

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra biochemických věd

VYŠETŘENÍ MOČI

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Nikola Říčková

Hradec Králové 2021

Petra Černá (Vincencová)

Poděkování

Ráda bych poděkovala své konzultantce Mgr. Nikole Říčkové za navedení jakým směrem se dát a jak postupovat v bakalářské práci. Dále bych chtěla poděkovat vedoucí práce prof. Ing. Barboře Szotákové, Ph.D. za vedení správným směrem, za pomoc s dokončením bakalářské práce, a hlavně za trpělivost s mojí osobou.

Prohlášení

Tímto prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem a nebyla použita pro získání jiného nebo stejného titulu. Všechny použité zdroje, jak internetové, tak knižní, jsou řádně zaznamenány v seznamu použitých zdrojů a jsou citovány.

V Hradci Králové dne 22.08.2021.

.....

Petra Černá (Vincencová)

Obsah

| | |
|---|----|
| 1. Úvod..... | 7 |
| 2. Historie vyšetření moči | 8 |
| 3. Tvorba a vznik moči | 11 |
| 3.1. Ledvina | 11 |
| 3.1.1. Funkce ledvin | 11 |
| 3.2. Nefron..... | 12 |
| 3.3. Vývodné močové cesty..... | 13 |
| 4. Preanalytika a odběr moči na vyšetření | 14 |
| 4.1. Preanalytika | 14 |
| 4.2. Odběr moči | 14 |
| 4.2.1. První ranní moč | 14 |
| 4.2.2. Druhá ranní moč..... | 15 |
| 4.2.3. Náhodný vzorek moči | 15 |
| 4.2.4. Sbíraná moč..... | 15 |
| 5. Fyzikální vyšetření moči..... | 16 |
| 5.1. Stanovení objemu moči | 16 |
| 5.1.1. Změny množství moči..... | 16 |
| 5.2. Vzhled moči..... | 16 |
| 5.2.1. Barva | 17 |
| 5.2.2. Zákal..... | 17 |
| 5.2.3. Pěna | 17 |
| 5.2.4. Zápach..... | 17 |
| 5.3. Relativní hustota | 17 |
| 5.4. Osmolalita..... | 18 |
| 5.5. pH | 18 |
| 6. Chemické vyšetření moči..... | 19 |
| 6.1. Vyšetření pomocí diagnostických proužků | 19 |
| 6.1.1. Vlastní provedení testu diagnostickým proužkem | 19 |
| 6.1.2. Průkaz leukocytů | 19 |
| 6.1.3. Průkaz bakterií..... | 19 |
| 6.1.4. Průkaz bilirubinu a urobilinogenu..... | 20 |
| 6.1.5. Průkaz ketolátek | 20 |
| 6.1.6. Stanovení relativní hustoty | 20 |
| 6.1.7. Průkaz krve/hemu..... | 20 |

| | | |
|---------|--|----|
| 6.1.8. | Stanovení hodnoty pH..... | 20 |
| 6.1.9. | Průkaz glukózy..... | 21 |
| 6.1.10. | Průkaz bílkoviny..... | 21 |
| 6.2. | Zkumavkové reakce..... | 21 |
| 6.2.1. | Stanovení bílkovin v moči..... | 21 |
| 6.2.2. | Stanovení glukózy v moči..... | 22 |
| 6.2.3. | Stanovení ketolátek v moči..... | 23 |
| 6.2.4. | Stanovení bilirubinu v moči..... | 24 |
| 6.2.5. | Stanovení urobilinogenu v moči..... | 24 |
| 6.2.6. | Stanovení krve v moči..... | 25 |
| 7. | Morfologické vyšetření moči..... | 26 |
| 7.1. | Příprava moči pro morfologické vyšetření a samotné měření..... | 26 |
| 7.1.1. | Barvení moči na mikroskopické měření..... | 26 |
| 7.2. | Hodnocení morfologického měření..... | 27 |
| 8. | Cíl práce..... | 28 |
| 9. | Tvorba močového atlasu..... | 29 |
| 9.1. | Erytrocyty..... | 29 |
| 9.2. | Leukocyty..... | 29 |
| 9.3. | Epitelie..... | 30 |
| 9.3.1. | Dlaždicové epitelie..... | 30 |
| 9.3.2. | Přechodné epitelie..... | 31 |
| 9.3.3. | Renální tubulární buňky..... | 32 |
| 9.4. | Bakterie..... | 32 |
| 9.5. | Kvasinky..... | 33 |
| 9.6. | Válce..... | 34 |
| 9.6.1. | Hyalinní válce..... | 34 |
| 9.6.2. | Granulované válce..... | 34 |
| 9.6.3. | Voskové válce..... | 35 |
| 9.6.4. | Tukový válec..... | 36 |
| 9.6.5. | Buněčné válce..... | 36 |
| 9.6.6. | Bakteriální válce..... | 37 |
| 9.7. | Krystaly..... | 37 |
| 9.7.1. | Oxaláty..... | 37 |
| 9.7.2. | Krystaly kyseliny močové..... | 38 |
| 9.7.3. | Triplfosfáty..... | 38 |

| | | |
|--------|---|----|
| 9.7.4. | Krystaly fosforečnanu vápenatého | 39 |
| 9.7.5. | Krystaly cystinu..... | 40 |
| 9.8. | Hlen | 40 |
| 9.9. | Spermie..... | 41 |
| 10. | Srovnání mikroskopického a strojového vyhodnocení močového sediment | 42 |
| 10.1. | Použité vybavení | 42 |
| 10.2. | Strojové měření..... | 42 |
| 10.3. | Mikroskopické měření | 43 |
| 10.4. | Soubor vzorků a výsledky hodnocení | 44 |
| 11. | Závěr..... | 46 |
| 12. | Seznam zkratk | 47 |
| 13. | Zdroje | 48 |

1. Úvod

Tématem této bakalářské práce je vyšetření moči. Vyšetření moči patří v současnosti k jednomu ze základních vyšetření stavu pacienta, pomáhá nám zjistit co se v dotyčném člověku odehrává. Odběr moči řadíme mezi nejjednodušší odběry biologického materiálu. Jedná se především o neinvazivní odběr.

Vyšetření moči se skládá v současnosti z chemického vyšetření pomocí diagnostických proužků, které je doplněno morfologickým vyšetřením močového sedimentu. Obě tyto části vyšetření provádí analyzátory. Morfologické měření je možno provádět strojově nebo mikroskopicky. Mikroskopické měření je stále žádoucí, dokáže nám objasnit nálezy, které analyzátor nedokáže rozeznat.

Výsledky analýzy moči dávají lékaři informace o stavu pacienta. Nejvíce poukazuje na poškození vývodných močových cest a celkově na poruchy v močovém systému.

Zaměřila jsem se i na vytvoření močového atlasu, který poukazuje na elementy, které můžeme v moči naléznout. Zároveň je tvořen i pro využití v práci, kde odečítáme morfologii v moči pomocí mikroskopu.

2. Historie vyšetření moči

Po stovky let byla moč považována za nejdůležitější zdroj informací o procesech v těle. Hned na počátku se objevila myšlenka, že to, co se dostává do těla (jídlo, pití a vzduch), by mohlo pomoci vysvětlit, proč k nemoci dochází. Zároveň to, co vychází z těla (moč, stolice, pot a někdy i krev), může obsahovat signály o vnitřních procesech, které jsou jinak skryté pro pozorování. Bylo zjištěno, že různé morbidní stavy mohou vést ke změnám močení a vzhledu moči. (Halgunset a Myren-Svelstad 2018)

První zmínky o různých změnách moči sahají až do roku 4000 před naším letopočtem. V britském muzeu jsou fragmenty sbírky slov, kde se zdá, že několik záznamů poukazuje o změnách barvy moči. (Michalický a Míka 2014)

V ranné řecké medicíně byla moč považována za látku, která nese informace o stavu hlavních tekutin v těle. Ústředním člověkem ve vývoji byl Hippokrates (460-377 př.n.l.). Věřil, že moč byla vytvořena v močovém měchýři. V Hippokratových aforismech se uvádí, že pokud člověk pozoruje bubliny v moči (vzorek má silnou vrstvu pěny), znamená to onemocnění ledvin. Dalším, kdo se pokoušel vyšetřovat moč, jako součást stanovení diagnózy byl Galenos z Pergamonu (2-3. století). Galenos prohlásil, že ledviny oddělují moč od krve a poté je pomocí močovodů transportována do močového měchýře. (Michalický a Míka 2014, Halgunset a Myren-Svelstad 2018)

Během byzantského období přispělo mnoho lékařů k dalšímu rozvoji testu moči, nyní se mu říká uroskopie. Jedním z lékařů byl Theophilus Protosporharius (6-7. století), který je autorem několika lékařských knih. Vrcholným představitelem byzantské medicíny byl Johannes Zacharias Actuarius (1275-1328) který pokračoval svojí verzí v Theophilisově učení. Popsal přesné pokyny pro odběr vzorku a jeho přenesení do matule (což je nádobka se zaobleným dnem z tenkého a bezbarvého skla, v dnešní době bych ji přirovnala ke skleněné baňce). Pomocí matule se pod světlem hodnotí barva moči. Rozlišoval devět základních barev. Tmavší barva se vyskytuje, pokud tělo produkuje abnormální látky. Světlejší barva je v případě, když tělo nevytváří normální produkty, nebo když ledviny nejsou schopny je vylučovat. Actuarius také zdůrazňuje, že se moč mění s věkem, pohlavím, stravou a fyzickou aktivitou. (Halgunset a Myren-Svelstad 2018)

Poté se setkáváme s vyšetřením moči v Evropě ve 12. a 13. století v jedné z nejprestižnějších lékařských škol, v té době, v Salernu v Itálii. Byla zde vydána báseň pro budoucí lékaře, díky které se lépe učili. Vyšetření moči zde již bylo řazeno do studijních osnov. Byly zde vytvořeny obrázkové prezentace, kde bylo psáno, jak hodnotit různé barvy moči (přibližně 20 odstínů), dále zde bylo zahrnuto hodnocení vůně a chuti moči. Postupně se uroskopie stala nejdůležitějším diagnostickým nástrojem lékařů a matula jejich ikonickým rysem. Okolo roku 1400 se lékaři již běžně uchylují k prohlídce moči svých pacientů při stanovení diagnózy. Barva moči se srovnávala s tzv. močovou tabulkou. (Halgunset a Myren-Svelstad 2018)

Ve Skandinávii nebyla uroskopie příliš známá. Známký o vyšetření moči pocházejí ze 16. století a velké pokroky se objevily na jeho začátku. Za těmito pokroky stál Paracellus, vlastním jménem Phillipus Aureolus Theoprastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541). Navrhl, že nemoc je způsobena toxiny v těle, což je patrné ve složení moči. Obhajoval také léky, které by měly obsahovat jednoduché a čisté chemické látky. Tyto léky bylo nějakou dobu

zakázáno předepisovat. Postupně byla vytvořena moderní chemie a s vývojem nových metod měření bylo možné také měřit fyzikální vlastnosti moči. (Michalický a Míka 2014, Halgunset a Myren-Svelstad 2018)

Další objevy pokračují od začátku 17. století až po současnost. Jean-Baptiste van Helmont (1579-1644) studoval měrnou hmotnost moči a souvislost hustoty s příjmem vody. První morfologické vyšetření moči provedl Giovanni Alfonso Borellin (1608-1679). Vzorky moči pod mikroskopem pozoroval také Robert Hooke (1635-1703) a také vše popsal ve své knize o močovém sedimentu. V roce 1673 pozoroval mikroskopicky červené krvinky v moči Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723). Chemické vyšetření zahájil Bellini v roce 1662, ve svém díle reálně popisuje detailní stavbu ledvin, tok moči, která se tvoří z krve, močovody do močového měchýře. Moč nemocného srovnával s močí zdravého a pochopil, že vzhled moči závisí na množství rozpuštěných látek. Herman Boehaave (1668-1738) provedl systematické testy moči pomocí chemických metod. Lékař Thomas Willis (1621-1675) v roce 1674 upozornil na to, že moč diabetiků je sladká jako cukr nebo med. V roce 1694 poprvé stanovoval bílkovinu Fredericus Dekkers (1644-1720). Domenico Felice Antonio Cotugno (1736-1822) si všiml, že moč nemocných s otoky obsahuje substanci, která zahříváním moči koaguluje, jedná se o bílkovinu. V roce 1770 Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) prokázal v moči kyselinu močovou. Antoine Fourcroy comte de Fourcroy (1755-1809) a Louis Nicolas Vauquelin (1763-1829) izolovali z moči močovinu v roce 1799. V prvních desetiletích 19. století dochází k dalším pokrokům ve vyšetření moči. Byla např. stanovena souvislost výskytu albuminu v moči s onemocněním ledvin. (Michalický a Míka 2014, Halgunset a Myren-Svelstad 2018)

V roce 1866 přináší Moses Popper (1833-1885) označení a pojem hemoglobinurie a v roce 1856 Jan Bohumil Eiselt jako první popsal melanogenurii. Max Jaffe (1841-1911) vymyslel teoreticky metodu pro stanovení kreatininu v moči. Jednalo se o reakci kreatininu s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí (dnes už je to zastaralá metoda). Do laboratorní praxe zavedl stanovení kreatininu v moči Otto Folin (1867-1934) v roce 1904. Thomas Addis (1881-1949) zavedl stanovení kvantitativního močového sedimentu v roce 1925. První diagnostické papírky na analýzu moči se vyvíjely přibližně od roku 1950 až po současnost. První papírky byly na stanovení glukózy nebo albuminu. (Beránek a Tichý 2013)

Tabulka 1 – Souhrn objevů v historii vyšetření moči

| Období | Jméno | Objev |
|-----------------|---------------------------|--|
| 460-370 př.n.l. | Hippokrates | Moč vytvořena v močovém měchýři, silná vrstva pěny = onemocnění ledvin |
| 2-3. století | Galenos z Pergamonu | Ledviny oddělují moč od krve |
| 6-7. století | Theophilus Protospuharius | Rozvoj uroskopie |

| | | |
|-------------------|--|---|
| 1275-1328 | Johannes Zacharias Actuarius | Vytvořil pokyny pro odběr moči, hodnocení barvy moči (9 odstínů) |
| 12. a 13. století | Lékařská škola v Salerno | Hodnocení barvy (20 odstínů), vůně a chuti moči |
| 1493-1541 | Phillipus Aureolus Theoprastus Bombastus von Hohenheim | Nemoc je způsobena toxiny, které se vyskytují v moči |
| 1580-1644 | Jean-Baptiste van Helmont | Měrná hmotnost moči |
| 1608-1679 | Giovanni Alfonso Borelli | Vyšetření pomocí mikroskopu |
| 1635-1703 | Robert Hooke | Vyšetření pomocí mikroskopu |
| 1632-1723 | Antonie van Leeuwenhoek | Pozorování červených krvinek v moči v mikroskopu |
| 17. století | Bellini | Zahájil chemické vyšetřování, popsal, jak vypadají ledviny a jak moč vzniká |
| 1668-1738 | Herman Boehaave | Systematické testy pomocí chemických metod |
| 1621-1675 | Thomas Willis | Objevil rozdíl u diabetické moči, je sladká |
| 1644-1720 | Fridericus Dekkers | Stanovil bílkovinu v moči, pomocí kyseliny močové a následným ohřátím |
| 1736-1822 | Domenico Felice Antonio Cotugno | Moč nemocných obsahuje bílkoviny, které zahřátím koagulují |
| 1742-1786 | Carl Wilhelm Scheele | Průkaz kyseliny močové |
| 1755-1809 | Antoine Francois comte de Fourcroy | Izolace močoviny |
| 1763-1829 | Louis Nicolas Vauquelin | Izolace močoviny |
| 1833-1885 | Moses Popper | Pojem homoglobinurie |
| 1833-1908 | Jan Bohumil Eiselt | Pojem melanogenurie |
| 1841-1911 | Max Jaffe | Stanovení kreatininu – teorie |
| 1867-1934 | Otto Folin | Stanovení kreatininu – praxe |
| 1881-1949 | Thomas Addis | Zavedl kvantitativní stanovení močového sedimentu |
| Od roku 1950 | | Vznik a vývoj diagnostických proužků |

3. Tvorba a vznik moči

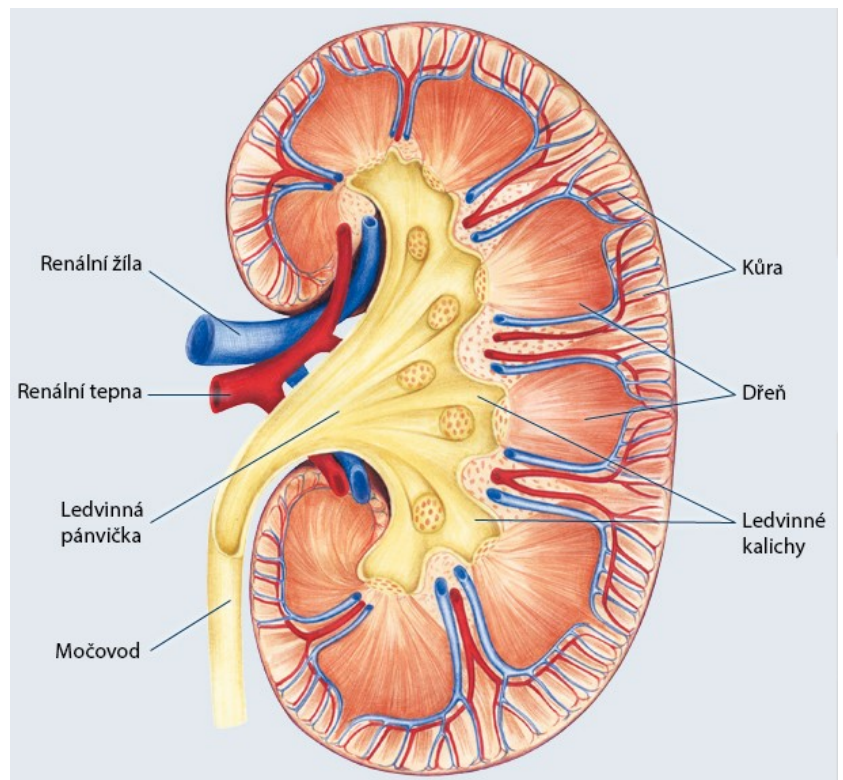
Do močového ústrojí patří ledviny, močovody, močový měchýř a močová trubice. V močovém ústrojí dochází k tvorbě moči a jejímu následnému vyloučení z těla.

3.1. Ledvina

Ledvina je párovým orgánem. Ledvina má tvar fazole, je dlouhá 10-12 cm, široká 5-6 cm a tlustá 3-4 cm. Hmotnost jedné ledviny se pohybuje kolem 150 gramů. Má stejnoměrné červenohnědé zbarvení a hladký povrch. Na povrchu je tenké vazivové pouzdro, které chrání povrch ledviny. Na řezu ledvinou můžeme pozorovat světlejší část = kůru ledviny a tmavší část = dřeň ledviny. Kůra je pod vazivovým pouzdrům na povrchu ledviny. (Čihák 2013)

Uprostřed ledviny se nachází ledvinová pánvička, ze které vyúsťuje, směrem ven z ledviny, močovod.

Na ledvinovou pánvičku nasedají ledvinové kalichy a dřeňové pyramidy, kde se nachází dřeň ledviny a vše je obklopenou kůrou ledviny. Do ledviny vstupuje renální tepna a vyúsťuje renální žíla. (Dylevský 2013)



Obrázek 1 - Průřez ledvinou

Převzato z <https://www.nizkobilkovinnadieta.cz/chronicke-onemocneni-ledvin/ledviny/anatomie-ledvin-a-mocoveho-systemu.html>

3.1.1. Funkce ledvin

Základní funkcí ledvin je exkrece moči, ve které odcházejí produkty metabolismu. Vylučováním solí a přebytku vody pomáhají udržovat stálé vnitřní prostředí tkání a složení tělních tekutin. Mají také funkci endokrinní, kdy do krve produkují rennin pro udržení a ovlivnění krevního tlaku, a také erythropoetin, který ovlivňuje krvetvorbu. (Čihák 2013)

Ledviny vytvářejí moč nepřetržitě. Množství a složení moči je závislé na potřebách organismu, především na příjmu tekutin a potravy. Barva moči je ovlivněna močovými barvivy, které vznikají z rozpadajícího se krevního barviva. Za normálních podmínek vytvoří ledviny denně kolem 1,5 l moči, tomuto objemu říkáme denní diuréza. Množství a složení moči závisí na množství přefiltrované krve v glomerulech a na schopnosti ledvinových kanálků zpětně

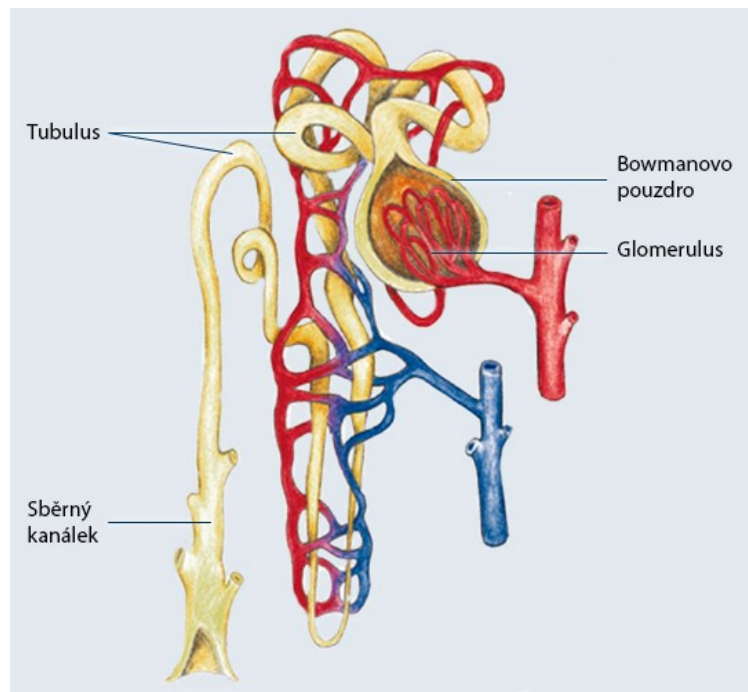
vstřebávat vodu a v ní rozpuštěné látky. Při sníženém nebo zvýšeném příjmu tekutin je také snížena nebo zvýšena denní diuréza. (Dylevský 2013)

Činnost ledviny je řízena hlavně v glomerulu a v kanálcích. Hlavní mechanismus řízení je hormonální a nervový.

- Filtrace moči v glomerulu – Hlavním podkladem pro řízení filtrace v glomerulu je uspořádání kapilár cévního klubička a kanálků. Distální kanálek probíhá těsně kolem přívodné cévy klubička. V místě dotyku cévy a kanálku je malý shluk buněk, které produkují renin. Renin je hormon, který působí na bílkovinu v plazmě (angiotensinogen). Bílkovina po aktivaci vyvolává smrštění hladké svaloviny ve stěně přívodné cévy glomerulu a tím se mění průsvit přívodné cévy a tím i přívod krve do glomerulu. Ovlivňuje tak filtraci v glomerulu.
- Tvorba moči v kanálcích – Důležitým regulativním místem je distální kanálek. Na buňky distálního kanálku působí hlavně aldosteron a antidiuretický hormon = ADH. ADH je tvořen buňkami mezimozku a aldosteron buňkami kůry nadledvin.
 - Aldosteron ovlivňuje vstřebávání sodíku. Přesun sodíkových iontů mění osmotické poměry, a to způsobuje přesun vody.
 - Antidiuretický hormon působí na buňky distálního a sběracího kanálku. Hormon zvyšuje prostupnost stěn a voda se dostává do okolní tkáně, kde je vstřebávána do krevního oběhu (Dylevský 2013)

3.2. Nefron

Nefron je základní stavební a funkční jednotkou ledviny. Skládá se z odvodné a přívodné cévy, klubička kapilár, systému distálního a proximálního kanálu, Henleovy kličky a Bowmanova pouzdra. Renální tepny se po vstupu do ledviny postupně větví na větve jdoucí do kůry ledvin. V kůře ledvin odstupuje z těchto tepen tzv. přívodní cévy, které se stáčí do složitých klubiček = glomerulů. Z každého klubička je krev odváděna pomocí odvodné cévy. V glomerulu se uskutečňuje filtrace krve. Odvodní céva glomerulu se větví do kapilár kolem ledvinných kanálků a z těchto kapilár poté odtéká krev do renálních žil. Glomerulus je uložen na začátku ledvinného kanálku do dvojlistého Bowmanova pouzdra. Bowmanovo pouzdro a glomerulus tvoří



Obrázek 2 - Nefron

Převzato z <https://www.nizkobilkovinnadieta.cz/chronicke-onemocneni-ledvin/ledviny/jak-ledviny-funguji-co-to-je-nefron.html>

Malpighiho tělísko. Mezi listy je umístěn proximální kanálek, Henleova klička a distální kanálek. Distální kanálky přecházejí do sběracích kanálků, které ústí do dřevných pyramid ledviny. Na vrcholky pyramid se upínají ledvinové kalichy, které přecházejí do ledvinové pánvičky. Kapilárami glomerulů protéká krev, kde se plazma zbavuje látek, které se s přefiltrovanou vodou dostávají postupně do proximálního kanálku ledviny. (Čihák 2013, 18)

Funkci glomerulu a Bowmanova pouzdra můžeme nazvat filtrací, která propouští vodu, ve vodě rozpustné látky a látky s malou molekulovou hmotností. Nepropouští buňky (např. erytrocyty) a plazmatické bílkoviny. Tato přefiltrovaná tekutina se nazývá primární moč nebo glomerulární filtrát. Množství filtrátu je denně asi 180 litrů. Z tohoto množství se 99 % vstřebává v kanálcích zpět do oběhu a vzniká tak definitivní moč. Definitivní moči je denně kolem 1500 ml, množství závisí na příjmu tekutin. (Dylevský 2013)

3.3. Vývodné močové cesty

Mezi vývodné močové cesty řadíme ledvinovou pánvičku, močovod, močový měchýř a močovou trubici.

Na vnitřním okraji ledviny se nachází ledvinová pánvička, ze které vystupuje tenká trubice zvaná močovod. Močovod spojuje ledvinovou pánvičku s močovým měchýřem. Moč ze sběrných kanálků odkapává do kalichů. Z kalichů odtéká do pánvičky a zde dochází k jejímu hromadění. Pánvička se naplní, když obsah dosáhne 2 ml a v této chvíli je pomocí stahů posunuta moč močovodem do močového měchýře. Močovod je 30 cm dlouhá trubice, která ústí do močového měchýře. (Čihák 2013, Dylevský 2013)

Močový měchýř navazuje na močovod. Je to dutý svalový orgán, který mění svůj tvar podle obsahu moči, která se v něm hromadí. Močový měchýř se plní postupně. Jeho obsah se pohybuje kolem 400 ml. Při 150 ml máme pocit močení a vyprazdňuje se při objemu kolem 300 ml moči. Z močového měchýře putuje moč z těla pomocí močové trubice. (Dylevský 2013)

4. Preanalytika a odběr moči na vyšetření

4.1. Preanalytika

Lékař, případně laboratoř, je odpovědný za předání správných informací týkajících se přípravy pacienta na odběr a postupu při samotném odběru vzorku. Výsledky vyšetření by se měly vydávat, pokud jsou splněny podmínky preanalytiky.

K dispozici je velké množství postupů odběrů vzorků se specifickými výhodami a nevýhodami. Při rozhodování o nejlepším postupu je třeba vzít v úvahu možnosti pacienta. Nejčastěji získávaným vzorkem je střední proud první ranní moči, který by se měl odebírat do sterilních nádob. Dále se odebírají vzorky za určité časové období. U těchto vzorků dochází skoro z 50 % k nedodržení pokynů u sběru vzorku (jde spíše o ambulantní pacienty, kteří provádějí odběr sami doma). Jedná se především např. o špatně změřený objem, špatné odebrání vzorku, kontaminace vzorku, nepopsaná zkumavka a pozdní dodání vzorku do laboratoře. V případě nesprávného postupu odběru by se měl sběr nebo odběr provádět znovu. (Delanghe a Speeckaert 2014)

Pro transport nativní moči se nepoužívají žádná konzervační nebo fixační činidla. Pokud se použijí, tak by to měla být reagentie obsahující etanol, metanol nebo ledovou kyselinu octovou. Vzorek se musí do laboratoře dostat do 1-2 hodin po odběru a transportuje se při +4 až +8 °C.

4.2. Odběr moči

Podle typu vyšetření se odebírají různé vzorky moči, pacient musí být vždy poučen o jaký odběr se bude jednat a jak ho provést. Všechny druhy odběrných a sběrných nádob musí být řádně označeny pacientem, u sbírané moči i případným časem sběru.

4.2.1. První ranní moč

Nejvyužívanější odběr moči. Odebírá se při prvním ranním močení po spánku. Ranní moč je nejkoncentrovanější. Odebírá se asi 10ml středního proudu moči, první část je obohacena buňkami a bakteriemi z okolí uretry. Vlastní odběr se provádí nejlépe po ranní hygieně intimních partií, které by měly být co nejlépe očištěny. Moč se odebírá do čisté, suché a zavírací nádoby. Moč odebraná později může být již ovlivněna případným pohybem, potravou a tekutinami.

Ženy by se měly vyhnout odběru v období kolem menstruace a v době menstruace. Moč může být kontaminována případnou krví.

Vyšetření by se mělo provádět do dvou hodin po odběru, jinak vzorek uchováváme v lednici. Po odběru by se měl vzorek co nejdříve dostat do laboratoře. Čím později se vzorek změní, tím více může mít pozměněné složení (množení bakterií, rozpad buněk). (Benáková 2019)

4.2.2. Druhá ranní moč

Je to vzorek vymočený za 2-4 hodiny po prvním močení. Složení vzorku je již ovlivněno příjmem tekutin a potravin a případným pohybem. V této moči se vyšetřuje kvantitativně koncentrace kreatininu. (WikiSkripta 2021)

4.2.3. Náhodný vzorek moči

Odebírá se v případě akutního stavu pacienta. Patří sem odběr moči, kde není znám čas odběru ani připravenost pacienta. Vyšetření z tohoto vzorku není přesné, protože není dodržen správný postup odběru vzorku moči. (WikiSkripta 2021)

4.2.4. Sbíraná moč

Odebírá se moč v různých intervalech. Moč se odebírá do čistých sběrných nádob. Po dobu odběru by se měly nádoby ukládat na suchém a tmném místě.

Odběr za 3 hodiny slouží k vyšetření Hamburgerova sedimentu, kde se hodnotí přítomnost erytrocytů, leukocytů a válců. Na začátku odběru se pacient vymočí mimo sběrnou nádobku a všechna další moč se sbírá do odměrné nádoby.

Sběr moči za 24 hodin začíná a končí vždy ve stejnou dobu. Sběr začíná vždy vyprázdněním močového měchýře mimo sběrnou nádobu. Všechna další moč se sbírá do sběrných nádob. Sběrné nádoby musí být řádně označeny. Pacienti musí změřit celý objem s přesností na 10 ml, v případě, že to není možné, tak posílají celý objem do laboratoře nebo k lékaři. Pokud pacient má možnost změřit objem, tak posílá do laboratoře vzorek o objemu kolem 10 ml. (Benáková 2019)

5. Fyzikální vyšetření moči

Mezi fyzikální vyšetření můžeme zařadit objem moči, když sledujeme množství moči vyprodukované za den. Dále se zde setkáváme s hodnocením vzhledu. Do vzhledu můžeme zařadit barvu, zákal, pěnu a popřípadě i zápach. Poté se zde setkáváme se změřením hustoty, osmolality a pH.

5.1. Stanovení objemu moči

Vyšetřuje se spíš u sbírané moči. Objem se měří v odměrných nádobách. Množství závisí na příjmu tekutin během dne, normální množství je kolem 1500 ml/den, minimální množství je 600 ml/den.

5.1.1. Změny množství moči

Jedná se o změny tvorby a následné vyloučení moči z těla za den.

- **Polyurie = nadměrné močení**

Člověk vymočí více jak 2500 ml moči za den. Rozlišujeme dva stavy polyurie, jedná se o typ vodní polyurie a osmotické polyurie.

U vodní polyurie se jedná o snížené vstřebávání vody v nefronu, přesněji v jeho distálním úseku. Tubulární resorpce a vylučování látek je v normě. Setkáváme se s ní při vyšším příjmu tekutin.

Osmotická polyurie je způsobena sníženým tubulárním vstřebáváním nebo zvýšenou filtrací osmoticky aktivních látek. Vyskytuje se u diabetes mellitus nebo při selhání ledvin. (WikiSkripta 2021)

- **Oligurie = snížené močení** – méně jak 400 ml/den

Denně se vyloučí méně jak 400 ml. Jedná se o příznak selhání ledvin. Příčinou může být nedostatečný příjem tekutin, dehydratace, zvýšené ztráty vody (např. průjemy, pocení). Dále může být způsobena obstrukcí vývodných cest močových (nádory, močové kameny). (WikiSkripta 2021)

- **Anurie = zástava močení** – méně jak 100 ml/den

Denní vyloučení moči je menší jak 100ml. Je to významný pokles denní diurézy nebo její úplné zastavení. Vyskytuje se u selhání ledvin. Akutní anurie vzniká při akutním selhání ledvin. U chronického selhání ledvin je anurie dlouhodobá nebo i trvalá. (Merta 2011)

5.2. Vzhled moči

Posuzuje se zde barva, zákal, zápach a pěna. Vyšetření vzhledu se nevyžaduje, jde jen o vodítko k patologickým změnám.

5.2.1. Barva

Fyziologická moč má nažloutlou barvu a je závislá na příjmu tekutin. Čím více člověk pije, tím má světlejší moč, nejvíc koncentrovaná je při prvním ranním močení. Intenzita zbarvení odpovídá u zdravých jedinců přibližně její hustotě. Červená barva je způsobena přítomností krve (erytrocyty, hemoglobin, myoglobin) nebo se vyskytuje také po požití červené řepy. Červené zbarvení se také vyskytuje při onemocnění ledvin a vývodných močových cest, popálenin, u nekrózy a zánětech svalů, při intravaskulárních hemolýzách atd. Přítomností bilirubinu vzniká hnědé až tmavohnědé zbarvení, při delším stání na vzduchu se oxiduje na biliverdin, což způsobuje zelenou barvu moči. Bývá například u onemocnění jater a žlučových cest a při melanomu. Různé zbarvení moči může nastat i při podání různých léků. Po riboflavinu (vitamín B) je moč sytě žlutá. Přítomnost fenolftaleinu v těle způsobuje zbarvení alkalické moči růžově. Zelená barva moči se vykytuje po užívání některých léků, jako jsou například propofol a methylenová modř. Modrozelené zbarvení způsobují organické látky. (Sun a Huang 2018)

5.2.2. Zákal

Čerstvá moč bývá čirá. V chladnoucí moči se může objevit fyziologický zákal zvaný Nubecula. Mírný zákal vzniká už po několikahodinovém stání a je způsoben vysrážením mukoproteinu. Cihlový zákal moči způsobuje přítomnost urátů a erytrocytů. Přítomnost fosforečnanů, leukocytů, hnisu, bakterií nebo kvasinek způsobuje bělavý zákal. (Homolka 1982)

5.2.3. Pěna

Fyziologická pěna rychle mizí a není již přítomna při stanovení. Přítomnost pěny zjišťujeme protřepáním zkumavky. Barva pěny souvisí s barvou moči. Přetrvávající pěna je způsobena přítomností glukózy a bílkovin. Může se objevit i pěna od saponátů, která se vyskytuje u nesterilních odběrových nádob, které si pacienti doma připraví sami (skleničky od přesnídávek, léků a dalších doma přítomných nádobek). (Khitan a Glassock 2019)

5.2.4. Zápach

Samostatná moč má charakteristický zápach. Různé potraviny (např. česnek) a léky mohou zápach určitým způsobem změnit. Ovocnou vůni způsobuje přítomnost acetonu, někomu spíš připomíná hnilý ovoce, objevuje se u špatně léčeného diabetu mellitu. Při těžkých infekcích močových cest má moč sirovodíkový zápach. Může být také cítit po alkoholu v jeho přítomnosti. Zápach je nutné vyšetřovat z čerstvé moči, ve starší moči dochází k rozkladu, a to způsobuje charakteristický amoniakový zápach. (Homolka a Kulenda 1984)

5.3. Relativní hustota

Je to bezrozměrné číslo udávající specifickou hmotnost ve vztahu ke specifické hmotnosti vody. Relativní hustota je dána hmotností všech rozpuštěných látek vyloučených do moči. Zdravý dospělý člověk vyloučí za den moči přibližně 60 gramů pevných látek rozpustných ve vodě. Pevné látky se skládají z poloviny z organických látek, jako je například

močovina a z druhé poloviny anorganickými látkami, kam patří převážně draselné, chloridové a sodné ionty.

Hustota kolísá podle potřeby ledvin vylučovat koncentrovanější nebo zředěnější moč z těla. Na koncentraci moči má hlavní podíl příjem tekutin. Při nízkém příjmu tekutin zadržují ledviny vodu a vyloučená moč má vyšší hustotu. Pokud je přísun tekutin velký, tak se ledviny přebytečné vody zbavují a hustota vyloučené moči je nízká. Na udržování stálého objemu a hustoty tělesných tekutin se podílejí některé hormonální systémy a krevní oběh. Dojde-li k jejich poruše, tak nemá moč odpovídající hustotu. Proto je určení hustoty jedna z nejdůležitějších informací. (Homolka 1982)

Hustota stoupá s počtem rozpuštěných částic v moči. Však všechny částice neovlivňují hustotu stejně. Jedná se především o látky, které se v moči normálně nevyskytují, jako jsou bílkoviny, glukosa, manitol a další. Tyto látky mají velkou molekulovou hmotnost a zvyšují tak hustotu moči. (Homolka a Kulenda 1984)

Hustotu měříme osmometrem, refraktometrem a urometrem.

5.4. Osmolalita

Osmolalita je mírou celkové koncentrace částic rozpuštěných v roztoku. Hodnota osmolality je závislá na jejich množství, nesouvisí s molekulovou hmotností ani případným elektrickým nábojem. Je to tlak osmoticky aktivních látek v 1kg rozpouštědla (vody). Mezi osmoticky aktivní látky jsou anionty a kationty, nízkomolekulární látky, močovina a další látky. Vzestup osmolality způsobuje například močovina nebo draslík. (Homolka a Kulenda 1984)

Měří se osmometrem, většina pracuje na principu kryoskopie. Kryoskopie je založena na snížení bodu tuhnutí roztoku oproti bodu tuhnutí čistého rozpouštědla (vody).

5.5. pH

V ledvinách probíhá úprava acidobazické rovnováhy. Ledviny zadržují nebo vylučují vodíkové ionty H^+ . pH moči se vyskytuje v rozmezí 5-6,5, což je mírně kyselé. pH je nejvíce ovlivněno složením potravy jedince. Vegetariáni mají spíše alkalické pH a lidé konzumující spíše masitou stravu neboli stravu bohatou na bílkoviny mají pH acidické. (Homolka 1982)

Při těžkých infekcích močových cest a ledvin je možné dosáhnout pH i 9. U horeček je pH spíše kyselé. Sledováním pH moči se můžeme poučit o mimoledvinných i ledvinných poruchách acidobazické rovnováhy tělních tekutin.

pH se stanovuje z čerstvé moči a měříme ho pomocí diagnostických proužků nebo potenciometrií. V současné době se preferuje měření pomocí diagnostických proužků.

6. Chemické vyšetření moči

Používá se pro průkaz látek, které se v moči za normálních podmínek nevyskytují. Patří sem vyšetření pomocí diagnostického proužku a zkumavkové reakce. Je to základní chemická analýza moči, kam patří vyšetření pH moči a průkaz přítomnosti bílkoviny, glukózy, ketolátek, žlučových barviv, krve, leukocytů, nitritů a orientační stanovení hustoty.

V současné době se nejvíce využívají diagnostické proužky. Zkumavkové reakce slouží pro ověření výsledků diagnostických proužků.

6.1. Vyšetření pomocí diagnostických proužků

Diagnostické proužky můžeme vyhodnocovat pouhým okem, kde porovnáváme zbarvení reagenčních zón s barevnou škálou, nebo v přístroji, kde jsou jeho součástí reflexní fotometry a umožňují tak automatické nebo poloautomatické vyhodnocení proužků. Vyšetření moči pomocí proužků může provádět i sám lékař v ordinaci pouhým okem nebo si vzorek posílá do laboratoře, kde je změřen pomocí přístroje.

Existuje mnoho výrobců diagnostických proužků, např. firma Lachema, Siemens nebo Roche Diagnostics.

6.1.1. *Vlastní provedení testu diagnostickým proužkem*

Ponoříme proužek do moči a hned vytáhneme, při delším ponoření by mohlo dojít k vymytí reagencií. Odečteme po uvedené době, přibližně kolem jedné minuty, každá reagenční zóna má jinou dobu odečtu. Výsledky zbarvení porovnáváme s barevnou škálou a odečteme co nejrychleji. Dlouhé odečty mohou způsobit zkreslení výsledků.

6.1.2. *Průkaz leukocytů*

Průkaz leukocytů (leukocyturie) je založen na stanovení esteráz v neutrofilních granulocytech. Doba pro odečet reakce na reagenční zóně je asi 120 sekund. Detekce je specifická pouze pro elementy s esterázovou aktivitou, jiné morfologické složky moči nereagují. Výhodou je, že při rozpadu leukocytů nesprávným skladováním moči je reakce pořád pozitivní. (Teplan 2010)

Příčinou výskytu leukocytů je např. bakteriální zánět močových cest nebo ledvin, cizí těleso v močových cestách (konkrement). (Racek 2006)

6.1.3. *Průkaz bakterií*

Většina bakterií vyvolávající močové infekce má schopnost redukovat dusičnany = nitráty na dusitany = nitrity (nitriturie). Doba pro odečet na reagenční zóně je přibližně 60 sekund. Vyšetření se provádí z ranní moči a co nejdříve po odběru, protože moč přes noc stagnuje v močovém měchýři. Při pozdním změření hrozí namnožení bakterií. (Racek 2006)

V případě negativního výsledku neznamená, že se v moči nevyskytují bakterie. Jsou pouze přítomny bakterie, které neredukují nitráty.

Vyšetření se používá při kontrole léčby. Přítomnost bakterií poukazuje na uroinfekci.

6.1.4. Průkaz bilirubinu a urobilinogenu

Jedná se o stanovení žlučových barviv v moči, bilirubinu a urobilinogenu. Každý parametr má svoji reagenční zónu. Doba pro odečet u bilirubinu je 30 sekund a u urobilinogenu je 60 sekund. Moč obsahující bilirubin je hnědá a pěna má žlutou barvu.

V reagenčních zónách se projevuje jejich reakce s diazoniovanou solí za vhodných podmínek. Obě žlučová barviva jsou na vzduchu snadno oxidována, takže správný výsledek dostaneme z čerstvé moči. Bilirubin se navíc dokáže rozkládat na přímém světle. Mohou se vyskytovat falešně negativní nálezy, a to v případě výskytu nitritů nebo urátů. (Racek 2006)

6.1.5. Průkaz ketolátek

Pro stanovení ketolátek (ketonurie) se nejčastěji používá reakce s alkalickým nitroprusidem sodným. Reakce se projevuje fialovým zbarvením. Reagenční zóna se odečítá asi za 40 sekund.

Ketolátky vznikají nadměrně všude, kde se získává energie z mastných kyselin, tedy z tuků. Jedná se např. o hladovění, nevhodné diety, špatné léčby diabetu nebo po dlouhodobém fyzickém výkonu. (Racek 2006)

6.1.6. Stanovení relativní hustoty

Reagenční zóna reaguje s močovými kationty, kterými jsou Na^+ , K^+ a NH_4^+ . Dochází k jejich výměně s H^+ ionty. Uvolnění H^+ iontů okyselí acidobazický indikátor, která je jinak alkalický. Projevem je změna barvy indikační zóny. Test má pouze orientační charakter. Doba odečtení pro hustotu se pohybuje kolem 45 sekund. (Racek 2006)

6.1.7. Průkaz krve/hemu

V tomto případě je reakce založena na průkazu hemu (hematurie). Pozitivní reakci dává hemoglobin v erytrocytech, ale i volný hemoglobin. Pokud je moč zbarvena do různých odstínů červené, tak můžeme mluvit o makroskopické hematurii. Principem chemického průkazu je, že hem katalyzuje štěpení organického peroxidu a uvolněný kyslík oxiduje bezbarvý chromogen na modrozelené barvivo. Reakci je nutné odečíst do jedné minuty. (Racek 2006)

Můžeme se zde setkat i s falešně pozitivním výsledkem, který mohou způsobit silná oxidační činidla (např. chloramin, který oxiduje chromogen na barvivo) nebo falešně negativním výsledkem, který může být způsoben silně redukujícími látkami (např. kyselina askorbová). (Racek 2006)

6.1.8. Stanovení hodnoty pH

Reagenční zóna obsahuje acidobazický indikátor, který umožňuje barevně odlišit hodnoty pH v rozmezí 5 až 9. Odečet je přesný na 0,5 jednotky pH. Barevné rozmezí je od oranžové přes nažloutlou a zelenou až po tmavě modrozelenou.

6.1.9. Průkaz glukózy

Stanovení je založeno na oxidaci glukózy vzdušným kyslíkem na γ -glukonolakton a peroxid vodíku. Peroxid vodíku je dále štěpen na vodu a kyslík. Kyslík oxiduje bezbarvý chromogen na barvivo. Reakci katalyzují enzymy glukózaoxidáza a peroxidáza. Odečet reakce se provádí za 60 sekund. Tímto testem detekujeme pouze glukózu, enzym glukózaoxidáza je pro ni specifický. Můžeme se zde setkat s falešně negativním nebo pozitivním výsledkem. Falešně negativní výsledek způsobují silně redukující látky, jako je např. kyselina askorbová. Falešně pozitivní výsledky mohou být v přítomnosti silných oxidačních látek, např. chloramin, který přímo oxiduje chromogen na barvivo. (Racek 2006)

6.1.10. Průkaz bílkoviny

Test pomocí diagnostických proužků je založen na schopnosti bílkoviny vyvolat vazbu na acidobazický indikátor, který je přítomen v reagenční zóně, a způsobí to jeho ionizaci a tím změnu barvy. Zde se můžeme setkat s falešně pozitivním výsledkem, pokud je silně alkalická moč. Proto se doporučuje provést kontrolu pomocí klasických zkumavkových metod (např. reakce s kyselinou sulfosalicylovou). Nejcitlivější je reagenční zóna na přítomnost albuminu.

Můžeme se setkat s falešně pozitivními výsledky, a to v případě přítomnosti dezinfekčních prostředků, hemoglobinu, u značně zvýšené leukocyturie nebo při pH větší než 8. významným potvrzením proteinurie je přítomnost válců v močovém sedimentu. (Teplan 2010)

Bílkovina v moči se objevuje při četných chorobných stavech.

6.2. Zkumavkové reakce

Slouží k chemickému průkazu látek v moči. V minulosti byly hojně využívány. Časem byly postupně nahrazeny používáním diagnostických proužků. Zkumavkové metody se stále využívají k ověření výsledků, které dávají diagnostické proužky a morfologická měření.

V současné době se používá pouze reakce s kyselinou sulfosalicylovou, která slouží k průkazu bílkovin v moči.

6.2.1. Stanovení bílkovin v moči

Za fyziologických podmínek se bílkoviny v moči vyskytují v nízkých koncentracích. K průkazu se využívá zkouška varem, Hellerova zkouška s koncentrovanou kyselinou dusičnou, ale nejčastěji se používá zkouška s kyselinou sulfosalicylovou. (Varga a spol. 1989)

- **Zkouška varem**

Bílkoviny se v přítomnosti octanového roztoku varem denaturují. Podle koncentrace vzniká zákal nebo sraženina.

Do dvou zkumavek si dáme vzorek moči, asi 2 ml. Do jedné zkumavky nic nepřidáváme, slouží nám k porovnání. Do druhé přidáme pár kapek octanového roztoku,

asi 0,2 ml 2,0 molárního roztoku a povaříme asi jednu minutu. Poté porovnááme s porovnávacím vzorkem a hodnotíme případný vniklý zákal nebo sraženinu. (Varga a spol. 1989)

- **Hellerova zkouška**

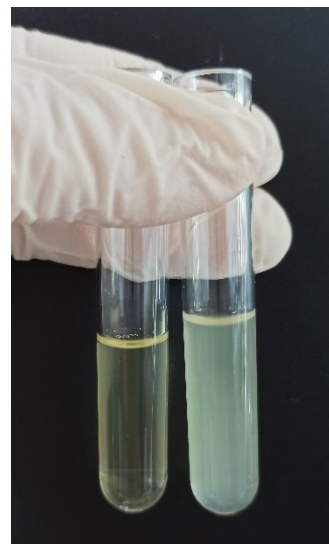
Princip je založen na denaturaci bílkovin. Do zkumavky dáme malé množství koncentrované kyseliny dusičné a pomalu po stěně zkumavky přidáváme moč. Se zkumavkou netřepeme.

V případě pozitivní reakce sledujeme vznik bílé sraženiny ve formě prstence na rozhraní kyseliny a moči.

- **Zkouška s kyselinou sulfosalicylovou**

Je založena na principu denaturace bílkoviny. Sledujeme vznik zákalu nebo sraženiny.

Vezmeme si dvě zkumavky a do každé dáme vzorek moči. Do jedné nepřidáváme nic a slouží nám jako porovnávací. Do druhé zkumavky po kapkách přidáváme kyselinu sulfosalicylovou. Sledujeme případný vznik bělavého zákalu nebo sraženinu, které se tvoří v pozitivní reakci, což nám značí přítomnost bílkoviny. (Varga a spol. 1989)



Obrázek 3 – Zkouška s kyselinou sulfosalicylovou

Tabulka 2 - Hodnocení u zkoušky s kyselinou sulfosalicylovou a zkoušky varem

| | |
|--|-----------|
| Žádná reakce | Negativní |
| Zákal viditelný pouze proti černému pozadí | Stopa |
| Mírný zákal, jde přes něj čist | + |
| Střední zákal, přes který jde stále vidět | ++ |
| Neprůhledný zákal | +++ |
| Mléčný zákal, mléčný zákal s přítomností vloček nebo sraženina | ++++ |

6.2.2. Stanovení glukózy v moči

Glukóza se za fyziologických podmínek v moči nevyskytuje. K prokázání glukózy v moči můžeme použít Benediktovu nebo Fehlingovou zkoušku. Jedná se o redukční zkoušky, protože cukry mají schopnost redukovat roztoky solí těžkých kovů. Redukci způsobuje volná aldehydická nebo ketonická skupina. Před provedením těchto zkoušek musíme zjistit, zda se v moči nevyskytuje velké množství bílkovin. Bílkoviny by nám mohly ovlivnit výsledek, mají též redukční vlastnosti. (Varga a spol. 1989)

- **Benediktova zkouška**

Jedná se o redukci dvojmocných iontů mědi na oxid měďný v alkalickém prostředí. Redukce se provádí za tepla a je doprovázena změnou barvy a tvorbou sraženiny.

Do zkumavky dáme asi 2 ml Benediktova činidla (modré barvy) a přidáme 4-5 kapek vyšetřované moči. Zkumavku s připraveným obsahem povaříme. Pozitivní reakce se projeví změnou barvy a vznikem sraženiny.

- **Fehlingova zkouška**

Princip je stejný jako u Benediktovy zkoušky. Glukóza redukuje dvojmocné měďnaté ionty na oxid měďný v alkalickém prostředí. Redukce je za tepla provázena změnou barvy a vznikem sraženiny.

Ve zkumavce si připravíme Fehlingův roztok smícháním Fehlingova roztoku 1 a 2 v poměru 1:1. vzniklý roztok má čirou modrou barvu. V další zkumavce smícháme 1:1 moč a Fehlingův roztok a povaříme. Pozitivní reakce se prokáže změnou barvy a tvorbou případné sraženiny.

Tabulka 3 - Hodnocení u Benediktové a Fehlingové zkoušky

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| Nezměněná reakce, zůstane modrá barva | Negativní |
| Zelená barva | Stopa |
| Zelená sraženina | + |
| Tmavě zelená sraženina | ++ |
| Oranžová sraženina | +++ |
| Červená sraženina | ++++ |

6.2.3. Stanovení ketolátek v moči

Za fyziologických podmínek se v moči vyskytuje velmi nepatrné množství ketolátek (ketonurie). Mezi ketolátky řadíme např. aceton nebo kyselinu acetoctovou. Na jejich průkaz můžeme použít Lastradetovu nebo Legalovu zkoušku. (Varga a spol. 1989)

- **Lestradetova zkouška**

Jde o reakci ketolátek s nitroprusidem v alkalickém prostředí. Vzniká červenofialové zbarvení.

Zkoušku můžeme provádět na filtračním papíře, ve zkumavce nebo v jamce skleněné destičky. Vezmeme malé množství činidla a nasypeme ho např. do zkumavky a přidáme pouze jednu kapku moči. Pozitivní reakce se projeví vznikem červenofialového zbarvení.

- **Legalova zkouška**

Principem je také reakce ketolátek s nitroprusidem v alkalickém prostředí. Výsledkem je vznik fialového zbarvení.

Připravíme si ve zkumavce roztok nitroprusidu sodného ve vodě. K roztoku přidáme pár kapek NaOH a pár kapek vyšetřované moči. Vznikne červené zbarvení. Nakonec přidáme několik kapek koncentrované kyseliny octové. U pozitivního výsledku vznikne fialové zbarvení a u negativního se změní barva na žlutou.

6.2.4. Stanovení bilirubinu v moči

Bilirubin se za normálních okolností v moči nevykytuje. Bilirubin můžeme prokázat Rosiniho zkouškou s jódem, Gmelinovou zkouškou s koncentrovanou kyselinou dusičnou nebo Naumannovou zkouškou. (Varga a spol. 1989)

- **Rosiniho zkouška**

Principem je, že se bilirubin oxiduje jodem na biliverdin, který má zelenou barvu. Provádí se tak, že na moč vrstvíme opatrně roztok jódu. V případě positivity vznikne na rozhraní prstenec zelené barvy.

- **Gmelinova zkouška**

Je to reakce bilirubinu s koncentrovanou kyselinou dusičnou. Do zkumavky dáme vrstvu moči a vrstvu kyseliny dusičné. V případě přítomnosti bilirubinu se na rozhraní objeví barevný kroužek.

- **Naumannova zkouška**

Bilirubin absorbujeme na talek. Působením železitých iontů se oxiduje na bilieganin a vzniká modré zbarvení.

Do zkumavky dáme 5 ml moči a přidáme malé množství talku (tak na špičku lžičky). Dobře promícháme a filtrujeme přes filtrační papír. Po přefiltrování kápneme do filtračního papíru 1-2 kapky Fouchetova činidla a sledujeme vznik případného zbarvení. Pozitivní reakce má modré zbarvení.

6.2.5. Stanovení urobilinogenu v moči

K vylučování urobilinogenu dochází močí a stolicí. Urobilinogen vzniká z konjugovaného bilirubinu. V moči se nachází malé množství a prokazuje se pomocí Ehrlichovy zkoušky. (Varga a spol. 1989)

- **Ehrlichova zkouška**

Jde o reakci p-dimethylaminobenzaldehydu s urobilinogenem v kyselém prostředí. Při reakci vzniká červené nebo oranžovočervené zbarvení. V této reakci mohou reagovat například i porfyriny nebo indol.

Do zkumavky dáme 1 ml moči a 1 ml Ehrlichova činidla. Pokud vznikne příslušné zbarvení, tak přidáme asi 2 ml nasyceného roztoku octanu sodného. Poté přidáme 3-5 ml organického rozpouštědla a zkumavku dobře protřepeme (extrakce barviva do organického rozpouštědla).

V případě positivity vzniká červené nebo oranžovočervené zbarvení.

6.2.6. Stanovení krve v moči

Krev v moči se vyskytuje při poškození vývodných močových cest nebo při poruše glomerulární filtrace.

K průkazu krve nebo hemu v moči můžeme použít Benzidinovou nebo Heitz-Boyerovu zkoušku.

- **Benzidinová zkouška**

Ve 2 ml kyseliny octové rozpustíme špetku benzidinu a přidáme podobné množství peroxidu vodíku. Tento roztok připravuje těsně před použitím. Do zkumavky si dáme vzorek připraveného roztoku a na něj navrstvíme moč. (Varga a spol. 1989)

V pozitivní reakci vzniká na rozhraní modrý prsteneček.

- **Heitz-Boyerova zkouška**

Do zkumavky dáme 1:1 moč a Heitz-Boyerovo činidlo. Činidlo nesmíme míchat. Poté obsah ve zkumavce převrstvíme 3 % peroxidem vodíku.

V pozitivní reakci se na rozhraní objeví červenofialové zbarvení.

7. Morfologické vyšetření moči

Morfologické měření se provádí pomocí analyzátoru nebo můžeme použít mikroskop. V současné době se málo využívá měření pomocí mikroskopu. Pokrok ve vývoji vyšetření odsunul mikroskopování moči na pozici ověřování. Většina analyzátorů provádí morfologické vyšetření a pracovník jenom provádí kontrolu vyhodnocení. Mikroskopické vyšetření moči se provádí v menších laboratořích, kde není velké množství vzorků. (Beňovská a Wiewiorka 2014)

V moči můžeme spatřit tyto elementy:

- Leukocyty
- Erytrocyty
- Válce (hyalinní, voskové, granulované, epiteliální, erytrocytární nebo leukocytařní)
- Krystaly
- Drť
- Kvasinky
- Spermie
- Bakterie
- Epitělie (přechodné, renální nebo dlařdicové)

Více o jednotlivých elementech bude v praktické část.

7.1. Příprava moči pro morfologické vyšetření a samotné měření

Používá se stejný vzorek jako na chemické vyšetření moči. Moč na vyšetření močového sedimentu musí být co nejdříve po odběru donesena do laboratoře. Při pozdním dodání může dojít k rozpadu buněk a válců. Rozpad nejvíce hrozí v alkalických nebo hypotonických močích.

Zkumavku s moči stáčíme při 500-600 g, což přibližně odpovídá 2000 otáčkách za minutu. Centrifugujeme přibližně 5-10 minut, záleží na nastavení v laboratořích. Odstředění se provádí ve speciálních zkumavkách, které mají zúžené dno pro zachycení sedimentu a požadovaného objemu moči (cca 0,4 ml moči). Dají se použít i normální zkumavky, kde se odpipetuje nepotřebná moč, tak aby zůstalo přibližně 0,4 ml moči. Před nanesením na podložní sklíčko nebo tzv. Fast Read komůrku sediment řádně promícháme. Na pozorování na podložním sklíčku stačí 20 μ l. Fast Read komůrku musíme řádně naplnit moči.

Morfologické vyšetření se provádí z 10x koncentrované moči při 400násobném zvětšení. Vzorek můžeme prohlížet na mikroskopickém sklíčku a počítáme elementy přibližně v deseti zorných polích nebo můžeme použít Fast Read komůrku, které umožňuje stanovit počet elementů na 1 μ l.

7.1.1. Barvení moči na mikroskopické měření

Na začátku si musíme připravit barvicí roztok v poměru 1:1. Smícháme alciánovou modř a pyronin B, například 200 μ l a 200 μ l. Poté vzniklé barvivo smícháme se vzorkem moči, přibližně 1-2 kapky barviva a 0,5 ml močového sedimentu. Pořádně moč a barvivo promícháme a necháme působit. Přibližně po 5 minutách přeneseme vzorek obarvené moči (asi 20 μ l) na podložní sklo a přikryjeme krycím sklíčkem nebo kápneme do Fast Read komůrky.

7.2. Hodnocení morfologického měření

Měření v analyzátoru i mikroskopické měření mají stejné hodnocení přítomných elementů. Každá laboratoř má svoje referenční meze pro hodnocení elementů v močovém sedimentu.

Jak jsem již výše psala, je možné sediment hodnotit na podložním sklíčku nebo ve Fast Read komůrce. Při obojím hodnocení používáme 400x zvětšení. Před samotným hodnocením pozorujeme homogenitu vzorku při 100x zvětšení.

U vyhodnocování močového sedimentu na podložním sklíčku počítáme elementy ve 20 zorných polích.

Fast Read komůrka je rozdělena do 10 velkých čtverců a každý velký čtverec se skládá ze 16 malých. Pro počítání elementů využíváme pravidla dvou stran. Vybereme si na sebe dvě kolmé strany a počítáme všechny elementy, co se jich dotýkají a všechny uprostřed čtverce. Vybrané strany používáme celé měření. Je to z důvodu, aby nedocházelo k počítání elementů dvakrát.

8. Cíl práce

Vyšetření moči patří v současnosti k jednomu ze základních vyšetření stavu pacienta. Skládá se z chemického vyšetření moči a morfologického vyšetření močového sedimentu.

Cílem mé práce bylo vytvořit močový atlas a zjistit, jak přesné je vyhodnocování močového sedimentu analyzátozem a vlastním okem.

Ve své práci se zaměřuji na vytvoření močového atlasu z převážně vlastních fotografií. Fotografie byly pořízeny během srovnávání mikroskopického a strojového měření močového sedimentu v nativních a barvených vzorcích.

Dalším cílem je srovnání již zmíněného mikroskopického a strojového měření močového sedimentu. Zjišťovala jsem, jaké jsou v tomto měření rozdíly a co může být přesnější.

9. Tvorba močového atlasu

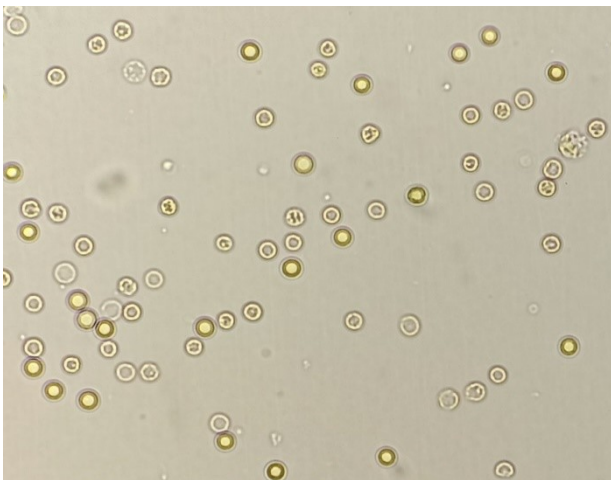
V této kapitole se zaměřuji na tvorbu močového atlasu. Jedná se o elementy nebo artefakty, které můžeme v moči naléznout, jejich stručný popis a případy, kdy se s nimi můžeme setkat.

Velká většina fotografií je z vlastního mikroskopování, které jsem prováděla v práci. Zbytek fotografií je doplněn z veřejně přístupných atlasů jako je např. <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js15/mikroskop/web/index.html> nebo <http://sekk.cz/atlas/>.

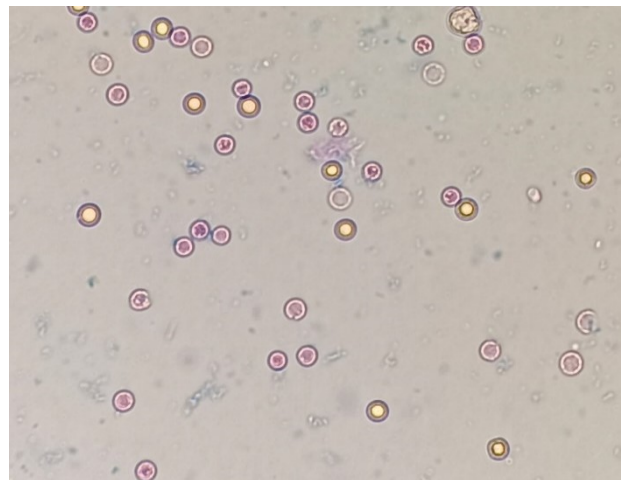
9.1. Erytrocyty

Erytrocyty jsou bezjaderné buňky bikonkávního tvaru o velikosti 10-12 μm . Je to jeden z nejmenších elementů, které se mohou vyskytovat v moči. V moči jsou jedním z nejběžnějších nálezů, a můžeme je sledovat mikroskopicky nebo už pouhým pohledem = makroskopicky. Pokud jsou přítomny v močovém sedimentu, měly by být prokázány i chemicky. (Beňovská a spol 2016)

Erytrocyty se do moči dostávají při poškození močového systému nebo při poruše glomerulární filtrace. Jejich výskyt znamená přítomnost nádoru, onemocnění nebo úrazu ledvin, močového měchýře, prostaty a vývodných cest močových. Mohou se také vyskytovat v případě fyzické námahy, u popálenin nebo svalových traumat.



Obrázek 4 - Erytrocyty v nativním preparátu



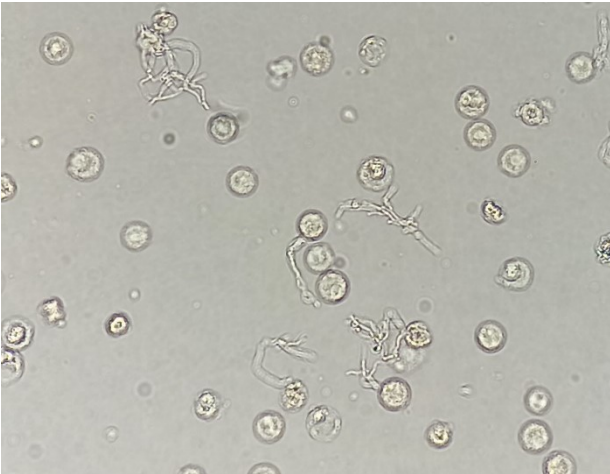
Obrázek 5 - Erytrocyty v barveném preparátu

9.2. Leukocyty

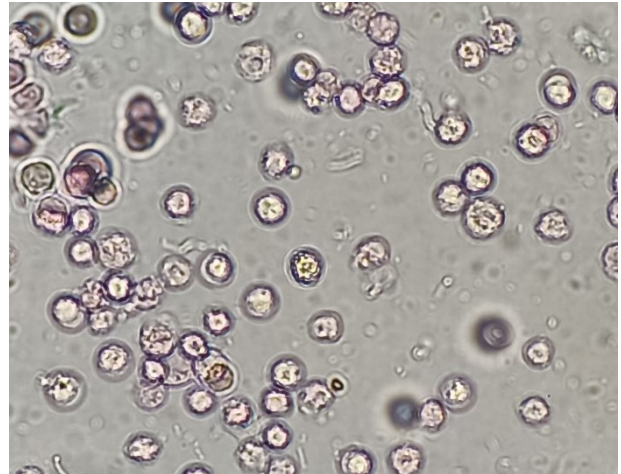
Jsou velké kolem 16-22 μm kulaté buňky s granulovanou cytoplazmou, která jde vidět v mikroskopu i u strojového měření, a segmentované jádro. V sedimentu nejčastěji vidíme neutrofilní granulocyty. Ojedinele můžeme vidět také lymfocyty (mají kulaté jádro, které vyplňuje většinu buňky), monocyty (jádro má tvar fazole) nebo makrofágy (jsou větší než ostatní lymfocyty). (Beňovská a spol 2016)

U leukocytů často dochází i k vytváření shluků. Spolu s leukocyty se často zároveň vyskytují bakterie a v menší míře i erytrocyty. Přítomnost leukocytů v moči je schopna tvořit mírný zákal.

Do moči se dostávají v místě zánětu z tubulů nebo močových cest. S přítomností leukocytů se můžeme setkat u zánětů ledvin nebo močových cest, u bakteriálních a virových onemocnění. Lymfocyty můžeme pozorovat po transplantaci ledvin.



Obrázek 6 – Leukocyty v nativním preparátu



Obrázek 7 – Leukocyty v barevném preparátu

9.3. Epitelie

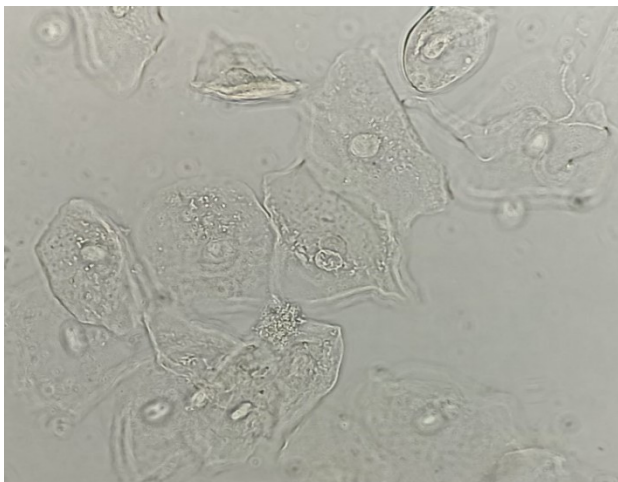
Jsou to odloupané buňky z epitelové výstelky močových cest. Jejich morfologický a patologický význam se liší podle místa jejich původu. Mají různé tvary a velikosti. (Kubáč a spol 2002)

Mezi epitelie řadíme dlaždicové epitelie, přechodné epitelie a renální tubulární epitelie.

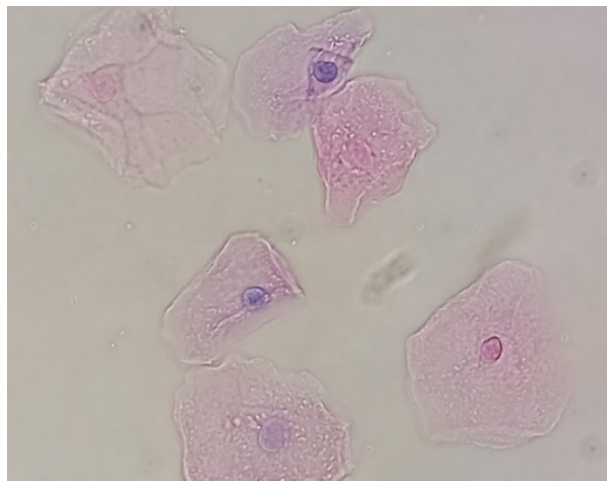
9.3.1. Dlaždicové epitelie

Jsou to největší buňky močového sedimentu, mají velikost kolem 55 μm . Tvarem jsou většinou nepravidelné nebo mohou připomínat ovál. Mají kulaté malé jádro umístěné převážně ke středu buňky a cytoplazma má zrnitou strukturu.

Jsou nejčastějším nálezem epitelii v močovém sedimentu. Vyskytují se převážně u žen, pochází z uretry nebo vaginy. Jejich množství je závislé na správném odběru moči. Nemají převážně žádný klinický význam. (Kubáč a spol 2002)



Obrázek 8 - Dlaždicové epitelie v nativním preparátu



Obrázek 9 - Dlaždicové epitelie v barveném preparátu

9.3.2. Přechodné epitelie

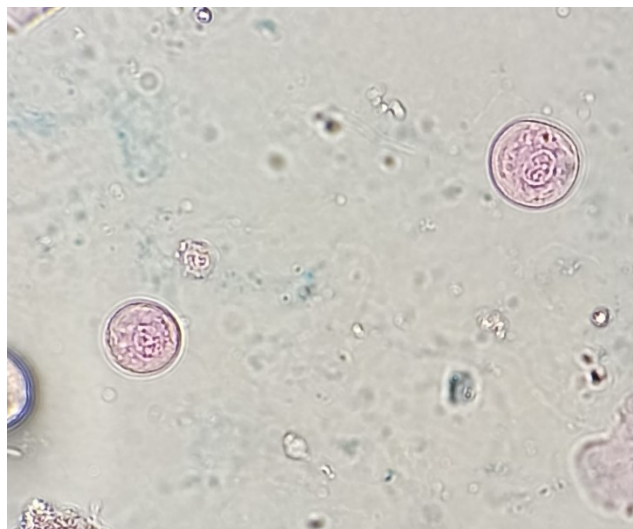
Pocházejí z vývodných močových cest. Jsou to velké (menší než buňky dlaždicového epitelu a větší než buňky renálního tubulárního epitelu) kulaté buňky s velkým jádrem uloženým nejčastěji uprostřed. Jejich velikost a tvar se také mohou lišit z důvodu jejich původního umístění. Mohou pocházet z močového měchýře nebo z uretry mužů nebo žen.

Fyziologicky je malý počet těchto buněk je normální, velké množství vzniká při infekci vývodných močových cest. Často se vyskytují spolu s leukocyty. (Beňovská a spol 2016)

Patří sem také ocasaté buňky přechodného epitelu, které pocházejí z hlubokých vrstev močového měchýře. Dále se můžou u buněk přechodného epitelu objevovat dvě jádra.



Obrázek 10 – Přechodné epitelie v nativním preparátu

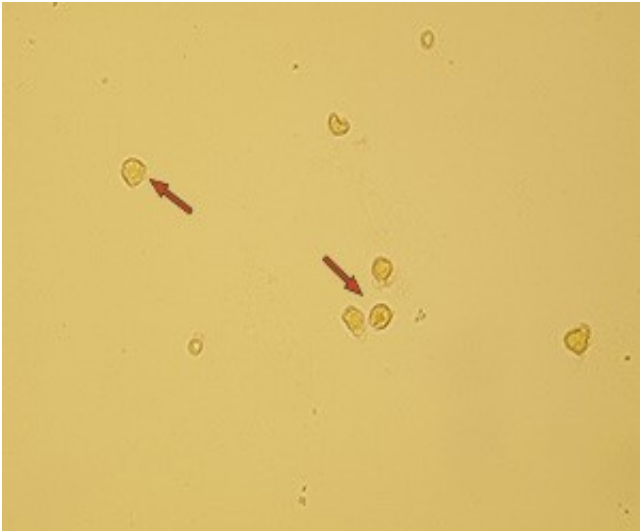


Obrázek 11 – Přechodné epitelie v barveném preparátu

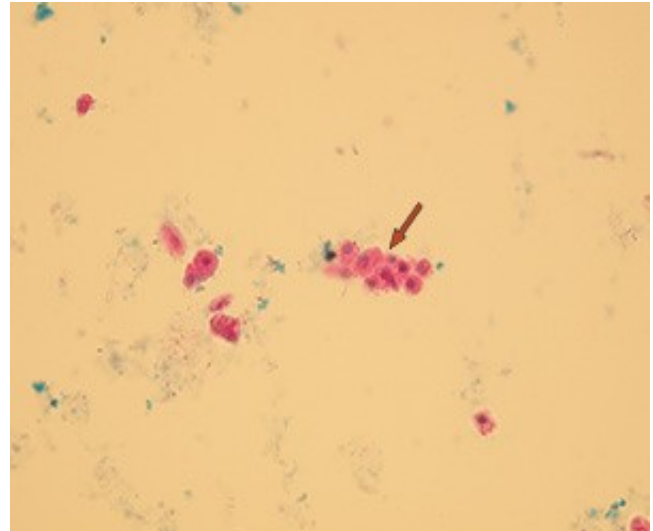
9.3.3. Renální tubulární buňky

Jsou to kulaté epitelie, asi dvakrát větší než leukocyty, s excentricky uloženým jádrem. Jádro zabírá asi dvě třetiny buňky. Pocházejí až z ledvin. Fyziologicky se v moči nevyskytují. (Kubáč a spol 2002)

Jejich nálezn je vždy patologický. Vyskytují se v moči při poškození tubulů. Jejich přítomností poukazuje na akutní tubulární nekrózu, na virovou infekci, lékovou toxicitu a dalších onemocnění. (Kubáč a spol 2002)



Obrázek 12 – Renální tubulární buňky v nativním preparátu



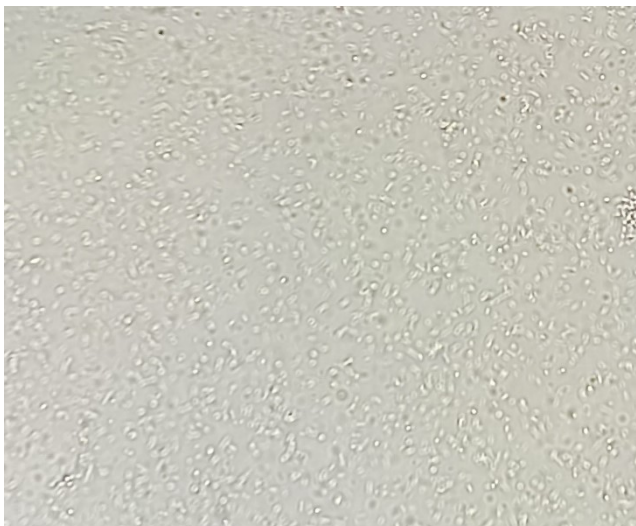
Obrázek 13 – Renální tubulární buňky v barveném preparátu

Převzato z <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js16/mikroskop/web/pages/epitelie.html#prettyPhoto>

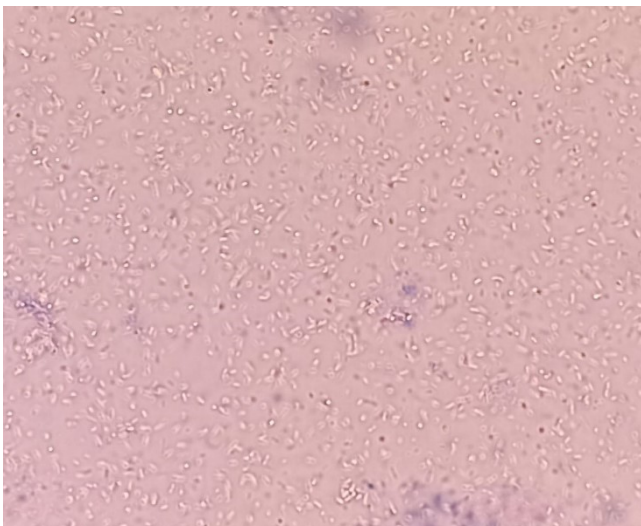
9.4. Bakterie

Vyskytují se běžně v moči v různém množství. Jsou to malé organismy, mají různý tvar, může být kulovitý až tyčinkový nebo se vyskytují v řetízkách či shlucích. Jsou velké několik mikrometrů. Moč s přítomností bakterií je nutno zpracovat co nejdříve, i ve vzorku moči dochází k jejich namnožení. V nativním preparátu jsou pohyblivé a v barveném už nepohyblivé.

Malé množství bakterií je fyziologicky přítomno. Jejich přítomnost je způsobena i špatně odebraným vzorkem, který je kontaminován okolím vývodných močových cest. Často se vyskytují spolu s leukocyty.



Obrázek 14 - Bakterie v nativním preparátu

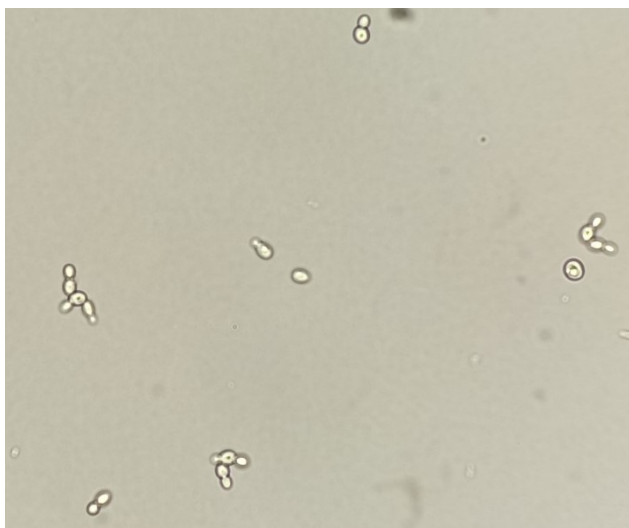


Obrázek 15 – Bakterie v barveném preparátu

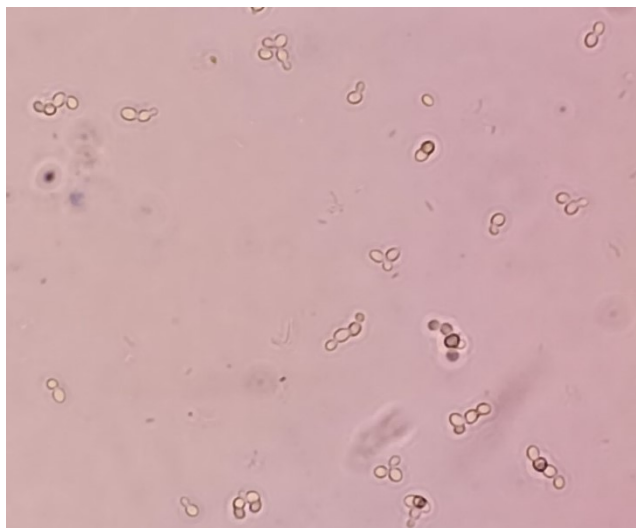
9.5. Kvasinky

Kvasinky jsou malé jednobuněčné organismy. Mají oválný tvar a rozmnožují se pučením. Jsou menší než erythrocyty. V moči se vyskytují jednotlivě nebo ve vláknech.

Nejčastěji se v moči vyskytuje *Candida albicans*. Jedná se o patologický nález. Vyskytují se u lidí s imunodeficiencí a léčených imunosupresivy. Mohou se vyskytovat u diabetiků, protože mají vyšší hladinu glukózy v moči a ta přispívá k růstu kvasinek. (Beňovská a spol 2016)



Obrázek 16 – Kvasinky v nativním preparátu



Obrázek 17 – Kvasinky v barveném preparátu

9.6. Válce

Vznikají v tubulech ledvin precipitací Tamm-Horsfallova glykoproteinů, který je sekretován z renálních tubulárních buněk. Tato bílkovina tvoří odlitky tubulů a v mikroskopu mají tvar dlouhého oválu. Válce jsou elementy, které mají renální původ. Velikost a šířka válců závisí na velikosti tubulů.

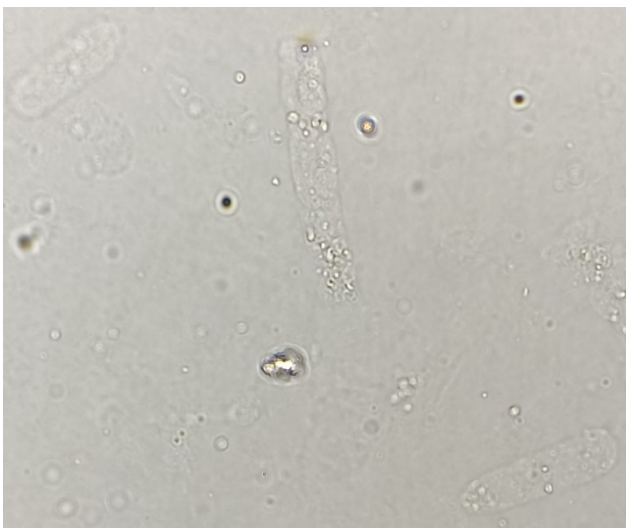
Vznikají při velké fyzické námaze, dehydrataci organismu, zvýšenou koncentrací bílkovin nebo při pomalém proudu moči.

Rozeznáváme válce hyalinní, granulované, voskové, tukové, buněčné (leukocytární, erytrocytární), bakteriální a smíšené.

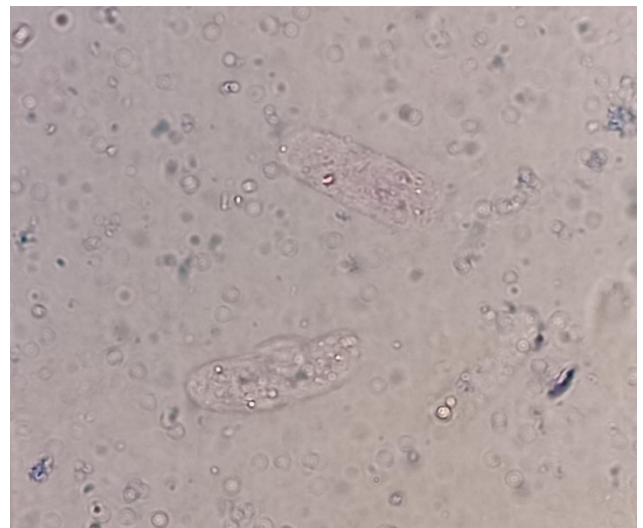
9.6.1. Hyalinní válce

Hyalinní válce jsou tvořeny pouze Tamm-Horsfallovým proteinem. Mají rovnoběžné okraje a zaoblené konce. V nativním preparátu jsou špatně viditelné, lépe jsou pozorovatelné v barveném. (Kubáč a spol 2002)

V malém množství se mohou vyskytovat i v moči zdravého člověka, např. po velké fyzické námaze, při dehydrataci nebo horečce. Jejich velké množství značí o výskytu proteinurii.



Obrázek 18 – Hyalinní válce v nativním preparátu



Obrázek 19 – Hyalinní válce v barveném preparátu

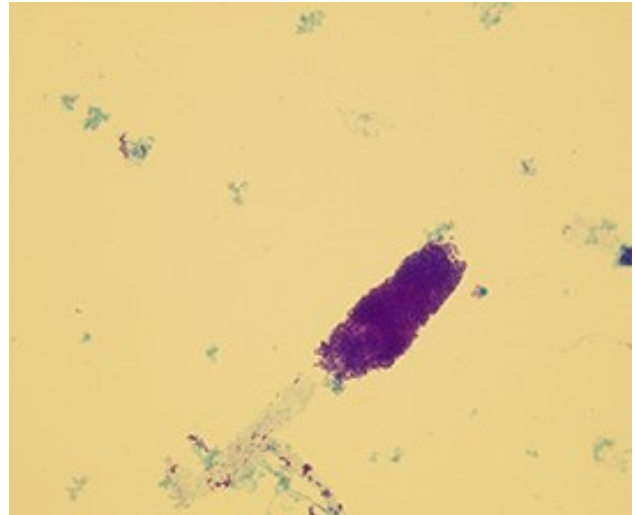
9.6.2. Granulované válce

Granulované válce se po hyalinních vyskytují jako druhé nejčastější v močovém sedimentu. Vznikají z buněčných válců rozpadem buněk. Z granulovaných válců mohou vznikat voskové válce.

Ve větším množství jsou patologickým nálezem. Fyziologicky se mohou vyskytovat u otužilců. Jejich výskyt nám ukazuje přítomnost patologických procesů, které probíhají v ledvinách. Vyskytují se u pacientů s proteinurií, při poškození tubulárních buněk nebo u tubulárních a glomerulárních ledvinových onemocnění.



Obrázek 20 – Granulovaný válec v nativním preparátu



Obrázek 21 – Granulovaný válec v barveném preparátu

Převzato z <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lfjs16/mikroskop/web/pages/valce.html#prettyPhoto>

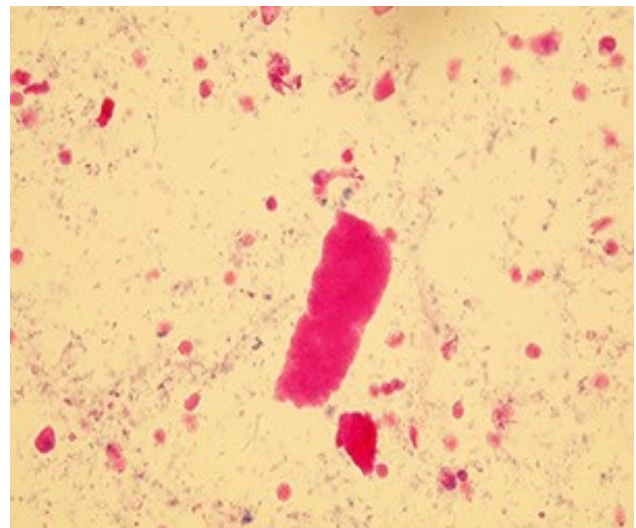
9.6.3. Voskové válce

Voskové válce vznikají z granulovaných válců. Jejich vývoj je dlouhý (několik hodin). Mají homogenní strukturu a jejich konce jsou nepravidelné a širší.

Dávají nám informace o poškození tubulů. Tyto válce se vyskytují při chronickém onemocnění ledvin a poukazují na závažnou proteinurii.



Obrázek 22 – Voskový válec v nativním preparátu



Obrázek 23 – Voskový válec v barveném preparátu

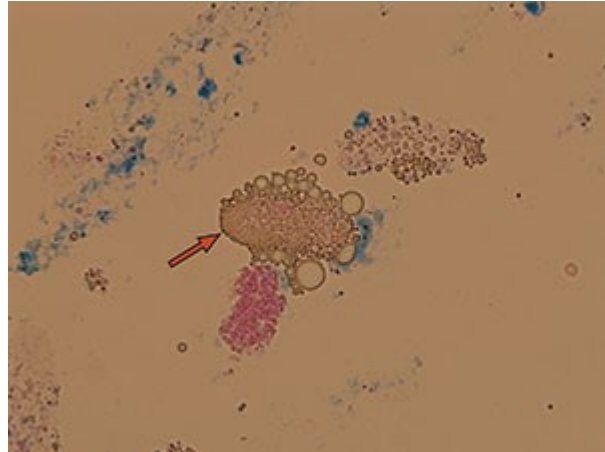
Převzato z <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lfjs15/mikroskop/web/pages/valce.html>

9.6.4. *Tukový válec*

Tukové válce obsahují tukové kapénky. Vznikají při zvýšené filtraci lipoproteinů. Na povrchu válce jsou tuková tělíska, která jsou tvořena cholesterolem nebo triacylglyceroly.

Vyskytují se v moči při renální insuficienci, nefrotickém syndromu, u diabetiků nebo po intoxikaci rtuť. Jsou typické u poškození glomerulů.

Více obrázků bohužel není možné sehnat, jsou velmi ojedinělé.



Obrázek 24 – Tukový válec v barveném preparátu

Převzato z <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js16/mikroskop/web/pages/valce.html#prettyPhoto>

9.6.5. *Buněčné válce*

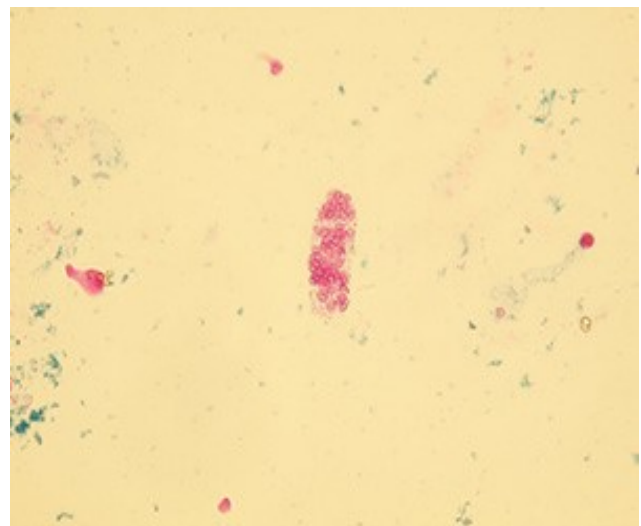
Buněčné válce jsou tvořeny buňkami, které se mohou vyskytovat v renálních tubulech. Jedná se o erythrocyty, leukocyty nebo epitelie. (Beňovská a spol 2016)

Pojem buněčný válec se používá všude, kde je válec vyplněn buňkami a nelze rozeznat o jaké buňky se jedná. Tyto válce se vyskytují v moči fyziologicky. (Kubáč a spol 2002)

Erythrocytové válce se vyskytují u lidí s glomerulární erythrocyturií. Leukocytové jsou u pacienta, který má zánětlivé onemocnění ledvin (mohou být nebakteriálního nebo bakteriálního původu). Epitelové válce jsou při poškození tubulů.



Obrázek 26 – Leukocytrátní válec v nativním preparátu



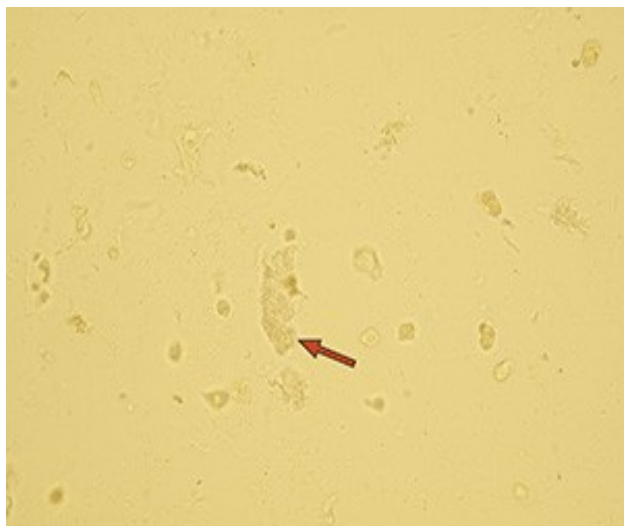
Obrázek 27 – Erythrocytrátní válec v barveném preparátu

Převzato z <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js15/mikroskop/web/pages/valce.html>

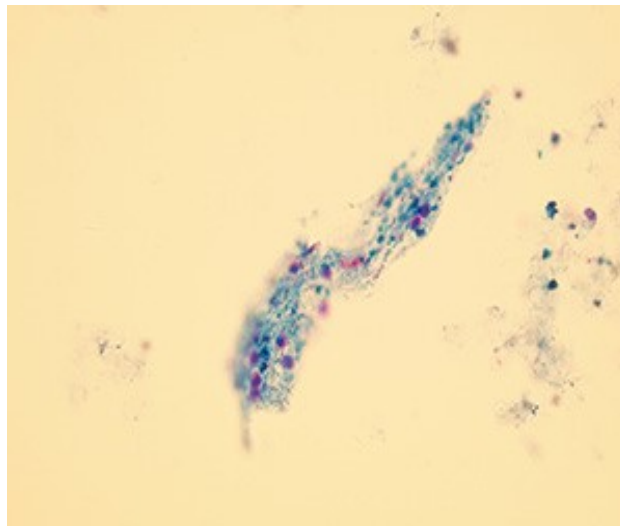
9.6.6. Bakteriální válce

Tyto válce jsou velmi vzácné. Vznikají při velké bakteriurii, kdy jsou zdrojem bakterie v ledvině a zároveň nesmí být poškozena schopnost tubulů a musí být přítomna dostatečná proteinurie pro vznik válců. Bakteriální válce jsou velmi křehké. (Kubáč a spol 2002)

Vyskytují se u poškození ledvin bakteriemi.



Obrázek 28 – Bakteriální váleček v nativním preparátu



Obrázek 29 – Bakteriální váleček v barveném preparátu

Převzato z <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js15/mikroskop/web/pages/valec.html>

9.7. Krystaly

Přítomnost některých krystalů (oxaláty) nebo amorfni drti není považována za významný klinický nález. Krystaly mají různou krystalovou strukturu a mají několik forem. Při hodnocení krystalů dbáme i na hodnotu pH. V nálezů mohou být klasifikovány struktury pouze jako krystaly bez další specifikace. (Beňovská a Wiewiorka 2014)

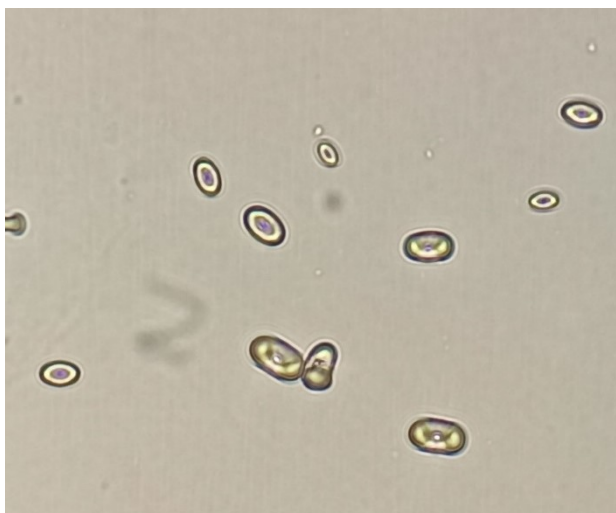
Nejčastěji se setkáváme v moči s oxaláty, krystaly kyseliny močové nebo krystaly fosforečnanu hořečnatu-amonného (tripelfosfáty). Ojedinele se vyskytují krystaly bilirubinu, cystinu nebo močanu.

9.7.1. Oxaláty

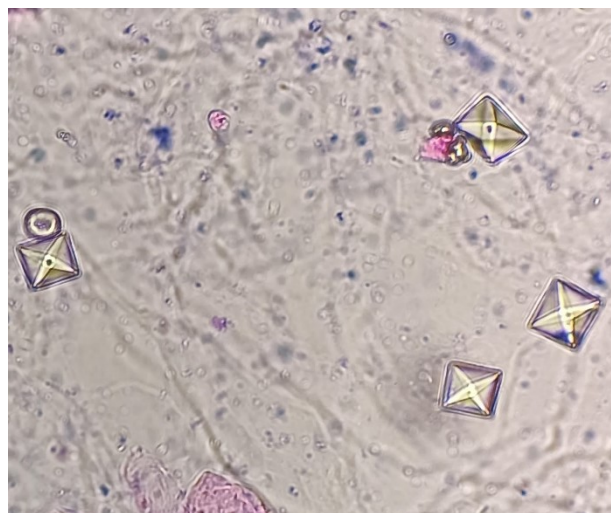
Tyto krystaly jsou tvořeny obtížně rozpustným šřavelanem vápenatým. Vyskytují se ve dvou formách, jako dihydrát, kdy mají tvar čtvercových obálek nebo jako monohydrát, které mají ovoidní tvar. Tvoří se při pH 5-6,5.

Monohydrát se může zaměnit i za erytrocyt, nejlépe je rozeznáme v barveném preparátu. Obě formy oxalátu se mohou vyskytovat jednotlivě nebo společně.

V moči mají malý klinický význam. Důležité jsou u lidí, kteří se v minulosti léčili oxalátovou lithiázou.



Obrázek 30 – Oxaláty monohydrát v nativním preparátu



Obrázek 31 – Oxaláty dihydrát v barveném preparátu

9.7.2. Krystaly kyseliny močové

Krystaly kyseliny močové se v moči vyskytují často. Objevuje se u pH 5-6,5. Její krystaly mají mnoho forem. Pokud nalezneme v sedimentu velké množství krystalů bez jasného tvaru, tak se většinou jedná o kyselinu močovou. (Kubáč a spol 2002)

Velký výskyt prokazuje urolitiázu, poruchu metabolismu purinů.



Obrázek 32 – Krystaly kyseliny močové v nativním preparátu



Obrázek 33 – Krystaly kyseliny močové v barveném preparátu

9.7.3. Triplfosfáty

Jsou krystaly fosforečnanu hořečnatu-amonného a jsou to největší krystaly k nalezení v močovém sedimentu. Mají tvar obdélníkové obálky nebo rakve. Vyskytují se u pH 6,5 a výše. (Kubáč a spol 2002)

Vyskytují se u pacientů, kteří trpí chronickou cystitidou nebo u nich dochází k zadržování moči.



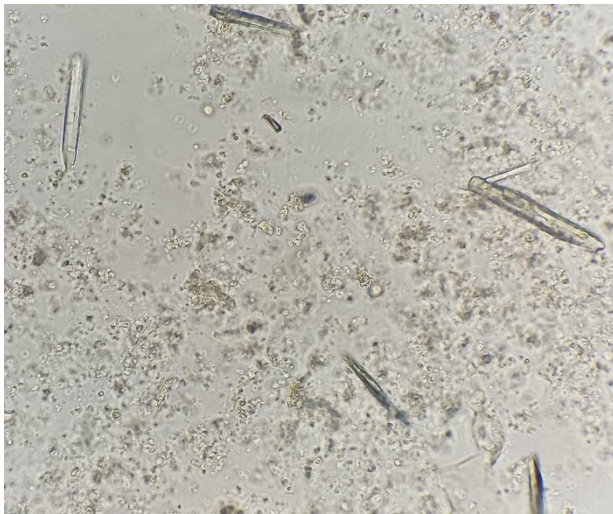
Obrázek 34 – Triplfosfáty v nativním preparátu



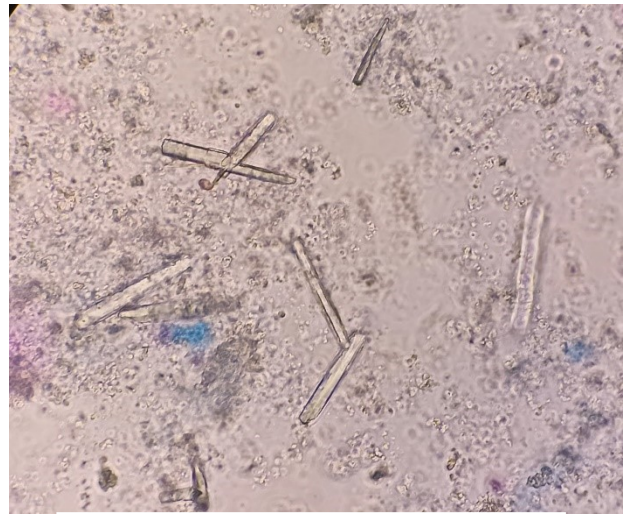
Obrázek 35 – Triplfosfáty v barveném preparátu

9.7.4. *Krystaly fosforečnanu vápenatého*

K přesné identifikaci se používá polarizační spektrometrie, kde nestáčí rovinu polarizovaného světla (kyselina močová ji stáčí). (Kubáč a spol 2002)



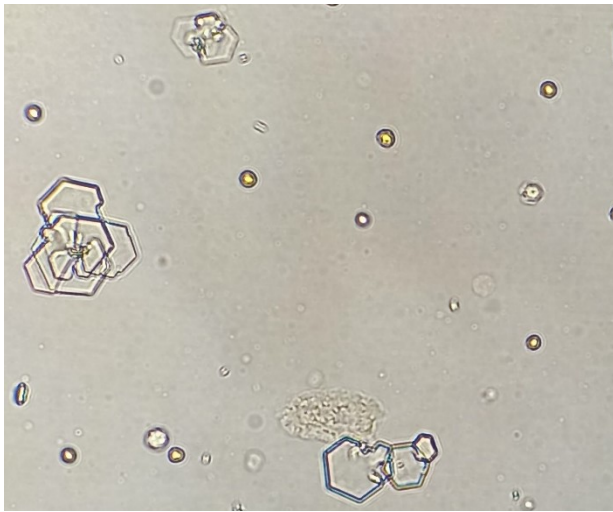
Obrázek 36 – Krystaly fosforečnanu vápenatého v nativním preparátu



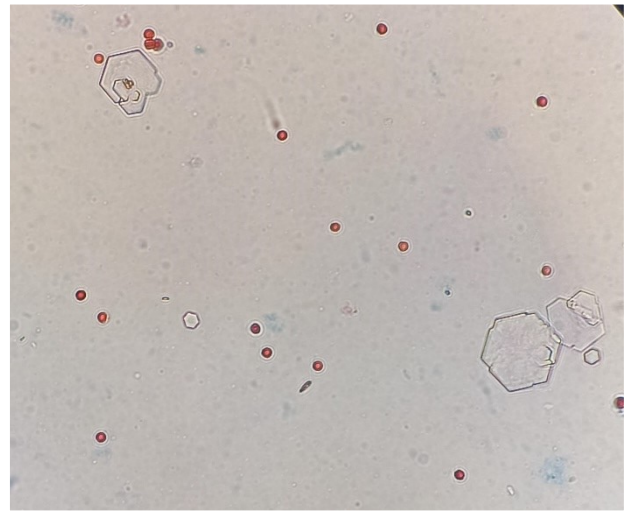
Obrázek 37 – Krystaly fosforečnanu vápenatého v barveném preparátu

9.7.5. *Krystaly cystinu*

Krystaly cystinu mají tvar plochého šestiúhelníku, někdy s deformacemi. Cystin se v moči vyskytuje při poruše vstřebávání v proximálních tubulech. (Kubáč a spol 2002)



Obrázek 38 – Krystaly cystinu v nativním preparátu

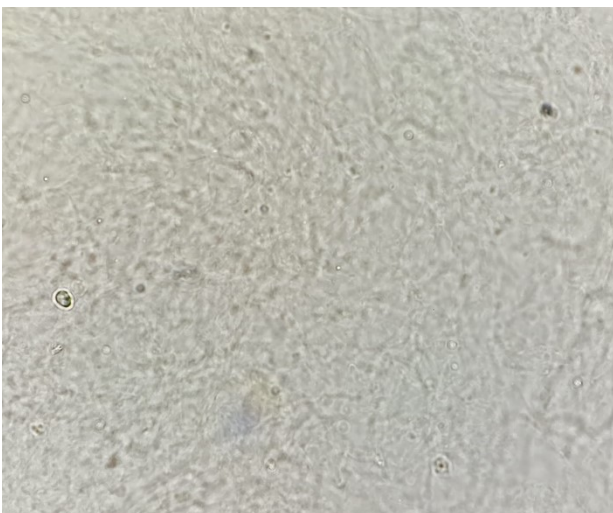


Obrázek 39 – Krystaly cystinu v barveném preparátu

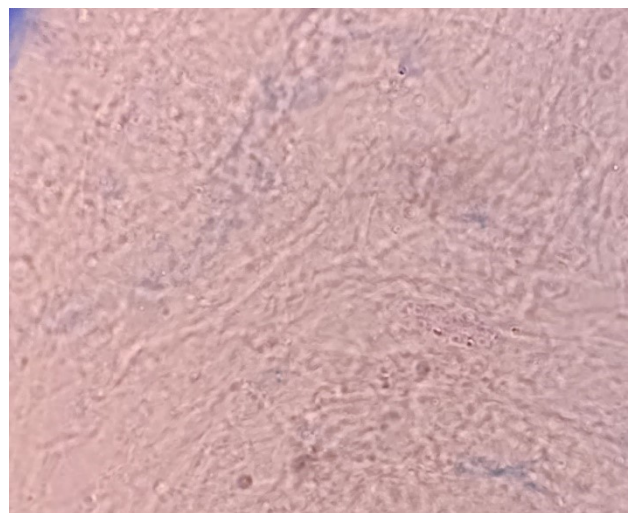
9.8. Hlen

Hlen je sekretován žlázami v močovém traktu a vagině. Vyskytuje se převážně u žen. Může mít vzhled vláken, na který se mohou přichytávat různé elementy v moči.

Je to běžný nález bez klinického významu. Zvýšená tvorba je při zánětlivých stavech nebo při špatně odebraném vzorku moči pro analýzu. (Beňovská a spol 2016)



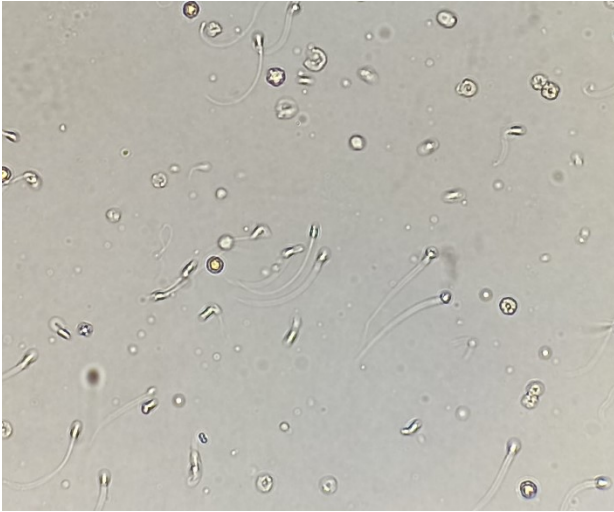
Obrázek 40 – Hlen v nativním preparátu



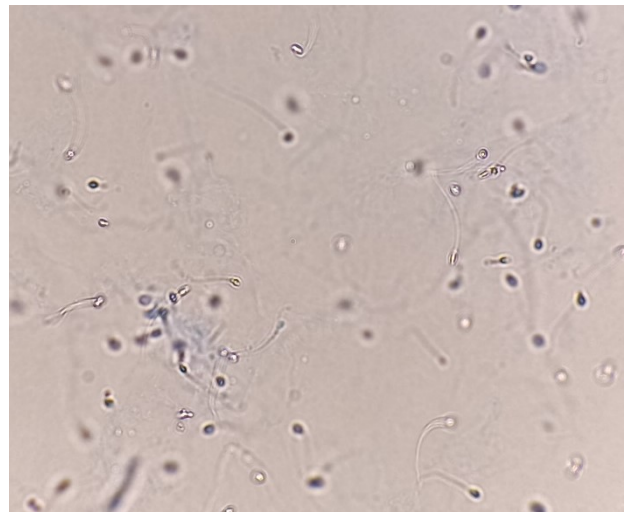
Obrázek 41 – Hlen v barveném preparátu

9.9. Spermie

Je to normální nález u mužů. Pokud je výskyt i u žen, tak není významný, ale zvyšují hladinu bílkovin v moči. Problém nastává u nezletilých dívek. (Beňovská a spol 2016)



Obrázek 42 – Spermie v nativním preparátu



Obrázek 43 – Spermie v barveném preparátu

10. Srovnání mikroskopického a strojového vyhodnocení močového sedimentu

Pro srovnání mikroskopického a strojového vyhodnocení močového sedimentu jsem se rozhodla z pracovních důvodů. V současné době pracuji v laboratoři, kde se stále ještě močový sediment vyšetřuje pomocí mikroskopu (pro pořízení stroje není dostatek vzorků). V předchozí laboratoři jsem se setkala s vyhodnocováním močového sedimentu pomocí analyzátoru LabUMat 2 a UriSed 2. Musím říci, že u mikroskopického vyhodnocování záleží hlavně na praxi a zkušenostech laboranta. U strojového vyhodnocení se zase nemůžeme spoléhat pouze na vyhodnocení analyzátořem, ale také musíme spoléhat na sebe. Výsledky musíme přikontrolovat a případně opravit.

10.1. Použité vybavení

- Analyzátorový systém LabUMat 2 a UriSed 2
- Mikroskop Olympus
- Barvivo (popis barvení viz. Kapitola 7.1.1.)
- Zkumavky
- Pasteurovy pipety
- Centrifuga MPV-223e
- Fast-Read komůrka (informace viz. Kapitola 7.2.)

10.2. Strojové měření

Na strojové vyhodnocování byl použit analyzátor LabUMat 2 a UriSed 2 od firmy BioVendor. Tyto dva stoje jsou spojeny v jeden komplex, kde na sebe plynule navazují, a vzorek je zde postupně změřen chemicky a následně mikroskopicky. Mohou být tedy spojeny fyzicky i softwarově. Výsledky z obou měření se spojí a jsou ukládány do databáze, kde je lze snadno dohledat.

LabUMat 2 je automatický močový analyzátor, který je schopný vyhodnotit za hodinu až 250 vzorků. Provádí se zde chemické stanovení moči. Vkládáme do něj diagnostické proužky, které se ze zásobovače pomocí podavače posouvají pod pipetor. Pipetor na každou diagnostickou zónu proužku kápne malé množství vzorku. Poté je proužek posunut do měřící části, kde jsou po určitém časovém úseku odečteny výsledky.

UriSed 2 je automatizovaný analyzátor močového sedimentu, který provádí mikroskopické měření vzorku. Stroj je schopný vyšetřit za hodinu až 150 vzorků. Do přístroje se vkládají zásobníky s měřícími kyvetami. Do kyvety je pomocí pipetoru napipatován vzorek moči. Kyveta je pomocí podavače vložena do centrifugy, kde je vzorek centrifugován a následně je posunut pod mikroskop s fotoaparát, který udělá deset snímků vzorku. Snímky se zobrazí na monitoru. Analyzátor na snímku označí zkratkami buňky a útvary, které potom sečte a vyhodnotí jejich počet. Poté vyhodnocuje snímky laborant a případné chyby opraví.



Obrázek 44 – Analyzatorový komplex LabUMat 2 a UriSed 2

Převzato z <https://www.omnia-health.com/product/labumat-2-urised-2-complete-urine-laboratory-system>

10.3. Mikroskopické měření

K mikroskopickému měření byl použit mikroskop značky Olympus typ Olympus CX 43-RF.

Mikroskop se skládá z okulárů, tubusu, stativu, objektivu, který je uložen v revolverové hlavici, držáku na preparáty, stolku, kondenzátoru a napájecího kabelu.

Měřila jsem mikroskopicky kolem 100 vzorků a vybrala jsem ty s nejrůznějšími nálezy. Mikroskopovala jsem při 400x násobném zvětšení.

Na minulém pracovišti se využíval k měření sedimentu analyzatorový systém LabUMat 2 a UriSed 2. Mikroskop se používal ojediněle, když nebyl jasný výsledek v analyzátoru nebo se objevil zvláštní útvar. Na současném pracovišti, jak jsem již zmiňovala výše, se stále využívá mikroskopická analýza, protože pro strojové využití není dostatečné množství vzorků.



Obrázek 45 – Mikroskop Olympus CX 43-RF

10.4. Soubor vzorků a výsledky hodnocení

Jak jsem již zmiňovala výše, mikroskopovala jsem kolem 100 vzorků a vybrala jsem ty, které mají pestré nálezy. Jedná se především o vzorky z LDN (= léčebna dlouhodobě nemocných) a některé jsou od praktických lékařů. Většina vzorků měla diagnózu Z000 = celkové vyšetření nebo Z008 = jiná celková vyšetření. Tyto diagnózy nejsou nijak specifické a nedá se říci, na co nás nález ve vzorku upozorňuje.

Vzorky jsem prvně změřila na analyzátorovém komplexu LabUMat 2 a UriSed 2. výsledky jsem zkontrolovala a případně poupravila podle vyfocených snímků s nálezem na fotografiích ze stroje. Dále jsem vzorky zcentrifugovala a připravila si sediment na mikroskopování. Připravila jsem si nativní preparát i barvený preparát (barvení viz. kapitola 7.1.1.). Pozorovala jsem vzorky pod mikroskopem při 400x násobném zvětšení. Výsledky jsem si zanášela do tabulek a porovnávala jsem výsledky.

Ve dvou tabulkách níže můžeme vidět porovnání strojového (=ST) a mikroskopického (=MIK) měření. Je zde vidět, že výsledky jsou si velmi podobné, velké rozdíly v nich nejsou. Největší důraz se musí vždy brát na lidský faktor neboli laboranta, vysokoškolského pracovníka nebo doktora. Výsledky močového sedimentu v analyzátoru se musí vždy zkontrolovat, zda je stroj vyhodnotil správně.

V mikroskopu zase laborant musí spoléhat na svoje vědomosti a praxi v hodnocení močového sedimentu. V případných nejasnostech se obrací na vysokoškolského pracovníka nebo doktora, který to s nimi projde a spolu výsledky zhodnotí.

Dá se říci, že v obou případech vyhodnocuje výsledky laborant. Bez lidského faktoru se zatím nemůžeme na 100 % spolehnout na analyzátor.

Tabulka 4 – Srovnání mikroskopického a strojového měření 1

| VZ | 5168 | | 5220 | | 5783 | | 5251 | | 5766 | | 5724 | | 5608 | | 5212 | | |
|-------|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|
| | DM | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK |
| ERY | - | - | - | - | 3 | 3 | - | - | 1 | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - |
| LEU | 3 | 4 | 1 | - | 1 | - | - | - | 4 | 4 | 3 | 3 | 1 | - | 3 | 2 | |
| EPIDL | - | - | 2 | 2 | - | - | - | - | - | - | 2 | 2 | 3 | 3 | - | - | |
| EPIPR | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| REN | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| BAKT | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | - | 1 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2 | 1 | - | 1 | |
| KVAS | - | - | - | - | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VHYA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VGRA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VBUN | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VOST | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| OXA | - | - | - | - | - | - | 3 | 2 | - | - | - | - | 2 | 2 | - | - | |
| KMOC | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| TRIPL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| KOST | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| HL | - | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | 1 | - | 2 | - | - | - | |
| SPER | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |

Tabulka 5 – Srovnání mikroskopického a strojového měření 2

| VZ | 5147 | | 5029 | | 5444 | | 6763 | | 7128 | | 9005 | | 1798 | | 2349 | | |
|-------|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|-----|
| | DM | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK | ST | MIK |
| ERY | 2 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | 2 | 1 | 2 | 1 | - | - | 1 | - |
| LEU | 4 | 4 | 2 | 1 | - | - | 1 | 1 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | - | - | |
| EPIDL | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 3 | 4 | - | - | |
| EPIPR | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| REN | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| BAKT | 3 | 3 | 3 | 3 | - | - | 1 | 1 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | - | 1 | |
| KVAS | - | - | - | - | - | - | 2 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VHYA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VGRA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VBUN | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| VOST | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| OXA | - | - | - | - | 2 | 1 | - | - | 1 | - | 1 | 1 | - | - | 2 | 2 | |
| KMOC | - | - | - | - | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| TRIPL | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| KOST | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| HL | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | 1 | - | 2 | - | 2 | - | |
| SPER | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 2 | |

11. Závěr

V teoretické části jsem popsala celkové vyšetření moči, jak chemické, tak morfologické. Shrnula jsem vývoj vyšetření moči a zaměřila jsem se na současné analýzy. V současné době se nejvíce využívá vyhodnocování chemické analýzy pomocí diagnostických papírků a vyhodnocení morfologie pomocí analyzátoru.

V praktické části jsem se zaměřila na tvorbu močového atlasu a srovnání strojového a mikroskopického vyhodnocení močového sedimentu. Vzniklý močový atlas bude částečně využit i v mém bývalém zaměstnání, kde jsem prováděla srovnávání, pro porovnávací účely a pro zaučování nových zaměstnanců. Dále jsem porovnávala strojové a mikroskopické vyhodnocování močového sedimentu. V této fázi jsem srovnávala výsledky z těchto dvou měření. Výsledkem mého porovnávání bylo to, že lidský faktor neboli laborant, vysokoškolský pracovník nebo doktor je důležitý u vyhodnocování. Bez tohoto faktoru se nedá spoléhat pouze na výsledky analyzátorů. Vyhodnocení analyzátozem musí být vždy kontrolováno. Závěrem bych ráda řekla, že jsem nenalezla velké rozdíly v mikroskopickém a strojovém vyhodnocování, výsledky vyhodnocování močového sedimentu oběma metodami jsou prakticky stejné.

12. Seznam zkratek

ERY – erytrocyty

LEU – leukocyty

EPIDL – dlaždicové epitelie

EPIPR – přechodné epitelie

REN – renální tubulární buňky

BAKT – bakterie

KVAS – kvasinky

VHYA – hyalinní válce

VGRA – granulované válce

VBUN – buněčné válce

VOST – ostatní válce

OXA – oxaláty

KMOC – krystaly kyseliny močové

TRIPL – triplfosfáty

KOST – ostatní krystaly

HL – hlen

SPER – spermie

VZ – vzorek

DM – druh měření

ST – stroj

MIK – mikroskop

13. Zdroje

BENÁKOVÁ H., *Preanalytická příručka Klinických laboratoří ÚLBLD*, verze 14, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 2019

BEŇOVSKÁ M., WIEWIORKA O. A TŮMOVÁ J., *Mikroskopické vyšetření moče*; Multimediální elektronický výukový materiál Masarykovi Univerzity; 2016 [citováno 16.5.2021]

BEŇOVSKÁ M. a WIEWIORKA O., *Mikroskopické vyšetření moče*, Brno: Masarykova univerzita, 2014

BERÁNEK M. a TICHÝ M., *Vybrané kapitoly z klinické biochemie: pro studijní program Zdravotnická bioanalytika*, Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2186-9

ČIHÁK, R. *Anatomie 2*, Třetí, upravené a doplněné vydání, Praha: Grada Publishing, a.s., 2013. 512 s. ISBN 978-80-247-4788-0.

DASTYCH M, a BREINEK P., *Klinická biochemie: bakalářský obor Zdravotní laborant*, Brno: Masarykova univerzita, 2008. ISBN 978-80-210-4572-9.

DELANGHE J, SPEECKAERT M., *Preanalytical requirements of urinalysis*, Biochem Med (Zagreb), 2014; 24:89-104, [citováno 20.5.2021]

DYLEVSKÝ I., *Základy funkční anatomie člověka*, V Praze: České vysoké učení technické, 2013, ISBN 978-80-01-05249-5

HALGUNSET J., MYREN-SVELSTAD S., *Urinundersøkelse gjennom tidene*, Utgave 6, 20. mars 2018, Tidsskr Nor Legeforen 2018, doi: 10.4045/tidsskr.17.0322, [citováno 8.3.2021]

HOMOLKA J., *Klinická biochemie pro praxi: stručná patobiochemie, indikace vyšetření a jejich interpretace*, Praha: Avicenum, 1982

HOMOLKA J. a KULENDA Z., *Klinická biochemie I: učebnice pro střední zdravotnické školy, studijní obor zdravotní laborant*, Praha: Avicenum, 1984

KHITAN Z. J. a GLASSOCK R. J., *Foamy Urine*, CJASN Nov 2019, 14 (11) 1664-1666; DOI: 10.2215/CJN.06840619, [citováno 20.4.2021]

KUBÁČ P. a kolektiv, *Atlas močového sedimentu On-line*, Sekk.cz, 2002 [citováno 20.5.2021]

MERTA, M. (2011), *Anurie*, Urol. Praxi, 12(5), 302-305, [citováno 1.4.2021]

MICHALSKÝ I, R, a MÍKA, D. (2014), *Z historie urologie (do poloviny 19. století)*, Solen, 15(1), 44-46, [citováno 5.3.2021]

Prispěvatelé WikiSkript, *Vyšetření moči* [online], c2021, datum poslední revize 18.02.2021, 09:31 UTC, [citováno 28.4.2021]
<https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Vy%C5%A1et%C5%99en%C3%AD_mo%C4%8Di&oldid=445912>

RACEK, J., et al, *Klinická biochemie*, Praha: Galén, 2006, druhé, přepracované vydání, ISBN 8072623249

SUN D. a HUANG S. S.H., Green urine, CMAJ Feb 2018, 190 (8) E224; DOI: 10.1503/cmaj.171498, [citováno 19.3.2021]

TEPLAN V., *Akutní poškození a selhání ledvin v klinické medicíně*, Praha: Grada, 2010, ISBN 978-80-247-1121-8.

VARGA F., KOVÁČ G. a BROZMANOVÁ E., *Klinická Biochemie – cvičení 1*, Praha: Avicenum, 1989