

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

Možnosti laboratorních vyšetření v ordinaci dětského praktického lékaře
Bakalářská práce

Vedoucí práce:
prof. MUDr. Miloš Velemínský, CSc.

Autor:
Hana Holoubková

7. 5. 2009

Feasibility of performing laboratory tests in the paediatrician's office

The thesis deals with feasibility of performing laboratory tests in the paediatrician's office. The objective of my thesis was to learn about the current state of feasibility of performing laboratory tests right in the paediatrician's office. To meet this objective I distributed questionnaires and visited twenty randomly selected pediatricians. Thereby I got familiar with the structure of tests used in paediatric practice. I have learnt to perform and interpret relevant laboratory methods.

The theoretical part of the thesis gives an account of examinations carried out in paediatricians' offices. It deals in detail with laboratory analyses performed on urine, blood, stool and swab samples.

The practical part gives a description of techniques of particular methods and their current use in paediatricians' offices. These methods are chemical examination of urine by using urinalysis reagent strips, examination of the urine sediment, Uricult examination, C-reactive protein determination, determination of sedimentation rate, determination of glycemia using glucometer, test for occult bleeding, rotavirus and adenovirus assay, Dentocult examination and detection of *Streptococcus pyogenes*. The results shown in graphs illustrate how frequently the methods are performed.

The hypothesis that paediatricians in non-state health facilities do not employ enough quick orientation laboratory tests in their practice was confirmed.

The thesis contributed to making a complete survey of the structure of laboratory tests used in current paediatric practice.

Like other disciplines, laboratory methods and techniques have been evolved in keeping with science and technology development. Therefore it is important to monitor this progress so that physicians could make use of the latest diagnostic methods.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Možnosti laboratorních vyšetření v ordinaci dětského praktického lékaře vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č.111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě archivovaných Zdravotně sociální fakultou elektronickou podobou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 7. 5. 2009

.....
Podpis studenta

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce prof. MUDr. Miloši Velemínskému, CSc. za věnovaný čas, trpělivost a podporu při zpracování této práce. Děkuji také všem lékařům účastnících se výzkumu při zjišťování metod a všem ostatním zdravotnickým zaměstnancům, kteří mi byli nápomocni v průběhu celé bakalářské práce. Dále děkuji své rodině za pomoc a podporu při studiu.

Obsah

Úvod.....	7
1. Současný stav.....	8
1.1 Vyšetření z moče	8
1.1.1 Diagnostické proužky k vyšetření moče	9
1.1.1.1 pH moči.....	9
1.1.1.2 Bílkovina v moči (proteinurie)	10
1.1.1.3 Glukóza v moči (glykosurie)	11
1.1.1.4 Ketolátky v moči (ketonurie).....	12
1.1.1.5 Bilirubin v moči (bilirubinurie)	12
1.1.1.6 Urobilinogen v moči (urobilinogenurie).....	12
1.1.1.7 Krev v moči (hematurie, hemoglobinurie)	13
1.1.2 Vyšetření močového sedimentu.....	13
1.1.2.1 Orientační morfologické vyšetření moče.....	14
1.1.2.2 Kvalitativní vyšetření močového sedimentu.....	14
1.1.2.3 Kvantitativní vyšetření močového sedimentu.....	17
1.1.3 Uricult	18
1.2 Vyšetření z krve	19
1.2.1 Vyšetření CRP	19
1.2.2 Vyšetření sedimentace erytrocytů.....	20
1.2.3 Vyšetření glykémie pomocí glukometru.....	22
1.3 Vyšetření ze stolice	23
1.3.1 Test na okultní krvácení.....	23
1.3.2 Průkaz rotavirů a adenovirů	24
1.4 Vyšetření z výtěrů a stěrů	26
1.4.1 Dentocult.....	26
1.4.2 Detekce Streptococcus pyogenes	27
2. Cíle práce a hypotéza.....	29
2.1 Cíl.....	29
2.2 Hypotéza	29

3. Metodika	30
3.1 Charakteristika souboru	30
3.2 Metodika vyšetření moče diagnostickými proužky	30
3.3 Metodika vyšetření močového sedimentu	31
3.4 Metodika vyšetření moči pomocí Uricultu	31
3.5 Metodika vyšetření CRP	32
3.6 Metodika vyšetření sedimentace erytrocytů	34
3.7 Metodika vyšetření glykémie pomocí glukometru	34
3.8 Metodika testu na okultní krvácení.....	35
3.9 Metodika průkazu adenovirů a rotavirů.....	36
3.10 Metodika vyšetření Dentocult.....	37
3.11 Metodika detekce Streptococcus pyogenes	38
4. Výsledky	40
5. Diskuze	45
6. Závěr	48
7. Klíčová slova	49
8. Seznam použitých zdrojů.....	50
9. Přílohy.....	54

Úvod

Bakalářskou prací na téma Možnosti laboratorních vyšetření v ordinaci dětského praktického lékaře jsem si vybrala proto, protože díky ní jsem měla možnost seznámit se s metodami používanými jinde než v samotných laboratořích.

Laboratorní vyšetření patří k nejdůležitějším vyšetřením a spolu s anamnézou, fyzikálním a přístrojovým vyšetřením je podkladem stanovení diagnózy. Hlavní význam spočívá v potvrzení nebo naopak vyloučení předpokládané diagnózy a v určení léčebného postupu. ⁽²⁷⁾

Mnoho laboratorních vyšetření, které se provádějí v laboratořích, potřebuje určitou dobu pro zjištění a stanovení výsledků ve vzorku. Době, kdy se lékař dozví výsledky, předchází několik fází. Fáze odběru materiálu, odeslání do laboratoře, zpracování materiálu a odeslání výsledků z laboratoře do zdravotnického zařízení. Tyto fáze označujeme jako část preanalytickou, analytickou a postanalytickou. Dětský lékař se však potřebuje často orientovat při diagnóze, někdy i okamžitě. Proto je vhodné provádět rychlá a orientační vyšetření přímo v ordinaci.

Cílem této práce bylo zjistit současný stav laboratorních možností vyšetření a využívání těchto metod u dětských lékařů přímo v ordinaci. Pomocí dotazníků a návštěvou dvaceti náhodně vybraných dětských lékařů jsem utvořila přehled o struktuře laboratorních vyšetření používaných v praktické pediatrii. Zjištěné laboratorní metody jsem se naučila ovládat a interpretovat.

1. Současný stav

Ke správnému určení diagnózy je téměř nezbytné provedení laboratorního vyšetření. Nejužitečnější informací pro ošetřujícího lékaře je informace co nejrychlejší. Proto v posledních letech nabyly na značném významu testy a metody prováděné přímo u pacienta. Cílem těchto metod je usnadnit a zkvalitnit diagnostickou rozvahu v rámci diferenciální diagnostiky, screeningu, monitorování průběhu nemoci a účinnosti léčby. Důležité je, aby testy a metody prováděné přímo v ordinacích byly jednoduché a rychlé. (10, 32)

Materiál potřebný k vyšetření se odebírá v ordinaci nebo vyšetřovaný člověk vzorek sám přinese. Rychlé orientační vyšetření se provádějí z moče, krve, stolice, výtěrů a stěrů.

V současné době lékaři využívají tato vyšetření. V moči provádí chemické kvalitativní vyšetření pomocí diagnostických proužků, vyšetření močového sedimentu a přítomnost bakterií ověřují testem Uricult. Z krve zjišťují hladinu CRP, rychlost sedimentace erytrocytů a hodnoty glykémie. Ve stolici prokazují přítomnost rotavirů, adenovirů a okultního krvácení. Přítomnost mikroorganismů *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus acidophilus* v zubním plaku nebo slinách zjišťují pomocí komerčně vyráběných testů Dentocult. Výtěrem z krku jsou schopni detekovat *Streptococcus pyogenes*.

1.1 Vyšetření z moče

Lékaři v současné době využívají k vyšetření moče tyto metody: chemické kvalitativní vyšetření pomocí diagnostických proužků, vyšetření močového sedimentu a přítomnost bakterií ověřují komerčním testem Uricult.

1.1.1 Diagnostické proužky k vyšetření moče

Pro orientační vyšetření moči se používají diagnostické proužky. I když se obvykle hovoří o kvalitativním vyšetření, umožňuje porovnání zabarvení políčka s barevnou škálou semikvantitativní posouzení. Základní chemická kvalitativní analýza zahrnuje vyšetření pH moče a průkaz přítomnosti bílkoviny, glukózy, ketolátek, bilirubinu, urobilinogenu a chemický průkaz krve v moči. Vyhodnocení se obvykle provádí subjektivně okem, to má zejména význam v ordinacích praktických lékařů, protože není potřeba speciálních vyšetřovacích přístrojů. Lze je také odečíst pomocí analyzátorů moči, které pracují na principu fotometrie. ⁽²⁰⁾

K běžnému chemickému a fyzikálnímu vyšetření je vhodná pouze první ranní moč, která má být doručena k vyšetření do jedné hodiny od vymočení. V tomto vzorku bývá koncentrace patologických příměsí obvykle největší. U déle stojící nekonzervované moči může dojít k bakteriální kontaminaci, což má za následek úbytek glukózy, posun pH do alkalické oblasti vlivem uvolněného amoniaku, rozklad žlučových pigmentů, redukci močoviny apod. ⁽⁵⁾

1.1.1.1 pH moči

pH moči závisí na charakteru přijímané potravy, na stavu ledvin a rovněž na dodržování správného postupu při vyšetření. pH se pohybuje v rozmezí od 4,5 do 8, nejčastěji je pH moče 5-6. Alkalurie se může vyskytovat při močových infekcích bakteriemi, které tvoří amoniak, nebo kvasinkami. Acidurie se vyskytuje u selhání ledvin, při hladovění nebo při špatně léčené cukrovce. ⁽³⁾

Test je založen na reakci směsného acidobazického indikátoru s barevným přechodem z oranžové přes žlutou a zelenou do modré v rozmezí pH 5-9. Hodnotu lze odečíst s přesností 0,5 jednotky pH. Reakci provádíme vždy v čerstvé nekonzervované moči, neboť starší moč má vlivem amoniakálního rozpadu slabě alkalickou reakci. ^(5, 19)

1.1.1.2 Bílkovina v moči (proteinurie)

Za normálních okolností je v moči přítomno minimální množství bílkovin, maximálně 0,15 g za 24 hodin. Velkou část těchto bílkovin tvoří albumin z plazmy, který má malou molekulovou hmotnost, filtruje se v glomerulech, není vstřebáván v tubulech a dostává se do definitivní moči. Tubuly jsou dalším zdrojem bílkovin, vylučují Tamm-Horsfallův mukoprotein. Toto fyziologické množství bílkovin v moči neprokážeme. Za patologický nález považujeme množství větší než 0,20g bílkovin za 24 hodin. Tento stav je označován proteinurie. Proteinurii rozdělujeme na prerenální, renální a postrenální. ^(3, 27)

Prerenální proteinurie se vyskytuje u lidí, kteří mají v plazmě zvýšené množství bílkovin s molekulovou hmotností nižší než 68 000. Jedná se o bílkoviny, které se do moči dostaly v důsledku patologického procesu, který probíhá jinde než v ledvinách. Typicky to je hemoglobin při intravaskulární hemolýze, myoglobin při zhmoždění většího množství svalů či lehké řetězce imunoglobulinů známé pod názvem Bence-Jonesova bílkovina u nemocných s mnohočetným myelomem. ^(3, 20)

Renální proteinurie se vyskytuje při onemocnění ledvin. Při poškození glomerulárního filtru proniká do primární moči větší množství proteinů; hovoříme o proteinurii glomerulární. Je-li poškození mírné, najdeme v moči hlavně albumin a bílkoviny o molekulové hmotnosti do 100 tisíc, např. transferin; tento typ proteinurie se nazývá selektivní glomerulární. Je-li poškození glomerulární membrány většího stupně, najdeme v moči kromě albuminu i bílkoviny o největší molekule (např. imunoglobuliny). Jedná se o glomerulární neselektivní typ proteinurie. Při onemocnění tubulárních buněk nemohou být dostatečně vstřebávány mikroproteiny, které prošly zdravým glomerulem. Nastává tubulární proteinurie, charakterizovaná močovým nálezem bílkovin o molekule menší než má albumin; k hlavním z nich patří β_2 -mikroglobulin, α_1 -mikroglobulin či lysozym. U lehké proteinurie množství bílkoviny nepřesáhne 0,5 g za 24 hodin. Při proteinurii středního typu je množství vyloučené bílkoviny 0,5-4 g za 24 hodin. Při vylučování více než 4 g bílkovin za 24 hodin se jedná o těžkou proteinurii. ⁽²⁰⁾

Postrenální proteinurie vzniká krvácením do vývodu močových cest a při jejich infekci. Močová bílkovina pochází z močových cest, např. při zánětech či krvácení. V obou případech je nález bílkoviny vedlejší a převládá leukocyturie resp. hematurie. (3, 20)

Za určitých okolností může nastat proteinurie i u zdravých osob, a to po prochlazení nebo naopak přehřátí organismu, při výrazné a déletrvající námaze, v těhotenství, u psychického stresu nebo po podání některých léků.

Důkaz bílkoviny v moči pomocí diagnostických proužků je založen na principu změny barvy acidobazického indikátoru vlivem proteinů. Test je zejména citlivý na albumin, podstatně nižší citlivost vykazuje vůči globulinům, mukoproteinům, hemoglobinu a Bence-Jonesově bílkovině. Reakce není ovlivněna pH moče v normálním rozsahu. (19)

Falešná pozitivita se může vyskytnout v bakteriálně kontaminované moči při jejím přechovávání za pokojové teploty (po 24h), v přítomnosti chininu, chinolinu, čistících a desinfekčních prostředků. U alkalické moči s pH vyšším než 8 může test také poskytnout falešně pozitivní reakci. (9, 19)

1.1.1.3 Glukóza v moči (glykosurie)

Glukóza v moči se za fyziologických okolností vyskytuje u dospělých osob do 0,72 mmol za 24 hodin a není běžnými metodami zachycována. Jedná se o množství glukózy, které se nevstřebalo v tubulech a dostalo se do definitivní moči. Glukóza se v moči obvykle prokáže, až když je její hodnota v krvi vyšší než 10 mmol/l. Glykosurie se může vyskytnout i při normální glykémii, při porušené glukózové toleranci. (3)

Důkaz glukózy v moči je založen na principu enzymové reakce za použití glukózooxidázy a peroxidázy a je specifický pro D-glukózu, ostatní cukry nedávají pozitivní reakci. Zóna reaguje na přítomnost D-glukózy vznikem světle až tmavě zeleného zbarvení. (19)

Falešná negativita se může vyskytnout v přítomnosti kyseliny askorbové při koncentraci nad 0,5 mmol/l nebo jiné redukující látky. Falešná pozitivita může nastat

při zbytcích čisticích a desinfekčních (oxidujících) prostředků (chloramin, persteril, peroxid).⁽⁹⁾

1.1.1.4 Ketolátky v moči (ketonurie)

Ketolátky jsou intermediární metabolity zahrnující acetoctovou kyselinu, β -hydroxymáselnou kyselinu a aceton. Ketolátky vznikají z nadbytku acetylkoenzymu A, který je hlavním produktem odbourávání mastných kyselin. Mohou se vyskytnout u různých stavů. Nejčastěji u neléčeného diabetu, při hladovění, u akutních horečnatých stavů, u úporného zvracení a průjmu.⁽¹⁰⁾

Důkaz je založen na principu Legalovy zkoušky, kdy ketolátky s nitroprussidem sodným v alkalickém prostředí vytvářejí fialové zbarvení. Test je citlivější na kyselinu acetoctovou než na aceton. S kyselinou β -hydroxymáselnou test nereaguje.⁽¹⁹⁾

1.1.1.5 Bilirubin v moči (bilirubinurie)

Bilirubin patří mezi žlučová barviva. Je produktem degradace hemoglobinu, k vychytávání dochází v játrech, vylučuje se do žluči a odtud do střeva, kde se mění na urobilinogen. V moči se objevuje při obstrukčním ikteru, kdy je zabráněno odtoku žluči do střeva nebo při poškození jaterního parenchymu (hepatitidy), kdy je porušena polarita žlučového a krevního pólu jaterní buňky a bilirubin se dostává zpět do krve. Stoupající koncentrace v krvi má za následek jeho přechod do moči. Za normálních podmínek se bilirubin v moči neprokáže.⁽³⁾

K důkazu se využívá reakce bilirubinu se stabilizovaným diazoniovými solemi v kyselém prostředí. Výsledkem je růžové až červené azobarvivo. Protože je bilirubin fotosenzibilní, nesmíme moč nechat stát na světle a vyšetření provést co nejdříve.⁽³⁾

1.1.1.6 Urobilinogen v moči (urobilinogenurie)

Stejně jako bilirubin patří mezi žlučová barviva. V moči se vyskytuje při hemolytickém ikteru nebo u hepatitid. Při hemolytických stavech dochází k velkému uvolnění hemoglobinu, který se přemění na bilirubin. Velké množství bilirubinu se ve

střevěch přemění na urobilinogen, který se vstřebává do krve a odtud přejde do moči. Za normálních podmínek se urobilinogen v moči neprokáže. ⁽³⁾

Průkaz urobilinogenu v moči je založen na azokoluplační reakci se stabilizovaným činidlem. Protože obě žlučová barviva jsou na vzduchu snadno oxidována, je správný výsledek podmíněn užitím čerstvé moči. ^(19, 20)

1.1.1.7 Krev v moči (hematurie, hemoglobinurie)

Hematurie je závažný nález, obvykle je spojena s chorobami urogenitálního ústrojí. Orgány mohou být postiženy zánětem, úrazem, močovými kameny nebo tumorem. Fyziologický nález erytrocytů v moči je do 5 Ery/ μ l. O velkém počtu erytrocytů svědčí červené zbarvení moči, menší množství způsobuje kouřový zákal. Chemický nález krve v moči není dostatečně průkazný pro hematurii – nutné je mikroskopické vyšetření. ⁽⁹⁾

Test je založen na peroxidázové aktivitě hemoglobinu, který katalyzuje oxidaci indikátoru organickým hydroperoxidem, obsaženým v reagenční zóně. Pro analýzu krve jsou na diagnostickém proužku dvě reagenční místa, pro detekci intaktních erytrocytů a volného hemoglobinu. Test je vysoce citlivý na hemoglobin a zachytí jeho přítomnost v moči již od koncentrací odpovídajících zhruba 5 Ery/ μ l. ⁽¹⁹⁾

Falešně pozitivní výsledky mohou dávat silně oxidující nebo silně redukující látky, například přítomnost peroxidů, peroctové kyseliny, ale též jodidů. Pozitivní reakci mohou poskytovat také moče silně kontaminované některými bakteriemi, kvasinkami nebo plísněmi. Falešně negativní reakci může způsobit askorbová kyselina nebo nitrity. ^(10, 19)

1.1.2 Vyšetření močového sedimentu

V moči jsou přítomny jak rozpustné, tak nerozpustné složky. Nerozpustné složky po centrifugaci moči vytvářejí na dně zkumavky sediment. Nerozpustné složky moči jsou *organové*-erytrocyty, leukocyty, epitelie, válce, *neorganové*-krystaly solí

a amorfni soli, *mikroby, plísně, kvasinky, prvoci, paraziti a artefakty*. V moči zdravých je fyziologicky pouze malé množství buněčných elementů. Při jejich rozpadu je neprokážeme mikroskopickým vyšetřením, ale pouze chemicky. Oba druhy vyšetření je proto vhodné spojit. ^(3,9)

Močový sediment můžeme vyšetřit orientačně, kvalitativně a kvantitativně.

1.1.2.1 Orientační morfologické vyšetření moče

Orientační morfologické vyšetření čerstvé, nezahuštěné moče je zatíženo velkou chybou a nehodí se vůbec k vyšetřování normálních močí nebo močí s chudým morfologickým nálezem. Je určeno pouze k orientačnímu sledování akutních infekcí močových cest s výraznou leukocyturií a ke sledování hematurií. ⁽¹⁴⁾

Na podložní sklo přeneseme kapku nezahuštěné moči, na kterou položíme krycí sklíčko. Prohlížíme při zvětšení 200x a hodnotíme výskyt erytrocytů, leukocytů a válců ve 20 zorných polích. Za fyziologický se považuje nález do 1 erytrocytu a 2 leukocytů ve 20 polích a žádného válce v celém preparátu. ⁽¹⁴⁾

1.1.2.2 Kvalitativní vyšetření močového sedimentu

Kvalitativní vyšetření močového sedimentu je potřeba provést do jedné hodiny po odběru. Je nutné používat standardizované pracovní postupy, které se týkají počtu otáček při centrifugaci, zahuštění moči, přípravy preparátu a jeho prohlížení. Maximální počet otáček by měl být 1500 otáček/min, aby nedošlo k destrukci buněk. Sediment se po odsátí supernatantu rozmíchá ve standardním objemu moči 0,5 ml. Připravený preparát musí mít rovnoměrně rozptýlený sediment na podložním skle a nesmí obsahovat vzduchové bubliny. Prohlíží se alespoň 20 zorných polí, obvykle při zvětšení 200x. ⁽³⁾

Orgánové složky močového sedimentu

Erytrocyty

U zdravých osob nejsou v močovém sedimentu erytrocyty přítomny, maximální počet je 1-2 na jedno zorné pole. Jsou-li v zorném poli přítomny erytrocyty v počtu 5 a více, označujeme tento stav jako hematurii. Hematurie se nejčastěji vyskytuje při onemocnění ledvin. ⁽³⁾

Leukocyty

Fyziologicky se v močovém sedimentu nachází 2-5 leukocytů na jedno zorné pole. Více než 5 leukocytů v zorném poli je patologickým nálezem. Zvýšené množství leukocytů v moči se nachází při zánětech ledvin a močových cest. ⁽³⁾

Epitelové buňky

Fyziologicky se v moči vyskytuje jen malý počet epitelových buněk. Tyto buňky jsou většinou přirozeně odbourané ze slizničního epitelu dolních cest močových. Při zánětech ledvin a močových cest nacházíme zvýšený počet epitelových buněk. Zvýšený počet se může vyskytnout při nedodržení obecných zásad odběru moče, tj. předchozí očištění zevního ústí močové trubice, sběr středního proudu moči. ⁽³⁾

Válce

Válce vznikají v distálních tubulech a ve sběrných kanálcích. Jedná se o bílkovinné odlitky těchto dutých útvarů. Nález válců v močovém sedimentu je závažný a svědčí o ledvinovém poškození, výjimku tvoří pouze hyalinní válece. ⁽³⁾

Hyalinní válce se mohou vyskytovat i u zdravých osob. Jsou tvořené vysráženým Tamm-Horsfallovým mukoproteinem, který se secernuje v distálních tubulech a sběrných kanálcích. Jsou matricí pro všechny ostatní válce. Jsou různě dlouhé, jemně konturované. Nález těchto válců nesvědčí pro ledvinové poškození. Větší množství se může vyskytovat po horečkách, při dehydrataci, u pacientů se srdečním selháním, onemocněním renálního parenchymu a po diureticích. ⁽⁹⁾

Granulované válce jsou tvořeny Tamm-Horsfallovým mukoproteinem, v němž jsou impregnovány agregáty sérových proteinů a rozpadlé tubulární epitelie. Jsou to kratší či delší zrnité útvary. Vyskytují se při chorobách ledvin spojených s proteinurií.

Voskové válce vznikají působením tkáňových enzymů na granulované válce, kdy dochází k pomalému rozpouštění granul. Jsou masivnější než válce granulované, ostře ohraničené, bez granulací a mají na povrchu zářezy. ⁽³⁾

Buněčné válce rozdělujeme podle buněk, ze kterých vznikají: erytrocytární, leukocytární, epiteliární a tukové.

Nález válců není příliš častý a jejich správnou identifikaci musí provádět zkušební pracovníci. ⁽³⁾

Neorganové složky močového sedimentu

Krystaly solí jsou většinou normální součástí moči a při jejím chladnutí krystalizují. Při pH vyšším než 7 nacházíme v moči krystaly uhličitanu vápenatého a fosforečnanu hořečnato-amonného. Jedná se tedy o moč alkalickou. Je-li pH moči 6,5 nebo méně, vyskytují se zde krystaly kyseliny močové a šřavelanu vápenatého. Ve výrazně kyselé moči nacházíme krystaly síranu vápenatého. Nález těchto krystalů má malý diagnostický význam, respektive pouze doplňkový. Větší význam má nález krystalů abnormálních. Abnormální krystaly metabolického původu jsou tvořeny cystinem, tyrosinem, leucinem, cholesterolem, bilirubinem a hemosiderinem. Abnormální krystaly iatrogenního původu jsou výsledkem medikace či léčby, neúmyslně způsobené lékařem. Jedná se o lékové krystaly například sulfonamidů nebo ampicilinu. ⁽²¹⁾

Mezi nejčastější amorfní soli patří amorfní kyselina močová a amorfní fosforečnany. Označujeme je jako amorfní drť. ⁽³⁾

V močovém sedimentu můžeme dále nalézt bakterie (koky i tyčky), plísňe, kvasinky, prvoky (*Trichomonas vaginalis*, *Lambliia intestinalis*), vajíčka parazitů (roupy). Můžeme objevit i artefakty jako jsou rostlinná i živočišná vlákna, zásypy, kapky oleje atd. Důležité je, abychom artefakty nezaměnili za diagnosticky významné složky. ⁽³⁾

1.1.2.3 Kvantitativní vyšetření močového sedimentu

Kvantitativní vyšetření močového sedimentu podává informaci při sledování účinku léčby ledvinových chorob, které jsou spojené s patologickým nálezem erytrocytů, leukocytů a válců.⁽³⁾

Nejčastěji používané je *vyšetření dle Hamburgera*, kdy je moč sbírána 180 minut s tolerancí odchylky 30 minut. Skutečné sběrné období je nutno zaznamenat s přesností na minuty. Vyšetřujeme definované množství moči, ve které zjišťujeme počet erytrocytů, leukocytů a válců, které se vyloučí v 1 ml moči za časovou jednotku. Moč je nutné vyšetřit do jedné hodiny po odběru. Tato moč se před mikroskopováním centrifuguje. Elementy počítáme v Bürkerově komůrce. Zjištěné množství přepočítáme vzhledem k objemu moči a sběrnému časovému intervalu. Za fyziologický nález považujeme hodnoty do 2000 erytrocytů/min, 4000 leukocytů/min a žádné válce. Během testu je třeba vyloučit větší fyzickou zátěž.^(3, 9)

Výsledek může být ovlivněn rozpadem buněčných elementů (při delším skladování, vlivem osmolality, kontaminací, desinfekčními prostředky), nedodáním veškeré moče, nesprávným uvedením sběrného času nebo objemu moče.⁽⁹⁾

Mezi další metody kvantitativní morfologické analýzy močového sedimentu patří *stanovení dle Stanfielda a Webba*. Jedná se o vyšetření zcela čerstvé a neodstředěné moče, které je vhodné k posouzení léčebného efektu u zánětlivých infekcí provázených leukocyturií a ke sledování hematurií. Nehodí se k vyšetření moči s chudým morfologickým nálezem. Elementy počítáme v Bürkerově komůrce v deseti velkých čtvercích ohraničených trojitou čarou. Při nerovnoměrném rozložení nebo když v komůrce objevíme váleček, naplníme i druhou stranu komůrky a počítáme obsah v dalších deseti největších čtvercích. Jako výsledek udáme průměr obou výpočtů. V referenčním rozmezí se pohybují hodnoty do 5 erytrocytů, 10 leukocytů u žen a 8 leukocytů u mužů a při absenci válců.⁽¹⁴⁾

1.1.3 Uricult

Močové ústrojí neobsahuje bakterie. Jejich výskyt v čerstvé moči se považuje za patologický nález. Močové infekce jsou většinou bakteriálního původu. Poměrné zastoupení jejich původců se liší podle toho, jestli jde o nekomplikované záněty močových cest, nebo o záněty u osob se strukturálními nebo neurologickými abnormalitami. Pro průkaz či vyloučení bakteriální infekce močových cest se využívá vyšetření pomocí Uricultu. ⁽²⁸⁾

Uricult se používá pro kvantitativní kultivační vyšetření moči. V závislosti na druhu, obsahuje dvě nebo tři agarová média. Následující informace se budou věnovat Uricultu Trio se třemi agarovými médii.

Uricult je založen na třech agarových médiích. Jedna strana plastické destičky je potažena zeleným CLED, druhá strana červenohnědým MacConkey médiem a bezbarvým E. coli médiem. CLED slouží k určení celkového množství bakterií. E.coli médium slouží k detekci gramnegativních, β -glukuronidázu produkujících bakterií, které zde rostou jako šedé nebo hnědé kolonie. Escherichia coli je nejčastěji se vyskytující bakterií v močovém ústrojí, produkující β -glukuronidázu. V půdě jsou obsaženy žlučové kyseliny, které brání růstu grampozitivních bakterií. Médium MacConkey je určeno pro detekci gramnegativních bakterií, obsahuje žlučové soli, které brání růstu grampozitivních bakterií, výjimku tvoří enterokoky, které zde mohou růst v nepatrných koloniích. ⁽¹⁸⁾

Pro provedení metody se destička s agarovými médii odšroubuje, vyndá z nádoby, ponoří do moče, vytáhne, vrátí do obalu a zašroubuje. Uricult se kultivuje v termostatu při $36\pm 2^\circ\text{C}$ 24 hodin. Negativní kultury by měly být inkubovány dalších 24 hodin k detekci pomalu rostoucích bakterií. ⁽¹⁸⁾

Kolonie na povrchu agaru dokládají přítomnost bakterií. Na původně zeleném agaru CLED zjistíme počet kolonií porovnáním s příloženou modelovou tabulkou. Porovnáváme počet kolonií a ne jejich velikost, protože kolonie vzniká multiplikační z jedné bakteriální buňky. V CLED médiu je pouze nízká koncentrace elektrolytů, která brání rozšíření bakterií kmene Proteus. Určení laktóza fermentujících bakterií umožňuje přítomnost bromthymolové modři a laktózy v médiu. Laktóza pozitivní

kmeny zde rostou ve žlutých koloniích a barvu média mění na žlutou, laktóza negativní kmeny rostou v průsvitných koloniích a barvu média nemění. Mikroorganismy produkující β -glukuronidázu rostou na bezbarvém E. coli médiu jako šedé nebo hnědé kolonie. β -glukuronidáza negativní gramnegativní bakterie zde rostou v průsvitných koloniích. Hnědočervené MacConkey médium je určeno pro růst gramnegativních bakterií, výjimku tvoří enterokoky. V červených koloniích rostou laktóza pozitivní bakterie, v koloniích průsvitných laktóza negativní. Při koncentraci bakterií $\geq 10^7$ CFU/ml může být povrch zcela pokryt koloniemi a je zde nebezpečí chybné diagnostiky. Vyhodnocení závisí na způsobu, jakým je moč odebrána. Uricult Trio je schopen detekovat bakteriální koncentraci mezi 10^3 a 10^7 . Modelová tabulka dovoluje určit počet kolonií s přesností na 10. ⁽¹⁸⁾

Signifikantní počet kolonií CFU/ml je při odběru středního proudu moče, kdy moč byla v močovém měchýři méně než 4 h $\geq 10^3$, při odběru středního proudu moče, kdy moč byla v močovém měchýři déle než 4 h $\geq 10^{4-5}$, při asymptomatické bakteriurii $\geq 10^5$. ⁽¹⁸⁾

1.2 Vyšetření z krve

V současné době lékaři zjišťují z krve hladinu CRP, rychlost sedimentace erytrocytů a hodnoty glykémie.

1.2.1 Vyšetření CRP

C-reaktivní protein je protein akutní fáze. U zdravých osob je přítomný v koncentraci do 10 mg/l. Hladina CRP se zvyšuje při stavech spojených s bakteriální infekcí, zánětem nebo poškozením tkání. CRP je obvykle zvýšen bakteriální infekcí, ale ne virovou, což lze použít jako základní pomůcku pro rozlišení bakteriální a virové infekce. CRP koncentrace v séru se zvyšují a snižují rychleji než sedimentace erytrocytů, jako odpověď na změny ve stavu pacienta. Jestliže se pacient uzdravuje,

sérový CRP se vrací na hodnoty pod 10 mg/l během několika dní. Hladina CRP narůstá velmi rychle, tento nárůst je detekovatelný již po 6-12 hodinách od začátku zánětlivého procesu. Narozdíl od ostatních zánětlivých markerů, CRP dosahuje maximálních hodnot mnohem rychleji. Vrchol dosahuje sérová hodnota CRP mezi 36.-50. hodinou. U akutních zánětlivých procesů slabého až středního charakteru se objevují hodnoty do 50 mg/l. Při rozsáhlém zánětlivém procesu je hladina CRP zvýšena nad 50 mg/l. Hodnoty o koncentraci nižší než 10 mg/l nevyklučují přítomnost zánětlivého procesu, ale vylučují různá akutní zánětlivá onemocnění. ^(12, 24, 26, 31)

Když je pacient vážně nemocen, je důležité, aby se léčba nasadila co nejdříve. Výsledky testů by měly být dosažitelné rychle, přednostně do 1 hodiny – jestliže je lékař dostane až následující den, je příliš pozdě a tato informace ztrácí většinu hodnoty. CRP je hodnotným nástrojem pro ujištění se o správné diagnóze a k určení další léčby. Jeho stanovení má specifické výhody oproti stanovení sedimentace, leukocytů a měření tělesné teploty. ^(12, 24)

Zjišťování hladin CRP je užitečné k monitorování chorob a napomáhá stanovení diagnózy. Užitečný je i při hodnocení rozsahu infarktu při akutním infarktu myokardu a výsledku po ischemické mrtvici.

Principem zjišťování hladiny CRP pomocí metody QuikRead CRP je imunoturbidimetrický test. Test je založený na mikročásticích, které jsou pokryty antisérem proti lidskému CRP. Mikročástice reagují s CRP přítomným ve vzorku, výsledkem je změna turbidity roztoku, která je změřena přístrojem.

1.2.2 Vyšetření sedimentace erytrocytů

Vyšetření rychlosti sedimentace erytrocytů je jedním z nejběžnějších a nejjednodušších vyšetření. Za normálních okolností erytrocyty sedimentují pomalu a každý zvlášť. Za patologických stavů se však mohou vytvářet aglomeráty erytrocytů, které pak sedimentují mnohem rychleji. Aglomeraci lze vyvolat změnou v obsahu plasmatických bílkovin. Urychlení sedimentace proto způsobuje zvýšení koncentrace

fibrinogenu, kyselého α 1-glykoproteinu, C-reaktivního proteinu a dalších proteinů akutní fáze. Sedimentace je také zvýšena při poklesu počtu erytrocytů. Za fyziologických okolností se sedimentace zrychluje ve druhé polovině těhotenství a při menstruaci. Vyšetření je nespecifické, může však upozornit na probíhající chorobný proces nebo sloužit k posouzení jeho aktivity. Hodnoty sedimentace jsou ovlivněny souběžnými chorobami a bakteriálními superinfekcemi. ^(10, 27, 31)

Vyšetření sedimentace erytrocytů se provádí z nesrážlivé krve. Protisrážlivé činidlo tvoří citrát sodný. Sedimentaci erytrocytů měříme pomocí Fahraeus-Westergrenovy metody. Stanovení sedimentace erytrocytů probíhá ve speciálních odběrových zkumavkách s kalibrovanou kapilárou. Modifikace závisí na jednotlivých výrobcích. Měříme zde narůstající výšku sloupce plazmy nad sedimentujícími krvinkami. Při použití vodorovné metody (pipety pod úhlem 90°) odečítáme za 1 a za 2 hodiny. Při použití šikmé metody (pipety pod úhlem 45°) odečítáme za 10 a 17 minut po nastavení. Přesnější je metoda vodorovná. Ke správnému stanovení je důležitá i teplota, neboť referenční hodnoty jsou vztaženy na teplotou místnosti $18-22^\circ\text{C}$. ⁽¹³⁾

Hodnoty jsou sníženy při delším zatažením paže, vysoké hodnotě hematokritu, odběru do NaF nebo oxalátu, odběru do menšího množství citrátu, přítomnosti kryoglobulinů a při nižší teplotě při stanovení. Hodnoty také snižuje obstrukce žlučových cest se žloutenkou, polycytemie, polyglobulie, abnormality erytrocytů, vliv léků (fenylbutazon, kortisol, kyselina acetylosalicylová) a protilátkové imunodeficiencie. Hodnoty se naopak zvyšují při nízké hodnotě hematokritu, odběru do většího množství citrátu, hyperchylomikronemii, stanovení při teplotě nad 24°C , vzestupu fibrinogenu a globulinů, obezitě, vzestupu lipidů a v těhotenství. Zvýšená sedimentace je u zánětlivých stavů, nádorů, SLE, nekrotických stavů, monoklonální gamapatie makrocytózy, anémie, hyperfibrinogenemie a po orálních antikonceptivech. ⁽⁹⁾

Referenční hodnoty jsou u novorozenců 1-3 mm/h, u dětí od 1 do 6 měsíců do 12 mm/h, u dětí do 2 let 1-5 mm/h, u dětí od 2 do 19 let 1-8 mm/h, u mužů 2-10 mm/h a u žen 3-21 mm/h. Hodnoty se zvyšují s přibývajícím věkem. Dobrým vodítkem k orientaci o horní hranici normálu je u mužů věk dělený dvěma, u žen (věk + 10) děleno dvěma. ^(9, 31)

1.2.3 Vyšetření glykémie pomocí glukometru

Glykémie nám udává koncentraci glukózy v krvi. Hladina glykémie je udržována ve fyziologickém rozmezí pomocí regulace hormonální, nervové a autoregulace. Na regulaci metabolismu glukózy se podílí hormony Langerhansových ostrůvků pankreatu, hormony kůry a dřeně nadledvin a hormony štítné žlázy. Ve fyziologickém rozmezí se glykémie nalačno v plné krvi pohybuje v rozmezí 3,89-5,55 mmol/l u dospělých, 3,33-5,4 mmol/l u dětí do dvou let, u donošených novorozenců 1,67-5 mmol/l a u nedonošených novorozenců 1,11-3,65 mmol/l. ⁽²⁷⁾

Glykémie se obvykle stanovuje v kapilární krvi z prstu, popřípadě v žilní krvi, pokud se provádí odběr pro stanovení i jiných analytů. Pro stanovení glykémie existuje několik druhů metod. V ordinacích se nejčastěji zjišťuje pomocí glukometrů s diagnostickými proužky. Existují dvě základní metody měření, které glukometry využívají. ⁽³¹⁾

Fotometrická metoda je využívána u starších typů glukometrů. Aktivní plocha diagnostického proužku vkládaného do glukometru je napuštěna glukooxidázou a derivátem benzidinu. Na tuto plochu se nanáší kapka krve. D-glukóza obsažená v krvi je oxidována glukooxidázou na glukonolakton. Jako vedlejší produkt vzniká peroxid vodíku, který redukuje barevný chromogen za přítomnosti peroxidázy za vzniku barevného produktu. Čím vyšší je glykémie, tím více vznikne barevného produktu. U výsledného barevného produktu měříme spektrofotometricky absorbanci. Nevýhodou této metody je nutnost časté kalibrace glukometru a nepřesnost měření, které může být ovlivněno intenzitou dopadajícího světla na diagnostický proužek. ⁽²⁹⁾

Elektrochemická metoda je využívána u nových typů glukometrů. Nejčastěji se využívá metoda ampérometrická. Metoda je založená na měření elektrického proudu mezi dvěma elektrodami. Na diagnostickém proužku dochází k oxidaci glukózy za vzniku peroxidu vodíku. Enzym glukooxidáza katalyzuje oxidaci glukózy kyslíkem a vzniká kyselina glukonová a peroxid vodíku. Peroxid vodíku je elektrochemicky redukován na vodu a vzniklý elektrický proud je úměrný koncentraci glukózy. ^(4, 29)

1.3 Vyšetření ze stolice

Vyšetření prováděná v ordinaci ve stolici prokazují přítomnost okultního krvácení, rotavirů a adenovirů.

1.3.1 Test na okultní krvácení

Testování stolice na okultní krvácení je důležité v preventivní medicíně. Test slouží k průkazu skrytého krvácení ve stolici bez bližšího určení příčiny krvácení. Vyšetření na okultní krvácení může při pozitivním výsledku upozornit na možný zdroj krvácení v tenkém střevě. Pozitivní test na okultní krvácení mnohem častěji poukazuje na krvácení v tlustém střevě. Toto krvácení může být způsobeno přítomností polypu nebo karcinomu, a to jak zhoubného, tak nezhooubného. Příčinou positivity testu mohou být i jiné nemoci, jako jsou hemeroidy nebo záněty střeva. ^(8, 26)

Test na okultní krvácení je určen pro bezpříznakové jedince. U pacienta, který má příznaky, není třeba vyšetřovat test na okultní krvácení, vyšetřovací postup zvolí lékař u konkrétního pacienta. ⁽²⁾

Existují dva druhy testů k průkazu okultní krvácení ve stolici. Průkaz okultního krvácení lze provádět s využitím pseudoperoxidázové vlastnosti hemoglobinu nebo imunochemickým průkazem. ⁽²²⁾

Prvním druhem testů jsou guajakové testy, které neumožňují vysoký stupeň přesnosti, přesto jsou hojně využívány. Základem těchto testů jsou testovací kartičky obsahující filtrační papír impregnovaný guajakovou pryskyřicí. Princip spočívá v pseudoperoxidázové aktivitě hemoglobinu, který v přítomnosti roztoku peroxidu vodíku katalyzuje přeměnu redukované formy pryskyřice (bezbarvé) na formu oxidovanou (modrou). První část testu provádí každý sám doma tři po sobě následující dny. Každý den se použije jedna testovací kartička, kde jsou dvě nebo tři testovací políčka. Do každého políčka se nanese vzorek stolice o velikosti rýžového zrnka. Před započítáním testu a během něj je důležité, aby byla dodržena dietní opatření. Jedná se o bezmasou dietu, ze stravy je vyloučena zelenina s vysokým obsahem železa,

minerální vody a léky s obsahem železa. Je doporučeno jíst stravu bohatou na vlákninu. Podávání vitamínu C může vést k falešně negativním výsledkům. O užívání léků je potřeba poradit se s lékařem, protože některé léky mohou způsobovat krvácení do trávicího systému a tím způsobit pozitivitu testu. Ženy nesmějí v době vyšetření menstruuovat. Správnost testu by mohla být narušena při krvácení v dutině ústní nebo nosní.⁽⁹⁾

Druhým přístupem je imunochemická detekce hemoglobinu reakcí s monoklonální protilátkou proti lidskému hemoglobinu. Imunochemické testy na okultní krvácení jsou mnohonásobně přesnější a citlivější. Při jejich použití nejsou vyžadována žádná dietní opatření, protože test nedává falešně pozitivní výsledky se zvířecím hemoglobinem ani není ovlivněn potravními peroxidázami, přítomnými v některých druzích zeleniny. Díky své citlivosti se tyto testy provádějí jen jednou. Na imunochemickém principu jsou založeny testy hemaglutinační, latexové imunoprecipitace, radiální imunodifúze i imunoafinitní chromatografie. V poslední době je nejrozšířenější varianta imunoafinitní chromatografie. Pacient odebere jeden vzorek stolice do odběrové nádoby se stabilizujícím roztokem. Laboratorní zpracování spočívá v aplikaci kapky extraktu na test a odečtení jednoho nebo dvou barevných proužků, které detekují přítomnost pouze protilátky s barevným markrem (negativní, 1 proužek) nebo vznik komplexu antigen-protilátka (pozitivní, 2 proužky).⁽²²⁾

1.3.2 Průkaz rotavirů a adenovirů

Rotaviry jsou celosvětově nejčastějšími původci infekčních průjemových onemocnění u kojenců a dětí do tří let, u nichž mohou vyvolat těžkou dehydrataci. Rotaviry patří mezi invazivní patogeny. Ty napadají zralé epiteliální buňky vrcholků klků v tenkém střevě. Tyto buňky jsou odpovědné za absorpci tekutin a živin. Nevstřebačné disacharidy zvyšují osmolalitu v střevním lumen. Důsledkem je zrychlená střevní peristaltika a dilatace střeva.⁽²³⁾

Rotaviry jsou odolné k vlivům zevního prostředí, přežívají v prostředí na předmětech, rukou a jsou rezistentní k působení mnohých dezinfekčních prostředků. Rychlé rozšíření nemoci je umožněno vlastnostmi rotavirů a nedůslednou hygienou. ⁽²⁵⁾

Rotaviry vyvolávají akutní gastroenteritidy u lidí. Inkubace trvá 1-2 dny. Rotavirové infekce jsou nejčastější příčinou průjmu u malých dětí. U novorozenců a kojenců do 2 měsíců věku jsou průjmová onemocnění vyvolaná rotaviry pozorována spíše ojediněle a ve většině případů infekce proběhne asymptomaticky. Děti od 4 měsíců do 3 let jsou při první infekci rotaviry nejvíce ohroženy závažným průběhem rotavirové gastroenteritidy. Infekce dospělých jsou většinou inaparentní. ^(25, 30)

Průběh nákazy rotaviry může být, podobně jako u jiných infekcí, bezpříznakový, lehký i velice závažný. Záleží nejen na imunitním vybavení jedince, věku a stavu výživy dítěte, ale také na infekční dávce, vyvolávajícím kmeni rotaviru s různým potenciálem patogenity a dalších faktorech. Počátečními příznaky jsou horečka, zvracení a vodnatý průjem. Onemocnění trvá 4-6 dní. ⁽²⁵⁾

Adenovirus je druhým nejčastěji detekovaným virovým agens gastroenteritid v dětském věku. Adenoviry patří mezi neobalené viry, které jsou rezistentní k chemickým a fyzikálním vlivům. Vzporují účinku éteru a tukových rozpustidel a pH v rozmezí 5-9. Jsou velmi pomalu inaktivovány teplem. Při teplotě 20°C a nižší vydrží v prostředí po řadu týdnů. ^(1, 15)

Je známo 41 serotypů adenovirů. Infekce serotypy 1-39 způsobují respirační onemocnění a záněty spojivek. Gastroenteritidy u dětí způsobují serotypy 40 a 41. Adenoviry patří mezi druhé nejčastější virové původce gastroenteritid u dětí. Inkubační doba je 8-10 dní. Počátečními příznaky je vodnatý průjem, zvracení a mírnější horečka. Onemocnění trvá 9-12 dnů. ⁽¹⁵⁾

Pro akutní rutinní diagnostiku jsou užívány latexaglutinační nebo imunochromatografické metody, které prokazují antigeny rotavirů ve vzorku nativní stolice. Tyto metody mají vysokou citlivost při odběrech materiálu v prvních třech dnech onemocnění. Podobné testy jsou používány i pro průkaz adenovirů. K průkazu rotavirů a adenovirů se používají komerčně vyráběné testy např. Diarlex Rota-Adeno, Diarlex Rota, Diarlex Adeno nebo Diarlex MB. ⁽²⁵⁾

Diarlex Rota-Adeno, Diarlex Rota a Diarlex Adeno testy latexové testy, kde latexová reagensie je vysušena na kruhu testovací karty v podobě suché červené kapky. Kapky jsou označeny „Rota“, „Adeno“ nebo „Control“, aby mohlo dojít k identifikaci. U suchých latexových testů jsou na červený latex navázány králičí protilátky proti rotaviru a králičí protilátky proti adenoviru. Je-li ve vzorku přítomen příslušný antigen, dojde k vytvoření komplexu antigen-protilátka, který je zviditelněn aglutinací latexových částic. ⁽¹⁶⁾

Diarlex MB je imunochromatografický test. Testovací proužek obsahuje králičí protilátku proti rotaviru, která je konjugována červeným latexem a králičí protilátku proti adenoviru konjugovanou modrým latexem. Pro kontrolu správně pracujícího testu je na testovacím proužku zóna obsahující myší monoklonální protilátky, černé latexové částice a streptavidin. Na testovací proužek se nanese dvě kapky zředěného vzorku stolice. Obsahuje-li vzorek rotavirus, vytvoří se komplex antigen-protilátka a na proužku se objeví červená linka. Obsahuje-li vzorek adenovirus, vytvoří se komplex antigen-protilátka a na proužku se objeví modrá linka. Vždy se musí zobrazit i kontrolní černá linka. ⁽¹⁶⁾

1.4 Vyšetření z výtěrů a stěrů

Přítomnost mikroorganismů *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus acidophilus* v zubním plaku nebo slinách zjišťujeme pomocí komerčně vyráběných testů Dentocult. Výtěrem z krku jsme schopni detekovat *Streptococcus pyogenes*.

1.4.1 Dentocult

Hlavní příčinou vzniku zubního kazu jsou kariogenní mikroorganismy obsažené v plaku a produkující organické kyseliny. Vznik zubního kazu je ovlivňován i dalšími faktory. Významný je příjem sacharidů potravou a kvalita tvrdé zubní tkáně. Některé kariogenní mikroorganismy sacharidy v dutině ústní metabolizují za vzniku

organických kyselin. Tyto kyseliny vedou k rozpouštění skloviny. Důležité je i množství, složení a pH slin. Z kariogenních mikroorganismů je za nejnebezpečnější považován *Streptococcus mutans*, který u dětí do 2 let nepatří k normální bakteriální flóře ústní dutiny. *Streptococcus mutans* se pomocí slin přenáší z člověka na člověka, a proto se může vyskytnout i u dětí. Na vzniku zubního kazu se dále podílí *Lactobacillus acidophilus*.⁽⁶⁾

Vysoká koncentrace *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus acidophilus* ve slinách poukazuje na zvýšené riziko vzniku zubního kazu. Na jeho vzniku se podílí více faktorů, a proto nelze vždy potvrdit souvislost mezi aktivitou kazu a zjištěnými hodnotami.

K průkazu kariogenních mikroorganismů se používají jednoduché detekční testy. Mikrobiologické testy kvantitativně stanoví přítomnost mikroorganismů *Streptococcus mutans* a *Lactobacillus acidophilus* v zubním plaku nebo slinách. Pro ordinaci účely jsou nejvhodnější jednoduché detekční metody Dentocult SM a Dentocult LB. Testy lze provádět přímo v ordinaci, aniž by se musela využívat mikrobiologická laboratoř.^(6, 11)

K detekci *Streptococcus mutans* ve slinách a zubním plaku je používán Dentocult SM Strip Mutans. Princip metody spočívá v použití selektivního kultivovacího média a adhezí bakterií *Streptococcus mutans* na testovací proužek.⁽³⁰⁾

K detekci aerobních bakterií produkující kyselinu močovou, mezi něž patří *Lactobacillus acidophilus*, je používán Dentocult LB. Důkaz se provádí ve stimulovaných slinách. Destička Dentocult LB je z obou stran potažena Rogosovým médiem, které je vhodné ke kultivaci laktobacilů.⁽¹¹⁾

1.4.2 Detekce *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes je gram-pozitivní, beta hemolytický streptokok, patří do skupiny A podle stěnového antigenu, který obsahuje N acetylglukosamin a ramnózu. Je primárně patogenní pro člověka. Člověk je jediným přirozeným zdrojem infekce, existuje i bezpříznakové nosičství. *Streptococcus pyogenes* je původcem faryngitid, spály, infekcí kůže a podkoží.^(1, 27)

Důsledkem zánětlivé odpovědi na bakteriální nebo virovou infekci je obvykle bolest v krku. Streptococcus pyogenes je nejpravděpodobnější bakteriální příčinou. Nejčastěji Streptococcus pyogenes způsobuje bolest v krku u dětí a dorostu. Během onemocnění a ještě asi týden poté jsou pacienti infekční. Při terapii se využívá toho, že Streptococcus pyogenes je citlivý na penicilin. Při alergii se podává erytromycin. ⁽¹⁾

Při podezření na faryngitidu způsobenou Streptococcus pyogenes provedeme výtěr z krku, který nám tuto domněnku potvrdí nebo vyloučí.

Pro stanovení Streptococcus pyogenes existují dva druhy testů. Průkaz lze provést pomocí imunoturbidimetrického nebo imunochromatografického testu.

Principem detekce Streptococcus pyogenes (Strep A) pomocí metody QuikRead Strep A je imunoturbidimetrický test. Test je založený na mikročasticích, které jsou pokryty králičím antisérem proti Strep A. Mikročástice reagují se Strep A přítomným ve vzorku, výsledkem je změna turbidity roztoku, která je změřena přístrojem QuikRead. Výsledek testu - pozitivní nebo negativní - je zobrazen na displeji přístroje, což odstraňuje nejistotu a subjektivitu spojenou s pouze vizuálně vyhodnocovanými testy na Strep A. ⁽¹⁷⁾

Imunochromatografický test je založen na průkazu karbohydrátového antigenu Strep A ve vzorku. Specifická protilátka, která je ukotvena v testovací linii proužku, reaguje se specifickým karbohydrátovým antigenem ze vzorku extrahovaném z výtěrového tampónu. Po ponoření testu do vzorku z extrahovaného tampónu reaguje vzorek s protilátkou proti Streptokoku A ukotvenou na částicích. Tato směs putuje membránou, až dorazí k protilátce proti Strep A na membráně a vytvoří zbarvení v oblasti testovací linie. Přítomnost barevné linie v testovací oblasti znamená pozitivní výsledek, pokud linie chybí, znamená to, že výsledek je negativní. Ke kontrole postupu včetně toho, zda bylo dostatečné množství vzorku a neporušená membrána, slouží barevná linie v kontrolní oblasti, která se objeví vždy. ⁽⁷⁾

Postupy těchto testů se mohou odlišovat v závislosti na výrobcích.

2. Cíle práce a hypotéza

2.1 Cíl

1. Cílem této bakalářské práce je zjistit současný stav laboratorních možností vyšetření (biochemických, hematologických, mikrobiologických) u dětských lékařů přímo v ordinaci.

2. Zjistit využívání těchto laboratorních metod u dětských lékařů.

3. Uvedené metody se naučit ovládat a interpretovat.

2.2 Hypotéza

Dětské lékaři v nestátních zdravotnických zařízeních dostatečně nevyužívají možností rychlých orientačních laboratorních vyšetření ve své praxi.

3. Metodika

3.1 Charakteristika souboru

Sběr dat, tj. zjištění laboratorních vyšetření, jsem provedla u dvaceti náhodně vybraných dětských lékařů z Jihočeského kraje. Zjištěné metody jsem se naučila ovládat v ordinaci dětského lékaře prof. MUDr. Miloše Velemínského, CSc. Všechna uvedená vyšetření byla mnou provedena 10x.

3.2 Metodika vyšetření moče diagnostickými proužky

Diagnostické proužky jsou určeny pro semikvantitativní analýzu moče. V závislosti na druhu výrobce jsou vyráběny proužky umožňující stanovení několika klinicky významných analytů.

Při své práci jsem pracovala s diagnostickými proužky HeptaPHAN firmy Lachema. HeptaPHAN umožňuje stanovit v moči 7 analytů – pH, bílkovinu, glukózu, ketony, urobilinogen, bilirubin, krev.

K vyšetření se používá čerstvá, dobře promíchaná, nekonzervovaná moč, odebraná do čisté nádoby.

Při vyšetření vyjmeme z tuby diagnostický proužek a tubu opět dobře uzavřeme. Nedotýkáme se testovacích zón na proužku. Proužek na 1-2 sekundy ponoříme do moče, aby byly reagenční zóny smočeny. O okraj nádoby otřeme hranu proužku, aby byla odstraněna přebytečná moč. Diagnostický proužek položíme do vodorovné polohy. Po 60 sekundách odečteme barevné zbarvení dle barevné stupnice umístěné na tubě s diagnostickými proužky. Viz příloha č. 1

Pro správné stanovení je důležité dodržovat pokyny výrobce a nepoužívat proužky po uplynutí data expirace.

Toto vyšetření je rychlé, nenáročné, málo nákladné, vysoce specifické a citlivé.

3.3 Metodika vyšetření močového sedimentu

Vyšetření močového sedimentu je vhodné k posouzení léčebného efektu u zánětlivých infekcí provázených leukocyturií a ke sledování hematurií. Nehodí se k vyšetření moči s chudým morfologickým nálezem. Většinou se realizuje v závislosti na pozitivním nálezu erytrocytů a leukocytů diagnostickými proužky.

Při své práci jsem stanovovala močový sediment dle metody Stanfielda a Webba. Nezbytným přístrojovým vybavením je mikroskop. Potřebné pomůcky jsou Bürkerova komůrka, krycí sklíčko a pipeta na nanášení vzorku.

K vyšetření se používá čerstvá, dobře promíchaná, necentrifugovaná moč.

Bürkerovu komůrku naplníme zcela čerstvou močí a počítáme množství erytrocytů, leukocytů a válců v 1 μ l. Komůrku orientačně prohlédneme. Není-li rozložení elementů rovnoměrné nebo nalezneme-li v komůrce válec, naplníme močí druhou komůrky a počítáme množství elementů i zde. Jako výsledek udáme průměr obou výpočtů. Počítáme obsah deseti největších čtverců. Viz příloha č. 2

V referenčním rozmezí se pohybují hodnoty do 5 erytrocytů, 10 leukocytů u žen a 8 leukocytů u mužů a při absenci válců.

Metoda je náročná na přístrojové vybavení a zkušenost pracovníka.

3.4 Metodika vyšetření moči pomocí Uricultu

Uricult se používá pro kvantitativní kultivační vyšetření moči, pro průkaz či vyloučení bakteriální infekce močových cest. V závislosti na druhu výrobce jsou vyráběny Uriculty umožňující stanovení na dvou nebo třech kultivačních půdách.

Při své práci jsem využívala Uricult Trio firmy Orion Diagnostica.

K vyšetření se používá nejlépe střední proud čerstvé moče, která by měla být před odebráním vzorku v močovém měchýři čtyři hodiny. Jestliže nemůžeme použít

čerstvou moč, uchováme ji v lednici při 2-8°C a ne déle než 24 hodin. Vzorky moči je možno získat vyprazdňováním, cévkováním nebo suprapubickou punkcí.

Destičku Uricult odšroubujeme z nádoby, aniž bychom se dotkli jejího povrchu. Uricult ponoříme do moče, aby byl povrch agarů úplně ponořen. Nemáme-li dostatek moče, můžeme povrch agarů polít močí. Je nutné destičku naklánět, aby byl celý povrch agarů namočen. Přebytek moče necháme okapat a poslední kapky odsajeme savým papírem. Destičku Uricult zašroubujeme zpět do nádoby. Na identifikační štítek napíšeme osobní údaje pacienta a nalepíme jej na nádobku. Nádobku umístíme svisle do inkubátoru. Inkubujeme při 36±2°C 24 hodin. Pro odečet a získání počtu kolonií vyndáme destičku z nádoby a porovnáme hustotu kolonií s modelovou tabulkou, která je dodávána spolu s Uricultem Trio. Viz příloha č. 3 a 4

Signifikantní počet kolonií CFU/ml je při odběru středního proudu moče, kdy moč byla v močovém měchýři méně než 4 h $\geq 10^3$, při odběru středního proudu moče, kdy moč byla v močovém měchýři déle než 4 h $\geq 10^{4-5}$, při asymptomatické bakteriurii $\geq 10^5$.⁽¹⁸⁾

Uricult Trio nepoužíváme v případě, že zjistíme dehydrataci agarů, změnu jeho barvy, jeho oddělení od plastické destičky nebo růst bakterií nebo plísní a kvasinek. Pro správné stanovení je důležité dodržovat pokyny výrobce a nepoužívat proužky po uplynutí data expirace.

Metoda je jednoduchá, citlivá a specifická.

3.5 Metodika vyšetření CRP

Jednoduchým testem můžeme kvantitativně stanovit hladinu C-reaktivního proteinu v plné krvi, séru nebo plazmě.

Při své práci jsem stanovovala CRP pomocí testu QuikRaed CRP firmy Orion Diagnostica, který stanovuje hodnotu CRP imunoturbidimetricky.

Nezbytný je přístroj QuikRead nebo QuikRead 101. Potřebné pomůcky jsou dezinfekce, lancety nebo jehly pro odběr kapilární krve, kapiláry, píсты, kyvety, pufr, dávkovač na 1 ml, CRP víčka s reagensí a magnetická karta. Viz příloha č. 5

K vyšetření se používá plná krev získaná ze špičky prstu. Můžeme použít i antikoagulovanou plnou krev, sérum nebo plazmu.

Provedeme dezinfekci místa vpichu. Dezinfekci necháme zaschnout. Do kapiláry vložíme ze strany označené modrým pruhem píst. Provedeme vpich jednorázovou sterilní lancetou. První kapku krve otřeme. Poté odebereme kapilárou 20 μ l krve. Přebytek krve, která ulpěla vně kapiláry, opatrně otřeme, aniž by došlo k odsátí krve z vnitřku kapiláry.

Na přístroji QuikRead načteme magnetickou kartu. Do kyvety nadávkujeme 1 ml pufru. Přidáme 20 μ l krve zatlačením na píst v kapiláře. Kyvetu uzavřeme víčkem s CRP-reagensí a jemně promícháme (ne dnem vzhůru). Nedotýkáme se přitom spodní části kyvety, která slouží jako optická část. Až se stane roztok jasně červeným (proběhla hemolýza), vložíme kyvetu do měřicí části přístroje. Na displeji se zobrazí „Merení blanku“. Blank se měří asi 40 sekund. Pak přidáme činidlo zatlačením vnitřní části víčka. To uvolní CRP-reagensii do kyvety. Vyjmeme kyvetu z přístroje a důkladně ji promícháme obrácením dna vzhůru. Při zobrazení nápisu „Vložte kyvetu“, vrátíme kyvetu zpět. Následně se zobrazí „Probiha mereni“ a odpočítávání času v sekundách. Po dokončení měření se na displeji zobrazí výsledná naměřená hodnota. Viz příloha č. 6

Při použití séra nebo plazmy pipetujeme 12 μ l vzorku. Konečný výsledek se zobrazí na displeji. Při pipetování 20 μ l vzorku výsledek na displeji vynásobíme koeficientem 0,6.

Měřicí rozmezí je 8-160 mg/l. Fyziologické hodnoty jsou do 10 mg/l.

Pro správné stanovení je důležité dodržovat pracovní postup a pokyny výrobce. Výhodou je, že přístroj QuikRead 101 vede uživatele průběhem celého testu formou stručných zpráv na displeji.

Metoda je jednoduchá, rychlá a spolehlivá.

3.6 Metodika vyšetření sedimentace erytrocytů

Při stanovování rychlosti sedimentace erytrocytů jsem používala soupravy společnosti Inset a využívala jsem Fahraeus-Westergrenovu metodu při použití vodorovné metody, tj. kapilára pod úhlem 90°.

Vyšetření sedimentace erytrocytů se provádí z nesrážlivé krve. Protisrážlivé činidlo tvoří citrát sodný.

K vyšetření potřebujeme sedimentační odběrové nádoby s citrátem sodným, kalibrované kapiláry a stojan.

0,8 ml krve odebereme do sedimentační odběrové nádoby, která obsahuje 0,2 ml 3,8% citrátu sodného. Je nutné dodržet doporučený objem krve daný výrobcem. Krev promícháme s antikoagulačním činidlem. Kalibrovanou kapiláru zasuneme až na dno odběrové nádoby a krev samovolně vystoupí na značku 0. Poté umístíme kapiláru s nádobkou do stojanu pod úhlem 90°. Po 1 a 2 hodinách odečteme na stupnici hodnotu, o kterou erytrocyty poklesly. Viz příloha č.7

Referenční hodnoty jsou u novorozenců 1-3 mm/h, u dětí od 1 do 6 měsíců do 12 mm/h, u dětí do 2 let 1-5 mm/h, u dětí od 2 do 19 let 1-8 mm/h, u mužů 2-10 mm/h a u žen 3-21 mm/h . Hodnoty se zvyšují s přibývajícím věkem. Dobrým vodítkem k orientaci o horní hranici normálu je u mužů věk dělený dvěma, u žen (věk + 10) děleno dvěma. ^(9, 31)

Vyšetření je jednoduché a nespecifické.

3.7 Metodika vyšetření glykémie pomocí glukometru

Při zjišťování hladiny glykémie jsem využívala glukometr MediSense Optium a proužky Optium Plus Electrodes, který stanovuje glykémii elektrochemicky.

Vyšetření se provádí z kapky kapilární krve.

K tomuto vyšetření potřebujeme glukometr MediSense Optium, proužky Optium Plus Electrodes, dezinfekci a lancety nebo jehly pro odběr kapilární krve.

Provedeme dezinfekci místa vpichu. Dezinfekci necháme zaschnout. Provedeme vpich na špičce prstu. První kapku otřeme. Do glukometru zasuneme samonasávací proužek Optium Plus Electrodes. Vzorek nanese na proužek, a to buď dotekem shora či přiložením konce proužku ke kapce krve. Na displeji se zobrazí číselná hodnota glykémie. Viz příloha č. 8 a 9

Ve fyziologickém rozmezí se glykémie nalačno v plné krvi pohybuje v rozmezí 3,89-5,55 mmol/l u dospělých, 3,33-5,4 mmol/l u dětí do dvou let, u donošených novorozenců 1,67-5 mmol/l a u nedonošených novorozenců 1,11-3,65 mmol/l. ⁽²⁷⁾

Test je jednoduchý, rychlý a přesný.

3.8 Metodika testu na okultní krvácení

Test slouží k detekci krve ve stolici způsobené okultním krvácením v důsledku gastrointestinálních chrob.

Při stanovení okultního krvácení jsem používala test OKULT-VIDITEST RAPID od výrobce Vidia s.r.o., který využívá pseudoperoxidázových vlastností hemoglobinu.

K detekci potřebujeme detekční roztok. Pacient potřebuje testovací karty, špachtle, sáček a návod k použití. Viz příloha č. 10

Vyšetření se provádí ze tří po sobě jdoucích stolic. Pacient sám odebírá vzorky stolice. Je důležité dostatečně informovat pacienta o postupu při odběru vzorků, aby nedošlo k falešným výsledkům. Je nutné, aby pacient dva až tři dny před odběrem a během doby odběru dodržoval dietu. Ve stravě vynechá potravu obsahující krev, syrové nebo nedovařené maso, játra, uzeniny, křen, rajčata, ředkvičky, kedlubny, špenát, vitamín C a železo. Naopak do svého jídelníčku zařadí potraviny bohaté na vlákninu. Je nutné vynechat některé léky, které mohou způsobovat gastrointestinální krvácení a tím i pozitivní výsledek testu, např. aspirin.

První den pacient odtrhne jednu testovací kartu. Na této kartě vyplní své osobní údaje a datum odběru. Otevře přední stranu, kde je napsáno „Zde otevře pacient“. Do tří

okének rozetře vždy novou špachtlí tenkou vrstvou stolice odebranou ze tří různých míst. Vzorky nechá zaschnout a kartu zavře a uklidí zpět do igelitového sáčku. Takto pacient postupuje při dalších dvou následujících stolicích. Poté pacient přinese karty se vzorky lékaři k detekci. Viz příloha č. 11

Otevřeme zadní strany karet s nápisem „Zde otevře lékař nebo laboratoř“. Na každé políčko kápneme po kapce detekčního roztoku. Výsledek odečteme po 30 sekundách, nejdéle však do 5 minut. Viz příloha č. 12

Pro pozitivní výsledek svědčí přítomnost modrého zbarvení. Absence modrého zbarvení znamená negativní výsledek.

Pro správné stanovení je důležité dodržovat pracovní postup a pokyny výrobce. Je důležité, aby pacient dodržel dietní opatření. Před detekcí musí být vzorky stolice na testovací kartě zcela suché.

Test je jednoduchý pro lékaře, ale náročný pro pacienta, je málo přesný, citlivost nelze přesně udat.

3.9 Metodika průkazu adenovirů a rotavirů

Test slouží k průkazu adenovirů nebo rotavirů ve stolici.

Při své práci jsem pracovala s testy Diarlex MB od firmy Orion Diagnostica. Tyto testy jsou imunochromatografické.

K práci potřebujeme testovací proužky Diarlex MB, opěrné destičky a filtrační odběrové lahvičky Faecal Specimen Filtration Vials. Viz příloha č. 13

Testování se provádí z čerstvé stolice. Stolice může být jak pevná, tak řídká. Pokud je to nutné můžeme stolici skladovat několik dní při chladničkové teplotě nebo ji až na několik měsíců zmrazit.

Před použitím vytemperujeme vzorek a testovací soupravu na laboratorní teplotu. Na filtrační odběrové lahvičky nalepíme identifikační údaje pacienta. Odšroubujeme víčko a lžičkou, která je zde připevněná nabere vzorek stolice ve velikosti 2 plných lžiček. Lahvičku uzavřeme a promícháme. Z vrcholu víčka

odkryjeme klobouček. Mimo test odkápneme 5 kapek. Z tuby vyndáme testovací proužek, který držíme za barevný konec. Proužek upevníme do opěrné destičky. Nedotýkáme se přitom membránové části na proužku. Do zóny pro vzorek kápneme kapku filtrátu z lahvičky. Po absorbování filtrátu kápneme ještě jednu kapku. Výsledky interpretujeme do 10 minut.

Výsledek je pozitivní na rotaviry, v případě že se spolu s kontrolní černou linkou objeví červená rotavirová linka. Test je pozitivní na rotavirus, když se společně s černou kontrolní linkou objeví modrá adenovirová linka. Test je negativní, jestliže se objeví pouze černá kontrolní linka. Viz příloha č.14

Pro správné stanovení je důležité dodržovat přesný návod od výrobce. Nepoužívat testy po expiraci. Nehodnotit testy pokud se neobjeví černá kontrolní linka nebo při zobrazení rotavirové či adenovirové linky v hnědé barvě. Je-li vzorek odebrán později v průběhu onemocnění, může nastat falešně negativní výsledek, protože ve stolici je již málo virových částic.

Test je jednoduchý, citlivý a specifický.

3.10 Metodika vyšetření Dentocult

Při své práci jsem používala Dentocult SM Strip mutans od firmy Orion Diagnostica, který je používán k detekci Streptococcus mutans ve slinách a zubním plaku.

K vyšetření potřebujeme testovací proužky pro testování vzorků zubního plaku, testovací proužky pro testování vzorků stimulovaných slin, lahvičky se selektivním kultivačním médiem, bacitracinové disky, parafinové kuličky, nalepovací štítky, jehlu, párátko a emitku.

Test provádíme ze slin a zubního plaku.

Před testem by pacient neměl 1-2 hodiny jíst, kouřit a čistit si zuby. Antimikrobiální léčba může test ovlivnit i 2-4 týdny od ukončení.

Před začátkem testování je nutné nechat lahvičky s kultivačním médiem vytemperovat na pokojovou teplotu. Asi 15 minut před odběrem vzorku do lahvičky

vložíme s pomocí jehly bacitracinový disk. Párátkem setřeme z povrchu zubu nebo z mezizubních prostor zubní plak. Vzorek rozetřeme po ploše testovacího proužku pro testování vzorků zubního plaku. Tento proužek obsahuje čtyři políčka pro testování čtyř vzorků zubního plaku (od jednoho pacienta). Pro vyšetření stimulovaných slin necháme pacienta 1 minutu žvýkat parafinovou kuličku. Tím se stimuluje tvorba slin a *Streptococcus mutans* se uvolňuje ze zubního povrchu do slin. Pacient vyplivne parafinovou kuličku a přebytek slin. Poté na povrch jazyka přitiskneme testovací proužek pro testování vzorků stimulovaných slin. Proužek z úst vyndáme přes jemně stisknuté rty pacienta. Lahvičku s médiem jemně promícháme. Do víčka upevníme testovací proužky a vložíme je do kultivačního média. Na lahvičku nalepíme štítek s identifikačními údaji pacienta. Lahvičku vložíme do inkubátoru a inkubujeme ve svislé poloze 48 hodin při 35-37°C. Víčko necháme z 1/4 pootevřené. Pokud výsledek nemůžeme po 48 hodinách interpretovat, prodloužíme inkubaci na 96 hodin.

Streptococcus mutans je vidět jako modré, vyvýšené kolonie. *Streptococcus mutans* adheruje na povrch testovacího proužku v poměru, který odpovídá jeho aktuální hustotě ve slinách. Hustotu bakterií ve slinách získáme porovnáním testovacího proužku s modelovou tabulkou. Viz příloha č. 15 a 16

Hustota *Streptococcus mutans* nám udává míru rizika vzniku zubního kazu.

Pro správné hodnocení testu je důležité řídit se pokyny výrobce. U malých dětí nepoužíváme parafinové kuličky a odebíráme nestimulované sliny.

Test je citlivý a specifický.

3.11 Metodika detekce *Streptococcus pyogenes*

Při své práci jsem stanovovala *Streptococcus pyogenes* pomocí testu QuikRaed Strep A firmy Orion Diagnostica, který detekuje *Streptococcus pyogenes* imunoturbidimetricky.

Nezbytný je přístroj QuikRead nebo QuikRead 101. Potřebné pomůcky jsou QuikRead Strep A tampóny, kyvety, reakční pufr, dávkovač na 0,8 ml, extrakční reagensie 1 a 2, Strep A víčka s reagensií a magnetická karta. Viz příloha č. 17

Vyšetření se provádí z výtěru z krku.

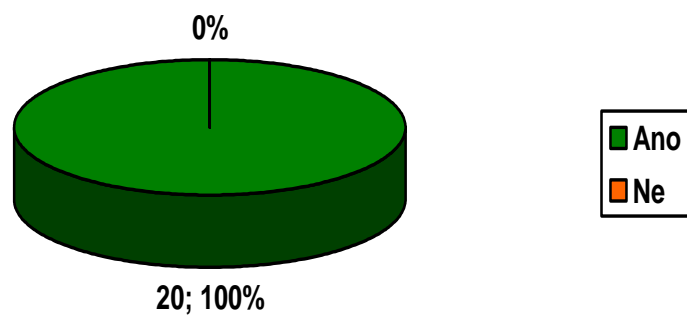
Tampónem provedeme výtěr z krku. Tampón vložíme do čisté QuikRead kyvety. Přidáme 2 kapky extrakční reagensie 1 a 2. Roztok se zbarví do žlutooranžova. Tampónem víříme 30 sekund a inkubujeme 2 minuty. Do kyvety nadávkuje 0,8 ml reakčního pufru, vzorek se zbarví do červena. Zavíříme tampónem a vytlačíme z něj všechnu kapalinu tím, že jím zatlačíme na vnitřní stranu kyvety. Tampón vyndáme. Kyvetu uzavřeme víčkem se Strep A reagensií. Na přístroji QuikRead načteme magnetickou kartu. Nedotýkáme se přitom spodní části kyvety, která slouží jako optická část. Vložíme kyvetu do měřicí části přístroje. Na displeji se zobrazí „Merení blanku“. Blank se měří asi 40 sekund. Pak přidáme činidlo zatlačením vnitřní části víčka. To uvolní Strep A reagensii do kyvety. Vyjmeme kyvetu z přístroje a důkladně ji promícháme obrácením dna vzhůru. Při zobrazení nápisu „Vložte kyvetu“, vrátíme kyvetu zpět. Následně se zobrazí „Probiha mereni“ a odpočítávání času v sekundách. Po dokončení měření se na displeji zobrazí výsledek. Zobrazí se buď „Pozitivni Strep A“, nebo „Negativni Strep A“.

Pro správné stanovení je důležité dodržovat pracovní postup a pokyny výrobce. Výhodou je, že přístroj QuikRead 101 vede uživatele průběhem celého testu formou stručných zpráv na displeji.

Metoda je jednoduchá, rychlá, specifická a citlivá.

4. Výsledky

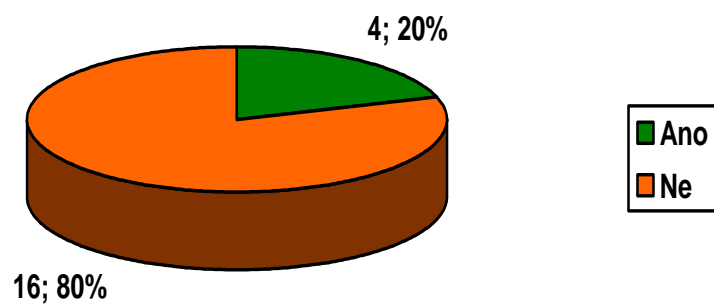
Vyšetření moče diagnostickými proužky



Graf č. 1

Zdroj: Vlastní výzkum

Vyšetření močového sedimentu



Graf č. 2

Zdroj: Vlastní výzkum

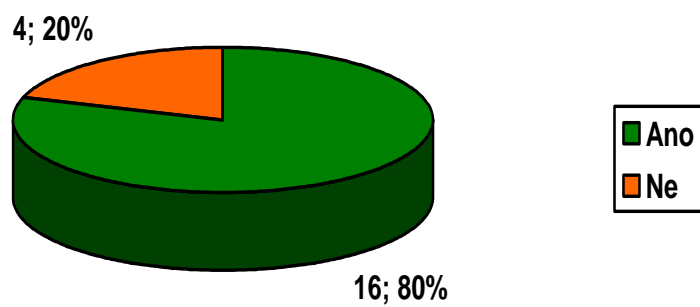
Vyšetření Uricult



Graf č. 3

Zdroj: Vlastní výzkum

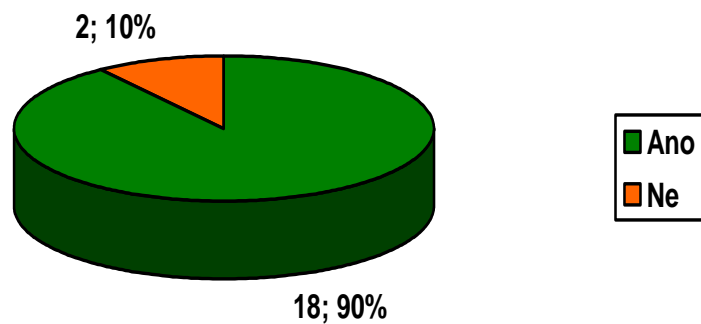
Vyšetření CRP



Graf č. 4

Zdroj: Vlastní výzkum

Vyšetření sedimentace erytrocytů



Graf č. 5

Zdroj: Vlastní výzkum

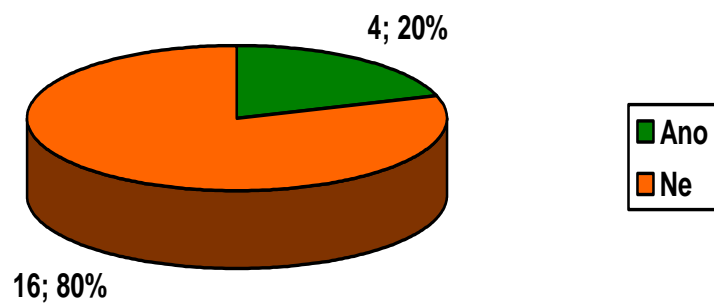
Vyšetření glykémie



Graf č. 6

Zdroj: Vlastní výzkum

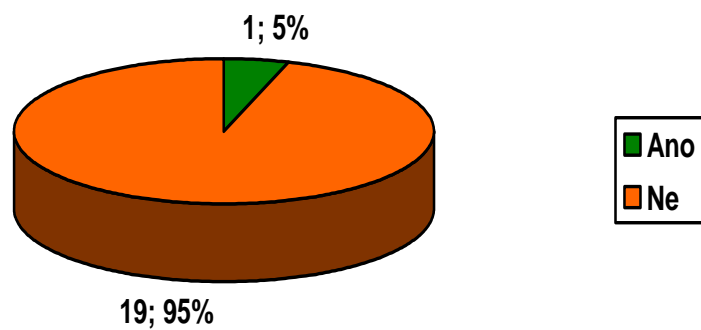
Vyšetření okultního krvácení



Graf č. 7

Zdroj: Vlastní výzkum

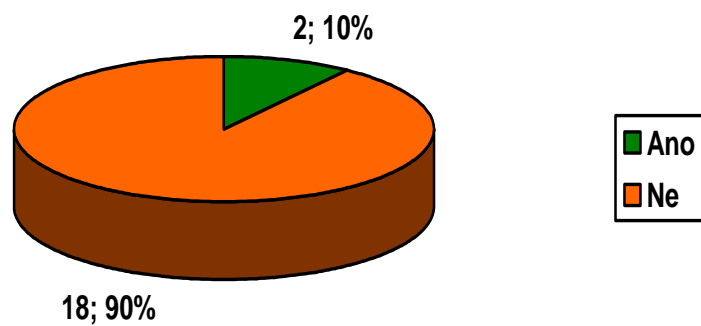
Vyšetření adenovirů a rotavirů ve stolici



Graf č. 8

Zdroj: Vlastní výzkum

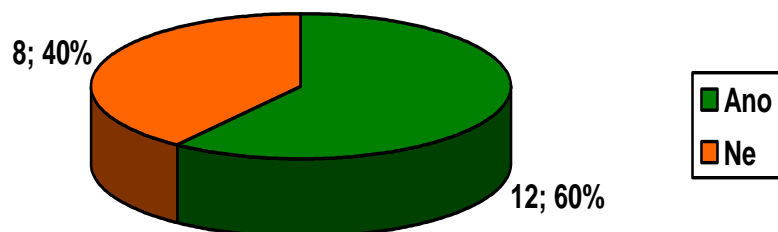
Vyšetření Dentocult



Graf č. 9

Zdroj: Vlastní výzkum

Vyšetření Strep A



Graf č. 10

Zdroj: Vlastní výzkum

5. Diskuze

Ze zpracování výsledků zjištěných laboratorních metod využívaných přímo v ordinaci dětských praktických lékařů vyplývá:

Metodu vyšetření moče diagnostickými proužky využívá 100% dotázaných lékařů (graf č. 1). Podle mého názoru je to tím, že obsah pravidelných prohlídek ukládá v rámci prevence provádět i vyšetření moče. Navíc je toto vyšetření velmi jednoduché, levné a diagnosticky významné.

Vyšetření močového sedimentu provádí 20% lékařů (graf č. 2). Myslím, že důvodem proč toto vyšetření nerealizuje více lékařů je náročnost na vybavení, čas a zkušenosti při odečítání. Pro lékaře je tak daleko jednodušší poslat vzorek moči do biochemické laboratoře, kde mají laboranti s odečítáním močového sedimentu každodenní zkušenosti.

Kultivační metodu na vyšetření moči Uricult realizuje ve svých ordinacích 45% lékařů (graf č. 3). Domnívám se, že zbytek lékařů tuto metodu také využívá, ale Uriculty posílají do mikrobiologických laboratoří, neboť ve svých ordinacích nemají inkubátor. Má úvaha se zakládá na osobní zkušenosti z praxe v mikrobiologické laboratoři.

Vyšetření C-reaktivního proteinu je s 80% třetím nejčastěji prováděným vyšetřením (graf č. 4). Toto vyšetření je dle mého názoru velmi důležité, protože napomáhá rozlišit virové onemocnění od bakteriálního. Tím může lékař rozhodnout o správném postupu léčby a zbytečně nenasazovat léčbu antibiotickou. Nadbytečná spotřeba totiž vede ke zvyšující se rezistenci na antibiotika, což je nyní celosvětovým problémem. Biochemické laboratoře sice vyšetřují CRP, ale lékař často nemůže čekat s určením léčby až do doručení výsledků.

Rychlost sedimentace erytrocytů realizuje 90% pediatrů (graf č. 5). Je to druhé nejčastěji využívané vyšetření. A to i přesto, že je toto vyšetření nespecifické. Může však upozornit na probíhající zánět. Výhodou je, že stanovení sedimentace je jednoduché a finančně málo nákladné.

Glykémii stanovuje ve svých ordinacích 50% lékařů (graf č. 6). Přestože je vyšetření prostřednictvím glukometru jednoduché, posílají lékaři vzorky na stanovení glykémie do laboratoří klinické biochemie. Nicméně si myslím, že pozdější zjištění hodnot glykémie z důvodu vyšetření v laboratoři nevádí.

Testování stolice na okultní krvácení provádí jen 20% lékařů (graf č. 7). Podle mého názoru je to tím, že vyšetření je bezplatné až pro pacienty nad 50 let. Preventivní vyšetření se proto u dětské populace tolik neuskutečňují. A při výskytu konkrétního problému se tato otázka řeší s odborníkem.

Vyšetření stanovující rotaviry a adenoviry ve stolici je s 5% nejméně prováděným vyšetřením (graf č. 8). Domnívám se, že je to způsobeno zasíláním vzorků přímo do mikrobiologických laboratoří.

Kultivační metodu Dentocult využívá ve své praxi 10% pediatriů (graf č. 9). Myslím si, že je to tím, že toto vyšetření spíše spadá do oboru stomatologie. Proto by tento druh vyšetření měli provádět stomatologové.

Metodu detekce *Streptococcus pyogenes* používá 60% lékařů (graf č. 10). Myslím si, že zbylých 40% lékařů zasílá vzorky výtěrů do mikrobiologických laboratoří, kde zároveň s přesným bakteriálním stanovením zjistí i citlivost k jednotlivým antibiotikům.

Doposud nikdo nezjišťoval rozsah metod, které pediatrii využívají ve svých praxích. Proto mé výsledky nemohu komparovat s obdobnými výsledky jiných autorů.

V podkladu pro zadání bakalářské práce jsem měla v popisu metodiky uvedeno, že informace o stavu laboratorních vyšetření získám návštěvou deseti dětských lékařů. Pro lepší výpovědní hodnotu jsem tento výzkum rozšířila o dalších deset lékařů. Informace jsem tedy zjistila u dvaceti dětských lékařů.

Při shromažďování materiálů jsem našla metody, které nikdo z oslovených lékařů nevyužívá. Následující řádky představují výčet některých dosud nepoužívaných přístrojů a vyšetření, která lze realizovat přímo v ordinaci.

Firma Orion Diagnostica nabízí Sensicult, metodu pro zjištění citlivosti bakterií v moči na antibakteriální látky použité při léčení infekcí močových cest. Pomocí

přístroje QuikRead můžeme kvantitativně stanovit nízké koncentrace albuminu v moči nebo imunologicky detekovat okultní krvácení ve stolici.

Firma QuickSeal International nabízí přístroj Smart 700/340, který je vhodný pro rychlé stanovení CRP, albuminu v moči a HbA1c.

Firma Roche nabízí přístroje Accutrend, které jsou vhodné ke stanovení glukózy, cholesterolu, triglyceridů a laktátu z kapilární krve. Zařízení Cardiac Reader rychle stanoví troponin T, myoglobinu nebo D-Dimery z krve. CoaguChek měří protrombinový čas, vyjádřený hodnotou INR. Přístroj Reflotron s použitím specifických diagnostických proužků stanovuje v krvi amylázu, pankreatickou amylázu, bilirubin, draslík, cholesterol, HDL-cholesterol, kreatinin, kreatinínázu, γ -glutamyltransferázu, glukózu, AST, ALT, hemoglobin, triglyceridy, močovinu, kyselinu močovou a alkalickou fosfatázu.

6. Závěr

Cílem této práce bylo zjistit současný stav laboratorních možností vyšetření u dětských lékařů přímo v ordinaci. Zjistit využívání těchto metod u dětských lékařů a tyto metody se naučit ovládat a interpretovat. Cíle se mi podařilo splnit.

Hypotézu, že dětské lékaři v nestátních zdravotnických zařízeních dostatečně nevyužívají možností rychlých orientačních laboratorních vyšetření ve své praxi se mi podařilo potvrdit. Potvrzení hypotézy je dáno tím, že stále mnoho lékařů nevyužívá metod, které současnost nabízí.

Práce pomohla podat ucelený obraz o struktuře laboratorních vyšetření používaných v současné praktické pediatrii.

Dnešní doba nabízí větší škálu metod, než ty, kterými jsem se zabývala ve své bakalářské práci. Jejich vynechání z bakalářské práce je dáno tím, že lékaři je dosud nevyužívají.

Tak jako jiné obory i laboratorní metody se s rozvojem vědy a techniky vyvíjejí. Je proto důležité tento vývoj sledovat, aby lékaři mohli využívat nejmodernějších metod k diagnostikování onemocnění.

7. Klíčová slova

- C-reaktivní protein
- Dentocult
- diagnostické proužky
- glykémie
- močový sediment
- okultní krvácení
- sedimentace
- Uricult

8. Seznam použitých zdrojů

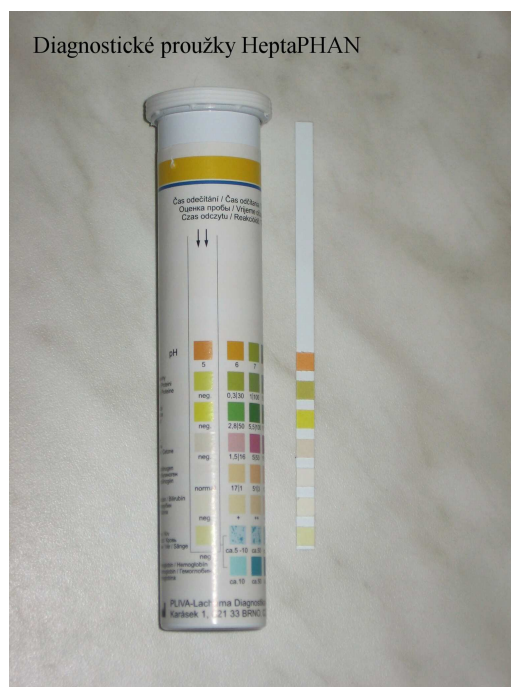
1. BEDNÁŘ, M. et al. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. 558 s.
2. BRANDTL, P. Test na okultní krvácení ve stolici
Dostupné z: https://www.zdravcentra.cz/cps/rde/xchg/zc/xsl/51_1715.html,
10.3.2008
3. ČERMÁKOVÁ, M. ŠTĚPÁNOVÁ, I. *Klinická biochemie 1. díl*. 1. vyd. Brno: idvpz, 2003. 120 s. ISBN: 80-7013-372-4.
4. DOHNAL, L. ŠTERN, P. Stanovení glukózy glukometrem – mýty a skutečnost, *Informační bulletin FONS*. Pardubice: 2008, č. 3/2008, s. 36-38. ISSN 1211-7137.
5. DOLEŽALOVÁ, V. et al. *Principy biochemických vyšetřovacích metod II. část*. Brno: idvpz, 1995. 231 s. ISBN 80-7013-206-X.
6. HECOVÁ, H. MERGLOVÁ, V. STEHLÍKOVÁ, J. Využití mikrobiálních testů v prevenci zubního kazu. *LKS*. Praha: 2007, roč. 17, č. 7-8, s.19-21. ISSN 1210-3381
7. INLAB MEDICAL. *Strep A*
Dostupné z: <http://www.inlab.cz/biochemie/testy/StrepA.pdf>, 4.4.2009
8. KLENER, P. et al. *Vnitřní lékařství*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1999. 949 s. ISBN 80-7184-853-0.

9. KOPÁČ, J. *Lékařská laboratorní diagnostika*. Turnov: Lékařská laboratoř, 2004. 813 s.
10. MASOPUST, J. *Klinická biochemie: požadování a hodnocení biochemických vyšetření, I. a II. část*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998. 832 s.
ISBN 80-7184-648-3.
11. MERGLOVÁ, V. Mikrobiologické testy v prevenci zubního kazu. *Vox Paediatricae*. Praha: 2005, roč. 5, č. 8, s. 18-19. ISSN 1213-2241.
12. MEŠKO, D. *Vademékum klinickej biochémie*. 1. vyd. Martin: Osveta, 1998. 1647 s. ISBN 80-8063-005-4.
13. MIKŠOVÁ, Z. FRONKOVÁ, M. ZAJÍČKOVÁ M. *Kapitoly z ošetrovateľskej péče II*. 1. vyd. Praha: Grada, 2006. 172 s. ISBN 80-247-1443-4.
14. NEJEDLÝ, B. TOBIŠKA, J. *Základní vyšetření moče*. Účelová publikace ministerstva zdravotnictví ČSR, 1985. 35 s.
15. ORION DIAGNOSTICA. *Diarlex MB*
Dostupné z: <http://www.dentokult.cz/Pribalaky/Diarlex%20MB%2039816-7.pdf>, 1.1.2009
16. ORION DIAGNOSTICA. *Diarlex Rota-Adeno, Rota, Adeno*
Dostupné z:
<http://www.dentocult.cz/Pribalaky/Diarlex%20RotaAdeno,Rota,%20Adeno%2038950-16.pdf> , 1.1.2009

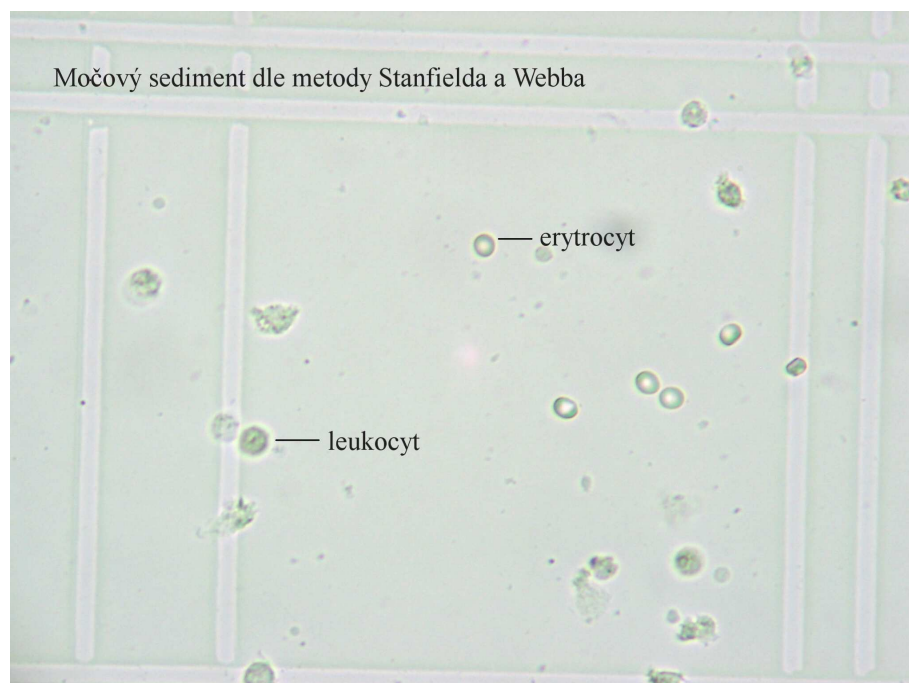
17. ORION DIAGNOSTICA. *QuikRead Strep A*
Dostupné z:
[http://www.oriondiagnostica.cz/produkty2?product=11088398&group=](http://www.oriondiagnostica.cz/produkty2?product=11088398&group=1.01)
1.01, 4.4.2009
18. ORION DIAGNOSTICA. *Uricult*
Dostupné z:
[http://medinor.webon.net/medinor2/fronted/vedlegg/pakningsvedlegg](http://medinor.webon.net/medinor2/fronted/vedlegg/pakningsvedlegg/Primer/Uricult_Trio_39475-16_E.pdf)
/Primer/Uricult_Trio_39475-16_E.pdf , 14.4.2009
19. PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o., *Diagnostické proužky k vyšetření moče*
Dostupné z: http://www.lachema.com/prilohy/PHAN_spolecny-CZ.pdf ,
3.3.2009
20. RACEK, J. et al. *Klinická biochemie*. 2. vyd. Praha: Galén, 2006. 329 s.
ISBN 80-7262-324-9.
21. RINGSRUD K.M., LINNÉ J. J. *Urinalysis and body fluids, a colortext and atlas*. 1st ed. St.Louis: Mosby, 1995. 249 s. ISBN 0-8016-7043-8.
22. SCHNEIDERKA, P. et al. *Vybrané kapitoly z klinické biochemie*. 1. vyd.
Praha: Karolinum, 1998. 119 s. ISBN 80-7184-505-1.
23. STEJSKAL, F. Průjmy cestovatelů – příčiny, prevence a léčba. *Practicus*.
Praha: 2006, roč. 5, č. 5/2006, s. 208. ISSN 1213-8711.
24. SUOMINEN, P. et al. C-reaktivní protein-klinická příručka. *Practicus*. Praha:
2009, roč. 2, č. 8. ISSN 1213-8711.

25. TÁBORSKÁ, J. PAZDIORA, P. Rotavirus jako nejčastější původce průjmů u dětí. *Pediatric pro praxi*. Olomouc: 2005, roč. 2005, č. 3, s. 135-138.
ISSN: 1213-0494.
26. THOMAS, L. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. 1st ed. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998. 1727 s. ISBN 3-9805215-4-0.
27. VOKURKA, M. HUGO, J. et al. *Velký lékařský slovník*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2002. 926 s. ISBN 80-85912-43-0.
28. VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. vyd. Brno: Neptun, 2005. 351 s. ISBN 80-86850-00-5.
29. WIKIPEDIA. *Glukometr*
Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Glukometr>, 4.4.2009
30. ZAHRADNICKÝ, J. et al. *Mikrobiologie a epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1987. 624 s.
31. ZIMA, T. *Laboratorní diagnostika*. 2. vyd. Praha: Galén, 2007. 906 s. ISBN 978-80-7262-372-3.
32. ZIMA, T. et al. *Laboratorní metody: část 1. Biochemické metody*. 1. vyd. Praha: Společnost všeobecného lékařství, 2008. 20 s. ISBN 978-80-86998-28-2.

9. Přílohy



Příloha č.1 Diagnostické proužky k vyšetření moče
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 2 Vyšetření močového sedimentu
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č.3 Uricult
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 4 Uricult s narostlými koloniemi
Zdroj: Vlastní výzkum



Pomůcky k vyšetření CRP

Příloha č. 5 Pomůcky k vyšetření CRP metodou QuikRead CRP
Zdroj: Vlastní výzkum

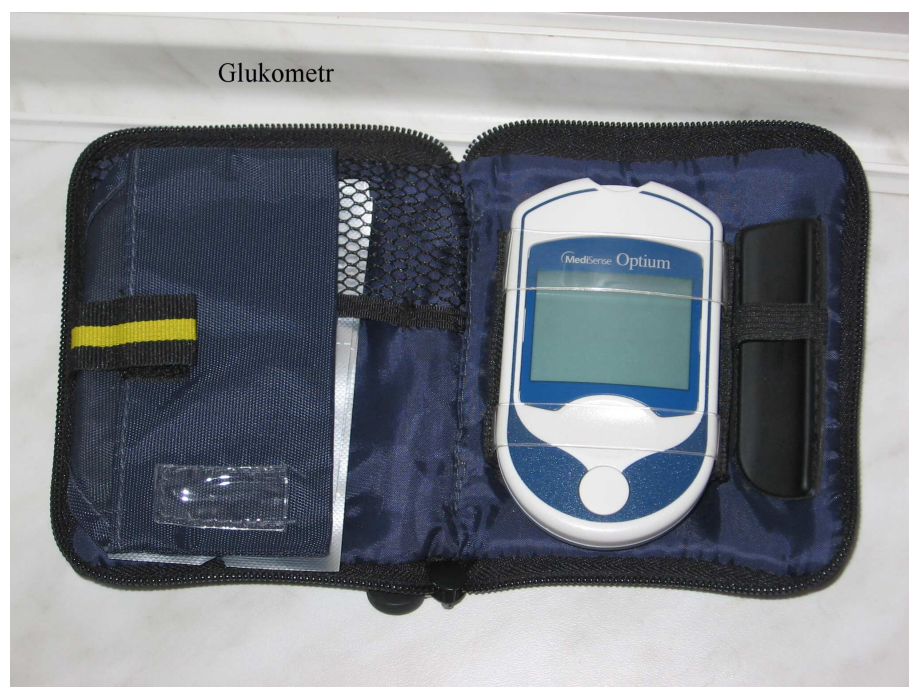


QuikRead 101 a magnetická karta

Příloha č. 6 Příklad QuikRead s magnetickou kartou
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 7 Sedimentace erytrocytů
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 8 Glukometr
Zdroj: Vlastní výzkum

Stanovení glykémie



Příloha č. 9 Vyšetření glykémie pomocí glukometru a diagnostických proužků
Zdroj: Vlastní výzkum

Balíček pro pacienta



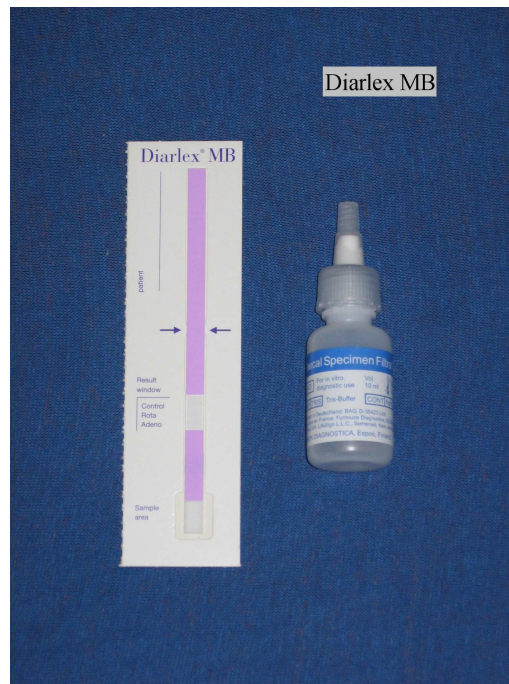
Příloha č. 10 Balíček pro pacienta – testy na okultní krvácení
Zdroj: Vlastní výzkum



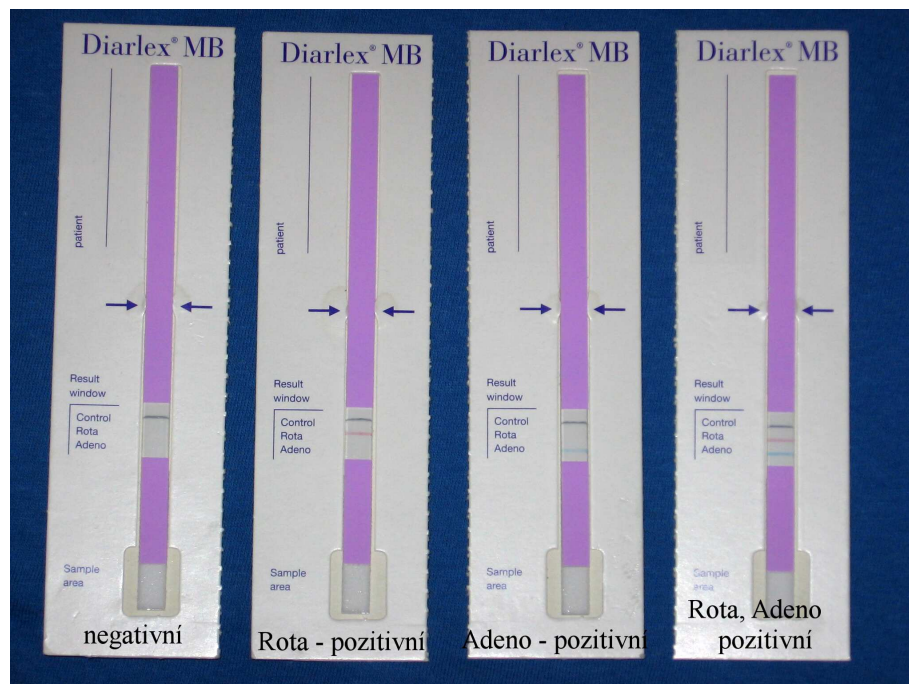
Příloha č. 11 Testy na okultní krvácení
Zdroj: Vlastní výzkum



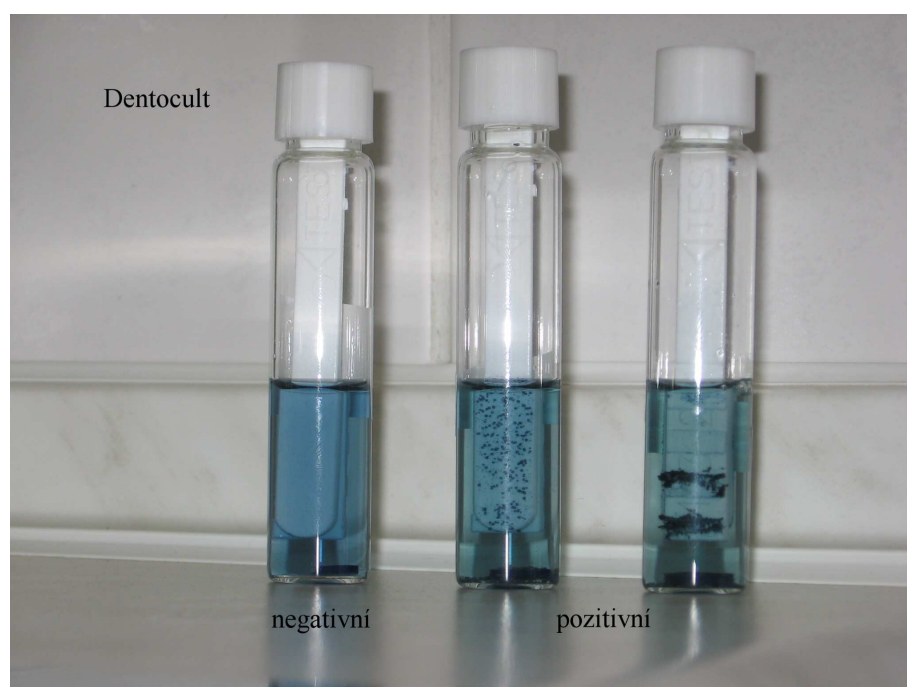
Příloha č. 12 Vyhodnocené testy na okultní krvácení
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 13 Pomůcky k průkazu rotavirů a adenovirů
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 14 Průkaz rotavirů a adenovirů
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 15 Lahvičky Dentocult
Zdroj: Vlastní výzkum



Příloha č. 16 Dentocult s narostlými koloniemi *Streptococcus mutans*
Zdroj: Vlastní výzkum

Pomůcky k vyšetření Strep A



Příloha č. 17 Pomůcky k vyšetření Strep A metodou QuikRead Strep A
Zdroj: Vlastní výzkum



QuikRead 101 - pozitivní Strep-A

Příloha č. 18 Přístroj QuikRead 101 a pozitivní detekce Streptococcus pyogenes
Zdroj: Vlastní výzkum