



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zdravotně sociální fakulta

Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

Vyšetřování biologického materiálu v ordinacích dětských lékařů - POCT

Vypracoval: Adéla Frdlíková

Vedoucí práce: prof. MUDr. Miloš Velemínský CSc. dr.h.c

České Budějovice 2014

Abstrakt

Práce se týká shromáždění výsledků vyšetřovacích metod POCT v ordinaci dětského lékaře a výsledků měřených v příslušné laboratoři.

Vyšetřovala a shromažďovala jsem výsledky tří nejčastěji zkoumaných biologických materiálů, kterými jsou krev, moč a stolice. V moči jsem prováděla základní chemické, mikroskopické a mikrobiologické vyšetření. V krvi jsem stanovovala množství C-reaktivního proteinu. Přítomnost rotavirů a adenovirů jsem zjišťovala ve stolici. Jednotlivá vyšetření jsem všeobecně popsala v teoretické části práce.

V metodice jsem podrobně popsala přístroje a metody. Pro chemické vyšetření moče jsem pracovala s přístrojem HandUReader pracující na principu fotometrie. Jeho výsledky jsem ověřovala v laboratoři diagnostickými proužky HaptaPhan a v mikroskopu. Přítomnost bakterií v moči jsem v ordinaci zjišťovala pomocí kultivačních testů Uricult Trio, které jsou z obou stran potaženy vrstvou agaru. V laboratoři jsem rozočkováním na krevní agar a Endovu půdu potvrzovala výsledky z ordinace. Přístroj QuikRead měřící množství C-reaktivního proteinu ve vzorku na principu fotometrie jsem používala v ordinaci. Jeho výsledky jsem ověřovala v laboratoři na plně automatizovaném přístroji Architect plus c4000, jehož princip je založen na principu turbidimetrie. Sety Diarlex MB v ordinaci a Rapid-VIDITEST Rota-Adeno v laboratoři jsem zjišťovala přítomnost rotavirů a adenovirů ve stolici.

Ve své práci jsem přesně popsala postup, jakým jsem pracovala s jednotlivými metodami a uvedla zjištěné výsledky.

Výsledky mé práce v ordinaci a laboratoři jsou shrnuty v diskuzi.

Abstract

This thesis is concerned with the accumulation of results of the POCT diagnostic methods in a pediatrician's office and the results of measurements in a respective laboratory.

I examined and gathered the results of three mostly tested biological materials which are blood, urine and stool. For the urinalysis, I conducted a basic chemical, microscopic and microbiological examination. When doing blood analysis, I determined the amount of C-reactive protein in blood. For stool analysis, I checked for the presence of rotaviruses and adenoviruses. The general description of the individual examinations is to be found in the theoretical part of this thesis.

In methodology, I described the apparatus and methods in detail. To chemically analyze the urine, I worked with HarnUReader device which operates on the principle of photometrics. In a laboratory, I checked the provided results against HeptaPhan diagnostic strips and a microscope analysis. The presence of bacteria in the urine was established in the pediatrician's office by using the Uricult Trio cultivation tests, which are coated with a layer of agar on both sides. I confirmed these results in a laboratory by a bacterial inoculation on blood agar and Endo soil. In the pediatrician's office, I used the Quikread device which measures the amount of C-reactive protein in the specimen on the principle of photometrics. In the laboratory, I checked these results against the results made by the fully automated Architect plus c4000 device which works on the principle of turbidimetry. To detect the presence of rotaviruses and adenoviruses in the stool, I used the Diarlex MB set in the pediatrician's office and the Rapid-VIDITEST Rota – Adeno set in the laboratory.

This thesis accurately describes the course of action I took to work with the respective methods and explains the detected results.

The results of my work in the pediatrician's office and in the laboratory are summarized in the discussion.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem 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 – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 19. 8. 2014

.....

(jméno a příjmení)

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce prof. MUDr. Miloši Velemínskému, CSC za věnovaný čas, trpělivost, připomínky a rady při zpracování této práce.

Obsah

1. Úvod.....	9
2. Point of care testing (POCT)	10
3. Vyšetření moče	11
3.1. Preanalytická část	11
3.2. Chemické vyšetření moče	12
3.2.1. Diagnostické proužky pro vyšetření moče.....	12
3.2.1.1. pH moči (acidita)	12
3.2.1.2. Bílkovina v moči (proteinurie)	13
3.2.1.3. Glukóza v moči (glykosurie)	13
3.2.1.4. Ketolátky v moči (ketonurie).....	13
3.2.1.5. Bilirubin v moči	14
3.2.1.6. Urobilinogen v moči	14
3.2.1.7. Krev v moči (hematurie).....	15
3.3. Vyšetření močového sedimentu.....	15
3.3.1. Nerozpustné složky	15
3.3.2. Kvalitativní vyšetření močového sedimentu.....	15
3.3.3. Organové složky	16
3.3.3.1. Erytrocyty	16
3.3.3.2. Leukocyty	16
3.3.3.3. Epitelové buňky	16
3.3.4. Neorganové složky	17
3.3.5. Kvantitativní vyšetření močového sedimentu.....	17
3.4. Mikrobiologické vyšetření moče	17
3.4.1. Krevní agar	18
3.4.2. Endova půda	18
3.4.3. McConkeyho medium.....	18
3.4.4. Sabouraudova půda.....	18
3.4.5. Soupravy typu uricult.....	19
4. Vyšetření krve.....	20
4.1. Preanalytická část	20
4.2. C – reaktivní protein	20
5. Vyšetření stolice	22
5.1. Preanalytická část	22
5.2. Rotaviry	22
5.3. Adenoviry	22
6. Vyšetřovací přístroje a sety.....	23
6.1. Přístroje pro vyšetření moče	23
6.1.1. HandUReader.....	23
6.1.2. Uricult Trio	24
6.2. Přístroje pro vyšetření krve.....	26
6.2.1. Architectc plus c4000	26
6.2.2. QuikRead	26
6.3. Sety pro vyšetření stolice	27

6.3.1. Rapid-VIDITEST Rota-Adeno	27
6.3.2. Diarlex MB	27
7. Cíle práce a výzkumné otázky	29
8. Metodika	30
8.1. Vzorky	31
8.1.1. Vzorky moče	31
8.1.2. Vzorky krve	31
8.1.3. Vzorky stolice	31
8.2. Vyšetření moče v laboratoři pomocí testacních proužků HeptaPhan a mikroskopické vyšetření	32
8.3. Vyšetření moče v ordinaci pomocí přístroje HandUReader	32
8.4. Mikrobiologické vyšetření moče	32
8.5. Vyšetření moče pomocí Uricultu	33
8.6. Vyšetření CRP v krvi v laboratoři přístrojem Architect plus c4000.....	33
8.7. Vyšetření CRP v krvi pomocí přístroje QuikRead v ordinaci	34
8.8. Vyšetření stolice na průkaz rotavirů a adenovirů v laboratoři pomocí Rapid – VIDITEST Rota-Adeno	34
8.9. Vyšetření stolice na průkaz rotavirů a adenovirů v ordinaci setem Diarlex MB.	35
9. Výsledky	36
10. Diskuse.....	55
11. Závěr	57
12. Seznam použité literatury	58
13. Klíčová slova	62
14. Přílohy.....	63

1. Úvod

Téma Možnosti vyšetření biologického materiálu v ordinacích dětských lékařů – POCT mě zaujalo šíří přesahující různé laboratorní odbornosti. Měla jsem možnost pracovat různými metodami s nejčastěji vyšetřovaným biologickým materiálem, tedy s močí, krví i stolicí.

Laboratorní vyšetření je jedním z podkladů pro rozvahu vedoucí ke stanovení diagnózy. Nejen u dětských lékařů jsou situace, kdy je zapotřebí rozhodnout ihned. V současnosti se objevuje celá řada vyšetřovacích metod tzv. POCT a množství přístrojů, které napomáhají k získání okamžitých výsledků sledovaného markeru a tím zkracují dobu mezi získáním vzorku v ordinaci a využitím výsledků ošetřujícím lékařem. Z procesu je vyloučen transport do laboratoře a většinou časově náročnější zpracování standardními metodami v laboratoři.

Zkoumala jsem dvacet pět vzorků od každého biologického materiálu, které jsem získala v jednom nestátním zdravotnickém zařízení pro děti a dorost, kde jsem je také vyšetřovala na POCT přístrojích a následně jsem získané výsledky ověřovala v příslušných smluvních laboratořích.

Díky této práci, jsem se seznámila s metodikou vyšetření CRP z krve, průkazu adenovirů a rotavirů ve stolici, chemickým, bakteriologickým a mikroskopickým vyšetřením moče.

Cílem mé práce je podat přehled možností vyšetření biologického materiálu v ordinaci. Vyšetřovat biologický materiál v jednom nestátním zdravotnickém zařízení pro děti a dorost metodami POCT a následně shromáždit výsledky měření téhož materiálu v příslušných laboratořích.

2. Point of care testing (POCT)

Pod zkratkou POCT se skrývá provádění měření a testů in vitro v místě péče o pacienta diagnostickými přístroji s jednoduchým ovládáním. POCT zahrnuje používání techniky u lůžka pacienta včetně přenosných analyzátorů, v praktických a odborných ambulancích nebo techniky používané přímo pacientem (sebetestování).
(10)

Výhody POCT

- optimalizace úvodního vyšetření pacienta a cílené odebrání anamnézy
- rychlá analýza (malý objem vzorku)
- získání výsledku v době, kdy se lékař plně věnuje pacientovi
- zkrácení analytického času
- cílená změna péče v případě časného získání výsledku
- větší uspokojení lékaře
- zlepšení kvality života pacienta

Nevýhody POCT

- zpravidla vyšší cena
- často neprofesionálně prováděná kontrola kvality
- vyšší pravděpodobnost chyby měření

POCT se stává nedílnou součástí laboratorní diagnostiky a má pevné místo v rámci laboratorní medicíny. POCT je důležitým prvkem v péči o pacienta a optimální zavádění POCT do praxe a jeho řízený proces a efektivní využívání jak z hlediska péče o pacienta tak i z hlediska ekonomického je trendem doby. Nedílnou součástí správného zavádění POCT do praxe se v neposlední řadě stává využití informačních technologií tzv. dálková správa neboli softwarové řešení. Softwarové řešení podpoří standardizaci všech procesů prováděných mimo laboratoř a jejich návaznost na příslušnou laboratoř, kde umožňuje tzv. koordinátorovi POCT systému sledovat a profesionálně ovlivňovat činnost vzdálených POCT pracovišť a zajišťovat mimo jiné řádný sběr, ověřování a schvalování dat před jejich odesláním do informačního systému LIS/HIS v ČR NIS.
(10)

3. Vyšetření moče

3.1. Preanalytická část

Jednorázový odběr

Nejvhodnější je ranní moč, jelikož je dostatečně koncentrovaná, nejméně ovlivněna léky, složením stravy a fyzickou aktivitou. (4)

Střední proud

„Odběr moče spontánně vymočené se provádí ze středního proudu moči. Nádoba pro odběr moči musí být sterilní, se širokým hrdlem(např. kádinka). Poučený pacient si před odběrem důkladně omyje zevní genitálie včetně zevního ústí urethry vodou a mýdlem. Muži močí jedním krouživým tahem. Ženy zaujmou široký postoj nad klozetovou mísou, jednou rukou oddálí stydké pysky a druhou rukou tamponem otřou genitálie předozadním pohybem. U mužů i u žen platí, že pacient odmočí první porci moče do klozetu a bez přerušení močení zachytí do sterilní nádoby střední proud. Odebraná moč se přelije do sterilní zkumavky či jiné nádoby určené k transportu. To samozřejmě není potřeba, pokud se pacient vymočil přímo do takové nádoby. Zejména u pacientek je takový postup obtížný.“ (31)

Časový odběr

Pro některé analýzy je nutné sbírat moč za definované časové období (3, 6, 12, 24 hodin). Kdy na počátku sběrného období pacient vymočí do záchodu a každé další močení je sbíráno do nádoby po celou dobu sběrného období. (4,29)

„Nedodržení správného postupu při transportu a skladování vzorků může zásadně ovlivnit spolehlivost laboratorních výsledků. Stání biologického materiálu na světle a v teple a dlouhodobý kontakt krevních elementů se sérem působí změny v koncentracích celé řady analytů. Pokud nemůžeme biologický materiál zpracovat

ihned, umístíme jej v lednici při 4°C, kde koncentrace většiny analytů zůstávají beze změny alespoň 24 h.“(4)

3.2. Chemické vyšetření moče

Jedná se o kvantitativní metodu, která slouží ke zjištění přítomnosti patologických součástí. Rutině se zjišťuje přítomnost bílkovin, krve, glukózy, ketolátek, žlučových barviv.(29, 6)

3.2.1. Diagnostické proužky pro vyšetření moče

Pro orientační vyšetření moči se používají diagnostické proužky. I když se obvykle hovoří o kvalitativním vyšetření, umožňuje porovnání zbarvení 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. (23)

3.2.1.1. pH moči (acidita)

Hodnota pH moči se obvykle pohybuje v rozmezí 5-6. Hodnotu pH moči ovlivňuje potrava: rostlinná strava moč alkalizuje, živočišná naopak acidifikuje. Změny pH moči mohou být rovněž projevem kompenzační činnosti ledvin u chronických poruch acidobazické rovnováhy, mohou být způsobeny i některými léčivými. Za patologické lze považovat alkalické pH moči. Kromě vlivů stravy může být způsobeno:

- bakteriální infekcí ledvin či močových cest, produkují-li bakterie ureázu, zvyšuje pH amoniak vzniklý hydrolýzou močoviny
- uměle pomnožením bakterií při delším skladování moči v teplém prostředí
- neschopností tubulárních buněk ledvin reabsorbovat hydrogenuhličitan a tedy produkovat kyselou moč (12, 6)

3.2.1.2. Bílkovina v moči (proteinurie)

Zdravým glomerulem prochází do primární moči malé množství albuminu a něco mikroproteinů. Tabulární buňky pak všechny mikroproteiny a většinu albuminu vychytají, takže u zdravého člověka neprokážeme v moči větší ztráty bílkovin než 0,15g/d, a to převážně albuminu. Bílkovinu v moči obvykle prokazujeme diagnostickým proužkem, test je založen na schopnosti bílkoviny vyvolat vazbou na acidobazický indikátor, přítomný v reakčním políčku, jeho ionizaci, a tedy i změnu barvy. Silně alkalické moči mohou dávat falešně pozitivní výsledek, proto je nezbytné v tomto případě ověřit klasickým zkumavkovým testem. Ten je založen na denaturaci bílkoviny činidlem s kyselinou sulfosalicylovou, jeho výsledek není alkalickou reakcí moči ovlivněn. (12, 5, 27)

3.2.1.3. Glukóza v moči (glykosurie)

Glukóza je nízkomolekulární látka, je volně filtrována glomerulem a její koncentrace v primární moči je stejná jako v plazmě. Její nepřítomnost v moči signalizuje pravděpodobně zvýšenou přítomnost mikroorganismů. (12, 27)

Důkaz glukózy v moči pomocí testačních proužků enzymovou reakcí kdy se glukóza oxiduje glukosaoxidáso, vznikající peroxid vodíku je rozložen katalázou a uvolněný kyslík oxiduje bezbarvý chromogen na modrozelený.(14)

Fehlingova a Benediktova zkouška dokazuje přítomnost redukcujících látek. Je založena na nespecifické redukci chelátového komplexu Cu^{2+} citrátem nebo vinanem na Cu_2O . (6)

3.2.1.4. Ketolátky v moči (ketonurie)

Vznikají z nadbytku acetylkoenzymu A, který je produktem odbourávání mastných kyselin. U zdravých lidí je koncentrace v moči i krvi nepatrná. Zvyšuje se při poruchách metabolismu glycidů, kdy je potřebná energie krytá odbouráváním mastných kyselin. Přítomnost ketolátek nepříznivě ovlivňuje acidobazickou rovnováhu. Důkaz ketolátek

v moči testačními proužky, kdy ketolátky tvoří s nitroprusidem v alkalickém prostředí za přítomnosti síranu amonného růžové až fialové zbarvení.(14)

Legalova zkouška je založena na reakci ketolátek s nitroprusidem sodným v alkalickém prostředí za vzniku fialového zbarvení. (6)

Lestradetovo práškové činidlo se také používá k průkazu ketolátek v moči, kdy v zásaditém prostředí reaguje aceton a kyselina acetoctová s nitroprusidem sodným za vzniku červenofialové sloučeniny. (6)

3.2.1.5. Bilirubin v moči

„Do moči proniká jedině bilirubin konjugovaný (přímý bilirubin), takže se hodnoty patologicky zvyšují jen tam, kde je zvýšená hladina bilirubinglukuronidu v plasmě. Nekonjugovaný bilirubin se dostane do moči jen při výrazně zvýšené hladině v plasmě a při současném porušení glomerulů.“(14)

Prokazuje se na testačním papírku, kde dává stabilizovaná diazoniová sůl v kyselém prostředí s bilirubinem růžově zbarvené azobarvivo. (14)

Rosiniho zkouškou je bilirubin oxidován alkoholovým roztokem jódu na zelený biliverdin. (6)

3.2.1.6. Urobilinogen v moči

Urobilinogen vzniká v tenkém střevě redukcí bilirubinu vylučovaného žlučí. Testační proužek obsahuje v reakční zóně diazoniovou sůl v kyselém pufru, která dává s urobilinogenem růžové až červené zbarvení.(14)

Erlichova reakce je založena na reakci urobilinogenu s 1,4-dimethylaminobenzaldehydem v silně kyselém prostředí za vzniku červeného zbarvení. (6)

3.2.1.7. Krev v moči (hematurie)

Příčinou přítomnosti krve v moči může být zánět, úraz, nádor ledvin nebo močových cest. Hemoglobin rozkládá peroxid za vzniku kyslíku, který oxiduje přítomný chromogen na modrý produkt. (14, 5)

3.3. Vyšetření močového sedimentu

V moči jsou přítomné rozpustné i nerozpustné složky. Nerozpustné složky po centrifugaci moči tvoří sediment. (11)

„U zcela zdravého jedince je močový sediment velmi chudý. K příznakům onemocnění ledvin a močových cest patří zvýšené vylučování erytrocytů či leukocytů. Proto je důležité, abychom byli schopni posoudit alespoň orientačně, jaká je intenzita jejich vylučování. Obvykle se orientujeme počtem buněk v jednom zorném poli.“(24)

3.3.1. Nerozpustné složky

Orgánové – pocházejí z orgánů vytvářejících moč. Při jejich onemocnění ve zvýšeném množství přecházejí do moče. (12)

Neorgánové – různé druhy krystalů solí a amorfní soli, které byly přijaty potravou nebo vznikly jako metabolity. (12)

Mikroorganismy – bakterie, plísňe, kvasinky, prvoci, paraziti

Artefakty – náhodné znečištění (12)

3.3.2. Kvalitativní vyšetření močového sedimentu

Toto vyšetření je třeba provést do jedné hodiny po odběru a dodržovat nutné standardizované pracovní postupy. Maximální počet otáček při centrifugaci by měl být 1500 otáček/minutu, jinak by mohlo dojít k destrukci buněk. Po odsátí supernatantu se vzorek promíchá. 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)

3.3.3. Orgánové složky

3.3.3.1. Erytrocyty

U zdravého člověka 1-2 v zorném poli. V nativním preparátu se erytrocyty objevují jako terčovitě útvary s projasněným středem. V hypertonické moči se scvrkávají a tvoří ostnaté útvary. V hypotonické moči bobtnají a praskají. (25)

3.3.3.2. Leukocyty

U zdravého jedince 2-5 v zorném poli. Jejich přítomnost je známkou zánětu ledvin, močových cest nebo prostaty. Masivní výskyt je patrný i makroskopicky jako kouřově bílý zákal s hnilobným zápachem. V kyselé moči jsou leukocyty okrouhlé, zrnité, větší než erytrocyty. Jádra jsou špatně patrná. Mohou vytvářet shluky. V alkalické moči se rychle rozpadají. (25)

3.3.3.3. Epitelové buňky

Většinou se jedná o epitelie močových cest. Renální – mají mnohoúhelný tvar, velké nesegmentované jádro. Tukové buňky – ledvinové buňky tukově zdegenerované, v sedimentu mají charakteristický lom světla. Extrarenální – mají různý tvar, vyskytují se i u zdravých osob a nemají velkou diagnostickou hodnotu. Válce – bílkovinné odlitky distálních a sběrných kanálků, které svědčí o závažném poškození ledvin. Hyalinní válce – mohou být různě dlouhé, mají index lomu podobný vodě. Granulované válce – tvoří se při proteinurii, jsou širší a kratší než hyalinní válce. Voskové válce – mohutnější, ostře ohraničené se zářezy na povrchu, bez granul. Buněčné válce – erytrocytární, leukocytární, epitelialní, tukové. (12)

3.3.4. Neorganové složky

Krystalické – obvykle jsou normální součástí moči, které krystalizují při jejím chladnutí. V kyselé moči kyselina močová, soli kyseliny močové, síran vápenatý. V alkalické moči fosforečnany, fosforečnan hořečnatoamonný, uhličitan vápenatý.(12)

3.3.5. Kvantitativní vyšetření močového sedimentu

Nejčastěji používané je vyšetření dle Hamburgera. Moč je sbírána 3 hodiny s tolerovanou odchylkou 30 minut, skutečné sběrné období je nutno zaznamenat s přesností na minuty. Moč je nutno vyšetřit do 1 hodiny po odběru. Zjišťuje se počet erytrocytů, leukocytů a válců vyloučených v 1ml moči za časovou jednotku. Moč se před mikroskopováním centrifuguje. Elementy počítáme v Bürkerově komůrce při zvětšení 400x. Za fyziologický nálezn je považováno do 2000 erytrocytů/minutu, 4000 leukocytů/minutu a žádné válce. (3)

3.4. Mikrobiologické vyšetření moče

„U bakteriologického a mykologického vyšetření se provádí kultivace. Zpravidla se používá krevní agar a další půda. Tou může být např. Endova půda nebo McConkeyho agar. Nověji se používají chromogenní půdy, na nichž vedle gramnegativních patogenů můžeme podle barvy přímo identifikovat grampozitivní. U požadavku na kvasinky se doplní Sabouraudův agar.“ (31)

„Použije se kalibrovaná klička o objemu 1 μ l. To znamená, že při ponoření do vody či tekutiny s podobným povrchovým napětím ulpí v očku kličky právě jeden mikrolitr. Tento objem se rozočkuje na půl nebo celou misku s agarovou půdou. Poté se inkubuje 24 hod při 37°C. Druhý den se spočítají kolonie. Podle počtu kolonií se interpretuje výsledek. Počet kolonií odpovídá počtu CFU v 1 μ l původní moče (CFU,colony forming unit, jednotka tvořící kolonii, což může být jednotlivý mikrob, dvojice, krátký řetízek, malý shluk). Pro praxi ale zanedbáváme rozdíl mezi mikrobem a CFU a vycházíme z toho, že počet kolonií zhruba odpovídá počtu mikrobů v 1 μ l původní moče. Pak počet kolonií \times 1000 odpovídá počtu mikrobů v 1ml původní moče: 10 kolonií – 10⁴ mikrobů/ml, 100 kolonií – 10⁵ mikrobů/ml.“ (31)

3.4.1. Krevní agar

Nejpoužívanější půda v diagnostice, připravuje se ze základu pro krevní agar. Základ se rozvaří a sterilizuje v autoklávu, aby krev nehemolyzovala. Základ je nutno zchladit na teplotu pod 55°C a potom se přidá 7-10% defibrinované beraní krve. Po opatrném rozmíchání se médium vylévá do Petriho misek. Základ pro krevní agar může být různě obohacený, např.: škrob, peptony, cukry. Na krevním agaru sledujeme, zda bakterie tvoří hemolýzu pod koloniemi nebo kolem nich. Na krevním agaru roste většina patogenních grampozitivních i gramnegativních bakterií. (30, 24)

3.4.2. Endova půda

Druhá nejpoužívanější půda v diagnostice. Obsahuje laktózu a červené barvivo fuchsin pro inhibici grampozitivních bakterií. Fuchsin je odbarven siřičitanem a funguje jako Schiffovo reagens pro průkaz aldehydů, které vznikají při štěpení laktózy. Štěpí-li bakterie laktózu, tvoří tmavočervené kolonie. Neštěpí-li zůstávají kolonie světlé. Grampozitivní bakterie na této půdě nerostou. (30)

3.4.3. McConkeyho médium

Funkcí podobné Endově půdě. Obsahuje laktózu, neutrální červeň, krystalovou violet' a žlučové soli a méně toxických složek. Je potlačen růst grampozitivních bakterií a *Proteus* se po tomto médiu neplazí. (30)

3.4.4. Sabouraudova půda

Jedná se o světlý agar určený pro kultivaci kvasinek a plísní, přerůstání bakterií zabraňují přidaná antibiotika. Růst mikromycet je umožněn obsahem glukózy, jako zdroj uhlíku. Kvasinky po 2-7 dnech kultivace tvoří kolonie. (30)

3.4.5. Soupravy typu uricult

Močové ústrojí neobsahuje bakterie. Jejich výskyt v čerstvé moči se považuje za patologický nále. Močové infekce jsou většinou bakteriálního původu. Pro průkaz či vyloučení bakteriální infekce močových cest se využívá vyšetření pomocí Uricultu.

Smyslem těchto souprav je odstranit čas mezi odběrem moče a začátkem kultivace.(31)

„Testy Uricult jsou slidy určené ke kultivaci vzorků moči. Plastové destičky jsou z obou stran potaženy vrstvou agaru. Konkrétně jde o dvě nebo tři media. Destičky lze ponořit do moči nebo lze moč nalít na destičku. Poté se inokulovaná destička vloží zpátky do plastového obalu, kde bude připravena k inkubaci nebo transportu. Po inkubaci se přítomnost bakterií projeví jako kolonie rostoucí na povrchu agaru. Protože kolonie je výsledkem multiplikace jedné bakteriální buňky, počet kolonií indikuje koncentraci jednotek, které tvoří kolonii (CFU/ml) v daném vzorku moči. Původně zelené CLED (cystine laktose elektrolyte deficient) médium je určeno ke zjištění celkových počtů kolonií - hustota kolonií se srovnává s modelovou tabulkou. Na základě vzhledu bakterií na agaru CLED je lze rozdělit do skupin laktóza-pozitivní a laktóza-negativní. Počet gramnegativních bakterií lze u všech testů Uricult zjistit z původně hnědočerveného selektivního MacConkeyho agaru. U testu Uricult Plus vytváří enterokoky a některé streptokoky skupiny B na třetím, bezbarvém selektivním streptokokovém agaru kolonie o různých odstínech červené. Tento speciální chromogenní agar napomáhá ještě snazší interpretaci výsledků. U testu Uricult Trio vytváří mikroorganismy produkující β -glukuronidázu na třetím, bezbarvém agaru selektivním pro *Escherichia coli* kolonie o různých odstínech hnědé nebo šedé. Tento speciální chromogenní agar napomáhá ještě snazší interpretaci výsledků. Až u 4 z 5 pacientů v primární péči s močovými infekcemi je jako původce zjištěna bakterie *Escherichia coli* “,(20)

4. Vyšetření krve

4.1. Preanalytická část

„Podle typu odběru hovoříme o krvi kapilární, venózní, arteriální. Odběr kapilární krve provádějí většinou pracovníci laboratoří, zatímco odběr venózní krve většinou pracovníci klinických oddělení (lékaři, sestry nebo jiné pověřené osoby). Odběr arteriální krve je požadován výjimečně a provádějí jej výhradně lékaři. V praxi se stanovení analytů v arteriální krvi často nahrazuje stanovením v krvi arterializované, což je kapilární krev odebraná z předem prohrátého prstu nebo ušního lalůčku. Arterializovaná krev se pokládá za rovnocennou s krví arteriální a používá se především pro stanovení pH krve a krevních plynů. Krev můžeme odebírat srážlivou a nesrážlivou. Ze spontánně sražené krve získáme sérum, z nesrážlivé krve získáme plazmu. Nesrážlivosti dosáhneme přidávkem protisrážlivých (antikoagulačních) prostředků. Sérum na rozdíl od plazmy neobsahuje fibrinogen. Srážení krve je vhodné urychlit použitím plastických granulí těžších než sérum obsažených v odběrové zkumavce (akcelerátory koagulace). Dokonalé oddělení séra od krevního koláče umožňuje použití separačního gelu, což je výhodné především při odběrech u novorozenců, malých dětí a u pacientů anemických nebo s problematickými žilami.“ (4)

„Sérum je potřeba v každém případě oddělit od krevního koláče a vizuálně se ujistit, že neobsahuje příměs erytrocytů. Při nutnosti delšího uchování můžeme sérum zmrazit na teplotu -20°C . Při této teplotě se koncentrace většiny analytů nemění i po řadu týdnů. Zmrazený vzorek musíme pak před vyšetřením vytemperovat na laboratorní teplotu a zhomogenizovat protřepáním.“ (4)

Pokud chceme dopravit do laboratoře materiál z odlehlejších pracovišť nebo praktických lékařů, používáme centrálně organizovaný svoz speciálními auty. Materiál musíme uložit do termosek nebo chladících boxů. (21, 3)

4.2. C – reaktivní protein

„Název tohoto proteinu je odvozen od jeho schopnosti precipitovat C – polysacharid pneumokoků. U zdravého člověka je koncentrace CRP v plazmě velmi

nížká. Jeho syntéza v játrech je vyvolána cytokiny, zejména interleukinem 6 (IL-6). Koncentrace CRP v séru začíná růst 6 -9 h po začátku zánětu a vrcholu dosahuje za 1 – 3 dny. Je to cyklický pentamer o molekulové hmotnosti 100 – 115 tisíc. Část molekuly CRP vykazuje homologii s konstantní částí těžkého řetězce IgG, uplatňuje se tedy nejspíše v imunitní obraně organismu. Ve srovnání s jinými bílkovinami, jejichž koncentrace v séru při akutním zánětu rovněž roste, reaguje CRP nejrychleji a největším nárůstem.“(23)

Bylo prokázáno, že CRP se vyskytuje v séru i za fyziologických podmínek - v pupečnickovém séru 0,07mg/l, u dospělých průměrně v rozmezí 0,068 – 8,2 mg/l. U novorozenců jsou hodnoty vyšší. Za patologických stavů může koncentrace CRP v plasmě stoupnout až tisíckrát. U bakteriálních infekcí dosahuje CRP nejvyšších hodnot 200-300 mg/l. Virová infekce nebývá provázena zvýšenou koncentrací CRP. (12, 33)

K indikacím stanovení patří např.:

- včasná diagnostika bakteriálních infekcí novorozence;
- sledování průběhu bakteriální infekce;
- odlišení bakteriálního a virového zánětu;
- včasný záchyt hnisavých komplikací po operaci;
- odlišení bakteriálního zánětu močových cest od pyelonefritidy;
- sledování průběhu a aktivity revmatických chorob a maligních onemocnění“ (23)

5. Vyšetření stolice

5.1. Preanalytická část

Odběr stolice na jednotlivá vyšetření se liší podle toho, po jakých organismech se pátrá. Na průkaz virů ve stolici se odebírá vzorek o velikosti lískového oříšku, který je nutno chladit. (31)

5.2. Rotaviry

„Rotaviry patří k nejdůležitějším vyvolavatelům dětských průjmů. Rozhodujícím způsobem šíření infekce je orofekální transmise a přenos prostřednictvím kontaminovaných předmětů. Inkubace je 48 hodin. Virus se množí v povrchní vrstvě buněk sliznice tenkého střeva. To vede ke změně permeability buněčných membrán, sekreci vody a ztrátě iontů.“ (2)

„Klinicky probíhá infekce jako akutní gastroenteritida. Vylučování viru je maximální 3.-5. den onemocnění. Nejvážněji jsou postihovány děti od 6 měsíců do dvou let, u nichž asi 40% průjmů bývá vyvoláno rotaviry. V průběhu onemocnění jsou vylučovány veliká kvanta infekčních částic. Diagnóza se proto nejčastěji opírá o přímý průkaz viru ve stolici.“ (2)

5.3. Adenoviry

Je známo 47 sérotypů. Způsobují respirační onemocnění, záněty spojivek. Adenoviry sérotypu 40 a 41 způsobují významnou část endemických průjmových onemocnění dětí, svou četností jsou druhé po rotavirech. (28 , 26)

Adenoviry většinou infikují sliznice, ale každá infekce nemá za následek onemocnění. „Většina adenovirových infekcí se šíří nezávisle na primárním postižení pravděpodobně do střeva. Respirační kmeny se často izolují ze stolice a je velmi nepravděpodobné, že by se tam dostaly přímo. Je pravděpodobnější, že vylučování ve stolici je následkem symptomatické sekundární infekce střeva.“ (9)

Adenoviry se vyskytují endemicky a šíří se kapénkovou infekcí. (9)

6. Vyšetřovací přístroje a sety

6.1. Přístroje pro vyšetření moče

6.1.1. HandUReader

V ordinaci jsem k vyšetření 25 vzorků moče používala analyzátor HandUReader. Jedná se o zařízení speciálně vyrobené pro zvýšení přesnosti detekce barevné změny na reakční zóně močových proužků. „Proužky mají oddělené reakční zóny pro každý testovaný parametr. Reakční zóna obsahuje chemické látky, které specificky reagují s příslušným parametrem za vzniku změny zbarvení, odpovídající koncentraci daného parametru v moči. HandUReader pracuje s močovými proužky LabStrip U11Plus.“ (22)

„HandUReader je reflektanční fotometr. Obsahuje trvalý zdroj bílého světla a světlo odražené od proužku je detekováno barevným CCD senzorem. RGB signály jsou digitalizovány analogově-digitálním převodníkem. Digitalizovaný odraz je zpracován vestavěným programem: lokalizuje reakční zóny proužku, na základě odražených světelných vln získá informace o hodnotách jednotlivých parametrů ve vzorku moče pro výslednou kalkulaci. Výsledky spolu s aktuálním datem a časem jsou uloženy do paměti a mohou se vytisknout.“ (22)

Stanovit lze následující parametry:

Bilirubin: Test je založen na vazbě bilirubinu na diazoniovou sůl v kyselém prostředí. Intenzita žlutohnědého zbarvení je úměrná koncentraci bilirubinu. (22)

Urobilinogen: Testovací pole obsahuje stabilně vázanou diazoniovou sůl a pufr. Při reakci s urobilinogenem se zbarví růžově až červeně. (22)

Ketolátky: Test je založen na Legalově reakci, testovací pole obsahuje glycin a nitroprussid sodný v alkalickém pufru. Průkaz metylketonů odpovídá fialovému zbarvení pole. (22)

Kyselina askorbová: Test založen na principu odbarvení Tillmanova reagens. Přítomností kyseliny askorbové v moči se testovací pole zbarví z šedomodré na oranžovou barvu. (22)

Glukóza: Enzymatický test využívající glukózooxidázu, peroxidázu a chromogen. Intenzita zelené či modré barvy odpovídá koncentraci glukózy. Jiné cukry nelze prokázat. (22)

Bílkovina (albumin): Testovací pole obsahuje indikátor, jehož barva se v přítomnosti bílkoviny mění ze žluté na zelenou. Tato barevná změna je založena na „proteinové chybě“ pH indikátoru a je citlivá na albumin. (22)

Krev: Testovací pole obsahuje organický peroxid a chromogen. Peroxidázová aktivita hemoglobinu a myoglobinu způsobí zelené zbarvení zóny. (22)

pH: Testovací pole obsahuje smíšený indikátor, který umožňuje barevně odlišit hodnoty v rozmezí pH 5 až 9 (oranžová * nažloutlá * zelená * tyrkysová). Barevnou změnu neovlivní přítomnost bílkovin ve vzorku. (22)

Nitrity: Test nepřímo detekuje přítomnost bakterií produkujících nitrity. Testovací pole obsahuje aminy a vazebnou látku, nitrity ve vzorku diazotují amin. Následná reakce s vazebnou látkou dává vznik růžovému zbarvení. (22)

Leukocyty: Testovací pole obsahuje ester indoxylu a diazoniovou sůl. Esteráza granulocytů štěpí ester a výsledkem je fialové zbarvení vznikající reakcí volného indoxylu s diazoniovou solí. (22)

Specifická hmotnost: Toto políčko obsahuje detergent a indikátor bromthymolovou modř, která v přítomnosti ionizovaných částic v moči mění barvu ze zelené na žlutou. Testovací pole je napuštěno načervenalým barvivem, výsledkem je barevný přechod v odstínech žluté. (22)

6.1.2. Uricult Trio

Na přítomnost bakterií v moči jsem v ordinaci vyšetřila 25 vzorků pomocí kultivačních testů Uricult Trio.

„Uricult Trio dip-slide systém 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 médium je určeno k detekci gramnegativních mikroorganismů. MacConkey médium obsahuje žlučové soli, které zabraňují růstu grampozitivních bakterií, s výjimkou enterokoků, které mohou růst jako nepatrné kolonie. E.coli medium je určeno k detekci gramnegativních, β -glukuronidázu produkujících mikroorganismů, které na tomto médiu rostou jako různě hnědé nebo šedé kolonie. Escherichia coli je mikroorganismus produkující β -glukuronidázu, který se nejčastěji vyskytuje v močovém traktu. Žlučové kyseliny obsažené v mediu zabraňují růstu grampozitivních bakterií, i když některé druhy kvasinek na médiu rostou.“(20)

Po inkubaci inokulovaných destiček je přítomnost bakterií doložena koloniemi na povrchu agaru. Zelené CLED médium je určeno ke zjištění celkových počtů kolonií. Nízká koncentrace elektrolytů CLED média chrání před rozšířením kmenů Proteus. Bromthymolová modř a laktóza v médiu dovoluje detekci laktózu fermentujících bakterií. Laktóza pozitivní kmeny rostou jako žluté kolonie a mění barvu média na žlutou, zatímco laktóza negativní kmeny rostou jako průsvitné kolonie a barvu média nemění. (20)

MacConkey médium podporuje růst gramnegativních bakterií, i když enterokoky mohou růst na médiu jako přesně ohraničené kolonie. Laktóza pozitivní bakterie na tomto médiu rostou jako červené a laktóza negativní bakterie jako průsvitné kolonie. Na E.coli médiu rostou mikroorganismy produkující β -glukuronidázu jako různě hnědé nebo šedé kolonie. β -glukuronidázu negativní bakterie rostou jako průsvitné kolonie. (20)

Uricult Trio je schopen detekovat bakteriální koncentraci mezi 10^3 a 10^7 .(20)

Uricult trio nepoužíváme pokud zjistíme dehydrataci agaru, změnu jeho barvy, oddělení od plastické destičky nebo při zjištění růstu bakterií či plísní. Pro správné stanovení je důležité dodržovat pokynů výrobce a nepoužívat proužky po uplynutí data expirace.(20)

6.2. Přístroje pro vyšetření krve

6.2.1. Architectc plus c4000

V laboratoři jsem CRP v krvi ve 25 vzorcích vyšetřovala pomocí plně automatizovaného přístroje Architectc plus c4000, založený na principu turbidimetrie.

„V těchto přístrojích tvoří pracovní prostor, „kyveta“, ve kterém probíhá reakce, součást rotoru/disku. Kyveta se skládá z několika navzájem spojených částí, do kterých se pipetuje vzorek a jedna případně dvě reagentie. Ke vzájemnému spojení roztoků a promíchání dochází po roztočení rotoru/disku odstředivou silou. Svou roli hrají i síly kapilární. Světelný paprsek fotometru prochází kyvetou zezdola nahoru, či opačně. Vlastní měření je velmi rychlé, nicméně je možno provádět vždy jen jeden typ reakcí.“(18)

Principem stanovení CRP je smíchání vzorku s pufrům a roztokem antiséra, kdy CRP specificky reaguje s protilátkami proti lidskému CRP za vzniku nerozpustné sraženiny. Absorbance této sraženiny je úměrná koncentraci CRP ve vzorku. (1)

Reagentiemi v testu jsou Pufr Tris o pH 7,5, chlorid sodný, Polyethylenglykol 6000, Kozí protilátky proti CRP a konzervační prostředek. (1)

6.2.2. QuikRead

V ordinaci jsem zjišťovala množství CRP ve 25 vzorcích kapilární krve pomocí přístroje QuikRead.

„Přístroj QuikRead 101 poskytuje kvantitativní i kvalitativní výsledky. Proveďte uživatelé měření pomocí řady zpráv a pokynů zobrazujících se na displeji přístroje. Fotometr změří absorbanci a převede ji na základě přednastavených kalibračních údajů soupravy na koncentraci nebo pozitivní/negativní výsledek. Kalibrační údaje jednotlivých souprav jsou uloženy na magnetické kartě dodávané se soupravou. Informace jsou z magnetické karty do přístroje přenášeny jejím protažením přes čtecí zónu přístroje.“ (19)

6.3. Sety pro vyšetření stolice

6.3.1. Rapid-VIDITEST Rota-Adeno

V laboratoři jsem k detekci rotavirů a adenovirů ve 25 vzorcích používala imunochromatografický test Rapid-VIDITEST Rota-Adeno. Na testovacích zónách membrány kazety jsou navázány myší monoklonální protilátky proti virovým antigenům. (13)

V průběhu testování vzorek reaguje s barevným konjugátem, který byl imobilizovaný na membráně (anti-rotavirové myší monoklonální protilátky – červená makrosféra a anti-adenovirové myší monoklonální protilátky – modrá makrosféra). Směs barevného konjugátu a vzorku se pohybuje směrem nahoru přes testovací zóny kapilární vztlakovostí. V případě pozitivního výsledku budou specifické protilátky imobilizované na testovací zóně membrány vázat barevné částice. Objeví se různé barevné linky v závislosti na přítomnosti viru ve vzorku. Pomocí těchto linek se interpretuje výsledek. Směs se pohybuje dále směrem nahoru do kontrolní zóny, kde jsou imobilizované protilátky pro kontrolní zónu. V té by se měla objevit zelená linka.(13)

6.3.2. Diarlex MB

K průkazu rotavirů a adenovirů ve 25 vzorcích stolice jsem používala diagnostický set Diarlex MB.

Jedná se o specifický kvalitativní test pro detekci rotavirů a adenovirů ve vzorcích stolice. Je to imunochromatografický test. Zředěný vzorek se dávkuje do zóny pro vzorek na testovacím proužku. Jestliže vzorek obsahuje rotavirus, vytvoří se komplex antigen-protilátka s rotavirovou králičí protilátkou konjugovanou červeným latexem. Jestliže vzorek obsahuje adenovirus, vytvoří se komplex antigen-protilátka s adenovirovou králičí protilátkou konjugovanou modrým latexem. Imunokomplexy migrují po testovací membráně a váží na sebe imobilizovanou rotavirovou nebo adenovirovou protilátku za vzniku červené nebo modré linky ve výsledkové zóně.

V průběhu testu se objeví černá kontrolní linka obsahující myší monoklonální protilátky, černé latexové částice a streptavidin, což deklaruje, že test pracuje správně.
(15)

7. Cíle práce a výzkumné otázky

V současné době je nutno zajistit včasnou diagnózu. Proto se objevila celá řada vyšetřovacích metod, které informují lékaře během krátké doby o výsledku sledovaného markeru.

1. Podat přehled o možnostech vyšetřování biologického materiálu systémem POCT v ordinaci dětského lékaře.
2. Tyto metody porovnat s výsledky z referenčních laboratoří.
3. Naučit se ovládat vybrané metody v referenčních laboratořích systému POCT

Výzkumná otázka

1. Jak lze využít výsledky v klinické interpretaci získané systémem POCT u vyšetření CRP, moče (chemického, mikroskopického a bakteriologického) a stolice.

8. Metodika

Kvalitativní vyšetření biologického materiálu bylo hodnoceno individuálně podle tabulky mezi jednotlivými výsledky, kdy bude hodnocena shoda či neshoda.

Kvantitativní hodnocení výsledků bylo provedeno statisticky prof. MUDr. Pravoslavem Stránským CSC, kdy byl využit znaménkový test a Wilcoxonův.

Všechna vyšetření POCT podléhají validizaci. U vyšetření CRP je řešena odesláním anonymních vzorků do společnosti SEKK spol.s.r.o – ehk 2000 06 . Močový analyzátor HandUReader podléhá týdenní kontrole pomocí vzorků fyziologické moče a dále jednou za 2 měsíce prochází kontrolou od dodavatele. U Uricult Trio je spolehlivost testu garantována výrobcem, kdy každá šarže prochází kontrolou kvality již při výrobě. I přesto dochází jedenkrát týdně k testování kvality kontrolními vzorky od zdravých jedinců. Způsobilost testu Diarlex MB na přítomnost rotavirů a adenovirů ve stolici je možno kontrolovat použitím Rota pozitivní kontroly nebo Adeno pozitivní kontroly místo vzorku, které jsou součástí vyšetřovacího setu.

Validizace přístrojů v laboratoři, je dána provozním řádem laboratoře.

Metodikou je seznámení se s principy měření používaných v POCT a laboratořích u následujících vyšetření:

1. Vyšetření moče v ordinaci přístrojem HandUReader, bakteriologické vyšetření moče soupravou Uricult Trio, mikroskopické a bakteriologické vyšetření moče v laboratoři.
2. Vyšetření CRP
 - A) Z kapilární krve přístrojem QuikRead
 - B) Z žilní krve (sérum) v laboratoři
3. Vyšetření stolice na adenoviry a rotaviry pomocí setů Diarlex MB v ordinaci a Rapid – VIDITEST Rota – Adeno v laboratoři.

8.1. Vzorky

Všechny vzorky pro následně uvedené vyšetření jsem získala v jednom nestátním zdravotnickém zařízení pro děti a dorost. Od každého biologického materiálu jsem vyšetřovala 25 vzorků. Všechny tyto vzorky jsem vyšetřila v ordinaci a následně v laboratoři. Výsledky získané v laboratoři považuji za referenční.

8.1.1. Vzorky moče

Moč pacienti přinesli do ordinace sami v odběrových zkumavkách, nebo došlo k odběru v ordinaci. Odběrové zkumavky byly řádně označeny jménem, příjmením, rodným číslem a pojišťovnou a následně k nim byla vyplněna příslušná žádanka do laboratoře, která byla též řádně označena s časem odběru vzorku.

8.1.2. Vzorky krve

Krev pro vyšetření mi odebrala zdravotní sestřička.

Kapilární krev získala v pichem do předem prohřátého prstu a nabráním do kapiláry. Žílní krev sestřička odebrala do zkumavky, která byla řádně označena spolu s řádně vyplněnou žádankou do laboratoře.

8.1.3. Vzorky stolice

Vzorky stolice ve většině případů nosili pacienti do ordinace sami v příslušných odběrových zkumavkách, popřípadě byly odebrány sestřičkou v ordinaci. Tyto vzorky jsem vyšetřila v ordinaci a následně řádně označené spolu se žádankou byly odeslány do laboratoře.

8.2. Vyšetření moče v laboratoři pomocí testacích proužků HeptaPhan a mikroskopické vyšetření

Ze vzorku moče jsem odlila 10 ml do označené zkumavky. Do zkumavky s močí jsem ponořila na 2-3 vteřiny diagnostický proužek HeptaPhan, spodní stranu proužku jsem otřela o hranu zkumavky, pro odstranění přebytečného množství moče. Proužek jsem uložila do vodorovné polohy a po 60 vteřinách jsem odečítala barevné zbarvení na reakčních zónách dle barevné stupnice na tubě diagnostických proužků viz. příloha č. 6.

Zkumavku s močí jsem dále centrifugovala 10 minut při 2200otáčkách/minutu. Po centrifugaci jsem slila moč nad sedimentem a protřepala zkumavku. Na podložní sklíčko jsem kápla 1 kapku sedimentu a překryla krycím sklíčkem, tak aby nevznikla vzduchová bublina. Vložila do mikroskopu a prohlédla celou plochu preparátu při zvětšení 200x. (tab. 1-25) Mikroskop viz příloha č. 8.

8.3. Vyšetření moče v ordinaci pomocí přístroje HandUReader

Do čerstvého vzorku moče jsem ponořila na 2 -3 vteřiny testovací proužek LabStrip U11Plus, spodní stranu proužku jsem otřela o hranu zkumavky, abych odstranila přebytečnou moč a vložila testovací proužek na vysunutý nosič přístroje HandUReader . Po stlačení tlačítka se nosič zasunul a proběhlo vlastní měření. Po dokončení měření se nosič vysune a výsledky jsou zobrazeny na displeji a přístrojem vytištěny. (tab. 1-25) Přístroj HandUReader viz. příloha č. 1.

8.4. Mikrobiologické vyšetření moče

Jednorázovou kličku o objemu 10 μ l jsem ponořila do zkumavky s močí. Středem Petriho misky s krevním agarem jsem přes celou plochu udělala čáru inokula. Stejnou kličkou jsem inokulum rozočkovala po celé ploše půdy kolmo na čáru inokula. Novou jednorázovou kličku jsem znovu ponořila do zkumavky s močí a přenesla 10 μ l do zkumavky s 1ml fyziologického roztoku a řádně promíchala. A stejným způsobem jsem

rozočkovala ředěnou moč na krevní agar a Endovu půdu. Naočkované kultivační půdy jsem dala inkubovat na 24 hodin při 36°C v aerobní atmosféře. (tab. 26)

8.5. Vyšetření moče pomocí Uricultu

Destičku Uricultu jsem odšroubovala z nádoby, tak abych se nedotkla jejího povrchu. Ponořila ji do moče, tak aby byla ponořena celá její plocha. Pokud jsem neměla dostatečné množství moče, destičku jsem polila. Přebytek moče jsem nechala okapat a destičku zašroubovala zpátky do nádoby. Nádobku jsem svisle umístila do inkubátoru a inkubovala 24 hodin při 36°C viz. příloha č.3. Při odečtu jsem vyjmula destičku z nádoby a porovnávala hustotu kolonií s modelovou tabulkou. (tab. 26)

8.6. Vyšetření CRP v krvi v laboratoři přístrojem Architect plus c4000

Vzorek žilní krve jsem nejprve zapsala do počítače a získala štítek s identifikačním kódem. Poté jsem vzorek centrifugovala po dobu 10 minut při 2600 otáčkách/minutu. Po vyjmutí vzorku z centrifugy jsem vložila zkumavku do stojanu tak, aby byl viditelný číselný kód. Stojan se vzorky jsem vložila do stroje Architect plus c4000, kde proběhlo vlastní fotometrické měření. Zhruba po 10 minutách stroj vyhodnotil množství CRP ve vzorku a výsledek automaticky zapsal do počítače. (graf 1) Přístroj Architect plus c4000 viz. příloha č. 7.

Data v obou případech nemají Gaussovo rozdělení – charakteristikou polohy je proto medián a charakteristikami variability jeho 95% meze spolehlivosti. Příslušné hodnoty jsou červené.

8.7. Vyšetření CRP v krvi pomocí přístroje QuikRead v ordinaci

K měření jsem používala kapilární krev získanou vpichem do prstu a nabranou do kapiláry. Krev jsem přidala do kyvety, která je součástí vyšetřovacího setu. Kyvetu jsem uzavřela a vložila do měřicí komory přístroje, nejprve došlo ke změření blanku. Po zaznění zvukového signálu jsem po stisknutí reagenčního uzávěru přidala činidlo a vyjmula kyvetu z měřicí komory a protřepala její obsah do zaznění zvukového signálu. Poté jsem kyvetu opět vložila do měřicí komory, kde došlo k měření a po 120 sekundách se výsledek objevil na displeji přístroje. (graf 1) Přístroj QuikRead viz. příloha 2.

8.8. Vyšetření stolice na průkaz rotavirů a adenovirů v laboratoři pomocí Rapid – VIDITEST Rota-Adeno

V rámci exkurze ve virologické laboratoři jsem mohla vidět průkaz adenovirů a rotavirů ve vzorcích stolice odebraných a vyšetřovaných v ordinaci pomocí setu Rapid VIDITEST Rota-Adeno. Obsahem soupravy jsou testovací kazety, odběrové zkumavky obsahují ředící roztok s aplikační tyčinkou viz příloha č. 9. Víčko odběrové zkumavky se odšroubuje a pomocí aplikační tyčinky na víčku se odebere malé množství stolice. Našroubováním víčka se ponoří vzorek stolice do ředícího roztoku ve zkumavce. Zkumavka se důkladně promíchá. Poté se ulomí konec špičky zkumavky a nanese se 5 kapek naředěného roztoku na testovací kazetu do oválného okénka označeného S (vzorek). Po 10 minutách se odečítá výsledek v obdélníkovém okénku uprostřed kazety označeném C (kontrolní zóna) a T (výsledková zóna) viz. příloha č. 10. (tab. 27) „Objevila-li se pouze zelená linka v místě označeném C vzorek byl negativní. Objevila-li se zelená linka v místě označeném C a červená linka v místě označeném T jednalo se o pozitivní vzorek na přítomnost rotavirů. Objevila-li se zelená linka v oblasti C a modrá linka v oblasti T, byl vzorek pozitivní na přítomnost adenovirů. Pokud by se objevili všechny tři linky, tedy zelená kontrolní, modrá a červená v oblasti T. Vzorek by byl pozitivní na přítomnost rotavirů i adenovirů. Test by byl neplatný pokud by se

v kontrolní zóně neobjevila zelená linie, bez ohledu na to, zda se ve výsledkové zóně objeví modrá nebo červená linka.“(13)

8.9. Vyšetření stolice na průkaz rotavirů a adenovirů v ordinaci setem Diarlex MB

Součástí setu Diarlex MB jsou testovací proužky, filtrační nádoby a testovací proužky viz. příloha č.4. Filtrační nádoba má víčko s pevně uchycenou lopatičkou, na kterou jsem nabrala vzorek stolice, vložila do nádoby a uzavřela. Ve filtrační nádobce se nachází ředící roztok. Obsah filtrační nádoby jsem promíchala. Prvních pět kapek protřepaného vzorku jsem odkapala mimo test. Až poté jsem vzorek nanášela na testovací proužky. Po 10 minutách jsem odečítala výsledky. (tab. 27)

Vzorek je pozitivní na rotaviry pokud se spolu s černou kontrolní linií objeví i červená linie. Pokud se objeví spolu s kontrolní linií modrá linka, vzorek je pozitivní na adenoviry. Při infekci rotaviry a adenoviry současně se ve výsledkové zóně objeví červená a modrá linie spolu s kontrolní černou linkou. Pokud se ve výsledkové zóně objeví pouze kontrolní černá linie je vzorek negativní. Test je neplatný pokud se v kontrolní zóně neobjeví černá linka a nemůže tedy dojít k interpretaci výsledku a test se musí opakovat (15) viz. příloha č. 5.

9. Výsledky

Tabulka 1 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
1	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	kev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		směs bakterií : +	NESHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1.030			

U vzorku číslo 1 se vyšetření na přístroji HandUReader shodovalo s testovacími proužky HeptaPhan, kdy oba testy byly negativní. Přesto byla při mikroskopickém vyšetření zjištěna přítomnost bakterií.

Tabulka 2 : Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HepthaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
2	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	urobilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	neg.		neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	10Ery/ul	krev	0		ery: ojediněle	SHODA
	pH	5	pH	5			SHODA
	NIT	neg.				amorfní drť : +	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1.025					

U vzorku číslo 2 ukázal přístroj HandUReader přítomnost erytrocytů v moči, což v laboratoři pomocí mikroskopického vyšetření nebylo potvrzeno. Za patologický nález, není považováno množství < 5 ery/μl.

Tabulka 3 : Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HepthaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
3	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	0.4 g/l					
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	neg.	krev	neg.		neg.	SHODA
	pH	5	pH	5			SHODA
	NIT	neg.				amorfní drť : +	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1.025					

Vzorek číslo 3 byl všemi třemi metodami vyhodnocen jako negativní.

Tabulka 4 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
4	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.			SHODA
	LEU	neg.		amorfní drť : +	SHODA
	SG	1.020		neg.	SHODA

Vzorek číslo 4 byl všemi použitými metodami vyhodnocen jako negativní.

Tabulka 5 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
5	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	0.2 g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	7	pH	6	NESHODA
	NIT	neg.			NESHODA
	LEU	500 Leu/ul		směs bakterií: + Leu: + +	SHODA
	SG	1.015			

U vzorku číslo 5 HarnUReader zjistil přítomnost velkého počtu leukocytů. Papírky HeptaPhan vyhodnotily moč jako negativní. V mikroskopu byla přítomnost bakterií potvrzena. Za patologický nález je považováno > 10 leu/μl.

Tabulka 6 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HepthaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
6	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	0,2 g/l					
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		NESHODA	
	ERY	neg.	krev	neg.		neg.	SHODA
	pH	5	pH	6			NESHODA
	NIT	neg.				neg.	SHODA
	LEU	25 Leu/ul				neg.	NESHODA
	SG	1.030					

HandUReader u vzorku číslo 6 vyhodnotil přítomnost leukocytů, což v laboratoři nebylo potvrzeno. Papírky HeptaPhan i mikroskopické vyšetření bylo negativní.

Tabulka 7 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HepthaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
7	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	neg.					
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	neg.	krev	neg.		neg.	SHODA
	pH	6	pH	6			SHODA
	NIT	neg.				neg.	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1,015					

Vzorek číslo 7 byl vyhodnocen jako negativní všemi metodami.

Tabulka 8 : Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
8	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	0,2 g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		neg.	SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1.030			

Vzorek číslo 8 všechny metody vyhodnotily jako negativní.

Tabulka 9 : Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
9	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	0,2 g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		neg.	SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1.030			

Jako negativní vyhodnotily všechny metody i vzorek číslo 9.

Tabulka 10 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
10	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	1,5 mmol/l	ketolátky	neg.	NESHODA
	ASC	0,2 g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.			SHODA
	LEU	neg.		amorfní drt: +	SHODA
	SG	1,025		neg.	SHODA

U vzorku číslo 10 přístroj HandUReader zaznamenal přítomnost ketolátek v moči, kterou však proužky HeptaPhan nepotvrdily. Mikroskopicky byl vzorek negativní.

Tabulka 11 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
11	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.			SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1,03		neg.	SHODA

U vzorku 11 všechny metody prokázaly negativitu.

Tabulka 12 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HepthaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
12	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	neg.		neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	10 Ery/ul	krev	+		neg.	NESHODA
	pH	5	pH	5			SHODA
	NIT	neg.				neg.	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1,025					

Přítomnost erytrocytu v moči byla u vzorku 12 detekována jak přístrojem HandUReader tak proužky HeptaPhan. Ale v mikroskopu nalezeny nebyly.

Tabulka 13 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HepthaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
13	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	neg.					
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	neg.	krev	neg.		neg.	SHODA
	pH	5	pH	5			SHODA
	NIT	neg.				neg.	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1,03					

Jako negativní vyhodnotily metody i vzorek číslo 13.

Tabulka 14 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
14	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		neg.	SHODA
	LEU	25Leu/ul		neg.	NESHODA
	SG	1,025			

Ve vzorku 14 bylo v ordinaci zjištěna přítomnost leukocytů, která však v laboratoři nebyla potvrzena.

Tabulka 15 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
15	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		neg.	SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1,03			

Vzorek číslo 15 byl vyhodnocen jako negativní všemi metodami.

Tabulka 16 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
16	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		neg.	SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1,03			

Jako negativní byl vyhodnocen i vzorek číslo 16.

Tabulka 17 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
17	BIL	neg.	bilirubin	+	NESHODA
	UBG	35umol/l	uribilinogen	neg.	NESHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	6	pH	6	SHODA
	NIT	neg.		směs bakterií : +	SHODA
	LEU	neg.		neg.	NESHODA
	SG	1,02			

Přítomnost urobilinogenu vyhodnotil HandUReader u vzorku číslo 17. V laboratoři proužky HeptaPhan vyhodnotily přítomnost bilirubinu.

Tabulka 18 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
18	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	0,2g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	0,3g/l	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		gram. Neg. Tyčky: +	SHODA
	LEU	neg.		leu : ojediněle dlaždicový epitel:	NESHODA
	SG	1,03		+	

U vzorku 18 byla v ordinaci zjištěna přítomnost bílkoviny v moči, kterou nepotvrdilo vyšetření pomocí proužků HeptaPhan. V mikroskopu byla zaznamenána přítomnost dlaždicového epitelu, gramnegativních tyček a ojedinělá přítomnost leukocytů.

Tabulka 19 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
19	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	0,2g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	0,3g/l	bílkovina	neg.	NESHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	6	pH	6	SHODA
	NIT	neg.		amorfní drť: +	SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1,03			

Vzorek 19 byl v laboratoři stanoven jako negativní a to i přesto, že v ordinaci na přístroji HandUReader byl zaznamenán výskyt bílkoviny v moči.

Tabulka 20 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
20	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	10Ery/ul	krev	+	ery: ojediněle
	pH	5	pH	5	SHODA
	NIT	neg.		amorfní drť: +	SHODA
	LEU	neg.		neg.	SHODA
	SG	1,025			

U vzorku číslo 20 byla zaznamenána přítomnost erytrocytů v moči, která byla potvrzena i proužky HeptaPhan. Nález erytrocytů v moči byl v rámci normy, která je <5 ery/ μ l.

Tabulka 21: Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
21	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	6	pH	6	SHODA
	NIT	neg.			SHODA
	LEU	neg.		amorfni drt: +	SHODA
	SG	1,02		neg.	SHODA

Vzorek 21 byl vyhodnocen všemi třemi metodami jako negativní.

Tabulka 22 : Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
22	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	0,2g/l			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	0,3g/l	bílkovina	neg.	NESHODA
	ERY	10Ery/ul	krev	+	NESHODA
	pH	6	pH	6	SHODA
	NIT	neg.			SHODA
	LEU	neg.		amorfni drt: +	SHODA
	SG	1,02		neg.	SHODA

U vzorku 22 zaznamenal HandUReader přítomnost erytrocytů a bílkoviny v moči. V laboratoři nebyla potvrzena přítomnost erytrocytů . Bílkovina nebyla detekována testovacími proužky.

Tabulka 23 : Vyšetření moče HarnUReader, HepthaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader	HepthaPhan	mikroskopie	shoda/neshoda	
23	BIL	neg.	bilirubin	neg.	SHODA
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.	SHODA
	KET	neg.	ketolátky	neg.	SHODA
	ASC	neg.			
	GLU	norm.	glukóza	neg.	SHODA
	PRO	neg.	bílkovina	neg.	SHODA
	ERY	neg.	krev	neg.	SHODA
	pH	6	pH	6	SHODA
	NIT	neg.			
	LEU	25Leu/ul		dlaždicový epitel: +	SHODA
	SG	1,025		leu : +	SHODA

Leukocyty pomocí HandUReader byly zaznamenány ve vzorku 23, což potvrdilo i mikroskopické vyšetření spolu s přítomností dlaždicového epitelu. Množství zjištěných leukocytů lehce překročilo hodnoty považované za normální nález, tedy < 10 leu/μl.

Tabulka 24 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HeptaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
24	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	neg.					
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	300Ery/ul	krev	++		ery: +	SHODA
	pH	5	pH	5			SHODA
	NIT	neg.				neg.	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1,03					

Velké množství erytrocytů zaznamenal přístroj v ordinaci u vzorku 24. V laboratoři přítomnost erytrocytů byla potvrzena oběma metodami. Hodnota < 5 ery/μl považovaná za normální nález byla překročena.

Tabulka 25 : Vyšetření moče HarnUReader, HeptaPhan a mikroskopické vyšetření močového sedimentu

Vzorek	HandUreader		HeptaPhan		mikroskopie	shoda/neshoda	
25	BIL	neg.	bilirubin	neg.		SHODA	
	UBG	norm.	uribilinogen	neg.		SHODA	
	KET	neg.	ketolátky	neg.		SHODA	
	ASC	neg.					
	GLU	norm.	glukóza	neg.		SHODA	
	PRO	neg.	bílkovina	neg.		SHODA	
	ERY	neg.	krev	neg.		neg.	SHODA
	pH	5	pH	6			NESHODA
	NIT	neg.				neg.	SHODA
	LEU	neg.				neg.	SHODA
	SG	1,02					

Vzorek číslo 25 byl vyhodnocen všemi třemi metodami jako negativní.

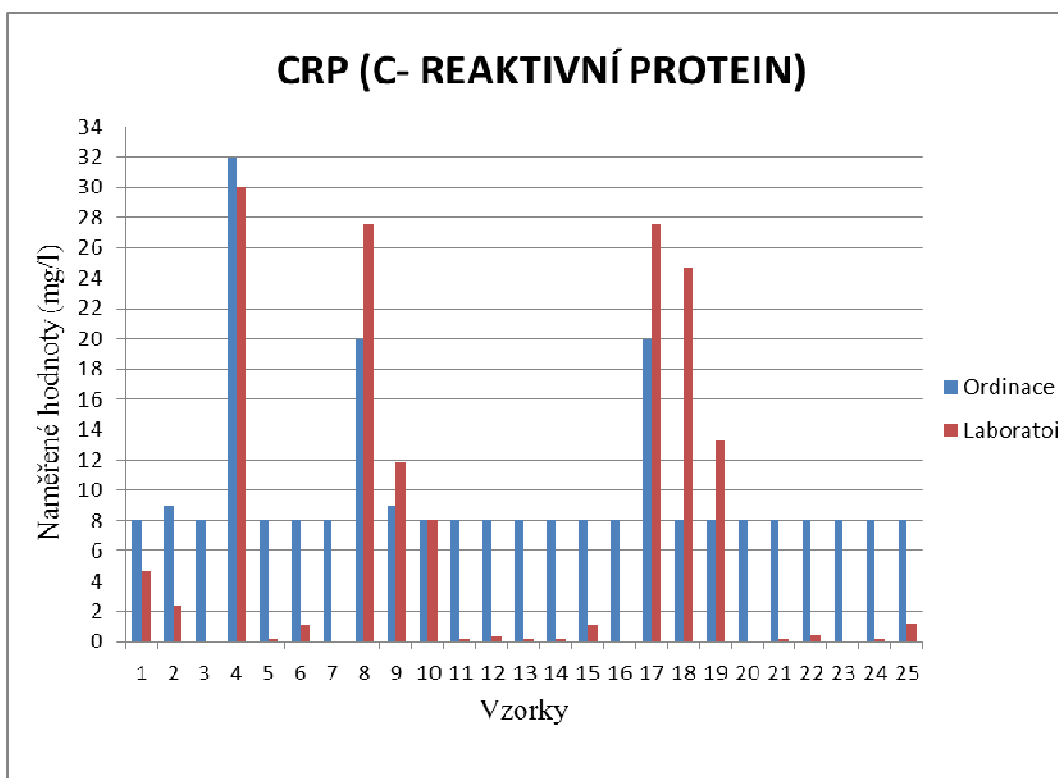
Z tabulek č. 1 – 25 je patrné, že ke shodě v měření mezi laboratoří a ordinací došlo celkem u 14 vzorků z celkového počtu 25. Což odpovídá 56% shodě.

Tabulka 26 : Mikrobiologické vyšetření moče a vyšetření pomocí Uricultu na průkaz bakterií a porovnání s množstvím nitritů v moči při chemickém vyšetření moče

Vzorek	Uricult	Kultivace	Nitrity
1	negativní	nevýznamný nález	negativní
2	negativní	negativní	negativní
3	negativní	negativní	negativní
4	negativní	negativní	negativní
5	negativní	nevýznamný nález	negativní
6	negativní	negativní	negativní
7	negativní	negativní	negativní
8	negativní	negativní	negativní
9	negativní	negativní	negativní
10	pozitivní	Streptococcus agalactiae 10 ⁴ /ml	negativní
11	negativní	negativní	negativní
12	negativní	negativní	negativní
13	negativní	negativní	negativní
14	negativní	negativní	negativní
15	negativní	negativní	negativní
16	negativní	negativní	negativní
17	negativní	negativní	negativní
18	pozitivní	Klebsiella pneumoniae 10 ⁷ /ml	negativní
19	negativní	negativní	negativní
20	negativní	negativní	negativní
21	negativní	negativní	negativní
22	negativní	negativní	negativní
23	negativní	negativní	negativní
24	negativní	negativní	negativní
25	negativní	negativní	negativní

Při porovnání nárůstu bakterií na destičce Uricultu a mikrobiologického vyšetření se ve všech dvaceti pěti případech jednalo o shodu. Pokud se na Uricultu objevil růst bakterií, v laboratoři byl potvrzen.

*HarnUReader přítomnost bakterií v moči stanovením nitritů nezaznamenal.



Zdroj: vlastní výzkum

Graf 1: Srovnání hodnot CRP z žilní krve přístrojem Architect plus c 4000 a kapilární krve metodou QuikRead U vzorku číslo 17 byla oběma metodami zjištěna vyšší přítomnost CRP v krvi. V ordinaci přístroj naměřil hodnotu 20 mg/l v laboratoři bylo stanoveno 27mg/l CRP v krvi, vyšší hodnota mohla být naměřena díky vyšší citlivosti metody. Konkrétní hodnoty viz. příloha č. 14.

Odpovídající p-hodnoty jsou opět červené a ani v jednom případě není p-hodnota 0,05 nebo menší, což znamená, že na 5% hladině významnosti není statisticky významný rozdíl ve výsledcích z ordinace a laboratoře. (viz. příloha 11, 12, 13)

Zdroj: prof. MUDr. Pravoslav Stránský, CSc.

Hodnoty korelačních koeficientů:

Pearsonův korelační koeficient:

Test významnosti Pearsonovo korelačního koeficientu: 0,7876746

$t = 6,1315$, $df = 23$, $p\text{-value} = 2,963 \cdot 10^{-6}$

Mezi oběma metodami je statisticky významná korelační závislost ($2,963 \cdot 10^{-6}$). Vzhledem k hodnotě 0,7876746 lze korelační závislost charakterizovat jako vysokou.

Spearmanův korelační koeficient:

Test významnosti Spearmanovo korelačního koeficientu: 0,6326238

$S = 955,1781$, $p\text{-value} = 0,0006903$

Mezi oběma metodami je statisticky významná korelační závislost (0,00069). Vzhledem k hodnotě 0,6326238 lze pořadovou korelační závislost charakterizovat jako vysokou. Citlivost přístroje QuickRead není taková jako citlivost laboratorní metody. Přístroj není schopen určovat malé koncentrace, tj. v intervalu (0; 8). Dokáže pouze, řekněme odhalit vysoké hodnoty, což je i pro využití C-Reaktivního Proteinu důležité. Lze říci, čím vyšší hodnoty CRP v ordinaci, tím spíše budou vyšší i CRP hodnoty stanovené laboratorně. Toto tvrzení potvrzuje jak Pearsonův, tak Spearmanův koeficient pořadové korelace. Zejména ten Spearmanův.

Zdroj: Ing. Michael Rost, PhD.

Tabulka 27 : Průkaz rotavirů ve stolici v ordinaci setem Diarlex MB a v laboratoři pomocí Rapid – VIDITEST Rota-Adeno

Rotaviry			
Vzorek	Laboratoř	Ordinace	Shoda/Neshoda
1	neg.	neg.	SHODA
2	neg.	neg.	SHODA
3	neg.	neg.	SHODA
4	neg.	neg.	SHODA
5	neg.	neg.	SHODA
6	neg.	neg.	SHODA
7	neg.	neg.	SHODA
8	poz.	poz.	SHODA
9	poz.	poz.	SHODA
10	neg.	neg.	SHODA
11	neg.	neg.	SHODA
12	neg.	neg.	SHODA
13	poz.	poz.	SHODA
14	neg.	neg.	SHODA
15	neg.	neg.	SHODA
16	neg.	neg.	SHODA
17	neg.	neg.	SHODA
18	neg.	neg.	SHODA
19	poz.	poz.	SHODA
20	neg.	neg.	SHODA
21	neg.	neg.	SHODA
22	neg.	neg.	SHODA
23	neg.	neg.	SHODA
24	neg.	neg.	SHODA
25	neg.	neg.	SHODA

Tabulka 28: Průkaz adenovirů ve stolici v ordinaci setem Diarlex MB a v laboratoři pomocí Rapid – VIDITEST Rota-Adeno

Adenoviry			
Vzorek	Laboratoř	Ordinace	Shoda/Neshoda
1	neg.	neg.	SHODA
2	neg.	neg.	SHODA
3	poz.	poz.	SHODA
4	neg.	neg.	SHODA
5	neg.	neg.	SHODA
6	neg.	neg.	SHODA
7	neg.	neg.	SHODA
8	neg.	neg.	SHODA
9	neg.	neg.	SHODA
10	neg.	neg.	SHODA
11	poz.	poz.	SHODA
12	neg.	neg.	SHODA
13	neg.	neg.	SHODA
14	neg.	neg.	SHODA
15	neg.	neg.	SHODA
16	neg.	neg.	SHODA
17	neg.	neg.	SHODA
18	poz.	poz.	SHODA
19	neg.	neg.	SHODA
20	neg.	neg.	SHODA
21	poz.	poz.	SHODA
22	neg.	neg.	SHODA
23	neg.	neg.	SHODA
24	neg.	neg.	SHODA
25	neg.	neg.	SHODA

Při průkazu rotavirů a adenovirů imunochromatografickými testy Diarlex MB v ordinaci a Rapid-VIDITEST Rota-Adeno v laboratoři pracujících na stejném principu. Došlo ve všech dvaceti pěti případech ke shodě.

10. Diskuse

Dosavadní studie prokazují, že POCT testování slouží lékařům k okamžitému získání údajů pro diagnostické účely. POCT zkracuje čas k získání výsledků ve srovnání s smluvními laboratořemi. Toto přispívá ke zrychlení rozhodovacích procesů v místech, kde je POCT používáno.

Metody POCT se v současné době rozšiřují do standardních postupů pro měření řady markerů. Důvodem je rychlejší získání výsledků, ale i procesní restrukturalizace (nemocničních) laboratoří.

Rychlá odezva POCT přístrojů je hlavním faktorem pro zavádění do urgentních příjmů nemocnic a ordinací. (8, 16, 7)

Shromáždění výsledků měření téhož biologického materiálu metodami POCT a standardními laboratorními postupy ukázalo, že POCT přístroje mohou pomoci lékařům v ordinacích k rychlé diagnostické rozvaze o dalším vhodném diagnostickém postupu či vyšetřovacím postupu.

Dle mého názoru i názoru odborníků, je vhodné pravidelné porovnávací měření mezi POCT přístrojem a laboratorním pracovištěm. (33)

Vyšetření moče v ordinaci podá lékařům přehled, zda se jedná o infekci či poruchu močových cest. CRP může lékařům pomoci odlišit bakteriální onemocnění od virového. Lékař může rozhodnout o správném postupu léčby a zabránit tím zbytečnému podání antibiotik, které vede k resistenci na některá antibiotika. Díky setům pro průkaz adenovirů a rotavirů ve stolici, může dětský lékař zahájit včasnou léčbu průjmů, které jsou pro malé děti nebezpečné v rámci rychlé dehydratace organismu nebo odeslat pacienta či jeho biologický materiál k dalšímu specializovanému vyšetření.

Vyšetření moče v ordinaci pomocí přístroje HandUReader se s vyšetřením v laboratoři pomocí diagnostických proužků HepthaPhan a mikroskopického vyšetření z 56 % shodovalo. Porovnání těchto vyšetření není jednoznačné. Metody nestanovují stejné parametry. V případě přístroje HandUReader a testačních proužků, která z větší části stanovují podobné parametry může dojít k rozdílné interpretaci výsledků díky odlišnému posouzení barevné změny na reakční zóně diagnostických proužků přístrojem HandUReader a lidským okem. Jako příklad bych uvedla vzorky č. 18, 19,

22 kde přístroj vyhodnotil přítomnost bílkoviny v moči, ale nejednalo se o patologický nále. Na textačním proužku nebyla bílkovina zaznamenána vůbec.

Nejčastější neshodou přístroje HandUReader, testačních proužků a mikroskopického vyšetření bylo hodnocení erytrocytů v moči. Testační proužky a přístroj HandUReader stanovují přítomnost volného hemoglobinu v moči. Erytrocyty mohou být prokázány mikroskopicky. Chemický nále. krve v moči není tedy dostatečně průkazný. Při překročení fyziologického nálezu $5\text{Ery}/\mu\text{l}$ je nutné mikroskopické vyšetření k potvrzení přítomnosti erytrocytů v moči.

U vzorku číslo jedna byla v mikroskopu zaznamenána směs bakterií. Přístrojem HandUReader a testačními proužky byl vzorek vyhodnocen jako negativní. Mohlo se jednat o kontaminaci vzorku, krycího sklíčka či špatně umytého podložního skla.

Práci s přístrojem HandUReader jsem si rychle osvojila a během zpracování nedocházelo k žádným komplikacím.

Jako nespolehlivé se ukázalo stanovení nitridů v moči na průkaz bakterií. Pomocí slidů Uricult Trio a mikrobiologického vyšetření byla u dvou vzorků prokázána přítomnost bakterií v moči. Ale přístroj HandUReader detekcí nitridů tuto přítomnost nezaznamenal.

Plně automatizovaný přístroj Architect plus c4000 se o množství CRP v krvi shodoval s přístrojem QuikRead. Statisticky nebyl zaznamenán rozdíl ve výsledcích. Pearsonův a Spearmanův korelační koeficient pořadové korelace prokázal, že citlivost přístroje QuickRead není taková, jako citlivost laboratorní metody pomocí přístroje Architect plus c4000.

Posledním zkoumaným materiálem byla stolice na průkaz virů. Nedostatek materiálu, díky malému výskytu průjmového onemocnění, se stal zásadním problémem. Muselo být prodlouženo období shromažďování vzorků. Kompenzací byla snadná práce s vyšetřovacím setem Diarlex MB. Ve virologické laboratoři mi jako studentce nebylo dovoleno pracovat se setem Rapid VIDITEST Rota-Adeno, tudíž jsem průkaz virů ve stolici mohla vidět pouze v rámci exkurze na oddělení. Oba sety se shodovaly ve všech 25 případech.

11. Závěr

Cílem mé práce bylo podat přehled možností vyšetřování biologického materiálu systémem POCT v ordinaci dětského lékaře. Tyto metody porovnat s výsledky z referenčních laboratoří a naučit se ovládat vybrané metody v referenčních laboratořích a systému POCT.

Všechna vyšetření jsem prováděla sama, kromě výsledků virologických vyšetření u kterých jsem byla účastna.

V současnosti je cílem zajistit rychlou laboratorní diagnostiku již v době, kdy se lékař plně věnuje pacientovi v průběhu klinického vyšetření. Práce je podnětem k zamyšlení o vhodném užití POCT přístrojů v rámci rychlé analýzy a podává dílčí přehled o možnostech vyšetření v ordinaci dětského lékaře v reálné praxi.

Výzkumnou otázkou bylo, jak lze využít v klinické interpretaci výsledky získané systémem POCT u vyšetření CRP, moče (chemického, bakteriologického, mikroskopického) a stolice. U vyšetření CRP není statisticky významný rozdíl mezi metodou QuikRead a Architect plus c4000. Vyšetření moče přístrojem HandUReader, testovacími proužky a mikroskopickým vyšetřením se z 56 % shodovalo. Případné neshody byly způsobeny odlišným rozlišením barevné změny na reakčních zónách a stanovením ne zcela shodných parametrů, kdy mikroskopické vyšetření na průkaz bakterií není klinicky významné. Průkaz bakterií v moči v mikrobiologické laboratoři a sliďů Uricult Trio v ordinaci byl shodný ve všech případech. Avšak stanovení nitridů se ukázalo jako nespolehlivé. Průkaz adenovirů a rotavirů ve stolici pomocí diagnostických setů Diarlex MB a Rapid VIDITEST Rota-Adeno se ukázalo jako spolehlivé. Shoda byla zaznamenána ve všech případech.

Jelikož se laboratorní metody a přístroje neustále vyvíjejí, je důležité vývoj sledovat aby došlo k nejefektivnějšímu použití laboratorních vyšetření a tím lékaři pomoci urychlit stanovení diagnózy a zajistit včasnou léčbu pacienta.

Díky zpracování této práce jsem se naučila prakticky i teoreticky ovládat metody základního vyšetření moče, které je součástí každé biochemické laboratoře. Rovněž vyšetření CRP patří mezi standardní laboratorní vyšetření. Navíc jsem získala cenné znalosti při mikrobiologickém vyšetření moče a virologickém vyšetření stolice.

12. Seznam použité literatury

1. ABBOTT LABORATORIES, s.r.o. *Abbott Diagnostics Česká republika* [online]. Copyright © 2007–2014 [cit. 2014-07-25]. Dostupné z: <http://www.abbottdiagnostics.cz/Katalog-produktu/Platformy/Klinicka-biochemie/ARCHITECT-c16000-c8000-c4000/5-7-qa-1s.instrument.aspx>
2. BEDNÁŘ, M. et al. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. 558 s.
3. ČERMÁKOVÁ, M. *Klinická biochemie II.díl*. 1. Vyd. Brno: 2005.164 s. ISBN: 80-7013-424-0.
4. ČERMÁKOVÁ, M. ŠTĚPÁNOVÁ, I. *Klinická biochemie 1. díl*. 1. vyd. Brno: idvpz, 2003. 120 s. ISBN: 80-7013-372-4.
5. DASTYCH, M. BREINEK, P. a kol. *Klinická biochemie bakalářský obor Zdravotní laborant*. Brno: 2008 ISBN: 978-80-210-4572-9
6. DOLEŽALOVÁ, V. et al. *Principy biochemických vyšetřovacích metod II. část*. Brno: idvpz, 1995. 231 s. ISBN 80-7013-206-X.
7. FUKUDA, A, M KUBOTA, H ISHIDA a H ITO. Emergency medical care and POCT. *Rinsho Byori*. 2012, 60(12), s. 1175-1180. PMID: 23427700
8. GAUGLITZ, G. Point-of-Care Platforms. *Annu Rev Anal Chem*. 2014, 7(1), s. 297-315. DOI: 10.1146/annurev-anchem-071213-020332.
9. GREENWOOD, D. a kol. *Lékařská mikrobiologie: Přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Grada, 1999. ISBN 80-7169-365-0.

10. HOFFMANN, F. LA ROCHE LTD. *POCT* [online]. ©1996 - 2014 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: <http://roche-diagnostics.cz/Solutions/POCT/Stranky/default.aspx>
11. JABOR, A. a kol. *Vnitřní prostředí*. Praha: Grada, 2008. ISBN 8024712210.
12. KOPÁČ, J. *Lékařská laboratorní diagnostika*. Turnov: Lékařská laboratoř, 2004. 813 s.
13. LI STARFISH S.R.L. - VIA CAVOUR. *Rapid-VIDITEST: Rota-Adeno Blister* [online]. © 2011 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: <http://diagnosticacitogenetica.listarfish.it/schedetecniche/1357655703-rapid-test%20rota-aden%20blister.pdf>
14. 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.
15. MEDIPHOS MEDICAL SUPPLIES. *Adeno Rota* [online]. © 2013 [cit. 2014-07-30]. Dostupné z: <http://www.mediphos.com/mms/index.php/microbiologie/microbiologie-sneltesten/104-aden-rota-special>
16. MÖCKEL, M a J SEARLE. Point-of-care testing in preclinical emergency medicine. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2014,109(2), s. 100-103. DOI: 10.1007/s00063-013-0299-y.
17. NAVRÁTIL, L. a kol. *Vnitřní lékařství - Pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada, 2008. ISBN 8024723190.
18. NEZBEDA, Pavel. *Kvalita v laboratorní medicíně*. In: *Creative Education - Vital Application*[online]. 2012 [cit. 2014-07-25]. Dostupné z: <http://www.ceva-edu.cz/mod/resource/view.php?id=938&redirect=1>

19. ORION DIAGNOSTICA OY. *QuikRead CRP* [online]. ©2013 - 2014 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: <http://www.oriondiagnostica.cz/Produkty/QuikRead/QuikRead-CRP/>
20. ORION DIAGNOSTICA OY. *Testy Uricult* [online]. ©2013 - 2014 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: <http://www.oriondiagnostica.cz/Produkty/Uricult/Uricult/>
21. PENKA, M. TESAŘOVÁ, E. a kol. *Hematologie a transfúzní lékařství II*. Praha: Grada 2012. ISBN: 8024734605
22. QUICKSEAL INTERNATIONAL,s.r.o. *HandUReader - Váš specialista pro POCT přístroje a rychlou diagnostiku* [online]. © 2013 [cit. 2014-07-29]. Dostupné z: <http://www.quickseal.eu/product/detail/10?lang=1>
23. RACEK, J. et al. *Klinická biochemie*. 2. vyd. Praha: Galén, 2006. 329 s. ISBN 80-7262-324-9.
24. SCHINDLER, J. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů 2. Doplněné a přepracované vyd.* Praha: Grada, 2014. ISBN 8024747715
25. SCHÜCK, O. *Klinická nefrologie*. Praha: Grada, 2006. ISBN 8024705036.
26. STEJSKAL, F. *Průjmy cestovatelů – příčiny, prevence a léčba*. Praha: Practicus, 2006, roč. 5, č. 5/2006, s. 208. ISSN 1213-8711.
27. ŠTERN, P. UNIVERZITA KARLOVA. *Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia*. Praha: Karolinum, 2011. ISBN 8024619792.
28. TÁBORSKÁ, J. PAZDIORA, P. *Rotavirus jako nejčastější původce průjmů u dětí. Pediatrie pro praxi*. Olomouc: 2005, roč. 2005, č. 3, s. 135-138. ISSN: 1213-0494.

29. TEPLAN, V. a kol. *Praktická nefrologie: 2., zcela přepracované a doplněné vydání.* Praha: Grada, 2006. ISBN 8024767740.

30. VOTAVA, M. *Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii*, 1. vyd., Hortus, 2000 s. ISBN 80-238-5058-X.

31. VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. vyd. Brno: Neptun, 2005. 351 s. ISBN 80-86850-00-5.

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.

33. ZIMA, T. *Laboratorní diagnostika*. 3. doplněné a přepracované vyd. Praha: Galén, 20013. ISBN 978-80-7492-062-2.

13. Klíčová slova

Point of care testing (POCT)

Chemické vyšetření moče

Močový sediment

Mikrobiologické vyšetření moče

C-reaktivní protein (CRP)

Rotaviry

Adenoviry

14. Přílohy

Příloha 1



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 2



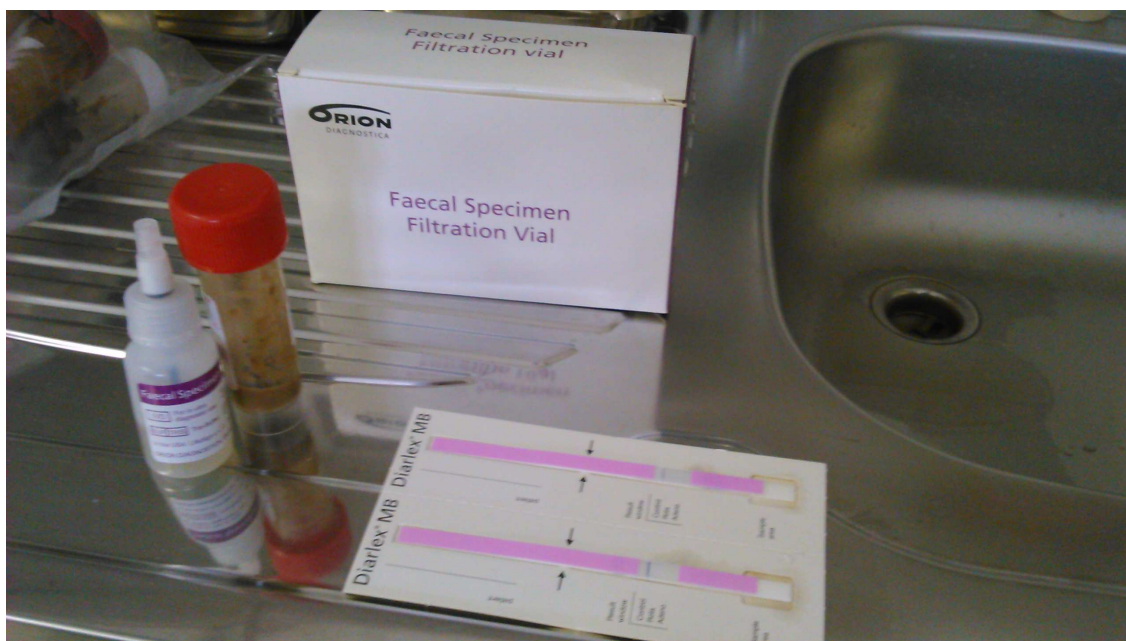
Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 3



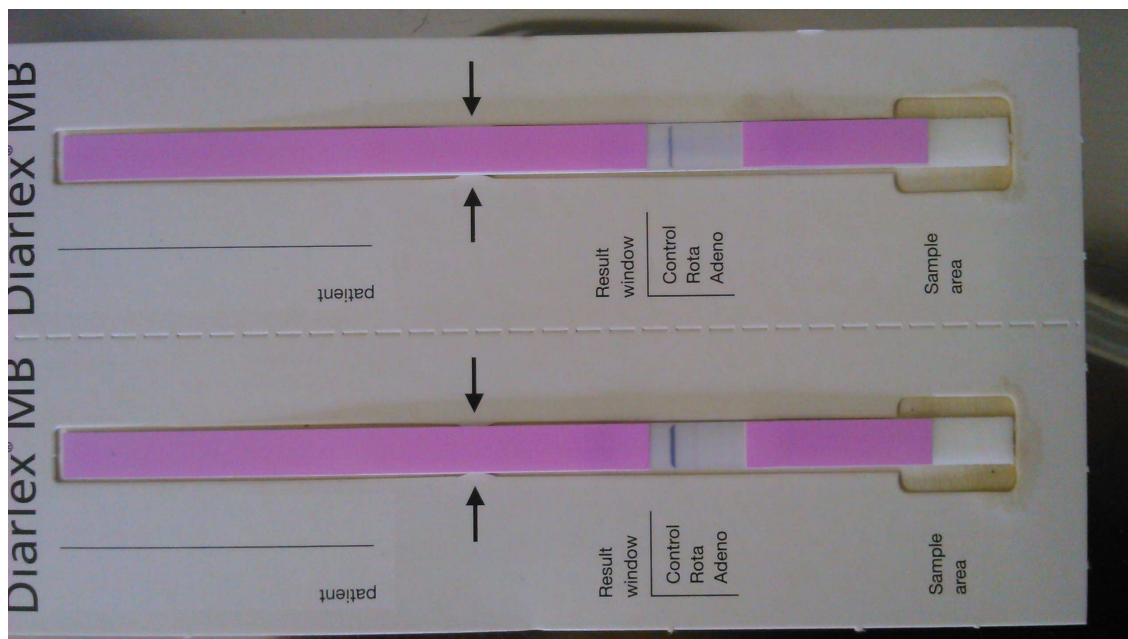
Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 4



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 5



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 6



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 7



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 8



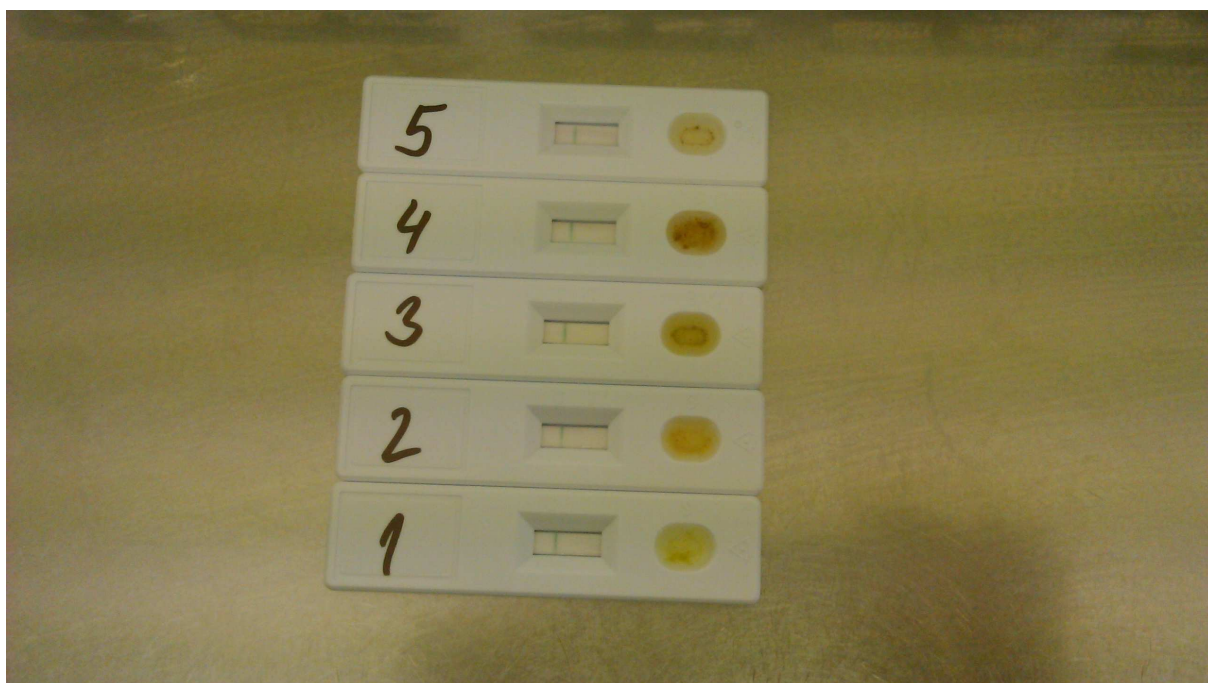
Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 9



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 10



Zdroj: vlastní zdroj

Příloha 11

Descriptive Statistics Report						
Dataset	CRP					
Summary Section of ord						
Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	Range
25	10	5,649484	1,129897	8	32	24
Means Section of ord						
Parameter	Mean	Median	Geometric Mean	Harmonic Mean	Sum	Mode
Value	10	8	9,185436	8,761256	250	8
Std Error	1,129897				28,24742	
95% LCL	7,668008	8	7,909323	7,98228	191,7002	
95% UCL	12,33199	8	10,66744	9,708712	308,2998	
T-Value	8,850367					
	5,045619E-					
Prob Level	09					
Count	25		25	25		20
The geometric mean confidence interval assumes that the $\ln(y)$ are normally distributed.						
The harmonic mean confidence interval assumes that the $1/y$ are normally distributed.						
Normality Test Section of ord						
Test Name	Test Value	Prob Level	10% Critical Value	5% Critical Value	Decision (5%)	
Shapiro-Wilk W	0,412916	5,733262E-09			Reject normality	
Anderson-Darling	7,056784	2,935023E-17			Reject normality	
Martinez-Iglewicz	0		1,157507	1,276096	Can't reject normality	
Kolmogorov-Smirnov	0,450249		0,159	0,173	Reject normality	
		2,069549E-				
D'Agostino Skewness	4,746511	06	1,645	1,96	Reject normality	
D'Agostino Kurtosis	3,8969	9,70E-05	1,645	1,96	Reject normality	
D'Agostino Omnibus	37,715	0,000000	4,605	5,991	Reject normality	

Zdroj: Prof. MUDr. Pravoslav Stránský CSc.

Příloha 12

Descriptive Statistics Report						
Dataset	CRP					
Summary Section of lab						
Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	Minimum	Maximum	Range
25	6,22	10,16583	2,033167	0	30	30
Means Selection of lab						
Parameter	Mean	Median	Geometric Mean	Harmonic Mean	Sum	Mode
Value	6,22	0,5	1,786762	0,5121716	155,5	0,2
Std Error	2,033167				50,82917	
95% LCL	2,02375	0,2	0,7055056	0,3356429	50,59376	
95% UCL	10,41625	4,6	4,525147	1,080398	260,4063	
T-Value	3,059267					
Prob Level	0,00538832					
Count	25		20	20		
The geometric mean confidence interval assumes that the $\ln(y)$ are normally distributed.						
The harmonic mean confidence interval assumes that the $1/y$ are normally distributed.						
Normality Test Section of lab						
Test Name	Test Value	Prob Level	10% Critical Value	5% Critical Value	Decision (5%)	
Shapiro-Wilk W	0,6502616	1,671043E-06			Reject normality	
Anderson-Darling	4,038712	4,78713E-10			Reject normality	
Martinez-Iglewitz	260,7042		1,175507	1,276096	Reject normality	
Kolmogorov-Smirnov	0,3292802		0,159	0,173	Reject normality	
D'Agostino Skewness	3,023122	0,002501816	1,645	1,96	Reject normality	
D'Agostino Kurtosis	1,1751	0,239947	1,645	1,96	Can't reject normality	
D'Agostino Omnibus	10,5202	0,005195	4,605	5,991	Reject normality	

Zdroj: Prof. MUDr. Pravoslav Stránský CSc.

Příloha 13

Paired-Sample Report							
Quantile (Sign) Test							
This Quantile test is equivalent to the Sign test if the Quantile Proportion is 0.5.							
Paired Difference: pac - ord							
Null	Quantile	Number	Number	H1: Q ≠ Q0	H1: Q < Q0	H1: Q > Q0	
Quantile (Q0)	Proportion	Lower	Higher	Prob Level	Prob Level	Prob Level	
	0	0,5	9	15	0,307456	0,924205	0,153728
Wilcoxon Signed-Rank Test							
Paired Difference: pac - ord							
Sum of	Mean	Std Dev	Number	Number Sets	Multiplicity		
Ranks (W)	of W	of W	of Zeros	of Ties	Factor		
227,5	162	37,1433	1	5	66		
		Approximation Without			Approximation With		
Exact		Continuity correction			Continuity correction		
Alternative	Prob	Reject H0	Prob	Reject H0	Prob	Reject H0	
Hypothesis	Level	(α =	Z-	(α =	Z-	(α =	
Median ≠ 0	0,050)	Value	Level	0,050)	Value	Level	0,050)
		1,7634	0,077826	No	1,7500	0,080122	No
*Exact probabilities are given only when there are no ties.							

Zdroj: Prof. MUDr. Pravoslav Stránský CSc.

Příloha 14

CRP (C - REAKTIVNÍ PROTEIN)		
Pacient	Ordinace	Laboratoř
1	8	4,60
2	9	2,40
3	8	0,00
4	32	30,00
5	8	0,20
6	8	1,10
7	8	0,00
8	20	27,60
9	9	11,90
10	8	8,00
11	8	0,20
12	8	0,30
13	8	0,20
14	8	0,20
15	8	1,10
16	8	0,00
17	20	27,60
18	8	24,70
19	8	13,30
20	8	0,00
21	8	0,20
22	8	0,50
23	8	0,00
24	8	0,20
25	8	1,20