

# Chemická analýza moče

- semikvantitativní analýza
- diagnostické proužky
- malá pracoviště ručně,  
velké klinické laboratoře na automatech
- proužky používané v ČR - Hepta(Okta)Phan (Pliva-Lachema Diagnostika), Combur (Roche Diagnostic), Aution Sticks (Arkray)
- 10 zón (+ kompenzace)
- odčítání po 60 – 90 s

# Principy jednotlivých stanovení:

## Specifická hustota (hmotnost):

- pomocí koncentrace iontů v moči
- koreluje dobře s refraktometrickým stanovením
- v přítomnosti kationtů jsou protony uvolněny komplexotvorným činidlem
- mění barevu bromthymolové modře od modré přes modrozelenou ke žluté
- při pH =7 a více připočíst hodnotu 5 kg/m<sup>3</sup>
- bílkoviny v koncentraci 1 - 5 g/l nebo ketoacidóza hustotu zvyšují

## pH:

- měřeno pomocí acidobazických indikátorů methylová červeň, fenolftalein a bromthymolová modř
- kombinace indikátorů umožňuje změnu barvy testační zóny od oranžové přes zelenou na modrou v závislosti na pH moče.

## **Nitrity:**

- vznik dusitanů redukcí dusičnanů vlivem patogenních mikrobů
- na principu Griessovy reakce - dusitanový anion s aromatickým aminem v kyselém prostředí tvoří diazo-sloučeninu
- ta kopuluje s vhodnou látkou na červené azobarvivo.
- již slabé růžové zbarvení indikuje značnou bakteriurii
- falešně negativní výsledky mohou být způsobeny léky (Antibiotika vysadit tři dny před testem)

## **Bílkovina:**

- přítomnost proteinů - změna barvy acidobazického indikátoru
- test je citlivý na albumin, podstatně nižší citlivost vykazuje vůči globulinům, mukoproteinům a Bence-Jonesově bílkovině.
- falešná pozitivita - léky, dezinfekční prostředky obsahující kvartérní amoniové soli

## **Glukosa:**

- na principu enzymové reakce glukosooxidáza/peroxidáza
- glukosa je enzymaticky oxidována na glukonolakton
- v přítomnosti peroxidázy peroxid vodíku oxiduje indikátor za vzniku zelené barvy
- test je specifický pro stanovení D-glukózy, ostatní cukry nedávají pozitivní reakci.
- při koncentraci glukózy 5,5 mmol/l a vyšší, neovlivňuje výsledky stanovení ani vyšší koncentrace kyseliny askorbové.
- test je specifický pro glukosu, ostatní cukry nereagují

## **Ketony:**

- test je založen na Legalově reakci
- ketolátky reagují s nitroprusidem sodným v silně alkalickém prostředí do fialova
- reakce je citlivější na kyselinu acetoctovou než na aceton



## **Bilirubin:**

- test je založen na kopulaci bilirubinu s diazoniovou solí
- vznik růžového zbarvení testační zóny

## **Urobilinogen:**

- reaguje se stabilní diazoniovou solí v kyselém prostředí
- vznik červeného azobarviva
- vzorky moče chránit před přímým slunečním světlem
- jinak nižší nebo falešně negativní výsledky

## **Leukocyty:**

- na základě přítomnosti esteráz granulocytů
- tyto enzymy štěpí ester indoxylu na indoxyl, který dává s diazoniovou solí barevný fialový produkt
- test není ovlivněn přítomností bakterií, trichomonád a erytrocytů v
- zeslabení reakce - bílkovina v koncentraci nad 5 g/l a glukóza nad 111 mmol/l  
léky (gentamycin)

## **Erytrocyty:**

- erytrocyty jsou hemolyzovány na hemoglobin
- ten spolu s myoglobinem katalyzuje oxidaci indikátoru (organický hydroperoxid) – v přítomnosti pseudoperoxidasy
- ze žluté na zelenomodrou
- lze detekovat mikrohematurii
- kyselina askorbová neinterferují

**Další zóny** – kompenzace, turbidita

# Historie

- fyzikální vlastnosti moče (barva, zápach)
- klasické chemické reakce ve zkumavce –
  - stanovení bilirubinu s alkoholickým roztokem jódu- vznik zeleného prstence biliverdinu
  - reakce s Ehrlichovým činidlem – azokopulační reakce diazoniové soli – vznik červeného zbarvení s urobilinogenem a porfyriny

# Hodnocení chemické analýzy moče

č.m et.	analyt	arbitrární jednotky						
		0	+-	1	2	3	4	
144	leukocyty (elem/ul)	neg		25	75	250	500	
118	nitrity (dusitany)	neg		+1	+2			
122	bílkovina (g/l)	neg	0,15	0,3	1,0	3,0	10,0	
123	glukóza (mmol/l)	norm	3	6	12	30	60	
124	ketony (mmol/l)	neg		1,5	4	8	15	
125	urobilinogen ( $\mu\text{mol/l}$ )	norm		35	68	150	>150	
126	bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )	neg		8,5	35	100	>100	
127	krev-ery (mg/l)	neg		0,6	2	10		
		absolutní hodnoty						
147	hustota (g/ml)	1,000	1,005	1,010	1,015	1,020	1,025	1,030
121	pH	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0		

**Referenční interval:** hustota 1.010 – 1.025g/ml

- posouzení zředovací a koncentrační schopnosti ledvin
- přesnější je vyšetření osmolality moče

**Referenční interval:** pH 5,0 – 6,5

- vliv potrava (rostlinná alkalizuje, živočišná naopak acidifikuje)
- vliv chronické poruchy acidobazické rovnováhy, léčiva.
- alkalické pH patologické

Příčiny:

- bakteriální infekce ledvin a močových cest (pozor na arteficiální pomnožení bakterií při delším skladování moči v teplém prostředí!),
- renální tubulární acidóza



**Referenční interval:** glukóza normální

- reabsorbována tubulárními buňkami ledvin
- renální práh (9 – 10 mmol/l) - glykosurie

Příčiny :

- hyperglykémie (diabetes mellitus)
- snížený renální práh pro glukózu
- těhotenství (zvýšení glomerulární filtrace + snížení renálního prahu)

**Referenční interval:** ketony negativní

- vznik při získávání energie z mastných kyselin

Příčiny:

- hladovění (nedostatek sacharidů, rychle u dětí),
- diabetes mellitus
- při tkáňové hypoxii ( šok) - falešně negativní

rovnováha mezi kyselinou acetoctovou a  $\beta$ -hydroxymáseľnou je posunuta na stranu kyseliny  $\beta$ -hydroxymáseľné – ta nereaguje







# Močový sediment, mikroskopické vyšetření

Specifikace vzorku :

**první nebo častěji druhá ranní moče**

- v noci zakoncentrování - patologické hodnoty nejvýraznější

močové proteiny a uráty méně rozpustné - hodnocení zejména válců a krystalů kyseliny močové zatíženo menší chybou

- během dne příjmem potravy moč alkalizuje  
vliv diuretik
- druhá ranní moč - elementy neleží dlouho v močovém měchýři, nedochází k jejich rozpadu

## **Příprava pacienta :**

- běžný příjem tekutin
- omytí genitálií vodou – ne desinfekcí
- středního proud moče (mimo období menstruace)

## **Příprava analytického vzorku – manuální provedení:**

- sediment z 4 ml nativní moči
- odstředěním při 2000 rpm, 5 minut, pokojová teplota
- speciální zkumavky k tomuto účelu
- supernatant odlít - zbývá 0,4 ml zahuštěné moče

## **Mikroskopické vyšetření:**

- 10x zakoncentrovaná moč
- 400 násobném zvětšení.
- preparát na mikroskopickém sklíčku - počet částic na zorné pole v komůrce Fast Read - počet částic na 1  $\mu$ l nativní moče

Erytrocyty, leukocyty, válce a epiteliie - na 1  $\mu$ l

Bakterie, kvasinky, hlen a krystaly - přítomny, četné, záplava..

- do jedné hodiny

## **Supravitální barvení dle Sternheimera:**

- Doc. Timo Kouri - standardizace barvicí procedury
- dvojsložkovou barvu - modř a červeň.
- lepší rozeznatelnost epitelíí a válců
- potíže při větším počtu erytrocytů (růžová) a leukocytů (modrá)
- rychlý rozvoj automatizace v močové analýze (flow cytometrie a automatizované mikroskopické vyšetření)
- barvení se v ČR v masovém měřítku neprosadilo

# Hamburgerův sediment:

- kvantitativní stanovení počtu erytrocytů, leukocytů a válců v moči sbírané 3 hodiny
- výsledek je přepočten - diuréza - na rychlost vylučovaných elementů za časovou jednotku
- umožňuje hodnotit a srovnávat exkreci uvedených elementů a upřesňuje v indikovaných případech základní vyšetření moče
- vyšetření ze sedimentu získaného odstředěním sbírané moče – při manuálním provedení
- masivní hematurie, leukocyturie, krystalurie - z nativní sbírané moče
- zpracovat do 1 hodiny
- ztráta významu

# Hodnocení močového sedimentu:

- **Leukocyty (shluky) a erytrocyty** – viz chemické hodnocení moče
- **Epitelie :**

Dlaždicové (skvamózní) – pochází z uretry a vagíny  
nepravidelný tvar, velké, dobře viditelné jádro  
minimální klinický význam – kontaminace  
častý nález

Buňky přechodného epitelu – jedná se o buňky epit. výstelky  
urinálního traktu – močový měchýř, proximální část  
uretry u mužů  
z hlubších vrstev - hustší a kulatější  
kontakt s močí, absorpce vody - balóny s vodou  
menší než dlaždicové epitelie  
možnost dvou jader  
menší počet může být normální  
velké množství - infekce, léky

- **Epitelie :**

Renální tubulární – významný nález, velmi zřídka

- při renální tubulární nekróze nebo virové infekci
- malé, asi dvakrát větší než neutrofily
- polyedrické, mají často excentrické ohraničené jádro

**Oválná tuková tělíska :**

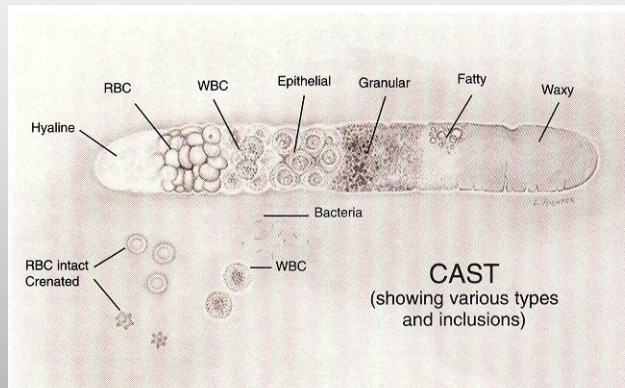
renální tubulární epitelie nebo makrofágy naplněné tukem

- při velké permeabilitě glomerulu - snížený albumin, zvýšená syntéza proteinů a lipoproteinů

# Válce:

- precipitací proteinu v tubulech ledvin
- základ tvoří Tamm – Horsfallův glykoprotein, který
- je sekretován z renálních tubulárních buňek
- tvorbu válců podporuje - kyselější pH, přítomnost větší koncentrace plasmových bílkovin, dehydrataci organismu, náročná fyzická aktivita
- definovaná vnější linie, paralelní strany, zakulacené konce, tvar tubulu
- úlomky válců
- bez barvení pod mikroskopem špatně viditelné
- fázová kontrastní mikroskopie
- hyalinní, buněčné, granulované, tukové, voskové a směsné





**Archetypal cast (showing various types and inclusions).** (From Linne JJ, Ringsrud KM: *Basic techniques in clinical laboratory science*, ed 3, St. Louis, 1992, Mosby.)

**Hyalinní válce** - barví se světle růžově nebo světle modře

- nález, který není patologický
- objevují se v koncentrované kyselé moči
- ve velkém počtu - záněty
- úzké v důsledku otoku tubulů

**Buněčné válce** – erytrocytární, leukocytární  
(granulocytární), z renálních tubulárních epitelí,  
bakteriální

- patologický nález

Erytrocytární –při glomerulární nefritidě, nejkřehčí,  
nalezeny vyjimečně

**Leukocytární** – nejčastěji z neutrofilů při zánětech a infekcích

**Z renálních tubulárních epitelí –**

- po otravě Hg nebo etylenglykolem, hepatitidě, kdy dochází k poškození tubulů

Nelze-li určit částice - válec buněčný

**Přeměna válců:**

- po vytvoření nezůstávají ve stejném stavu
- postupně se vyvíjí.
- čím déle v ledvině (tlak), tím pozdější stádium válců
- buňky v buněčných válcích postupně degenerují
- zborcení, ztrátě buněčné membrány
- tvorba granulí
- granule podléhají další degeneraci, ztrátě struktury, válcová hmota zhoustne, zkřehne a zvoskovatí

## Granulované válce:

- granule vznikají po rozbití buněčné membrány ve válci či tubulech
- malý počet po intenzivní fyzické aktivitě (velký počet u otužilců)
- větší počet je silně patologický.
- obsahují agregované plasmatické proteiny, fibrinogen, globuliny
- nelze určit původ buňek
- několik granulí - válce hyalinní

## **Voskové válce** - nejzávažnější

- při chronickém onemocnění ledvin - válce renálního selhání
- homogenní struktura, mohou přecházet ve válec jiného typu – např. granulovaný
- nejširší, nepravidelné zlomené konce
- vypovídají o poškození tubulů, obsahují částičky ledvin

## **Tukové válce** – při silné renální dysfunkci, nefrotickém syndromu

- v moči s pěnou, silně zvýšenou CB a Alb, u diabetiků, po intoxikaci Hg
- obsahují oválná tuková tělíčka
- speciálním barvením lze rozlišit převahu Chol či TG

## **Pseudoválce** – např. vlákna hlenu

## **Artefakty** - vlákna z plínek, toaletního papíru

## **Krystaly a amorfni drt':**

- nepřiliš významný nález
- oxaláty, kyselina močová, fosfáty a tripelfosfáty
- vyjimečně lékové, bilirubinové, cystinové a myoglobulinové

# Barvený sediment

- **Erythrocyty** – růžová

V kyselém moči světle růžové, se vzrůstajícím pH až červenofialová

- **Leukocyty** – modré až modrofialové jádro

Leu s nepoškozenou cytoplasmatickou membránou neobarvené jádro, poškozené výrazně modré, rozpadající se neobarvené jádro

# Barvený sediment

## Epitelie

- Ploché epitelie – růžová
- Přejídné – fialovo-růžové, někdy jádro tmavě fialové
- Renální tubulární – fialovo-růžové, někdy jádro tmavě fialové

## Válce

- Hyalinní – světle modré případně světle růžové
- Buněčné, granulované – buňky či granula tmavě fialová či tmavě růžová

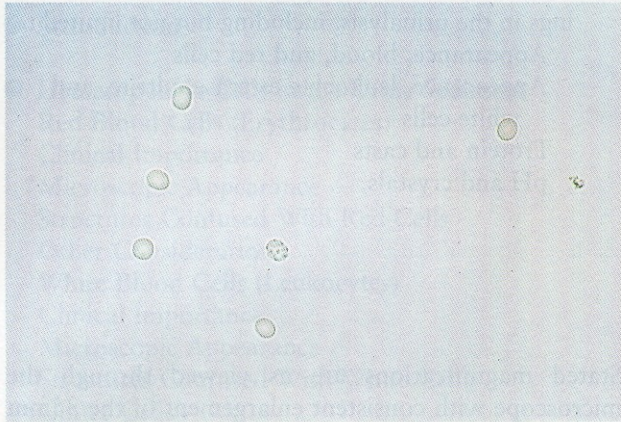


# Barvený sediment

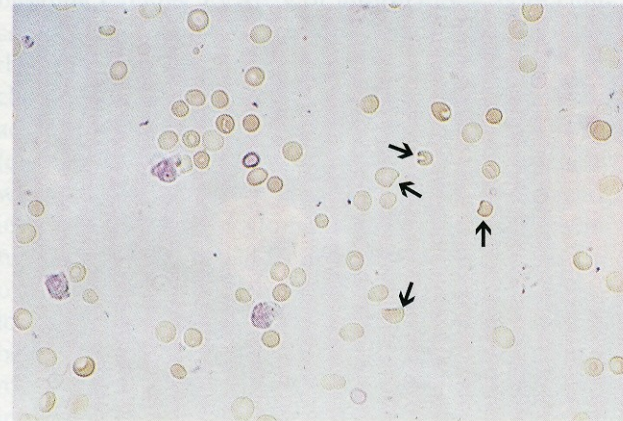
- Krystaly – nebarví se
- Amorfni drt' – nebarví se, výjimečně nafialovělá
- Bakterie – většinou modrá
- Kvasinky, plísně – světlé
- Tukové kapky - nažloutlé
- Hlen – modrá

# Urinalysis and Body Fluids

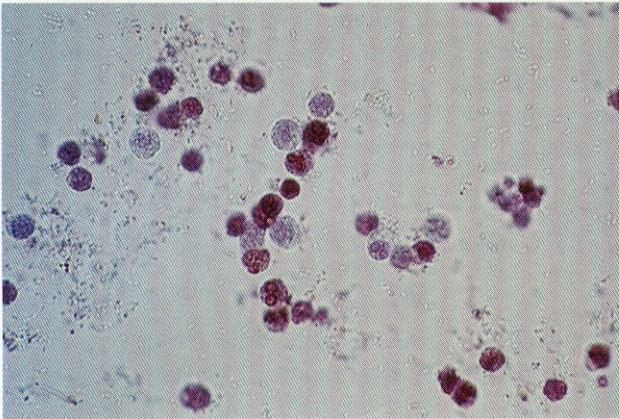
K.M. Ringsrud, J.J. Linné



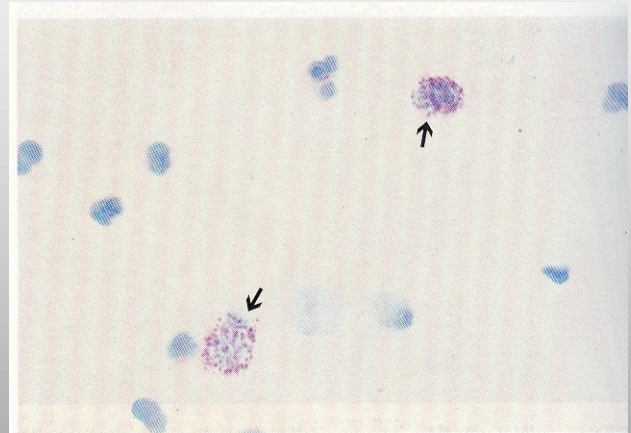
**Red cells, 5 intact, 1 crenated. Unstained,  $\times 400$ .**



**Dysmorphic red cells (arrows), with many other red cells and three white cells, Sedi-Stain,  $\times 400$ .**

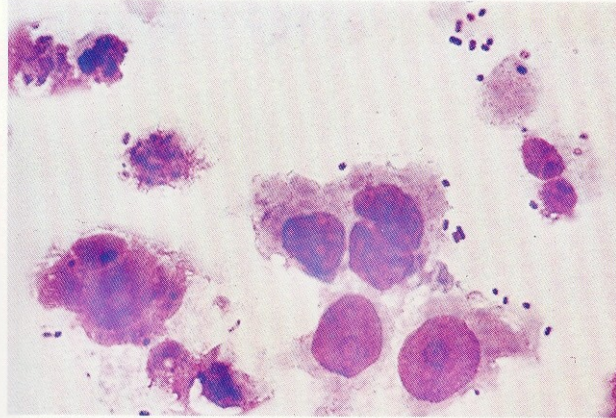


**Many white cells showing varied staining. Many bacteria also present. Sedi-Stain,  $\times 400$ .**

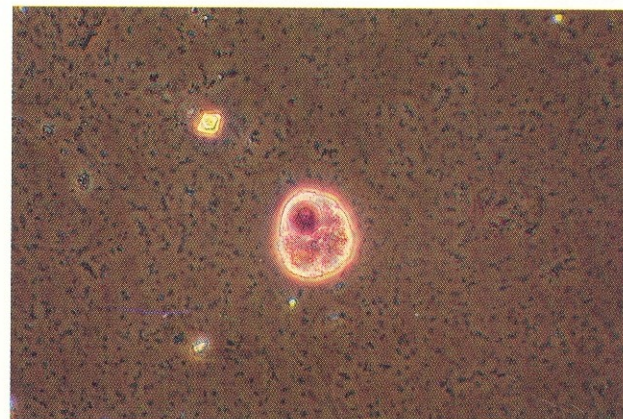


**Eosinophils (at arrows) and neutrophils. Cytospin, Hansel's stain,  $\times 1000$ .**





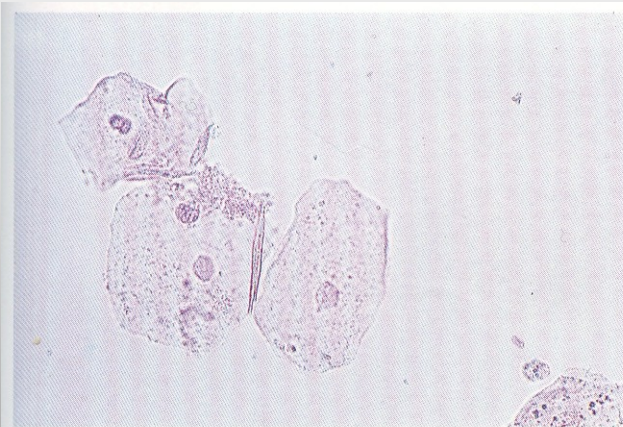
**Mononuclear cells, possibly lymphocytes. Cytospin, Wright's stain,  $\times 1000$ .**



**A**

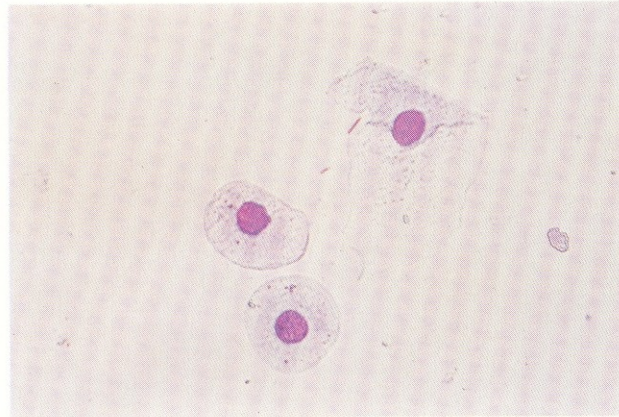
**Macrophage, and many bacteria. Sedi-Stain,  $\times 400$ . A, Brightfield. B, Phase contrast.**

**B**

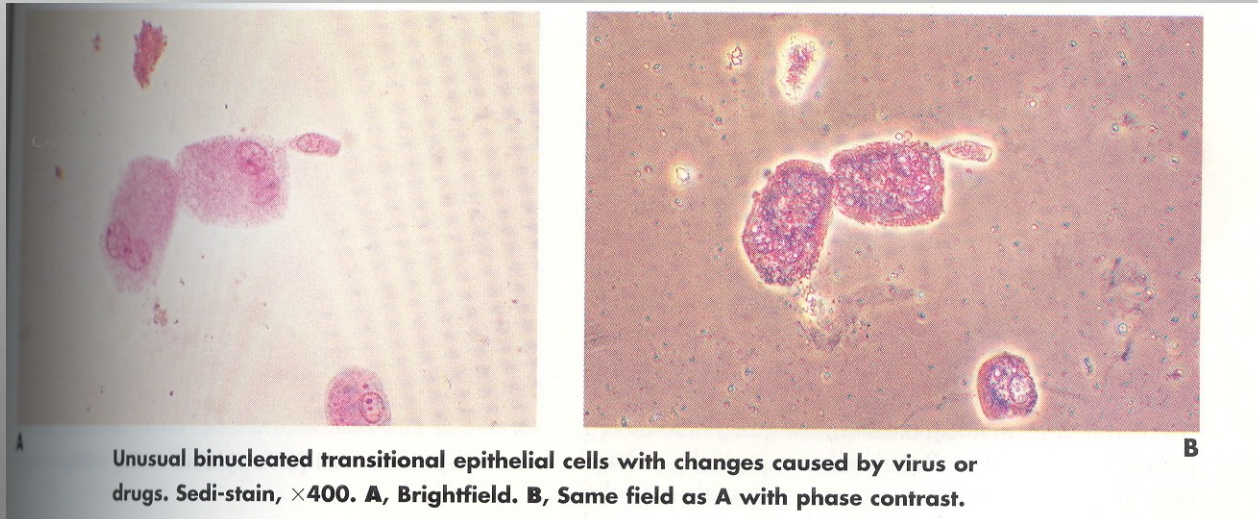


**Squamous epithelial cells, with one beginning to appear as a clue cell. Sedi-Stain,  $\times 400$ .**





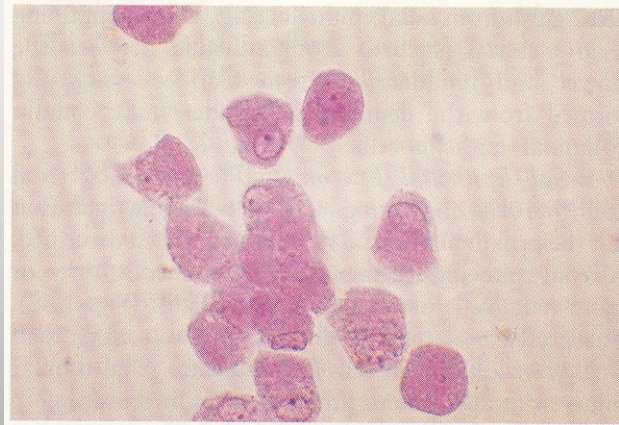
Two transitional epithelial cells, one folded squamous epithelial cell. Cytospin, Wright's stain,  $\times 400$ .



Unusual binucleated transitional epithelial cells with changes caused by virus or drugs. Sedi-stain,  $\times 400$ . **A**, Brightfield. **B**, Same field as A with phase contrast.

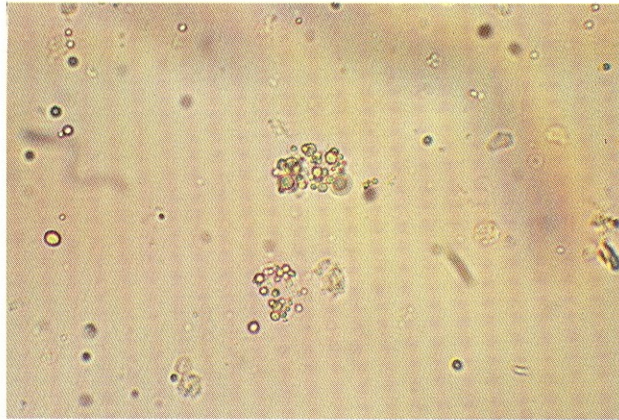


**Renal epithelial cell (arrow). Sedi-Stain,  $\times 400$ .**

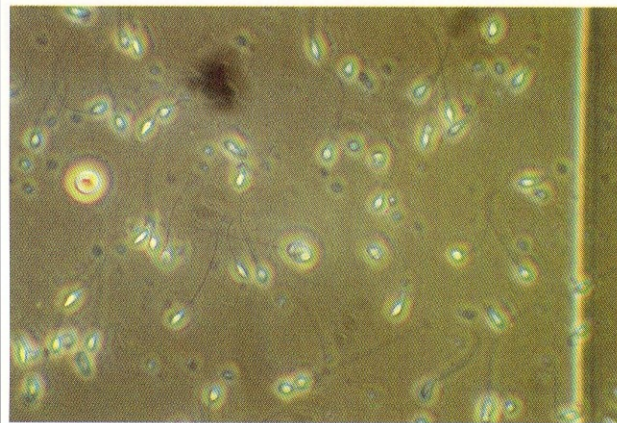


**Cuboidal or polyhedral renal tubular epithelial cells probably from the small collecting ducts; very difficult to differentiate from transitional epithelial cells. Sedi-Stain,  $\times 400$ .**





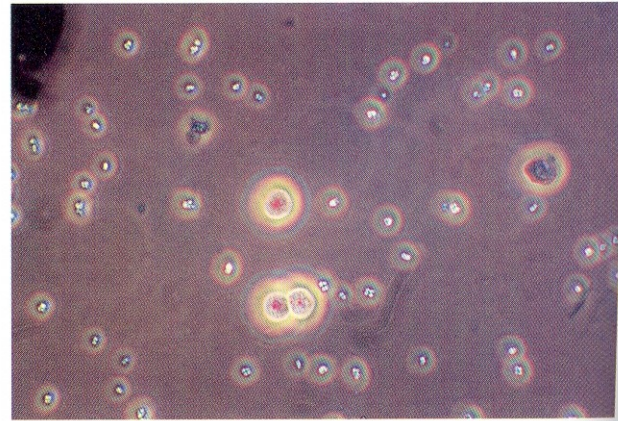
**Free fat and oval fat bodies. Unstained,  $\times 400$ .**



**Sperm, many in counting chamber. Phase contrast,  $\times 400$ .**



**A**

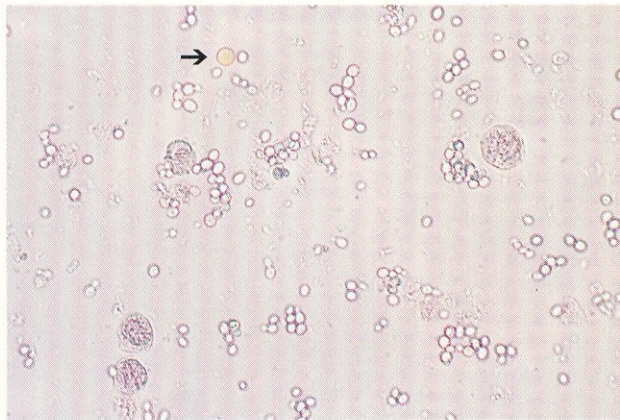


**B**

**Bacteria (Staphylococci) seen as large cocci in clusters and tetrads appearing like small crystals with phase contrast. White cells also present. A, Brightfield,  $\times 450$ . B, Same field as A with phase contrast, showing how these cocci might be mistaken for small crystals,  $\times 400$ .**

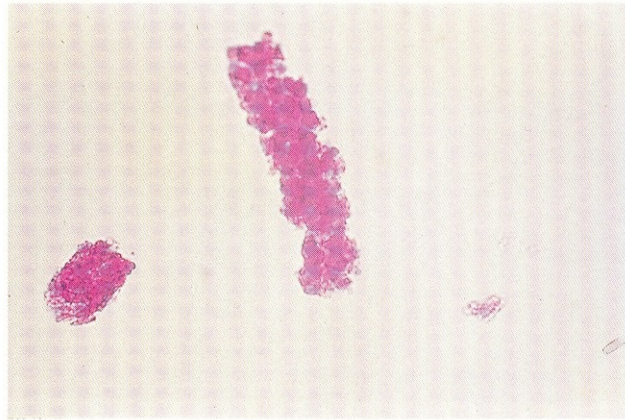


**White cells and purple-staining gram-negative bacteria (rods) on cytocentrifuged preparation of urine sediment stained with Wright's stain,  $\times 1000$ .**



**Many slightly stained yeast, white cells (4), and red cell (arrow). Sedi-Stain,  $\times 400$ .**

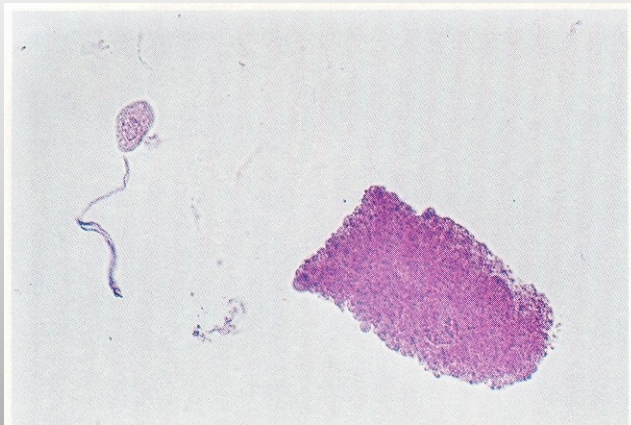




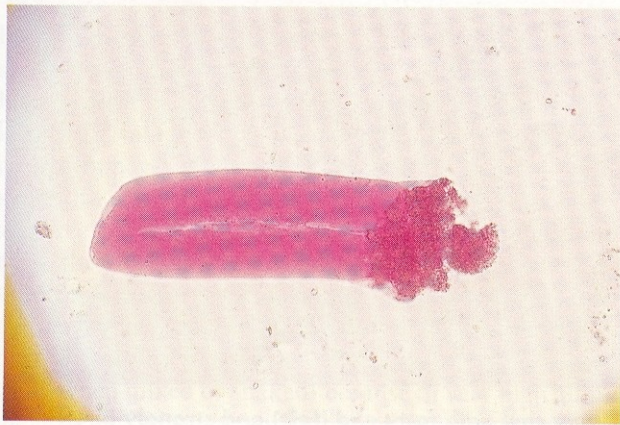
**Cellular cast (probably red cell origin). Sedi-Stain,  
×400.**



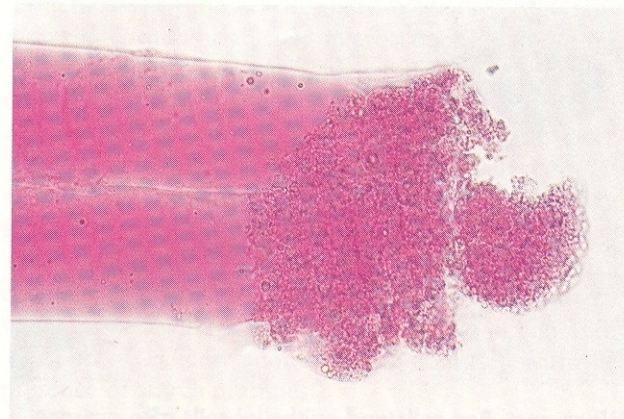
**White blood cell cast, basically hyaline. Sedi-Stain,  
×450.**



**Stained granular cast like the cast in Fig. 6-139. Also, mucus, and renal epithelial cell. Sedi-Stain,  $\times 400$ .**



**A**



**B**

**Broad waxy cast with central fissure and granular end. Sedi-Stain. A, Low-power,  $\times 160$ . B, Higher magnification of same cast as in A, showing granular end and fat inclusions,  $\times 400$ .**



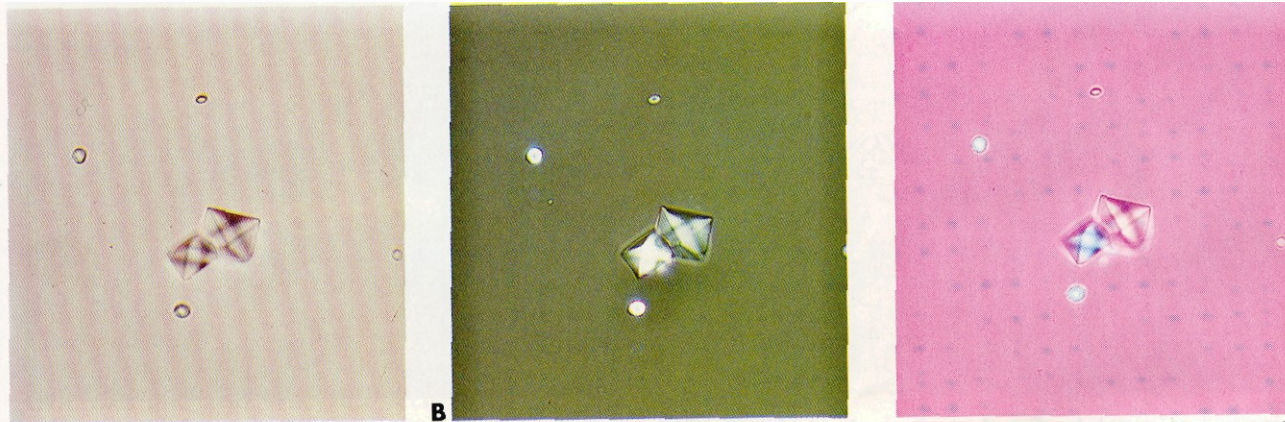


**Uric acid, large, barrel-shaped,  $\times 100$**



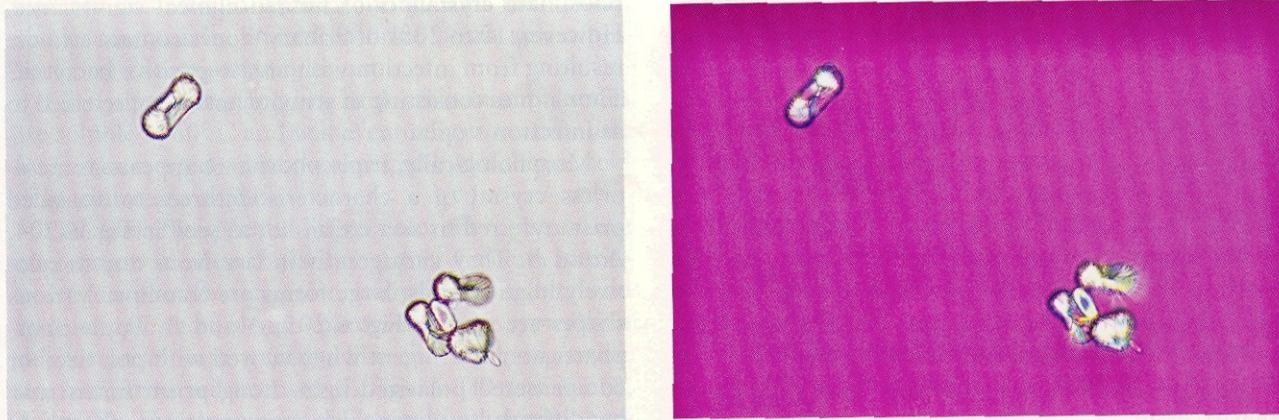
**Uric acid, large, lemon-shaped,  $\times 400$ .**





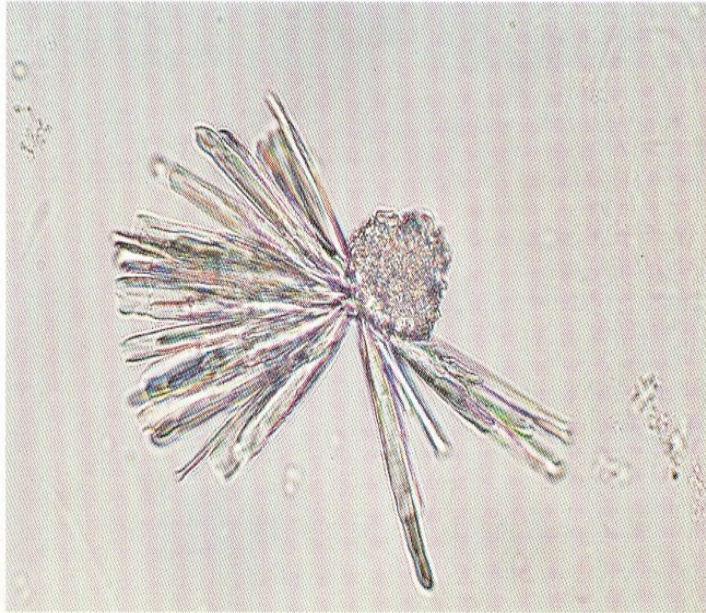
**A** Calcium oxalate, typical and oval forms appearing like red blood cells, exhibiting strong birefringence with polarized and compensated polarized light,  $\times 400$ . **A**, Brightfield. **B**, Polarized light. **C**, Compensated polarized light.

**Figure 6-201**

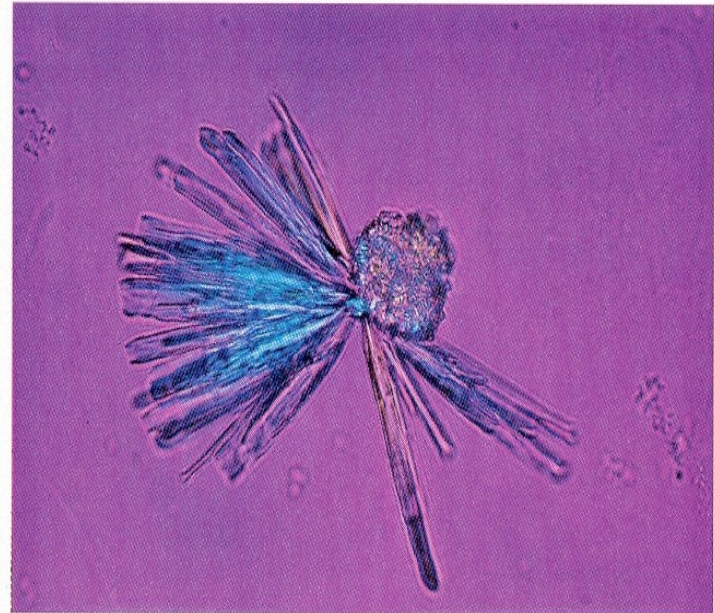


**A** Calcium oxalate, rare large ovoid form of a type associated with ethylene glycol poisoning,  $\times 400$ . **A**, Brightfield. **B**, Compensated polarized light.



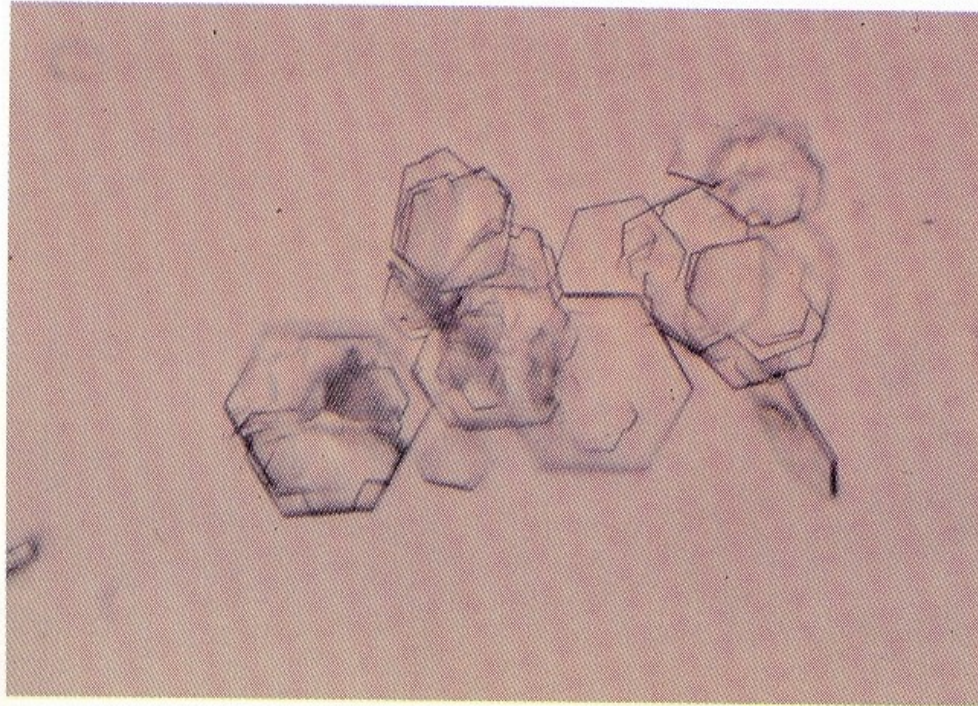


**A**



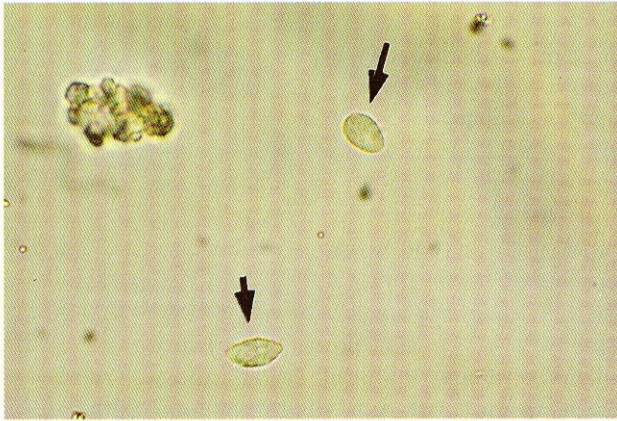
**B**

**Calcium phosphate, slender prisms arranged in a rosette,  $\times 400$ . A, Brightfield. B, Compensated polarized light showing weak birefringence.**

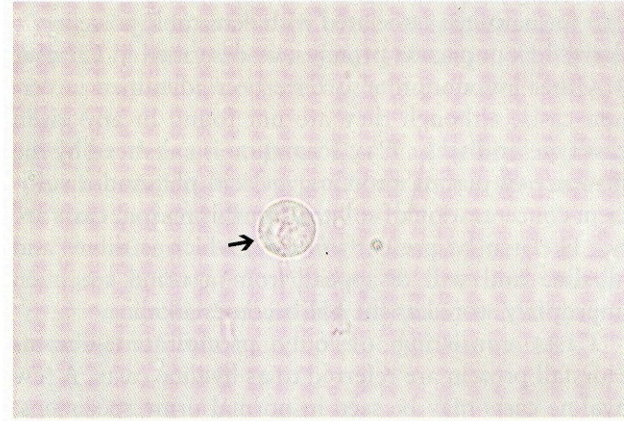


**Cystine, thin colorless hexagons with laminations,  
×640.**

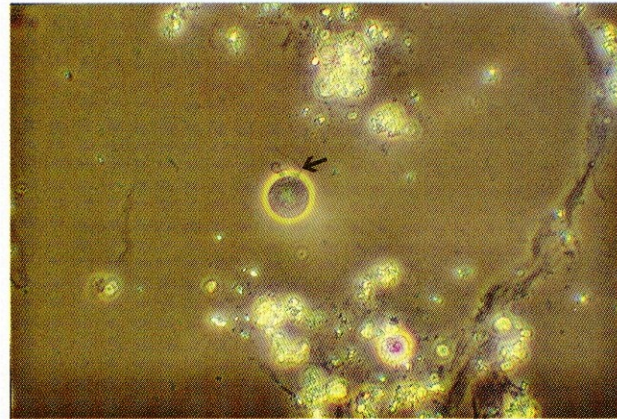




**Trichomonas, pear shaped (arrows). Unstained,  $\times 400$ .**



**Trichomonas, rounded with very hard to see flagella (arrow). Unstained,  $\times 640$ .**

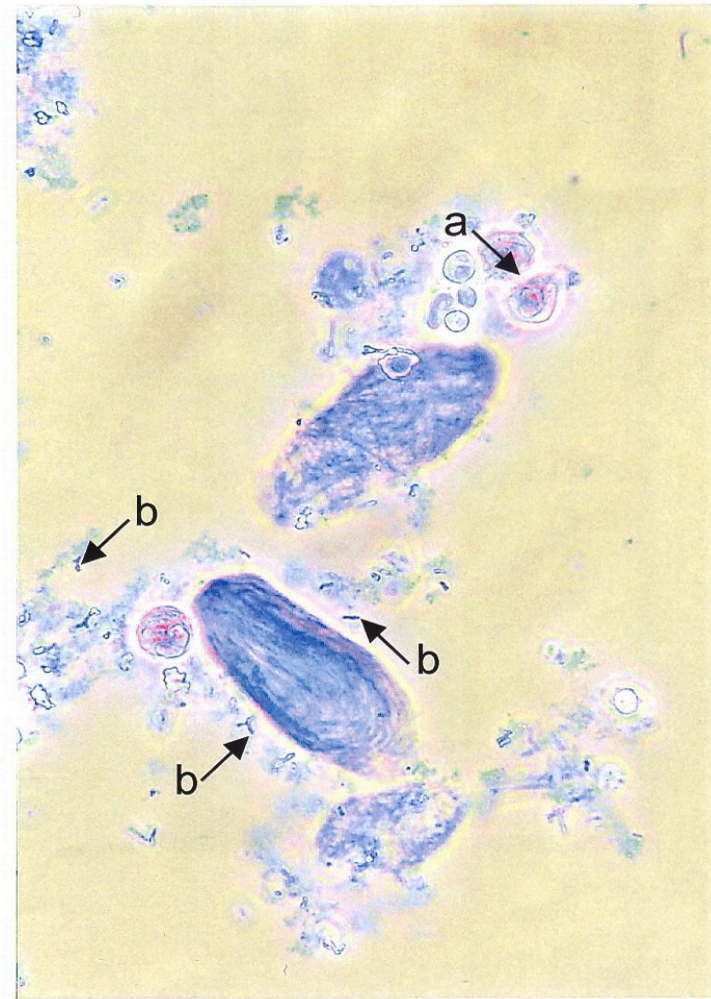
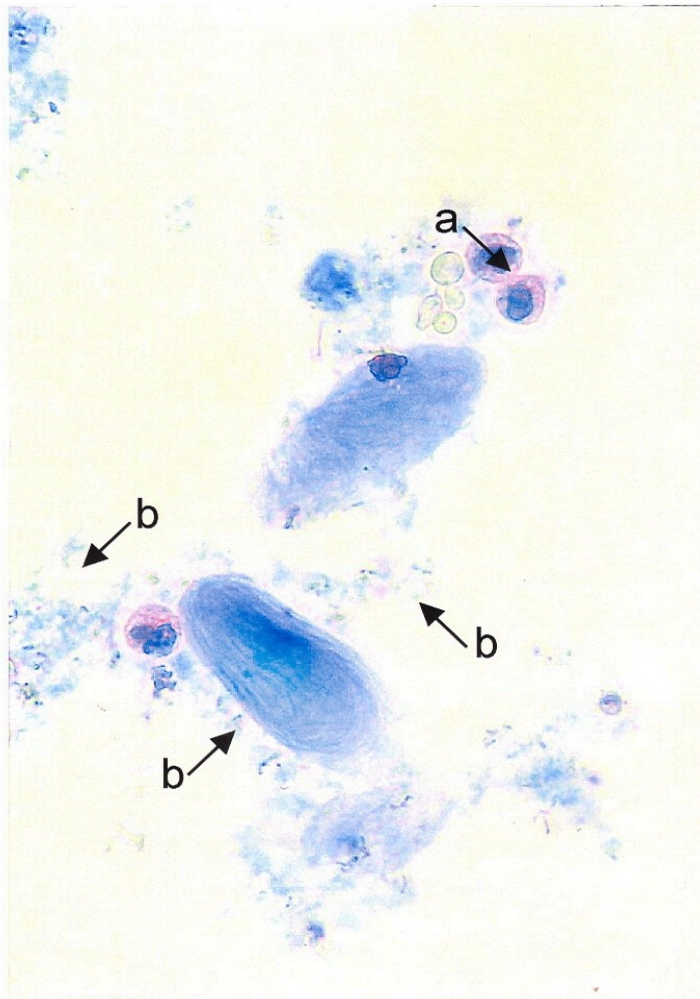


**Trichomonas, rounded with flagella (arrow). Phase contrast,  $\times 400$ .**

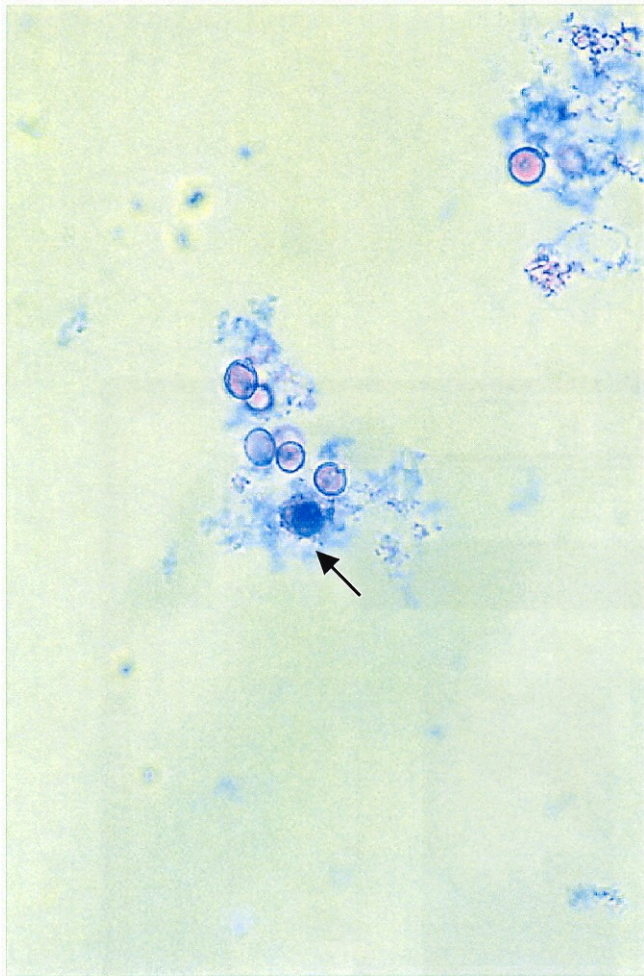
# Ukázky z atlasu barvených preparátů dle Doc. Kouriho

- Obrázek A – zorné pole v běžném mikroskopu
- Obrázek B – zorné pole s fázově kontrastní optikou

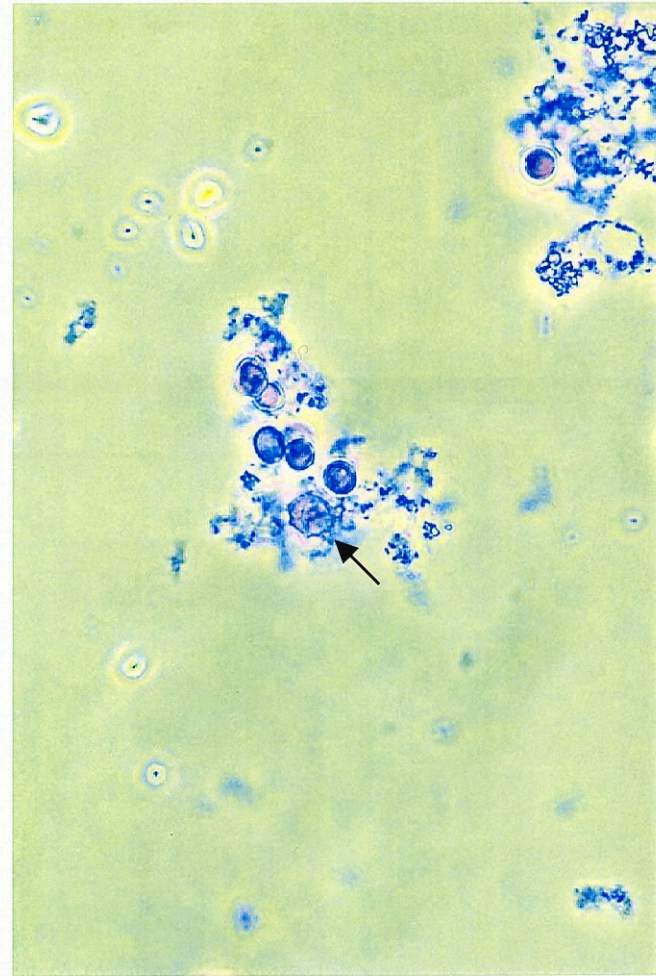




- Granulocytv (šipka a) s vícelaločnatými (segmentovanými) jádry  
Hyalinní válce a bakterie (šipka b) Rozdíl ve viditelnosti bakterií



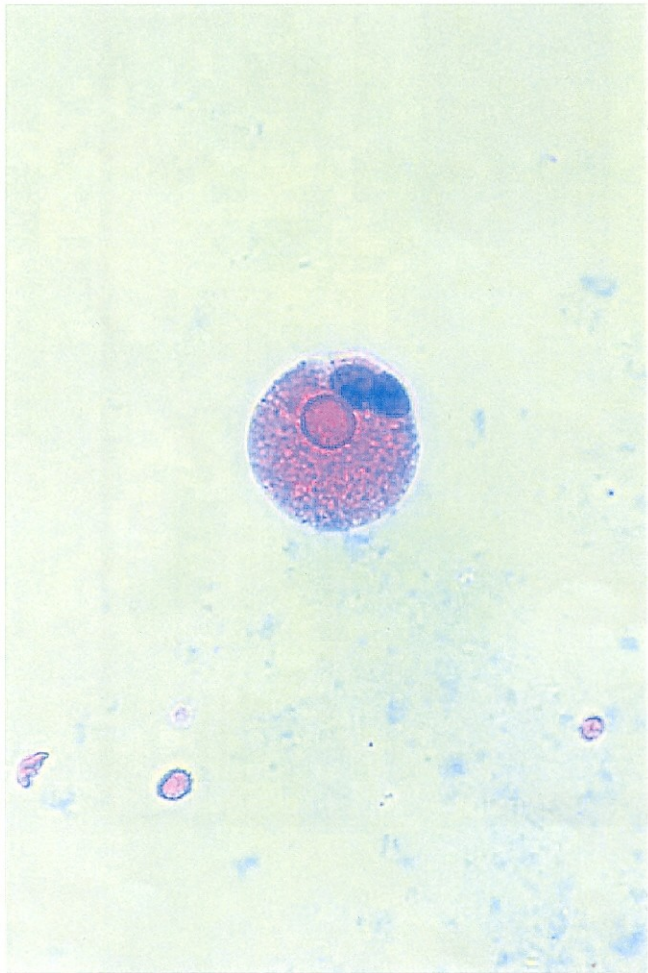
3a



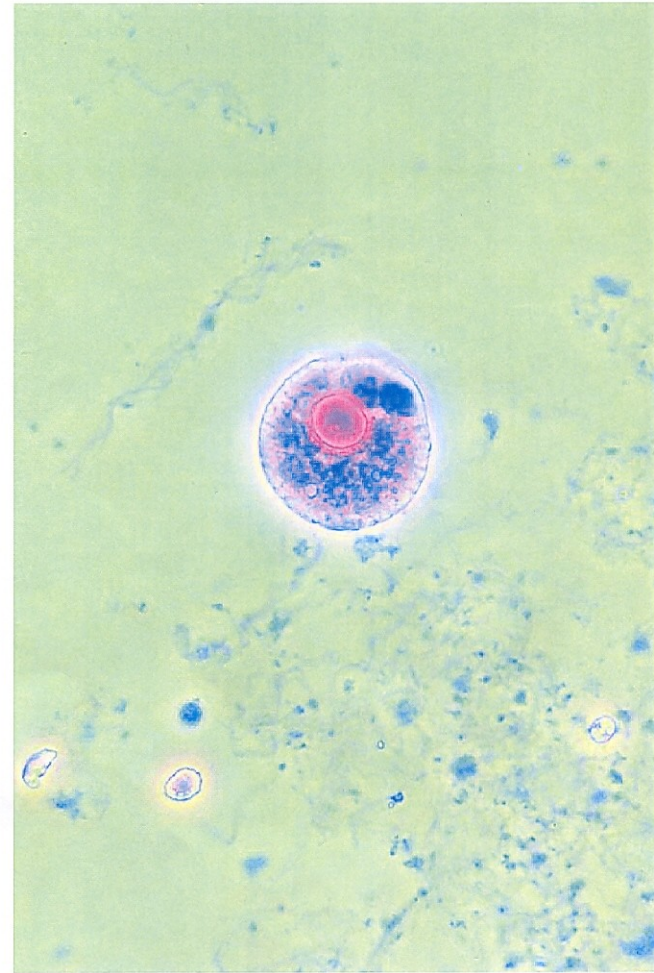
3b

Lymfocyt (šipka) - téměř celá buňka je vyplněna jádrem Erytrocyty





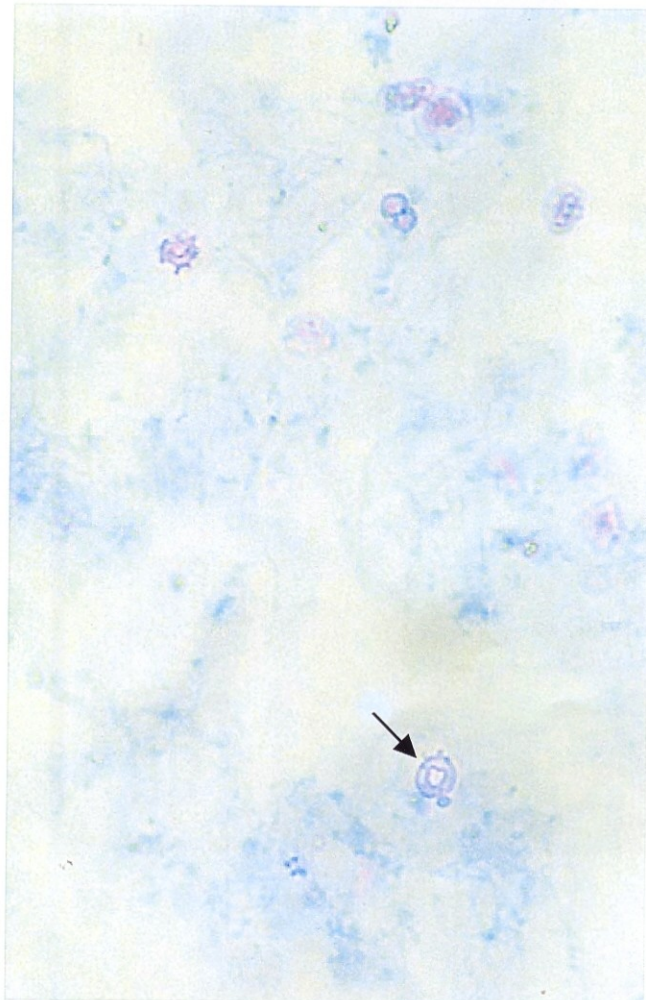
4a



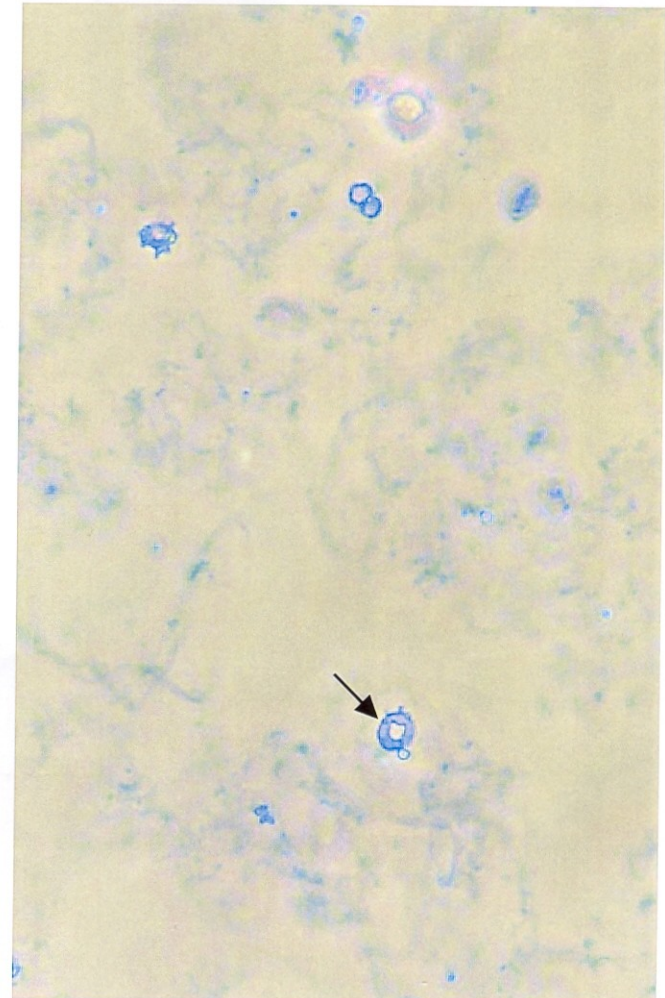
4b

Makrofág, Ery

V jádře je často vidět nepravidelný chromatin.



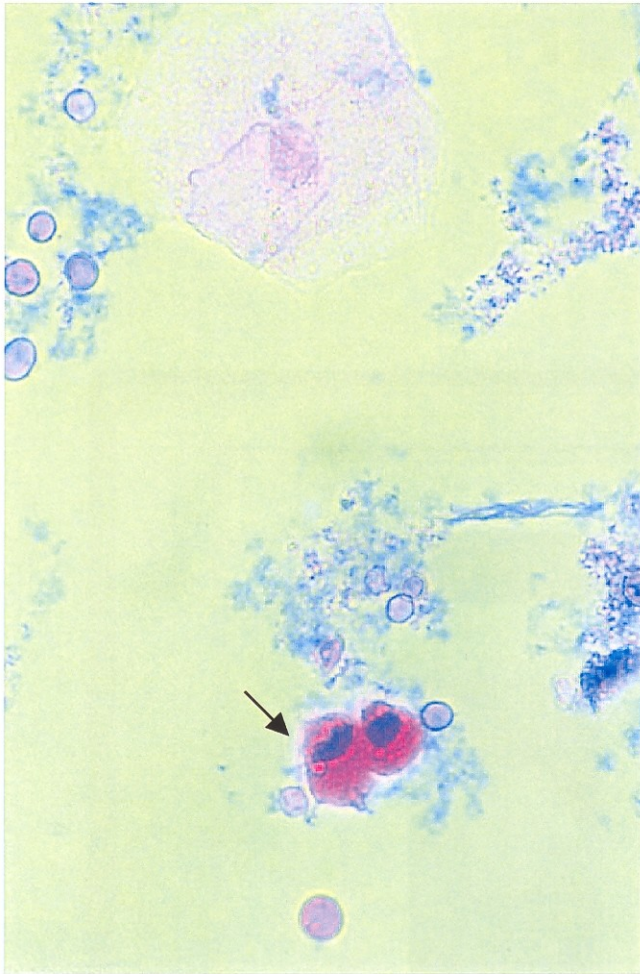
6a



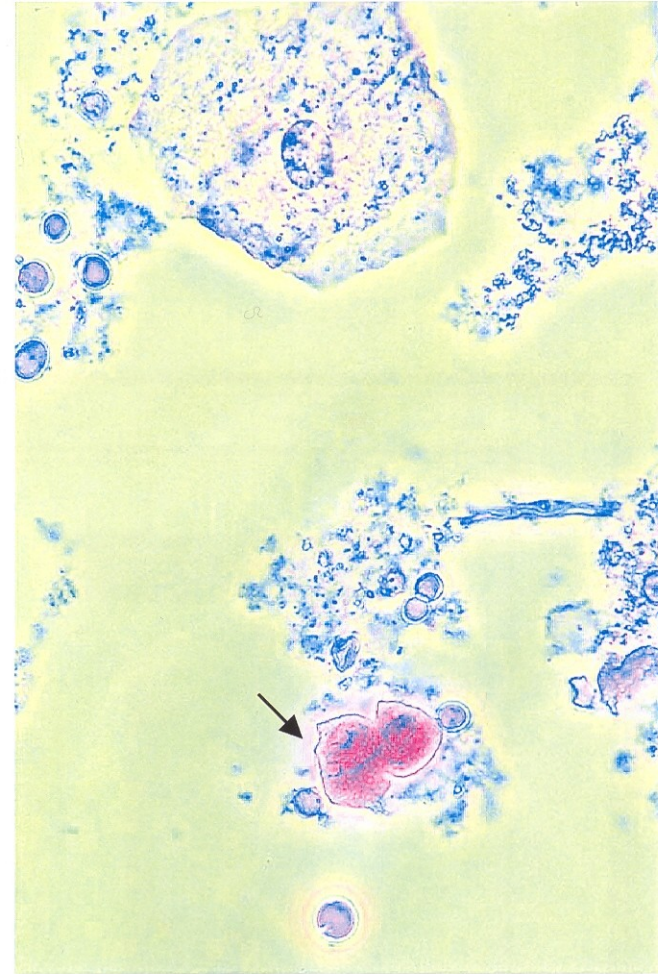
6b

Močové akantocyty (šipka) - dysmorfní erythrocyty - puchýřky pučící z buněčného povrchu. Podíl 5% akantocytů či větší - renální původ krvácení.





7a

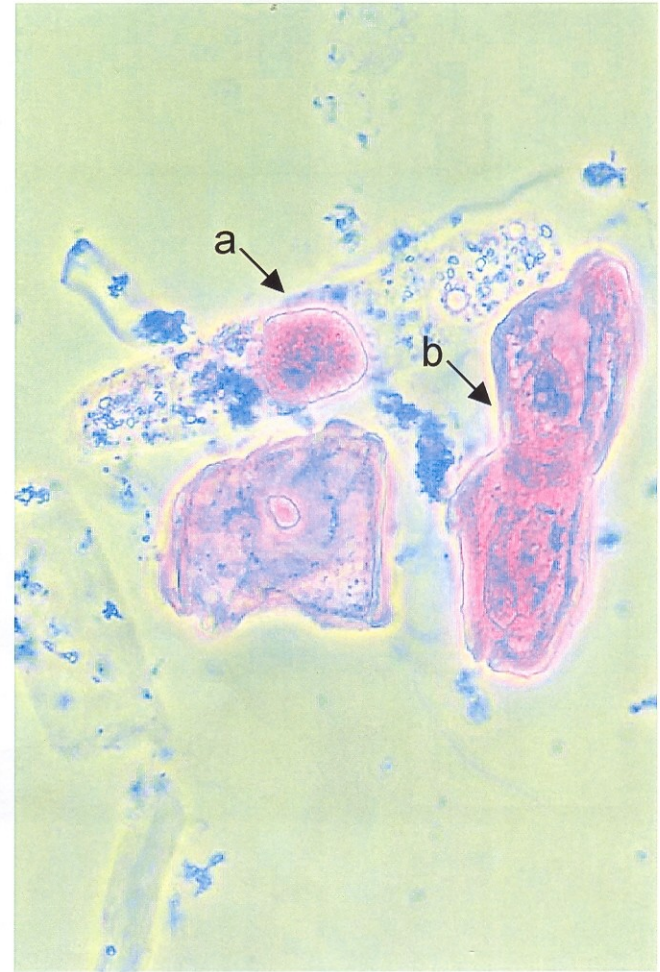


7b

Buňka dlaždicového epitelu a dvě tubulární buňky (šipka) ukazují rozdíl ve velikosti.



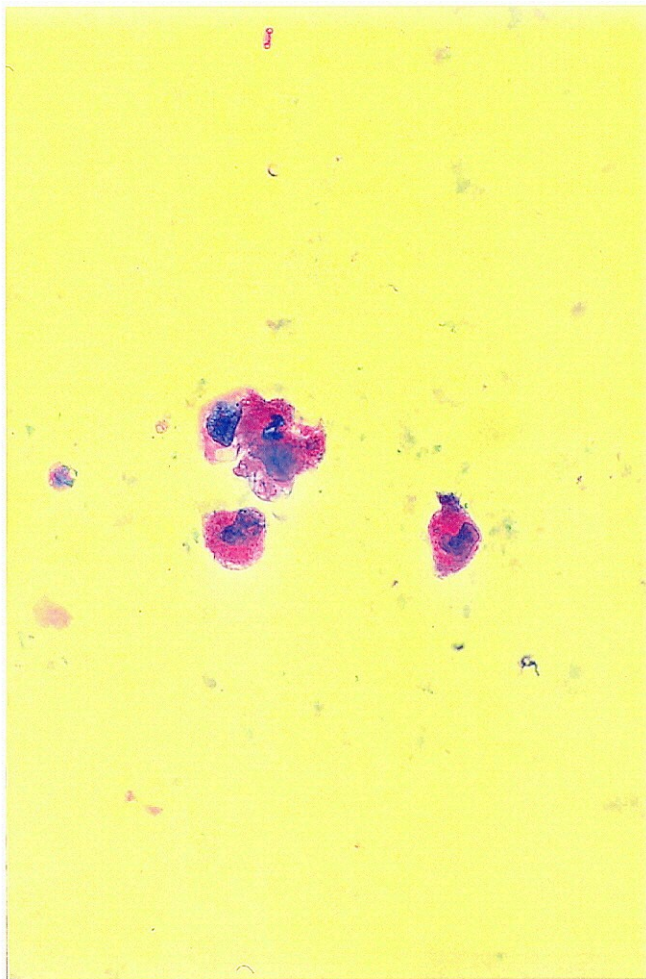
8a



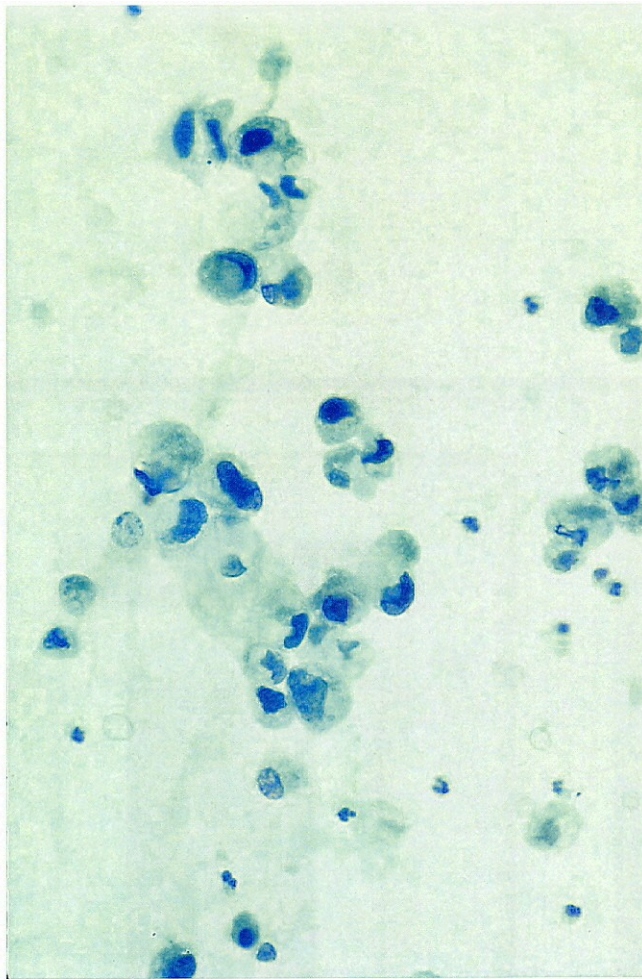
8b

Rozdíl mezi buňkou tubulárního epitelu (šipka a) ( granul. cytoplazma uvnitř hyal. válce), buňkami přechodného epitelu (šipka b) (jemně granulované, jasné jádro) a velkou buňkou dlaždicového epitelu (světlá cytoplazma, degenerované jádro)



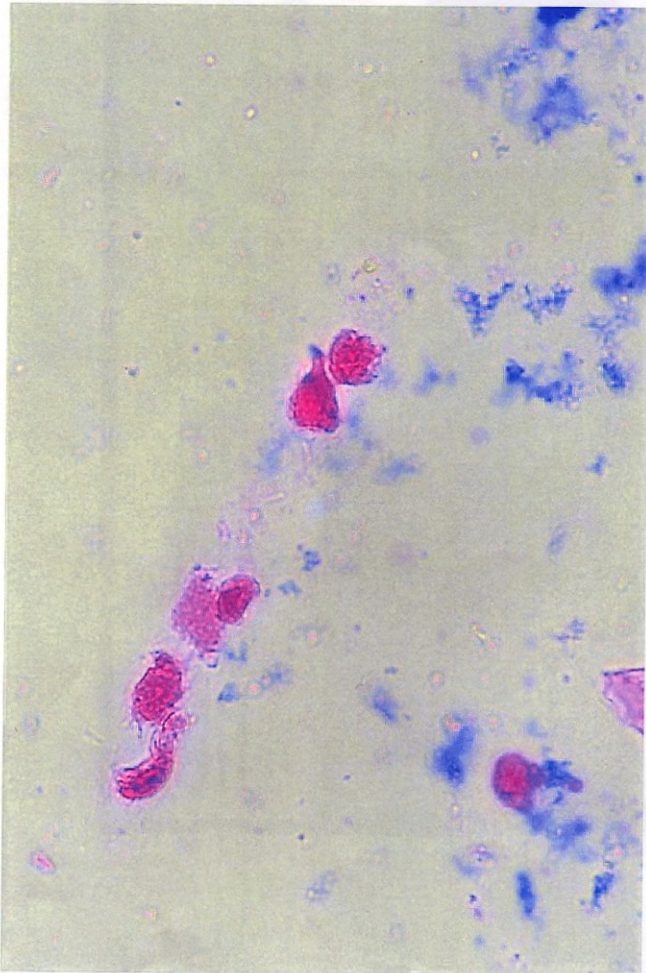


11a

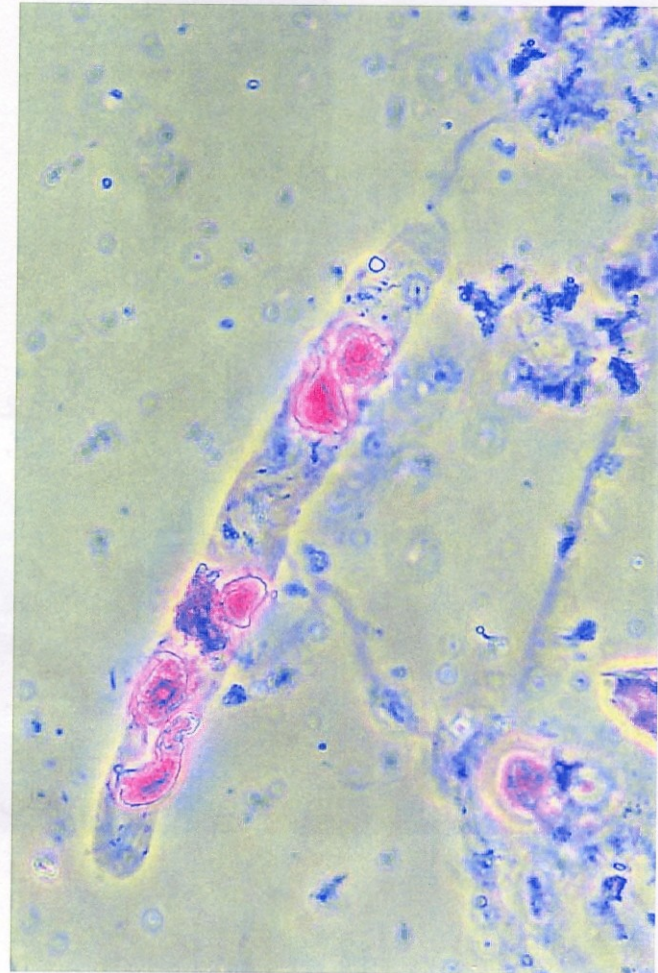


11b

Karcinom buněk přechodného epitelu s atypickými epitelovými buňkami



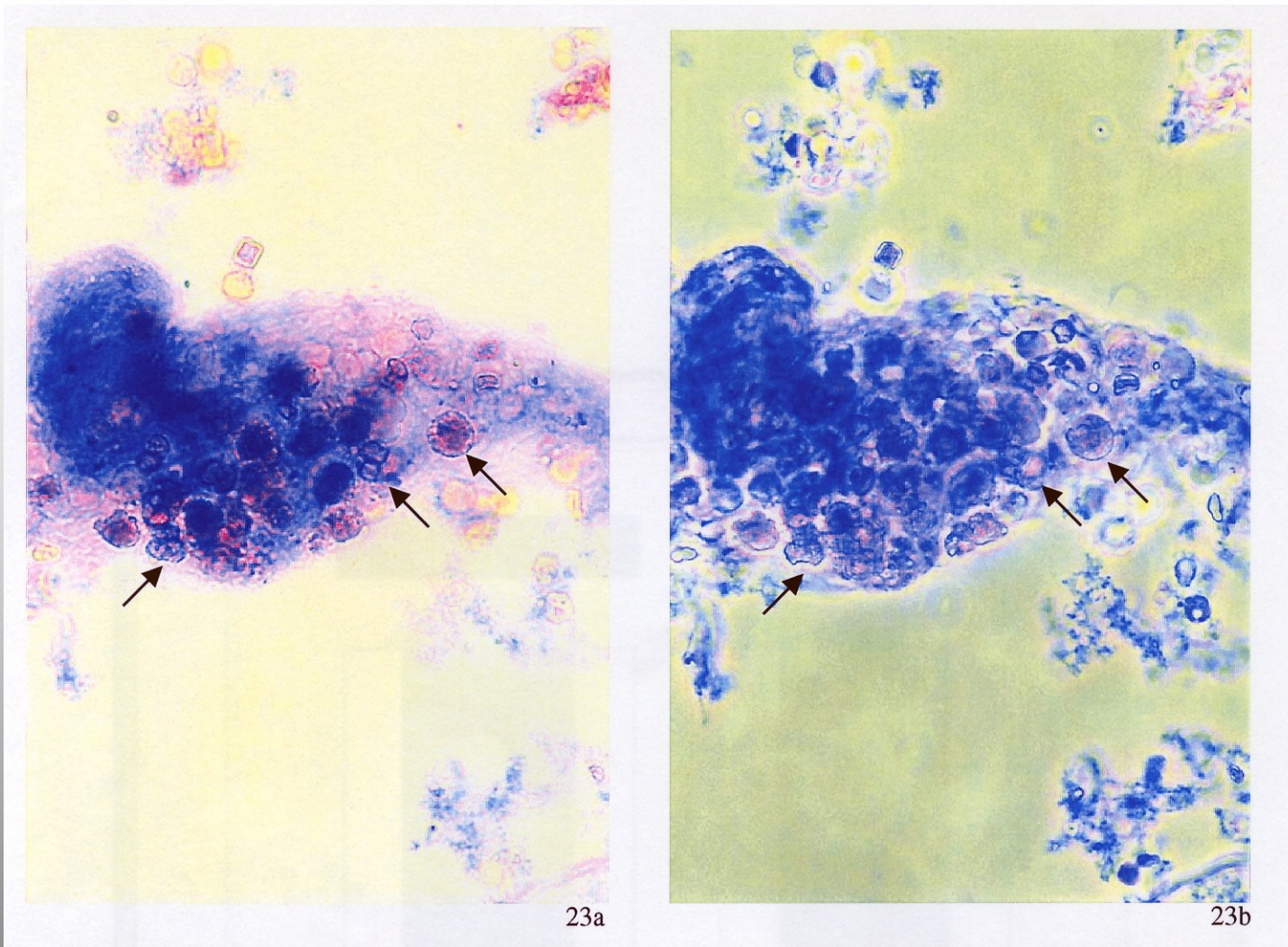
16a



16b

Buňky tubulárního epitelu uvnitř hyalinního válce



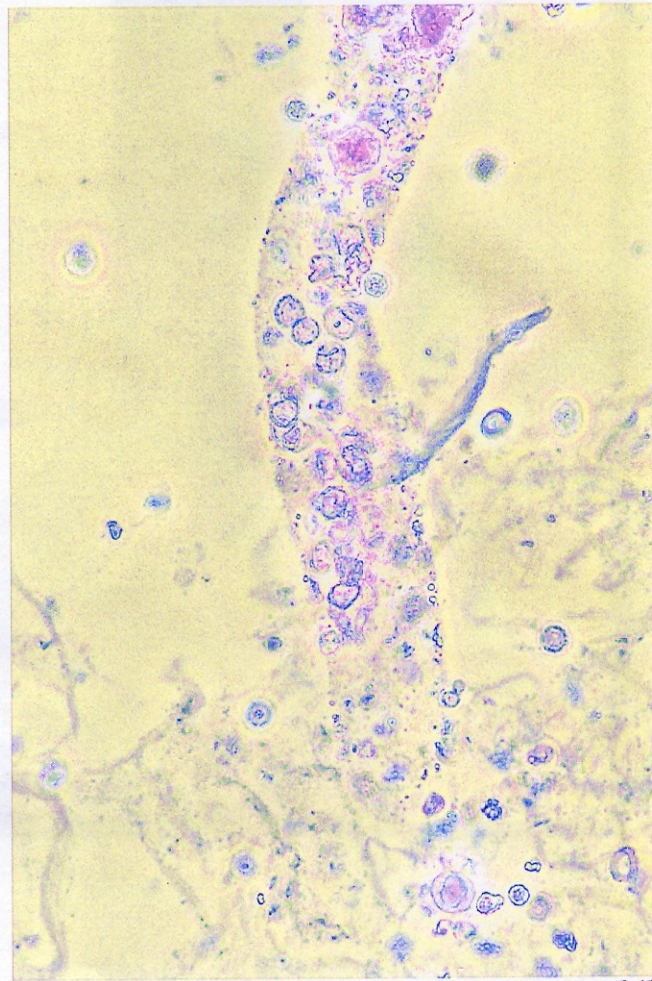


Válec Ery, granulocyty - erytrocyty, granulocyty (šipka)  
(segmentovaná jádra)





24a

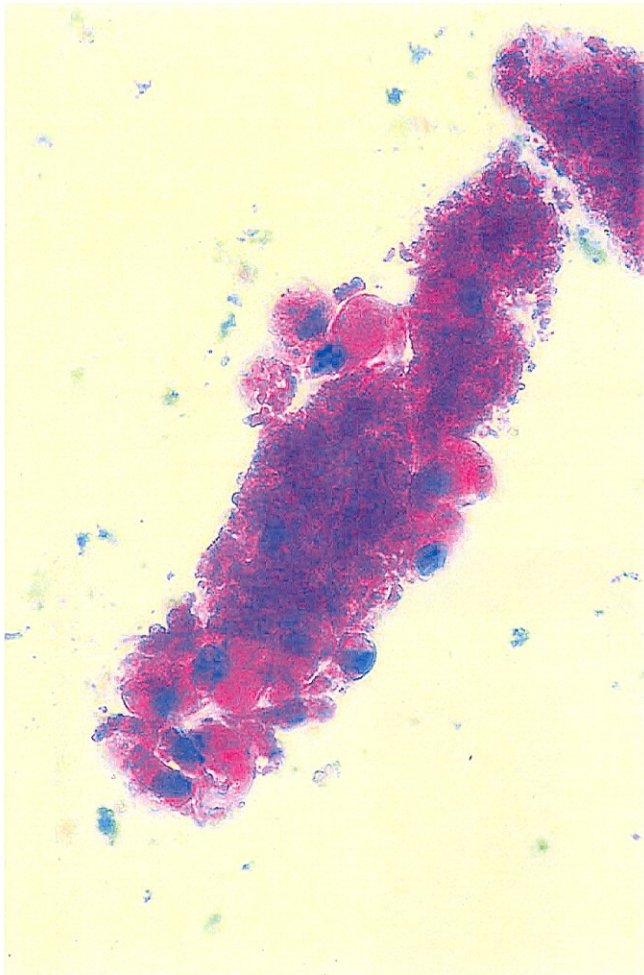


24b

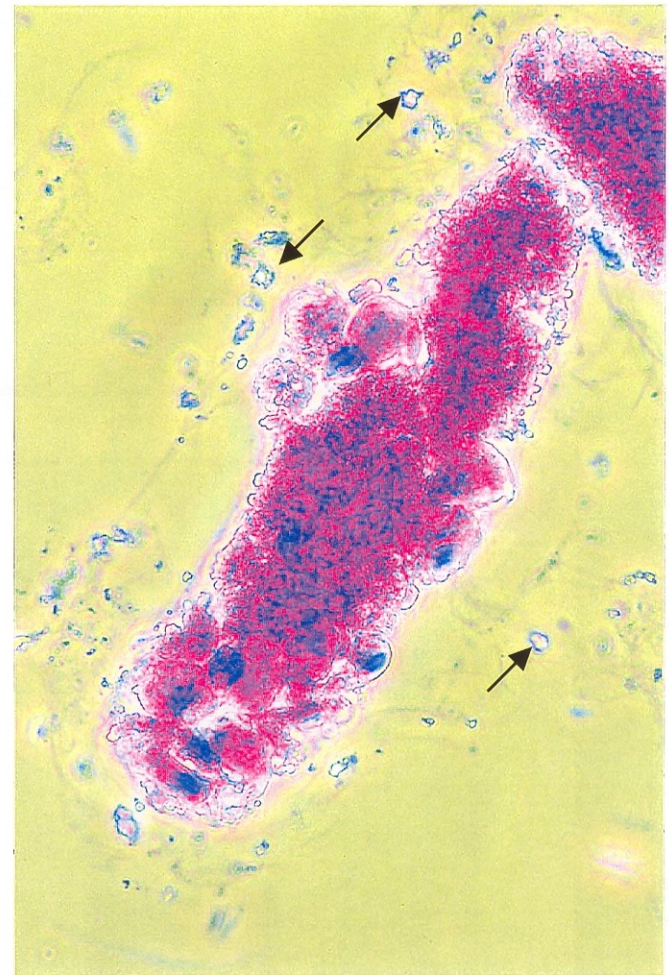
Válec s erythrocyty - renální hematurie

Rozdílnosti ve velikosti a tvaru mezi erythrocyty, dysmorfie





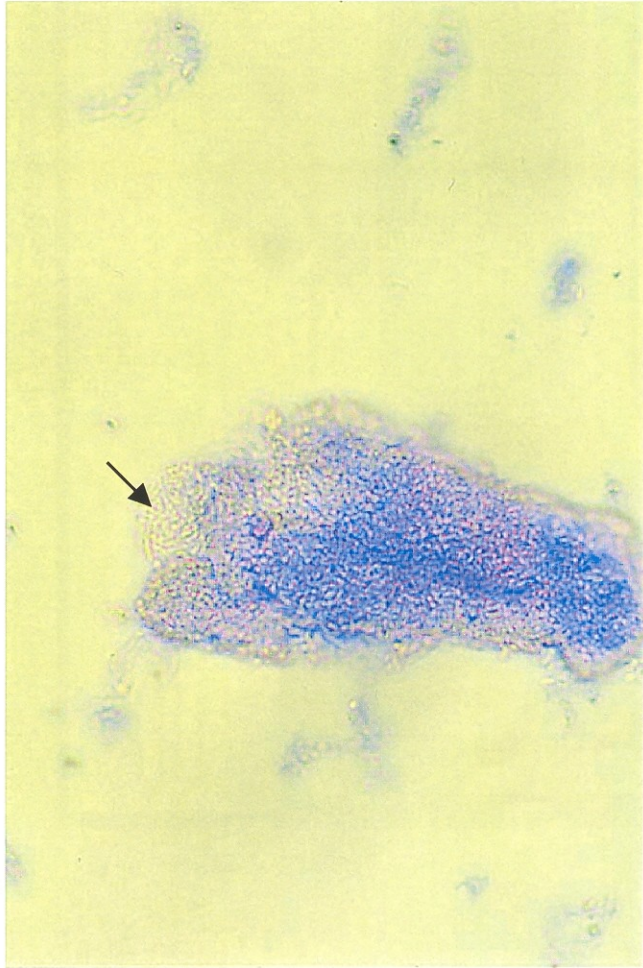
25a



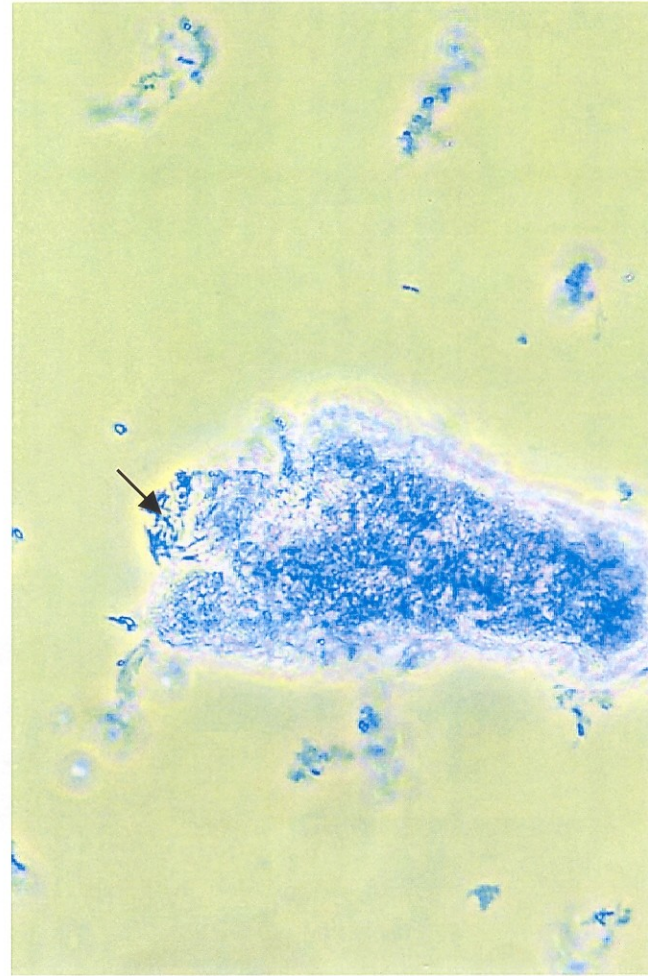
25b

Válec z renálních tubulárních buněk

Několik červených krvinek (šipka) vně válce



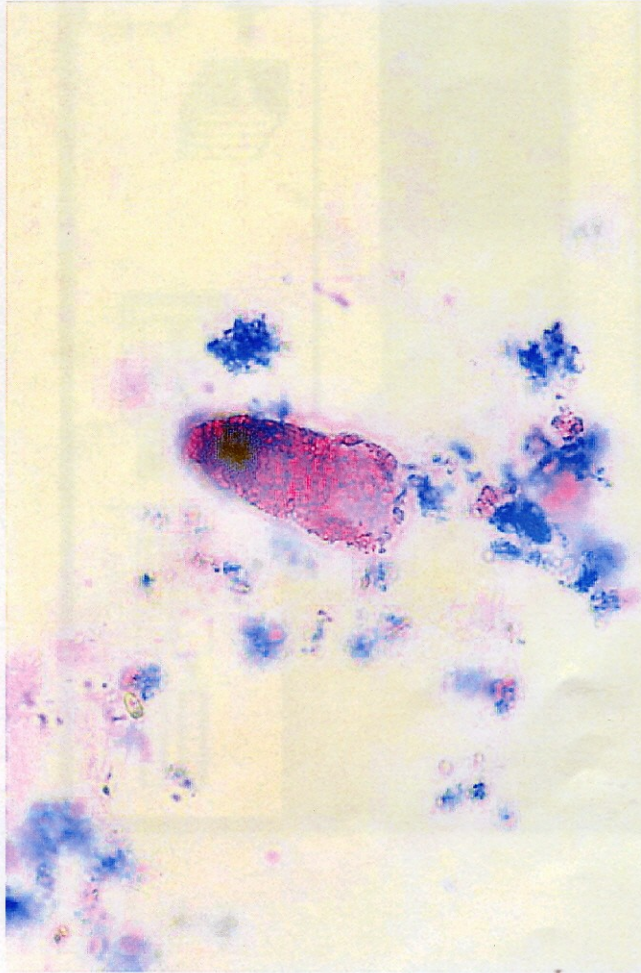
26a



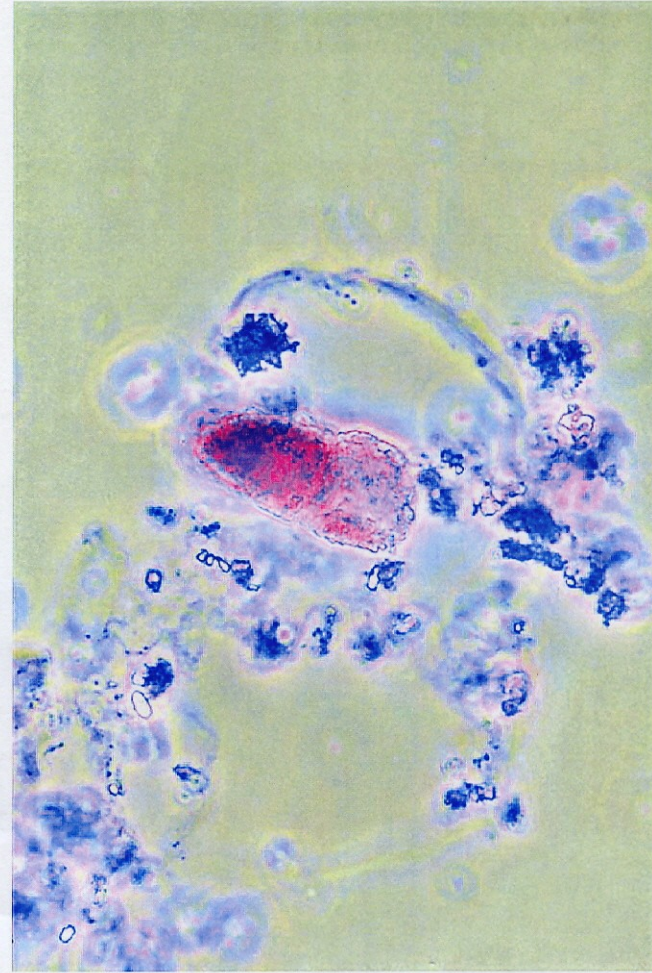
26b

Bakteriální válce - bakterie infikovaly ledviny. Pozor na záměnu s granulovaným válcem. Jasně tyčky (šipka) na jednom konci válce.





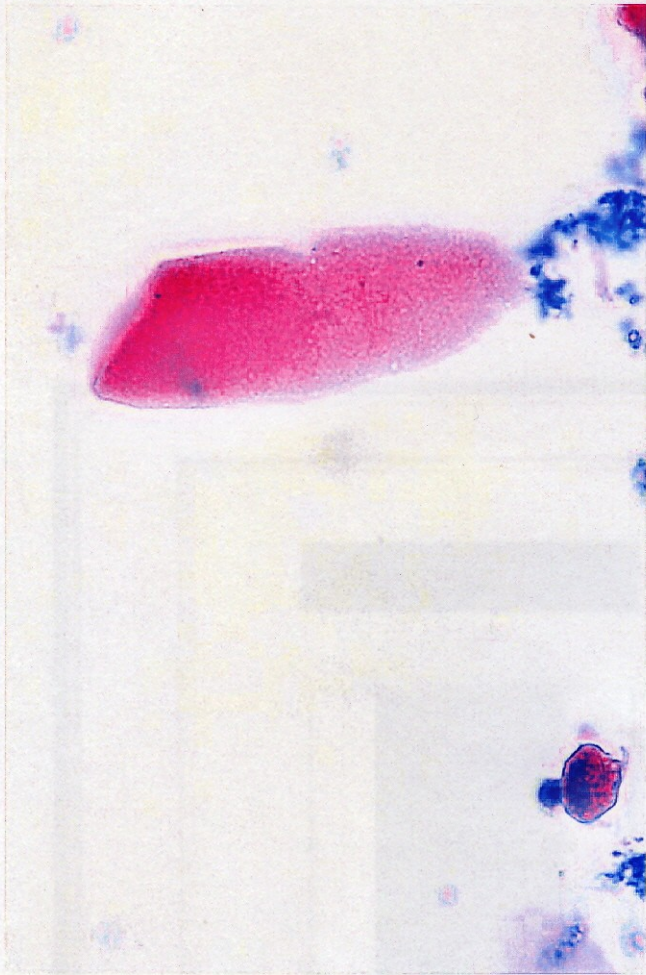
18a



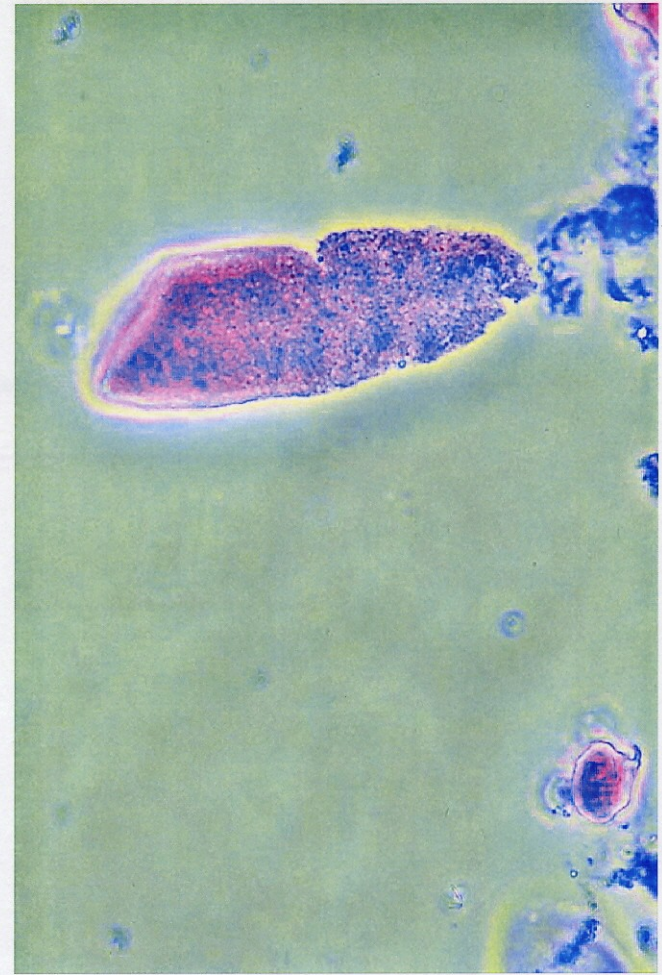
18b

Granulovaný válec - degenerace buněk— granulární srážení nebuněčného organického materiálu v renálním tubulu. Tubulární buňka již nemá plazmat. membránu.





21a



21b

Voskový válec s ulomeným koncem





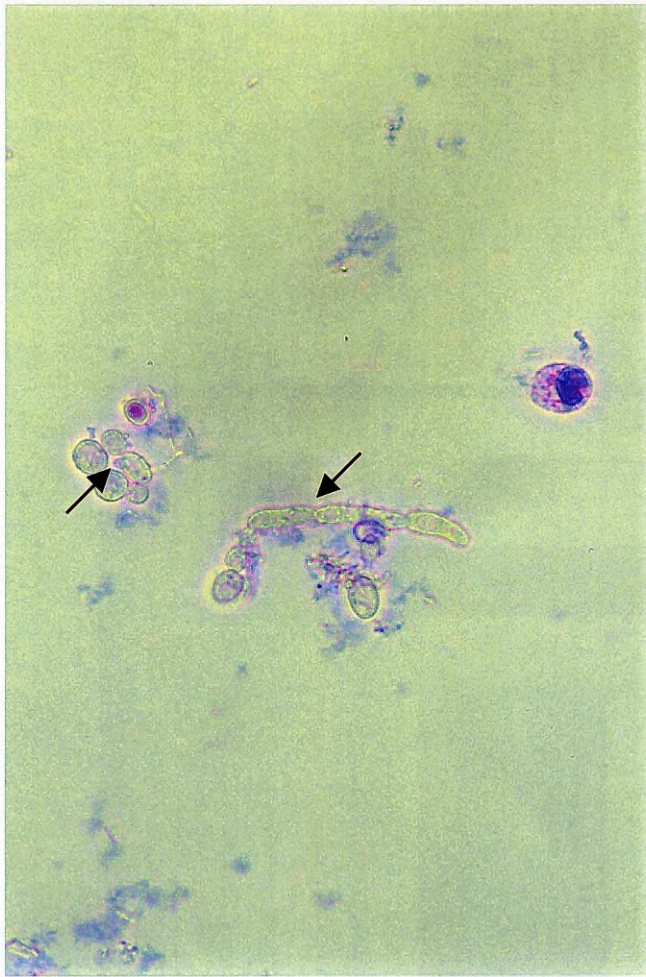
28a



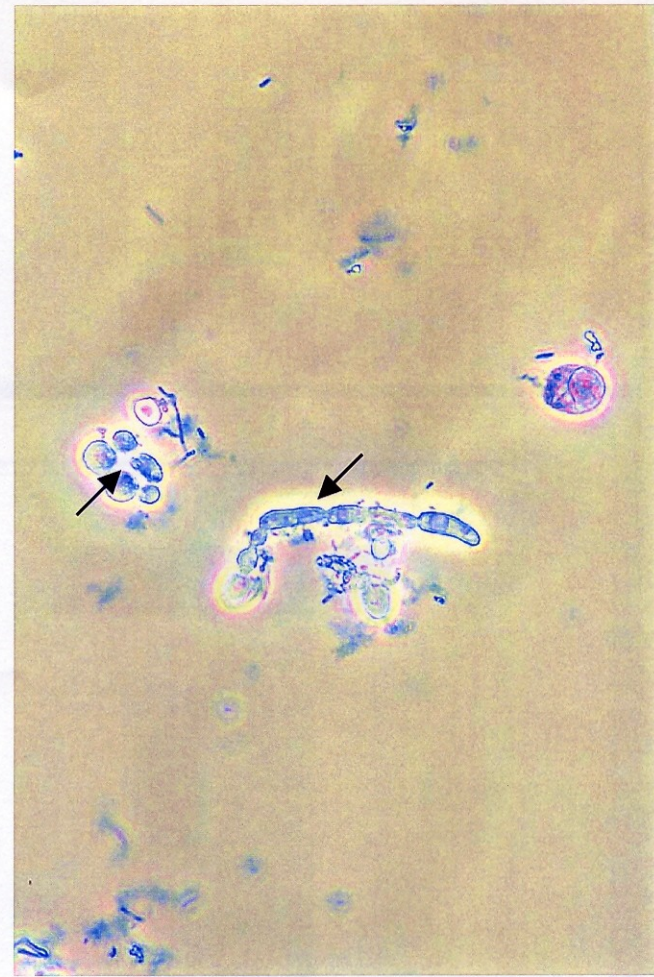
28b

Kousek toaletního papíru  
Ostré hrany a zalomené konce





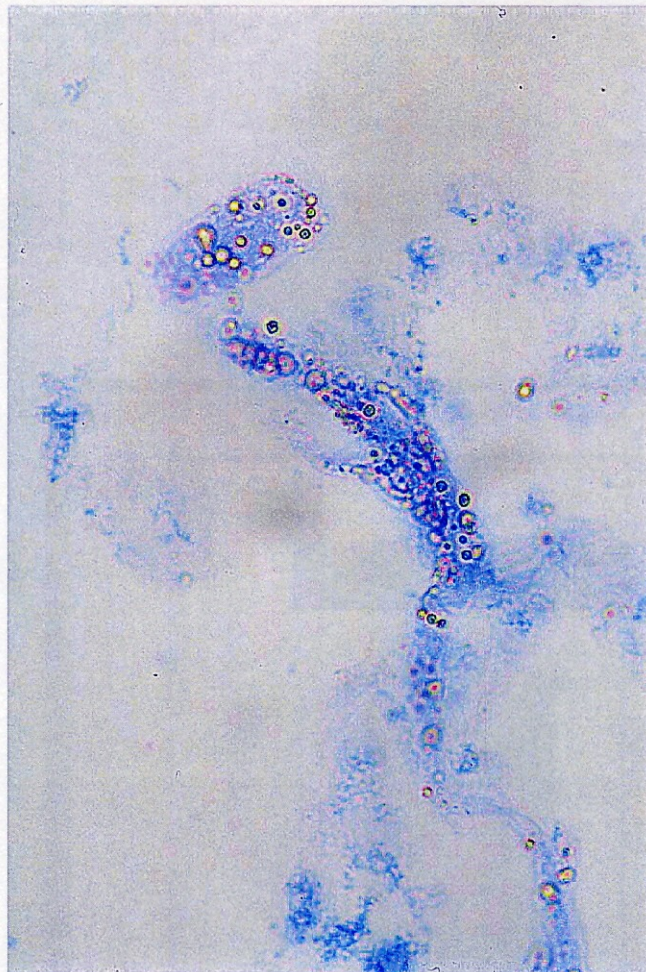
27a



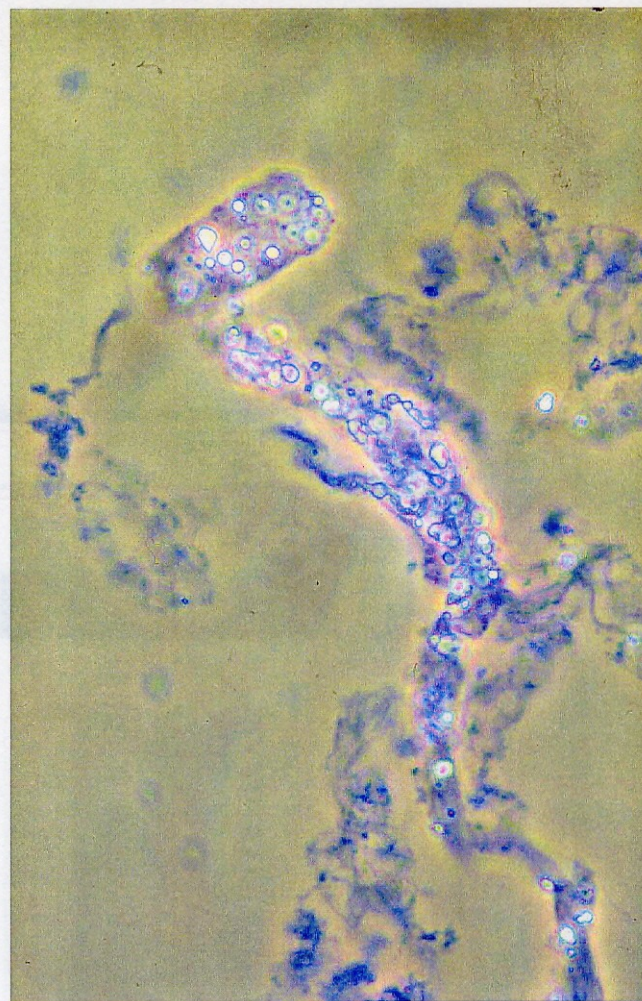
27b

Bakterie a buňky kvasinek (šipka)





29a



29b

Tukový válec - kapénky tuku - ve fázovém kontrastu jako světlé skvrny - lipidurie (obvykle naznačující glomerulární chorobu)

## **E-learning: Databáze Mikroskopické analýzy moče**

- Mikroskopické nálezy barveného sedimentu
- Mikroskopické nálezy nativního sedimentu
- Nálezy z automatického analyzátoru iQ 200

<http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/js15/mikroskop/web/index.html>