

**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ**

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**

**Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

2016

Petra Feketová



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**

---

**Fakulta biomedicínského inženýrství  
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

# **Point of care testing – metody a využití v klinické biochemii**

**Bakalářská práce**

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Autor bakalářské práce: Petra Feketová

Vedoucí bakalářské práce: as. MUDr. Lenka Fialová, CSc

---

**Kladno 2016**



**CZECH TECHNICAL UNIVERSITY IN PRAGUE**

---

**Faculty of biomedical engineering  
Department of health care disciplines and population protection**

# **Point of care testing – methods and utilization in clinical biochemistry**

**Bachelor Thesis**

Study Programme: Specialization in Health Care

Branch of study: Medical Laboratory

Author: Petra Feketová

Thesis advisor: as. MUDr. Lenka Fialová, CSc

---

**Kladno 2016**

## Zadání bakalářské práce

Student: **Petra Feketová**  
Obor: Zdravotní laborant  
Téma: **POCT - metody a využití v klinické biochemii**  
Téma anglicky: POCT - methods and utilization in clinical biochemistry

### Zásady pro vypracování:

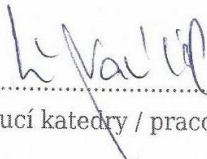
V přehledné bakalářské práci bude vymezen pojem vyšetření v mimolaboratorních podmínkách (POCT - point of care testing, vyšetření u pacienta), pojednán význam, specifika, oblasti využití, výhody a nevýhody těchto vyšetření v klinické biochemii. Cílem práce bude podat přehled technologií využívaných systémy POCT - instrumentální i neinstrumentální, a uvedení přehledu analytických přístupů, které POCT metody využívají (např. imunochemické a imunochromatografické metody, reflexní fotometrie, elektrochemie). Dále práce pojedná podrobněji o vybraných oblastech a analytech, kde je aplikace vyšetření v mimolaboratorních podmínkách potřebná (např. diabetologie, nefrologie, kardiologie, toxikologie).


### Seznam odborné literatury:

- [1] RACEK, Jaroslav, Klinická biochemie, ed. 2. přepr., Praha: Galén, c2006, 329 s., ISBN 80-7262-324-9
- [2] ŠTERN, Petr, Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia, ed. 1., Praha: Karolinum, 2005, 258 s., ISBN 80-246-1025-6
- [3] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ, Laboratorní techniky biochemie, ed. 1., Praha: VŠCHT, 2005, 258 s., ISBN 80-7080-586-2
- [4] CHROMÝ, Vratislav, Bioanalytika: analytické metody v klinické chemii a laboratorní medicíně, ed. 2., přeprac. a dopl., Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav chemie, 2011, 331 s., ISBN 978-80-904539-3-7
- [5] KAPLAN, Lawrence A, Amadeo J PESCE a Steven C KAZMIERCZAK, Clinical chemistry: theory, analysis, correlation, ed. 4., St. Louis: Mosby, 2003, 1179 s., ISBN 0-323-01716-9

zadání platné do: 30.09.2017

Vedoucí: as. MUDr. Lenka Fialová, CSc.

  
.....  
vedoucí katedry / pracoviště

  
.....  
děkan

V Kladně dne 18.12.2015

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Point of care testing – metody a využití v klinické biochemii vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k bakalářské práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně 19. 5. 2016

.....

Petra Feketová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala především mé vedoucí práce p. as. MUDr. Lence Fialové, CSc. za pomoc, cenné rady a připomínky, odborné vedení mé bakalářské práce a konstruktivní kritiku. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině za emoční podporu.

## **Abstrakt:**

Přehledná bakalářská práce pojednává o vyšetření v mimolaboratorních podmínkách, o jeho významu, výhodách a nevýhodách; a použití v klinické biochemii. Cílem této práce je podat přehled technologií, které jsou využívány v POCT – instrumentální a neinstrumentální; a přehled analytických přístupů, které POCT používá – optické metody, imunochemické metody a elektrochemie. Práce je dále zaměřena na vybrané oblasti a analyty, kde je aplikováno POCT – diabetologie, nefrologie, hCG, CRP, monitoring drog; a troponiny v rámci kardiologie.

Přínosem této práce je ucelený přehled o metodách a analytických přístupech využívaných v POCT a dále seznámení s konkrétními vybranými analyty, které využívají testování v režimu POCT.

## **Klíčová slova:**

Point of care testing, glukometr, diagnostické proužky, imunochromatografie, protilátky.

## **Abstract:**

This bachelor thesis focuses on examination in non-laboratory conditions, of its importance, advantages and disadvantages; and its use in clinical biochemistry. The goal of the thesis is to give an overview of technologies, which are used in POCT – instrumental and non-instrumental; and an overview of analytical approaches, which POCT uses – optical methods, immunochemical methods and electrochemistry. The thesis then focuses on selected fields and analytes, in which POCT is applied – diabetology, hCG, CRP, drugs monitoring; and troponins within cardiology.

The contribution of this thesis is an overview of methods and analytical approaches used in POCT and familiarization with specific selected analytes, which are tested in mode POCT.

## **Key words:**

Point of care testing, glucometer, diagnostic strips, immunochromatography, antibody.



# Obsah

1	Úvod.....	11
2	Cíle práce .....	12
3	Point of care testing .....	13
3.1	Specifika a oblasti využití .....	13
4	Přehled metod používaných POCT.....	15
4.1	Přehled neinstrumentálních metod.....	15
4.1.1	Obecná struktura diagnostických proužků pro analýzu moči.....	16
4.1.2	Imunochromatografické proužky.....	16
4.1.3	Obecná struktura proužku na stanovení glykémie.....	16
4.2	Přehled instrumentálních metod.....	16
5	Analytické přístupy využívající POCT.....	18
5.1	Optické metody .....	18
5.1.1	Absorpční fotometrie .....	18
5.1.2	Reflektometrie .....	20
5.1.3	Turbidimetrie .....	20
5.1.4	Nefelometrie .....	20
5.1.5	Fluorimetrie .....	21
5.2	Imunochemie.....	21
5.2.1	Imunoprecipitační metody .....	22
5.2.2	Imunoturbidimetrie, imunonefelometrie.....	23
5.2.3	Inhibice aglutinace .....	24
5.2.4	Microparticle Enzyme Immunosorbent Assay .....	24
5.2.5	Imunochromatografie.....	25
5.3	Elektrochemické metody.....	28
5.3.1	Potenciometrie .....	28

5.3.2	Ampérometrie .....	28
5.3.3	Enzymové elektrody .....	28
5.3.4	Biosenzory .....	29
6	Vybrané oblasti a analyty .....	30
6.1	Diabetologie .....	30
6.1.1	Glukometrie .....	30
6.1.2	Enzymy používané pro stanovení glukózy .....	31
6.1.3	Principy detekce signálu .....	32
6.1.4	Testovací proužky .....	32
6.1.5	Mediátory .....	34
6.1.6	Vlastnosti přenosných glukometrů .....	34
6.1.7	Glykovaný hemoglobin HbA <sub>1c</sub> .....	36
6.2	Nefrologie .....	38
6.2.1	Konstrukce diagnostických proužků .....	38
6.2.2	Reflexní fotometr .....	39
6.2.3	Acidita (pH) moči .....	40
6.2.4	Proteinurie .....	40
6.2.5	Glykosurie .....	41
6.2.6	Ketonurie .....	42
6.2.7	Hematurie .....	42
6.2.8	Bilirubin .....	42
6.2.9	Urobilinogen .....	43
6.2.10	Leukocyty .....	43
6.2.11	Dusitany .....	43
6.2.12	Mikroalbuminurie a kreatinin .....	43
6.3	Gastroenterologie .....	45
6.3.1	Okultní krvácení ve stolici: chemický průkaz hemoglobinu .....	45

6.3.2	Okultní krvácení ve stolici: imunochemický průkaz globinové části hemoglobinu .....	45
6.4	Stanovení hCG .....	46
6.5	C-reaktivní protein .....	48
6.6	Toxikologie .....	49
6.7	Kardiologie.....	52
6.7.1	Troponiny.....	53
7	Diskuse.....	55
8	Závěr .....	58
	Seznam použité literatury .....	59
	Seznam symbolů a zkratk .....	65
	Seznam obrázků.....	67
	Seznam tabulek .....	68

# 1 Úvod

Point of care testing (POCT) zahrnuje řadu vyšetření, které je možné provádět v místě ošetření pacienta. Vyšetření v režimu POCT představuje rychle se rozvíjející část klinické diagnostiky. Za nejdůležitější POCT přístroj je považován osobní glukometr pro měření hodnoty glykémie, ale spadá sem spousta dalších analytů, které lze pomocí POCT stanovit.

POCT je používáno v ordinacích praktických lékařů a ve zdravotnických zařízeních přímo v místě ošetření pacienta jako rychlé orientační testy. Některé typy testů mohou být využívány i k tzv. self-monitoringu, pacient si komerční test či zařízení může sám opatřit a v domácích podmínkách použít. K self-monitoringu patří především osobní glukometr a z jednorázových testů např. těhotenský test.

Práce se nejdříve zaměřuje na vymezení POCT, jeho specifika a oblasti využití. V další části podává přehled technologií využívaných systémy POCT, které dělíme na instrumentální a neinstrumentální. Následující kapitola se týká analytických přístupů, které POCT využívá a to konkrétně optické metody zahrnující absorpční fotometrii, reflektometrii, turbidimetrii, nefelometrii a fluorimetrii. Budou popsány principy imunochemických testů, precipitace, aglutinace, metody MEIA a imunochromatografie využívané pro stanovení řady analytů. Dále budou popsány elektrochemické metody, které se v rámci POCT využívají – potenciometrie, ampérometrie a moderní biosenzory.

Poslední část práce podrobně pojednává o vybraných oblastech a analytech, kde se POCT přístrojů a testů využívá. Mezi vybrané patří glukometrie, glykovaný hemoglobin, široká škála analytů stanovovaných pomocí diagnostických proužků v rámci nefrologie, dále stanovení hCG, CRP a drog pomocí imunochromatografických testů a jako poslední budou probrány kardiomarkery zastoupené troponiny.

Práce podává ucelený přehled analytických přístupů a vybraných analytů vyšetřovaných v režimu POCT. V domácí literatuře se nevyskytuje žádná souhrnná přehledná práce zabývající se POCT, tato bakalářská práce by tedy mohla plnit funkci stručného přehledu vyšetření v mimolaboratorních podmínkách.

## 2 Cíle práce

Cílem práce je podat stručný přehled o skupině vyšetření v klinické biochemii spadající do režimu POCT. V samostatných kapitolách bude vysvětlen pojem a úloha POCT a dále metody, které jsou v oblasti POCT využívány. Další část se soustředí na vybrané analyty, které jsou pomocí POCT vyšetřovány. Konkrétně se jedná o glykémii, glykovaný hemoglobin, analýzu moče diagnostickými proužky, stanovení okultního krvácení ve stolici, lidského choriového gonadotropinu (hCG ), C-reaktivního proteinu (CRP), drog a kardiomarkeru troponinu.

## 3 Point of care testing

Point of care testing (POCT) bývá nejjednodušeji definováno jako laboratorní metoda prováděná u pacienta. Mezi další definice patří vyšetření *in vitro* v mimolaboratorních podmínkách. Kromě názvu point of care testing se používá i near patient testing, bedside testing popřípadě off-site testing. Nejpoužívanějším termínem však zůstává point of care testing, ve zkratce POCT. (Chromý, 2011, s. 127)

Není zvykem název POCT do češtiny překládat. ČSN EN ISO 22870:2006 zavedla termín vyšetření u pacienta, ve zkratce VUP. VUP je normou definováno jako: „*Vyšetření, které se provádí v blízkosti pacienta nebo přímo u pacienta s výsledkem vedoucím k možné změně péče o pacienta.*“ (Houska, 2006)

K dosud nejobsáhlejším dokumentům zabývajícím se POCT patří směrnice americké NACB (National Academy of Clinical Biochemistry). POCT je tu definováno jako: „... *klinické laboratorní vyšetření konané blízko místa péče o pacienta a typicky prováděné zdravotnickými pracovníky, kteří nemají primární laboratorní vzdělání, nebo prováděné pacienty samotnými (sebekontrola). Termínem POCT se označuje každé vyšetření uskutečněné mimo laboratoř.*“ (CZEDMA, 2011, s. 1)

### 3.1 Specifika a oblasti využití

„*Racionální potřeba zavedení POCT nastává pouze tehdy, jestliže dotyčné vyšetření/stanovení není dostupné v místě spolupracující klinické laboratoře nebo v potřebném čase a jestliže zavedení POCT prokazatelně přispěje ke zlepšení zdravotní péče.*“ (CZEDMA, 2011, s. 3)

POCT se zavádí tehdy, pokud v místě ošetření pacienta není požadované vyšetření dostupné, popřípadě jím klinická laboratoř nedisponuje, a tudíž by výsledek nebyl dodán v potřebném čase. Důležitým faktorem pro zavedení POCT je tedy TAT (turn around time – doba odezvy, čas, který uplyne mezi zadáním požadavku a dodáním výsledku). TAT je zásadní v rozhodovacích situacích, kdy je na základě výsledku určena další medicínská péče. Od POCT se očekává rychle vydaný výsledek, který je dále využit pro určení diagnózy, posouzení zdravotního stavu, screening chorob, zahájení nebo monitorování léčby. Je třeba ale myslet na to, že pomocí POCT technologií nelze dosáhnout takové kvality výsledků jako v případě vyšetření v laboratoři. Dalším neméně

důležitým požadavkem je, aby provedení testů bylo jednoduché a bezpečné. (Chromý, 2011, s. 127, 128, 130)

Vyšetření v režimu POCT se uplatňuje především v místě péče o pacienta (jednotky intenzivní péče, detašovaná lůžková oddělení), v ordinacích praktických lékařů, v self-monitoringu (v domácím prostředí, např. glukometry), v decentralizovaných pracovištích v rámci nemocnic, v terénu, v lékárnách, v sanitních vozech a dalších. (Šprongl, 2009)

POCT umožňuje provádět stále širší paletu vyšetření počínaje stanovením patologických součástí moči, přes široké spektrum proteinů po vyšetření nukleových kyselin. Mezi nejrozšířenější vyšetření v režimu POCT patří stanovení glykémie osobním glukometrem (diabetologie), močová analýza pomocí diagnostických proužků (nefrologie), vyšetření okultního krvácení do stolice (gastroenterologie), stanovení kardiomarkerů při podezření na infarkt myokardu (kardiologie), imunochromatografické stanovení hCG a drog, imunoturbidimetrické stanovení CRP a v neposlední řadě i stanovení přítomnosti alkoholu v krvi (toxikologie).

Testy jsou jak kvalitativní, tak kvantitativní, např. markery srdečního infarktu, hCG a C-reaktivní protein. K provádění slouží diagnostické proužky suché chemie, které se mohou odečítat pouhým okem, tyto metody řadíme mezi neinstrumentální. V POCT se uplatňují i instrumentální metody využívající jednoduché ale i mnohparametrové přístroje, které nám odečítají daný parametr ve vzorku. (Racek, 2006, s. 289)

## 4 Přehled metod používaných POCT

POCT využívá široké spektrum různých technologií, které se v poslední době intenzivně rozvíjí a zdokonalují. Můžeme je rozdělit podle několika hledisek – na metody instrumentální a neinstrumentální nebo podle povahy analytické metody.

### 4.1 Přehled neinstrumentálních metod

Neinstrumentální metody (anglicky non-instrument-based systems) představují významnou formu POCT technologií, které využívají imunochemických metod, enzymatickou analýzu nebo chemickou reakci s opticky čitelným koncem reakce. Neinstrumentálními metodami se vyšetřuje celá řada vzorků – plná krev, sérum, plazma, moč, výkaly, plodová voda, sliny. Nejčastější formou neinstrumentálních metod POCT je kvalitativní analýza. (Jacobs, 2010, s. 311)

Kompetitivní i nekompetitivní imunoanalýzy se využívají k detekci mnoha analytů, např. hCG, drog, kardiálních markerů ale i ke zjištění zralosti fetálních plic. Kvalitativní analýza se používá především k vyšetření na okultní krvácení. Příklady metod a vyšetřovaných analytů jsou uvedeny v tabulce 1. (Jacobs, 2010, s. 311)

Tabulka 1 - Příklady neinstrumentálních metod

Typ analýzy	Princip analýzy	Formát	Vzorek	Analyt
Kvalitativní	Chemická reakce	Impregnovaný papírový strip	Stolice	Okultní krvácení
	Latexová aglutinace	Reagenční kazeta	Krev, plazma, sérum	Krev
	Imunochromatografie	Reagenční kazeta	Krev, plazma, sérum	Kardio-markery
	Microparticle Enzyme Immunosorbent Assay (MEIA)	Reagenční kazeta	Moč	Drogy
	Inhibice aglutinace	Reagenční kazeta	Moč	Drogy
Semi-kvantitativní	Chemická/enzymatická reakce	Impregnovaný papírový strip	Moč	Močová analýza
		Impregnovaný papírový strip	Krev	Glukóza
		Reagenční kazeta	Sliny	Ethanol
	Latexová aglutinace	Reagenční kazeta	Sérum	Myoglobin
Kvantitativní	Imunochromatografie	Reagenční kazeta	Krev, sérum, plazma	CK-MB, troponiny

(Jacobs, 2010, s. 312, vlastní zpracování)



### **4.1.1 Obecná struktura diagnostických proužků pro analýzu moči**

Chemické vyšetření moči se provádí výhradně diagnostickými proužky. Diagnostický proužek je plastový pásek, na kterém jsou nalepena políčka z porézního materiálu impregnovaného reagensy v suchém stavu. Po namočení proužku do moči moč difunduje do matrice, kde rozpustí suché reagensy, ty reagují s analyzovanou látkou za vzniku barevného produktu. Jednotlivé reakční principy budou probrány v kapitole 6.2. (Štern, 2005, s. 208)

### **4.1.2 Imunochromatografické proužky**

Proužek má testovací a kontrolní zónu, je impregnován konjugátem - protilátkami proti analytu (např. hCG/kardiomarkeru/daným drogám), značenými nejčastěji koloidním zlatem. Po ponoření proužku do biologického materiálu reaguje analyt, pokud je v biologickém materiálu přítomen, se značenou protilátkou a imunokomplex se projeví v testovací zóně jako červený proužek, který hodnotíme jako pozitivní reakci. Nezaregovaný konjugát dále vzlíná do kontrolní zóny, kde zareaguje s protilátkami a vznikne tak další proužek, který hodnotíme jako kontrolu funkčnosti testu. (Štern, 2005, s. 165) Detailněji jsou proužky popsány v kapitole 5.2.5.

### **4.1.3 Obecná struktura proužku na stanovení glykémie**

Moderní přenosné glukometry používají k měření glykémie detekční proužky na principu elektrochemie. Testovací proužek je nejdříve vložen do glukometru a poté na něj pacient aplikuje malou kapku své krve, kterou získá vpichem lancetou do špičky prstu. Výsledek měření je pak zobrazen na display glukometru. (Yoo, 2010, s. 4564) Více o struktuře proužku a jeho částech je uvedeno v kapitole 6.1.

## **4.2 Přehled instrumentálních metod**

Instrumentální metody se stávají stále sofistikovanějšími. Jsou vysoce automatizované, používají co nejmenší množství vzorku, vyžadují pouze minimální údržbu a eliminují či mají automatickou kalibrační funkci. Tato zdokonalení ve funkcích byla umožněna vývojem a miniaturizací elektrod a biosenzorů. Velmi důležitou součástí přístrojů POCT je propojení s laboratorním informačním systémem. Většina POCT přístrojů vyžaduje pouze několik mikrolitrů plné krve nebo moči. Analyzátor buď provádí analýzu z plné krve nebo má vnitřně zabudovaný systém – filtraci nebo centrifugaci – a

separuje tak červené krvinky a analyzuje získanou plazmu. Mezi dnes nejpoužívanější instrumentální metody patří reflexní fotometrie a biosenzory. (Jacobs, 2010, s. 311-312)  
Příklady instrumentálních metod a vyšetřovaných analytů jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2 - Příklady instrumentálních metod

Technologie	Formát	Vzorek	Analyt
Fotometrie - reflektometrie	Reagenční proužek	Plná krev, plazma, sérum	Glukóza
Fotometrie - transmitance	Reagenční kazeta	Plná krev, plazma, sérum	Drogy, glukóza
Fluorimetrie	Reagenční kazeta	Sérum	CK-MB, myoglobin
Potenciometrie/elektrochemie	Biosenzorový proužek	Plná krev	Glukóza
Imunochromatografie	Reagenční kazeta	Plná krev	CK-MB, myoglobin
Turbidimetrie – inhibice latexové aglutinace	-	Plná krev	CRP

(Jacobs, 2010, s. 313, vlastní zpracování)

## 5 Analytické přístupy využívající POCT

V následujících kapitolách budou probrány analytické přístupy, které jsou využívány při vyšetření v režimu POCT. Kapitoly seznamují s metodami optickými, imunochemickými a elektrochemickými.

### 5.1 Optické metody

Analýza látek pomocí světla zahrnuje širokou škálu metod. Optické metody jsou založeny na měření intenzity světla v závislosti na koncentraci reaktantů. Tyto metody patří mezi metody instrumentálně nenáročné, proto se používají v podobě senzorů, biosenzorů a mikroanalýzátorů. (Cibiček, 2014, s. 20, 21, 44)

#### 5.1.1 Absorpční fotometrie

Absorpční fotometrie se zabývá kvantitativním hodnocením změny intenzity záření po průchodu vzorkem. Základním vztahem pro absorpční fotometrii je Lambert-Beerův zákon:

$$A = a \cdot c \cdot l$$

$A$  = absorbance (bezrozměrná veličina)

$a$  = absorpční koeficient pro danou vlnovou délku

$c$  = molární koncentrace roztoku

$l$  = délka optické dráhy (tzn. tloušťka vrstvy roztoku)

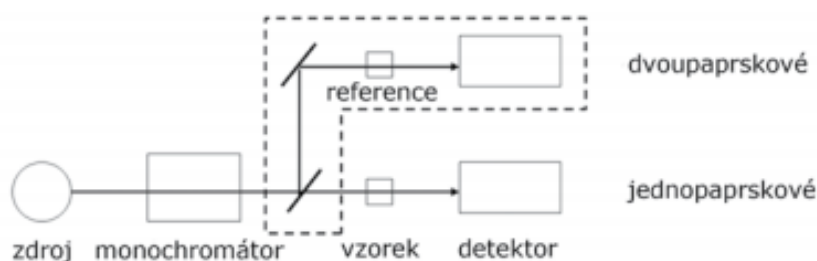
(Chromý, 2011, s. 166)

Na měření intenzity záření se používají fotometry nebo spektrofotometry, které měří v ultrafialové (UV) nebo viditelné (VIS) oblasti spektra. Fotometr měří intenzitu záření při jedné určité vlnové délce, oproti tomu spektrofotometr umožňuje měnit vlnovou délku měření v širokém intervalu. Fotometry a spektrofotometry jsou sestavené ze tří základních částí: zdroje zářivé energie, filtru nebo mřížky pro nastavení úzkého pásma záření a detektoru, který měří zářivou energii propuštěnou vzorkem. Mezi filtr respektive mřížku a detektor se vkládá květa se vzorkem. Jako zdroj světla se nejčastěji používá žárovka s wolframovým vláknem, deuteriové a xenonové výbojky. K výběru

určité vlnové délky je zapotřebí použít filtru nebo monochromátoru (obr. 1). (Chromý, 2011, s. 166)

Absorpční filtr je vrstva tvořená z různého materiálu, např. skla, želatiny, kapaliny nebo plastu. Tato vrstva propouští pouze požadované vlnové délky elektromagnetického záření. Dalším filtrem, který umožňuje měřit v jedné vlnové délce, je interferenční filtr. Je tvořen destičkou z  $\text{SiO}_2$ , která je z obou stran pokryta většinou stříbrným filmem. Záření proniklé do vnitřní vrstvy se odráží a interferuje. Vlnovou délku tak lze měnit nakloněním tohoto filtru. (Klouda, 2003, s. 61)

Pro výběr spektra určité vlnové délky jsou používány monochromátory, které vstupující záření rozdělí na řadu monochromatických paprsků, z nichž se vybere požadovaná vlnová délka. Zařízení se skládá ze vstupní štěrbinu, kterou proniká přiváděný paprsek, disperzního prvku a výstupní štěrbinu pro paprsek vybrané vlnové délky. Možnost monochromátoru měnit souvisle vlnovou délku mu umožňuje proměření spektra. Jako disperzní prvky se používají hranoly a mřížky. Hranoly využívají jevu disperze světla - při průchodu světla látkou dochází k rozložení bílého světla na jednotlivé barvy v závislosti indexu lomu na vlnové délce, záření s menší vlnovou délkou se láme více než záření s větší vlnovou délkou. Mřížka je tvořena transparentním materiálem s řadou rovnoběžných čar neboli vrypů. Jejím principem je ohyb a odraz záření. V závislosti na vzdálenosti vrypů a vlnové délce světla mřížka rozděljuje světlo do několika svazků, které se šíří různými směry. V moderních spektrofotometrech se hranol umísťuje k předseparaci svazku vlnových délek před mřížku. Ve starších přístrojích jsou hranoly hlavním disperzním prvkem. (Klouda, 2003, s. 61, 62) K měření intenzity záření, které vzorkem prošlo, slouží detektory elektromagnetického záření.



Obrázek 1 - Schéma absorpčního spektrometru

(Cibiček, 2014, s. 25)

## 5.1.2 Reflektometrie

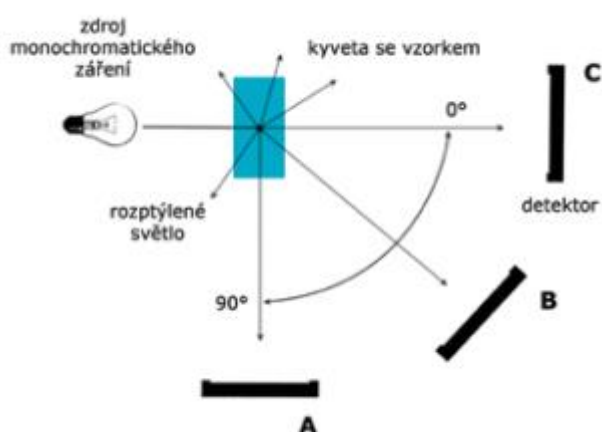
Pomocí reflexní fotometrie měříme reflektanci, tedy světelné záření odražené a rozptýlené od barevné reagenční vrstvy. Tuto metodu využívá především suchá chemie při analýze moči pomocí diagnostických proužků. Zdrojem světla je obvykle LED (Light-Emitting Diode, dioda emitující světlo), odražené světlo je pomocí filtrů a zrcadel vedeno k fotonásobiči. (Chromý, 2011, s. 105)

## 5.1.3 Turbidimetrie

Turbidimetrie měří absorbanci – míru pohlcení světla vzorkem – ke kvantifikaci zákalu. Zákal procházející světlo rozptyluje všemi směry a detektor, který je umístěn v ose světelného toku, měří záření prošlé vzorkem. Detekované záření je tedy ochuzené o rozptýlenou složku záření (obr. 2). Turbidimetrie se využívá pro měření analytů, které se vyskytují ve vyšší koncentraci.

## 5.1.4 Nefelometrie

Nefelometrie využívá rozptylu světla částicemi v roztoku (obr. 2). Tato metoda se používá při nižších koncentracích částic, neboť má vyšší citlivost než turbidimetrie. Zdrojem světla je buď wolframová žárovka, nebo xenonová výbojka. Detektor dopadajícího světla je umístěn v kolmém směru vzhledem ke vstupujícímu paprsku a měří v úhlu  $90^\circ$ . Detektorem může být fotodioda popřípadě fotonásobič.



Obrázek 2 – Schéma nefelometrie (A, B) a turbidimetrie (C)

(Cibiček, 2014, s. 30)

### 5.1.5 Fluorimetrie

Fluorimetrické stanovení využívá jevu, kdy v některých látkách po ozáření dostatečně energetickým zdrojem světla vzniká fotoluminiscence. Látky přitom emitují (vyzařují) světlo, intenzita tohoto světla je přímo úměrná koncentraci fluoreskující sloučeniny. (Schneiderka, 2000, s. 271) Detekce pomocí fluorimetrie se využívá například ke stanovení kardiomarkerů - CK-MB a myoglobin. (Jacobs, 2010, s. 313) Zdrojem záření může být halogenová žárovka nebo xenonová výbojka. Světlo ze zdroje prochází interferenčním filtrem nebo mřížkovým monochromátorem. Po průchodu světla vzorkem se měří emitovaná fluorescence, světlo je nejdříve vedeno přes filtr nebo reflexní mřížku a vybraná vlnová délka pak dopadá na fotonásobič. (Štern, 2005, s. 167)

## 5.2 Imunochemie

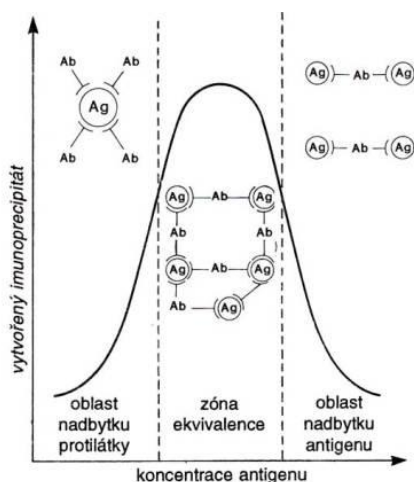
Imunoanalýza slouží ke stanovení koncentrace specifických bílkovin a dalších látek, jejím základem je reakce mezi protilátkou a antigenem *in vitro*.

Protilátky jsou glykoproteiny, které řadíme mezi imunoglobuliny, neboť jsou součástí globulinové frakce bílkovin krevního séra. Mají specifickou schopnost vázat antigen, jehož přítomnost v organismu tvorbu dané protilátky vyvolala. Imunoglobuliny dělíme podle struktury do pěti tříd: IgG, IgM, IgA, IgD a IgE. V imunochemických reakcích *in vitro* se nejčastěji používá v lidském těle nejvíce rozšířený IgG. Molekula IgG má charakteristickou strukturu ve tvaru písmene ypsilon – dva identické těžké řetězce a dva identické lehké polypeptidové řetězce, ty jsou navzájem spojeny disulfidickými můstky. Na koncích ramének jsou vazebná místa pro antigen.

Antigen je makromolekula (přírodního či syntetického původu), která je imunitním systémem rozeznána jako cizí a se kterou se daná protilátka specificky váže. Imunogenem označujeme kompletní antigen, který je v organismu schopen vyvolat obrannou reakci imunitního systému a to tvorbou imunoglobulinů aktivovanými lymfocyty. Nekompletní antigen neboli hapten je nízkomolekulární látka, která nedokáže sama vyvolat tvorbu protilátek – není imunogenní, ale stále může s protilátkami specificky reagovat. Specifická komplementární vazebná místa protilátek reagují s determinantními místy na imunogenu za vzniku imunokomplexu antigen-protilátka. (Káš, 2005, s. 38-39)

## 5.2.1 Imunoprecipitační metody

Principem imunoprecipitačních metod je vznik imunokomplexu v roztoku v podobě viditelného precipitátu. Na rozdíl od pouhého imunokomplexu, který vznikne za jakéhokoli poměru koncentrací antigenu a protilátky, imunoprecipitát se vytvoří v zóně zvané ekvivalence. Zóna ekvivalence je oblast optimálních koncentrací antigenu a protilátky v určitém poměru. Poměr počtu molekul v zóně ekvivalence je blízký hodnotě 1:1. Nadbytek jedné složky imunointerakce brání vzniku precipitátu (obr. 3). (Káš, 2005, s. 39)



Obrázek 3 - Vytvoření precipitátu v závislosti na koncentraci antigenu

(Bartoš, 2004)

Během precipitační reakce interaguje antigen s protilátkou za vzniku nerozpustného precipitátu. Průběh tvorby a konečný výsledek reakce lze sledovat a stanovit díky změnám optických vlastností roztoku. Kvalitativně lze vzorek hodnotit pouhým okem, zda se viditelný precipitát vytvořil či nevytvořil. Kvantitativní stanovení se provádí nefelometricky, popřípadě turbidimetricky. Při reakci antigenu s protilátkou vzniká zákal, spektrofotometricky změříme intenzitu prošlého světla detektorem, který je u nefelometrie mimo linii zdroje světla a u turbidimetrie je umístěn přímo proti zdroji světla. Intenzita rozptýleného světla je závislá na koncentraci vzniklého precipitátu a ta je úměrná původní koncentraci sledovaného imunoreaktantu (protilátce popřípadě antigenu). (Káš, 2005, s. 40) Typickým testem, který využívá imunoprecipitační metodu, je těhotenský test.

Podobná precipitaci je aglutinační reakce. Aglutinace je shlukování částic, ke kterému dochází v přítomnosti protilátky. Protilátka se váže na několik částic a spojuje je

tak do shluků. Aglutinační metody jsou citlivější než metody precipitační. Jejich hlavním rozdílem je charakteristika použitého antigenu, u precipitace se jedná o rozpustný antigen, při aglutinaci se používají nerozpustné (korpuskulární) antigeny.

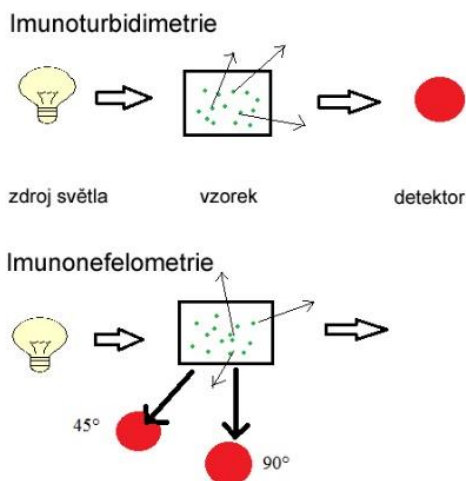
Při aglutinaci může být využito latexových částic, což jsou stejně velké kruhové částice, na nichž jsou sorbovány antigeny nebo protilátka. Smícháním latexového reagentu se vzorkem dochází k vazbě mezi antigenem a protilátkou a tím shlukování latexových částic, které detekujeme turbidimetricky. Latexových částic se využívá ke stanovení CRP – částice má na povrchu protilátku proti lidskému C-reaktivnímu proteinu. Kromě latexových částic mohou být použity i částice zlata (například v těhotenském testu). (Chromý, 2011, s. 235)

### **5.2.2 Imunoturbidimetrie, imunonefelometrie**

Tyto metody využívají také precipitační metody, ale od imunoprecipitace se liší způsobem detekce imunokomplexu. (Chromý, 2011) Reakce jsou založeny na měření množství vzniklých imunokomplexů mezi specifickou protilátkou a antigenem. Koncentrace analyzovaného antigenu popřípadě protilátky je úměrná rychlosti tvorby zákalu a jeho hustotě. Nefelometrie a turbidimetrie se používají především ke stanovení sérových bílkovin (Bartůňková, 2011, s. 45), v režimu POCT se jedná o CRP. (Jacobs, 2010, s. 313)

U nefelometrie je zdrojem světla výbojka nebo laser, detektor je umístěn mimo linii zdroje světla a měří intenzitu záblesků světla, které je odraženo od komplexů antigen-protilátka. Turbidimetrie jako zdroj světla využívá diodu, detektor je umístěn přímo proti zdroji světla (obr. 4). K detekci se využívá absorbance, měří se tedy úbytek intenzity světla, které prošlo roztokem. Citlivost nefelometrických reakcí je možné zvýšit látkami zvýrazňujícími tvorbu imunokomplexů. Nejčastěji se používají latexové partikule, které umožňují stanovovat hladiny antigenů, které se v tělních tekutinách vyskytují v nízkých koncentracích (např. hladiny CRP u novorozenců). (Bartůňková, 2011, s. 45-46)





Obrázek 4 - Schéma imunoturbidimetrie a imunonefelometrie  
(Švecová, 2013)

### 5.2.3 Inhibice aglutinace

Pomocí inhibice aglutinace se dají detekovat nízké hladiny antigenů, metoda se využívá ke stanovení hCG a drog. Reakční směs obsahuje částice (erytrocyty) obalené antigenem a specifickou protilátkou. Po přidání vzorku, který obsahuje hledaný antigen, dojde k navázání antigenu ve vzorku na protilátku a nedojde tak k hemaglutinaci (pozitivní výsledek). Pokud ve vzorku antigen není přítomen, protilátka se naváže na navázaný antigen na erythrocytech, dojde k hemaglutinaci a výsledek se projeví aglutinací krvinek (negativní výsledek). V POCT testech mohou být v aglutinaci použity latexové částice a částice zlata, princip je stejný jako u erythrocytů. (Chromý, 2011, s. 235)

### 5.2.4 Microparticle Enzyme Immunosorbent Assay

Microparticle Enzyme Immunosorbent Assay (MEIA) je moderní forma ELISA metody, která využívá vazby jednoho z partnerů imunochemické reakce (antigen nebo protilátka) na pevný nosič (strip) a druhého partnera na mikročástici. Oproti klasické ELISA metodě má MEIA tu výhodu, že mikročástice jsou rozptýlené a představují tak homogenní způsob analýzy. K tomu je možno na mikročástice navázat více imunochemických partnerů a provést tak na jednom mikronosiči více imunochemických stanovení. (Mikročástečková imunochemická analýza, 2013, s. 1) Metody MEIA se využívá např. na stripech ke stanovení drog.

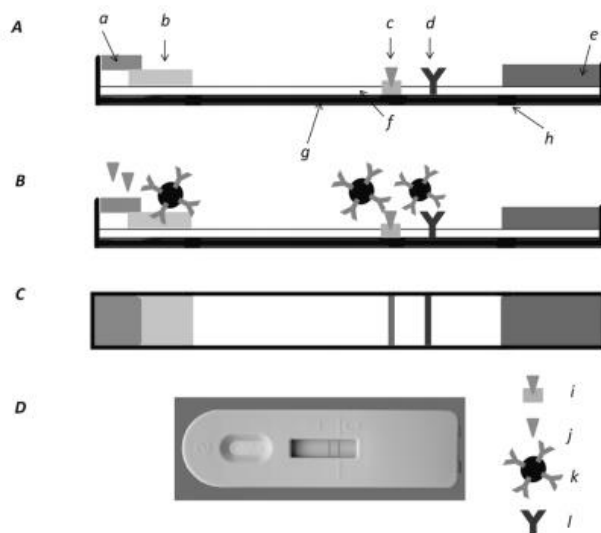
## 5.2.5 Imunochromatografie

Imunochromatografie kombinuje imunoanalýzu s tenkovrstvou chromatografií. Nejdůležitější oblasti využití můžeme rozdělit na takzvané OTC testy (over the counter, sebekontrola) a profesionální POCT. Imunochromatografie v OTC-POCT se využívá nejčastěji ke stanovení hCG k určení těhotenství, dále k určení ovulace, stanovení drog, určení infekčních onemocnění a cholesterolu. Profesionální POCT jsou využívány především k určení infekčních onemocnění, kardiálních markerů jako troponinů, CK-MB, myoglobinu; a dále k potvrzení těhotenství a stanovení drog. (Warsinke, 2009, s. 1397)

Imunochromatografie se využívá v imunochromatografických testovacích prouzcích a přístrojích založených na imunochemických metodách. Testy mohou být čistě manuální (neinstrumentální metoda) nebo se mohou odečítat pomocí přístroje (instrumentální metoda). Imunochromatograficky se dají stanovit jednotlivé analyty, ale i celé spektrum (například více kardiálních markerů najednou). (Warsinke, 2009, s. 1397)

### 5.2.5.1 Imunochromatografický test

Schéma imunochromatografického testu je na obrázku 5. Na plastovém vyztužení je umístěna membrána. Na začátku testu na membráně je jedna či více podložek, na které se aplikují vzorky a reagenty. Na vlastní membráně jsou pak většinou dvě místa v podobě úzkých příčných linek, na kterých jsou imobilizované protilátky nebo konjugáty proteinů s analytem. Na konci testu je umístěna absorpční podložka, která urychluje tok tekutiny membránou. Celý systém může být uložen v plastovém krytu, který má otvory pouze pro aplikaci vzorku a odečtení výsledku (obr. 5 D). Nejvýznamnějšími složkami imunochemického testu jsou membrána, protilátka a značka k barevnému zviditelnění výsledku testu. (Göselová, 2014)



Obrázek 5 - Schéma imunochromatografického testu; A – pohled z boku, B – použitý formát detekce č. 2, viz kap. 5.2.5.4, C – pohled shora, D – komerční souprava, a – podložka pro vzorek, b – podložka pro konjugát, c – testovací linie, d – kontrolní linie, e – absorpční podložka, f – membrána, g – podložka pod membránu, h – plastový kryt, i – konjugát bílkoviny s haptenem, j – hapten, k – konjugát primární protilátky s barevnou částicí, l – sekundární protilátka

(Göselová, 2014)

### 5.2.5.2 Membrána

Membrány jsou jedny z nejdůležitějších částí systému. Jsou tenké a křehké, proto se umisťují na plastové vyztužení. Nejčastěji používaným materiálem je nitrocelulóza, ale používají se i jiné polymerní materiály, např. nylon nebo polyethylen. Pro výběr membrány je důležitá její schopnost dobře vázat detekční činidlo a vhodná velikost jejích pórů, která ovlivňuje kapilární síly a tím i průběh detekčního procesu. Membrána dále obsahuje podložku pro vzorek, které se vyrábějí z celulózy, a podložku pro konjugát, ta je tvořena skleněnými, celulózovými nebo polyesterovými vlákny. Podložka pro vzorek může být nasycena různými reagenциями (proteiny, detergenty), které ovlivňují rychlost průtoku vzorku diagnostickou membránou, reakční dobu analýzy, ale mohou působit i jako filtr odstraňující hrubé částice ze vzorku. Na konci membrány je umístěna absorpční podložka, která nasává roztok z membrány a urychluje tak postup detekce. (Göselová, 2014)

### 5.2.5.3 Značky používané k vizuální detekci

K vizuální detekci výsledku testu se používají barevné značky ve formě nanočástic (velikost v řádu desítek nm). Nejpoužívanější je značení koloidním zlatem, které je červené. Kromě nanočástic zlata se používají např. i nanočástice uhlíku, v menší míře pak barevné latexové nanočástice a nanočástice selenu. Typický průměr nanočástic v imunochemických testech je 40 nm. Nanočástice zlata nepodléhají rozkladným procesům účinkem světla, nejsou toxické, jejich aplikace je snadná a jsou dlouhodobě stabilní (při skladování v suchu při 4 °C). (Göselová, 2014)

### 5.2.5.4 Detekční princip

Princip imunochromatografie spočívá v pohybu kapaliny membránou, na které je testovací a kontrolní linie. Pokud je analyt ve vzorku přítomen, zachytí se v testovací zóně a to se projeví zbarvením linie podle druhu použité značky. Přebytečná protilátka se zachytí na kontrolní linii, která se také zbarví. Pokud vzorek analyt neobsahuje, zbarví se pouze kontrolní linie jako důkaz správně proběhlé detekce. (Göselová, 2014)

Použitý formát detekce se volí podle typu analytu. Nízkomolekulární látky mající jedno vazebné místo pro protilátku se mohou detekovat pouze pomocí kompetice. Nejčastěji se používají dva formáty: (1) Protilátka je nanášena na testovací linii, značený analyt je aplikován na podložku pro konjugát a soutěží s analytem ve vzorku o vazebné místo na protilátce. (2) Na testovací linii je nanášen konjugát analyt-protein, na podložce pro konjugát je značená protilátka, v tomto uspořádání spolu soutěží o vazebné místo na protilátce analyt vázaný na testovací linii s analytem vzorku (obr. 5 B). Vysokomolekulární látky, které mají více než jedno vazebné místo se detekují v tzv. sendvičovém formátu. Na testovací linii je nanášena specifická protilátka, na podložce pro vzorek je aplikována značená specifická protilátka. Analyt se v průběhu detekce váže na značenou protilátku, se kterou putuje membránou a v testovací linii se váže na specifickou protilátku. (Göselová, 2014)

Během reakce se mění intenzita zbarvení proužku, test tak může být použit ke kvalitativnímu či semikvantitativnímu hodnocení. Odečet se provádí vizuálně, k dosažení spolehlivější interpretace výsledků byly vyvinuty imunochromatografické readery, většina z nich je založena na reflektometrii. (Warsinke, 2009, s. 1398)

## 5.3 Elektrochemické metody

Elektrochemie se zabývá závislostí elektrochemického chování roztoku na jeho koncentraci a složení. Základem elektrochemických metod je práce s elektrodami. Většina měření je založená na potenciometrických principech. Elektrochemických metod se využívá především pro měření glukózy a acidobazické rovnováhy. (Chromý, 2011, s. 106-107) Jelikož se jedná o instrumentálně nenáročné metody, jsou elektrochemické metody, podobně jako metody optické, využívány v podobě senzorů, biosenzorů a mikroanalyzátorů. (Cibiček, 2014, s. 44)

### 5.3.1 Potenciometrie

Základem potenciometrie jsou elektrodové oxidačně-redukční reakce v rovnovážném stavu, tedy stavu, kdy soupravou neprobíhá elektrický proud. Měří se ustálené napětí (potenciál) mezi dvěma elektrodami, jedna z nich je referentní (porovnávací) a druhá slouží jako indikační (měřicí). Nejčastěji se používá membránová iontově selektivní elektroda (ISE) a enzymová elektroda. Jako referentní elektroda je využívána většinou argent-chloridová nebo Ag/AgCl. Detektorem signálu je voltmetr. (Chromý, 2011, s. 107) Potenciál indikační elektrody závisí na koncentraci stanovované látky, přičemž referenční elektroda má potenciál konstantní.

### 5.3.2 Ampérometrie

Hlavní roli hraje ampérometrie v glukometrech založených na využití Clarkovy elektrody v kombinaci s kotveným enzymem GO (glukózaoxidáza). Princip ampérometrie je založen na měření proudu procházejícího indikační elektrodou, na kterou je vložen konstantní potenciál. Velikost tohoto proudu v přítomnosti stanovovaného analytu je přímo úměrná jeho koncentraci ve vzorku. Detektorem elektronů z oxidačně-redukčních reakcí je ampérometr. (Chromý, 2011, s. 107; Cibiček, 2014, s. 44)

### 5.3.3 Enzymové elektrody

Enzymové elektrody mají před indikační elektrodou membránu nebo síťku s imobilizovaným enzymem, který katalyzuje přeměnu vzorku na produkt. Produkt je dále detekován potenciometricky nebo ampérometricky. Enzymová elektroda se využívá pro stanovení glukózy, kotveným enzymem je v tomto případě glukózaoxidáza či glukózadehydrogenáza. (Chromý, 2011, s. 107)

### 5.3.4 Biosenzory

Senzory jsou zařízení, která detekují přítomnost určitých látek a převádějí ji na signál, který lze dále zpracovat. Při zpracování se využívá převodu signálu na elektronický prvek. Senzor se skládá z převodníku, který převádí biosignál do měřitelného signálu a je tvořen selektorem částic a citlivé vrstvy, a elektronického prvku zpracovávajícího signál do čitelné podoby. Biosenzory tvoří specifickou skupinu chemických senzorů, oproti senzorům využívají navíc specifický biologický element, nejčastěji se jedná o enzymy. Biosenzory jsou široce využívány při měření hladiny glukózy v krvi diabetiků pomocí osobních glukometrů (Chromý, 2011, s. 150-151; Yoo, 2010, s. 4559-4560) a dále v těhotenských testech a ke stanovení alkoholu v krvi. (Šobrová, 2012, s. 31)

Biosenzory pro stanovení glukózy obsahují většinou čtyři elektrody: platinovou měrnou elektrodu potaženou glukózaoxidázou, srovnávací argentchloridovou elektrodu, platinovou elektrodu určenou ke stabilizaci konstantního potenciálu a platinovou elektrodu bez enzymu sloužící ke stanovení interferujících látek. (Breinek, 2011, s. 12-13)

Většina současných glukózových biosenzorů pracuje s převodníkem na elektrochemickém principu (Yoo, 2010, s. 4560) popřípadě na fotometrickém principu. Konstrukce glukometrů využívajících biosenzory se pak liší podle způsobu jejich použití, zejména jestli jsou určeny pro sebekontrolu pacientů nebo pro profesionální použití zahrnující řízenou glukometrii. (Schneiderka, 2012, s. 2) Nejdostupnější a nejčastěji používaný je biosenzor na stanovení glukózy využívající enzymy a ampérometrie. Amperometrické senzory sledují proudy elektronů mezi biologickým systémem a elektrodou. (Yoo, 2010, s. 4560)

## 6 Vybrané oblasti a analyty

V režimu POCT je možné provádět celou škálu vyšetření různých analytů. Kvůli odborným, technickým a ekonomickým faktorům jsou ale doporučována jen některá z nich. Od POCT technologií se očekává především rychlá informace bezprostředně využitelná pro určení diagnózy, posouzení zdravotního stavu a především zahájení a monitorování léčby. V této kapitole se zaměříme pouze na některé oblasti POCT v oboru klinické biochemie. Významné je využití POCT v diabetologii, zejména stanovení hladiny glukózy v krvi, dále v kardiologii našlo uplatnění POCT stanovení kardiálních markerů, v gastroenterologii už se dlouhá léta používá POCT okultního krvácení do stolice. (Chromý, 2011, s. 130) Nedílnou částí POCT jsou také diagnostické močové proužky, testy na stanovení CRP, těhotenské testy a testy na stanovení drog a alkoholu. Vybrané analyty budou probrány v následujících kapitolách.

### 6.1 Diabetologie

Diabetes mellitus je celosvětový problém veřejného zdraví. Je to jedna z významných příčin morbidity a mortality. Diagnostika a léčba diabetu mellitu vyžaduje přísnou kontrolu hladiny glukózy v krvi. Možnosti poskytnutí takové přísné a přitom spolehlivé kontroly glykémie je stále předmětem intenzivního výzkumu, přičemž hlavní roli hrají elektrochemické biosenzory pro stanovení glykémie. (Wang, 2000, s. 983) Efektivním nástrojem sledování průběhu diabetu mellitu je i stanovení glykovaného hemoglobinu (HbA<sub>1c</sub>).

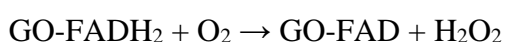
#### 6.1.1 Glukometrie

Glukometrie zaujímá stěžejní místo při dlouhodobém sledování léčby diabetu mellitu. Stanovení glukózy v krvi v režimu POCT se provádí pomocí osobních glukometrů nebo glukometrů pro profesionální použití, které využívají testovací proužky s fotometrickou či elektrochemickou detekcí. Současné proužky pro stanovení glukózy používají elektrochemickou detekci založenou na oxidaci redukovaného koenzymu. (Schneiderka, 2012a, b)

## 6.1.2 Enzymy používané pro stanovení glukózy

Měření glukózy je obvykle založeno na přeměně glukózy jedním z těchto tří enzymů: hexokináza, glukózaoxidáza (GO) nebo glukózadehydrogenáza (GDH). Hexokináza se používá v referenčních metodách pro měření glukózy pomocí spektrofotometrie v klinické laboratoři. V osobních glukometrech pro kontrolu hladiny glukózy v krvi se nejčastěji setkáváme s enzymy ze skupin glukózaoxidáz nebo glukózadehydrogenáz. Tyto enzymy se liší svými redox potenciály, kofaktory a selektivitou pro glukózu. (Yoo, 2010, s. 4560)

Glukózaoxidáza je standardním enzymem biosenzorů pro její vysokou selektivitu vůči glukóze. Glukózové biosenzory jsou založeny na imobilizované glukózaoxidáze, která katalyzuje oxidaci glukózy vzdušným kyslíkem za vzniku glukonolaktonu a peroxidu vodíku. Glukózaoxidáza pro katalýzu vyžaduje redoxní kofaktor – flavinadeninukleotid (FAD), který je počátečním akceptorem elektronů a je redukován na FADH<sub>2</sub>. FADH<sub>2</sub> je kyslíkem oxidován a vzniká peroxid vodíku, který je elektrochemicky oxidován. (Yoo, 2010, s. 4560) Elektrony z enzymové reakce jsou přeneseny prostřednictvím mediátoru na oxidoredukční indikátor (např. kys. fosfomolybdenová). (Chromý, 2011, s. 131) Referenční elektroda zachycuje počet přenosů elektronů. Tento tok elektronů je úměrný počtu molekul glukózy přítomné v krvi (obr. 6). (Yoo, 2010, s. 4560)



Obrázek 6 - Schéma enzymové reakce katalyzované glukózaoxidázou

V poslední době roste i počet biosenzorů založených na enzymu glukózadehydrogenáze (GDH). Do této skupiny patří GDH-PQQ (pyrrolochinolinchinonový koenzym) a GDH-NAD (nikotinamideninukleotidový koenzym). GDH katalyzuje nejen oxidaci glukózy ale i ostatních sacharidů (např. maltózy). Enzymatické reakce s GDH-PQQ jsou nezávislé na rozpuštěném kyslíku a ani nepotřebují NAD. Je to mimořádně účinný enzymatický systém s vysokou rychlostí elektronového přenosu, ale je relativně drahý. (Yoo, 2010, s. 4560, 4561) Enzymy GDH-NAD a GDH-FAD kombinují vlastnost GDH-PQQ - nezávislost na kyslíku, se



substrátovou specifitou GO. Je možné, že v budoucnu budou tyto enzymy více používány. (Schneiderka, 2012a)

### **6.1.3 Principy detekce signálu**

Peroxid vodíku jako produkt glukózaoxidázové reakce (viz obr. 6) lze využít k oxidaci leukobarviva za katalýzy enzymem peroxidázou a vzniklý barevný produkt měřit fotometricky. Častou aplikací je oxidační kopulace 4-aminoantipyrinu s aromatickým aminem nebo fenolem. Dalšími chromogenními akceptory mohou být o-tolidin, indofenol, o-dianisidin a další.

V roce 1987 byly na trh uvedeny první proužky s ampérometrickou detekcí. Naprostá většina dnešních přenosných glukometrů využívá elektrochemickou detekci, převážně ampérometrii, méně se používá coulometrie. Výhodou elektrochemické detekce je vyšší přesnost (na rozdíl od fotometrie výsledek nezávisí na velikosti kapky krve), potřeba menšího množství krve a eliminace rizika znečištění měřící jednotky. (Schneiderka, 2012b) Existují tři základní přístupy využívané pro elektrochemické snímání glukózy: měření úbytku kyslíku, měření množství peroxidu vodíku vzniklého enzymovou reakcí nebo využití imobilizovaného mediátoru, který převádí elektrony z glukózaoxidázy na elektrodu. (Yoo, 2010, s. 4560)

### **6.1.4 Testovací proužky**

Moderní glukometry (tzv. glukometry druhé generace) využívají detekční proužky, které jsou založené na elektrochemickém principu. Testovací proužek je tvořen plastovou podložkou s nejméně dvěma elektrodami, komůrkou a chemickými složkami – stabilním enzymem, oxidačně-redukčním mediátorem a povrchově aktivními látkami, které umožňují minimalizovat čas potřebný k naplnění komůrky (obr. 7). Proužky mohou mít řadu dodatečných funkcí jako například automatickou detekci naplnění či možnost plnit proužek více kapkami krve během určitého časového úseku. (Schneiderka, 2012b, s. 2)



Obrázek 7 - Schéma testovacího proužku založeném na elektrochemickém principu  
(Electrochemical Glucometers, 2016, překlad popisu)

Konstrukce proužku se může výrazně lišit počtem a typem elektrod, je možné využít dvě identické elektrody (biamperické měření), nebo elektrodu pracovní a referenční, nebo tříelektrodové zapojení (obsahující pomocnou elektrodu). Další elektrody jsou přidávány za účelem detekce naplnění komůrky nebo kompenzace hematokritu. (Schneiderka, 2012b, s. 2)

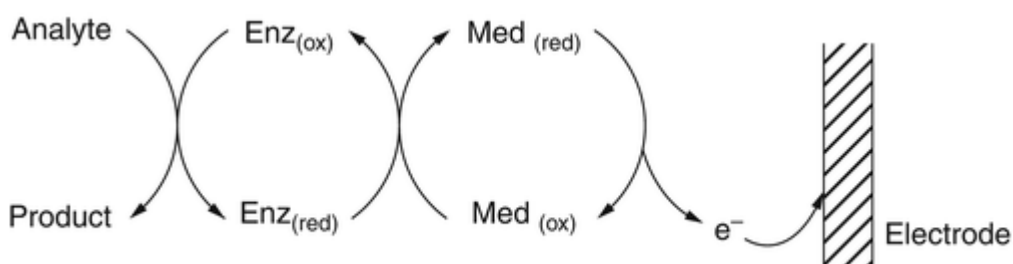
Pracovní elektroda se vyrábí sítotiskem nebo technologií ink-jet z uhlíkového inkoustu (směs uhlíkových částic a polyesterového pojiva), nebo vakuovým napařováním zlata nebo paladia. Jako referenční elektroda se používá argentchloridová elektroda nebo inertní vodič. AgCl elektroda se zhotovuje sítotiskem inkoustu, který obsahuje částice stříbra a AgCl v polyesterovém pojivu, referenční elektroda z inertního kovu se připravuje ze stejného materiálu jako pracovní elektroda. (Schneiderka, 2012b, s. 2)

Proužky pro přístroje pracující na fotometrickém principu (tzv. glukometry první generace) mají na svém povrchu chemikálii, která poskytuje se stanovovanou glukózou barevnou sloučeninu. Využívána je již zmiňovaná oxidační kopulace 4-aminoantipyridinu

s aromatickým aminem nebo fenolem. Tato technika stanovení glukózy se ale používá omezeně, neboť ustupuje modernější elektrochemické metodě. (Bernard, 2011)

### 6.1.5 Mediátory

K oxidaci glukózy lze místo  $O_2$  využít i jiná oxidovadla tzv. elektroaktivní mediátory/přenašeče (využívané v glukometrech druhé generace). Mediátory jsou malé molekuly, které jsou schopné existovat v oxidované i redukované formě s redox potenciálem blízkým redox potenciálu koenzymu. Usnadňují a urychlují výměnu elektronů mezi enzymy a elektrodou. Patří mezi ně většinou oxidoredukční systém využívající oxidaci NADH a/nebo flavinových nukleotidů (FAD) nebo deriváty ferrocenů. Pokud mediátor působí přímo na enzym, substrát reaguje nejprve s oxidovanou formou enzymu a mediátor poté oxiduje redukovaný enzym a získané elektrony předá povrchu elektrody (obr. 8). Často se využívá působení mediátoru na produkty enzymových reakcí, např. na peroxid vodíku. Využití mediátorů umožňuje snížit potřebný elektrochemický potenciál. (Chromý, 2011, s. 253, 254)



Obrázek 8 - Přenos elektronů na elektrodu pomocí mediátoru

(Hsueh, 2014)

### 6.1.6 Vlastnosti přenosných glukometrů

Jsou preferovány glukometry s jednoduchým intuitivním ovládáním, krátkou dobou analýzy, s co nejmenším potřebným množstvím krve, umožňující odběr arteriální, kapilární a žilní krve, popřípadě odběr z alternativních míst a v neposlední řadě s co nejjednodušší údržbou (např. osobní glukometr firmy Accu-Chek, obr. 9). Objem požadované krve se pohybuje mezi desetinami mikrolitru až do několika mikrolitrů. Vlastní analýza u většiny glukometrů trvá méně než 20 s. Údržba glukometru se týká

očisty a dezinfekce přístroje, dobíjení baterie a aktualizace údajů o šarži proužků. (Schneiderka, 2012b)



Obrázek 9 - Osobní glukometr firmy Accu-Chek

(Accu-Chek® Performa Nano, 2015)

Na glukometry pro profesionální použití jsou kladeny další technické požadavky: zajištění validity výsledků, zabezpečení dat, připojení k laboratornímu a nemocničnímu informačnímu systému (LIS/NIS) pro snížení rizika chyby a pravděpodobnosti poškození pacienta. Glukometry pro profesionální použití se liší od osobních glukometrů svou hardwarovou a softwarovou výbavou. (Schneiderka, 2012b)

Do hardwarové výbavy profesionálních glukometrů patří integrovaná čtečka čárového kódu (snímání identifikace operátora a pacienta, informace o šaržích kontrolních materiálů) a koncová stanice pro obousměrnou komunikaci se softwarem a LIS/NIS, koncová stanice dále slouží pro dobíjení baterie glukometru. (Schneiderka, 2012b)

Softwarová výbava profesionálních glukometrů umožňuje zabezpečení dat, validitu výsledků, identifikaci operátora manuálním vstupem nebo pomocí čárového kódu, identifikaci pacienta manuálně, čárovým kódem či výběrem ze seznamu elektronicky staženého do glukometru. Užitečnou vlastností je možnost připojení komentáře k výsledku měření. (Schneiderka, 2012b)

Glukometry se nesmí používat u pacientů s poruchami krevního oběhu (dehydratace, hypotenze, šok), u dialyzovaných pacientů a novorozenců. Všechny hodnoty naměřené na glukometrech pro profesionální použití nad 15 mmol/l a pod 3 mmol/l musí být ověřeny v klinické laboratoři. (Schneiderka, 2012b)

## 6.1.7 Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub>

Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub> má nesmírný význam pro sledování průběhu diabetu mellitu. Vzniká neenzymovou reakcí glukózy s hemoglobinem. Hladina glykovaného hemoglobinu tedy závisí na délce života erytrocytů (průměrně 120 dní) a na koncentraci krevní glukózy. Množství glykovaného hemoglobinu tak představuje hodnoty průměrné glykémie za posledních 6–8 týdnů. Oproti stanovení plazmatické glukózy má glykovaný hemoglobin tu výhodu, že je mnohem stálější, nemění se v průběhu dne a není zapotřebí provádět měření nalačno. (Beránek, 2013, s. 44, 45) Pro stanovení glykovaného hemoglobinu se používá několik instrumentálních metod, mezi nejčastější patří afinitní chromatografie a imunochemické metody. (Friedecký, 2011a, s. 486)

### 6.1.7.1 Ambulantní přístroje pro vyšetření HbA<sub>1c</sub>

Obsluha všech ambulantních přístrojů pro vyšetření HbA<sub>1c</sub> je velmi jednoduchá. Odebraná krev se mikropipetou vloží do přístroje, který je automatizovaný, sám vyhodnotí výsledek a zobrazí ho na display. Na našem trhu je několik firem a tedy i přístrojů pro stanovení glykovaného hemoglobinu v podmínkách ambulantních lékařů (např. přístroj SMART 700/340, obr. 10). (Karen, 2011, s. 19-20) Přehled systémů pro měření HbA<sub>1c</sub> uvádí tabulka 3.



Obrázek 10 - Přístroj SMART 700/340 pro stanovení HbA<sub>1c</sub>

(Karen, 2011, s. 20)

Tabulka 3 - Přehled systémů pro měření HbA<sub>1c</sub>

Výrobce	POCT měřicí systém	Princip stanovení
Axis Shield	Afinion	Afinitní chromatografie
Axis Shield	NycoCard	Afinitní chromatografie
Bio-Rad	In2It	Afinitní chromatografie
Boditech Med Inc	i-Chroma	Imunochemická metoda
DiaSys	InnovaStar	Imunochemická metoda
EUROlyzer	SMART 700/340 ; 700	Enzymová imunoanalýza
Infopia	Clover	Afinitní chromatografie
Quitient Diagnostics	Quo-Test	Afinitní chromatografie
Siemens	A1cNow	Imunochemická metoda
Siemens	DCA Vantage	Imunochemická metoda

(Friedecký, 2011a, s. 486)

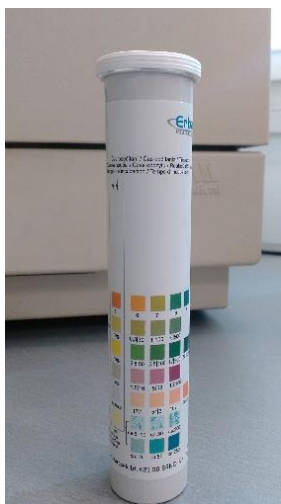
Výsledek měření HbA<sub>1c</sub> je možno vydat v následujících jednotkách: jednotka mmol/mol IFCC (nově standardizovaná jednotka, používá se v Evropě), jednotka % IFCC (používá se v Evropě) a jednotka % DCCT (používá se v USA, Doporučení ČSKB: Glykovaný hemoglobin a jeho stanovení v režimu POCT z roku 2011 ji ale nedoporučuje). Od roku 2004 je v České republice stanovení HbA<sub>1c</sub> standardizováno na bázi referenční metody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> IFCC (%). Podstatou standardizace je získávání srovnatelných výsledků měření v různých laboratořích a při použití různých metod měření a přístrojů. (Friedecký, 2011b, s. 126)

Metoda afinitní chromatografie pro stanovení HbA<sub>1c</sub> separuje pomocí kolony s boronovou kyselinou celkový glykovaný hemoglobin, neglykovaný hemoglobin se na koloně nezachytí a je eluován jako první. Následně jsou glykované hemoglobiny z vazby na boronátovou kyselinu vytlačeny sorbitolem a eluovány. Jednotlivé frakce jsou sledovány fotometricky. (Beránek, 2013, s. 46)

Imunochemické metody detekují HbA<sub>1c</sub> pomocí monoklonálních nebo polyklonálních protilátek rozeznávajících aminokyseliny na amino-konci β-řetězce nebo glukózový zbytek, ovčí monoklonální protilátky rozeznávají oba antigeny. Hodnotí se poměr HbA<sub>1c</sub> k celkovému hemoglobinu stanovenému fotometricky. Jsou dostupné metody na principu enzymové imunoanalýzy, latexové imunoaglutinační inhibice a turbidimetrické inhibiční imunoanalýzy. (Beránek, 2013, s. 48)

## 6.2 Nefrologie

Vyšetřování moči v režimu POCT se provádí výhradně pomocí diagnostických proužků a zahrnuje vyšetření pH moči, průkaz přítomnosti bílkoviny, glukózy, ketolátek, žlučových barviv bilirubinu a urobilinogenu a průkaz krve v moči (obr. 11). Na trhu jsou ale i proužky např. na současné stanovení mikroalbuminurie a kreatininu. Proužek se může odečítat subjektivně, což má význam v ordinacích lékařů a v domácím prostředí; nebo objektivně pomocí reflexního fotometru v ordinacích a klinických laboratořích. (Racek, 2006, s. 59) Reagencie proužků mohou interferovat s různými látkami, vznikají tak falešně pozitivní a falešně negativní výsledky. Přehled analytů, principů jejich stanovení a možných falešných výsledků je uveden v tabulce 3 na konci kapitoly.



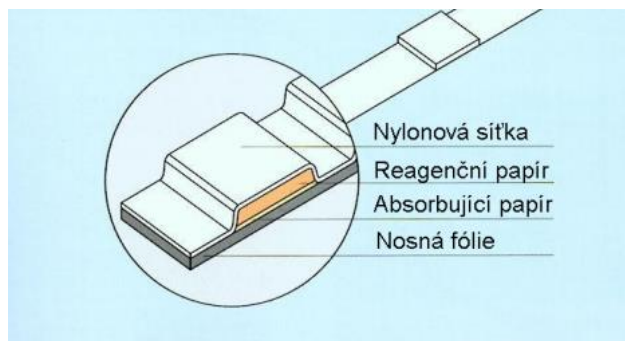
Obrázek 11 - Tuba s diagnostickými proužky, škála pro subjektivní odečítání

(vlastní zdroj)

### 6.2.1 Konstrukce diagnostických proužků

Diagnostický proužek je plastový pásek, na kterém jsou nalepeny plošky z porézního materiálu. Na tyto plošky jsou fixovány reagencie v suchém stavu (obr. 12). Proužek se ponoří do zkoumané moče na 1 – 2 s, při vytahování proužku se přebytečná moč otře o okraj zkumavky. Po namočení proužku do moče začne moč difundovat vrstvami a rozpouští přítomné reagencie. Rozpuštěné činidlo reaguje s analyzovanou látkou za vzniku barevného produktu. Výsledné zbarvení povrchu se odečítá po výrobcem stanovené reakční době (většinou 30 - 120 s) buď proti barevné stupnici, která je součástí balení proužků nebo pomocí reflexního fotometru. Proužky pro základní vyšetření moče

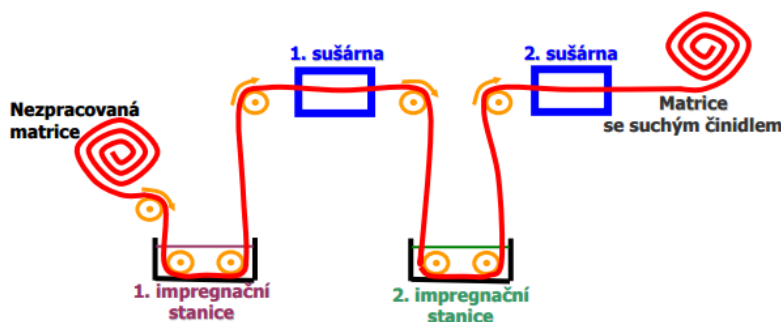
je třeba chránit před vlhkostí, nepřiměřeným teplem a světlem, neměly by se mrazit. (Štern, 2005, s. 163, 208; Štern, 2007, s. 1)



Obrázek 12 - Konstrukce proužků pro základní vyšetření moče

(Štern, 2007, s. 2)

Technologie výroby je poměrně složitá, protože je nutné zabránit, především u proužků s více reagenčními vrstvami, aby rozpouštědlo činidla, kterým se nanáší další vrstva, nerozpustilo již nanesenou vrstvu. To je zajištěno postupnou impregnací a sušením jednotlivých činidel (obr. 13) a navíc přidáním separační vrstvy polymeru, která od sebe činidla odděluje, tato vrstva praská při hydrataci močí. (Štern, 2007, s. 2)



Obrázek 13 - Technologie impregnace vláken

(Štern, 2007, s. 2)

## 6.2.2 Reflexní fotometr

V klinických laboratořích ale i v ordinacích lékařů se pro odečet výsledků analýzy moče používají speciální reflexní fotometry, které mohou být manuální či plně automatické. Automatický analyzátor moči na principu močových proužků dávkuje na proužek ze zkumavky se vzorkem moč a po jedné minutě měří reflektanci každé zóny, poloautomatický reflexní fotometr vyžaduje vložení již namočených proužků (např. Močový Reader LAURA, obr. 14). Proužkové readers jsou nastaveny a určeny pouze pro



originální proužky výrobce. Při měření reflektance je zdrojem světla obvykle LED produkující barevné, nebo bílé světlo. Jeho odraz od barevné zóny proužku vede soustavou zrcadel k filtrům a k fotonásobiči signálu. (Chromý, 2011, s. 136, 139)



Obrázek 14 - Močový Reader LAURA

(Močový Reader LAURA, 2016)

### 6.2.3 Acidita (pH) moči

pH moče určujeme pomocí reagenčního políčka, které obsahuje tři indikátory: bromthymolovou modř, fenolftalein a methylovou červen. Prolínáním barev těchto indikátorů vzniká široké spektrum barevných odstínů: od oranžové pro kyselou moč, přes žlutou, zelenou až k modré pro alkalickou moč. (Štern, 2005, s. 164) Pokud moč není konzervována, dojde k rozmnožení mikroorganismů rozkládající močovinu na  $\text{NH}_3$  a tím k posunu pH k vyšším hodnotám. (Slanina, 2011, s. 5)

### 6.2.4 Proteinurie

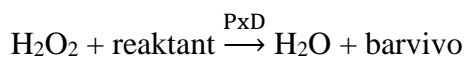
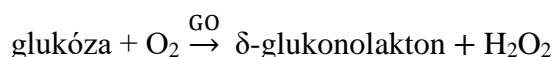
Zóna proužku je citlivá téměř výhradně na albumin, reakce navíc bývá falešně negativní v přítomnosti např. Bence-Jonesovy bílkoviny. Metoda je založena na tzv. bílkovinné chybě acidobazického indikátoru. Políčko pro důkaz bílkovin je impregnováno tetrabromfenolovou modří pufrovanou na pH 3,0. V nepřítomnosti bílkoviny je proužek žlutý, v přítomnosti albuminu poskytuje s indikátorem komplex a barva políčka se mění přes žlutozelenou v zelenou až modrozelenou. Tento semikvantitativní důkaz albuminu bílkovinnou chybou indikátoru ale není příliš spolehlivý, v laboratoři by bylo vyšetření doplněno zkumavkovou metodou. Falešně pozitivní výsledek se objevuje při kontaminaci moče vaginálním nebo uretrálním sekretem, při silně alkalickém pH moče, při kontaminaci nádobky dezinfekčním

přípravkem, (Štern, 2005, s. 163, 164, 208) a také v důsledku interference s metabolity penicilinu. Při vyšetření proteinurie diagnostickým proužkem nezachytíme mikroalbuminurii a vyšší koncentrace jiných proteinů než albuminu (falešně negativní výsledek). (Tesař, 2015, s. 55)

## 6.2.5 Glykosurie

Glukóza patří mezi nízkomolekulární látky a je tedy volně filtrována glomerulem, její koncentrace v primární moči je stejná jako v plazmě. Veškerá glukóza je pak reabsorbována v proximálním tubulu ledvin a ve fyziologické moči je prakticky neprokazatelná. (Racek, 2006, s. 62)

Principem průkazu glykosurie v moči je oxidace glukózy ve vzorku vzdušným kyslíkem na  $\delta$ -glukonolakton a peroxid vodíku, tuto reakci katalyzuje enzym glukózaoxidáza. Peroxid vodíku je štěpen enzymem peroxidázou na kyslík a vodu. Kyslík oxiduje bezbarvý reaktant na barvivo, které poté odečteme vizuálně či fotometricky (obr. 15). (Racek, 2006, s. 61)



Obrázek 15 - Princip průkazu glukózy v moči (GO – glukózaoxidáza, PxD - peroxidáza)

Pro důkaz glukózy se využívá reagenční políčko, které je impregnováno enzymy glukózaoxidázou a peroxidázou, a reaktantem. Vzniklý peroxid vodíku se využívá buď k oxidaci vhodné leukobáze (bezbarvý oxidoredukční indikátor, např. tetramethylbenzidin) na barevné oxidační produkty, nebo k oxidační kopulaci se 4-aminoantipyrinem s vhodným derivátem fenolu. Zbarvení se mění podle typu barevného systému ze žluté do červené až modrozelené. (Chromý, 2011, s. 88-92, 137)

Falešně negativní výsledek může způsobit vysoká koncentrace kyseliny askorbové (vitamin C) v moči a salicyláty, falešně pozitivní výsledek způsobuje kontaminace odběrových nádob oxidačními činidly (součást dezinfekčních prostředků). (Štern, 2005, s. 163)

## 6.2.6 Ketonurie

Ketolátky v moči zastupují aceton a kyselina acetoctová jako metabolity mastných kyselin. Principem analýzy je reakce ketoskupiny s reagensy impregnovanými na políčku: nitroprussid sodný a hydroxid sodný, který nám vytváří silně alkalické prostředí. Reakční políčko se může změnit v krémovou, růžovou až temně fialovou barvu podle koncentrace ketolátek v moči. (Štern, 2005, s. 163) Diagnostický proužek nedetekuje  $\beta$ -hydroxybutyrát, falešně pozitivní výsledek se objevuje u pacientů užívající levodopa (antiparkinsonika, lék nahrazující chybějící dopamin). (Tesař, 2015, s. 55)

## 6.2.7 Hematurie

Krev v moči se stanovuje reakcí hemoglobinu z erytrocytů, které jsou na proužku lyzovány. Proužek obsahuje barevný indikátor – tetramethylbenzidin a hydroperoxid, stanovení hemoglobinu je založeno na pseudoperoxidázové aktivitě hemu. Hemoglobin přítomný v moči katalyzuje oxidaci indikátoru peroxidem a vzniká modrozelené zbarvení. Proužek je navíc potažen síťovinou obsahující jodistan draselný, který oxiduje kyselinu askorbovou, pokud je v moči přítomna. Má totiž silně redukující účinky a reakci katalyzovanou hemoglobinem by zpomalovala, až zastavila. Falešně pozitivní nález je v případě nedostatečného vymytí čistících oxidačních přípravků při opakovaném používání sběrných nádobek. Falešně nižší výsledky způsobuje konzervace moče formaldehydem, vysoká proteinurie ( $> 5$  g/l) (Štern, 2005, s. 164) a kyselina askorbová. (Tesař, 2015)

## 6.2.8 Bilirubin

V moči se stanovuje pouze konjugovaný bilirubin (nekonjugovaný bilirubin je v krvi vázán na albumin a ten glomerulem neprojde). Bilirubin se stanovuje kopulací s diazotovaným dichloranilinem v přítomnosti silné kyseliny za vzniku červeného až červenofialového zbarvení indikačního políčka. Falešně pozitivní reakce je způsobena léčivými, které jsou v kyselém prostředí červené (např. fenazopyridin). Citlivost reakce se ztrácí při působení slunečního záření na moč (oxidace bilirubinu) a při vyšší koncentraci kyseliny askorbové nebo dusitanu v moči. (Štern, 2005, s. 164)

### 6.2.9 Urobilinogen

Urobilinogen se prokazuje na podobném principu jako bilirubin. Používá se jiná diazoniová sůl (4-methoxybenzendiazoazoniumfluoroborát), specifická vůči urobilinogenu. Při pozitivní reakci se reagenční políčko barví do červena. Stání moče na slunečním světle způsobuje oxidaci urobilinogenu na urobilin a falešné snížení nálezu. (Štern, 2005, s. 164) Falešně pozitivní výsledek mohou způsobit léky zbarvující moč do červena. (Kvalitativní chemická analýza moče, 2015)

### 6.2.10 Leukocyty

Leukocyty přítomné v moči jsou ve většině případů granulocyty. Reagenční políčko obsahuje ester indoxylu, který štěpí esteráza přítomná v granulocytech na indoxyl. Volný indoxyl reaguje s diazoniovou solí za vzniku fialového zbarvení. Pozitivní nález leukocytů v moči svědčí o bakteriálním zánětu. (Štern, 2005, s. 164) Falešně negativní reakce může být způsobena glykosurií, vysokou hustotou moči a vysokou koncentrací oxalátů. Falešně pozitivní nález může vzniknout při kontaminaci moče z genitálu. (Tesař, 2015, s. 56)

### 6.2.11 Dusitany

Bakterie, které vyvolávají infekce močového ústrojí (např. *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, některé enterokoky), redukují dusičnany na dusitany. Průkaz dusitanů v moči poukazuje na uroinfekci. Princip stanovení je založen na Grissově reakci: dusitany reagují se sulfanilamidem naneseným na proužku a vzniká diazoniová sůl, ta reaguje s další imobilizovanou látkou – derivátem benzochinolinu a vzniká růžová azosloučenina. (Beránek, 2013, s. 154) Falešně negativní výsledky jsou při vysoké diuréze (moč nesetrvála v močovém měchýři dostatečně dlouho, aby mohla proběhnout přeměna dusičnanů na dusitany), hladovění, dietě bez rostlinného původu a při infekci močových cest enterokoky nevytvářejících nitrity. (Štern, 2005, s. 165; Tesař, 2015, s. 56)

### 6.2.12 Mikroalbuminurie a kreatinin

Pro stanovení mikroalbuminurie jsou na trhu např. proužky MicroalbuPHAN® LAURA, které umožňují včasné zjištění mikroalbuminurie pro předcházení počátečních poškození ledvin a komplikací u diabetiků. Diagnostickým proužkem se souběžně

stanovuje albumin a kreatinin pro zvýšení přesnosti interpretace výsledků. To je zajištěno vypočtením poměru albuminu ke kreatininu. Proužky MicroalbuPHAN® LAURA jsou určeny pro semikvantitativní hodnocení mikroalbuminurie s využitím objektivního vyhodnocení močovým analyzátozem LAURA® Smart. (MicroalbuPHAN® LAURA, 2015)

Test na stanovení albuminu je založen na již popsané bílkovinné chybě acidobazického indikátoru (viz Proteinurie 4.2.4), test na stanovení kreatininu v moči používá metodu založenou na reakci kreatininu s kyselinou 3,5-dinitrobenzoovou v alkalickém prostředí, vzniká červenooranžového zbarvení. (MicroalbuPHAN® LAURA, 2015)

Tabulka 4 - Přehled analytů stanovovaných diagnostickými proužky

Analyt	Princip reakce	Falešně pozitivní výsledek	Falešně negativní výsledek
pH	Směs acidobazických indikátorů	Mikroorganismy	-
Proteinurie	Bílkovinná chyba acidobazického indikátoru	Kontaminace sekretem, dezinfekčním prostředkem, alkalické pH moči, metabolity penicilinu	Mikroalbuminurie, vysoká koncentrace jiných proteinů než albuminu
Glykosurie	Glukózaoxidázová reakce	Oxidační činidla	Kyselina askorbová, salicyláty
Ketonurie	Reakce kyseliny acetoctové a acetonu s nitroprussidem sodným v alkalickém prostředí	Levodopa	B-hydroxybutyrát
Hematurie	Pseudoperoxidázová aktivita hemu	Kontaminace nádob čistícími oxidačními prostředky	Konzervace moče formaldehydem, vysoká proteinurie, kyselina askorbová
Bilirubin	Azokopulační reakce	Léčiva zbarvující moč do červena (fenazopyridin)	Expozice světlu, kyselina askorbová, dusitany
Urobilinogen	Azokopulační reakce	Léčiva zbarvující moč do červena	Expozice světlu
Leukocyty	Esterázová aktivita granulocytů	Kontaminace moči z genitálu	Glykosurie, vysoká hustota moče, oxaláty
Dusitany	Grissova reakce	-	Vysoká diuréza, hladovění

## 6.3 Gastroenterologie

POCT v gastroenterologii je zaměřeno na odhalení okultního krvácení ve stolici. Toto vyšetření má značný význam pro včasnou diagnostiku kolorektálního karcinomu. Kolorektální karcinom představuje vážné zdravotní riziko pro evropskou populaci, především pro střední Evropu, kde je druhou nejčastější příčinou úmrtí na rakovinu. Výskyt kolorektálního karcinomu v České republice patří k nejvyšším v Evropě, v roce 2010 bylo diagnostikováno 8 265 pacientů s tímto karcinomem a 3 991 osob na toto onemocnění zemřelo. Kolorektální karcinom lze zachytit již v časných stádiích onemocnění. V roce 2000 byl v České republice zaveden screening okultního krvácení ve stolici. Okultní krvácení ve stolici lze stanovit tzv. guajakovým testem (chemický průkaz hemoglobinu), nebo pomocí imunochemických testů. (Kocna, 2015, s. 78)

### 6.3.1 Okultní krvácení ve stolici: chemický průkaz hemoglobinu

Chemickým testem určujeme přítomnost celé krve nebo hemoglobinu z rozpadlých erytrocytů ve stolici při podezření na skryté krvácení do střev v důsledku např. vředu, nádoru apod. Stanovení je založeno podobně jako průkaz krve v moči, tedy na pseudoperoxidázové aktivitě hemu (erytrocytů): hem katalyzuje oxidaci indikátoru (guajaková pryskyřice nebo dimethylbenzidin) peroxidem za vzniku zbarvení. (Chromý, 2011, s. 262; Schneiderka, 2000, s. 119) Výsledek testu může být ovlivněn přítomností kyseliny askorbové nebo hemoglobinu z potravy (maso, krev), proto je doporučeno 3 dny před tímto testem dodržovat dietní omezení – vyhnout se masu, potravinám obsahujícím vysoké množství vitamínu C a i některým druhům zeleniny. (Schneiderka, 2000, s. 119) Stolice by se měla odebírat ze dvou různých míst stolice, krev totiž nemusí být rozptýlena rovnoměrně.

### 6.3.2 Okultní krvácení ve stolici: imunochemický průkaz globinové části hemoglobinu

Jedná se o imunochemickou detekci hemoglobinu reakcí s monoklonální protilátkou proti lidskému hemoglobinu. Tento test má tu výhodu, že pacient nemusí držet speciální dietní opatření, neboť protilátka reaguje pouze s lidským hemoglobinem. Test je založen na imunochemickém principu, konkrétně na imunochromatografii. Pacient odebere vzorek stolice do odběrové nádoby, ve které je přítomen stabilizující roztok. Poté se nanese kapka extraktu na test a odečítá se výsledek (např. FOB TEST viz obr.

16). Pokud je hem ve vzorku přítomen, naváže se na něj značená protilátka proti lidskému hemu a na testu se vytvoří dva barevné proužky – 1 kontrolní a 1 testovací. Negativní výsledek je označen jen jedním proužkem – pouze značená protilátka (kontrolní linie). (Schneiderka, 2000, s. 119, 120)

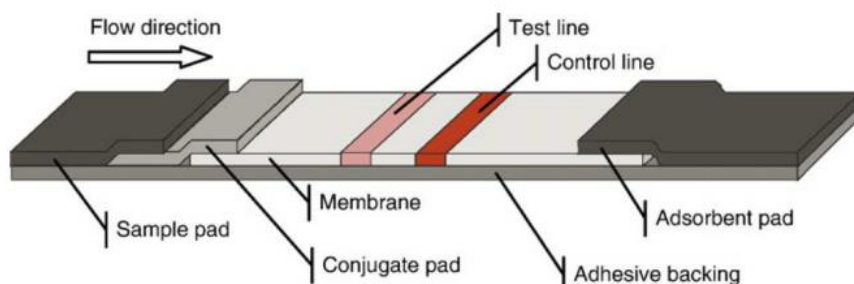


Obrázek 16 - Imunochemický FOB TEST pro průkaz okultního krvácení ve stolici  
(ONE STEP FOB TEST)

## 6.4 Stanovení hCG

Lidský choriový gonadotropin (hCG) je glykoprotein produkovaný placentou, je tvořen dvěma podjednotkami –  $\alpha$ -podjednotkou, která je shodná s  $\alpha$ -podjednotkami dalších hormonů (luteinizační hormon, folikulostimulační hormon a thyreotropní hormon), a  $\beta$ -podjednotkou, která je specifická pro hCG. Určení těhotenství je založeno na stanovení lidského choriového gonadotropinu (hCG), resp. jeho  $\beta$ -podjednotky. Plazmatické koncentrace hCG stoupají velmi brzo po nidaci vajíčka, hormon se vylučuje do krve a moče, kde ho lze stanovit. Nejvyšší koncentrace hCG v moči při těhotenství je v 8. týdnu gravidity. (Ledvina, 2009, s. 424; Zima, c2013)

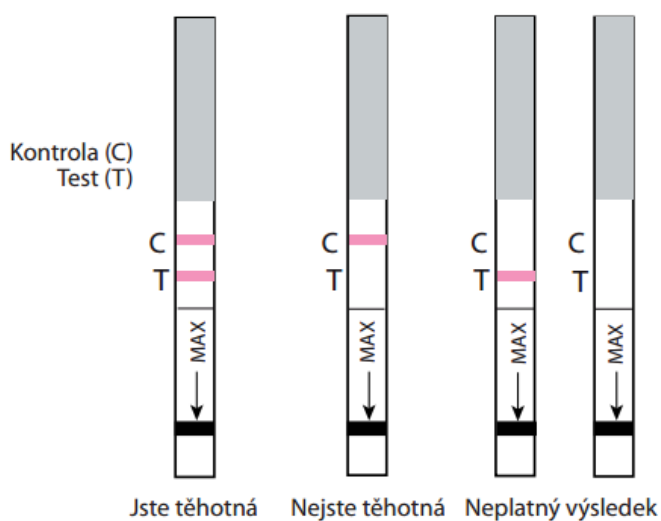
Těhotenský test využívá principu sendvičové imunoanalýzy. Na membráně testu je nanesen nekotvený konjugát myší monoklonální protilátky proti lidskému choriovému gonadotropinu (hCG) sorbovaný na koloidním zlatu, ve směru difuze vzorku jsou dvě zóny s kotvenými protilátkami. První, testovací zóna obsahuje kotvenou sekundární protilátku proti hCG (např. kozí), druhá, kontrolní zóna obsahuje kotvenou protilátku proti myšimu IgG (kozí nebo prasečí, obr. 17). (Chromý, 2011, s. 302)



Obrázek 17 - Schéma těhotenského testu

(Kvalitativní chemická analýza moče, 2015, s. 5)

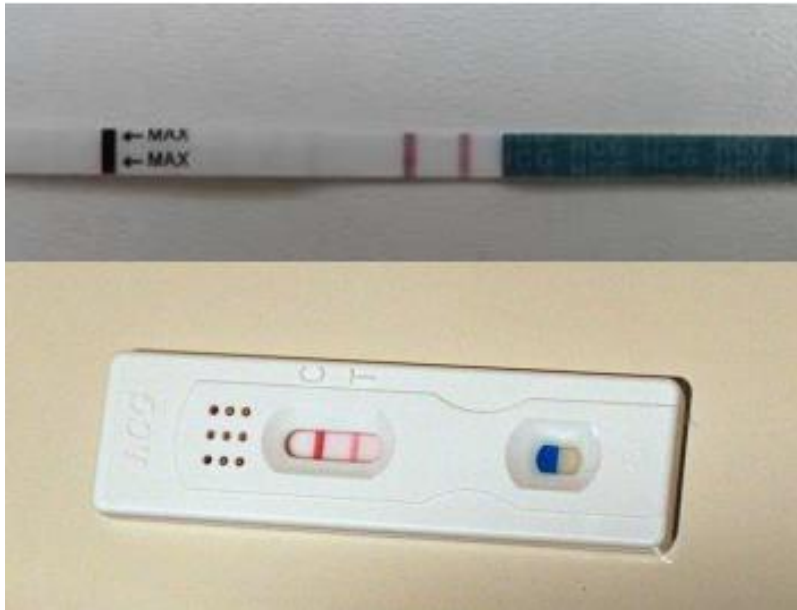
Proužek se ponoří do moče po rysku a moč začne vzlínat. Pokud je v moči přítomen hCG, reaguje se značenou myší protilátkou proti hCG, vzniklý imunokomplex difunduje nahoru a zachytí se na kotvené protilátce v první zóně (testovací), tato pozitivní reakce se projeví červeným proužkem díky karmínové barvě koloidního zlata. Nezreagovaný konjugát (při nízké koncentraci hCG) nebo imunokomplex (při dostatečné koncentraci hCG) imunochromatograficky vzlíná do kontrolní zóny, kde zreaguje s kotvenou protilátkou proti myšimu IgG a vznikne další červený proužek bez ohledu na přítomnost hCG, tento proužek slouží jako kontrola. Pozitivní těhotenský test má tedy dva proužky, negativní test má jeden proužek (kontrolní; obr. 18, 19). Místo koloidního zlata lze použít i jiné barvivo, ale právě koloidní zlato je v imunochemických testech používáno nejvíce. (Štern, 2005, s. 165; Chromý, 2011, s. 302)



Obrázek 18 - Výsledky těhotenského testu

(Gravitest 10, 2009)





Obrázek 19 - Různé typy pozitivních těhotenských testů

(Kvalitativní chemická analýza moče, 2015, s. 4)

## 6.5 C-reaktivní protein

C-reaktivní protein (CRP) je jedním z nejcitlivějších a nepřesnějších ukazatelů aktivity zánětu pojiva. Koncentrace CRP mohou při zánětu z výchozích hodnot kolem 1 mg/l stoupat až tisícinásobně. Hlavní funkcí CRP je opsonizace – vytvoření vazby s bakteriální stěnou a buněčnou membránou organismů, váže se na nekrotické buňky a buňky poškozené komplementem. Tyto vazby zvyšují clearance (odstranění z krevního oběhu) poškozených buněk a patogenů makrofágy a neutrofilů. (Kazda, 2012, s. 168 - 170) Stanovení CRP se využívá k rozlišení, zda pacient trpí bakteriální či virovou infekcí. Při bakteriální infekci se hodnota CRP mnohonásobně zvyšuje, u virové infekce se zvyšovat nemusí. Stanovení CRP v ordinaci pomáhá lékaři v rozhodování o nasazení antibiotické léčby a zároveň mu dává informaci o průběhu onemocnění a účinnosti antibiotik. (Laňková, 2007)

CRP můžeme stanovit různými imunochemickými metodami, v režimu POCT se používá imunoturbidimetrické stanovení s latexovými částicemi. Mikropartikelky jsou potaženy protilátkou proti lidskému CRP, společně vytvoří imunokomplex a turbidimetricky se měří míra zákalu (při 340 nm). (Chromý, 2011, s. 189) Pro stanovení hodnoty CRP v krvi se v ordinacích lékařů používá např. přístroj QuikRead. Měření se provádí z čerstvě odebrané kapilární krve smíchané s roztokem v umělohmotných

zkumavkách se speciální zátkou. Nejdříve se měří blank (slepý vzorek), poté se pomocí zátky vtláčí reagentie do roztoku, promíchá se a měří se vzorek po proběhlé chemické reakci (přístroj QuikRead a set pro analýzu viz obr. 20). (Laňková, 2007)



Obrázek 20 - Přístroj QuikRead a set pro stanovení CRP

(Doleželová, 2010, s. 4)

## 6.6 Toxikologie

Pro přímou orientační identifikaci drog se využívají imunochemické diagnostické testy. Imunochemické testy pro detekci drog pracují na principu kompetice (soutěžení) mezi stanovovaným analytem a značeným analytem o přítomnou protilátku. Imobilizovaný analyt na testu může být značen enzymaticky či fluorescenčně. Detekce stanovovaného analytu je tedy založena na jeho schopnosti vytěsnit značený analyt z jeho vazby na specifickou protilátku. Specifické protilátky (nejčastěji se jedná o myší monoklonální protilátky) jsou fixovány na povrchu částic koloidního zlata (zbarvuje kontrolní a testovací zónu do červena), nebo na povrchu modře zbarvených mikročástic (výsledné zbarvení je pak modré). Pro rychlou orientační analýzu v režimu POCT, která je využívána např. v terénu policisty při silničních či celních kontrolách, na místě činu či na letištích, se používají jednorázové imunochromatografické testy s vizuálním vyhodnocením výsledku. (Identifikace drog v pevném stavu pomocí spektrálních metod - imunochemické diagnostické testy, 2014, s. 6, 7)

Na imunochromatografickém principu pracují např. i testy ULTIMED MULTIDrugControl Card (10) (obr. 21). Tento test umožňuje rychlé screeningové vyšetření eventuální přítomnosti 10 drog, zneužívaných látek a jejich metabolitů v moči.

(Senft, 2008) Přehled stanovovaných analytů na testu ULTIMED MULTIDrugControl Card (10) uvádí tabulka 5.



Obrázek 21 - Test ULTIMATED MULTIDrugControl (10)

(Senft, 2008)

Tabulka 5 - Přehled stanovovaných analytů na testu ULTIMED MULTIDrugControl Card (10)

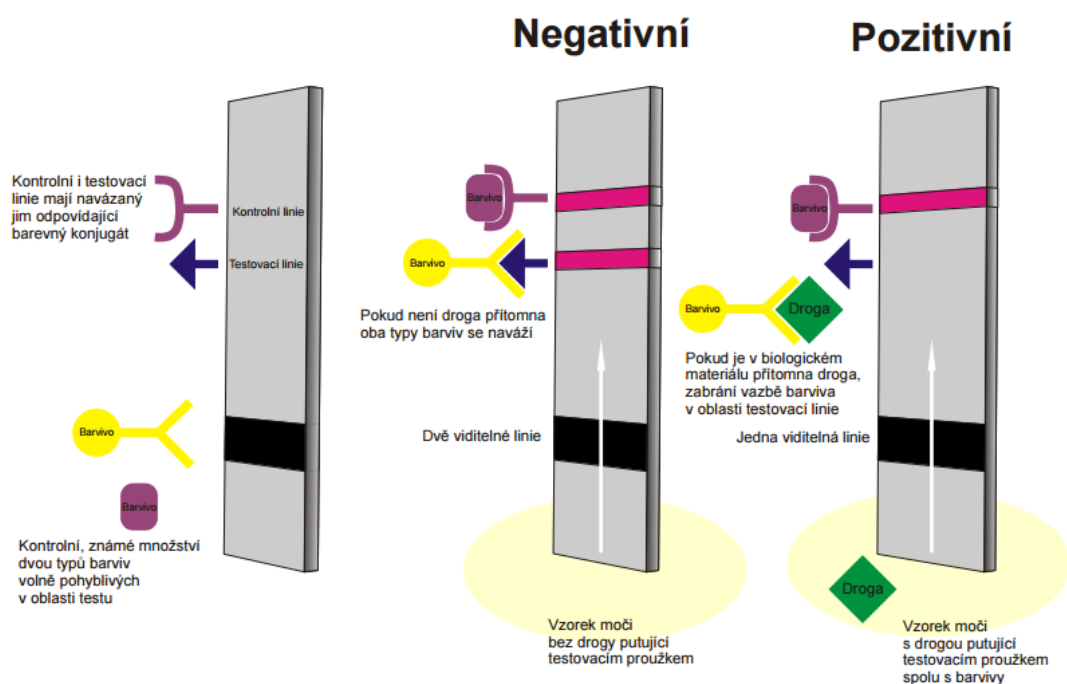
Látka v moči	Zkratka
Amfetamin	AMP
Barbituráty	BAR
Benzodiazepiny	BZO
Buprenorfin	BUP
Extáze	MDMA
Kanabinoidy	THC
Kokain	COC
Methadon	MTD
Metamfetamin	MET
Opiáty	OPI

(Senft, 2008)

Uprostřed proužku je testovací linie (T), kde je imobilizovaný konjugát (drug-conjugate), na začátku testovací membrány jsou sorbovány mikročástice, na nichž je fixována barevná myší monoklonální protilátka (anti-drug monoclonal antibody) o jejichž vazebná místa soutěží analyt a imobilizovaný konjugát. V horní části stripu je oblast membrány označená C (kontrolní linie), zde je kotvena druhá protilátka proti

barevnému antigenu na začátku testovací membrány, přidávaného výrobcem do setu (obr. 22). (Senft, 2008)

Testovací proužek se ponoří do moče, ta chromatograficky vzlíná, pokud neobsahuje testovanou látku či její metabolit, nebo je její obsah nižší než detekční limit testu, protilátky se nemají na co navázat a vzlínají až k linii T, kde s imobilizovaným konjugátem utvoří komplex a vznikne barevný proužek. Imunokomplex dále vzlíná k linii C, kde zreaguje barvivo s imobilizovanou protilátkou a vznikne druhý barevný proužek (kontrola). Pokud moč testovanou látku obsahuje, utvoří s protilátkou imunokomplex a v linii T tak nemůže vzniknout barevný testovací proužek, neboť protilátky na mikročásticích už jsou nasyceny drogou ze vzorku. Komplex tedy vzlíná dál až k linii C, zde reaguje barvivo z počátku testu s druhou imobilizovanou protilátkou a vytvoří se barevný proužek (kontrola). V obou případech musí v kontrolní zóně vzniknout barevný proužek, jako kontrola, že byl test proveden správně a proběhlo vzlínání (vyhodnocení testu viz obr. 22). (Senft, 2008)



Obrázek 22 - Schéma uspořádání imunochromatografického drogového testu

(Rychlá diagnostika drogových závislostí, 2016)

U léčiv, u kterých hrozí předávkování a ve větších dávkách jsou toxická, je nutné kontrolovat jejich hladinu, jedná se o tzv. therapeutic drug monitoring (TDM, terapeutický monitoring léčiv; drug(s) znamená jak léčiva, tak i drogy, některá léčiva

mohou fungovat i jako drogy, pro to existuje termín drug of abuse). (Chromý, 2011, s. 41) TDM je velmi užitečný v intenzivní péči ale i v dlouhodobé terapii léky jako např. imunosupresivy, antiarytmiky (např. digoxin) ale i antiepileptiky. Právě tyto léky mají úzké terapeutické okno (rozdíl mezi terapeutickou a toxickou dávkou) a je tedy nezbytné podrobovat pacienty léčenými těmito přípravky terapeutickým monitoringem. Existují pokyny doporučující TDM, pokud nastanou tyto okolnosti: (1) pokud je znám vztah mezi koncentrací léku a jejím terapeutickým/toxickým efektem, (2) pokud je úzké terapeutické okno, (3) pokud není k dispozici parametr určující klinickou účinnost, (4) pokud je u pacientů velká individuální proměnlivost farmakokinetických parametrů a (5) pokud je možná interakce s doprovodnými léčivy. Seznam nejčastěji sledovaných léků, které splňují výše uvedená kritéria, je uveden v tabulce 6. (Sanavio, 2015, s. 3)

Tabulka 6 - Nejčastěji sledované léky v rámci TDM

Skupina léčiv	Příklad léků
Antiretrovirotika	-
Antikonvulziva	Karbamazepin
	Kyselina valproová
	Fenobarbital fenytoin
	Lithium
Imunosupresiva	Cyklosporin
	Takrolimus
	Mykofenolát mofetil
Antibiotika	Aminoglykosidy
	Vankomycin
Léky na srdce	Digoxin
Cytotoxické léky	Methotrexát
Psychotropní léky	Tricyklická antidepresiva
Bronchodilatátory	Theofylin
	Kofein

(Sanavio, 2015, s. 3, vlastní zpracování)

## 6.7 Kardiologie

Biochemické markery kardiálních onemocnění, zejména kardiální troponiny (cTn), hrají zásadní úlohu v diagnostice, prognóze, monitoringu a stratifikaci rizika při podezření na infarkt myokardu. Stanovení kardiálních markerů je k dispozici prakticky v každém moderním zdravotnickém centru, které má urgentní příjem. V současné době je možné vyšetřit řadu kardiálních markerů, nicméně stanovení troponinů má při posouzení poškození myokardu největší zastoupení. Vzhledem k potřebě mít výsledky stanovení kardiálních markerů co nejrychleji pro včasnou diagnózu a terapii, byly vyvinuty testy v režimu POCT. (Christenson, 2009, s. 151)

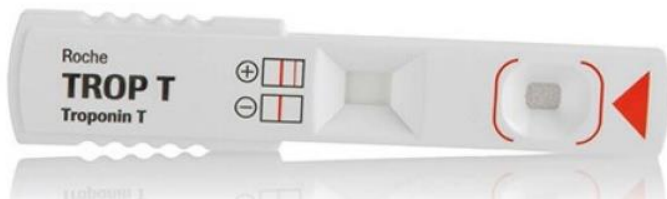
## 6.7.1 Troponiny

Troponin je komplex tří bílkovin a je složen ze tří podjednotek s rozdílnými strukturami a funkcemi: (1) TnT – troponin T, váže troponinový komplex k molekule tropomyosinu; (2) TnI – má inhibiční účinek na kontrakci svalu v nepřítomnosti vápníku a TnC; a (3) TnC – váže kalcium. Troponiny C, I a T jsou obsaženy v kontraktilním aparátu příčně pruhovaného svalu (srdce a kosterní svaloviny) a ovlivňují regulaci svalové kontrakce. V kardiomyocytech produkované troponiny I a T (cTnI a cTnT) jsou natolik odlišné od troponinů kosterního svalu, že je můžeme považovat za orgánově specifické. Příčinou zvýšení cTnI a cTnT je celá řada stavů – ischemická nekróza u akutního infarktu myokardu (AIM), srdeční selhání, chronické renální insuficience, plicní embolie a další. (Friedecký, 2015)

Kardiální troponiny jsou již standardní součástí diagnostiky akutního infarktu myokardu. K hodnocení výsledků měření troponinů se používá jako interpretačních kritérií hodnot 99. percentilů a rozdílů hodnot koncentrací troponinů naměřených u pacienta ve dvou nebo více časových intervalech. Podle Doporučení ČSKB: Používání kardiálních troponinů při podezření na akutní koronární syndrom z roku 2015 cTnT stanovují dva POCT systémy (Roche Cobas a Radiometer AQT 90 Flex), ostatní systémy měří cTnI. (Friedecký, 2015)

### 6.7.1.1 Stanovení troponinů

Průkaz a diferenciací TnT z myokardu od TnT z kosterních svalů jsou založeny na specifických monoklonálních protilátkách proti TnT z myokardu pomocí diagnostických proužků. Na počátku proužku jsou pouze sorbovány mikročástice koloidního zlata, jejichž povrch je potažen primární protilátkou proti kardiálnímu TnT. Ve směru difuze vzorku jsou ve dvou pruzích kotvené sekundární protilátky proti cTnT. Na start testu se kápne krev, cTnT v ní obsažený vytvoří komplex s primární protilátkou, imunokomplex difunduje k druhé kotvené protilátce. V prvním, kontrolním pruhu je jen takové množství protilátky, které postačuje k vyvážení fyziologické hladiny cTnT a díky přítomnosti koloidního zlata vznikne červený proužek (negativní test). Pokud je cTnT zvýšeno, difunduje výše k sekundární protilátce v druhém, testovacím pruhu, dojde k navázání cTnT na sekundární protilátky a vznikne druhý červený proužek (pozitivní test). (Chromý, 2011, s. 190, 246) Příkladem testu na stanovení cTnT je např. diagnostický proužek od firmy Roche Diagnostics (obr. 23).



Obrázek 23 - Reagenční kazeta pro stanovení cTnT od Firmy Roche Diagnostics  
(Roche CARDIAC Trop T Sensitive test (visual), c1996-2016)

### 6.7.1.2 Vyhodnocení testu

Výsledek testu se může hodnotit vizuálně, odečítají se vzniklé proužky v indikační zóně. Při normálním obsahu cTnT se v indikační zóně objeví jeden barevný proužek, takový test je negativní, při dostatečně zvýšené hladině cTnT se vytvoří dva proužky, které hodnotíme jako pozitivní výsledek testu.

Automatické vyhodnocení zajišťuje spolehlivější výsledky díky eliminaci potenciálních chyb způsobených vizuálním odečtem. Odečtení výsledků lze provést např. pomocí přístroje cobas h 232 od firmy Roche Diagnostics (obr. 24). Přístroj je ideální pro použití na pohotovostech, v jednotkách intenzivní péče, v sanitkách ale i v ordinacích lékařů včetně kardiologů. Do přístroje se vkládá nepoužitý proužek, na nějž se nanese vzorek krve. Po uplynutí reakční doby přístroj pomocí fotometrie sám provede odečet vzniklých pruhů a na display zobrazí výsledek. (cobas h 232 systém POC, c1996-2016)



Obrázek 24 - Přístroj cobas h 232 od firmy Roche Diagnostics  
(cobas h 232 systém POC, c1996-2016)

## 7 Diskuse

POCT je široce využívaný typ vyšetření aplikovaný mimo laboratoř. Nejčastějšími uživateli jsou nelaboratorní pracovníci jako lékaři, sestry, ošetřovatelé, ale patří sem i samotní pacienti. POCT umožňuje vykonávat rychlý orientační test a stanovovat tak řadu analytů. V ordinacích lékařů a na lůžkových odděleních se jedná především o stanovení glykémie, glykovaného hemoglobinu, acidobazické rovnováhy, stanovení CRP, kardiálních troponinů a hCG. V self-monitoringu má největší zastoupení glukometrie v podobě osobních glukometrů pro stanovení hladiny glykémie. Díky tomuto přístroji si diabetici mohou kontrolovat svůj zdravotní stav a určit tak dávku přijímaného inzulínu.

Vzhledem ke skupině uživatelů, která POCT používá, je nutné personál i pacienty dostatečně edukovat. Co se týče zdravotnického personálu, měl by mít teoretické znalosti týkající se příslušného vyšetření a použité technologie, dále by měl umět vyhodnotit výsledky a znát klinický význam daného vyšetření. Zdravotnický personál i pacienti by měli znát charakter a podmínky skladování používaných reagensů a dalšího materiálu; a musí být dostatečně proškoleni o obsluze zařízení a postupu měření.

POCT můžeme dělit na metody instrumentální a neinstrumentální nebo podle povahy použité analytické metody. Mezi neinstrumentální metody patří především diagnostické proužky pracující na principu suché chemie a imunochromatografie, a umožňují uživateli odečíst výsledek bez použití přístroje. V nemocničních zařízeních a v ordinacích lékařů se využívají instrumentální metody, které pracují na principu fotometrie, elektrochemie a imunochemie. Tyto metody jsou použity v přístrojích na odečet výsledků, jejich použití vede k přesnějšímu zhodnocení testu a eliminuje možné chyby způsobené vizuálním odečtem.

Optické metody v čele s reflektancí jsou využívány ve fotometrických přístrojích pro odečet zbarvení diagnostických proužků a imunochromatografických reagenčních kazet. Imunochromatografie využívá vazby antigenu a značené protilátky pro detekci analytů jako jsou hCG, CRP, troponiny, okultní krvácení ve stolici a drogy a jejich metabolity. Elektrochemické metody jsou v podobě elektrod používány v glukometrech.

POCT je v medicíně široce využíváno a má řadu výhod. K nejčastěji zmiňované výhodě patří TAT, umožňuje rychlejší reakci v terapii, včasné určení diagnózy, zahájení léčby a její monitorování. S POCT také odpadá nutnost transportu vzorku, snižují se



administrativní nároky, k většině testů je zapotřebí menší objem vzorku a v neposlední řadě POCT minimalizuje preanalytické chyby vzniklé špatným odběrem, nesprávným označením materiálu a nevhodným transportem vzorku. (Šprongl, 2002)

POCT má i své nevýhody, největší nedostatek je cena POCT analýz, uvádí se, že jsou 2x až 10x dražší než vyšetření prováděná v centrálních laboratořích. K dalším nevýhodám patří zajištění přesnosti a správnosti metod, neboť mnoho testů je založeno na subjektivním hodnocení změny barvy, obsluha může opomíjet a zanedbávat pravidelnou údržbu POCT přístrojů a navíc v režimu POCT je možné provádět omezené spektrum metod. (Šprongl, 2002)

Význam a využití POCT přístrojů a testů stále vzrůstá a s tlakem na vývoj POCT stále dochází k miniaturizaci laboratorních technologií. Předpokladem dalšího vývoje POCT je přechod na mikrotechnologie až nanotechnologie a kolující čipy, tzv. laboratoř na čipu. (Kazda, 2012, s. 315) Tato miniaturizace umožňuje finanční úspory, šetří životní prostředí a vede k vyšší dostupnosti a mobilitě technologií. Laboratoř na čipu (LOC) je zařízení, které integruje veškeré potřebné laboratorní postupy (od odebrání vzorku přes jeho transport až po chemickou reakci a detekci) na plochu o velikosti milimetrů či několika málo čtverečních centimetrů a splňuje tak hlavní cíl této miniaturizace, tzv.  $\mu$ TAS (micro total analysis systém). Princip LOC je dnes aplikován pro miniaturizaci imunoanalýz, biochemických reakcí ale i genetických technologií, např. PCR. (Principy imunoanalytických metod, 2016)

Čipy používané v LOC jsou složením velmi podobné počítačovým čipům, skládají se z křemíku či oxidu křemičitého. LOC má komplikovaný systém kanálek o průměru několika stovek nanometrů až desítek mikrometrů a délce několika milimetrů až centimetrů. Tyto kanálky se podle potřeby kříží, rozvětvují a ústí do mikroreaktorů, mikromixérů, separačních kanálek a detekčních komůrek. Vzorek putuje tímto systémem mikrokanálek, v mikroreaktoru se setká s potřebnými reagensy, v mikromixéru dojde ke smíchání směsi, v separačních kanálcích se oddělují nežádoucí složky směsi a výsledek je v detekční komůrce odečten a pomocí integrovaného počítače se zobrazí na display přístroje. (Pumera, 2004)

Kapalina v mikrokanálcích je transportována pomocí elektroosmotického tlaku. Povrch kanálek má díky svému materiálu, ze kterého je vyrobený, záporný náboj, který je kompenzován tenkou vrstvičkou kladných iontů. Ve vloženém elektrickém napětí se

tato vrstva začne pohybovat směrem ke katodě a tím se rozpohybuje celý obsah kanálku. Tok tekutiny je ale pouze laminární bez turbulencí a tudíž se dva proudy kapaliny v mikrokanálku nemísí. Proto je nutné na mikročip umístit i mikromixér, který vzorek s potřebnými reagensy smíchá. (Pumera, 2004)

Dalším cílem konkrétně v glukometrii je neinvazivní stanovení glykémie, které využívá optické či transdermální přístupy. Optické glukózové senzory využívají fyzikální vlastnosti světla intersticiální tekutiny nebo přední komory oka. Tento typ přístupu zahrnuje polarimetrii, Ramanovu spektroskopii, infračervenou absorpční spektroskopii, fotoakustický jev a optickou koherentní tomografii. (Yoo, 2010, s. 4564)

První transdermální glukózový senzor schválený US FDA (Food and Drug Administration, Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických) byl GlucoWatch Biographer vyrobený firmou Cygnus, Inc. (Redwood City, CA, USA). Tento přístroj podobný hodinkám je založen na transdermální extrakci intersticiální tekutiny reverzní iontoforézou a při snížení hodnoty inzulínu pod požadovanou mez vydává zvukový signál. Hodinky ale byly v roce 2008 staženy z prodeje, protože mají dlouhou zahřívací dobu, vydávají falešné alarmy, jsou nepřesné a dráždí pokožku. Přestože se neinvazivními přístupy stanovení glykémie věda stále zabývá, spolehlivá metoda neinvazivního stanovení glykémie doposud není k dispozici. (Yoo, 2010, s. 4564)

## 8 Závěr

Práce seznamuje s pojmem vyšetření v mimolaboratorních podmínkách, podává přehled technologií, které systémy POCT využívají, a předkládá přehled analytických přístupů, které metody POCT používají. Podrobněji se práce zaměřuje na vybrané oblasti a analyty, kde je POCT aplikováno.

Práce je uceleným přehledem metod a vybraných analytů stanovovaných mimo laboratoř. Práci by bylo možné rozšířit o další analyty spadající do POCT, např. parametry acidobazické rovnováhy, elektrolyty (Na, K, Cl, Ca, Mg) a řada testů z oblasti mikrobiologie; stejně tak o experimentální část, její délka by pak ale přesahovala rozsah bakalářské práce. Experimentální část by se mohla týkat např. zhodnocení správnosti a přesnosti metod v režimu POCT porovnáním hodnot stanovených pomocí POCT s hodnotami naměřenými v klinické laboratoři.

## Seznam použité literatury

1. BARTŮŇKOVÁ, Jiřina a Milan PAULÍK. 2011. Vyšetřovací metody v imunologii. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 164 s., [4] s. obr. příl. ISBN 9788024735337.
2. BERÁNEK, Martin a Miloš TICHÝ. 2013. Vybrané kapitoly z klinické biochemie: pro studijní program Zdravotnická bioanalytika. Praha: Karolinum, 197 s. ISBN 9788024621869.
3. CIBIČEK, Norbert a Jan VACEK. 2014. Principy a využití vybraných analytických metod v laboratorní medicíně. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 159 s. ISBN 9788024439518.
4. CZEDMA, (P.Hlavačková, L. Nováková, L. Stříž), B. FRIEDECKÝ, M. KAJABOVÁ, J. KRATOCHVÍLA, D. NOVOTNÝ, V. PALIČKA, a P. SCHNEIDERKA. 2011. Doporučení ČSKB: Správné zavádění a používání prostředků POCT. CZEDMA, 2011(5).
5. FRIEDECKÝ, Bedřich, Antonín JABOR a Josef KRATOCHVÍLA. 2015. Doporučení ČSKB: Používání kardiálních troponinů při podezření na akutní koronární syndrom. Klinická biochemie a metabolismus. 23(2), 71-77. ISSN 1210-7921.
6. FRIEDECKÝ, Bedřich, Josef KRATOCHVÍLA, Jana ŠPIRKOVÁ, Marek BUDINA a Vladimír PALIČKA. 2011a. Studie čtyř systémů měření glykovaného hemoglobinu HbA1c v režimu POCT. Praktický lékař. 91(8), 485-488. DOI: 1805-4544. ISSN 0032-6739.
7. FRIEDECKÝ, Bedřich, Josef KRATOCHVÍLA, Marek BUDINA. 2011b. Glykovaný hemoglobin a jeho stanovení v režimu POCT – minimum potřebných informací. Klinická biochemie a metabolismus. 19(2), 126-127. ISSN 1210-7921.
8. GÓSELOVÁ, Sandra, Martina BLAŽKOVÁ, Barbora HOLUBOVÁ, Ludmila KARAMANOVÁ a Pavel RAUCH. 2014. Imunodetekce v laterálním toku na membráně. Chemické listy. 108(2), 114-119. ISSN 0009-2770.
9. HOUSKA, Milan. 2006. ČSN ISO 22870: Vyšetření u pacienta (VUP) - Požadavky na kvalitu a způsobilost. Český normalizační institut.

10. CHRISTENSON, Robert H. a Hassan M. E. AZZAZY. 2009. Cardiac point of care testing: A focused review of current National Academy of Clinical Biochemistry guidelines and measurement platform. *Clinical Biochemistry*. 2009 (42), 150-157. DOI 10.1016.
11. CHROMÝ, Vratislav. 2011. *Bioanalytika: analytické metody v klinické chemii a laboratorní medicíně*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav chemie, 331 s. ISBN 9788090453937.
12. JACOBS, Ellis. 2010. Point-of-care (Near-Patient) Testing. KAPLAN, Lawrence A. a Amadeo J. PESCE. *Clinical chemistry: theory, analysis, correlation : with 509 illustrations and 25 color plates*. 5th ed. St. Louis: Mosby/Elsevier, s. 303-319. ISBN 0323036589.
13. KAREN, Igor. 2011. Novinky v diabetologii pro VPL 2011. *Practicus*. 10(4), 19-20. ISSN 1213-8711.
14. KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. 2005. *Laboratorní techniky biochemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, vi, 258 s. ISBN 8070805862.
15. KAZDA, Antonín. 2012. *Kritické stavy: metabolická a laboratorní problematika*. Praha: Galén, xii, 346 s. ISBN 9788072627639.
16. KLOUDA, Pavel. 2003. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 132 s. ISBN 8086369072.
17. KOCNA, Petr a Tomáš ZIMA. 2015. Stanovisko ke stanovení hemoglobinu ve stolici kvantitativní analýzou. *Klinická biochemie a metabolismus*. 23(2), 78-81. ISSN 1210-7921.
18. LAŇKOVÁ, Jaroslava. 2007. Vyšetření C-reaktivního proteinu v ordinaci metodou POCT. *Practicus*. 6(9), 38-39. ISSN 1213-8711.
19. LEDVINA, Miroslav, Alena STOKLASOVÁ a Jaroslav CERMAN. 2009. *Biochemie pro studující medicíny II. díl*. Vyd. 2. V Praze: Karolinum. ISBN 9788024614144.
20. RACEK, Jaroslav. c2006. *Klinická biochemie*. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, 329 s. ISBN 8072623249.
21. SANAVIO, Barbara a Silke KROL. 2015. On the slow diffusion of point-of-care systems in therapeutic drug monitoring. *Frontiers in: Bioengineering and biotechnology*. 2015 (3), 1-15. DOI: 10.3389.

22. SCHNEIDERKA, Petr. 2000. Kapitoly z klinické biochemie. Praha: Karolinum, 284 s. ISBN 8024601400.
23. ŠPRONGL, Luděk. 2002. POCT - laboratorní diagnostika mimo laboratoř. Urgentní medicína. 5(4), 31-33. ISSN 1212-1924.
24. ŠPRONGL, Luděk. 2009. Současnost a budoucnost technologií pro systémy POCT. Klinická biochemie a metabolismus. 17(3), 171. ISSN 1210-7921.
25. ŠTERN, Petr. 2005. Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia. Praha: Karolinum, 219 s. ISBN 8024610256.
26. TESAŘ, Vladimír a Ondřej VIKLICKÝ. 2015. Klinická nefrologie. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 9788024743677.
27. WANG, Joseph. 2000. Glucose Biosensors: 40 Years of Advances and Challenges. Sensor Update. 10(1), s. 983-988. DOI: 10.1002/1616-8984(200201)10:1<107::AID-SEUP107>3.0.CO;2-Q.
28. WARSINKE, Axel. 2009. Point-of-care testing of proteins. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 393(5), 1393-1405. DOI: 10.1007/s00216-008-2572-0. ISSN 16182642.
29. YOO, Eun-Hyung a Soo-Youn LEE. 2010. Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice. Sensors. 10(5), 4558-4576. DOI: 10.3390/s100504558. ISBN 10.3390/s100504558. ISSN 1424-8220.
30. ZIMA, Tomáš. Laboratorní diagnostika. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2013. ISBN 978-80-7492-062-2.

## **Elektronické zdroje**

31. Accu-Chek® Performa Nano. c2015. In: Accu-Chek [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: <https://www.accu-chek.cz/accuchek-performa-nano-1-57.html>.
32. BARTOŠ, Vladimír a Jaroslava VÁVROVÁ. 2004. Interakce antigen-protilátka. In: Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/A/BAADI.htm>.
33. BEŇOVSKÁ, Miroslava. 2011. Suchá chemie. In: Studijní materiály [online]. 1 - 13 [cit. 2016-04-17]. Dostupné z: [http://is.muni.cz/el/1411/podzim2011/KBSM/um/Sucha\\_chemie.pdf](http://is.muni.cz/el/1411/podzim2011/KBSM/um/Sucha_chemie.pdf).
34. BERNARD, Vladan. 2011. Glukometr a jeho příbuzní. In: Masarykova univerzita: Lékařská fakulta [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: [http://www.med.muni.cz/biofyz/files/gerontologie/glukometr\\_prezentace.pdf](http://www.med.muni.cz/biofyz/files/gerontologie/glukometr_prezentace.pdf).

35. BREINEK, Petr. 2011. Principy suché chemie. In: SlidePlayer [online]. Brno: Masarykova univerzita [cit. 2016-04-10]. Dostupné z: <http://slideplayer.cz/slide/3675271/>.
36. Cobas h 232 systém POC. c1996-2016. Roche Diagnostic [online]. [cit. 2016-05-13]. Dostupné z: <http://roche-diagnostics.cz/Products/Stranky/POCT/cobash232system.aspx>.
37. DOLEŽELOVÁ, M. 2010. ORION Diagnostika: QiukRead. In: Všeobecný praktický lékař [online]. s. 1-26 [cit. 2016-05-13]. Dostupné z: [http://www.vpl.sk/files/file/XXXI\\_conf\\_w/poct/ORION%20diagnostica.pdf](http://www.vpl.sk/files/file/XXXI_conf_w/poct/ORION%20diagnostica.pdf).
38. Electrochemical Glucometers. c2016. In: Univerzity of Virginia [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: <http://faculty.virginia.edu/analyticalchemistry/Electrochem%20Gluc/Electrochem.html>.
39. Gravitest 10. 2009. In: Lékárna [online]. Dostupné z: <https://www.lekarna.cz/files/product/manual/cemio-gravitest-10-1-2-testy1.pdf>.
40. HSUEH, Chang-Jung, Metini JANAYASUPAB, Ying-Hui LEE a Chung-Chiun LIU. 2014. Electrochemical Glucose Sensors. Encyclopedia of Applied Electrochemistry. New York, NY: Springer New York, s. 479. DOI: 10.1007/978-1-4419-6996-5\_69. ISBN 978-1-4419-6995-8. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-6996-5\\_69](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-6996-5_69).
41. Identifikace drog v pevném stavu pomocí spektrálních metod - imunochemické diagnostické testy, infračervená spektrometrie. 2014. In: Katedra analytické chemie: UP v Olomouci [online]. [cit. 2016-05-07]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/user-files/files/uloha7-identifikace-drog-imunochemicke-testy.pdf>.
42. Kvalitativní chemická analýza moče. 2015. In: Katedra analytické chemie: UP v Olomouci [online]. [cit. 2016-04-27]. Dostupné z: <http://www.ach.upol.cz/user-files/files/pac-uloha-7-2015.pdf>.
43. MicroalbuPHAN® LAURA: Objektivní stanovení mikroalbuminurie. 2015. In: Erba Lachema [online]. [cit. 2016-04-29] Dostupné z: [https://www.erbalachema.com/attachments/letak\\_MicroalbuPHAN\\_Laura\\_CZ\\_final.pdf](https://www.erbalachema.com/attachments/letak_MicroalbuPHAN_Laura_CZ_final.pdf).

44. Mikročasticová imunochemická analýza. 2013. In: Katedra analytické chemie: UP v Olomouci [online]. [cit. 2016-05-07]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/user-files/intranet/meia-1358807063.pdf>.
45. Močový Reader LAURA. c2016. In: Erba Lachema [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/produkty-a-reseni/mocova-analyza/mocovy-reader-laura/>.
46. ONE STEP FOB TEST. In: ONE STEP FOB TEST [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: <http://www.fob-test.cz/>.
47. PHAN: Diagnostické proužky k vyšetření moče. 2015. In: Erba Lachema [online]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/attachments/PHAN-EN+RU+CZ+SK+PL.pdf>.
48. Principy imunoanalytických metod: Labrator na čipu (Lab-ob-a-chip). c2016. In: CEVA Education [online]. [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.ceva-edu.cz/mod/book/view.php?id=4280&chapterid=1948>.
49. PUMERA, Martin. 2004. Vejde se celá chemická laboratoř na mikročip? 21. století [online]. 2004(1) [cit. 2016-05-16]. ISSN 1214-1097. Dostupné z: <http://21stoleti.cz/2004/01/21/vejde-se-cela-chemicka-laborator-na-mikrocip/>.
50. Roche CARDIAC Trop T Sensitive test (visual). c1996-2016. In: Cobas [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: [http://www.cobas.com/content/internet/product/cobas/en/home/product/clinical-and-immunochemistry-testing/roche-cardiac-trop-t-sensitive-test/\\_jcr\\_content/mainParsys/tabs/tabsParsys/tabitem\\_0/firstProductDetailsParsys/image/image.img.jpg/1432122284145.jpg](http://www.cobas.com/content/internet/product/cobas/en/home/product/clinical-and-immunochemistry-testing/roche-cardiac-trop-t-sensitive-test/_jcr_content/mainParsys/tabs/tabsParsys/tabitem_0/firstProductDetailsParsys/image/image.img.jpg/1432122284145.jpg).
51. Rychlá diagnostika drogových závislostí. c2016. In: Inlab medical [online]. [cit. 2016-05-18]. Dostupné z: <http://www.inlab.cz/drogy/Rddz.pdf>.
52. SENFT, Václav. 2008. ULTIMED MULTIDrugControl Card (10). In: Datový standard MZ ČR - verze 4: Webové služby pro distribuci číselníků datového standardu, DTD a schémat [online]. [cit. 2016-05-13]. Dostupné z: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD/hypertext/SFACN.htm>.
53. SCHNEIDERKA, Petr. 2012a. Glukometrie I. In: Ústav Patologické fyziologie: Univerzita Palackého v Olomouci [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: [http://pfyziollfup.upol.cz/castwiki2/wp-content/uploads/2012/04/Glukom\\_I\\_Text.pdf](http://pfyziollfup.upol.cz/castwiki2/wp-content/uploads/2012/04/Glukom_I_Text.pdf).



54. SCHNEIDERKA, Petr. 2012b. Glukometrie II - POCT. In: Ústav Patologické fyziologie [online]. [cit. 2016-04-10]. Dostupné z: [http://pfyziolffup.upol.cz/castwiki2/wp-content/uploads/2012/04/Glukom\\_II\\_Text.pdf](http://pfyziolffup.upol.cz/castwiki2/wp-content/uploads/2012/04/Glukom_II_Text.pdf).
55. SLANINA, J. 2011. Chemické vyšetření moče. In: Masarykova univerzita [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/1411/podzim2011/BSBC011p/29556333/8-Chemicke\\_vysetreni\\_moce.pdf](https://is.muni.cz/el/1411/podzim2011/BSBC011p/29556333/8-Chemicke_vysetreni_moce.pdf).
56. ŠOBROVÁ, Pavlína. 2012. Biosenzory: Senzory pro monitorování vnějšího prostředí; Senzory pro monitorování prostředí v organismu. In: SlidePlayer [online]. Brno: CONTIPRO GROUP [cit. 2016-04-10]. Dostupné z: <http://slideplayer.cz/slide/2711985/>.
57. ŠTERN, Petr. 2007. Kvalitativní analýzy v klinické biochemii. In: Multimediální podpora výuky klinických a zdravotnických oborů: Portál 1. lékařské fakulty Karlovy Univerzity v Praze [online]. 1 - 13 [cit. 2016-04-17]. ISSN 1803-6619. Dostupné z: <https://el.lf1.cuni.cz/p9n0ykmz19q/>.
58. ŠVECOVÁ, Magdaléna. 2013. Imunoturbidimetrie a imunonefelometrie. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2016-05-07]. Dostupné z: [http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Imunoturbidimetrie\\_a\\_imunonefelometrie.png](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Imunoturbidimetrie_a_imunonefelometrie.png).
59. Těhotenský test hCG. In: Otěhotnět.cz [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: <http://www.otehotnet.cz/tehotenske-testy/94-tehotensky-test-8595244500314.html>.
60. Základy imunologických metod: Precipitační a aglutinační reakce. In: ÚSTAV IMUNOLOGIE 2. LF UK A FN MOTOL [online]. [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: [http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory\\_vyuka/Imunologicke%20metody-precipitace.pdf](http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory_vyuka/Imunologicke%20metody-precipitace.pdf).

## Seznam symbolů a zkratek

Ag	argentum, stříbro
AgCl	chlorid stříbrný
AIM	akutní infarkt myokardu
CK-MB	kreatinkináza, myokardiální izoenzym
Cl	chlorum, chlor
CRP	C-reaktivní protein
Tn	troponin
cTn	kardiální troponin
ČSN	československá norma
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EN	evropská norma
FAD, FADH <sub>2</sub>	flavinadenindinukleotid
GDH	glukózadehydrogenáza
GDH-PQQ	glukózadehydrogenáza s pyrrolochinolinchinonovým koenzymem
GO	glukózaoxidáza
hCG	human chorionic gonadotropin, lidský choriový gonadotropin
HbA <sub>1c</sub>	glykovaný hemoglobin
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny
ISE	iontově selektivní elektroda
ISO	International Organization for Standardization, Mezinárodní organizace pro standardizaci
LED	Light-Emitting Diode, dioda emitující světlo
LIS	laboratorní informační systém
LOC	Lab-on-a-Chip, laboratoř na čipu
MEIA	Microparticle Enzyme Immunosorbent Assay
μTAS	micro total analysis systém
NACB	National Academy of Clinical Biochemistry
NAD, NADH	nikotinamidadenindinukleotid

NH <sub>3</sub>	amoniak
NIS	nemocniční informační systém
O <sub>2</sub>	kyslík
OCT	over the country, sebekontrola
PCR	Polymerase Chain Reaction, polymerázová řetězová reakce
pH	potential of hydrogen, potenciál vodíku
POCT	point of care testing – vyšetření u lůžka pacienta
POD	peroxidáza
SiO <sub>2</sub>	oxid siřičitý
TAT	turn around time, doba mezi zadáním požadavku a dodáním výsledku
TDM	therapeutic drug monitoring, terapeutický monitoring léků
US FDA	Food and Drug Administration, Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických
UV	ultrafialové záření
VIS	viditelné záření

## Seznam obrázků

Obrázek 1 - Schéma absorpčního spektrometru .....	19
Obrázek 2 – Schéma nefelometrie (A, B) a turbidimetrie (C).....	20
Obrázek 3 - Vytvoření precipitátu v závislosti na koncentraci antigenu .....	22
Obrázek 4 - Schéma imunoturbidimetrie a imunonefelometrie.....	24
Obrázek 5 - Schéma imunochromatografického testu .....	26
Obrázek 6 - Schéma enzymové reakce katalyzované glukózaoxidázou.....	31
Obrázek 7 - Schéma testovacího proužku založeném na elektrochemickém principu...	33
Obrázek 8 - Přenos elektronů na elektrodu pomocí mediátoru .....	34
Obrázek 9 - Osobní glukometr firmy Accu-Chek .....	35
Obrázek 10 - Přístroj SMART 700/340 pro stanovení HbA <sub>1c</sub> .....	36
Obrázek 11 - Tuba s diagnostickými proužky, škála pro subjektivní odečítání .....	38
Obrázek 12 - Konstrukce proužků pro základní vyšetření moče.....	39
Obrázek 13 - Technologie impregnace vláken .....	39
Obrázek 14 - Močový Reader LAURA .....	40
Obrázek 15 - Princip průkazu glukózy v moči .....	41
Obrázek 16 - Imunochemický FOB TEST pro průkaz okultního krvácení ve stolici ....	46
Obrázek 17 - Schéma těhotenského testu .....	47
Obrázek 18 - Výsledky těhotenského testu.....	47
Obrázek 19 - Různé typy pozitivních těhotenských testů.....	48
Obrázek 20 - Přístroj QuikRead a set pro stanovení CRP .....	49
Obrázek 21 - Test ULTIMATED MULTIDrugControl (10).....	50
Obrázek 22 - Schéma uspořádání imunochromatografického drogového testu .....	51
Obrázek 23 - Reagenční kazeta pro stanovení cTnT od Firmy Roche Diagnostics .....	54
Obrázek 24 - Přístroj cobas h 232 od firmy Roche Diagnostics.....	54

## Seznam tabulek

Tabulka 1 - Příklady neinstrumentálních metod.....	15
Tabulka 2 - Příklady instrumentálních metod.....	17
Tabulka 3 - Přehled systémů pro měření HbA <sub>1c</sub> .....	37
Tabulka 4 - Přehled analytů stanovovaných diagnostickými proužky .....	44
Tabulka 5 - Přehled stanovovaných analytů na testu ULTIMED MULTIDrugControl Card (10).....	50
Tabulka 6 - Nejčastěji sledované léky v rámci TDM .....	52