



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

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

**Chemické vyšetření moči a vyšetření močového sedimentu – automatizace
procesu na močové lince**

**Urine chemistry and urine sediment analysis provided on urinary automatic
analyzer**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Mgr. Veronika Jůzová

Anna Černá

Kladno 2017

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Akademický rok: 2016/2017

Z a d á n í b a k a l á ř s k é p r á c e

Student: **Anna Černá**
Obor: Zdravotní laborant
Téma: **Chemické vyšetření moči a vyšetření močového sedimentu -
automatizace procesu na močové lince**
Téma anglicky: Urine chemistry and urine sediment analysis provided on urinary automatic
 analyzer

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

K základním biochemickým vyšetřením patří semikvantitativní analýza moči. Zahrnuje chemické stanovení pomocí diagnostických proužků a morfologické vyšetření. Obě metodiky se doplňují a při správném provedení můžou být významnou pomocí jak při stanovení diagnózy, tak i sledování průběhu onemocnění a výsledků léčby. Kompletní močová analýza je v dnešní době převážně automatizována. Manuální mikroskopie pak slouží k objasnění či potvrzení nejasných nálezů. V práci budou shrnuty základní stanovené analyty a částice, jejich klinický význam, principy stanovení, možné interference a preanalytické vlivy; zhodnocen bude přínos automatizace procesu pro rutinní praxi. Praktická část práce bude zaměřena na porovnání rutinně prováděných automatizovaných analýz na močové lince s manuálním mikroskopickým vyšetřením.

Seznam odborné literatury:

- [1] RACEK, Jaroslav, Klinická biochemie, ed. 2. přepr., Praha: Galén, c2006, 329 s., ISBN 80-7262-324-9
- [2] DOLEŽALOVÁ, Věra a kolektiv autorů, Principy biochemických vyšetřovacích metod I. a II., ed. Brno, Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně, 1995, 231 a 234 s., ISBN 80-7013-206-X
- [3] KLOUDA, Pavel, Moderní analytické metody, ed. 2. doplněné vydání, Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s., ISBN 80-86369-07-2
- [4] BRUNZEL, Nancy A, Fundamentals of Urine and Body Fluid Analysis, ed. 3rd Edition, Elsevier , 2013, 464 s., ISBN 978-1-4377-0989-6

Zadání platné do: 11.09.2018
Vedoucí: Mgr. Veronika Jůzová
Konzultant: Ing. Kamila Bartošová

.....
vedoucí katedry / pracoviště

.....
děkan

V Kladně dne 31.10.2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Chemické vyšetření moči a vyšetření močového sedimentu – automatizace procesu na močové lince vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

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), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 17.05.2017

.....
Anna Černá

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce Mgr. Veronice Jůzové za odborný dohled, ochotu, trpělivost, cenné rady a kritické, ale konstruktivní připomínky. Dále děkuji Ing. Kamile Bartošové za věcné rady a připomínky, konzultaci a pomoc při zpracování bakalářské práce. Také děkuji pracovníkům Oddělení klinické biochemie v Ústřední vojenské nemocnici – Vojenské fakultní nemocnici Praha a Institutu Klinické a Experimentální medicíny za umožnění realizace praktické části a vytvoření příjemného prostředí.

Abstrakt

Chemické vyšetření moče a močového sedimentu patří mezi základní biochemická vyšetření. Je využíváno k posouzení funkce ledvin a močových cest.

Cílem této práce bylo shrnout základní poznatky o stavbě močových cest, jejich funkci a význam vyšetření moče při diagnostice onemocnění. Dále byl popsán princip semikvantitativního vyšetření moče pomocí diagnostických proužků a zhodnocení nálezu jednotlivých elementů v močovém sedimentu na močové lince IRIS, která je složena ze dvou spojených modulů – modul pro chemické vyšetření moči iChem VELOCITY™, modul pro zhodnocení močového sedimentu IRIS IQ200®. Zároveň bylo provedeno porovnání nálezu močového sedimentu na automatickém analyzátoru s manuálním zhodnocením sedimentu mikroskopicky.

Během zpracování výsledků bylo prokázáno, že manuální zhodnocení sedimentu nebylo srovnatelné se zhodnocením naměřených hodnot analyzátozem.

Klíčová slova

Historie vyšetření moči, ledviny, moč, diagnostické proužky, močový sediment

Abstract

Urine chemistry and urine sediment analysis is one of the basic biochemical examinations. It is used to assess kidney and urinary tract function.

The aim of this work was to summarize the basic knowledge about the structure of the urinary tract, its function and the importance of urine examination in the diagnosis of the disease. Furthermore, it was described the principle of semi-quantitative urine examination using diagnostic strips and the individual elements presented in urinary sediment were described too. These examinations were provided on the urinary line IRIS, which is composed of two modules – urine chemistry module iChem VELOCITY™, evaluation of urinary sediment on module IRIS IQ200®. At the same time, it was made a comparison between the urinary sediment measured on an automatic analyzer with a manual sediment evaluation performed by microscopic techniques.

During the processing of the results, it was proved that the manual evaluation of the sediment was not comparable to automatic analysis.

Keywords

History of urine examination, kidney, urine, diagnostic strips, urinary sediment

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Současný stav	10
2.1	Historie vyšetření moči	10
2.1.1	Analýza moče během staletí.....	10
2.2	Proč vyšetřujeme moč?	11
2.3	Stavba močového systému	12
2.3.1	Ledviny	13
2.3.2	Nadledviny	17
2.3.3	Vývodné cesty močové	18
2.4	Funkce močového systému	19
2.4.1	Glomerulární filtrace	19
2.4.2	Tubulární resorpce a sekrece	20
2.4.3	Definitivní moč.....	22
2.5	Zdroje variability během analýzy vzorku	22
3	Cíl práce	26
4	Metodika	27
4.1	Fyzikální vyšetření	27
4.2	Chemické vyšetření moče	27
4.2.1	Automatizovaná analýza vzorku	28
4.2.2	Principy stanovení jednotlivých analytů	31
4.3	Morfologické vyšetření moči	39
4.3.1	Automatizované zhodnocení sedimentu	39
4.3.2	Mikroskopické zhodnocení sedimentu	40
4.3.3	Charakteristika jednotlivých elementů v močovém sedimentu.....	42
5	Výsledky	56
6	Diskuze	59
7	Závěr	62

8	Seznam použitých zkratk.....	63
9	Seznam použité literatury.....	65
10	Seznam použitých obrázků	68
11	Seznamu použitých tabulek	69
12	Seznam Příloh	69

1 ÚVOD

Fyzikálně – chemické vyšetření moče a močového sedimentu patří mezi základní biochemická vyšetření sloužící pro posouzení stavu ledvin. Moč je nejsnáze dostupným materiálem, odběr vzorku je většinou neinvazivní a při dodržení všech podmínek odběru má laboratoř k dispozici vzorek v dostatečné kvalitě i odpovídajícím množství. Pro rutinní analýzu moči na automatické močové lince obvykle stačí 3 ml vzorku. Výsledek chemického vyšetření moče pomocí diagnostických proužků doplňuje morfologické vyšetření močového sedimentu a poskytuje tak lékaři pomoc při posouzení stavu močového systému pacienta, sledování průběhu onemocnění případně komplikací během léčby.

I přesto, že chemické vyšetření moči a močového sedimentu je převážně automatizováno, mají manuální techniky vyšetření močového sedimentu mikroskopicky stále nezastupitelnou roli. Mikroskopie totiž slouží k objasnění či potvrzení nejasných nálezů. Nebo je využívána tam, kde laboratoř nemá dostatek materiálu pro vyšetření na analyzátoru.

Cílem této práce bylo studium stavby a funkce močového systému včetně tvorby moči. Dále zahrnovala osvojení si metod chemického vyšetření moče a močového sedimentu manuálními a automatizovanými technikami na močové lince, jejich porovnání a popis výhod a nevýhod obou technik. Nedílnou součástí celého procesu bylo i seznámení se s postupy preanalytické fáze, neboť ty mají velký význam při vyšetření vzorku a výrazně ovlivňují výsledek vyšetření a jeho následné použití.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Historie vyšetření moči

Moč je nejnázne dostupným biologickým materiálem. Proto se lze domnívat, že její vyšetření je stejně staré jako medicína sama [1]. Již v antickém a arabském lékařství se vyšetřením moči zabývali např. Hippocrates, Galenos, Rhazes či Avicenna [2].

Později, ve středověku a renesanci došlo k rozvoji urinoskopie, s jejíž pomocí se diagnóza určovala pozorováním vzhledu moče a její pěny [1].

Za zakladatele moderních metod vyšetřování moči je považován francouzský lékař Pierre Royer (1793-1867), který pozoroval moč po 24 hodinové sedimentaci pod jednoduchým mikroskopem – odtud pojem močový sediment. V posledních stech letech došlo i k rozvoji chemického vyšetření moči - od metod mokré chemie k metodám suché chemie. Při používání metod mokré chemie byla moč přidávána ke specifickým činidlům, reakce často probíhaly za bodu varu a byly pozorovány barevné nebo zákalové reakce, např. vyšetření proteinurie [3]. Při využití metod suché chemie, jsou nyní činidla aplikována na diagnostickém proužku, který se namáčí do vzorku moči. Výsledek barevné reakce je po výrobcem definovaném časovém rozmezí (obvykle 30 – 120 s) odečten a porovnán s údaji na tubě [1]. Dříve vyšetření probíhalo v ordinaci lékaře nebo u lůžka pacienta. Dnes jsou tyto metody soustředěny do laboratoří a jsou plně automatizovány. Výjimkou jsou vyšetření označována jako point-of-care testy (POCT) nebo též vyšetření u lůžka pacienta [3].

2.1.1 Analýza moče během staletí

První racionální poznatky o analýze moči pochází z 18. až 19. století. Průkaz bílkoviny v moči sice jako první provedl Frederick Dekkers, a to povařením vzorku moči či přidáním kyseliny octové, nicméně objev průkazu proteinurie je přisuzován italskému lékaři Domenicu Cotugnovi. Roku 1773 Roueller izoloval z moči močovinu a Karl Wilhelm Scheeler v roce 1776 zjistil přítomnost kyseliny močové v močovém kameni. Významným zlomem v lékařství byl v roce 1847 objev tzv. Bence Jonesovy bílkoviny v moči pacienta s mnohočetným myelomem. V tomto období také začaly vznikat první klinické laboratoře, ve Všeobecné nemocnici v Praze bylo profesorem chemie PhMr. Lerchem založeno

pathologicko-chemické laboratorium v Praze a o několik let později profesor Horbaczewski na lékařské fakultě uvedl přednášky na téma Analýsa moče [2].

Na konci 19. století Max Jaffe publikoval metodu stanovení kreatininu v moči pomocí kyseliny pikrové v alkalickém prostředí. Tato metoda byla úspěšně zavedena do praxe na začátku 20. století a je s různými modifikacemi využívána dodnes. Další objev provedli Miller a Winkler až v roce 1935, když zjistili, že kreatinin je vylučován nejen glomerulární filtrací ale též i tubulární sekrecí, a navrhli využívat kreatinin endogenní. V roce 1939 provedl Longsworth elektroforézu bílkovin moče. Přítomnost lehkých řetězců byla ale zjištěna až roku 1962. V té samé době se také začaly vyšetřovat elektrolyty, hormony a enzymy. Na začátku 80. let 20. století byla Vibertim prokázána přítomnost albuminu v moči, což přispělo k významu vyšetřování albuminurie jako markeru generalizované cévní hyperpermeability. V 90. letech 20. století se začaly využívat první analyzátory pro odečet močového sedimentu. Je ale důležité si uvědomit, že i přes prudký rozvoj těchto analyzátorů jsou dodnes pro odečet močového sedimentu využívány „klasické“ mikroskopické metody [2].

Současná medicína přistupuje k vyšetření moči ze dvou hledisek – moč jako odpadní produkt metabolismu, a moč jako produkt močových cest. Vyšetřujeme – li moč jako odpadní produkt metabolismu, provádíme tzv. funkční zkoušky ledvin. Mezi tyto zkoušky řadíme např. vyšetření glomerulární filtrace, tubulární resorpce a frakční exkrece. Vyšetřujeme – li moč jako produkt močových cest, provádíme vyšetření moči fyzikálně – chemickými a mikroskopickými metodami. Obě metodiky vyšetření moči poskytují lékaři pomoc při posouzení stavu ledvin i vývodných cest močových [1].

2.2 Proč vyšetřujeme moč?

Moč je nejsnáze dostupným biologickým materiálem, obvyklé v dostatečném množství a odpovídající kvalitě. Výsledek vyšetření moči základními fyzikálně – chemickými a mikroskopickými technikami lze využít při:

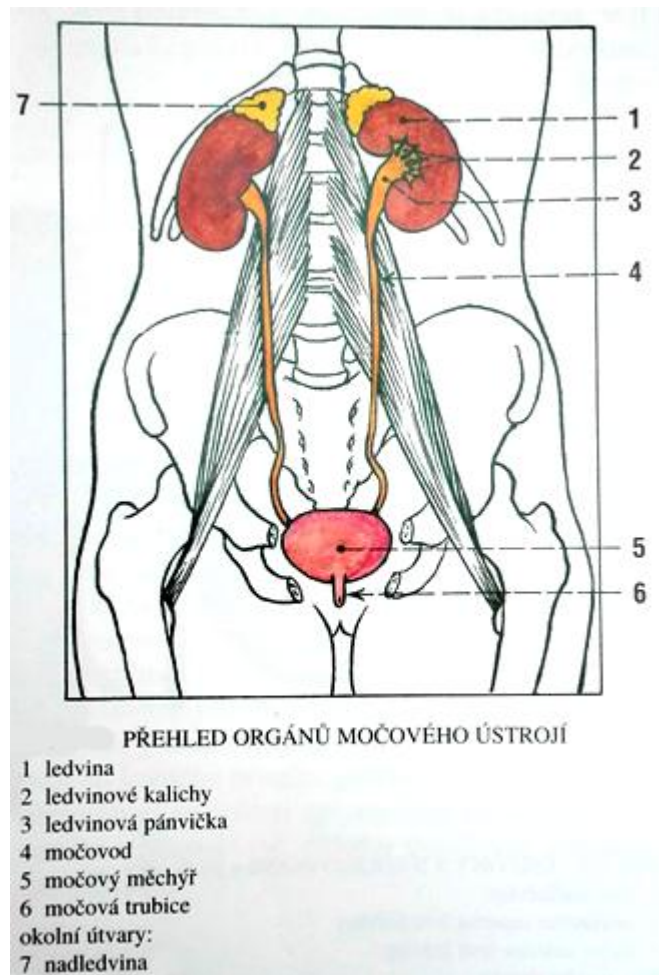
- diagnostice onemocnění;
- sledování průběhu onemocnění včetně případných komplikací během léčby;
- sledování účinnosti terapie [4].

Abychom získali přesný výsledek rozboru moči, je nutno dodat do laboratoře správně odebraný vzorek moči. Proto je nutná dobrá edukace pacienta (je - li vzorek odebrán v domácím prostředí). Je – li vzorek odebrán při hospitalizaci pacienta, je téměř vždy zajištěn odběr kvalitního vzorku zdravotnickým personálem. Pokud je vzorek z jakéhokoli důvodu znehodnocen (špatný odběr, nesprávné skladování vzorku), může dojít k ovlivnění výsledku vyšetření a k nesprávnému posouzení stavu pacienta [4].

2.3 Stavba močového systému

Ledviny regulují rovnováhu tekutin a elektrolytů v organismu a podílí se tak na homeostáze. Také produkují mnoho důležitých hormonů – např. renin, který se spolu s aldosteronem podílí na udržení stálého tlaku krve, či erythropoetin, který ovlivňuje produkci červených krvinek v kostní dřeni [5].

K močovému systému patří ledviny, močovody, močový měchýř a močová trubice. Radíme sem i nadledviny, které ovšem převážně plní endokrinní funkci, a proto jsou spíše řazeny jako součást endokrinního systému. Stavba močového systému je znázorněna na obrázku 1 [6].

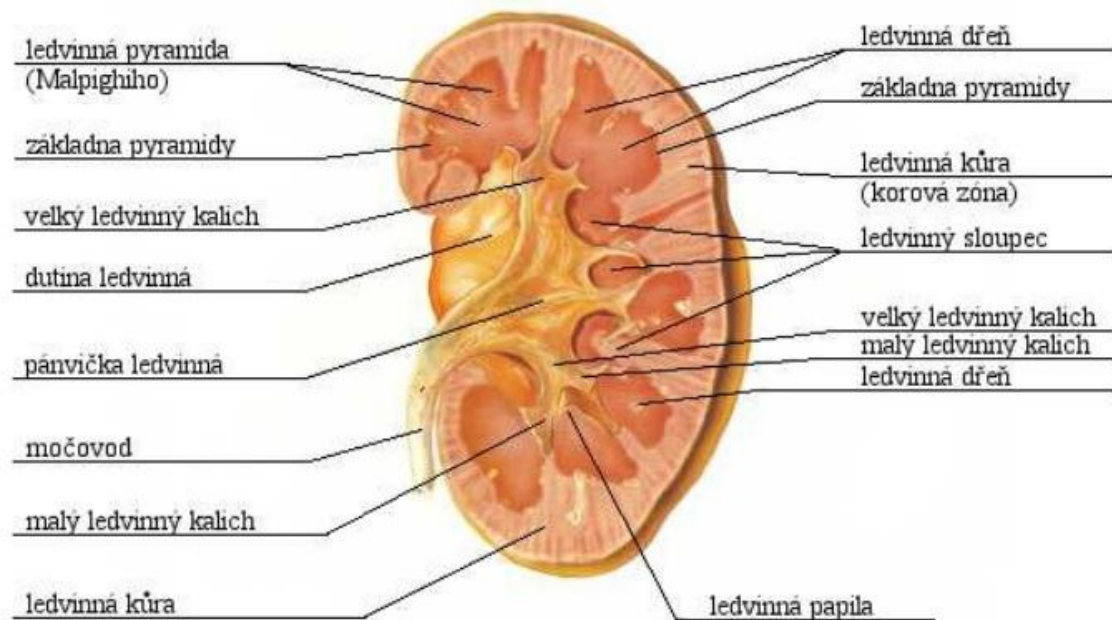


Obrázek 1 Močový systém [6]

2.3.1 Ledviny

Ledviny (latinsky *renes*, řecky *nefros*) jsou párovým orgánem uloženým v retroperitoneálním prostoru a jejich tvar připomíná fazoli. Mají červenohnědou barvu a jsou obaleny tenkým vazivovým pouzdrmem a uloženy v tukovém polštáři, který zajišťuje jejich upevnění a ochranu před mechanickým poškozením. Ledviny dospělého člověka váží přibližně 150 g, jsou dlouhé asi 12 cm, široké asi 6 cm a jejich tloušťka je asi 3 cm [4]. Během intrauterinního vývoje může dojít k anomáliím ve smyslu velikosti, počtu, tvaru či polohy ledvin. Změnu polohy ledvin nazýváme *ektopie*. S ektopií se např. můžeme setkat u tzv. podkovovité ledviny (tj. stav, kdy během vývoje nedojde k oddělení ledvin a ledviny tak zůstávají spojeny v jeden orgán ve tvaru podkovy) [7].

Jednou z hlavních funkcí ledvin je odstraňování odpadních látek ve formě moči ven z organismu. Další funkcí ledvin je jejich role v regulaci homeostázy. Spolu s nadledvinami jsou též součástí endokrinního systému. Stavba ledvin je znázorněna na obrázku níže [8].



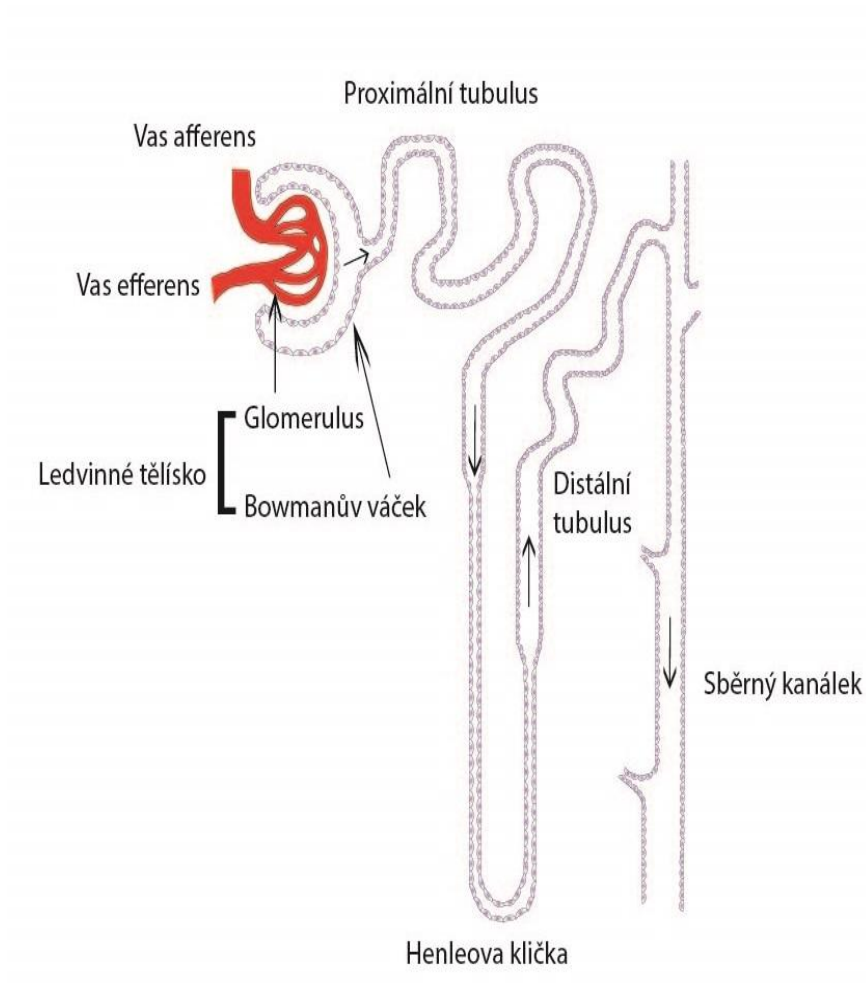
Obrázek 2 Řez ledvinou [9]

Při pozorování průřezu ledviny můžeme dobře rozlišit tmavší (červenější), jemně zrnitou vrstvu kůry a světlejší, radiálně žíhanou dřev. Každá ledvina obsahuje asi 1,3 milionu nefronů. Nefron je základní funkční a anatomická jednotka ledvin [4].

Kůra ledvin

Kůra ledviny je světlejší, s hnědým nádechem. Makroskopicky je jemně zrnitá, uspořádaná podél zevního obvodu ledviny. V kůře se nachází ledvinové tělísko, proximální tubulus a distální tubulus [6].

- **Nefron** se skládá z Malpighiho tělíska, proximálního tubulu, Henleovy kličky, distálního tubulu a sběracího tubulu. Každá oblast hraje důležitou roli při tvorbě a konečném složení moči [4].



Obrázek 3 Nefron [10]

- **Malpighiho tělísko** se skládá z dvoulistého Bowmanova pouzdra, ve kterém je uložen glomerul (klubíčko z trsu kapilárních kliček) [6]. Z prostoru mezi listy pouzdra vystupuje proximální tubulus. Z přívodné tepénky (*vas afferens*) začínají kapilární kličky glomerulu. Krev po průtoku klubíčkem odtéká do odvodné tepénky (*vas efferens*). V Malpighiho tělísku je tvořena tzv. primární moč filtrací protékající krevní plazmy. Za jeden den se vytvoří asi 180 l primární moči, která je odváděna do proximálního tubulu [8].
- **Proximální tubulus** je tvořen ze stočeného úseku, který probíhá v těsné blízkosti glomerulu. Z přímého oddílu přechází proximální kanálek do sestupného raménka Henleovy kličky. Většina primární moči (filtrátu) vytvořeného v glomerulu je zpětně vstřebávána v proximálním tubulu. Sodík je odtud transportován do buněk tubulu a dále do krevních kapilár. Stěnou tubulu prostupuje i močovina. Jsou zde

vstřebávány aminokyseliny, glukóza a další látky o malé molekule. Kreatinin a některá barviva jsou naopak vylučovány do průsvitu tubulu [8].

- **Distální tubulus** navazuje přímým úsekem na vzestupné raménko Henleovy kličky. Stočený úsek distálního tubulu ústí do sběracích tubulů. Dochází zde ke zpětnému vstřebávání významného množství tekutiny. Probíhá zde aktivní vstřebávání sodíku a také výměna sodíku za vodík a draslík. V distálním tubulu dochází k zásadnímu okyselení moči [8].

Dřeň ledvin

Dřeň ledviny je tmavší a s žíhanou kresbou. Místy zasahuje až do hilu ledviny. Vytváří charakteristické celky tzv. ledvinové pyramidy, které mají kuželovitý tvar. Ledvina je složena z 15 – 20 pyramid. Zaobalené vrcholy pyramid neboli ledvinové papily směřují k hilu ledviny [6]. Na vrcholcích papil drobnými otvůrkami ústí sběrací tubuly. Ve dřeni najdeme Henleovu kličku, sběrací a odvodné tubuly [8].

- **Ledvinné kalichy** mají nálevkovitý tvar a nasedají na ledvinové papily buď jednotlivě, nebo na dvě až tři papily současně. Kalichy jsou pevně spojeny s vazivem ledvin [6]. Každá ledvina je složena asi z 12 menších kalichů, které se spojují dohromady, aby vytvořily 2 až 3 hlavní kalichy. Každý kalich působí jako trychtýř pro příjem moči ze sběracích tubulů a předává moč do ledvinové pánvičky. Kalichy ledvin obemykají vrcholy ledvin [4].
- **Ledvinová pánvička** je rozšířený trojúhelníkovitý dutý útvar v hilu ledviny [6]. Vzniká spojením kalichů. Pánvička přechází do trubicovitého močovodu. Fyziologická kapacita pánviček se pohybuje mezi 6 – 8 ml moči [8].
- **Henleova klička** je tvořena tenkou (sestupnou) a tlustou (vzestupnou) částí [11]. Henleova klička svým vztahem k okolním cévám tvoří anatomický základ tzv. protiproudového systému ledviny. V tomto systému dochází ke zpětnému vstřebávání vody a sodíku [8].
- Na distální tubulus plynule navazuje **sběrací tubulus**. Na každý z nich se napojuje 5 – 10 nefronů [6]. Sběrací tubuly vedou k vrcholům dřeňových pyramid, kde ústí do dutiny ledvinového kalichu [4].
- Krev je do ledvin přiváděna **ledvinnou tepnou**. Před vstupem do ledviny se větví na pravou ledvinnou tepnu, která prochází za dolní dutou žilou, a levou ledvinnou tepnu, která vstupuje do hilu ledviny, kde se dále větví [5].

Endokrinní funkce ledvin

Ledviny vedle své hlavní funkce (odstraňování odpadních látek) plní i funkci endokrinní. Produkují řadu hormonů, které ovlivňují pochody nejen v ledvinách samotných, ale též v celém organismu. Mimo jiné v nich dochází k degradaci enzymů (např. inzulinu) [12].

- **Erythropoetin** reguluje tvorbu červených krvinek (erythropoézu). Produkce v ledvině se zvyšuje při hypoxii (snížení parciálního tlaku kyslíku v krvi) [12].
- **Kalcitriol** (1,25-dihydroxycholecalciferol, derivát vitamínu D) stimuluje syntézu bílkovin umožňujících vstřebávání vápníku a fosfátu a zajišťuje tak jejich dostupnost pro stavbu kostí [12].
- **Renin** je součástí osy renin-angiotenzin-aldosteron, který působí zvýšení krevního tlaku. Renin štěpí angiotenzinogen za vzniku angiotensinu I. Ten je pomocí angiotensin-konvertujícího enzymu přeměněn na angiotensin II, který má silný vasokonstriční účinek. Renin také aktivuje sympatikus a stimuluje sekreci aldosteronu [13].

2.3.2 Nadledviny

Nadledviny nasedají na oba horní póly ledvin. Dle typu produkovaných hormonů rozlišujeme dřeň a kůru nadledvin. Kůra nadledvin produkuje mineralokortikoidy, glukokortikoidy a steroidní hormony. Dřeň nadledvin produkuje katecholaminy [6].

Kůra nadledvin

Kůra nadledvin produkuje steroidní hormony – mineralokortikoidy, glukokortikoidy a androgeny [8].

- **Mineralokortikoidy** řídí přeměnu minerálních látek vody a podílí se na zadržování sodíku a vylučování draslíku ledvinami, čímž zajišťují správný poměr obou iontů i optimální množství vody v organismu – zachovává se tak stálost vnitřního prostředí neboli homeostáza. Hlavním zástupcem této skupiny hormonů je aldosteron, který je součástí osy renin – angiotenzin – aldosteron [6].
- **Glukokortikoidy** ovlivňují především metabolismus glukózy v játrech. Podporují též získávání energie štěpením bílkovin a tuků a pomáhají tak překonat stres

organizmu. V medicíně se využívají pro své protizánětlivé účinky. Hlavním zástupcem této skupiny hormonů je kortizol, jehož sekrece je řízena hypotalamo – hypofyzárním systémem [6].

- **Androgeny** mají především anabolické účinky (podporují biosyntézu bílkovin) a androgenní účinky (vznik sekundárních mužských pohlavních znaků). V nepatrném množství jsou kůrou nadledvin produkovány i ženské pohlavní hormony – estrogény a gestageny. Hlavními zástupci skupiny androgenů jsou androsteron, etiocholanolon a DHEA (dehydroepiandrosteron) [6].

Dřeň nadledvin

Dřeň nadledvin produkuje katecholaminy, jejichž tvorba je řízena nervovou činností. Tvoří se zde adrenalin a jeho prekurzor noradrenalin, jejichž struktura je odvozena od aminokyseliny tyrosinu. Mají vliv především na hladkou svalovinu, ale podílí se též na metabolismu lipidů a sacharidů [6].

2.3.3 Vývodné cesty močové

Vývodné cesty močové tvoří močovod, močový měchýř a močová trubice. Stavba stěny kalichů, pánviček a močovodů má shodné rysy. Stěna se skládá ze tří základních vrstev a to ze sliznice, vrstvy hladké svaloviny a adventicie. Malá část močového měchýře je kryta serózou [5].

Sliznice je tvořena přechodným epitelem. Většinu vývodných cest močových vystýlá vícevrstevný přechodný epitel [5]. V kalichách je epitel dvouvrstevný a v močovodu je pětivrstevný [8].

Buňky přechodného epitelu jsou velmi tvárné. V prázdných močových cestách mohou být až kulovité, zatímco hlouběji uložené buňky jsou plošší. Při naplnění močových cest se celá vrstva přechodného epitelu oploští. Přechodný epitel plní i funkci bariéry proti oboustrannému pronikání vody a solí mezi močovými cestami a okolními tkáněmi [8].

Močovody

Močovody začínají poměrně ostrým záhybem na vnitřním okraji ledvinové pánvičky a končí vyústěním do močového měchýře [6].

Močový měchýř

Močový měchýř je dutý orgán, který slouží jako rezervoár pro moč přiváděnou stahy močovodů [6]. Prázdný měchýř má miskovitý tvar, při naplnění oválný až kulovitý [8]. Fyziologická kapacita močového měchýře je 250 – 350 ml, ojediněle je schopen pojmout i vyšší objem moči [6].

Hladká svalovina močového měchýře je uspořádána do tří vrstev – vnitřní síťové, střední cirkulární a zevní podélné. Cirkulární svalovina tvoří svěračový systém, který je tvořen dvěma svaly – vnitřním svěřačem a zevním svěřačem, který je tvořen příčně pruhovanou svalovinou [8].

Močová trubice

Močová trubice slouží pro odvod moči z močového měchýře ven z těla [4]. U mužů slouží též jako vývodná cesta pohlavní. Ženy mají močovou trubici kratší než muži [6].

2.4 Funkce močového systému

Tvorba moči je významný děj celého organismu. Tímto dějem je upravována acidobazická rovnováha a složení plazmy. Dospělý zdravý člověk vyloučí 1,5 - 2 l moči za den. Na procesu se podílejí tři hlavní mechanismy – glomerulární filtrace, tubulární resorpce a tubulární sekrece [10].

2.4.1 Glomerulární filtrace

Glomerulární filtrace (GFR) je objem tekutiny, který se očistí od dané látky za časovou jednotku. Fyziologická hodnota je asi 120 ml/min/1,73m² tělesného povrchu – tedy přibližně 180 l primární moči za den. Z tohoto filtrátu je zhruba 99% resorbováno tubuly zpět do těla, zbytek je odváděn z těla jako definitivní moč. Glomerulární filtrace závisí na průtoku krve ledvinami, filtračním tlaku, onkotickém tlaku plazmy a na velikosti filtrační plochy. Pohyb tekutiny přes filtrační membránu je řízen hydrostatickým tlakem v kapilárách, onkotickým tlakem bílkovin v plazmě, hydrostatickým tlakem intersticiální tekutiny a onkotickým tlakem v této tekutině. Tekutina je vyměňována mezi kapilárou a tekutinou Bowmanova pouzdra. Filtrační bariera neumožňuje prostup bílkovin do filtrátu (primární moč) [10].

Řízení glomerulární filtrace

Glomerulární filtrace je řízena hormony (např. noradrenalin, angiotensin II, prostaglandiny, adenosin), tubuloglomerulární zpětnou vazbou (v případě sníženého průtoku tubulární tekutiny je vyslán chemický signál, který vyvolá vasodilataci přívodné tepny, zvýšení hydrostatického tlaku a obnovení normální úrovně GFR) a myogenní autoregulací (zajištění průtoku krve ledvinami při kolísání středního arteriálního krevního tlaku) [10].

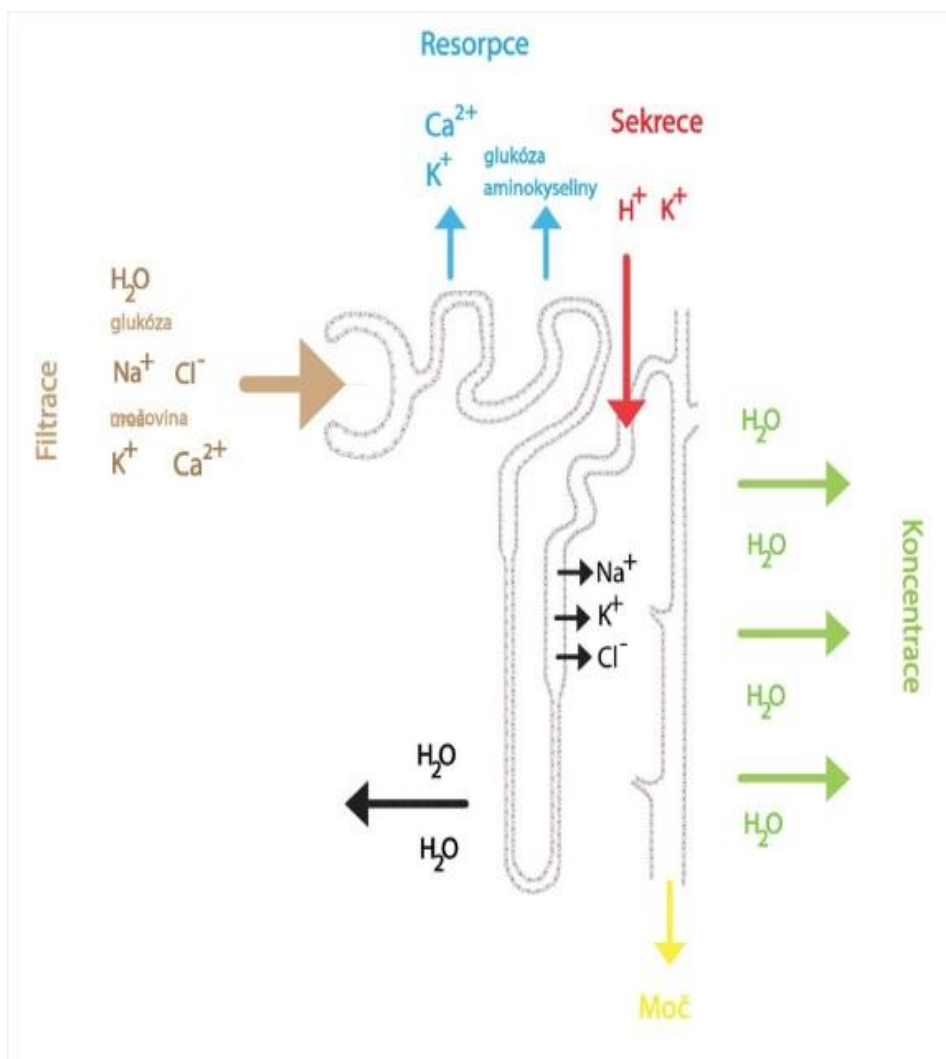
Stanovení glomerulární filtrace

Stanovení glomerulární filtrace patří mezi základní funkční vyšetření ledvin. Pro její výpočet je nutno stanovit koncentraci látky, která je z těla vylučována jen touto filtrací – takovou látkou je např. kreatinin, ve výjimečných případech lze použít inulin. Kreatinin je produkován kosterními svaly a jeho koncentrace v krvi je konstantní, proto je stanovení GFR pomocí kreatininu i přes své nevýhody běžně v klinické praxi využíváno [13]. Inulin není pro organismus látkou přirozenou, proto se při stanovení GFR musí pacientovi dodat injekčně. Z tohoto důvodu (ale také i z důvodů ekonomických) je stanovení GFR pomocí inulinu používáno spíše pro výzkumné účely a klinické studie [1].

2.4.2 Tubulární resorpce a sekrece

Z celkového filtrátu je zhruba 99 % zpět resorbováno tubuly do extracelulární tekutiny. Kromě vody jsou vstřebávány i další látky – ionty sodíku, draslíku, chloru, vápníku, hořčíku, bikarbonáty či fosfáty, močovina, glukóza nebo aminokyseliny. Vstřebávání probíhá nezávisle na množství extracelulární tekutiny (ECT) v organismu [10].

Transport je uskutečňován pasivní difúzí ve směru koncentračního nebo elektrického gradientu, primárně aktivním transportem proti gradientu (přímá spotřeba makroergní sloučeniny) nebo sekundárně aktivním transportem (vyžití koncentračního gradientu transportní bílkovinou). Voda je transportována pasivním transportem [10].



Obrázek 4 Tubulární resorpce a sekrece [10]

Renální práh

Aminokyseliny, glukóza a další organické látky jsou fyziologických podmínek resorbovány kompletně. Kapacita resorpce má určitou maximální hodnotu - je to tzv. renální neboli tubulární práh. Pokud je tento práh z důvodu vysoké hladiny dané látky v krvi překročen, je vyloučena do moči [14]. Neresorbované molekuly jsou osmoticky aktivní, strhávají s sebou vodu a tím zvyšují diurézu [10]. Nejznámějším renálním prahem je tzv. renální práh pro glukózu, který je asi 10 mmol/l [14].

Proximální tubulus

V první polovině proximálního tubulu jsou resorbované sodné ionty transportovány s ionty bikarbonátovými, glukózou, aminokyselinami, laktátem, močovinou a fosfáty [15].

Henleova klička

V Henleově kličce je resorbováno asi 25% iontů a 15% vody. Vzestupné raménko Henleovy kličky je nepropustné pro vodu. V sestupném raménku jsou vstřebávány ionty sodné, draselné, hořečnaté, vápenaté a také chloridové [15].

Distální tubulus a sběrací kanálek

V distálním a sběracím tubulu je resorbováno asi 7% iontů (hlavně sodné a chloridové) a přibližně 17% vody. Resorpce je převážně ovlivněna antidiuretickým hormonem (ADH). Současně dochází k vylučování draselných a vodíkových iontů. Distální a sběrací tubulus jsou důležitými místy pro tvorbu definitivní moči, udržení osmolarity ECT a udržení pH. V první části distálního tubulu dochází k resorpci především sodných a chloridových iontů [16]. Ve druhé části tubulu a ve sběracím kanálku dochází k resorpci sodných iontů a udržení ABR [13].

Řízení tubulární resorpce a sekrece

Tubulární resorpce a sekrece je řízena hormony (např. ADH, aldosteron, angiotensin II atd.), Starlingovými silami a glomerulární rovnováhou [13].

2.4.3 Definitivní moč

Definitivní moč je konečným produktem všech výše popsaných procesů. Fyziologická hustota moči se pohybuje v rozmezí 1 003 – 1 038 kg/m³ a pH 5,0 – 7,0, diuréza je asi 1,5 až 2 l/den. Odchytky v diuréze dělíme dle množství vyloučené moči na polyurii (diuréza vyšší než 2 l/den), oligurii (diuréza nižší než 0,5 l/den) a anurii (diuréza nižší než 0,1 l/den [1].

2.5 Zdroje variability během analýzy vzorku

Pro získání co nejpřesnějšího výsledku je důležitý správný odběr vzorku. Výsledek může být ovlivněn mnoha faktory během preanalytické fáze vyšetření (např. způsob odběru, transport a skladování vzorku), analytické fáze (špatná volba analytické metody, použití nevhodných reagensů) a postanalytické fáze (chyby při tisku a přenosu dat) [1].

Preanalytické vlivy

Preanalytická fáze je soubor všech postupů a operací, kterými projde vzorek analyzovaného materiálu od okamžiku, kdy je analýza požadována, do okamžiku, kdy je vzorek vložen do analytického měřicího systému [17]. Zdroje variability se vyskytují před odběrem biologického materiálu, při odběru biologického materiálu a mezi odběrem biologického materiálu, transportem tohoto materiálu a jeho analýzou [18]. V preanalytické fázi je důležitá i stabilita stanovovaných analytů. „*Stabilita je doba, po kterou se počáteční obsah (koncentrace, aktivita aj.) analytu ve vzorku nemění při skladování za přesně definovaných podmínek.*“ [Friedecký, 1997, s. 3.]

- Zdroje variability před odběrem vzorku lze rozlišit na ovlivnitelné a neovlivnitelné faktory [18]. Mezi neovlivnitelné faktory řadíme pohlaví, rasu a věk pacienta, cyklické změny, graviditu, současně probíhající jinou nemoc, biologický poločas stanovované látky a způsob stanovení referenčních hodnot [14]. Ovlivnitelnými faktory jsou fyzická zátěž, vliv diety (strava, pitný režim, konzumace alkoholu), léky, mechanické trauma či operace, psychický stres a kouření [18].
- Zdroje variability při odběru biologického materiálu musí znát každý, kdo se na odběru vzorku podílí (pacient, zdravotnický personál). Laboratoř musí zajistit, aby na všech odběrových místech byla k dispozici instrukce o správném odběru jakéhokoli biologického materiálu v písemné podobě [18].
- Mezi zdroje preanalytické variability mezi odběrem vzorku moči a vlastní analýzou patří vliv konzervačních látek (byla – li moč konzervována), vliv materiálu použité odběrové nádoby a transport [18].
- Při transportu vzorku se uplatňují vlivy teploty, doba přepravy do laboratoře a doba vystavení vzorku světlu [1]. Vzorek je důležité přepravovat v uzavřených odběrných nádobách [14]. Při nedodržení podmínek transportu může dojít k rozpadu žlučových barviv, rozpadu elementů a válců nebo k pomnožení bakterií [17].

Odběr moči

Moč je obvykle nejsnáze dostupným biologickým materiálem a je téměř vždy k dispozici v dostatečném množství a odpovídající kvalitě. Odběr je většinou neinvazivní (u pacientů na lůžkách intenzivní péče bývá odběr prováděn cévkováním) a pro vyšetření moči chemicky a močového sedimentu je nejvhodnější tzv. střední proud moči.

U neinvazivního odběru (spontánní mikci) je vhodné před vlastním odběrem provést hygienickou očistu genitálií a moč zachytit do čisté nádoby. Základní vyšetření vzorku by mělo být provedeno nejlépe do jedné hodiny po odběru. Při delším skladování může dojít k rozpadu buněk, válců a namnožení bakterií. Pro kvantitativní stanovení je lepší moč sbíraná. Obvyklá doba sběru je 6 – 24 hodin. [1].

- Pro semikvantitativní stanovení je nejvhodnější první ranní vzorek moči. Pacient musí být poučen o správné technice odběru. U žen by vyšetření mělo být provedeno mimo období menstruace. Moč je obvykle odebírána do zkumavek se žlutým uzávěrem. Může ale být použita i jiná čistá a suchá odběrová nádoba, která neobsahuje zbytky původního obsahu. Zkumavku je nutno označit štítkem se jménem, příjmením a rodným číslem pacienta. Interval od odběru do zpracování vzorku v laboratoři by měl být ideálně dvě hodiny. Při pozdějším dodání do laboratoře může dojít k rozpadu elementů a namnožení bakterií ve vzorku [19].
- Pro kvantitativní stanovení je nejvhodnější moč sbíraná, moč není nutno konzervovat. Některá vyšetření (např. stanovení kyseliny vanilmandlové či hydroxyindolctové) však konzervaci vyžadují – jako konzervační činidlo je nejčastěji používána HCl [1].
- Sběr moči je prováděn za účelem zjištění výdeje některých látek moči za určité časové období (nejčastěji 24 hodin). Moč musí být uchovávána v čisté, umyté a dobře uzavíratelné nádobě (např. plastové lahvi) na chladném a tmavém místě. Každá odběrová nádoba musí být označena štítkem s identifikací pacienta. Během sběru je doporučeno zachovávat stejné stravovací návyky i pitný režim. Provádí – li pacient sběr sám, musí být o technice sběru řádně poučen a dle potřeby a je – li to možné mu je lékařem upravena medikace. Po ukončení sběru je nutné nejpozději do dvou hodin dopravit celý sběr spolu se žádankou do laboratoře. Na žádance musí být uvedeno celé množství moče a doba sběru [19].

Analytické vlivy

Při analýze je pracovní postup řízen zásadami správné laboratorní práce [1].

- Stabilita vzorku moči je při laboratorní teplotě dvě hodiny. Pokud není možné provést vyšetření do dvouhodin po odběru, je vhodné vzorek uchovávat v lednici [18].

Postanalytické vlivy

Výsledky vyšetření musí být před vydáním zkontrolovány a zhodnoceny oprávněným pracovníkem. Pro případy potřeby by měly být k dispozici výsledky z předchozích vyšetření. Kritické nálezy by měly být okomentovány. Výsledky jsou převáděny z LIS do NIS a případně nahlašovány ošetřujícímu lékaři. Výsledky každého vyšetření musí být zdokumentovány a uchovány v archivu [20].

3 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem bakalářské práce je souhrnný popis základních analytů stanovovaných v chemickém a morfologickém vyšetření moči, jejich klinický význam a principy stanovení. Dále se práce zabývá porovnáním rutinně prováděných automatizovaných analýz na močové lince IRIS s manuálním mikroskopickým vyšetřením.

4 METODIKA

Moč vyšetřujeme fyzikálně, chemicky, mikroskopicky. Proto většina této kapitoly bude věnována právě těmto vyšetřením – princip, způsob provedení, vyhodnocení výsledku.

4.1 Fyzikální vyšetření

Fyzikální vyšetření se zabývá posuzováním vzhledu moči. Je hodnocena barva, zákal, pěna a zápach moči [1].

Barva moči je za fyziologických podmínek světle žlutá až žlutá. Barva moči může být ovlivněna denním režimem pacienta (stravovací návyky, pitný režim) a tedy i stavem diurézy. Při polyurii bývá moč světlejší (je „naředená“), při oligourii až anurii bývá tmavší (je „zahuštěná“). Barva moči závisí i na jejím složení a samozřejmě i stavu pacienta (fyziologický stav vs. onkologická onemocnění, onemocnění GIT apod.) [1].

Zákal moči je způsoben množstvím leukocytů u zánětů nebo přítomností amorfních solí v moči. Kyselina močová a další uráty způsobují bělavý zákal s červeným sedimentem v kyselé moči. Bílý zákal kyselé nebo neutrální moči je způsoben amorfními fosfáty. Příznakem masivní leukocyturie bývá bělavý, cárovitý zákal. Červený zákal často indikuje masivní hematurii [1].

Pěna moči nemá příliš velký diagnostický význam. Může se vyskytovat např. při leukocyturiích, při podávání některých léků, při vyšším obsahu bílkovin apod. Žlutě zbarvená pěna bývá u hyperbilirubinurie [1].

Moč má typický zápach a dle jeho charakteru a intenzity můžeme usuzovat, jaké onemocnění pacient má. Musíme ale pamatovat na to, že při dlouhém stání či špatném odběru vzorku moči dochází k pomnožení bakterií a tedy i ke vzniku typického amoniakálního zápachu moči i u zdravých lidí (bakterie štěpí močovinu na anorganický dusík) [1].

4.2 Chemické vyšetření moče

Základní chemické vyšetření je v současnosti prováděno diagnostickými proužky. Diagnostický proužek je většinou plastový pásek s nalepenými ploškami z porézního

materiálu, na nichž jsou fixovány reagenty v suchém stavu. Po namočení proužku do moči je reagenty uvolněna do hmoty proužku a způsobí barevnou reakci [1].

Chemické vyšetření moče diagnostickým proužkem lze provést třemi způsoby: manuálně či pomocí automatického nebo poloautomatického analyzátoru se zabudovaným fotometrem [1].

Při manuálním vyšetření je proužek krátce namočen do zkumavky s močí a po vytáhnutí je přebytek moči krátce otřen o buničinu. Výsledek vyšetření je po výrobcem definovaném časovém rozmezí (obvykle 30 – 60 sekund) odečten proti barevné stupnici na obalu tuby [1]. Při poloautomatickém vyšetření moči je proužek manuálně namočen do zkumavky, poté je otřen buničinou a vložen do analyzátoru, který provede odečet [16]. Při zcela automatickém chemickém vyšetření moči provede namočení proužku a vlastní odečet analyzátor. Namočení proužku je provedeno pipetorem. Výhodou plně automatizovaného procesu je přesně definovaný objem vzorku, odečet je proveden ve správně definovaném rozmezí, analýza je rychlejší a přesnější [1].

4.2.1 Automatizovaná analýza vzorku

Automatizované semikvantativní vyšetření vzorku moči diagnostickým proužkem je prováděno na močové lince IRIS. Tato linka je složena ze dvou modulů - modul pro chemické stanovení moči iChem VELOCITY™ a modul pro vyhodnocení močového sedimentu IRIS IQ200®. Oba moduly jsou spojeny podavačem vzorku v jeden celek. Některé typy automatických analyzátorů mají moduly pro chemické vyšetření moči a zhodnocení močového sedimentu sestaveny jako jeden modul společný pro obě vyšetření. Linka IRIS využívá technologie refrakčního vyhodnocení reakcí na reagenčních proužcích, refraktometrie pro stanovení specifické hmotnosti a digitálního vyhodnocení mikroskopického obrazu částic močového sedimentu. Analýza nevyžaduje předem upravené vzorky, moč lze hodnotit přímo v definovaných primárních plastových zkumavkách bez předchozí centrifugace a barvení. Potřebný objem vzorku pro oba moduly je minimálně 3 ml nativní moči vytemperované na laboratorní teplotu. Primární data jsou ukládána na PC a uchována elektronicky dle platných předpisů [21].

Modul pro chemický rozbor moči pracuje na bázi reflektanční fotometrie LEDs – za použití suché chemie na stripech – stanovuje se pH, bilirubin, urobilinogen, ketolátky,

kyselina askorbová, glukóza, bílkovina, krev, leukocyty, dusitany. Specifická hmotnost moči je měřena refraktometricky bez použití testovacích stripů. Měření barvy a zákalu moči je prováděno v průtokové cele. Vzorek je při průchodu celou osvětlen bílým světlem v úhlu 90° a barevný snímač měří amplitudu světla rozptýleného v cele, z níž určuje zákal. Ke zjištění barevného odstínu a tónu vzorku je používán snímač sestavený z řady fotodiód, výsledné barvy jsou vydávány jako kódy reprezentující uživatelsky definované názvy barev [22]. Pro měření dalších analytů je vzorek 1 ml nativní moče po promíchání aspirován jehlou a nanesen na jednotlivá reagenční pole testovacího stripu [23].



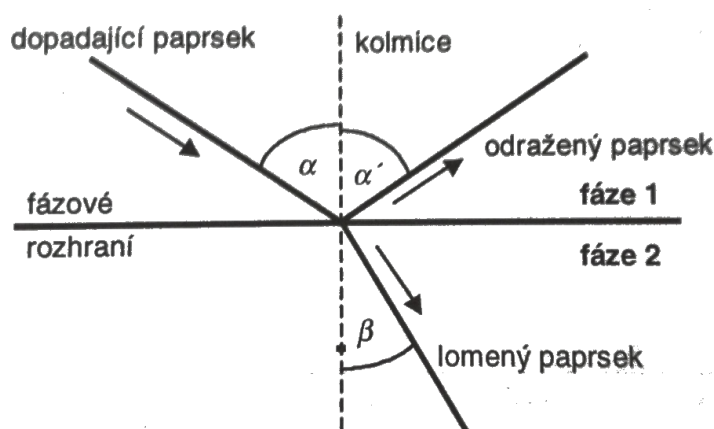
Obrázek 5 Modul na chemické vyšetření moči IRIS iChem VELOCITY™

Reflexní fotometrie

Principem reflexní fotometrie je sledování záření odraženého od homogenně zbarvené podložky. Matrice pro suchá činidla v systémech tzv. suché chemie mohou být impregnovaná vlákna nebo vícevrstvý film. Jako zdroj světla jsou využívány diody, které emitují světlo. Z důvodu malého světelného výtěžku odraženého světla je využíván bílý kulový reflektor, který usměrňuje odražené světlo z reagenční zóny na fotonku. Zdrojem světla pro vícevrstevný film je žárovka s halogenovou atmosférou. Světlo dopadne na film, projde absorpční vrstvou, odrazí se od reflexní podložky, opět projde absorpční vrstvou a dopadne na citlivý fotonásobič. Reflexní fotometry jsou využívány pro vyhodnocení reakcí, které probíhají na pevné fázi se suchými činidly po jejich aktivaci vodou obsaženou v měřeném roztoku [24].

Refraktometrie

Při dopadu paprsku na fázové rozhraní mohou nastat dva jevy - odraz (reflexe) nebo lom (refrakce). Principem refraktometrie je měření indexu lomu, který vyjadřuje poměr mezi rychlostmi světla v obou fázích. Index lomu je závislý na vlnové délce záření a teplotě. Pro porovnávání indexu lomu látky je voleno shodné prostředí, ze kterého paprsek dopadá. Takovým prostředím je např. vakuum, ale pro praktické účely je vhodnější vzduch. Měření indexu lomu je prováděno pomocí refraktometru, jehož podstata je založena na určování mezního (kritického) úhlu β_{\max} . Mezní úhel je maximální možný úhel lomu, jestliže se úhel dopadu limitně přiblíží 90° . Při dopadu světla např. z horního levého kvadrantu do místa průniku kolmice s fázovým rozhraním, dopadá jen do části pravého dolního kvadrantu vymezeného kolmicí a maximálním úhlem lomu. Rozhraní mezi osvětlenou a neosvětlenou částí je sledováno v dalekohledu refraktometru – po nastavení zorného pole přesně na střed lze na stupnici odečíst index lomu. Modul pro zhodnocení močového sedimentu na močové lince IRIS pracuje na principu Abbeho refraktometru, který je nejčastěji používaným typem refraktometru [25].



Obrázek 6 Princip refraktometrie [25]

4.2.2 Principy stanovení jednotlivých analytů

Specifická hmotnost

Specifická hmotnost je poměr hmotnosti objemu moči k hmotnosti stejného objemu destilované vody při konstantní teplotě. Je ukazatelem koncentrace rozpuštěných látek v moči a je závislá na počtu částic a jejich hmotnosti ve vzorku [16]. Je též závislá na objemu přijatých tekutin, tzn., pokud specifická hmotnost stoupá, je příjem tekutin nižší a naopak při vyšším příjmu tekutin specifická hmotnost klesá. *Hypostenurie* je termín pro moč s trvale nízkou specifickou hmotností. *Hyperstenurie* je termín pro moč s neobvykle vysokou specifickou hmotností – tento stav může být např. způsoben nedostatečným příjmem tekutin. *Izostenurie* označujeme stav, kdy má moč stejnou relativní hustotu jako plazma [4].

- **Stanovení specifické hmotnosti**

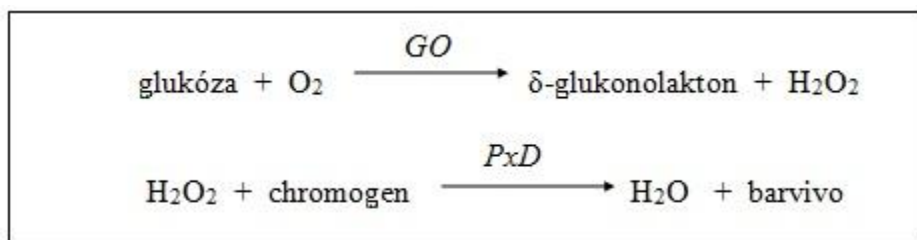
Specifická hmotnost moči je na automatickém analyzátoru odečítána refraktometricky bez použití testovacích stripů [16].

Glukóza

Koncentrace glukózy v primární moči je přibližně stejná jako koncentrace glukózy v plazmě. Protože je ale v ledvinných tubulech aktivně resorbována, nalézá se v definitivní moči jen stopové množství této látky, a proto je diagnostickým proužkem nedetekovatelné [14]. Pro glukózu byl stanoven tzv. renálních práh, protože při některých onemocněních dochází ke zvýšenému vylučování glukózy do moči [1]. Přítomnost glukózy v moči je označována termínem glykosurie. Její příčinou může být např. hyperglykemie při normálním renálním prahu pro glukózu (např. u diabetu mellitu typu II) a snížený renální práh pro glukózu. Fyziologicky se glykosurie vyskytuje během těhotenství [14].

- **Stanovení glukózy**

Stanovení glukózy probíhá dvoukrokovou enzymatickou reakcí využívající glukózaoxidázu, peroxidázu a chromogen [26].



Obrázek 7 Princip enzymového průkazu glukózy [14]

Glukózaoxidáza (GO) katalyzuje tvorbu glukonolaktonu a peroxidu vodíku pomocí oxidace glukózy [26]. Peroxid vodíku je pak štěpen na vodu a kyslík [14]. Peroxidáza (PxD) následně katalyzuje reakci peroxidu vodíku s chromogenem, kdy kyslík oxiduje chromogenu do barev v rozmezí od zelené do šedomodré [26].

Protože malé množství glukózy může být přítomno v normální moči, je detekční limit proužku upraven tak, aby se vyloučilo nepatrné množství glukózy. Reakční zóna nereaguje s jinými redukujícími cukry jako je fruktóza a galaktóza [26]. Zvýšená koncentrace kyselin askorbové a gentisové reakci zpomalují, až zastavují a způsobují tak falešně negativní výsledek [14]. Čisticí prostředky na bázi chlornanu či peroxidu mohou způsobit k falešně pozitivní výsledek [26].

Proteiny

Je – li bílkovina v moči vyšetřována diagnostickým proužkem, dostaneme údaje výhradně o přítomnosti albuminu, neboť má malou molekulární hmotnost a prochází glomerulem. Je – li požadováno semikvantitativní či kvantitativní stanovení celkové bílkoviny v moči, pak musí být provedeno stanovení i metodou mokré chemie [1].

Vylučování bílkovin do moči označujeme termínem proteinurie. Za fyziologických podmínek zdravý člověk denně vymočí asi 0,15g bílkovin. Některé stavy např. horečka, emocionální stres, pobyt v chladu nebo náročné fyzické cvičení mohou vést ke zvýšenému vylučování bílkovin močí [16]. Po ukončení těchto stavů proteinurie pominou Ortostatická proteinurie je u zdravých lidí způsobena stáním [1].

- **Stanovení proteinů**

Semikvantitativní stanovení proteinů v moči diagnostickým proužkem je založeno na tzv. proteinově chybě acidobazického indikátoru (0,2% tetrabromfenolová modř). Po

namočení proužku do vzorku moče dochází ke vzniku vazby bílkovin na acidobazický indikátor. Díky ionizaci indikátoru dojde ke změně barvy reakční zóny ze žluté do zelené až tmavě šedé. Vazba bílkovin na indikátor způsobí jeho alkalizaci i přes přítomnost pufru v reagenčním políčku, který udržuje stálé pH roztoku, proto hovoříme o proteinové chybě indikátoru [14].

Protože je diagnostický proužek citlivý pouze na albumin, negativní výsledek nevylučuje přítomnost jiných proteinů (např. Bence-Jonesovy bílkoviny, globulinu a mukoproteinu) [26]. Proto je vyšetření diagnostickým proužkem někdy doplňováno dalším semikvantitativním stanovením proteinů v moči a to reakcí s kyselinou sulfosalicylovou. Toto stanovení je založeno na precipitaci bílkovin roztokem kyseliny sulfosalicylové za vzniku mléčného zákalu. Intenzita zákalu je závislá na množství proteinů v moči. Výhoda tohoto stanovení oproti stanovení diagnostickým proužkem je, že reakce s kyselinou sulfosalicylovou je specifická i pro globuliny, mukoproteiny a Bence-Jonesovu bílkovinu [16]. Nevýhodou obou semikvantitativních stanovení je nemožnost jejich použití pro stanovení mikroalbuminurie – ta je stanovována kvantitativními metodami [4].

Některé potraviny (např. červená řepa) a terapeutické pigmenty (např. methylenová modř) mohou zkreslovat zbarvení reakční zóny. Falešně pozitivní výsledky mohou být způsobeny některými léčivými nebo kontrastními látkami, protože jsou tyto látky vylučovány do moči [16]. Falešně pozitivní výsledek může být i u silně alkalických močí. Falešně negativní výsledek může být způsoben přítomností desinfekčních prostředků (např. znečištěná odběrová nádoba) [14].

Bilirubin a urobilinogen

Bilirubin je tvořen při degradaci hemoglobinu v játrech. Fyziologicky se bilirubin v moči nevyskytuje, protože je ve střevech působením bakterií redukován na urobilinogen, který je v malém množství vylučován ledvinami do moče. Výjimkou jsou stavy spojené s omezenou tvorbou žlučových kyselin. Žlučová barviva jsou pak místo do střev vylučována ve zvýšené míře ledvinami do moči (výsledkem je světlá až acholická stolice a tmavá moč) [16]. Zvýšená koncentrace bilirubinu a urobilinogenu může být též známkou cholestázy [1].

- **Bilirubin**

Test na detekci bilirubinu je založen na azokopulační reakci bilirubinu s diazoniovou solí v kyselém prostředí. Intenzita červeného zbarvení reakční zóny je přímo úměrná koncentraci bilirubinu ve vzorku. Falešně pozitivní výsledek může být způsoben přítomností potravinářských barviv či terapeutických pigmentů, které mohou reakční zónu zbarvovat nažloutle nebo načervenalé. Falešně negativní výsledek může být způsoben zvýšenou koncentrací kyseliny askorbové a nitritů. Protože je bilirubin citlivý na světlo, může prodloužená expozice vzorku světlu vést ke sníženému nebo falešně negativnímu výsledku [26].

- **Urobilinogen**

Test na přítomnost urobilinogenu je založen na azokopulační reakci se stabilní diazoniovou solí v pufru. Intenzita červeného zbarvení reakční zóny je přímo úměrná koncentraci ve vzorku. Falešně negativní výsledek může být způsoben zvýšenou koncentrací formaldehydu ve vzorku. Falešně pozitivní výsledek může být způsoben přítomností potravinářských barviv či léků. Protože je také urobilinogen citlivý na světlo, může prodloužená expozice vzorku na světlu vést ke sníženému nebo falešně negativnímu výsledku [26].

pH (acidita)

pH moče se u zdravých lidí pohybuje v rozmezí 5 – 7 [1]. Je ovšem závislé na složení stravy daného jedince - živočišná strava moč acidifikuje, rostlinná naopak alkalizuje. pH moče je též dáno zdravotním stavem pacienta, neboť ledviny se podílí na kompenzačním mechanismu u poruch acidobazické rovnováhy [14].

Při metabolické acidóze dochází k produkci kyselin (např. laktátu u respiračních poruch, formiátu u otrav metanolem apod.) a tím tedy ke snížení koncentrace bazí (HCO_3^-). Při kompenzaci této poruchy reagují játra produkcí glutaminu, což vede k produkci NH_4^+ iontů ledvinami a moč má kyselé pH [16].

Při metabolické alkalóze dochází k vzestupu koncentrace HCO_3^- či Na^+ iontů. Ledviny tuto poruchu kompenzují zvýšeným vylučováním Cl^- iontů či proteinů. V případě

hypernatremické alkalózy dochází i ke ztrátám K^+ do moči, což vede k prohlubování již vzniklé alkalózy a moč má zásadité pH [16].

Při renálním tubulárním selhání je i přes metabolickou acidózu pH moče pacientů neutrální [1].

- **Stanovení pH**

Reakční zóna diagnostického stripu obsahuje směs indikátorů (5,8% bromthymolová modř, 1,6% kresolová červeň, 1,5% methylčerveň), které zajišťují výraznou změnu barvy v rozmezí pH 5,0 až 9,0. Barvy se pohybují od oranžové, přes žlutou a zelenou až po tyrkysovou [26].

Krev

Nález krve v moči označujeme jako hematurii. Rozlišujeme hematurii makroskopickou (krev rozlíšíme pouhým okem) a hematurii mikroskopickou (malá příměs krve pouhým okem nerozpoznatelná) – ta je prokazatelná semikvantitativním testem pomocí diagnostického proužku a vyhodnocením močového sedimentu [14].

Hematurie je hodnocena jako nález neporušených erytrocytů – při vyšetření čerstvého vzorku moči bývá nález chemického vyšetření negativní, nález v močovém sedimentu pozitivní. Je-li proužek pozitivní a sediment negativní, lze se domnívat, že se jedná o hemoglobinurii tj. nález volného hemoglobinu v moči. Stejný výsledek se ovšem vyskytuje i u myoglobinurie, tj. nález volného myoglobinu v moči. Myoglobinurie se např. vyskytuje u polytraumat, rozsáhlém poškození svalů, při renálním selhání či při rozsáhlém infarktu myokardu. Nález myoglobinu v moči se též může objevit i po dlouhodobém fyzicky náročném cvičení, neboť imituje poškození svalů [16].

Zřetelná hematurie se může vyskytnout po dlouhodobém působení chladu či při zvýšené fyzické námaze. V těchto případech hematurie vymizí do následujícího dne. Hematurie se též může vyskytnout při krvácení do močových cest, nádorových onemocnění či fyziologicky u žen během menstruace - z tohoto důvodu je nevhodné provádět vyšetření moči chemicky a sedimentu během menstruace [1].

- **Stanovení krve**

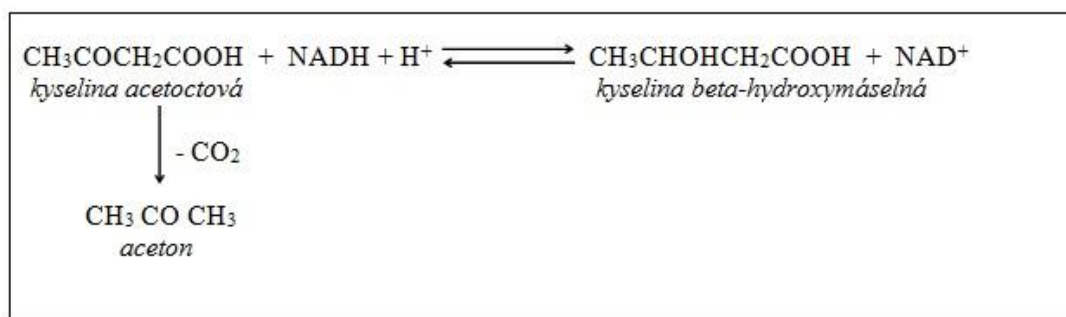
Tento pseudo-enzymatický test obsahuje organický peroxid a chromogen. Působení peroxidázy na hemoglobin a myoglobin, který má podobnou strukturu jako hemoglobin, způsobuje změnu barvy reakční zóny z bezbarvé na zelenou. Ve fyziologické moči není žádná příměs hemoglobinu nebo neporušených červených krvinek. Falešně negativní výsledek může být způsoben přítomností redukčních činidel (např. kyselina askorbová, kyselina močová, glutation, kyselina gentisová). Konzervanty či čisticí prostředky na bázi chlornanu mohou naopak způsobit falešně pozitivní výsledky. Vysoká koncentrace nitritů může reakci zpomalovat [26]. S testovacím stripem reaguje i myoglobin – na jeho přítomnost lze usuzovat při nepřítomnosti erytrocytů v močovém sedimentu. Odlišit hemoglobinurii od myoglobinurie lze kvantitativním stanovením [16].

Ketony

V moči zdravých lidí je průkaz ketolátek (např. kyselina acetoctová, kyselina β – hydroxymáselná, aceton apod.) negativní. Pozitivní nález ketolátek je charakteristickým ukazatelem poruchy metabolismu sacharidů, během níž dochází k zvýšenému štěpení lipidů. Během tohoto štěpení je uvolňována energie ve formě ATP a taktéž ketolátky, které jsou filtrovány do moči. Je-li překročen renální práh pro resorpci ketolátek, pak jsou ketolátky vylučovány do moči. Dojde-li k překročení kapacity ledvin pro vylučování, pak jsou ketolátky hromaděny v krvi. Ke ketonurii tedy dochází dříve než ke zvýšení hladiny ketolátek v krvi [16]. S ketonurií se setkáváme u diabetiků u zvracejících či hladovějících pacientů, při průjmech, horečnatých stavech apod. [1].

- **Stanovení ketonů**

Test je založen na principu Legalovy reakce tj. reakce nitroprusidu sodného a glycinu v alkalickém prostředí s kyselinou acetoctovou a acetonem. Intenzita vzniklého fialového zbarvení je přímo úměrná koncentraci ketonů. Protože je ale množství acetonu v moči v poměru ke kyselině acetoctové minimální, stanovujeme pouze kyselinu acetoctovou. S kyselinou β -hydroxymáselnou diagnostický proužek nereaguje. Zvýšená koncentrace kyseliny fenylypyrohroznové může reakci ovlivňovat a způsobit různé zbarvení reakční zóny. Zvýšené množství léků obsahujících sulfhydrylové skupiny mohou produkovat atypické barevné reakce [26].



Obrázek 8 Přeměna ketolátek [14]

V organismu dochází k vzájemným přeměnám ketolátek. Schéma přeměn znázorňuje obrázek 9. „Aceton vzniká nevratnou neenzymovou dekarboxylací kyseliny acetoctové. Mezi kyselinami acetoctovou a β -hydroxymáselnou existuje rovnováha; reakce je katalyzována enzymem β -hydroxybutyrátdehydrogenásou.“ [Racek, 2006, s. 62] Pokud jsou tkáně dobře zásobeny kyslíkem, probíhá reakce zprava doleva. Při hypoxii probíhá naopak. Protože s činidlem na průkaz ketolátek nereaguje kyselina β -hydroxymáselná, může např. u pacienta v šoku průkaz ketolátek způsobit falešně negativní výsledek [14].

Nitrity

Nitrity v moči vznikají působením bakterií, které redukují dusičnany (nitráty) na dusitany (nitrity). Průkaz nitritů značí o zánětu močových cest [14]. Negativní nález nitritů v moči neznamená nepřítomnost bakterií – některé bakterie netvoří nitrity. Pro průkaz bakterií v moči je nutno provést kultivační vyšetření moče [16].

- **Stanovení nitritů**

Reakce je založena na modifikaci Griessovy reakce, ve které nitrity v moči reagují s amidem za vzniku diazoniové sloučeniny. V přítomnosti dusitanů se projevuje růžovým zbarvením. Výsledky mohou záviset na schopnosti bakterií redukovat dusičnany na dusitany. Potravinářská barviva a terapeutické pigmenty mohou způsobovat falešně pozitivní reakce. Negativní reakce v přítomnosti bakterií mohou být způsobeny sníženou schopností bakterií tvořit nitrity, infekce způsobené jinými agens, antibiotiky atd. [26].

Leukocyty

Ve fyziologické moči přítomnost leukocytů neprokážeme. Příčinou přítomnosti leukocytů v moči bývá bakteriální zánět ledvin nebo močových cest [14]. Před vývojem stripových testů pro detekci leukocytů v moči, byla přítomnost bílých krvinek stanovována pouze mikroskopicky v močovém sedimentu [4].

- **Stanovení leukocytů**

Průkaz je založen na stanovení esteráz v neutrofilních granulocytech [14]. Granulocyty reagují s reakční zónou obsahující indoxyl a diazoniovou sůl za vzniku fialového zbarvení. Falešně pozitivní výsledek může být způsoben přítomností konzervantů (např. formaldehyd a formalin) [26]. Falešně negativní výsledek může být způsoben léčbou antibiotiky. Negativní nález je možný i za přítomnosti leukocytů v sedimentu, kdy se jedná o leukocyty bez granul (monocyty, lymfocyty). V případě pozitivního nálezu za nepřítomnosti leukocytů v sedimentu lze nález hodnotit jako rozpad leukocytů, což může být způsobeno dlouhodobým stáním vzorku moči [4].

Kyselina askorbová

Kyselina askorbová je známá pod názvem vitamín C a je rozpustná ve vodě. Je často užívána v prevenci proti nachlazení buď formou potravinových doplňků či z přírodních zdrojů. Nadbytek kyseliny askorbové je vylučován močí [4].

- **Stanovení kyseliny askorbové**

Přítomnost kyseliny askorbové je prokazována Tillmanovou reakcí, při níž je využíváno silných redukčních vlastností této kyseliny [26]. Test je založen na redukci kyseliny fosfomolybdenové na molybdenovou modř [4]. Přítomnost kyseliny askorbové vede k odbarvení reakční zóny z šedomodré na oranžovou barvu. Vysoká koncentrace kyseliny askorbové (nad 20 mg/dl) může způsobovat silné interference (falešně negativní výsledek) při stanovení glukózy, krve a nitritů [26]. Oxidovaná forma (kyselina dehydroxyaskorbová) s diagnostickým proužkem nereaguje [4].

4.3 Morfologické vyšetření moči

Zhodnocení počtu jednotlivých elementů v močovém sedimentu patří spolu se základní chemickou analýzou nativní moči mezi základní biochemická vyšetření. Umožňuje potvrdit a objasnit nálezy získané diagnostickými proužky, a také napomáhá k detekci nálezů, které diagnostické proužky nejsou schopné zachytit (např. krystaly, válce a buňky epitelii) [27].

4.3.1 Automatizované zhodnocení sedimentu

Automatizované zhodnocení močového sedimentu je prováděno pomocí močové linky IRIS na modulu pro mikroskopickou analýzu močového sedimentu, který pracuje na principu digitálního snímání částic v planární kyvetě. Vyhodnocení je prováděno automaticky softwarem automatického rozpoznávání částic, který využívá k rozlišení velikost, kontrast, vzhled, tvar a strukturu jednotlivých částic, které rozřazuje do definovaných kategorií a přiřazuje číselné vyjádření jejich koncentrace ve vzorku (počet na μl) [28].

Vzorek 1 ml nativní moče je po promíchání aspirován jehlou do planární průtokové kyvety. Zde je vzorek umístěn mezi vrstvy speciální kapaliny, která polohuje částice ve vzorku do ohniska systému mikroskop – CCD kamera a navíc se orientuje prostorově tak, že asymetrické částice jsou vždy polohovány největší plochou směrem k objektivu. Pro každý vzorek moče je sejmuto 500 snímků, které jsou digitalizovány a analyzovány procesorem. Jednotlivé částice sedimentu jsou izolovány do „rámečků“ a rozděleny softwarem (porovnání částic podle řady kritérií s uloženou databází) do 12 hlavních kategorií jako jsou erytrocyty, leukocyty, shluky leukocytů, hyalinní válce, ostatní válce, buňky dlaždicového epitelu, jiné epitelové buňky, a do dalších podskupin jako jsou bakterie, kvasinky, krystaly, spermie a hlen. Softwarem vyhodnocený nález je vždy následně kontrolován a editován obsluhou a odeslán do LIS. Některé nálezy mohou být těžko rozpoznatelné jen pomocí digitální analýzy obrazu, a proto je nutné také zhodnocení preparátu pomocí světelné mikroskopie, která je považována za „zlatý standard močového sedimentu“. Pro vyhodnocení sedimentu pomocí mikroskopie se používá barvený či nebarvený preparát. Výhodou barveného preparátu je snadnější rozlišení např. erytrocytů od kvasinek (kvasinky jsou nazelenalé, erytrocyty růžové) [29].



Obrázek 9 Modul pro mikroskopické vyšetření moči IRIS IQ200®

4.3.2 Mikroskopické zhodnocení sedimentu

Mikroskopické vyšetření by mělo být prováděno v místnosti, kde lze okna zastínit žaluziemi nebo roletou. Pracovní deska by měla být snadno omyvatelná. Stolní centrifugu využívanou k centrifugaci moči je třeba pevně umístit na podložku, aby její provoz nezpůsobil vibrace okolní pracovní plochy. Centrifuga musí být umístěna na jiné pracovní ploše, než je mikroskop [30].

Příprava mikroskopického preparátu

K vyšetření močového sedimentu je potřeba 10x koncentrovaná moč (obvykle je vzorek připraven z 5 ml původního vzorku). Vzorek je centrifugován při 1000 rpm po dobu pěti minut, po odstředění se slijí supernatant a usazenina je jemně rozmíchána (resuspendována) [27]. Z resuspendovaného vzorku je do počítací komůrky *FastRead 102*® napipetováno 20 μ l vzorku moči. Silně zakalené vzorky moči či vzorky se zřetelnou hematurii je vhodnější hodnotit necentrifugované [30].

Pro ulehčení identifikace a charakterizace elementů lze provést barvení močového sedimentu [31]. Využívá se barvicí metoda dle Sternheimera, při níž je použita dvousložková barva (Alciánová modř a červeně pyronin-B v poměru 1:1). Alciánová modř má silnou afinitu k mukopolysacharidovým složkám buněčných i jaderných membrán, k močovému hlenu a k Tammovu - Horsfallovu mukoproteinu, který tvoří základ válců. Alciánová modř má tendenci polymerizovat a vytvářet makromolekulární komplexy, což může v některých případech ovlivnit vzhled močového sedimentu (např. zesíťování hlenu,

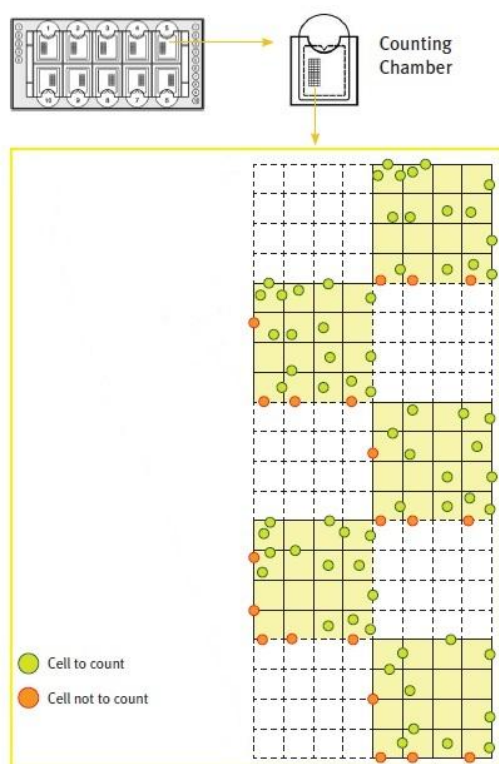
znehynění trichomonád). Červeň Pyronin B slouží pro obarvení ostatních složek močového sedimentu, zejména cytoplazmy buněk, matrix voskových válců atd. [32].

Barvený preparát je připraven tak, že na podložní sklíčko je nejprve nanese barvivo dle Sternheimera, do nějž je přenesena kapka připraveného močového sedimentu tak, aby se obě kapky spojily a promíchaly (poměr obou kapek by měl být 1:10 ve prospěch vzorku). Ideální je kapku promíchat pipetou či rohem krycího sklíčka. Kapka obarvené moči je překryta krycím sklíčkem a tím je preparát připraven k prohlédnutí pod mikroskopem [32].

Hodnocení mikroskopického preparátu

Při pozorování preparátu v počítači komůrce *FastRead 102*[®] je vhodné nejprve použít zvětšení 100x pro kontrolu homogenního rozložení elementů. Jednotlivé elementy jsou pak počítány při zvětšení 400x ve světlém poli (je možno použít i fázový kontrast) [33].

Počítací komůrka *fastRead 102*[®] je destička vyrobená z metylakrylátu chráněna opticky průhlednou fólií. Destička je složena z deseti samostatných komůrek o standardním objemu 7 μ l. Nanesený vzorek je díky kapilárnímu mechanismu rovnoměrně rozprostřen po celém objemu komůrky. Každá z komůrek je dále rozdělena na šestnáct menších čtverců (segmentů). Počet jednotlivých elementů je dán součtem buněk v každém segmentu, výsledek je přímo počet buněk/1 μ l vzorku. Při počítání je doporučeno pravidlo počítání buněk uvnitř každého čtverečku a při zvolení dvou stran čtverečku (např. horní a pravá strana), při nichž buňky též započítáváme. Ostatní strany jsou vynechány, aby buňky nebyly započítány dvakrát [33].



Obrázek 10 Počítání buněk s destičkou Fastread0102® [33]

V močovém sedimentu je hodnocena přítomnost a počet erytrocytů, leukocytů, epitelii a válců příp. je slovně ohodnocena přítomnost dalších elementů (hlen, krystaly, bakterie, kvasinky, spermie) – negativní, ojediněle, přítomny, záplava apod. Za jasně patologické je považován nález více než 5 erytrocytů a 10 leukocytů na jedno zorné pole. Nález vyššího počtu dlaždicového epitelu svědčí o nedodržení přípravy pacienta na odběr vzorku [30].

Výhoda hodnocení barveného preparátu oproti automatizovanému hodnocení či hodnocení v počítací komůrce spočívá v lepším rozlišení a tedy i zhodnocení jednotlivých elementů. To se týká především odlišení erytrocytů od kvasinek (erytrocyty se barví typicky růžově, kvasinky jsou lehce nazelenalé). Dále lze rozlišit granulocyty od agranulocytů a zhodnocení válců či epitelii je také přesnější. Hyalinní válce se obvykle barví modře (mohou ale být světle fialové) a díky své struktuře jsou hůře viditelné. Ostatní válce se barví dle toho, o jaký typ válce se jedná.

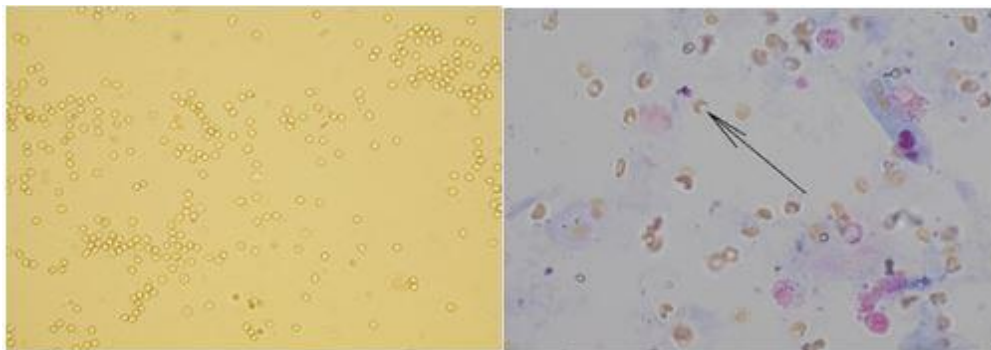
4.3.3 Charakteristika jednotlivých elementů v močovém sedimentu

Erytrocyty

Zvýšené množství erytrocytů se vyskytuje v močovém sedimentu pouze za patologických stavů a při dodržení správnosti odběru. [30]. Erytrocyty pronikají do moče

bud' glomerulární membránou, kde dochází k jejich charakteristickému poškození (v sedimentu je nalézáme jako tzv. dysmorfní erythrocyty), nebo pronikají poškozenou sliznicí vývodných cest močových (v sedimentu je nalézáme jako tzv. isoformní erythrocyty). Nález erythrocytů v močovém sedimentu bývá spojen s pozitivním nálezem v chemickém vyšetření moči [32].

Erythrocyty jsou bezjaderné elementy s jemně zrnitou cytoplazmou. Tvoří ostře ohraničené diskovité útvary, ale jejich konečný tvar je závislý i na pH moči [31]. V kyselých a silně koncentrovaných močích tvoří útvary nazývané *akantocyty* (erythrocyty s měchýřkovitými výběžky), v zásaditých a „zředěných“ močích tvoří kulovité útvary zvané *kodocyty* či útvary zvané „erythrocytové stíny“. Nález poškozených erythrocytů je hodnocen jako dysmorfní erythrocyty (např. při poškození glomerulů mají srpkovitý tvar). Erythrocyty deformované přestupem vody z buněk (tzv. *echinocyty*, ježkovité či vroubkované erythrocyty) nejsou hodnoceny jako erythrocyty dysmorfní [31], [34].



Obrázek 11 Normální erythrocyty [34] a dysmorfní erythrocyty [35]

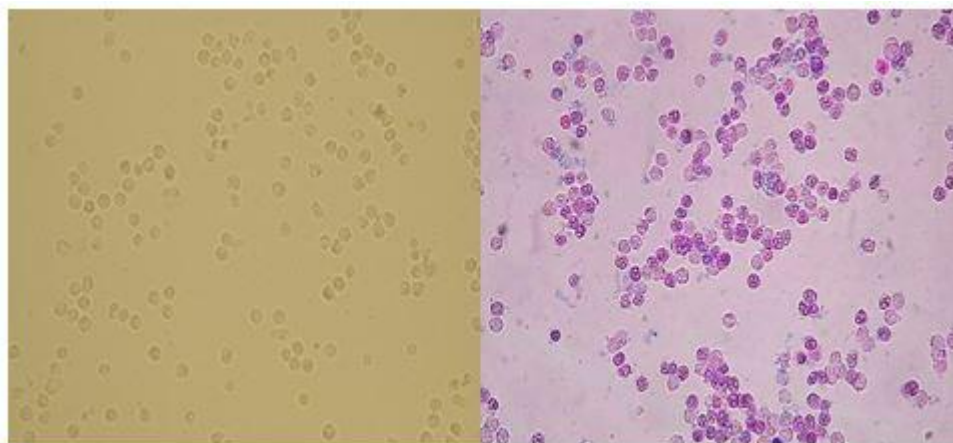
Leukocyty

Leukocyty pronikají do moče z tubulů a vývodných cest močových v místě zánětu. Nález leukocytů bývá často spojen s bakteriální infekcí močových cest a ledvin (zde je nález leukocytů spojen i s nálezem proteinů v moči). Nález leukocytů v sedimentu bývá spojen s pozitivní reakcí na diagnostickém proužku – reakce je ale průkazná pouze u granulocytů [32].

V močovém sedimentu jsou nejvíce zastoupeny neutrofilní granulocyty, což jsou kulaté buňky se segmentovaným jádrem. V barveném preparátu se jádro nepoškozených leukocytů nebarví, u poškozených leukocytů je zbarveno modře a u rozpadlých granulocytů je jádro

bezbarvé. Nález zvýšeného počtu lymfocytů v sedimentu může svědčit pro rejekci ledviny po transplantaci a ojedinělý výskyt monocytů či makrofágů může svědčit o imunitní reakci (makrofágy jsou aktivované monocyty) [32].

Za přítomnosti leukocytů bude moč kalná a bude se tvořit sediment. Neprůhledná, špinavě bílá či žlutobílá usazenina se vytvoří v kyselé, neutrální nebo slabě alkalické moči. Leukocyty mají různé tvary v závislosti na pH moči. V kyselé, neutrální nebo slabě alkalické moči vytváří kulaté nebo polygonální bezbarvé tvary a mají jedno nebo více jader. V alkalické moči leukocyty dosahují téměř velikosti ledvinného epitelu. V silně alkalické moči dochází k rozrušení leukocytů. Při delším stání moči se leukocyty začnou rozpadat a vytvoří se amorfní sediment [31].

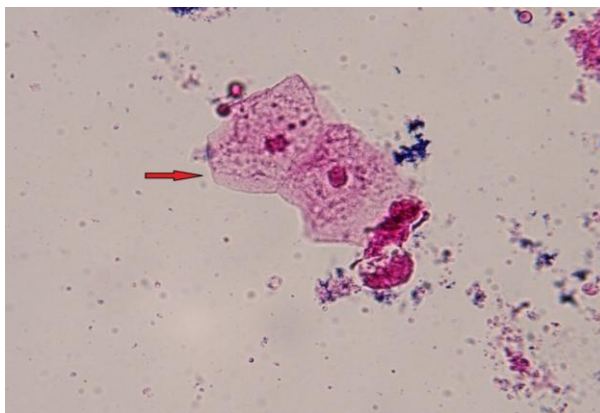


Obrázek 12 Leukocyty nebarvené [34] a barvené [32]

Buňky dlaždicového epitelu

Buňky dlaždicového epitelu jsou nejběžnější a největší z epiteliálních buněk v moči. Do moči se dostávají z distální části močové trubice a z vagíny [4]. Nález tohoto druhu epitelii v menším množství nemá diagnostický význam (vyšší počet epitelii svědčí pro nesprávně provedený odběr) [32].

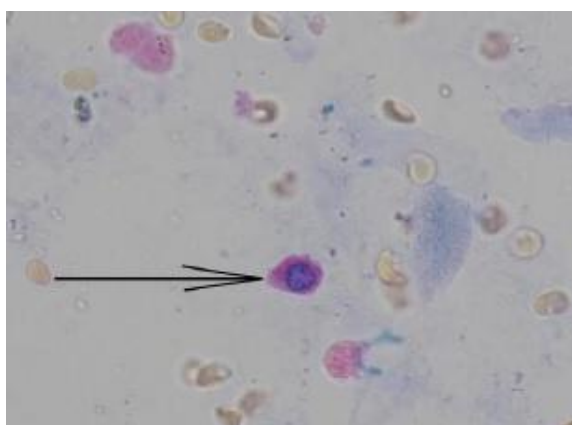
V močovém sedimentu jsou buňkami největšími. Mají nepravidelný tvar, bohatě zrnitou cytoplazmu a centrálně umístěné jádro. Často bývají různě poskládané či přeložené přes sebe nebo stočené do válců [16].



Obrázek 13 Buňky dlaždicového epitelu

Buňky renálního tubulárního epitelu

Renální tubulární buňky jsou nejmenší ze všech epitelí, jsou ale dvakrát větší než granulocyty. Jsou to polyedrické (pyramidové) buňky s nesegmentovaným excentrickým jádrem a jsou původem z renálního tubulu. Epitelie pocházející z proximálního tubulu a mohou mít slabou granulaci. Fragменты epitelí v uskupeních svědčí pro silné poškození tubulů. Nález renálních tubulárních epitelí v sedimentu hodnotíme vždy jako patologický, neboť ve fyziologických močích se nevyskytují. Pozitivní nález může být ukazatelem akutní tubulární nekrózy, virové infekce či lékové toxicity (i toxicity způsobené těžkými kovy) [32].

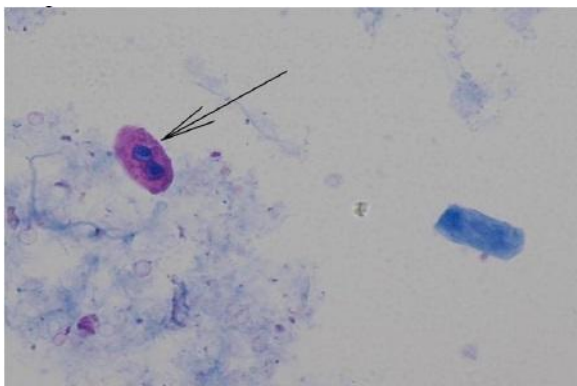


Obrázek 14 Buňka renálního tubulárního epitelu [35]

Buňky přechodného epitelu

Buňky přechodného epitelu mají dle původu v močových cestách různých tvar i velikost. V hlubších vrstvách epitelu a v ledvinné pánvičce jsou spíše menší a kulovité, ve vývodných cestách močových jsou spíše větší a nepravidelné. Jádro je centrálně uloženo,

někdy bývá zdvojené. V sedimentu lze nalézt i tzv. ocasaté buňky. Jsou to buňky přechodného epitelu, které pochází z močového měchýře. Nižší počet buněk přechodného epitelu v sedimentu je fyziologický, avšak větší počet dvojjaderných či nepravidelných buněk může být známkou uroteliárního karcinomu [32].



Obrázek 15 Buňka přechodného epitelu [35]

Válce

Válce jsou cylindrické útvary vznikající v distálních tubulech precipitací Tammova – Horsfallova mukoproteinů, který je sekretován z renálních tubulárních buněk. Jejich tvorba je podpořena kyslejší pH moči, zvýšenou plazmatickou koncentrací bílkovin, dehydratací organismu, zpomalením proudu moče či náročnou fyzickou aktivitou. Dle délky setrvání válece v tubulech může váleček procházet postupným vývojem: buněčný váleček > granulovaný váleček > voskový váleček. Nález válečků v sedimentu je vždy hodnocen jako patologický - hyalinní válce v menším množství se mohou vyskytnout i zcela fyziologicky [34].

Hyalinní válce

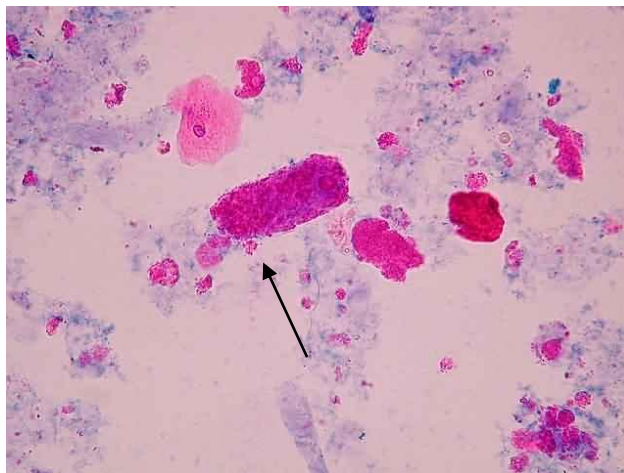
Hyalinní válce jsou homogenní, bezbarvé nebo bledě žluté, v sedimentu obtížně viditelné. Často se na ně nalepují krystalické i amorfní složky sedimentu nebo zrnité produkty rozpadu bílkovin. Na hyalinních válečkách s „usazeninami“ zůstávají prázdná místa se zřetelně jemnou hyalinní strukturou (tak se dají rozlišit od granulovaných válečků). Po delším stání při laboratorní teplotě dochází k rozrušení válečků [31]. V barveném preparátu se zvýrazní jejich jemná, vláknitá struktura a jsou pak lépe rozeznatelné [32].



Obrázek 16 Hyalinní válec

Granulované válce

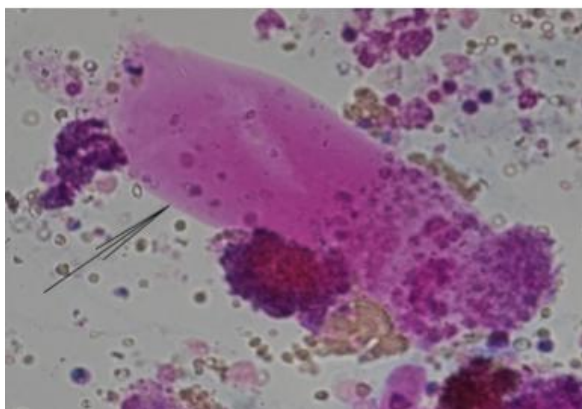
Granulované válce jsou druhým nejčastěji se vyskytujícím typem válců v močovém sedimentu. Jejich přítomnost je jasným patologickým nálezem. Protože vznikají z buněčných válců, jejich morfologie je různá a mohou z nich postupným zjemňováním granulace vznikat válce voskové [32].



Obrázek 17 Granulovaný válec [32]

Voskové válce

Voskové válce jsou silnější než ostatní typy válců. Jejich vzhled je matný voskový a struktura homogenní. Jsou světlolomné a mívají typické zářezy [31]. Nález tohoto typu válců je charakteristický pro chronické onemocnění ledvin, často jsou nazývány válci renálního selhání – vypovídají o poškození tubulů [34].



Obrázek 18 Voskový válec [36]

Buněčné válce

Buněčné válce jsou tvořeny buňkami, které se mohou vyskytovat v renálních tubulech. Dle typu buněk rozeznáváme erytrocytární, leukocytární a renální tubulární válce. Není – li možné určit buňky ve válci, označujeme tyto typu válců pouze jako buněčné [34].

- **Erytrocytární válce**

Nález tohoto typu válců je velmi vzácný, jsou totiž velmi křehké a rychle se rozpadají. Aby je bylo možno pozorovat, je lepší mikroskopovat úplně čerstvý sediment. Při výskytu těchto válců v sedimentu je třeba pomýšlet na probíhající glomerulonefritidu, proto by neměly být přehlíženy [32].

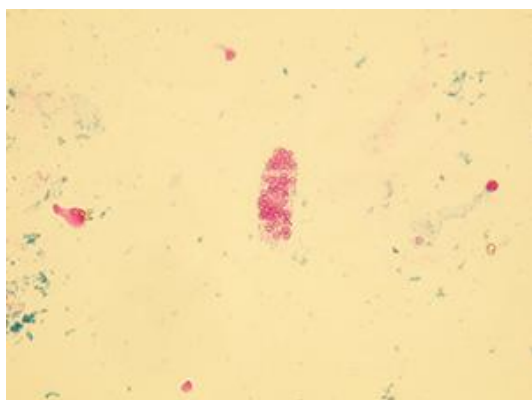
- **Leukocytární válce**

I u těchto válců platí, že jejich nález je poměrně vzácný. Teprve při těžké bakteriální infekci, kdy dosud není příliš poškozena koncentrační schopnost ledvin, je nález leukocytárních válců možný. Protože ale díky přítomnosti bakterií dochází k poměrně rychlému rozpadu válců, bývají často leukocytární válce identifikovány jako buněčné. Důležitým znakem pro rozpoznání těchto válců je přítomnost buněk se segmentovaným jádrem [32].

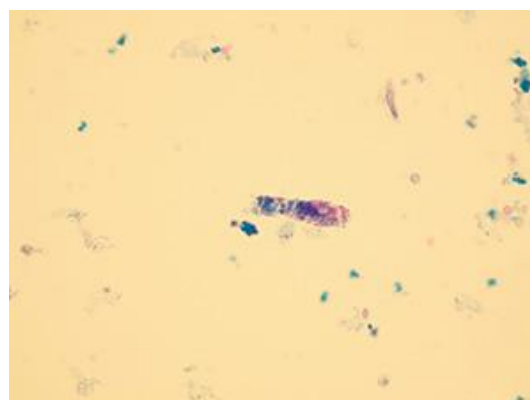
- **Renální tubulární válce**

Nález válců z renálních válců je také dosti vzácný. Z morfologického hlediska se jedná o hyalinní válce s renálními epitelii v matrix válce. Renální epitelální válce jsou

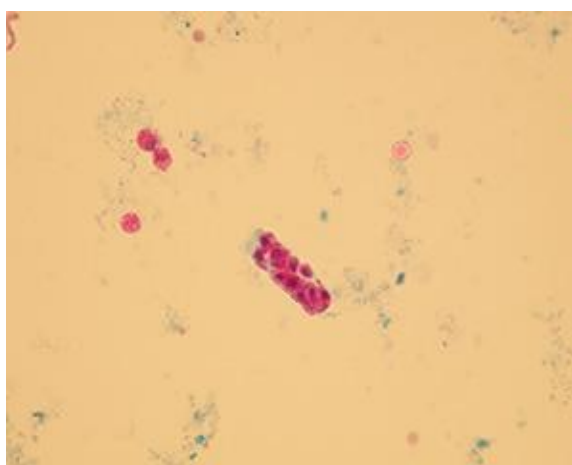
příznakem toxického či ischemického poškození ledvin, a proto nesmí být v sedimentu přehlíženy [32].



Obrázek 19 Erythrocytární válec [34]



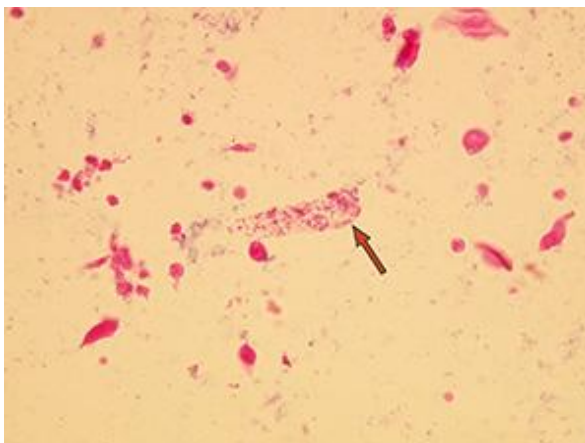
Obrázek 20 Leukocytární válec [34]



Obrázek 21 Válec s renálními buňkami [34]

Bakteriální válce

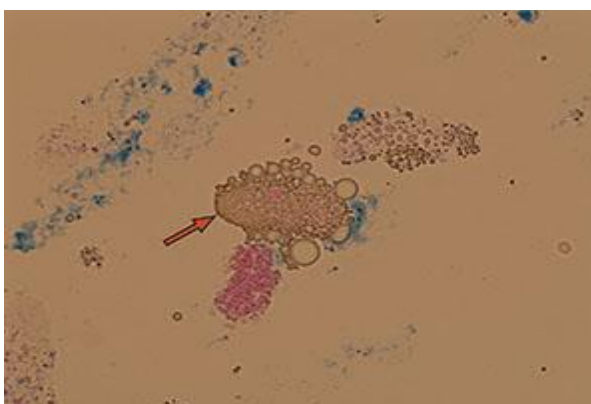
Bakteriální válce jsou tvořeny proteinovou maticí a bakteriemi. Jejich nález bývá doprovázen i přítomností leukocytárních válců. Protože jsou ale velmi křehké, je jejich nález v sedimentu spíše vzácný. Mohou se vyskytnout např. při pyelonefritidě či intersticiální bakteriální nefritidě [32].



Obrázek 22 Bakteriální váleček [34]

Tukové válce

Při poškození glomerulární membrány se do moče dostávají lipoproteinové částice, které jsou zpětně reabsorbovány tubulárními buňkami. Stanou – li se tukové kapénky součástí válců, vznikají válce tukové. Vyskytují se v sedimentu často u nefrotického syndromu, u diabetiků či po intoxikaci rtuť [32].



Obrázek 23 Tukový váleček [34]

Bakterie

Bakterie jsou malé mikroorganismy mající kokovitý či tyčkovitý tvar [32]. Mohou být uspořádány jednotlivě či v řetězcích nebo tvořit vlákna. Nejčastěji jsou v sedimentu nalézány gramnegativní tyčky, které jsou růžově zbarvené [4]. V barveném preparátu jsou nepohyblivé, v nativním pohyblivé [32]. Nález menšího počtu bakterií ve fyziologických močích zcela běžný, při infekcích počet stoupá [34]. Protože během stání vzorku dochází

k exponenciálnímu pomnožení bakterií, není možné takový nález hodnotit a je vhodné pro průkaz bakteriální infekce močových cest provést kultivační vyšetření [32].



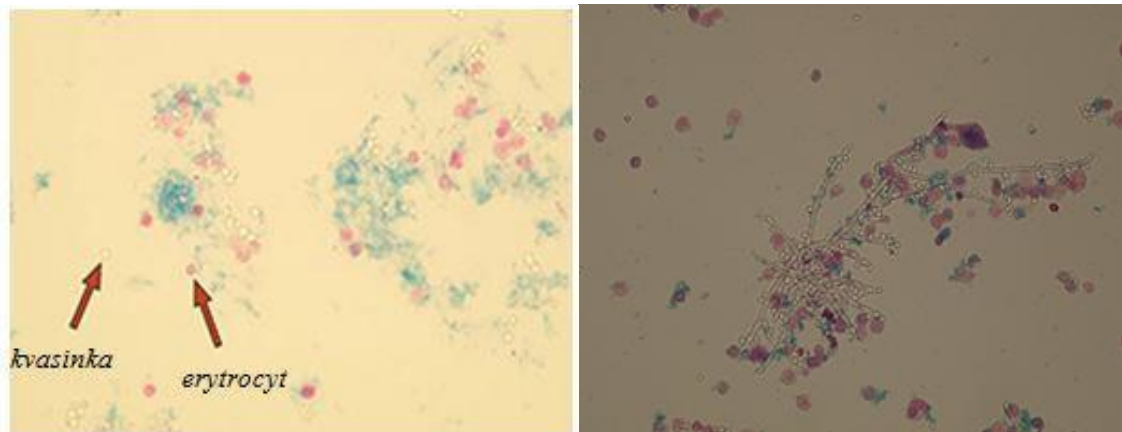
Obrázek 24 Bakterie [32]

Kvasinky a hyfy

Kvasinky jsou jednobuněčné mikroorganismy, nejčastěji druhu *Candida albicans*. Běžně jsou v nižším počtu nalézány v sedimentu žen, ale mohou se vyskytnout i u mužů. Ve vyšším počtu je nález kvasinek hodnocen jako patologický [32]. Vyskytují se diabetiků (glukóza v moči podporuje jejich růst) či u pacientů s imunodeficiencí či léčených imunosupresivy [34].

Kvasinky mají typický oválný tvar, množí se pučením a někdy tvoří řetízky či pseudomycelia. Svým tvarem i velikostí připomínají erytrocyty, proto jsou v nebarveném preparátu oba typy těchto buněk obtížně rozpoznatelné. V barveném preparátu lze kvasinky od erytrocytů snadno rozpoznatelné – kvasinky jsou nazelenalé, erytrocyty narůžovělé [31].

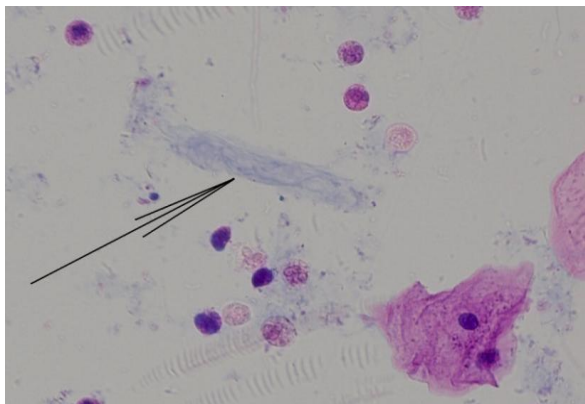
V močovém sedimentu lze nalézt i plísňe. Tento nález je ale velmi vzácný, vyskytuje se u pacientů na lůžkách intenzivní péče – jsou vyplavovány z katetrů do moči.



Obrázek 25 Kvasinka s erytrocytem a hyfy kvasinek [34]

Hlen

Vlákna hleny jsou dlouhé, tenké, zvlněné ploché struktury, které mohou mít slabé podélné pruhování [16]. Vlákna hleny mohou vytvářet formace podobné hyalinním válcům [30]. Nález hleny nemá velký diagnostický význam, v malém množství se v sedimentu vyskytují zcela fyziologicky [34]. Při zánětech, poškozeních močového systému či špatně provedené technice odběru se může vyskytovat vyšší množství hleny. Často se na hlenová vlákna nalepují erytrocyty, leukocyty, epitelie nebo bakterie [30].



Obrázek 26 Hlenová vlákna [37]

Spermie

Za fyziologických podmínek bývají spermie přítomny ve vzorcích moči muže zcela běžně. U žen není nález spermií významný, nejedná – li se o nezletilé dívky [4].

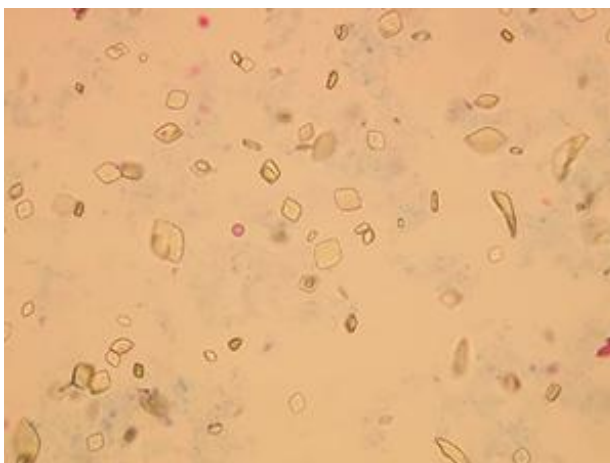
Krystaly

Nález krystalů v močovém sedimentu může být klinicky významný z hlediska možného vzniku konkrementů. Krystaly mohou mít různé struktury a formy. Mezi nejčastěji se vyskytující krystaly patří kyselina močová a oxaláty (kyselá moč) nebo triplfosfáty (alkalická moč). Méně často se vyskytují krystaly bilirubinu, cholesterolu, fosforečnanu a uhličitanu vápenatého, krystaly aminokyselin či lékové krystaly. Uráty a triplfosfáty mohou též tvořit krystalickou drť, která ztěžuje hodnocení sedimentu [34].

- **Kyselina močová**

Nález krystalů kyseliny močové v kyselých močích (pH pod 5,5) je velmi častý. Krystaly mají pestrou škálu tvarů (soudečky, snopce, šestiboké tabulky, ovály, sloupečky apod.) [32].

Masivní výskyt krystalů může být rizikovým faktorem vznikající urolitiázy. Dále může být ve zvýšeném množství vylučována při poruše metabolismu purinů, ale tento nález není pro toto onemocnění signifikantní (je vhodnější stanovit kyselinu močovou v séru, příp. vyšetřit synoviální tekutinu) [4].



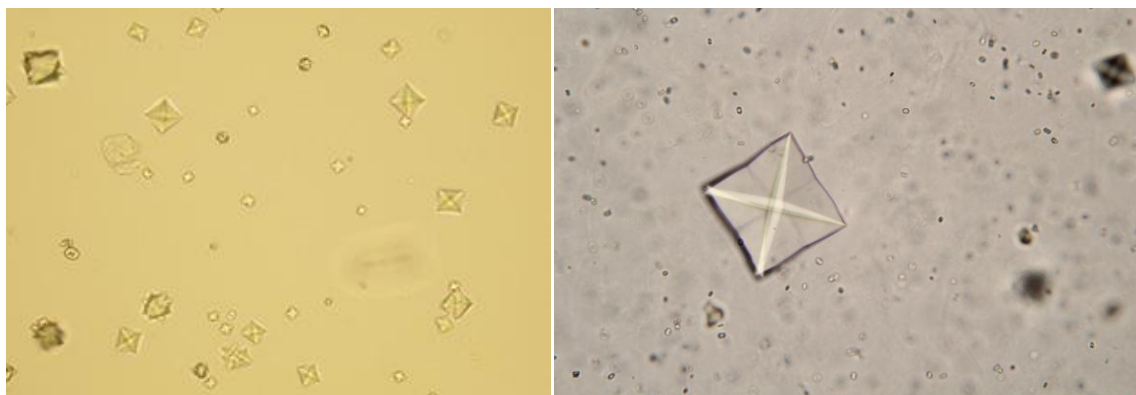
Obrázek 27 Krystaly kyseliny močové [34]

- **Oxaláty**

Oxaláty jsou tvořeny obtížně rozpustným šťavelanem vápenatým. Krystaly oxalátů se vyskytují ve dvou formách: jako dihydrát šťavelanu vápenatého ve formě „obálek“ či jako méně častý monohydrát v ovoidní formě (tuto formu lze snadno v nebarveném preparátu

zaměnit za erythrocyty, v barveném preparátu jsou od sebe jasně rozpoznatelné). Vyskytují se v kyselých, neutrálních i alkalických močích často ve společnosti urátů či triplfosfátů [31].

Výskyt oxalátů v moči je spojen s dietou jedince (konzumace citrusových plodů, listové zeleniny apod.), větší diagnostický význam mají však při otravě ethylenglykolem, při které dochází k toxickému poškození ledvin [4].

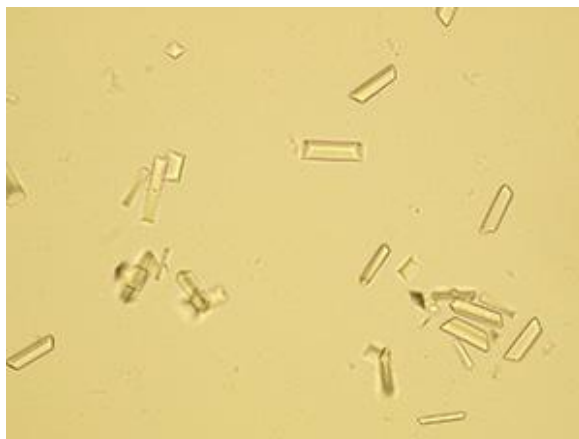


Obrázek 28 Krystaly oxalátu – dihydrát stávanu vápenatého [34]

- **Triplfosfáty (fosforečnan amonnohořečnatý)**

Triplfosfáty patří k největším krystalům, které lze v močovém sedimentu nalézt. Mají svůj typický tvar „víka od rakve“ a vyskytují se hlavně v alkalické moči (pH nad 7) [32]. Mohou se vyskytovat i ve formě fosforečnanu vápenatého, který má tvar tenkých jehliček, někdy uspořádaných do rozet (takovéto formy fosforečnanů se mohou vyskytnout i v neutrální a kyselé moči) [16].

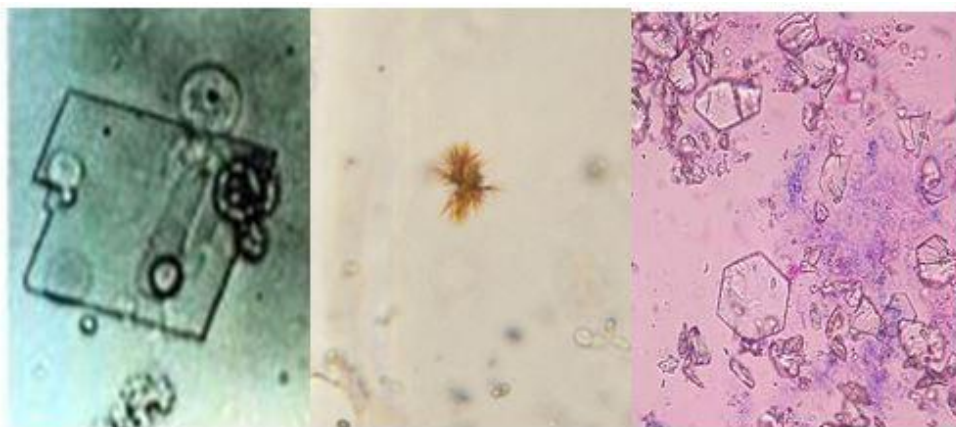
Výskyt triplfosfátů může být rizikovým faktorem vzniku struvitových konkrementů, ale jsou nalézány i u pacientů s chronickou cystitidou a při stavech spojených s retencí moče [16].



Obrázek 29 Krystaly triplfosfátů

- **Ostatní krystaly**

V močovém sedimentu se mohou vyskytovat další typy méně často se vyskytujících krystalů. Klinicky významnější je ovšem cystinurie, což je autozomálně recesivní porucha reabsorbce aminokyselin cystinu, argininu, ornitinu a lysinu. Tyto aminokyseliny jsou za fyziologických podmínek filtrovány glomerulem a reabsorbovány v proximálním tubulu ledvin, v moči jich nalezneme jen stopové množství. Jedná se např. o cholesterol, jehož krystaly ve tvaru tenkých plochých destiček s jedním zlomeným rohem se vyskytují při lipidurii či nefrotickém syndromu. Bilirubin, jehož typicky ježaté žlutě zbarvené krystaly se mohou vyskytnout u pacientů s jaterním onemocněním. Krystaly aminokyselin (cystin, leucin, tyrosin), mohou poukazovat na poruchu metabolismu aminokyselin či lékové krystaly, které mohou vzniknout při užívání vysokých dávek léků (např. antibiotika, antirevmatika) [32].



Obrázek 30 Krystal cholesterolu, krystal bilirubinu a krystaly cystinů [32]

5 VÝSLEDKY

V praktické části bakalářské práce byly hodnoceny jednotlivé analyty stanovované v nativní moči a močovém sedimentu. Vzorky byly měřeny automatickým analyzátozem. Výsledky změřené na automatickém analyzátozu byly porovnávány s výsledky manuálního zhodnocení močového sedimentu u stejných vzorků. Cílem bylo zjistit, zda vyšetření vzorku analyzátozem odpovídá manuálnímu vyšetření močového sedimentu. U manuálního prohlížení preparátu pod mikroskopem je důležité rozpoznání a spočítání všech elementů, které se ve vzorku nachází.

Pro lepší přehled byly vytvořeny následující tabulky.

Tabulka 1 Výsledková tabulka

vzorek analyt	1054		1146/7/3		1161		1172		1177		1186/7/3	
	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ
erythrocyty [počet / μl]	2	-	65	19	9	-	-	-	6	1	1	6
leukocyty [počet / μl]	3	-	3	-	26	4	2	-	110	35	122	81
dlaždicové epitelie [počet / μl]	-	-	-	-	2	-	6	-	3	-	47	37
kulaté epitelie [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	6	4
válce hyalinní [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
válce granulární [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bakterie [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
kvasinky [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
krystaly [arbitrární jednotka] / typ	4/drt'	2/urát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka 2 Výsledková tabulka

vzorek \ analyt	1191		1205		1220		1629		1061		1104	
	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ
erythrocyty [počet / μl]	1	-	812	266	1	4	3	-	407	314	359	27
leukocyty [počet / μl]	5	4	113	67	5	8	178	46	425	63	117	127
dlaždicové epitelie [počet / μl]	31	27	1	4	-	-	73	37	3	-	-	-
kulaté epitelie [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	9	26	1	-	-	-
válce hyalinní [počet / μl]	13	-	-	-	-	-	3	-	1	-	-	-
válce granulární [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bakterie [arbitrární jednotka]	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
kvasinky [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
krystaly [arbitrární jednotka] / typ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka 3 Výsledková tabulka

vzorek \ analyt	1106		1124		1137		1146/8/3		1154		1186/8/3	
	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ
erythrocyty [počet / μl]	6	24	4	17	4	1	45	39	139	130	107	12
leukocyty [počet / μl]	12	5	9	-	234	112	13	19	82	51	31	64
dlaždicové epitelie [počet / μl]	-	-	69	30	22	13	-	-	1	-	-	-
kulaté epitelie [počet / μl]	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-
válce hyalinní [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
válce granulární [počet / μl]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bakterie [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	1	2	-	-	-	1	-	2
kvasinky [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
krystaly [arbitrární jednotka] / typ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka 4 Výsledková tabulka

vzorek \ analyt	1225		1247		1084		1103		1131		1147	
	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ
erythrocyty [počet / μ l]	5	6	68	12	5	-	6	-	43	40	7	6
leukocyty [počet / μ l]	22	16	572	193	229	41	164	124	4	-	29	30
dlaždicové epitelie [počet / μ l]	33	23	2	-	-	-	-	-	-	-	4	-
kulaté epitelie [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
válce hyalinní [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
válce granulární [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bakterie [arbitrární jednotka]	-	-	-	4	2	4	2	3	-	-	-	-
kvasinky [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
krystaly [arbitrární jednotka] / typ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka 5 Výsledková tabulka

vzorek \ analyt	1168		1182		1184		1209		1232		1617	
	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ	AZ	MZ
erythrocyty [počet / μ l]	5	4	610	745	82	16	7	3	5	18	2	1
leukocyty [počet / μ l]	81	177	16	-	496/shluky	303	4	7	4	2	4	2
dlaždicové epitelie [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	32	59	39	29	-	-
kulaté epitelie [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
válce hyalinní [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
válce granulární [počet / μ l]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
bakterie [arbitrární jednotka]	-	2	1	4	-	-	3	4	1	2	-	-
kvasinky [arbitrární jednotka]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
krystaly [arbitrární jednotka] / typ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

6 DISKUZE

S rozvojem diagnostických proužků začaly vznikat i automatické nebo poloautomatické analyzátory odečítající tyto proužky [38]. Mikroskopické vyšetření je také automatizováno a standardizováno, což zvyšuje přesnost a preciznost vyšetření [4].

Od manuálního vyšetření močového sedimentu po centrifugaci pomocí podložního a krycího skla se již upustilo z několika důvodů. Mezi tyto důvody patří nedodržení standardního postupu, možnost poškození elementů při centrifugaci, závislost opakovatelnosti analýzy na ploše a síle krycího skla, nevhodnost vyjadřování počtu elementů na jedno zorné pole. Velikost zorného pole totiž závisí na typu mikroskopu [38].

Pokud laboratoř vyšetřuje močový sediment manuálními metodami, pak k odečtu počtu elementů využívají komůrku o definovaném objemu. Výsledky jsou uváděny ve formě počet/ μl nativní moči. Tímto způsobem je zaručeno optimální hodnocení, které je standardní a srovnatelné mezi ostatními laboratorními pracovišti [38].

Pro objektivní odečet diagnostických proužků i morfologického vyšetření existuje několik systémů. Pro vyhodnocení chemického vyšetření jsou to např. reflexní fotometry s různým stupněm automatizace, včetně dokonalých automatů napojených na LIS [38].

Praktická část bakalářské práce byla zaměřena na principy chemického stanovení analytů v moči pomocí diagnostických proužků a na vyšetření močového sedimentu. Vzorky byly měřeny automatickým analyzátorem a zároveň bylo prováděno manuální vyšetření močového sedimentu. Cílem bylo zjistit, zda vyšetření vzorku analyzátorem odpovídá manuálnímu vyšetření. U manuálního prohlížení preparátu pod mikroskopem je důležité rozpoznání a spočítání všech elementů, které se ve vzorku nachází.

Mezi zajímavé nálezy pozorované při manuálním hodnocení pod mikroskopem patřily nálezy kulatých epitelí a hyalinních válců, nebo: na druhou stranu mezi nejčastěji hodnocené elementy patřily erytrocyty a leukocyty. Při velkém počtu leukocytů dochází k tvorbě útvarů, které nazýváme leukoshluky. Shluky jsou rozeznatelné analyzátorem i manuálně pod mikroskopem, a proto při manuálním hodnocení počtu leukocytů v sedimentu nelze přesně určit počet buněk. V takovém případě je k výsledku připojena doplňující informace o přítomnosti leukoshluků a jejich četnosti.

Při výskytu vyššího počtu bakterií je nutno pohlížet na výsledek chemického vyšetření moče (nitráty, bílkovina, leukocyty) a i na nález leukocytů v sedimentu, neboť nález bakterií bývá často spojen s leukocyturií či proteinurií. Dále je nutno pohlížet na stáří vzorku, neboť při delším stání vzorku moči dochází k exponenciálnímu pomnožení bakterií. Výhodou manuálního zhodnocení sedimentu na rozdíl od automatického zhodnocení analyzátozem je odlišení kokovitých a tyčkovitých bakterií. Při záplavě bakterií je mikroskopický nález obtížně hodnotitelný až nehodnotitelný.

Vzorky byly rozděleny do následujících skupin dle výsledků z automatického analyzátoru Iris a výsledků manuálního vyšetření. Během zpracování výsledků bylo prokázáno, že manuální zhodnocení sedimentu nebylo srovnatelné se zhodnocením na analyzátoru. Pokud by manuální hodnocení bylo prováděno velmi zkušenou laborantkou, výsledky manuálního zhodnocení sedimentu by se zhodnocením na analyzátoru byly srovnatelné.

Negativní vzorky

U negativních vzorků byly ojediněle nalezeny erytrocyty nebo leukocyty. Negativita byla potvrzena manuálním vyšetřením. Mezi negativní vzorky byly zařazeny vzorky 1054, 1172, 1220 a 1617.

Pozitivní vzorky

U pozitivních vzorků byly automatickým i manuálním zhodnocením nalezeny erytrocyty, leukocyty či obojí nebo i bakterie. Pozitivní hematurie mohla být zapříčiněna zánětem glomerulu, poškozením sliznice vývodných cest močových, renálním selháním, úrazem, poruchami krvácení nebo i některými léky. Přechodná hematurie mohla nastat při dlouhodobém působení chladu, zvýšenou fyzickou námahou nebo u ženy při gynekologických potížích. Mezi nejčastější příčiny leukocyturie patří poškození tubulů a vývodných cest močových při zánětu. Zánětem močových cest může být způsobena i bakterurie. U takových vzorků je lepší nález bakterií v sedimentu hodnotit při kultivaci, z důvodu možné infekce močových cest. Mezi pozitivní vzorky byly zařazeny vzorky 1186/7/3, 1106, 1146/8/3, 1154, 1225, 1103, 1131, 1147, 1168, 1182, a 1184.

Sporné výsledky

U sporných výsledků byl rozdíl mezi AZ a MZ. Nedošlo k potvrzení erythrocyturie nebo leukocyturie. Rozdíl výsledků mezi výsledky z analyzátoru a manuálním měřením mohl být způsoben špatnou přípravou sedimentu. Erythrocyty nemusely být rozlišeny, mohly být rozbity při centrifugování nebo vzorek nebyl dostatečně promíchán. Při velkém počtu leukocytů se mohly vytvořit shluky nebo leukocyty mohly být nalepeny na hlenová vlákna, což mohlo způsobit nesprávné spočítání jednotlivých buněk. Mezi sporné vzorky byly zařazeny vzorky 1146/7/3, 1161, 1177, 1205, 1061, 1104, 1137, 1186/8/3 a 1084.

U vzorku 1061 bylo manuálním vyšetřením napočítáno malé množství leukocytů a nebyly prokázány ani chemicky diagnostickým proužkem. Při mikroskopickém hodnocení analyzátozem leukocyty nalezeny byly. Mohlo se jednat o agranulocyty, které nejsou detekovatelné diagnostickými proužky. Mohly být vytvořeny shluky, které nebyly při manuálním vyšetření správně propočítány.

Ve vzorku 1104 byly přítomny kvasinky, které by od erythrocytů lépe rozlišil barvený preparát. Manuálně bylo nalezeno méně erythrocytů a leukocytů.

Špatný odběr

U vzorů nebyla pravděpodobně dodržena preanalytická fáze vyšetření. Byl nalezen zvýšený počet dlaždicových epitelí, namnožené bakterie (např. stáním vzorku, nedodržení doby přepravy do laboratoře) nebo lehká příměs erythrocytů (u žen mohla být způsobena gynekologickými obtížemi). Je nutné vyšetřovat čerstvý a správně odebraný vzorek. Mezi vzorky se špatným odběrem byly zařazeny vzorky 1191, 1629, 1124, 1209 a 1232.

U vzorku 1629 bylo při manuálním zhodnocení napočítáno větší množství kulatých epitelí. Ve skutečnosti se o kulaté epitely jednat nemuselo. Pro lepší rozlišení by byl vhodný barvený preparát. Hyalinní válce nebyly při manuální mikroskopii nalezeny vůbec.

7 ZÁVĚR

Předkládaná práce se zabývala srovnáním automatických a manuálních technik vyšetření močového sedimentu a shrnutím poznatků o základním vyšetření moče.

Vzorky moči byly analyzovány na močové lince IRIS složené ze dvou spojených modulů – modul pro chemické vyšetření moči iChem VELOCITYTM a modul pro zhodnocení močového sedimentu IRIS IQ200[®]. Nálezy močového sedimentu byly porovnány manuálním zhodnocením v mikroskopu. U negativních vzorků byly ojediněle nalezeny erytrocyty nebo leukocyty a u pozitivních vzorků byla prokázána přítomnost erytrocytů, leukocytů a bakterií. Mezi zajímavé nálezy pozorované při manuálním hodnocení pod mikroskopem patřily nálezy kulatých epitelí, hyalinních válců a kvasinek. Během zpracování výsledků bylo prokázáno, že manuální zhodnocení sedimentu nebylo srovnatelné se zhodnocením na analyzátoru.

Pro rutinní praxi je vhodné využití automatických analyzátorů, díky kterým se práce v laboratoři usnadnila a urychlila.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

μl	mikrolitr (jednotka objemu)
ABR	acidobazická rovnováha
ADH	antidiuretický hormon
ATP	adenosintrifosfát
AZ	automatické zhodnocení
Cl^-	chloridový anion
DHEA	dehydroepiandrosteron
ECT	extracelulární tekutina
GFR	glomerulární filtrace
GIT	gastrointestinální trakt
GO	glukózaoxidáza
HCl	kyselina chlorovodíková
HCO_3^-	hydrogenuhličitanový ion
K^+	draselný ion
LIS	laboratorní informační systém
MZ	manuální zhodnocení
Na^+	sodíkový ion
NH_4^+	amonný ion

NIS	nemocniční informační systém
PC	počítač
POCT	point-of care testing
PxD	peroxidáza
rpm	otáčky za minutu

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ŠTERN, Petr. *Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia*. 2. upr. vyd. Praha: Karolinum, 2011. ISBN 978-80-246-1979-8.
2. ŠPIRKOVÁ, Jana. *Výšetření moče*. Ústav klinické biochemie a diagnostiky Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, 14. 3. 2011.
3. SCHNEIDERKA, Petr. *Analýzy moči*. Olomouc.
4. BRUNZEL, Nancy A. *Fundamentals of Urine and Body Fluid Analysis, 3rd Edition*. Elsevier 2013. ISBN 978-1-4377-0989-6.
5. KONRÁDOVÁ, V., UHLÍK, J. a VAJNER, L. *Funkční histologie*. 2. vyd. Jihočany: H&H, 2000. ISBN 978-80-86022-80-3.
6. ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 2*. 2. upr. a dopl. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2002. ISBN 80-247-0143-X.
7. Vrozené vývojové vady. MOLČAN, Jaroslav. *Medicabaze* [online]. [cit. 14. 4. 2017]. Dostupné z: http://www.medicabaze.cz/?sec=term_detail&termId=3134&tname=Vrozen%C3%A9+v.
8. DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-3240-4.
9. PECHOVÁ, Magdaléna. *Atlas anatomie*. Praha: SVOJTKA a VAŠUT, 1996. ISBN 80-7180-092-9.
10. Tvorba moči. DUSÍKOVÁ, K., MAĎA, P., FONTANA, J. *Funkce buněk lidského těla* [online]. [cit. 14. 4. 2017]. Dostupné z: <http://fbt.cz/skripta/vii-vylucovací-soustava-a-acidobazicka-rovnovaha/3-tvorba-moci/>.
11. GANONG, William F. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. vyd. Praha: Galén, 2005. ISBN 80-7262-311-7.
12. Endokrinní funkce ledvin. FONTANA, J., MAĎA, P. *Funkce buněk lidského těla* [online]. [cit. 14. 4. 2017]. Dostupné z: <http://fbt.cz/skripta/vii-vylucovací-soustava-a-acidobazicka-rovnovaha/4-endokrinni-funkce-ledvin/>.
13. KITTNAR, Otomar a kolektiv. *Lékařská fyziologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3068-4.
14. RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie*. 2. přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006. ISBN 80-726-2324-9.

15. MOUREK, Jindřich. *Fyziologie: Učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 2. dopl. vyd. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3918-2.
16. GRAFF, Laurine. *A handbook of routine urinalysis*. Philadelphia: Lippincott, 1983. ISBN 0-397-52111-1.
17. FRIEDECKÝ, Bedřich a kolektiv. *Preanalytická fáze*. Pardubice: SEKK, 1997.
18. BARTOŠ, Vladimír a kolektiv. *Preanalytická fáze 2005*. Praha: ČSKB ČLS JEP a SEKK, 2005. ISBN 80-239-5198-X.
19. Manuál pro odběry primárních vzorků. KOLEKTIV AUTORŮ. *Lavys.uvn* [online]. [cit. 14. 4. 2017]. Dostupné z: <http://lavys.uvn.cz/index.php/laboratorni-prirucka/c-manual-pro-odbery-primarnich-vzorku/c-1-zakladni-informace>.
20. *International standard ISO 15189*. Switzerland, 2012.
21. Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice Praha, Úsek Centrálních laboratoří, Oddělení klinické biochemie. Standardní operační postup. Močová linka – obsluha, SOP/T-Bioch/011/v02.
22. iChem[®] VELOCITY[™]. Návod k obsluze. 300 - 4449. IRIS Diagnostics Division. E10/2008.
23. Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice Praha, Úsek Centrálních laboratoří, Oddělení klinické biochemie. Standardní operační postup. Semikvantitativní analýza moči chemicky na analyzátoru iChem VELOCITY, SOP/A-Bioch/067/v02.
24. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2007. ISBN 978 80-246-1423-6.
25. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2. dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
26. iChem[®] VELOCITY[™]. Příbalový leták. 800 - 7204. IRIS Diagnostics Division. 300 – 1218H.
27. HRUBÝ, Milan. Laboratorní vyšetření moče v dnešní době. *Bulletin Sdružení praktických lékařů ČR*. 2015, **25**(2), 35 - 42. ISSN 1212-6152.
28. MEDISTA. Screening infekcí močových cest na analyzátoru IRIS iQ200. Praha, Brno 2011.
29. Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice Praha, Úsek Centrálních laboratoří, Oddělení klinické biochemie. Standardní operační postup. Semikvantitativní analýza močového sedimentu mikroskopicky na analyzátoru iQ[™] 200, SOP/A-Bioch/068/v02.

30. HORÁČKOVÁ, M. a ŠAFÁŘOVÁ, R. Močový sediment - vyšetřovací technika a interpretace nálezu klinickým nefrologem. *Aktuality v nefrologii*. 2006, **12**(4), s. 118 - 127. ISSN 1210-955X.
31. MICHALEC, Čestmír. *Močový sediment a močové konkrementy*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1988.
32. Atlas močového sedimentu. KUBÁČ, Petr. *Systém externí kontroly kvality* [online]. 12. 3. 2002 [cit. 14. 4. 2017]. Dostupné z: <http://sekk.cz/atlas/>.
33. BIOSIGMA. Fast Read 102. Venezia, 2016.
34. BEŇOVSKÁ, M., WIEWIORKA, O., TŮMOVÁ, J. *Mikroskopické vyšetření moče*. 2. vyd. Masarykova univerzita Brno, Brno, 2015. ISSN 1802-128X.
35. Cyklus EHK MS1/17. In: *Systém externího hodnocení kvality.cz* [online]. [cit. 17. 4. 2017]. Dostupné z: http://sekk.cz/eqa/2017/zadani/MS117_zadani.pdf.
36. Cyklus EHK MS1/16. In: *Systém externího hodnocení kvality.cz* [online]. [cit. 17. 4. 2017]. Dostupné z: http://sekk.cz/eqa/2016/zadani/MS316_zadani.pdf
37. Cyklus EHK MS1/15. In: *Systém externího hodnocení kvality.cz* [online]. [cit. 17. 4. 2017]. Dostupné z: <http://sekk.cz/>.
38. RACEK, J. a ŽENKOVÁ, J. Možnosti automatizace vyšetření močového sedimentu. *Medicina militaris slovacica*. 2000, **2**(2), 26 - 30. ISSN 1335-5139.

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Močový systém	13
Obrázek 2 Řez ledvinou	14
Obrázek 3 Nefron	15
Obrázek 4 Tubulární resorpce a sekrece	21
Obrázek 5 Modul na chemické vyšetření moči IRIS iChem VELOCITY™	29
Obrázek 6 Princip refraktometrie	30
Obrázek 7 Princip enzymového průkazu glukózy	32
Obrázek 8 Přeměna ketolátek	37
Obrázek 9 Modul pro mikroskopické vyšetření moči IRIS IQ200®	40
Obrázek 10 Počítání buněk s destičkou Fastread0102®	42
Obrázek 11 Normální erythrocyty a dysmorfní erythrocyty	43
Obrázek 12 Leukocyty nebarvené a barvené	44
Obrázek 13 Buňky dlaždicového epitelu	45
Obrázek 14 Buňka renálního tubulárního epitelu	45
Obrázek 15 Buňka přechodného epitelu	46
Obrázek 16 Hyalinní válec	47
Obrázek 17 Granulovaný válec	47
Obrázek 18 Voskový válec	48
Obrázek 19 Erythrocytární válec	49
Obrázek 20 Leukocytární válec	49
Obrázek 21 Válec s renálními buňkami	49
Obrázek 22 Bakteriální válec	50
Obrázek 23 Tukový válec	50
Obrázek 24 Bakterie	51
Obrázek 25 Kvasinka s erythrocytem a hyfy kvasinek	52
Obrázek 26 Hlenová vlákna	52
Obrázek 27 Krystaly kyseliny močové	53
Obrázek 28 Krystaly oxalátu – dihydrát s'avelanu vápenatého	54
Obrázek 29 Krystaly triplfosfátů	55
Obrázek 30 Krystal cholesterolu, krystal bilirubinu a krystaly cystinů	55

11 SEZNAMU POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 Výsledková tabulka	56
Tabulka 2 Výsledková tabulka	57
Tabulka 3 Výsledková tabulka	57
Tabulka 4 Výsledková tabulka	58
Tabulka 5 Výsledková tabulka	58

12 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Preanalytická příprava vybraných analytů pro základní chemické vyšetření moče

Analyt	Jednotky	Odběrový systém	Stabilita při +20 až +25°C	Poznámka
Bakterie semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v rámci mofrologického vyšetření v nativní moči
Bilirubin semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Erytrocyty semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v rámci mofrologického vyšetření v nativní moči
Glukosa semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Hemoglobin semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Ketony	Látková koncentrace [mmol/l]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Leukocyty semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v rámci mofrologického vyšetření nativní moči
Nitrity semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení za účelem posouzení bakterurie
pH semikvantitativně	pH [-]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Protein semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Urobilinogen	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v nativní moči
Válce semikvantitativně	Arbitrální koncentrace [arb.j.]	Plastová zkumavka	2 hodiny	Stanovení v rámci mofrologického vyšetření v nativní moči

Zpráva o vyšetření moči

UVN Praha



Identifikace vzorku:	E0162973HC	Obsluha:	moc
Označení času analýzy:	2017-03-07 09:11:16	Ředění:	1:1
Číslo stojánku:	6	Pozice stojánku:	6

Chemické vyšetření: (V04035)

Kód šarže testovacího proužku: 7204142A

Test	Výsledek	Reference	
Glukóza:	0	< 1	
Proteiny:	0	< 1	
Bilirubin:	0	< 1	
Urobilinogen:	0	< 1	
pH:	5.0		
KREV:	0	< 0	H
Ketony:	0	< 1	
Nitrity:	0	< 1	
Leukocyty:	3	< 1	H
Čírost:	Cloudy		
Hustota:	1.010		
Barva:	Light-Yellow		
Kyselina askorbová:	0	< 1	

Mikroskopické vyšetření: (9040)

Test	Výsledek	Reference	
Erytrocyty:	3 /uL	< 10 /uL	
Leukocyty:	178 /uL	< 15 /uL	H
Bakterie:	0	< 1	
Kvasinky:	0	< 1	
Ploché epitelie:	73 /uL	< 15 /uL	H
Hlenové vlákno:	1	< 1	H
Spermie:	0	< 1	
Kulaté epitelie:	9 /uL	< 4 /uL	H
Jiné válce:	0	< 2 /uL	
Hyalinní válce:	3 /LPF	< 0 /LPF	H
Granulované válce:	0	< 1 /LPF	
Krystaly:	0	< 1	

Revizní záznam:

moc @ 2017-03-07 09:38:37 –Změněny následující výsledky:

- Upraveno Artefakty od **ZÁDNÍ** do **12 /uL**.
- Upraveno Ery od **17 /uL** do **3 /uL**.
- Upraveno Shluky leu od **5 /uL** do **ZÁDNÍ**.
- Upraveno Bakterie od **1** do **0**.
- Upraveno Krystaly od **1** do **0**.

moc @ 2017-03-07 09:13:39

C – 8.1 Odběr vzorku ranní moče

Nejčastěji slouží k chemickému a morfologickému vyšetření moče. K vyšetření se obvykle používá vzorek první ranní moče, pacient musí být o správném odběru poučen.

Příprava pacienta

Příjem tekutin nemá být během noci nadměrný. K vyšetření se použije první ranní vzorek moči. Pacient má být poučen o nutnosti **omytí genitálií před vlastním odběrem** (zejména pro možnou falešnou pozitivitu bakteriurie). U žen je nutné vyšetření provést mimo období menstruace. Použije se **vzorek ze středního proudu moče**, minimálně 10 ml moče odebrané do plastové zkumavky na moč se žlutým uzávěrem. Jako náhrada může sloužit čistá a suchá nádobka, ve které nebudou zbytky původního obsahu (léky, chemikálie). K bakteriologickému vyšetření moče je potřeba použít sterilní zkumavku, resp. speciální odběrovou nádobku, vyšetření z náhradních nádobek nelze provést. Na zkumavku nebo náhradní nádobku je potřeba nalepit štítek se jménem, příjmením a rodným číslem pacienta. Moč je třeba co nejrychleji doručit ke zpracování do laboratoře, maximálně do 1-2 hodin od odběru. Není vhodné vyšetřovat vzorek ranní moče dodaný do laboratoře později, může dojít ke zkreslení výsledků chemického i morfologického vyšetření.

C – 8.2 Sběr moče za 24 hodin

Nejčastěji slouží k vyšetření kreatininové clearance a odpadu iontů moči. Moč se uchovává v čistě vymytých plastových lahvích.

Příprava pacienta

Sběr moče probíhá 24 hodin od 6.00 hodin rána. Tehdy se pacient naposledy vymočí do záchodu (nikoliv do lahve!) a teprve od této doby bude veškerou moč sbírat do první lahve. Po naplnění této lahve pokračuje ve sběru moče do další lahve. Po 24 hodinách, tj. další den ráno opět v 6.00 hodin, se do lahve vymočí naposledy.

Během vyšetření je doporučeno jíst stejnou stravu jako obvykle a vypít za 24 hodin asi 2 litry tekutin. Užívání léků po dobu sběru moče se řídí pokyny lékaře.

Lahve s močí je nutno uchovávat během sběru **na chladném a tmavém místě**.

Po ukončení sběru je nejpozději do 2 hodin do laboratoře doručen spolu se žádankou vzorek 10 ml moče, odebraný ze sběrných lahví po **důkladném promíchání a změření celého objemu s přesností na desítky mililitrů**. Na žádance musí být uvedeno přesně celé množství moče a doba sběru.