

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biochemických věd

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2015

Petra Hliněná

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biochemických věd

Vyšetření moče chemicky a močový sediment
Bakalářská práce

Vedoucí práce: Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

Hradec Králové 2015

Petra Hliněná

Prohlášení autora

Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, řádně cituji. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Karlova v Praze má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Farmaceutická fakulta v Hradci Králové oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

V Hradci Králové dne 12. 5. 2015

Petra Hliněná

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu práce panu Prof. MUDr. Jaroslavu Dršatovi, CSc. za odborné vedení a pomoc při vypracování této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat paní Mgr. Haně Mašátové za konzultaci bakalářské práce a dále mému manželovi Josefu Hliněnému, mé mamince a dalším členům rodiny za významnou podporu a trpělivost, kterou se mnou v letech studia měli.

SOUHRN

Tato bakalářská práce je zaměřena na chemické stanovení moče indikátorovými papírky a vyšetření močového sedimentu mikroskopicky. Na začátku práce popisují tvorbu moče, reabsorpci a sekreci metabolitů a iontů v ledvině. V další části práce se zabývám detekcí pH, bílkoviny, glukózy, bilirubinu, ketolátek a erytrocytů pomocí indikátorových papírků. Dále navazuje stanovení močového sedimentu mikroskopicky a metodou průtokové cytometrie. Pomocí dostupné literatury a vlastní praxe v laboratoři jsem chtěla nastínit důležitost tohoto vyšetření.

Klíčová slova: moč, diagnostické proužky, pH moči, močový sediment, ledviny

SUMMARY

This bachelor thesis is aimed at chemical determination of urine using indicator strips and urinary sediment microscopically. In the first part, there is a urine production, reabsorption and secretion of ions and metabolites in the kidney. The next section deals with detection of pH, glucose, bilirubin, ketones and erythrocytes using indicators pers. Then follows the determination of urinary sediment microscopically and by flow cytometry. I wanted to outline the importance of this examination using the available literature and my own experience in the lab.

Keywords: urine test strips, pH urine, urinary sediment, kidneys

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Tvorba moči.....	10
2.1.1	Funkce ledvin a tvorba moči.....	10
2.1.2	Složení moče.....	14
2.1.3	Historie.....	14
2.1.4	Odběr moči	15
2.1.5	Moč a její vlastnosti.....	16
2.1.6	Onemocnění ledvin a močových cest	16
2.1.7	Infekce močových cest.....	17
3	CÍL PRÁCE	19
4	CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI DIAGNOSTICKÝMI PROUŽKY	20
4.1.1	Stanovení pH moči.....	21
4.1.2	Bílkovina v moči.....	23
4.1.3	Glukóza v moči.....	25
4.1.4	Ketolátky.....	28
4.1.5	Bilirubin.....	29
4.1.6	Urobilinogen a urobilin.....	30
4.1.7	Hematurie, hemoglobinurie	31
4.2	Močový sediment.....	32
4.2.1	Močové konkrementy	33
4.2.2	Vyšetření močového sedimentu průtokovými cytometry	36
5	ZÁVĚR	40
6	PŘÍLOHY	41
7	SEZNAM OBRÁZKŮ	42
8	POUŽITÁ LITERATURA	44

1 ÚVOD

Tématem mojí bakalářské práce je vyšetření moče chemicky a vyšetření močového sedimentu. V současné medicíně je nedílnou součástí léčebného procesu laboratorní diagnostika, která plní důležitou úlohu především v rámci mezioborové lékařské péče o pacienta. Rozbor moče je jednou z pomocných vyšetřovacích metod pro určení diagnózy a sledování stavu především urologických onemocnění, ale také metabolických poruch jakou je diabetes mellitus.

V teoretické části se zabývám fyziologickými ději probíhajícími v ledvinách, tvorbou a složením moče. Objasňuji principy jednotlivých metod a věnuji se problematice onemocnění, která mohou s jednotlivými parametry souviset.

Dnes mohu porovnat, po letech odpracovaných v laboratoři, jak technický pokrok přinesl do laboratoří velké usnadnění laborantské práce. Díky lepšímu přístrojovému vybavení se v laboratořích lidská moč zpracovává na analyzátořech metodou průtokové cytometrie. Není ovšem výjimkou, že i v dnešní době existují laboratoře, kde se močový sediment odečítá stále mikroskopicky. Výsledný odečet může být ovlivněn zkušenostmi každé laborantky.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Tvorba moči

2.1.1 Funkce ledvin a tvorba moči

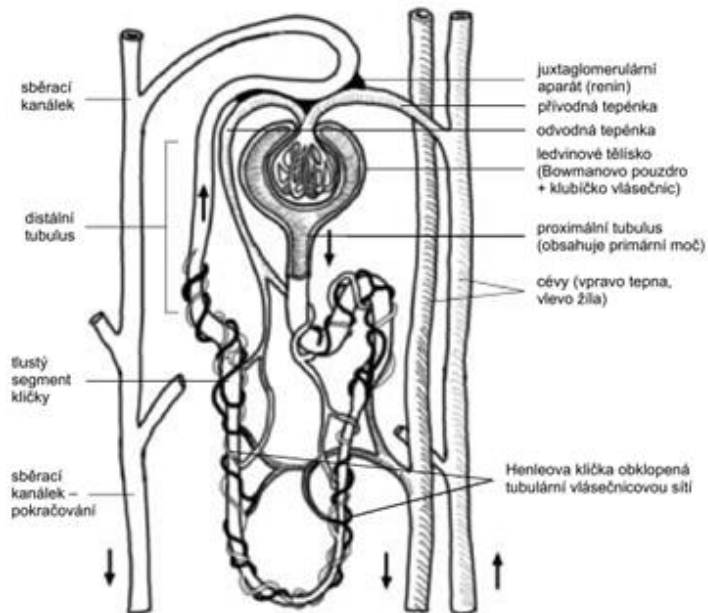
Moč se tvoří v ledvinách. Ledviny jsou párovým orgánem, který udržuje homeostázu organismu, dále zabezpečují a regulují složení a objem krve. Fyzická zátěž vede ke zvýšené produkci odpadních látek. Do vylučování nevyužitelných metabolitů se zapojují i jiné orgánové systémy, ale ledviny zde mají největší roli (Dylevský 2009).

K funkcím ledvin patří:

- 1) Regulace vodní, elektrolytové a acidobazické rovnováhy, také dlouhodobá regulace krevního tlaku.
- 2) Odstraňování metabolických produktů, toxinů a tělu cizích látek z cirkulace do moči.
- 3) Produkce hormonů spojených s erytropoézou a kalciovým metabolismem.

Ledviny mají také významné postavení v glukoneogenezi (Tesař, Schüick 2006). Tvorba moči, její množství a složení je výsledkem všech tří funkcí ledvin.

Základní funkční jednotkou ledvin je nefron, viz Obrázek 1. V každé ledvině jich nalzáme více jak milión. Jejich počet je definitivní již při narození. Nefron se skládá z glomerulu, proximálního tubulu, Henleho kličky, distálního tubulu a ze sběrného kanálku, do kterého ústí několik nefronů (Homolka 1984).



Obrázek 1: Stavba nefronu. Převzato z (Merkunová, 2008, str. 167).

Glomerulus je tvořen klubičkem krevních kapilár s přívodní (aferentní) a menší odvodní (eferentní) arterioulou. Je obklopen Bowmanovým pouzdem, tvořeným rozšířeným zakončením proximálního tubulu. Uvnitř Bowmanova pouzdra je prostor, kde vzniká ultrafiltrát krevní plazmy (primární moč) mechanismem označovaným jako glomerulární filtrace.

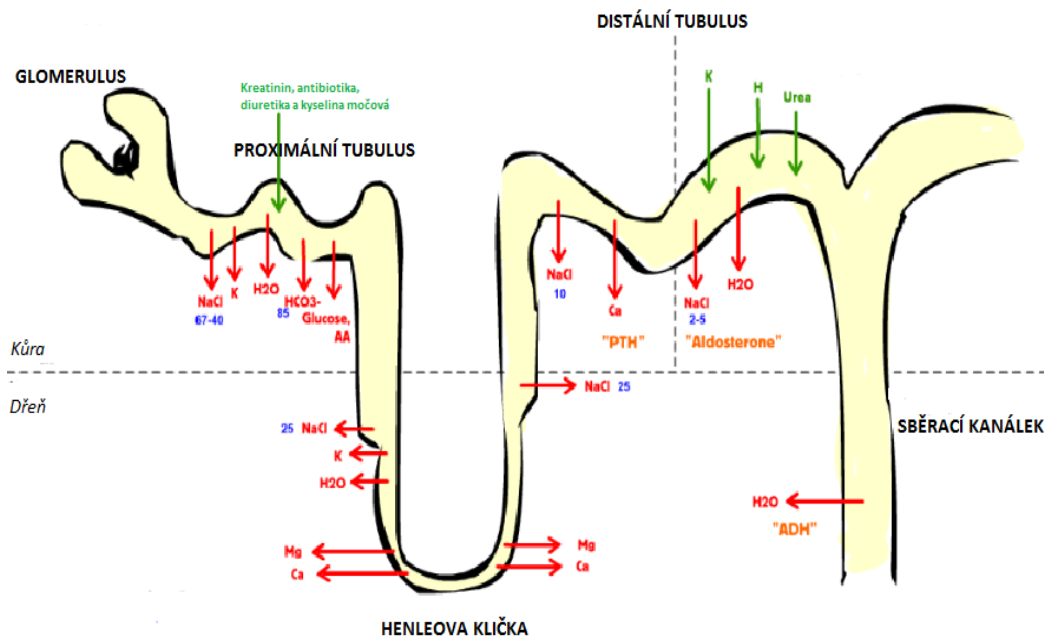
Proximální tubulus navazuje na glomerulus a přechází do Henleho kličky. Je vystlán buňkami s řadou specializovaných funkcí. V proximálním tubulu probíhá zpětná resorpce vody a NaCl, téměř úplně zpětná resorpce glukózy, většinová zpětná resorpce aminokyselin, draslíku, močoviny, urátu, fosfátu a magnesia, hydrogenuhličitanu, kalcia.

Henleho klička jako součást nefronu navazuje na proximální tubulus. Má sestupné a vzestupné raménko. Sestupné raménko je vysoce propustné pro vodu, vzestupné raménko je naopak pro vodu málo propustné, ale aktivně se zde reabsorbují ionty sodíku, chloru a vápníku.

Distální tubulus navazuje na Henleho kličku. Probíhá zde reabsorpce malého množství iontů sodíku, chloru, vody a hydrogenuhličitanu. Dochází zde k reabsorpci vápníku. V distálním tubulu se může reabsorbovat i secernovat draslík. Reaguje také na antidiuretický hormon (ADH).

Sběrací kanálek navazuje na spojovací segment, který s kortikálním sběrným kanálkem tvoří funkční jednotku, ve které probíhá reabsorpce vody pod vlivem ADH (Jabor 2008).

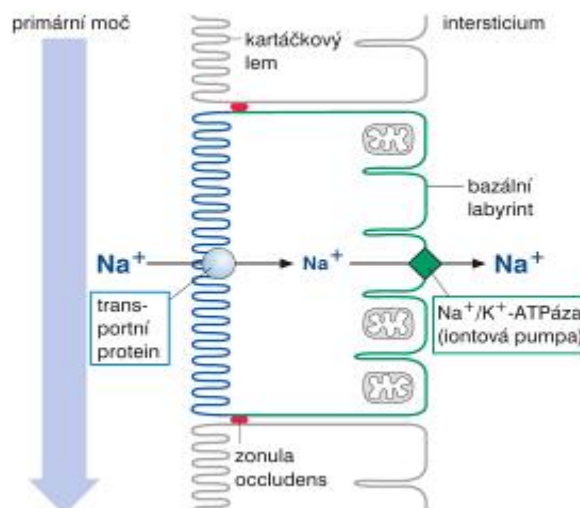
ADH je peptidový hormon, který se tvoří v hypotalamu, ale do krve se vylučuje v zadním laloku hypofýzy (neurohypofýza). Řídí hospodaření s vodou, zvyšuje její zpětné vstřebávání v ledvině. Při jeho nedostatku nebo nedostatečném působení vzniká onemocnění diabetes insipidus.



Obrázek 2: Fyziologické děje v nefronu, oranžově: hormony, modře: procenta, zeleně: sekreční pochody, červeně: resorpční pochody. Převzato a upraveno dle (www.wikiskripta.eu/index.php/Diuretika).

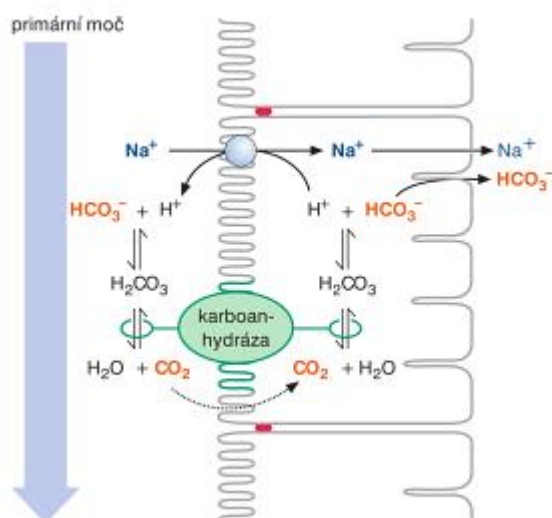
Epitel proximálního tubulu má dvě funkce: resorpční a sekreční. Díky transportním proteinům sodíkové ionty primární moči snadno pronikají do buněk, kde se jejich koncentrace udržuje nízká. Se sodnými ionty je spojen i pohyb vody a chloridů. Zde se vstřebává asi 60 % vody. Resorpce sodných iontů je zobrazena na Obrázku 3.

I ostatní fyziologicky důležité kationty – draslík, vápník a hořčík - se zde z největší části zpětně resorbují. Glukóza, aminokyseliny a nízkomolekulární látky, které jsou pro organismus velmi důležité, se zpětně resorbují specifickými transportními mechanismy. Peptidy a proteiny se v sinech mezi mikroklky koncentrují při transmembránovém přestupu tekutiny. Do buněk vstupují endocytózou. V buňkách se pomocí lysozomů enzymaticky rozkládají na základní stavební kameny – aminokyseliny (Lüllmann a kol. 2004).



Obrázek 3 : Zpětná resorpce Na^+ v proximálním tubulu. Na^+ se do epiteliální buňky i z ní ven transportuje aktivně, chloridy a voda je pasivně sledují. Převzato z (Lüllmann 2004, str. 247).

Na Obrázku 4 je dobře viditelný karboanhydrázový mechanismus, kde se zpětně resorbují hydrogenuhličitanové ionty (HCO_3^-). Tento mechanismus je velmi důležitý pro vznik a disociaci kyseliny uhličitě.



Obrázek 4 : Zpětná resorpce HCO_3^- v proximálním tubulu (karboanhydrázový mechanismus). CO_2 vznikající karboanhydrázovou reakcí snadno difunduje do buňky, a tam se zase může přeměnit na H_2CO_3 a potom na HCO_3^- a H^+ . Proton H^+ , který se při intracelulární reakci uvolňuje, se využije ke zpětné resorpci Na^+ . Převzato z (Lüllmann 2004, str. 247).

Exkrece funkce se především týká organických kyselin, např. kyseliny močové, která se v distálním úseku proximálního tubulu aktivně secernuje. Takto se mohou aktivně secernovat i kyseliny tělu cizí např. peniciliny, acidická nesteroidní antiflogistika charakteru kyselin (Lüllmann a kol. 2004).

2.1.2 Složení moče

Moč je nejdostupnější biologickou tekutinou. Vytváří se v ledvinách glomerulární filtrací, tubulární resorpcí a tubulární sekrecí. Množství látek, které se do moči vylučují, je různý podle toho, jaké jsou potřeby organismu. Při onemocnění vývodných cest močových se v moči můžou objevit i látky, které za normálních okolností v moči nenajdeme (Homolka 1984).

Stěny glomerulárních kapilár jsou v podstatě válcovitým filtrem s velmi malými póry. Těmi neprojdou krvinky, ani běžné plazmatické bílkoviny. Procházejí pouze bílkoviny s malou molekulovou hmotností, jako jsou např. myoglobin, amyláza nebo hemoglobin. Primární moč je ultrafiltrát, který obsahuje všechny filtrované složky v poměru, v jakém se nacházejí v plazmě. Teprve v tubulech se upravuje množství moče a také zde dochází k úpravě jejího látkového složení. Za sekundu se přefiltruje okolo 2 ml ultrafiltrátu, což je za den 180 litrů. Definitivní moč obsahuje konečné produkty látkové přeměny, které organismus již dále nevyužije (močovina, kreatinin), látky, které organismus přijal v nadbytku (např. vodu, ionty sodíku, draslíku, chloridů), látky, které pronikly tubulární resorpcí (amyláza, aminokyseliny) a látky, které ledviny vytvoří v rámci své regulační činnosti (např. dihydrogenfosforečnany, amonné ionty) (Homolka 1984).

2.1.3 Historie

Nejstarší zachovalý soubor názorů na původ různých nemocí nalezneme u Albíka na přelomu 14. a 15. století.

Z diagnostických metod typických pro sledované období je třeba jmenovat především uroskopii, tj. zkoumání projevů nemoci podle moči. I v domácích ikonografických pramenech je baňka s různě zbarvenou močí jedním z atributů doktora medicíny. Odborně o uroskopii pojednal již jeden z prvních pražských profesorů medicíny, M. Havel ze Strahova ve spisu *Tractatus urinarum*.

Jinou diagnostickou metodou byla hematoskopie, zkoumání krve. Na různé nemoci se usuzovalo z její barvy, konzistence, chuti (to platí i pro zkoumání moči), pachu, teploty, zpěněnosti, srážlivosti, přítomnosti žlutého barviva nebo pevných tělísek. Některé vlastnosti se zkoumaly ihned po zachycení v tekutém stavu, jiné po jejím vysrážení. V českých zemích byla známa již pojednání salernské školy, vrcholným dílem jsou v tomto ohledu pasáže ve spisu Krét'ana z Prachatic (1366? - 1439) *De sanguinis minucione* (O pouštění krve) zachovalém v osmi opisech z 15. století (Svobodný 2004).

Je možno konstatovat, že již od dob *Hippokratových* až prakticky do konce 18. století je známo asi 200 speciálních spisů o analýze moči. Je pochopitelné, že se tyto práce zabývaly především popisem množství, barvou a dalšími vlastnostmi moči. Na druhé straně však značná část těchto knih byla věnována i močovému konkrementu, kterému se připisoval velký prognostický význam (Michalec 1988).

Základy moderních chemických analýz moči se kladou do 17. až 19. století, kdy došlo k rozvoji chemie a ostatních přírodních věd. Prohloubili se znalosti o funkci ledvin a došlo k rozvoji vyšetřování moče diagnostickými proužky, které dodnes umožňují vykonávat vyšetření u lůžka nemocného (Homolka 1984).

2.1.4 Odběr moči

Odběr moči je velmi důležitý. Při odběru velmi záleží na čistotě zevního ústí močové trubice, mělo by být pečlivě omyté mýdlem a vodou. Způsob odběru moče také závisí na zdravotním stavu pacienta, u dětí a starých lidí je vhodná spolupráce druhé osoby. Nejlepší je zpracovávat střední proud moči, tím se zabrání vydání patologického výsledku u zdravých jedinců. Pokud není možné spontánní moč odebrat nebo vycházejí sporné výsledky, je vhodné moč odebrat cévkováním nebo punkcí močového měchýře.

Moč se získává:

- 1) Spontánním močením (např. ranní moč, k analýze se použije vzorek z celého množství)
- 2) Spontánním močením (k vyšetření se použije pouze vzorek střední porce)
- 3) Sterilním cévkováním močového měchýře
- 4) Perkutánní, suprapubickou punkcí močového měchýře

Je velmi důležité, aby odběrové nádoby byly naprosto čisté, nejlépe sterilní. Sterilní nádobu si pacient může vyzvednout u lékaře nebo přímo v laboratoři. Vymytí nádoby teplou vodou většinou není dostačující. Moč je důležité zpracovat co nejdříve, nejlépe do dvou hodin od odebrání. Jestliže se moč nechá stát delší dobu při laboratorní teplotě na přímém světle, dochází k rychlému rozpadu organických součástí. Jestliže není možné okamžitě zpracování vzorku, je nejlepší moč uchovávat v chladničce při 4°C (tak je možné moč uchovat nejdéle 24 hodin bez podstatných změn) (Michalec 1988).

U žen by se neměl odběr provádět v období menstruace z důvodu kontaminace menstruační krví. Nedodržením preanalytické fáze a transport vzorku za nevhodných podmínek může zhoršit výpovědní hodnotu vyšetření moče (rozpadlé elementy, pomnožení bakterií, kvasinek atd.). Může tak dojít nevědomky k poškození pacienta.

2.1.5 Moč a její vlastnosti

Dospělý zdravý člověk produkuje denně 500-2000 ml moče tvořené z 95 % vodou (Koolman, Röhm 2009). Množství moče přirozeně kolísá podle toho, kolik vypijeme tekutiny a kolik jí ztratíme extrarenálně - to znamená potem, stolicí, dýcháním, slinami nebo zvracením. Charakteristickou barvou moče je zlatožlutá a odstín kolísá podle toho, jakou má moč hustotu. Přes den je moč světlejší než moč ranní, která je koncentrovanější. Jestliže stojí moč delší dobu na vzduchu a světle, většinou ztmavne. Čerstvě vyloučená moč je čirá, po chvíli se v ní tvoří obláčkované zkalení, které vzniká z malé příměsí hlenu z vývodných cest, z odloupaných epitelů a leukocytů. Po vychladnutí vypadávají často z moči rozpuštěné soli, které tvoří bělavý až načervenalý sediment. Čerstvě vyloučená moč má specifický, lehce aromatický zápach, který se po delším stání na vzduchu mění v čpavkový, to má na svědomí amoniak vytvořený při amoniakálním kvašení moči z močoviny (Hořejší a spol. 1957).

V moči je rozpuštěný velký počet látek, a proto je hustota moči větší než hustota vody. Hustota moči kolísá podle toho, jak velké množství pevných látek se močí vylučuje a kolik tekutiny je v organismu pro tvorbu moči k dispozici (Hořejší a spol. 1957).

2.1.6 Onemocnění ledvin a močových cest

Nemoci ledvin jsou často klinicky bez příznaků a diagnóza často závisí na pomocných vyšetřovacích metodách. Podle profesora Zimy se onemocnění ledvin dá rozdělit do několika základních skupin:

- Cévní onemocnění ledvin – zde je močový nález malý, obvykle je jen mírná proteinurie, k vyšetření se používají zobrazovací metody
- Nemoci glomerulů – hlavním projevem je patologický nález v moči – proteinurie nebo hematurie, vyšetřuje se močový sediment, proteinurie, clearance kreatininu, aj.

- Nemoci tubulů – projevují se specifickou poruchou složení vnitřního prostředí (např. metabolická acidóza s vysokým pH moči), nebo nález některých analytů, které se v moči nevyskytují (např. glykosurií nebo aminoacidurií), vyšetřují se odpady iontů, fosfátů, urátů, glukózy, aminokyselin, aj.
- Nemoci renálního intersticia – projevují se obvykle pomalým a relativně asymptomatickým vývojem renální insuficience, v moči je minimální močový nález, může převažovat leukocyturie, vyšetřuje se močový sediment, kultivace moči, aj.
- Obstrukční nefropatie – může dojít k oboustranné obstrukci, která se projeví akutním selháním ledvin. Urolitiáza může mít metabolickou příčinu, může souviset např. s chronickou dehydratací, nízkým pH moči, hyperkalciurií, hyperoxalurií aj., vyšetření ultrasonografií, CT, vyšetření moči a sérového kreatininu.
- Akutní selhání ledvin – může být způsobeno onemocněním ledvin nebo obstrukcí močových cest, poruchou perfúze ledvin při dehydrataci, snížením srdečního výdeje nebo při podávání nesteroidních antirevmatik, vyšetření moči, vyšetření sérového kreatininu a biochemie, ultrasonografie ledvin aj.
- Chronické selhání ledvin – vyvíjí se během několika let, laboratorní změny jsou podobné jako u akutního selhání ledvin, vyšetření ledvin, sérového kreatininu a glomerulární filtrace, ultrasonografie ledvin aj (Zima T. 2007).

2.1.7 Infekce močových cest

Močové cesty jsou z fyziologického hlediska zcela sterilní, počínaje ledvinami až po distální úsek močové trubice. Zde se objevuje mikroflóra pohlavních cest, mikroflóra kožní a při nedostatečné hygieně i mikroflóra rektální. Bakteriální flóra močové trubice se za normálních podmínek neustále s močí vyplavuje. Bakterie nejčastěji pronikají do močového ústrojí vzestupnou cestou z konečné části tlustého střeva. Infekce začíná kolonizací poševního vchodu, dále bakterie pronikají přes močovou trubici do močového měchýře, kde dochází k jejich usídlení (Maďar a kol. 2006).

Infekce dolních močových cest rozdělujeme na zánět močové trubice, močového měchýře a prostaty. Infekce horních močových cest rozlišujeme na bakteriální zánět

ledvinné tkáně – pyelonefritidu, intrarenální a perirenální absces. Dále ještě infekce rozlišujeme z hlediska dynamiky na akutní a chronické. Bakteriurie je nejtypičtější projev infekce močových cest. Je to stav, kdy jsou bakterie usídleny a rozmnožují se v močovém traktu. Je velice důležité rozeznat kontaminaci od skutečné infekce. Proto se za bakteriurii považuje přítomnost více než 10^5 bakterií/ml ve dvou po sobě následujících vzorcích středního proudu moči (Tesař, Schück a kol. 2006).

Původcem močové infekce může být endogenní mikroflóra neboli vlastní mikroflóra. Ta je většinou původem z gastrointestinálního traktu. Nebo to může být exogenní mikroflóra, tzn. od jiného pacienta nebo zdravotnického personálu. Významným zdrojem infekce jsou pacienti bez příznaků (Maďar a kol. 2006).

3 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem mé práce je seznámení se základními principy metod chemického vyšetření moči. Zaměřuji se zejména na chemický rozbor lidské moči pomocí diagnostických proužků a dále se věnuji močovému sedimentu.

4 CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI DIAGNOSTICKÝMI PROUŽKY

Než byly do praxe zavedeny diagnostické proužky, moče se chemicky stanovovaly ve zkumavkách. Denaturace bílkovin se prováděla kyselinou sulfosalicylovou, u glukózy se využívaly její redukční vlastnosti (Fehlingova zkouška-redukce Cu^{2+}), ketolátky se prokazovaly reakcí s nitroprusidem sodným v alkalickém prostředí za vzniku fialového komplexu (Legalova zkouška). Hemoglobin se prokazoval Heitz-Boyerovou zkouškou využívající pseudoperoxidázovou aktivitu hemového železa, které katalyzovalo oxidaci vhodných chromogenů na barevné produkty H_2O_2 . Bilirubin oxidoval na zelený biliverdin při Rosinově zkoušce s jódem nebo Ehrlichova zkouška, kde reagoval urobilinogen s 4-dimethylaminobenzaldehydem v kyselém prostředí za vzniku barevného kondenzačního produktu. Tyto metody byly určitě cenově nenáročné, ale uvážíme-li, že každá moč potřebovala k chemickému stanovení 6 dalších zkumavek, tak zde byla spíš náročnost na zpracování.

Před rokem jsem pracovala v menší biochemické laboratoři, kde se ještě při sporném zbarvení diagnostického proužku ke stanovení bílkoviny používala kyselina sulfosalicylová, k průkazu bilirubinu jód a na urobilinogen Ehrlichovo činidlo. U těchto zkumavkových metod byla reakce opravdu nepřehlédnutelná.

Dnes pracuji ve velké laboratoři, kde denně přichází víc jak stovka močí a tak vyšetření diagnostickými papírky je zde neocenitelná pomoc. V laboratoři je přístroj Sysmex UX 2000, který vyhodnocuje jak chemické tak mikroskopické stanovení moče a je popsán na konci mé práce.



Obrázek 5: Diagnostické proužky Hexaphan firmy Lachema Brno používané v naší laboratoři.

Důležitým předpokladem ke správnému vyšetření moče je také její správný odběr. Pro vyšetření je nejvhodnější ranní moč, která je koncentrovanější a kyselější. Moč, která je odebrána později je ovlivněna již příjmem tekutin (snížení osmolarity, která vede k poškození formovaných elementů). Někdy dochází i k ovlivnění léky nebo stravou. Moč má být co nejdříve po odběru transportována ve sterilních zkumavkách při zachování preanalytické fáze do laboratoře a pokud je to možné, má být ihned zpracována (Dvořáček a kol. 1998).

4.1.1 Stanovení pH moči

Bez ohledu na věk je u zdravého člověka pH moči nižší než 6. Předpokladem správného vyhodnocení pH moči je to, že pacient netrpí infekcí močových cest (Jabor 2008).

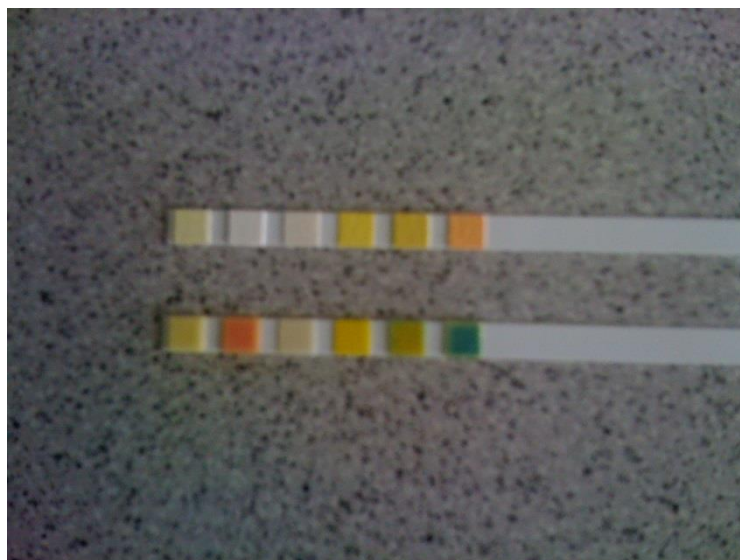
Koncentrace vodíkových iontů v moči (vyjádřená jako pH) závisí nejen na charakteru přijímané potravy, ale též na individuální metabolické situaci. Jestliže v potravě převažují živočišné proteiny, které vážou organicky síru a fosfor, vylučuje se kyselá moč (pH pod 5). Opakem je vylučování alkalické moči (pH nad 7), kterou způsobuje laktovegetabilní dieta. Ledvinové tubuly se významnou měrou podílejí na udržování acidobazické rovnováhy tím, že reabsorbují z primární moče hydrogenuhličitan, vylučují vodíkové ionty přeměnou dihydrogenfosfátů na monohydrogenfosfáty nebo tvorbou amonných iontů. Vylučování vodíkových iontů představuje pro ledvinu značnou „che-

mickou práci“ uvážíme-li, že ledvina je v tomto případě nucena pracovat proti tisícinásobnému koncentračnímu gradientu (pH plazmy filtrované v glomerulech je 7,4, kdežto pH konečné moči může být až 4,5) (Masopust 1982).

Jestliže pH moče zůstává trvale pod 5,5, mluvíme o acidurii. Tu může zapříčinit masitá strava (v moči je více sulfátů a fosfátů), současně může stoupat kyselina močová, která způsobuje onemocnění kloubů - dnu. K vylučování kyselé moči může vést metabolická nebo respirační acidóza, jako renální kompenzace těchto poruch acidobazické rovnováhy. Jestliže dojde ke stanovení současně acidurie a ketonurie, výsledky většinou svědčí o hladovění nebo jde o nedostatečný příjem sacharidů.

Alkaliurie znamená trvale vyšší pH než 6,5. Jestliže se vyloučí laktovegabilní dieta nebo podávání alkalizujících látek, výsledek se může spojit s močovou infekcí bakteriemi, které hydrolyzují močovinu. Odštěpený amoniak alkalizuje moč. Při dlouhém stání kontaminované moče dochází k „amoniakálnímu kvašení“ a pH moči může být vyšší i nad 8,5. Respirační i metabolická alkalóza vedou z počátku k alkaliurii. Když se však vyvine deplece draslíku nebo vznikne hyperaldosteronismus, je moč kyselá.

Stanovení pH moči je důležité pro vyšetření močového sedimentu. Má největší klinický význam ve spojitosti s dalšími informacemi o zdravotním stavu pacienta. Ve spojení s dalšími symptomy a laboratorními nálezy se stává důležitým ukazatelem při stanovení diagnózy (Masopust 1982).



Obrázek 6: Diagnostický proužek nahoře, hodnocení zprava: pH 5, bílkovina negativní, cukr negativní, ketolátky negativní, urobilinogen negativní, krev negativní. Diagnostický proužek dole, hodnocení zprava: pH 8,5, bílkovina pozitivní, cukr negativní, ketolátky negativní, urobilinogen pozitivní, krev negativní.

Princip metody

Indikační zóna obsahuje směsný acidobazický indikátor (většinou se využívá metylová červeň a bromthymolová modř) s barevným přechodem z oranžové přes žlutou a zelenou do modré v rozmezí 5 - 9. Hodnotu pH zjištěnou testem lze odečíst s přesností 0,5 jednotky pH. Test může být rušen přítomností cizorodých látek kyselé nebo alkalické povahy, které se mohou v moči vyskytovat (www.wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_moči/chemické).

4.1.2 Bílkovina v moči

Do primární moči zdravým glomerulem prochází jen malé množství albuminu a málo mikroproteinů. Tubulární buňky pak většinu albuminu a mikroproteinů vycytají, takže u zdravého jedince se v moči neobjeví víc než 0,15 g proteinů za den, převážně je to albumin.

Patologické proteinurie můžeme rozdělit do několika skupin:

- 1) Renální proteinurie – příčinou je onemocnění ledvin. Do primární moči proniká větší množství proteinů, protože je poškozen glomerulární filtr. Jestliže je poškození glomerulů malé, nacházíme v moči hlavně albumin a bílkoviny o molekulové hmotnosti do 100000 (např. transferin). Příčinou je ztráta negativního náboje glomerulární membrány. Albumin, který má vysoký negativní náboj, není membránou odpuzován a volně prochází. Tento typ proteinurie se jmenuje glomerulárně selektivní. Je-li poškození membrány větší a v moči nacházíme ještě bílkoviny o větší molekule (např. imunoglobuliny), mluvíme o proteinurii glomerulárně neselektivní. Léčba je většinou málo úspěšná. Při onemocnění tubulárních buněk mluvíme o tubulární proteinurii. V moči nacházíme bílkoviny o menší molekule než je albumin. Patří k nim hlavně β_2 -mikroglobulin, α_2 -mikroglobulin nebo lysozym.
- 2) Prerenální proteinurie – příčinou není onemocnění ledvin. Vysoká koncentrace bílkoviny v krvi s malou molekulovou hmotností způsobí to, že bílkoviny projdou zdravým glomerulem. Jedná se o myoglobin při zhmoždění svalů nebo lehké řetězce Bence-Jonesovy bílkoviny u nemocných s mnohočetným myelomem.

- 3) Subrenální proteinurie – bílkovina v moči pochází z močových cest při infekci nebo krvácení. Většinou je důležitější průkaz leukocyturie (výskyt leukocytů v moči) nebo hematurie (výskyt erytrocytů v moči).
- 4) Přejídná proteinurie – může se objevit po velké fyzické námaze, při přehřátí nebo podchlazení organismu, po vazokonstrikčních lécích, v horece. Většinou proteinurie zmizí po odeznění vyvolávajících příčin. Patří sem ještě ortostatická (juvenilní) proteinurie, která se objevuje u rychle rostoucích dětí. Nastává při pohybu nebo vstoje, v noci vymizí. V dospělosti se tento typ proteinurie úplně ztratí.
- 5) Arteficiální proteinurie – je způsobená úmyslně pacientem, který si do moče přidává bílkovinu. Většinou jde o vaječný bílek. Běžnými testy se nedá rozpoznat od pravé proteinurie (Racek 1999).

Princip metody

Test je založen na principu tzv. „proteinové chyby indikátoru“ např. tetrabrom-fenolové modři. Indikační zóna obsahuje kyselý pufr a speciální indikátor, který v přítomnosti bílkovin mění zbarvení ze žluté přes zelenou do modré. Test je vysoce citlivý na albumin a indikuje jeho přítomnost v moči již od 0,1- 0,5 g/l. Podstatně nižší citlivost vykazuje vůči globulinům, mukoproteinům, hemoglobinu a Bence-Jonesově bílkovině. Důkaz bílkovin v moči není ovlivňován hodnotou pH moče ve fyziologickém rozmezí. U silně alkalických močí může test dávat falešně pozitivní reakci (Masopust 1982).

Pro průkaz bílkovin v moči je také možné použít zkumavkovou metodu a to kvalitativní průkaz bílkovin kyselinou sulfosalicylovou. Je to nejlevnější a nejcitlivější metoda, která není ovlivněna pH moči. Principem je denaturace bílkovin, při které vznikne zákal, který je přímoúměrný obsahu bílkovin.



Obrázek 7: Diagnostický proužek nahoře negativní. Diagnostický proužek dole, hodnocení zprava: pH 5, bílkovina pozitivní, cukr pozitivní, ketolátky negativní, urobilinogen negativní, krev negativní.

4.1.3 Glukóza v moči

Koncentrace glukózy v moči závisí na hodnotě glykémie a zejména na funkci ledvin. Ledviny mají důležitou úlohu při regulaci hladiny glukózy v plazmě. Koncentrace glukózy v plazmě je udržována v rozmezí 4-5 mmol/l.

Glukóza je kompletně filtrována glomerulem a za fyziologických podmínek je reabsorbována až v proximálním tubulu aktivním transportem. Dokud koncentrace v ultrafiltrátu zůstane pod tubulárním transportním maximumem, veškerá filtrovaná glukóza je reabsorbována. Při diabetu je významně překročena plazmatická koncentrace glukózy (tedy i koncentrace ultrafiltrátu) a může být překročeno transportní maximum. V tomto případě dojde ke glykosurii (Jabor 2008).

Stanovení koncentrace se provádí hlavně ve sbírané moči, nejčastěji enzymaticky. Časté je i semikvantitativní stanovení diagnostickým proužkem. Klinický význam zjišťování ztrát glukózy je důležitý u diabetiků.

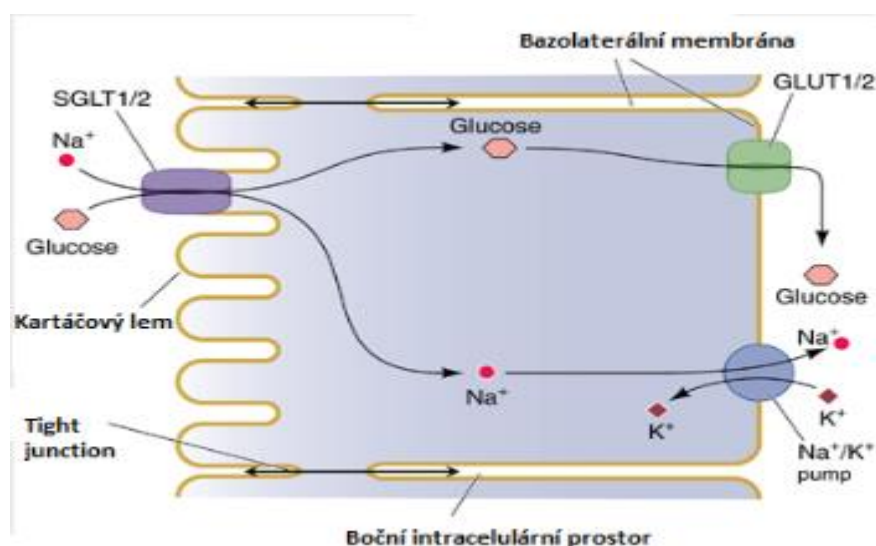
V těhotenství je u některých žen přítomnost glukózy v moči fyziologická a není příznakem žádného onemocnění. U jiných může naopak glukóza v moči svědčit pro možný vznik těhotenského diabetu.

V souvislosti s metabolismem glukózy je z klinického hlediska nejdůležitějším pojmem renální glykosurie, tedy přítomnost glukózy v moči při normálních plazmatických koncentracích glukózy.

Glukóza v moči se může objevovat také při prudkém zánětu slinivky břišní nebo při výrazném stresu, známy jsou i případy glukózy v moči vyskytující se při tzv. Fanco-niho syndromu, což je onemocnění postihující ledviny, při kterém je porušené zpětné vstřebávání některých látek, včetně glukózy zpět do krve a tyto látky se poté objevují v moči.

Každý den je ledvinami z plazmy přefiltrováno 160-180 g D-glukózy. V proximálních tubulech ledvin se prostřednictvím transportéru SGLT2 (selektivní glukózový transportér 2) s vysokou kapacitou a nízkou afinitou 90 % glukózy obvykle vstřebává zpět do krve. Zbýlých 10 % glukózy se vstřebává pomocí transportéru SGLT1 (selektivní glukózový transportér 1) s nízkou kapacitou a vysokou afinitou. Oba transportéry – SGLT1 a SGLT2 pracují na principu kotransportu sodíku a glukózy z moči do buňky, na který navazuje glukózový transportér typu GLUT-2, který zabezpečuje návrat glukózy do krevního oběhu. Sodík přefiltrovaný do buněk společně s glukózou je odváděn pomocí Na^+/K^+ pumpy závislé na ATP. Rozdíl mezi SGLT1 a SGLT2 mimo rozdílné kapacity a afinity k substrátu je i v lokalizaci a specifitě vůči glukóze. Transportér SGLT2 se nachází pouze v ledvinách a transportuje jenom glukózu, transportéry SGLT1 se vyskytují také v oblasti střeva a umožňují transportovat kromě glukózy i galaktózu (<http://www.remedia.cz/3959.magarticleprintversion.ashx>).

Mechanismus reabsorpce glukózy je dobře patrný viz Obrázek 8.

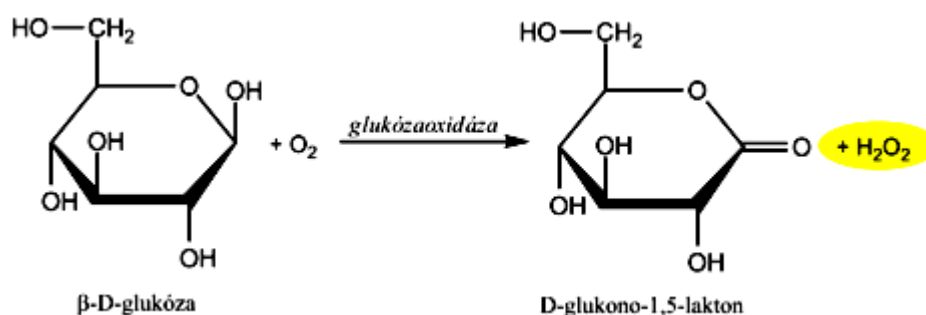


Obrázek 8: Vstřebávání glukózy z glomerulárního filtrátu pomocí tubulárního epitelu do krve. Převzato a upraveno dle (http://www.nature.com/ki/journal/v79/n120s/fig_tab/ki2010509f4.html#figure-title).

Při vyšetření je nutné zabránit bakteriální kontaminaci vzorků močí rychlým provedením analýzy, krátkou mimo laboratorní dobou odezvy, případně skladováním vzorků při 4°C. Oxidanty (peroxidové látky, chlornany) působí falešnou pozitivitu reakcí, reduktanty (zejména pak kyselina askorbová) falešnou negativitu.

Princip stanovení

Detekce glukózy je založena na oxidaci glukózy za vzniku D-glukonolaktonu a peroxidu vodíku, průběh reakce je znázorněn viz Obrázek 9. Substrát (D-glukóza) je oxidován vzdušným kyslíkem a katalyzován enzymem glukózaoxidázou na D-glukonolakton a peroxid vodíku, který v následné reakci oxiduje za přítomnosti enzymu peroxidázy chromogenní systém na výrazně barevné produkty. Test zachytí vznikem zřetelně oranžového zbarvení přítomnost zvýšeného množství glukózy od 2 mmol/l. Za horní limit fyziologické glykosurie v první ranní moči je považována koncentrace cca 1,7 mmol/l. Test je specifický pro D- glukózu, ostatní cukry nedávají pozitivní reakci. Enzymové stanovení glukózy je tady mnohem spolehlivější a přesnější než dříve používané metody založené na redukčních vlastnostech cukrů. Glukózaoxidázová reakce se používá právě v rychlém testu pro detekci glukózy v moči. Test není ovlivňován přítomností ketolátek v moči a nižšími koncentracemi redukujících látek (např. kyseliny askorbové) (Masopust 1982).



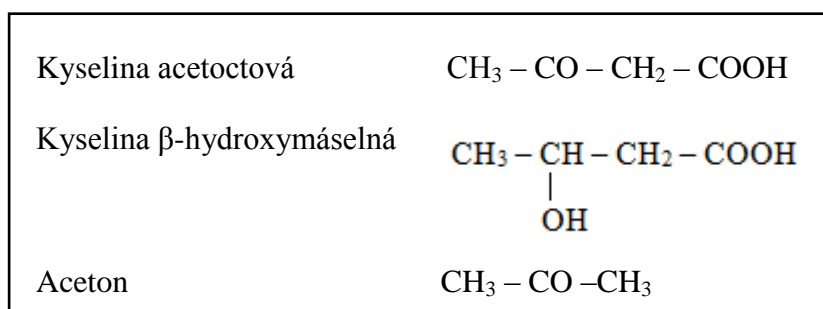
Obrázek 9: Glukózaoxidázová reakce. Převzato z (www.wikiskripta.eu/index.php/Glykemie/stanoveni).

4.1.4 Ketolátky

Ketolátky slouží jako alternativní energetický zdroj v mozku a ve svalech. Tvoří se z mastných kyselin uvolněných při hladovění, patří mezi ně aceton, kyselina acetoctová a kyselina β -hydroxymáselná (Muntau 2009).

Při dlouhodobém hladovění a u některých nemocí jsou ketolátky významný energetický substrát pro mimojaterní tkáň, na prvním místě pro mozek. Schopnost nervových buněk využívat ketolátky jako energetický substrát představuje významný mechanismus umožňující mozku využívat zásob energie v tukové tkáni, přestože mastné kyseliny neprocházejí hematoencefalickou bariérou. Zvýšená tvorba a utilizace ketolátek snižuje nároky na glukoneogenezi. Ketolátky zřejmě inhibují proteolýzu ve svalech a jejich zvýšená hladina je významnou součástí mechanismů, které zpomalují rychlost proteokatabolických reakcí při hladovění (Holeček 2006).

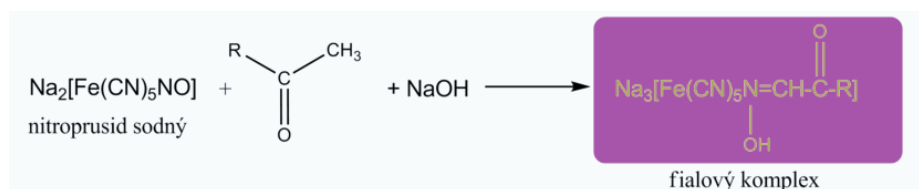
Detekce ketolátek v moči je velmi důležitá zejména pro včasné rozpoznání metabolické dekompenzace diabetiků. K nejdůležitějším metabolickým důsledkům diabetu patří hyperglykémie, vyvolaná absolutním nebo relativním nedostatkem inzulínu. Snížená utilizace glukózy jako zdroje energie je substituována zvýšenou lipolýzou triacylglycerolů v tukových tkáních. Mastné kyseliny jsou nadále odbourávány β -oxidací za vzniku acetylkoenzymu A, který je normálně oxidován v citrátovém cyklu. Zvýšený metabolismus tuků u diabetu vede k nahromadění acetylkoenzymu A, který kondenzuje na kyselinu acetoctovou. Větší část takto vytvořené kyseliny acetoctové je redukována v játrech na kyselinu β -hydroxymáselnou, menší část je spontánně dekarboxylována na aceton. Při vystupňované ektogenezi, kdy ketolýza v tkáních nestačí ketolátky odbourávat, dochází k jejich kumulaci v krvi a přestupu do moče (ketonurie). Termín „ketolátky“ zahrnuje především kyselinu acetoctovou, aceton a kyselinu β -hydroxymáselnou viz Obrázek 10.



Obrázek 10: Vzorce ketolátek.

Princip metody

Test je založen na známém principu Legalovy reakce. Kyselina acetoctová reaguje s nitroprusidem sodným a glycinem v alkalickém prostředí za vzniku fialového zbarvení viz Obrázek 11, jehož koncentrace je úměrná množství ketolátek ve vyšetřované moči (Teplan a kol. 2009).



Obrázek 11: *Reakce nitroprusidu s ketonem. Legalova reakce. Převzato z (www.wikiskripta.eu/index.php/Ketolátky_v_moči).*

Test je velmi citlivý na kyselinu acetoctovou a zachytí její přítomnost v moči již od koncentrace 0,5–1,0 mmol/l. Nitroprusid vůbec nereaguje s kyselinou β -hydroxymáselnou a v malém procentu reaguje s acetonem. Reakce není rušena žádnou z přirozených součástí moče, ale je citlivá na vzdušnou vlhkost. Tento princip průkazu ketolátek je celosvětově používán (Teplan a kol. 2009).

4.1.5 Bilirubin

Bilirubin je produktem metabolismu hemu. Do plazmy se dostává jako nekonjugovaný a nerozpustný ve vodě. Aby se mohl transportovat ve vodném prostředí, je vázaný na albumin. Z plazmy je bilirubin vychytáván jaterními buňkami jako odpadní látka, která musí být z organismu vyloučena. V jaterní buňce se bilirubin uvolní z vazby na albumin a je konjugován s kyselinou glukuronovou. Odtud je transportován do žlučovýchodů a do duodena. Bilirubin se za fyziologických podmínek v moči nevyskytuje (Čermáková, Štěpánová 2003).

Způsobuje tmavé zbarvení moče, a to by mělo být odlišeno od jiných tmavých zbarvení moče. Nekonjugovaný bilirubin v moči nemůžeme prokázat, protože není rozpustný ve vodě (Ehrman, Hůlek a kol 2014).

Plazmatická koncentrace bilirubinu v normě je 17 $\mu\text{mol/l}$, jestliže je koncentrace větší než 30 $\mu\text{mol/l}$, můžeme mluvit o hyperbilirubinémii. Kůže a skléry se začnou zbarvovat žlutě, protože dochází k vazbě bilirubinu ve tkáních (Silbernagl, Lang 2010).

Rozlišují se tři formy ikteru: prehepatální, hepatální a posthepatální. U prehepatálního ikteru je v plazmě zvýšen nekonjugovaný bilirubin, v moči můžeme nacházet

urobilinogen. Vzniká hlavně u novorozenců nadměrným rozpadem erytrocytů. U hepatálního ikteru dochází k poruše jaterní buňky. Nejprve je zvýšený nekonjugovaný bilirubin, ten se v jaterní buňce depolarizuje a jako konjugovaný se vrací zpět do krve. Tím, že je zvýšený v plazmě, přechází i do moče. U posthepatálního ikteru dochází k uzávěru žlučových cest (nejčastěji kamenem). Zvyšuje se konjugovaný bilirubin, který byl už jednou vyloučený z jaterní buňky. Prokážeme ho i v moči (Čermáková, Štěpánová 2003).

Princip metody

Reakce bilirubinu je založena na azokopulační reakci se stabilní diazonovou solí. Vzniká růžové až růžovočervené zbarvení. Jestliže je v moči vysoká koncentrace urobilinogenu, barva se mění až do oranžova. Proto je vhodné reakční zónu vyhodnocovat až po 2 minutách. Falešně negativní výsledky mohou být při vysoké koncentraci kyseliny askorbové v moči. Vzorky moči by neměli být na přímém slunečním světle, protože tím se vyvolává oxidace bilirubinu a dochází tak k falešně negativnímu nálezu (Masopust 1982).

4.1.6 Urobilinogen a urobilin

Urobilinogen a sterkobilinogen představují konečné produkty katabolismu hemoglobinu uvolněného po rozpadu erytrocytů. Urobilinogen je bezbarvá sloučenina, která se rozpouští ve vodě. Je obsažen normálně v moči zdravých jedinců. K přeměně bilirubinu na urobilinogen dochází z malé části ve vývodných částech žlučových cest, převážně však ve střevech v důsledku redukční činnosti střevních bakterií. Analytická diferenciací urobilinogenu je velmi obtížná a nemá diagnostický význam. Urobilinogen je normálním katabolickým produktem, který za fyziologických podmínek vzniká v určitém konstantním množství a je také v malém množství vylučován jak močí tak i stolicí. Zvýšené vylučování urobilinogenu nastává při přetížení funkční kapacity jaterního parenchymu v důsledku zvýšeného hemoglobinového katabolismu (Masopust 1982).

Princip metody

1) Detekce urobilinogenu je založena na principu azokopulační reakce stabilizované diazoniové soli s urobilinogenem v kyselém prostředí. Indikační zóna mění v přítomnosti urobilinogenu své zbarvení do růžového až červeného odstínu. Moč určená k vyšetření na urobilinogen musí být chráněná před světlem (www.wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_moči/chemické)!

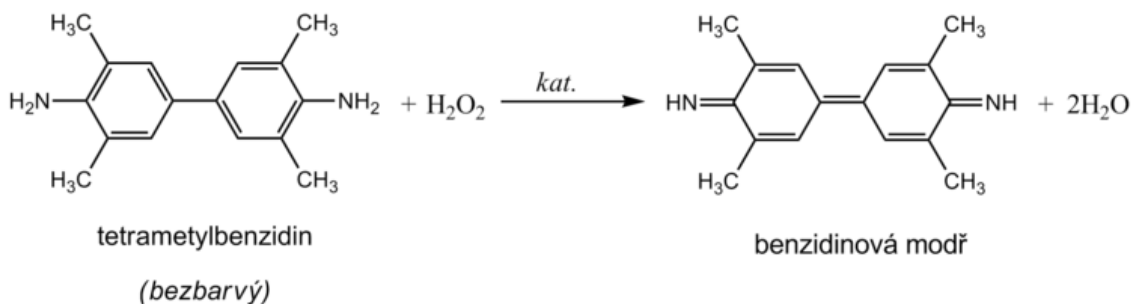
4.1.7 Hematurie, hemoglobinurie

Hematurie může být projevem celkového onemocnění, projevem onemocnění vývodných cest močových nebo postižení glomerulu. Rozlišujeme hematurii makroskopickou (moč je zbarvena do červena) nebo mikroskopickou (příměs krve není makroskopicky patrná), podle původu erytrocytů na hematurii prerenální, renální a postrenální (Navrátil a kol., 2008).

Z hlediska laboratorní diagnostiky je nutno věnovat větší pozornost záchytu mikrohematurie, u makrohematurie je zase nutné vyloučit případné příčiny zbarvení moče (např. porfyrie, užívání derivátů pyrazolonu atd.). Nejčtenější hematurie je renální, která je většinou doprovázena proteinurií. Příčina může být v samotné ledvině, kdy její glomeruly jsou poškozeny natolik, že propouštějí krevní buněčné elementy. Ledvina může být také poškozena sekundárně při poruchách oběhových, např. při trombóze ledvinových žil, při venostáze vlivem srdeční nedostatečnosti nebo po traumatu, při urolitiáze nebo u nádorových onemocnění ledvin a močových cest. U chronických a akutních glomerulonefritid se vyskytuje hematurie až u 90 % případů. U pyelonefritid se rovněž zhruba ve 30 % případech vyskytuje patologická hematurie, navíc je zde leukocyturie (Masopust 1982).

Princip metody

Hemoglobin katalyzuje, podobně jako peroxidáza, oxidaci některých substrátů peroxidem vodíku viz Obrázek 12. Reagenční zóna proužku obsahuje chromogen (např. tetrametylbendizid) se stabilizovaným peroxidem vodíku. Jestliže je v moči přítomen volný hemoglobin, dojde k reakci a indikační zóna se zbarví modře. Jestliže jsou v moči přítomny erytrocyty, vytvoří se zelenomodré tečky až skvrny.



Obrázek 12: Reakce hemoglobinu na diagnostickém proužku. Převzato z (www.wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_moči/chemické).

Test umožňuje citlivý chemický důkaz hemoglobinu, protože zachytí i slabě pozitivní reakci jeho přítomnosti v moči (koncentraci odpovídající zhruba 3–5 erytrocytů v 1 μl moče). Každá pozitivní reakce testu by měla být mikroskopicky ověřena. Vůči leukocytům je test podstatně méně citlivý a reaguje slabě pozitivní reakcí na jejich přítomnost v moči teprve od množství nad 50–100 leukocytů/ μl . Falešně pozitivní reakce testu mohou vyvolat i peroxidázy bakteriálního původu (v močích silně kontaminovaných některými bakteriemi nebo plísněmi), myoglobin, který se může do moči vylučovat při rozpadu kosterního svalstva nebo kontaminace nádoby silnými oxidačními činidly (Masopust 1982).

4.2 Močový sediment

Součástí chemického vyšetření moče je vždy i vyšetření sedimentu, dříve mikroskopicky, dnes ve velkých laboratořích na analyzátořech principem průtokové cytometrie. Při mikroskopickém stanovení moče, ale i při stanovení na analyzátořech, se musí vzít v úvahu, že vylučování elementů může kolísat v průběhu 24 hodin. Mění se také v závislosti na fyzické aktivitě, tělesné poloze, příjmu potravy atd. Za fyziologických podmínek se v moči nevyskytují žádné patologické elementy.

Erytrocyty – jsou menší než leukocyty, tvoří kulaté diskovité útvary, ostře ohraničené, žlutozeleně zbarvené. Nemají jádro a zrnitou cytoplazmu jako leukocyty, jejich barva i tvar se mění v závislosti na koncentraci a pH moče. Při mikroskopickém odečítání moče se mohou erytrocyty snadno zaměnit za některé jiné složky močového sedimentu, především za kvasinky, krystaly močanu amonného a tukové kapénky (Michalec 1988).

Leukocyty – v kyselé, neutrální nebo slabě alkalické moči mají kulatý nebo polygonální tvar, obsahují jedno nebo více jader. V alkalické moči se leukocyty zvětšují a dosahují téměř velikosti ledvinného epitelu. V silně alkalické moči dochází k deformaci leukocytů.

Epitelie – jsou různého orgánového původu. Vzhledem k jejich velkému polymorfismu je velmi obtížné spolehlivě identifikovat místo jejich původní lokalizace. Za fyziologických podmínek se vyskytují ojediněle buňky plochého epitelu močového měchýře a u žen vaginálního epitelu. Při patologických procesech se vytvářejí vhodné podmínky pro velmi bohaté uvolňování buněk epitelu a množství buněčných elementů se zvyšuje.

Močové válce – vznikají v močových kanálcích a jsou složeny z bílkovinné složky a některých dalších součástí moči. Válce se vyskytují především v moči, která obsahuje bílkoviny, ale dosud nebyla zjištěna přímá závislost mezi koncentrací bílkovin a množstvím válců. Válce tvoří válcovité útvary různé délky a šířky s ostře ohraničenými obrysy a zaoblenými nebo zalomenými konci. Rozměry bývají různé.

Patogenní bakterie – Gonokoky, Stafylokoky a Streptokoky – často charakterizují smíšenou infekci močových cest. Kvasinky se vyskytují při delším stání moči, velmi rychle se rozmnožují, tvoří hladké, lesklé a světlo lámající oválné nebo kulaté útvary uložené ve skupinách nebo řetízkovitých útvarech.

Nečistoty močového sedimentu – při sběru moče je nutné dbát na čistotu odběrové nádoby. Do materiálu se mohou velmi snadno dostat nejrůznější znečištění rozmanitého původu. Nejčastěji nečistoty ze špatně vymytých sběrných nádob, dále z ovzduší, zbytky potravy, toaletního papíru, chlupy, vlákna atd (Michalec 1988).

4.2.1 Močové konkrementy

Konkrementy jsou pevné útvary, které vznikají v orgánových vývodech v místě jejich rozšíření (např. žlučník, pánvička ledvinná, močový měchýř). V organismu se můžou vyskytovat v různém počtu, buď jednotlivě, nebo mnohočetně. I jejich velikost může být různá, od zrnka písku až k předmětu několikacentimetrové velikosti (www.wikiskripta.eu/index.php/Konkrement, 2014).

Jejich tvorba je podmíněná krystalizací kamenotvorných látek, následnou agregací krystalů a pokračující apozicí, na jejich vznik má velký vliv pH a složení moči. Konkrementy vzhledem k jejich složení můžeme rozdělit na kalciové, struvitové, cystinové, urátové, vzácně i jiné (Navrátil a kol. 2008).

Kyselina močová

Kyselina močová je konečným metabolickým produktem purinů. Při pH moče 5,0 se v moči vyskytuje jako méně rozpustná látka než v séru, proto ji v moči nacházíme ve formě krystalů. Při pH moče kolem 7,0 se tato látka v moči nachází ve formě sodných solí, a proto je více rozpustná. Porucha metabolismu kyseliny močové z nefrologického pohledu způsobuje onemocnění urolitiázu, akutní tubulointersticiální nefropatii a chronickou tubulointersticiální nefropatii urátového původu (Teplan a kol. 2006).

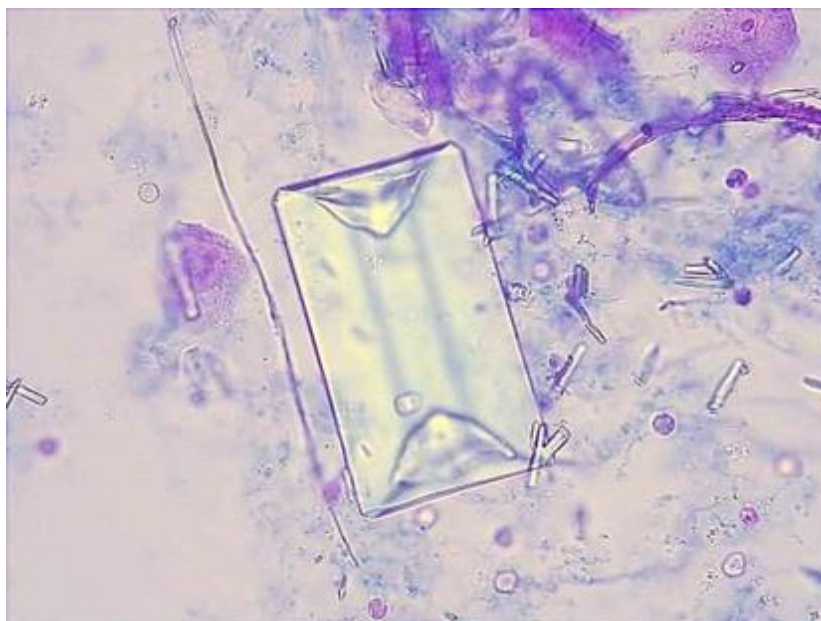
Kyselina močová se v močovém sedimentu může nacházet v různých formách krystalů viz Obrázek 13. Nejčastěji se vyskytují šestiboké hranoly, ale i formy vřetenkovitých, brouskovitých nebo soudkovitých krystalů. Formy krystalů jsou závislé na pH moči a jsou charakteristicky zbarvené močovými barvivy (Michalec 1988).



Obrázek 13: Kyselina močová mikroskopicky. Použito z (sekk.cz/atlas/).

Fosforečnan amonnohořečnatý (tripelfosfát)

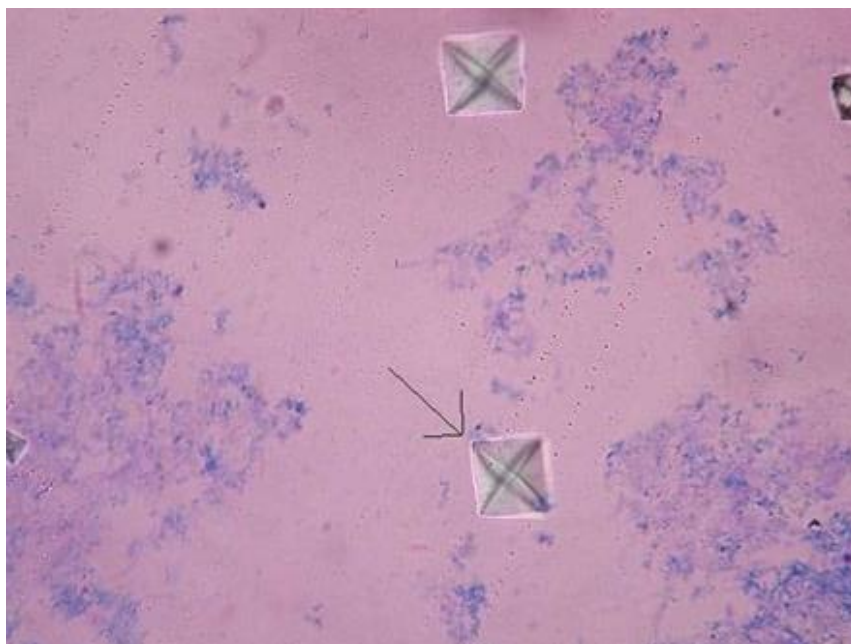
Nejtypičtější tvary tripelfosfátů jsou trojboké, čtyřboké a šestiboké hranoly, které mají na konci zkosené nebo zaoblené hrany, připomínají svou formou víka od rakve viz Obrázek 14 (Michalec 1988).



Obrázek 14: Fosforečnan amonnohořečnatý mikroskopicky. Použito z (sekk.cz/atlas/).

Šťavelan vápenatý (oxalát vápenatý)

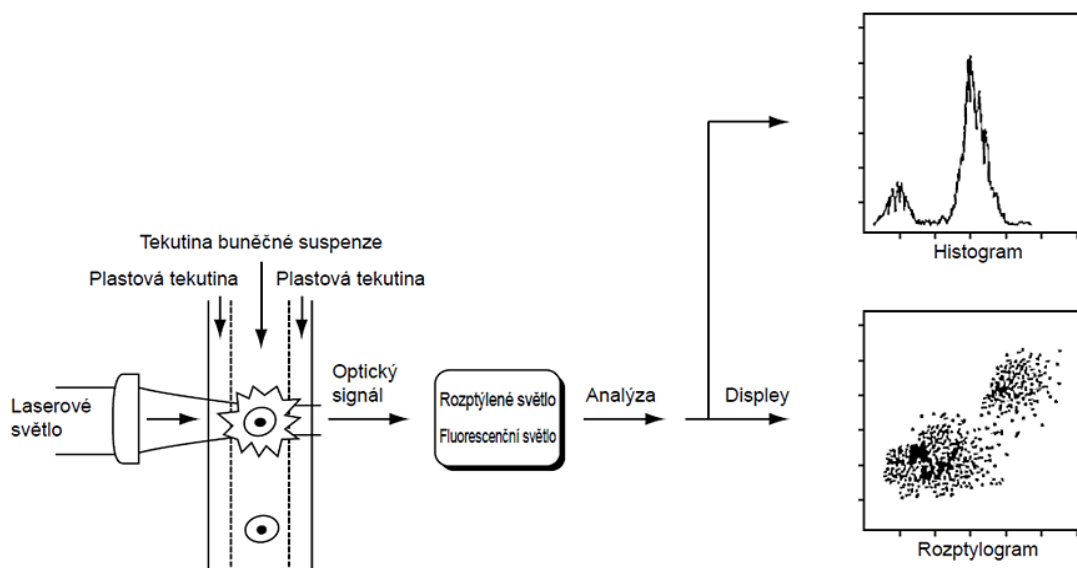
Vyskytuje se v kyselé, neutrální i slabě alkalické moči. Klinickou důležitost má šťavelan v sedimentu pouze bezprostředně po vyloučení do moči. Fyziologicky se vyskytuje v moči po požití stravy bohaté na kyselinu šťavelovou (např. jablka, pomeranče, hroznové víno, rajčata aj.) a po výskytu velkého množství vitamínu C ve stravě. V močovém sedimentu se vyskytuje nejčastěji ve formě bezbarvých, silně světlo lámajících pravidelných osmistěnnů (mají tzv. dopisnicový tvar) viz Obrázek 15. Jejich velikost je různá (Michalec 1988).



Obrázek 15: Šťavelan vápenatý mikroskopicky. Použito z (sekk.cz/atlas/).

4.2.2 Vyšetření močového sedimentu průtokovými cytometry

Průtoková cytometrie je laboratorní metodou, která umožňuje pomocí analyzátorů – průtokových cytometrů současné měření řady parametrů u velkého množství částic. Její uplatnění je i při vyšetření močového sedimentu. Při průtokové cytometrii viz Obrázek 16 jsou částice označovány různými fluorofory a poté buněčná suspenze proudí úzkou kapilárou. Při průchodu kapilárou se částice setkávají s paprskem světla, obvykle z laseru, který vybudí fluorescenci fluoroforů. Světlo laseru je buňkou rozptylováno. Nejčastěji měřenými parametry jsou rozptyl světla pod malým úhlem, který je přímo úměrný velikosti buněk – tzv. forward scatter. Rozptyl světla do velkého úhlu – tzv. side scatter, poskytuje naopak informaci o vnitřní struktuře částic. Fluorescence částic má různé vlnové délky. Průtokový analyzátor je plně automatizovaný přístroj pro analýzu a identifikaci buněk a dalších elementů nativních močových vzorků.



Obrázek 16: Metoda průtokové cytometrie. Upraveno z firemního manuálu pro přístroj UX-2000.

Postup analýzy:

- Při vyšetření močového sedimentu průtokovou cytometrií je moč po promíchání nasáta (0,8 ml), naředěna a je změřena vodivost.
- Následuje automatické obarvení močových elementů dvěma odlišnými fluorescenčními barvivy. Fenanthridinové barvivo barví nukleové kyseliny (oranžová fluorescence). Druhé používané barvivo – karbocyanin je určen k nabarvení negativně nabitých buněčných membrán, jaderných membrán a mitochondrií (zelená fluorescence).
- Obarvené částice procházejí kapilárou a jsou ozářeny laserovým paprskem, který je buňkou jednak rozptýlen a jednak je vybudena fluorescence fluoroforů. Současně se měří elektrická vodivost částic v kapiláře. Identifikace a počítání elementů je umožněno hodnocením fluorescence obou barviv společně s měřením rozptylu záření emitovaným laserem a naměřenou vodivostí.

Pomocí průtokového cytometru lze diagnostikovat všechny buněčné elementy – erytrocyty, leukocyty, bakterie a epitelové buňky. Kromě toho je schopen diferencovat některé klinicky významné modifikace jako jsou izomorfní a dysmorfní erytrocyty. Poskytuje informaci o přítomnosti patologických válců, které je však zapotřebí dále mikroskopicky vyšetřit. Prokazuje rovněž krystalické struktury, ale nerozliší jednotlivé typy krystalů, i v tomto případě je zapotřebí mikroskopické upřesnění. Průtokový cyto-

metr není schopen diferencovat trichomonády. Počet erytrocytů, leukocytů, bakterií, plochých epitelů a válců je udávám v počtu elementů / μl . Pro zvýšení správnosti analýzy močového sedimentu je možno automaticky porovnat výsledky chemické analýzy pomocí diagnostických proužků, která je vyhodnocována reflexním fotometrem, a analýzy průtokové cytometrie, tzv. cross-check. Shoda průtokové cytometrie s mikroskopií se pohybuje v rozmezí 80 – 90 %, shoda s diagnostickými proužky v 72 – 96 %. Průtoková cytometrie výrazně snižuje nutnost mikroskopických analýz, zlepšuje přesnost měření a usnadňuje standardizaci výsledků (wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_močového_sedimentu).

Na našem oddělení se používá automatický močový analyzátor od firmy Sysmex viz Obrázek 17. Chemické stanovení moče probíhá pomocí testovacích stripů, což jsou vlastně diagnostické proužky s polštářky, které fungují na stejném principu jako již výše popsané HEXAPHANy. Močový sediment je vyhodnocován průtokovou cytometrií.



Obrázek 17: Automatický močový analyzátor UX-2000

Chtěla bych zde ale pro zajímavost uvést ještě jeden analyzátor, se kterým jsem se během své praxe setkala. Jde o analyzátor iRICELL 2000plus, který distribuuje firma Beckman Coulter. Chemické stanovení moče se provádí také testovacími stripy, ale močový sediment se vyhodnocuje pomocí fotografií. Principem měření je snímání lami-

nární vrstvy moči pomocí CCD (Charge-coupled device – v překladu zařízení s vázanými náboji) digitální kamerou, která zpracuje pět set snímků každého vzorku. Výsledné snímky jsou digitalizovány a odeslány do počítače na analytické zpracování. Od jednotlivých zorných polí se odečte již dříve uložený snímek prázdného pozadí, čímž se zvýrazní morfologie zachycených částic. V každém snímku jsou separovány obrazy jednotlivých částic. Program pro automatické rozpoznávání částic zařadí každý obraz podle velikosti, tvaru, kontrastu a textury do jedné z 12 kategorií: RBC (erytrocyty), WBC (leukocyty), shluky WBC, hyalinní válce, neklasifikované válce, buňky dlaždicového epitelu, buňky jiného než dlaždicového epitelu, bakterie, kvasinky, krystaly, hlen a spermie. V případech vyžadujících vizuální přezkoumání jsou všechny obrazy částic utříděny a zobrazeny v automaticky klasifikovaných kategoriích, což proces přezkoumání urychlí. I když klasifikace částic probíhá za podpory počítače, stále se zde musí uplatňovat lidský úsudek.

5 ZÁVĚR

Ve své práci jsem se zaměřila hlavně na principy chemického stanovení moče. Než se do laboratoří zavedly diagnostické proužky, chemicky se moč stanovovala ve zkumavkách. Toto zpracování moči bylo náročné jak na čas, tak i na spotřebu materiálu.

Díky diagnostickým proužkům se práce v laboratoři velmi urychlila a usnadnila. Laborantky už nemusí pracovat s chemikáliemi a do 60 vteřin od namočení proužku do moče mohou odečítat výsledky. Důležité je i to, že dnes v každé ordinaci praktického i dětského lékaře mají diagnostické proužky a tak je možné moč orientačně vyšetřit na místě.

Dalším velkým usnadněním práce v laboratoři jsou automatické analyzátoři. Ty vyhodnotí moč chemicky i močový sediment do 90 vteřin, ale stále zde zůstává důležitý lidský faktor. Laborantka musí výsledky každé moče získané prostřednictvím analyzátoru překontrolovat a při jakýchkoliv pochybnostech musí močový sediment vyhodnotit mikroskopicky. A to je důkazem toho, že ani dnes v technické době nemůže být laborantská činnost opomíjena.

Výsledky z laboratoře mohou nabídnout lékařům cenné informace k potvrzení diagnózy chorob močového ústrojí. Domnívám se, že vyšetření moče chemicky a vyšetření močového sedimentu by mělo být nedílnou součástí diagnostiky urologických onemocnění.

6 PŘÍLOHY

PHAN® / PHAN® LAURA

Diagnostické proužky pro analýzu moče

Reakční zóny	Zkratka	Jednotky	Čas vyhodnocení	Barevná stupnice	Princip reakce	SI	Číselnost	Specifická reakce	Interference
Hemoglobin	HEMO	Ery/jl	ca 60 s		oxidace chromogenu organickým peroxidem v přítomnosti hemoglobinu	5 Ery/jl		specifická pro hemoglobin a myoglobin	oktanti extrémně vysoká SG
Erytrocyty									
Ketony	KETO	mmol/l mg/dl	ca 60 s		alkalický pH s nitroprúdem sodným (Laplove reakce)	0,1 - 0,2 mmol/l	1,0 - 2,0 mg/dl	vysoká pro lys. acetoctovou, nízká pro aceton, žádná pro lysélnu hydroxyznášedlou	látky na bázi ferrihaleinu nebo sulfohaleinu
Bilirubin	BILI	arb.j.	ca 60 s		reakce s diazotovou solí v lysélném prostředí	4,3 - 5,2 µmol/l	0,25 - 0,30 mg/dl	specifická pro konjugovaný bilirubin	vysoké koncentrace UBG a světlé
Urobilinogen	UBG	µmol/l mg/dl	ca 60 s		reakce s diazotovou solí v lysélném prostředí	6,0 µmol/l	0,35 mg/dl	specifická pro urobilinogen a stercobilinogen	ferozopyridín, bilirubin a světlé
Glukóza	GLU	mmol/l mg/dl	ca 60 s		enzymatická reakce - glukosidasa, peroxidasa, chromogen	0,9 µmol/l	16 mg/dl	specifická pro D-glukózu	
Bílkoviny	PRO	g/l mg/dl	ca 60 s		proteinová chyba indikátoru - změna zbarvení měrného scobazického indikátoru v přítomnosti proteinu	0,15 g/l	15 mg/dl	specifická pro albumin	zbytky čisticích prostředků na bázi peroxidů a oxidáčích látek
pH	pH		ca 60 s		směrný scobazický indikátor				látky na bázi chininu a chinolínu, alkalické moči s pH > 8, zbytky čisticích prostředků a dezinfectori na bázi kvartérních amoniových solí a moče s vysokou tlumivou kapacitou
Dusičany	NITRI	Ery/jl	ca 60 s		modifikovaná Griessova reakce	11 mmol/l	0,05 mg/dl	specifická pro dusičany (70 % bakteriální)	čizorodé látky na kyselině alkalické bázi, stará moč s pH cca 9
Kyselina asitborová	ASCO	mmol/l mg/dl	ca 60 s		redukce kyseliny fosdomolybdenové na molybdenovou moť	0,2 - 0,3 mmol/l	3,0 - 5,0 mg/dl	respektivně redukční reakce	
Specifická tinnost	SG		ca 60 s		barevná změna scobazického indikátoru v závislosti na tinnosti				Všechny zóny jsou chráněny proti běžným koncentracím kyseliny asitborové
Leukocyty	LEU	Leu/jl	ca 120 s		enzymatická reakce - esteraza žlázy subitrat na volný indoxyl, který dle reaguje s diazotovou solí	10 Leu/jl		specifická pro granulocyty a histocyty	diuréza a ferazopyridín
Mikroalbumin	MICROALB	g/l mg/l	ca 60 s		proteinová chyba indikátoru - změna zbarvení scobazického indikátoru v přítomnosti albuminu	0,03 g/l	30 mg/l	specifická pro albumin	redukující látky přítomné v moči
Kreatinin	CREA	mmol/l g/l	ca 60 s		Benedict-Biberaova reakce	0,4 mmol/l	0,04 g/l	specifická pro kreatinin	pH > 6,5

7 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Stavba nefronu. Převzato z (Merkunová, 2008, str. 167).....	11
Obrázek 2: Fyziologické děje v nefronu, oranžově: hormony, modře: procenta, zeleně: sekreční pochody, červeně: resorpční pochody. Převzato a upraveno dle (www.wikiskripta.eu/index.php/Diuretika).	12
Obrázek 3 : Zpětná resorpce Na^+ v proximálním tubulu. Na^+ se do epitelální buňky i z ní ven transportuje aktivně, chloridy a voda je pasivně sledují. Převzato z (Lüllmann 2004, str. 247).	13
Obrázek 4 : Zpětná resorpce HCO_3^- v proximálním tubulu (karboanhydrázový mechanismus). CO_2 vznikající karboanhydrázovou reakcí snadno difunduje do buňky, a tam se zase může přeměnit na H_2CO_3 a potom na HCO_3^- a H^+ . Proton H^+ , který se při intracelulární reakci uvolňuje, se využije ke zpětné resorpci Na^+ . Převzato z (Lüllmann 2004, str. 247).	13
Obrázek 5: Diagnostické proužky Hexaphan firmy Lachema Brno používané v naší laboratoři.	21
Obrázek 6: Diagnostický proužek nahoře, hodnocení zprava: pH 5, bílkovina negativní, cukr negativní, ketolátky negativní, urobilinogen negativní, krev negativní. Diagnostický proužek dole, hodnocení zprava: pH 8,5, bílkovina pozitivní, cukr negativní, ketolátky negativní, urobilinogen pozitivní, krev negativní.	22
Obrázek 7: Diagnostický proužek nahoře negativní. Diagnostický proužek dole, hodnocení zprava: pH 5, bílkovina pozitivní, cukr pozitivní, ketolátky negativní, urobilinogen negativní, krev negativní.	25
Obrázek 8: Vstřebávání glukózy z glomerulárního filtrátu pomocí tubulárního epitelu do krve. Převzato a upraveno dle (http://www.nature.com/ki/journal/v79/n120s/fig_tab/ki2010509f4.html#figure-title).	26
Obrázek 9: Glukózaoxidázová reakce. Převzato z (www.wikiskripta.eu/index.php/Glykemie/stanoveni).	27
Obrázek 10: Vzorke ketolátek.	28
Obrázek 11: Reakce nitroprusidu s ketonem. Legalova reakce. Převzato z (www.wikiskripta.eu/index.php/Ketolátky_v_moči).	29
Obrázek 12: Reakce hemoglobinu na diagnostickém proužku. Převzato z (www.wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_moči/chemické).	32

Obrázek 13: <i>Kyselina močová mikroskopicky. Použito z (sekk.cz/atlas/)</i>	34
Obrázek 14: <i>Fosforečnan amonnohořečnatý mikroskopicky. Použito z (sekk.cz/atlas/)</i> .	35
Obrázek 15: <i>Šťavelan vápenatý mikroskopicky. Použito z (sekk.cz/atlas/)</i>	36
Obrázek 16: <i>Metoda průtokové cytometrie. Upraveno z firemního manuálu pro přístroj UX-2000</i>	37
Obrázek 17: <i>Automatický močový analyzátor UX-2000</i>	38

8 POUŽITÁ LITERATURA

- Čermáková Marta; Štěpánová Irena (2003): *Klinická biochemie*. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně., s. 107-109, 125-129 — ISBN: 80-7013-372-4
- Dvořáček J. a kolektiv (1998): *Urologie*. ISV Praha., s. 125-129 — ISBN: 8085866307
- Dylevský I. (2009): *Funkční anatomie*. GradaPublishing,a.s., s. 355 — ISBN: 978-80-247-3240-4
- Ehrman Jiří; Hůlek Petr a kol (2014): *Hepatologie 2.vydání*. o.V., s. 49 — ISBN: 978-80-247-8021-6
- Holeček M. (o. J.): *Regulace metabolismu cukrů,tuků,bílkovin a aminokyselin*. GradaPublishing,a.s., s.175-177 — ISBN: 978-80-247-1562-9
- Homolka J.; Kulenda Z.; Melik E. (1984): *Klinická biochemie I*. AVICENUM., s. 24-27
- Hořejší J. a spol. (1957): *Základy chemického vyšetřování v lékařství*. Státní zdravotnické nakladatelství., s. 59, 129
- Jabor A. (2008): *Vnitřní prostředí*. GradaPublishing,a.s., s. 229-231 — ISBN: 978-80-247-1221-5
- Koolman Jan; Röhm Klaus-Heindrich (2009): *Taschenatlas biochemie des menschen*. Georg ThiemeVerlag Stuttgart., s. 336 — ISBN: 978-3-13-759404-8
- Lüllmann Heinz; Mohr Klaus; Wehling Martin (2004): *Farmakologie a toxikologie: 47 tabulek*. GradaPublishing a.s., s. 247 — ISBN: 978-80-247-0836-2
- Maďar, Rastislav; Podstatová, Renata; Řehořová, Jarmila (2006): *Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi*. GradaPublishing a.s., s. 21,22 — ISBN: 9788024716732
- Masopust J.; Babjuk J.; Hrbotická E. (1982): *Chemické vyšetření moče pomocí diagnostických proužků*. bezplatná publikace firmy Lachema.
- Michalec Č. (1988): *Močový sediment a močové konkrementy*. AVICENUM., s. 15-17, 20-41, 74-86, 88-96 — ISBN: 08-048-88
- MuntauAnia (2009): *Pediatric: 130 tab*. GradaPublishing a.s., s. 133 — ISBN: 978-80-2472-525-3
- Navrátil Leoš a kol. (2008): *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. GradaPublishing,a.s., s. 127 — ISBN: 978-80-247-2319-8
- Racek J. (1999): *Klinická biochemie*. Galén., s. 54-55 — ISBN: 80-7262-023-1
- Silbernagl Stefan; Lang Florian (2010): *Atlas patofyziologie*. GradaPublishing a.s. — ISBN: 978-80-247-3555-9

- Svobodný P.; Hlaváčková J. (2004): *Dějiny lékařství v českých zemích*. TRITON., s.39 — ISBN: 987-80-7254-424-1
- Teplan Vladimír a kol. (2009): *Akutní poškození a selhání ledvin v klinické medicíně*. GradaPublishing a.s., s. 162 — ISBN: 9788024770239
- Teplan Vladimír a kol. (2006): *Praktická nefrologie*. GradaPublishing,a.s., s.114 — ISBN: 80-247-1122-2
- Tesař Vladimír; Schüek Otto a kol. (2006): „*Klinická nefrologie*“. GradaPublishing,a.s., s. 25, 97, 381— ISBN: 80-247-0503-6
- Zima T. (2007): *Laboratorní diagnostika*. Galén., s. 119-121 — ISBN: 978-80-7262-372-3

Internetové zdroje :

- 2) Glukuretika v léčbě diabetu – MUDr. Tomáš Edelsberger (2011). Dostupné z: www.remedia.cz/3959.magarticleprintversion.ashx.
- 3) Konkrementy – Wikiskripta (2014). Dostupné z: www.wikiskripta.eu/index.php/Konkrementy
- 4) Atlas močového sedimentu on-line (2002). Dostupné z: www.sekk.cz/atlas/
- 5) Diuretika (2014). Dostupné z: www.wikiskripta.eu/index.php/diuretika
- 6) Nature.com. Dostupné z: <http://www.nature.com/ki/journal/v79/n120s/fig>
- 7) Glykémie/stanovení (2014). Dostupné z: www.wikiskripta.eu/index.php/Glykemie/stanoveni
- 8) Vyšetření močového sedimentu (2015). Dostupné z: [www.wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_močového sedimentu](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Vysetreni_močového_sedimentu)
- 9) Ketolátky/stanovení (2015). Dostupné z: www.wikiskripta.eu/index.php/Ketolátky_v_moči
- 10) Hemoglobin/stanovení (2014). Dostupné z: [www.wikiskripta.eu/index.php/Vyšetření_moči/chemické](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Vysetreni_moči/chemické)