalatica.

Riassunto

Due milasettecento campioni pervenuti come calcoli urinari, in un laboratorio operante nell'area torinese, tra il marzo 1979 e il febbraio 1989, sono stati esaminati in spettrofotometria nell'infrarosso, utilizzando, per l'identificazione di alcuni componenti di difficile riconoscimento, un particolare accorgimento procedurale del quale si riporta la descrizione. Ai dati rappresentanti la composizione globale dei campioni pervenuti, viene affiancato un confronto statistico dell'incidenza di riscontro tra i primi 1500 campioni, pervenuti nel primo quinquennio, con gli altri 1200, pervenuti nel secondo. Tale confronto evidenzia in particolare, oltre ad un aumento dell'ossalato di calcio come costituente principale, una forte riduzione dell'incidenza di calcoli di struvite, tra i campioni pervenuti nel secondo periodo di osservazione. Tale risultato viene interpretato come conseguenza del miglioramento delle terapie per le infezioni renali.

[Minerva Urol Nefrol 1989;41:225-234].

Parole chiave: Analisi calcoli urinari - Spettrofotometria nell'infrarosso.

Bibliografia

- 1) Tsay YC. Application of infrared spectroscopy to analysis of urinary calculi. *J Urol* 1961; 6:838-54.
- 2) Bellanato J, Cifuentes Delatte L, Hidalgo A, Santos M. Application of infrared spectroscopy to the study of renal stones. *Urinary calculi. Int. Symp. Renal Stone Res., Madrid, 1972; 237-46.*
- 3) Fini M, Riva A, Vaccari A. La spettrofotometria infrarossa applicata all'analisi dei calcoli delle vie urinarie. *Urologia* 1975;42:369-76.
- 4) Oliver LK, Sweet RV. A system of interpretation of infrared spectra of calculi for routine use in the clinical laboratory. *Clin Chim Acta* 1976;72:17-32.
- 5) Tizzani A, Frea B, Scaglione C. L'analisi qualitativa della composizione chimica dei calcoli urinari all'indagine spettrofotometrica all'infrarosso; nostra esperienza. *Atti 50° Congresso della Società Italiana di Urologia, Ancona, 1977; 21-30.*
- 6) Daudon M, Protat MF, Reveillaud RJ. Analyse des calculs par spectrophotométrie infrarouge. *Avantage et limites de la méthode. Ann Biol Clin* 1978;36:475-89.
- 7) Berthelot M, Cornu G, Daudon M, Helbert M, Laurence C. Computeraided infrared analysis of urinary calculi. *Clin Chem* 1987;33(11):2070-3.
- 8) Takasaki E. Chronological variation in the chemical composition of upper urinary tract calculi. *J Urol* 1986;136(1):5-9.

Indirizzo per la richiesta di estratti: M. Rotunno - Laboratorio Nefrologico, Ospedale Maggiore S. Giovanni Battista, Corso Bramante, 90 - 10126 Torino.