Badania wykonywane w pracowni

Badanie ogólne moczu – to jedno z podstawowych badań diagnostycznych, wykonywane w celach przesiewowych, diagnostycznych i kontrolnych. Stosowane w diagnostyce chorób nerek i układu moczowego oraz nieprawidłowości przemian metabolicznych organizmu, zwłaszcza związanych z chorobami wątroby i z cukrzycą; kontrolnie w monitorowaniu chorób przewlekłych nerek, przesiewowo w badaniach okresowych, kwalifikacji do znieczulenia. Jest szybkie, nieinwazyjne.

Badanie składa się z trzech głównych etapów:

1. Ocena fizyczna, czyli to, co widać „gołym okiem": barwa, przejrzystość, zapach czy pienienie się próbki. Może dawać pierwsze wskazówki o np. infekcji czy obecności krwi.
2. Ocena chemiczna- czyli parametry, które wykrywamy głównie metodą fotometrii refleksyjnej. Zaliczamy tutaj parametry takie jak: pH, ciężar właściwy, białko, glukoza, ciała ketonowe, urobilinogen, krew, azotyny, leukocyty oraz kwas askorbinowy. Ta część pozwala wykryć infekcje/ cukrzycę czy problemy z nerkami.
3. Ocena mikroskopowa, czyli analiza składu moczu pod mikroskopem. W tej części sprawdza się obecność: erytrocytów, leukocytów, komórek nabłonkowych, wałeczków, kryształów, bakterii, drożdży czy śluzu. To kluczowy element badania w diagnostyce zakażeń czy chorób nerek.

Nieprawidłowe wyniki badania wskazują na ryzyko: zespołu nerczycowego, stanów zapalnych nerek lub zakażenia bakteryjnego dróg moczowych. Obecność leukocytów, erytrocytów lub azotynów w moczu, stwierdzana jest w stanach zapalnych i infekcjach dróg moczowych. Obecność erytrocytów może wskazywać na skazę krwotoczną lub kamicę nerkową. Obecność glukozy, bilirubiny, ketonów i urobilinogenu stanowi cenną informację o zaburzeniach metabolicznych i fizjologicznych organizmu w cukrzycy, chorobach wątroby, niedokrwistości hemolitycznej oraz zaburzeniach gospodarki lipidowej.

Przygotowanie do badania moczu:

1. Próbkę moczu pobieramy do jałowego pojemnika na mocz.
2. Na 24 godziny przed pobraniem moczu do badania powinniśmy zrezygnować z kilku produktów. Należą do nich:
   - suplementacja witaminy C, a także produkty zawierające wysoką jej ilość (np. cytrusy), w tym także soki owocowe,
   - produkty silnie barwiące mocz, np. buraczki, rabarbar, aloes czy szparagi,
   - produkty zawierające szczawiany, czyli np. szczaw, szpinak czy rabarbar,
   - słodycze w dużych ilościach (przy zaburzeniach odżywiania związanymi z kompulsywnym objadaniem słodyczami),
   - zaleca się, aby po godz. 22 wieczorem nie pić więcej niż jedną szklankę wody, a wieczorem - normalnie, tak jak zwykle pijemy.
   - alkohol
3. Na dzień przed pobraniem moczu do badania należy unikać długotrwałej pozycji stojącej i dużego wysiłku fizycznego. Badanie należy wykonać po spoczynku nocnym (nie po imprezie czy nocnej zmianie w pracy)
4. Na dzień przed pobraniem moczu do badania należy zrezygnować z aktywności seksualnej.
5. Schemat postępowania podczas pobierania moczu:
   a. Przygotować pojemnik na mocz
   b. Umyć ręce wodą z mydłem
   c. Umyć okolice intymne ciepłą wodą
   d. Początkową część strumienia moczu oddać do toalety

e. Środkową część strumienia moczu oddać do pojemnika na mocz (⅓ lub pół kubeczka wystarczy)
f. Końcową część strumienia oddać do toalety
g. Zakręcić pojemnik z pobraną próbką moczu i podpisać imieniem i nazwiskiem i godziną pobrania (można też dodatkowo zabezpieczyć przed rozlaniem)
h. Dostarczyć w ciągu dwóch godzin do punktu pobrań. Jeśli nie mamy możliwości dowieść tej próbki w tym czasie to taki pojemnik można przechowywać w temperaturze lodówki do 4 godzin.

Parametry raportowane na wyniku oraz metody oznaczania

Parametr	Opis	Metoda oznaczenia
BADANIE OGÓLNE MOCZU		
COL	BARWA	Fotometria refleksyjna
CLA	KLAROWNOŚĆ	Turbidymetria
SG	CIĘŻAR WŁAŚCIWY	Refraktometria
LEU	LEUKOCYTY	Fotometria refleksyjna
NIT	AZOTYNY	Fotometria refleksyjna
PH	PH odczyn	Fotometria refleksyjna
PRO	BIAŁKO	Fotometria refleksyjna
GLU	GLUKOZA	Fotometria refleksyjna
KET	CIAŁA KETONOWE	Fotometria refleksyjna
URO	UROBILINOGEN	Fotometria refleksyjna
BIL	BILIRUBINA	Fotometria refleksyjna
BLD	KREW	Fotometria refleksyjna
VITC	WITAMINA C	Fotometria refleksyjna
BADANIE OSADU MOCZU		
N-PLAS	Nabłonki płaskie	Mikroskopia automatyczna
LEUKOCYTY	Leukocyty	
ZLEPYL	Skupiska leukocytów	
ERYT-SW	Erytrocyty świeże	
ERYT-W	Erytrocyty wyługowane	
W-SZKL	Wałeczki szkliste	
W-ZIA	Wałeczki ziarniste	
W-INNE	Wałeczki niesklasyfikowane	
BAKTP	Bakterie	
BAKTZ	Bakterie	
KRYSZ	Kryształy	
KRY-BPO	Kryształy bezpostaciowe	
SLUZ	Pasma śluzu	
DROZD	Drożdże	

Zasada metody:

Fotometria refleksyjna - na pole reakcyjne znajdujące się na pasku testowym nakrapiana jest próbka badanego moczu. Na każdym polu zachodzi reakcja enzymatyczna lub chemiczna, która powoduje zmianę barwy tego pola. Stopień zmiany barwy jest proporcjonalny do stężenia każdego ze składników moczu. Analizator odczytuje zmianę barwy pól na pasku testowym. Światło odbite od pola jest analizowane i przeliczane na wynik.

Turbidymetria - to metoda polegająca na ocenie zmętnienia roztworu, które powstaje w wyniku obecności nierozpuszczalnych cząstek. Im więcej elementów upostaciowanych w moczu tym większe zmętnienie. Analizator mierzy spadek natężenia światła przechodzącego przez próbkę. To właśnie ten spadek jest proporcjonalny do stężenia elementów upostaciowanych w moczu, czyli do jego zmętnienia.

Refraktometria - metoda polegająca na pomiarze współczynnika załamania światła w próbce. Gdy światło przechodzi z jednego ośrodka do drugiego (np. z powietrza do moczu), ulega załamaniu. Im więcej substancji rozpuszczonych w próbce, tym większe załamanie światła. Analizator mierzy ten efekt (współczynnik załamania światła RI) i na jego podstawie wyliczany jest ciężar właściwy moczu.

Mikroskopia automatyczna - metoda polega na rejestracji obrazów cyfrowych i konwersji różnych widocznych uformowanych elementów moczu do postaci cyfrowej. Następnie obrazy wysyłane są do oprogramowania analitycznego, które wydobywa przydatne obiekty na obrazach. Upostaciowane elementy podlegają identyfikacji oraz zliczeniu i automatycznie generowany jest wynik analizy.

<u>Ograniczenia metody:</u>

Turbidymetria:

- Stabilność zawiesiny (cząsteczki opadają w czasie, wynik zależy od momentu pomiaru, mocz musi być dokładnie wymieszany przed pomiarem).
- Wrażliwość na warunki reakcji (na pomiar mają wpływ pH czy temperatura).
- Ograniczony zakres liniowości (przy bardzo wysokich zmętnieniach dochodzi do tzw. „przesycenia" sygnału, co powoduje, że zależność przestaje być liniowa i konieczne może okazać się rozcieńczenie próbki).

Refraktometria:

- Zafałszowanie przy obecności dużych cząsteczek (białkomocz, glukozuria, czy środki kontrastowe po badaniach obrazowych mogą znacznie zawyżyć wynik).
- Wpływ temperatury (współczynnik załamania światła zależy od temperatury. Brak odpowiedniej kompensacji może fałszować ostateczny wynik).
- Mniejsza dokładność przy niskich stężeniach (przy bardzo rozcieńczonym moczu wynik może być mniej precyzyjny).

Mikroskopia automatyczna:

- Błędy w rozpoznawaniu elementów system opiera się na algorytmach, zatem (szczególnie przy nietypowym obrazie) może mylić i błędnie klasyfikować podobne struktury.
- Ograniczona baza wzorców (analizator rozpoznaje tylko to, czego „został nauczony". Rzadkie lub nietypowe elementy mogą zostać nierozpoznane lub zaklasyfikowane jako „inne")
- Gorsza ocena jakościowa (trudniej ocenić szczegóły morfologiczne upostaciowanych elementów moczu).
- Wpływ jakości próbki (zbyt duża liczba elementów może utrudniać analizę obrazu).

Fotometria refleksyjna:

- Półilościowy charakter wyniku (wynik podawany jest w zakresach (np. +,++,+++), nie ma dużej precyzji w porównaniu do metod ilościowych).
- Interferencje chemiczne (różne substancje mogą zaburzać reakcje na pasku, np. kwas askorbinowy, leki i ich metabolity, silne utleniacze).
- Zależność od pH i gęstości moczu (skrajne pH i wysoki ciężar właściwy mogą wpływać na niektóre parametry).
- Ograniczona swoistość niektórych testów (np. pole na obecność krwi wykrywa hemoglobinę/ mioglobinę, a nie tylko erytrocyty).
- Barwa moczu (intensywnie zabarwiony mocz może zaburzać prawidłowy odczyt z pól reakcyjnych).

Komentarze na wynikach badań:

Ze względu na sporą liczbę ograniczeń stosowanych metod, na raportach z badań, w których rezultat części ogólnej badania moczu nie pokrywa się z wynikiem badania osadu moczu mogą pojawić się **komentarze** do wyniku. **Ich zadaniem jest zwrócenie szczególnej uwagi lekarza na rozbieżności spowodowane ograniczeniami stosowanych metod:**

- Niezgodność wyniku badania na obecność krwi na pasku testowym i erytrocytów w badaniu osadu moczu może być spowodowana lizą krwinek w środowisku hipotonicznym/zasadowym, obecnością hemoglobiny, mioglobiny lub obecnością substancji interferujących o charakterze utleniającym oraz peroksydaz bakteryjnych bądź nieprawidłowym zbyt długim transportem.
- Ujemny wynik badania na obecność krwi na pasku testowym może być spowodowany interferencją kwasu askorbinowego lub innych substancji o charakterze redukującym.
- Ujemny wynik badania na obecność azotynów na pasku testowym może być spowodowany obecnością szczepu bakterii nieposiadających reduktazy azotynowej, zbyt małą podażą azotanów w diecie, zbyt krótką inkubacją moczu w pęcherzu moczowym, interferencją kwasu askorbinowego, powtórnym przekształceniem przez bakterie azotynów w azotany lub antybiotykoterapią/chemioterapią.
- Niezgodność wyniku badania na obecność leukocytów na pasku testowym i w osadzie moczu może być spowodowana lizą krwinek w środowisku hipotonicznym/zasadowym lub obecnością substancji interferujących w reakcji na pasku.
- Ujemny wynik badania na obecność leukocytów na pasku testowym może być spowodowany obecnością limfocytów w moczu, interferencją kwasu askorbinowego lub innych substancji o charakterze utleniającym, a także wysokim stężeniem glukozy i białka oraz w próbkach nadmiernie rozcieńczonych.

Krew utajona w kale - to krew znajdująca się w stolcu w tak niewielkich ilościach, że nie zmienia ona jego barwy ani konsystencji w sposób zauważalny. Pojawia się w wyniku mikro krwawień z dowolnego odcinka układu pokarmowego – od przełyku i żołądka, aż po jelito grube. Krew utajona jest **markerem, który informuje o naruszeniu ciągłości błony śluzowej**. Może być ona wynikiem drobnych urazów, stanów zapalnych, polipów, a także zmian nowotworowych. Badanie jest traktowane jako jedna z metod przydatnych w rozpoznawaniu nowotworów jelita grubego. Badanie polega na analizie próbki kału pod kątem obecności hemoglobiny. Współczesna diagnostyka odeszła od zawodnych testów chemicznych na rzecz precyzyjnych metod immunochemicznych, charakteryzujących się wysoką czułością i swoistością dla krwi ludzkiej.

Helicobacter pylori antygen w kale - Helicobacter pylori jest Gram-ujemną bakterią o spiralnym kształcie gnieżdżącą się w błonie śluzowej żołądka. Zakażenie wywołane Helicobacter pylori może powodować stan zapalny błony śluzowej, doprowadzając do choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy, a także zwiększa ryzyko powstania raka żołądka. Do klinicznego rozpoznania zakażenia Helicobacter pylori służą metody inwazyjne, (wymagające pobrania wycinka błony śluzowej za pomocą endoskopu) i nieinwazyjne (badanym materiałem jest krew, ślina, kał lub wydychane powietrze). Podczas przebiegu zakażenia wywołanego przez zlokalizowane w nabłonku żołądka pałeczki H. pylori może dochodzić do znacznej koncentracji antygenu tej bakterii w kale. Obecność antygenów H. pylori w kale jest wskaźnikiem aktualnego zakażenia tymi bakteriami, natomiast zanik świadczy o skutecznej eradykacji drobnoustrojów.

Giardia lamblia antygen w kale – pierwotniak z grupy wiciowców, wywołujący jedną z najczęściej występujących chorób pasożytniczych u ludzi, psów i kotów – giardiozę. Przyczepiony specjalną przyssawką pasożytuje u ssaków na komórkach nabłonkowych jelita lub pęcherzyka żółciowego. Jest częstą przyczyną dolegliwości żołądkowo-jelitowych występujących u osób zarówno w krajach wysoko jak i słabo rozwiniętych gospodarczo. Giardia jest związana ze spożyciem zakażonej wody, z kontaktem z zakażonym człowiekiem, z ostatnio odbytą podróżą zagraniczną, pływaniem relaksacyjnym. Giardia może występować w dwóch postaciach - jako trofozoit, czyli forma dorosła oraz jako cysta. Do zakażenia dochodzi poprzez spożycie cyst znajdujących się w glebie, wodzie lub pokarmie. Pobrany

drogą pokarmową pasożyt zostaje uwolniony z cysty i może przedostać się do dróg żółciowych, pęcherzyka żółciowego i przewodów wyprowadzających trzustki.

W głównej mierze zasiedla jednak jelito cienkie, lokalizując się przede wszystkim w dwunastnicy. Przyczepia się do powierzchni enterocytów (komórek jelita), uszkadza ich błonę komórkową i prowadzi do apoptozy, czyli śmierci komórek. Skutkuje to wystąpieniem zaburzeń czynności wydzielniczej i chłonnej jelita. Dochodzi do obniżenia wchłaniania cukrów, które pozostają w świetle jelita. Tam przy udziale mikroflory ulegają fermentacji, produkując gaz oraz enterotoksyny bakteryjne. Te ostatnie stymulują wydzielanie jonów chlorkowych, w wyniku czego równowaga osmotyczna w jelicie zostaje zachwiana i organizm zaczyna wydalać do niego wodę, co możemy zaobserwować jako biegunkę. Giardioza u człowieka może przybierać różne formy, dlatego ciężko jednoznacznie określić jak długo trwa. W postaci bezobjawowej zakażenia możemy w ogóle nie zauważyć, a w przewlekłej - z symptomami trzeba borykać się nawet dłużej niż 2-4 tygodnie.

Badanie kału w kierunku pasożytów - Choroby pasożytnicze układu pokarmowego wbrew pozorom nie należą do rzadkości. W Polsce do najczęściej wykrywanych pasożytów jelitowych zaliczają się owsiki, glisty, lamblie i tasiemce. Do zakażenia dochodzi w wyniku niedostatecznego przestrzegania zasad higieny (zbyt rzadkie mycie rąk, jedzenie nieumytych warzyw i owoców) lub kontaktu z odchodami zakażonych zwierząt. Podstawowym badaniem zalecanym w przypadku podejrzenia zakażenia pasożytami jelitowymi jest badanie mikroskopowe kału, które umożliwia wykrycie pasożytów w różnych stadiach rozwojowych (np. jaja, cysty, dorosłe osobniki)

Pobieranie, przechowywanie i przygotowanie próbek kału do badania

1. Kał pobieramy do pojemnika na kał.
2. Materiał pobieramy po opróżnieniu pęcherza moczowego.
3. Kał należy oddać do suchego, czystego naczynia, z którego następnie należy pobrać próbkę do badania w ilości ok. 10 g (wielkości orzech włoskiego).
4. Próbkę należy pobrać z różnych miejsc, ze szczególnym uwzględnieniem miejsc o zmienionym wyglądzie(krew, śluz, inna konsystencja).
5. Pobraną próbkę należy umieścić w pojemniku na kał, szczelnie zamknąć i podpisać imieniem i nazwiskiem oraz wpisać datę i godzinę pobrania.
6. Próbkę kału należy dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godzin od pobrania. Jeśli to niemożliwe można przechować taką próbkę do 24 godzin w temperaturze lodówki.
7. Próbki kału nie powinny być pobierane podczas miesiączki i w czasie 3 dni od jej zakończenia.
8. W przypadku badań w kierunku pasożytów układu pokarmowego próbkę do badania należy pobierać trzykrotnie zachowując odstęp ok. 3-4 dni. Każdą próbkę niezwłocznie dostarczyć do laboratorium.
9. W przypadku wydalenia całego pasożyta bądź jego dużego fragmentu należy umieścić go w czystym pojemniku, w niewielkiej ilości soli fizjologicznej lub czystej wody.

Parametry raportowane na wyniku oraz metody oznaczania

Parametr	Opis	Metoda oznaczania
BADANIE KAŁU		
HELIAG	Antygen Helicobacter pylori w kale	Test immunochromatograficzny
KAL-KRE	Krew utajona w kale	
KAL-LAM	Antygen Giardia lamblia w kale	
KAL-PAS	Pasożyty w kale	Mikroskopowa

Ograniczenia metody immunochromatograficznej

1. Test służy tylko do profesjonalnego użytku do diagnostyki in vitro i powinien być stosowany tylko do jakościowego wykrywania antygenu.

2. Testy wskazują jedynie obecność antygenów w próbce kału i nie powinien być stosowany jako jedyne kryterium diagnostyczne, należy przeprowadzić dalsze badania innym testem diagnostycznym.
3. Wyniki fałszywie ujemne mogą pojawić się w przypadku bardzo niskiego lub bardzo wysokiego poziomu antygenu (efekt Hooka), niewystarczającej objętości próbki, uszkodzenie składników testu pod wpływem ciepła lub wilgoci lub podczas zastępowania składników testu składnikami z innej serii testów (np. bufor)
4. Wyniki fałszywie ujemne mogą być obserwowane u osób będących w trakcie terapii np. leczenie antybiotykami, antagonistami receptora H2, solami bizmutu lub inhibitorem pompy protonowej.
5. Próbki kału ze śluzem lub krwią mogą powodować niespecyficzne reakcje w teście.

Ograniczenia metody mikroskopowej

1. Prawidłowość pobrania przechowywania i transportu materiału.
2. Dokładność pobrania materiału do badania.
3. Doświadczenie i dokładność osoby wykonującej badanie.
4. Poprawność wykonania preparatu.