



F7DIBIOC Biosystém člověka

Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

## VYŠETŘENÍ MOČOVÉ SOUSTAVY

Autor: Ing. Jana Štěpanovská

### CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI

Použití moče při pokusu je spojeno s rizikem přenosu virových onemocnění krví. Při manipulaci s močí je povinné používat rukavice a mechanické pipety.

**NOŠENÍ LABORATORNÍHO PLÁŠTĚ A RUKAVIC JE POVINNÉ!!!**

### TEORETICKÝ ÚVOD

Vyšetření moči je cennou diagnostickou metodou, která umí relativně snadno a rychle odhalit velké množství poruch a chorobných stavů. Moč jako taková nás informuje nejen o stavu a funkci močových cest, ale i o lidském organismu jako celku.

### FYZIKÁLNÍ, CHEMICKÉ A MORFOLOGICKÉ HLEDISKO A VLASTNOSTI

**Zbarvení** moče podmiňuje řada látek, které nejsou dostatečně identifikovány (urochromy, patří mezi ně bilirubin, urobilin, porfyriny a další). Zbarvení moče závisí na dietě, podávání exogenních látek a na přítomnosti nemocí.

**Zápach** moče způsobuje řada známých (kofein, česnek, aceton, amoniak) i dosud neidentifikovaných látek.

**pH** moče je za normálních okolností mezi 5,5 až 6,0 vzhledem k obsahu fosfátů a sulfátů. Extrémně může dosáhnout až 4,0. Vegetariánská strava hodnoty pH zvyšuje. Hodnoty nad 7,0 jsou obvykle spojené s kontaminací moče bakteriemi s ureázovou aktivitou.

**Hustota** moče se pohybuje mezi 1004 až 1030 kg/m<sup>3</sup>. Mezi hustotou a osmolalitou moče je statistický vztah, jehož těsnost však neumožňuje nahradit měření osmolality měřením hustoty.

**Osmolalita** moče závisí na příjmu tekutin a koncentračním úsilí ledvin. Mění se s věkem, je nízká u nedonošených a novorozenců, maximální hodnoty dosahuje v mládí, ve stáří se maximální dosažitelná osmolalita opět snižuje.

**Chemické složení** moče je velmi pestré, závisí na příjmu a produkci různých látek, stavu organismu jako celku a funkci močového ústrojí. Hlavní (z hlediska molární koncentrace) anorganické složky moče tvoří kationy sodné, draselné, vápenaté, hořečnaté, aniony chloridové, hydrogenuhličitanové, fosfátové,

Biomedicínské inženýrství pro znalostní ekonomiku, CZ.02.2.69/0.0/0.0/16\_018/0002242

Modernizace laboratoří pro biomedicínské inženýrství, CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_017/0002244



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



### Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

sulfátové. Dusíkaté látky tvoří urea, kreatinin, kreatin, amoniak, urát, aminokyseliny. Proteiny se do moče dostávají při vysoké náloži patologických proteinů na glomeruly (např. při paraproteinémiích), při poruchách glomerulární membrány, při onemocněních ledvinových tubulů a z vývodných cest močových. Sacharidy se v moči vyskytují volné, dále jako glykoproteiny, mukopolysacharidy a glykopeptidy. Z lipidů se mohou v moči vyskytovat mastné kyseliny, malé množství triglyceridů, fosfolipidů a cholesterolu, vylučování lipidů stoupá u nefrotického syndromu.

**Morfologické součásti** moče tvoří buněčné elementy pocházející z krve nebo tkání urogenitálního traktu, mikrobi, krystaly, válce a další součásti.

#### **Pro správný odběr první ranní moče je nutné:**

- zajistit noční klid pacienta, je doporučen minimálně osmihodinový pobyt na lůžku či vleže
- minimálně jeden den před odběrem by nemělo docházet k sexuálnímu styku (kontaminace – nárůst počtu buněk a koncentrace proteinů)
- neodebírat moč dříve, než po minimálně 4 hodinách stání moči v močovém měchýři, i když byl močový měchýř vyprazdňován dříve během noci (takto získaný vzorek moči obsahuje analyty, částice i elementy v optimální koncentraci a umožňuje též event. časově optimální bakteriální růst v prostředí močového měchýře)
- moč odebírat před snídaní a dalšími aktivitami pacienta
- pacient provede před mikcí hygienickou očistu genitál

Kvalitativní vyšetření moče na přítomnost bílkoviny, cukru, ketolátek, krevního barviva, orientační změření pH moče a její specifické hmotnosti patří k základním, avšak velmi cenným vyšetřením.

#### pH moče

Fyziologické rozmezí moče je mezi 4,5-7,0, závisí na obsahu dihydrogenfosforečnanových a ammonných iontů a na obsahu bikarbonátu. pH moče za normálních podmínek významně ovlivňuje složení potravy (alkalické pH při rostlinné stravě), ale také individuální metabolická situace.

Hodnota pH moče se za různých patologických stavů mění, může být ovlivněna léky, přítomností močové infekce apod. Močová infekce ureázu štěpícími bakteriemi (Proteus, Pseudomonas) vede ke zvýšení pH moče (nad 7,0), naopak nízké pH moče (kolem 5,0) může provázet mykobakteriální infekci v moči. Změny pH moči hrají významnou úlohu při tvorbě urolitiázy. Nízké pH moče nacházíme u pacientů s urátovou či cystinovou litiázou (pH kolem 5,0), vysoké pH (kolem 7,5) vede k tvorbě magnezium-amonium fosfátových konkrementů. Při renální tubulární acidóze nedosahuje pH moče hodnot pod 6,0 a při acidifikačním testu (viz kapitola č. 13) neklesne hodota pH moče pod 5,5.

#### Specifická hmotnost moče

Normální hodnota se pohybuje mezi 1003 - 1030 kg/m<sup>3</sup>, při normálním pitném režimu vykazuje obvykle první ranní moč specifickou hmotnost 1015 - 1025 kg/m<sup>3</sup>. Nízkou specifickou hmotnost moče (< 1010

Biomedicínské inženýrství pro znalostní ekonomiku, CZ.02.2.69/0.0/0.0/16\_018/0002242

Modernizace laboratoří pro biomedicínské inženýrství, CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_017/0002244



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



### Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

kg/m<sup>3</sup>; hypostenurie) nalézáme např. při primárním diabetes insipidus, při postižení ledvinných tubulů aj. Specifická hmotnost moči nás informuje o stavu hydratace nemocného. Hypotonická či naopak příliš koncentrovaná moč může vést k falešné negativitě, resp. pozitivitě některých vyšetření (proteinurie). Naopak specifická hmotnost moče může být výrazně zkreslena přítomností glukózy a bílkoviny, nebo např. RTG kontrastních látek. Při urolitiáze nebo dispozici k ní je specifická hmotnost (osmolalita) v horním pásmu normy rizikovým faktorem pro vznik močových kamenů a je nutné zvýšit příjem tekutin.

#### Proteinurie

U zdravých osob není bílkovina v moči běžnými metodami (testovací proužky i zkouška s kys. sulfosalicylovou) prokazatelná vzhledem k nižší citlivosti těchto metod než je hodnota fyziologické proteinurie.

#### Glykosurie

Glukoza je v moči přítomna až po překročení tzv. renálního prahu pro glukózu (10 mmol/l). Diferenciálně diagnosticky je třeba odlišit glykosurii extrarenální od glykosurie renální (snížený exkretční práh ledviny, Fanconioho syndrom, toxické poškození ledvin).

#### Ketonurie

Aceton tvoří asi 2 %, acetacetát 33 % a  $\beta$ -hydroxybutyrát 65 % (fyz. celkem < 1,5 mmol/l) ketonů v moči. Vyskytuje se při hladovění, febrilních stavech, v těhotenství, při metabolickém rozvratu - např. dekompenzovaný diabetes mellitus.

#### Urobilinogen

Fyziologicky méně než 17  $\mu$ mol/l; ačkoli vzniká až po vyloučení bilirubinu žlučí do střeva, část urobilinogenu (UBG) se ze střeva vrací enterohepatálním oběhem do jater a velmi malá část se dostává periferní cirkulací do ledvin, kde je filtrován; UBG je bezbarvý

#### Bilirubin

Pokud je v moči přítomen (patologicky při bilirubinémii nad 30 - 34  $\mu$ mol/l), pak pouze „konjugovaný bilirubin“, tj. ve vodě rozpustný; tato forma bilirubinu se za fyziologických podmínek vylučuje pouze žlučí; nekonjugovaný bilirubin je ve vodě nerozpustný - je transportován albuminem a v této formě do moči neprochází; bilirubin je odpadním produktem odbourávání hemu, má žlutooranžové zbarvení

#### Hematurie, leukocyturie

Průkaz krve a leukocytů v moči testovacími papírky je pouze orientační. Pro validní výsledek je nutné vyšetření močového sedimentu.

**Přehled detekčních (reagenčních) zón na proužcích HeptaPHAN**

<i>detekční zóna</i>	<i>fyziologicky</i>	<i>princip reagenční zóny</i>	<i>poznámka</i>
<b>pH</b>	5 - 6	<i>směsný acidobazický indikátor (pH = 5 - 9)</i>	pH > 8 způsobují bakterie
<b>proteiny</b>	0	<i>indikátor reaguje hlavně na albumin</i>	
<b>glukóza</b>	0	<i>glukózaoxidáza / peroxidáza → chromogen</i>	vit. C nevadí
<b>ketolátky</b>	0	<i>citlivější na kys. acetoctovou než na aceton</i>	beta-OH-butyrát nereaguje
<b>urobilinogen</b>	0	<i>specif. na UBG a sterkobilinogen</i>	↑ vit. C → falešné ↓
<b>bilirubin</b>	0	<i>azokopulace (totéž u UBG)</i>	
<b>erytrocyty</b>	0	<i>peroxidázová aktivita Hb → ox. indikátoru</i>	silná bakt. kontaminace → ↑
<b>hemoglobin</b>	0	<i>(týká se Hb z rozpadlých ery)</i>	

## VYBAVENÍ

- zkumavky
- stojan na zkumavky
- kádinky
- diagnostické proužky HeptaPHAN
- vodní lázeň
- sáček na odpadky
- stříčka s destilovanou vodou
- buničina
- filtrační papír
- parafilm

---

## CHEMIKÁLIE

- roztok kyseliny sulfosalicylové
- roztoky Fehling I a II
- Lestradetovo činidlo (nitroprusid sodný v alkal. prostředí)
- vzorek vlastní moče (cca. 50 ml) – lze realizovat i pro dva vzorky různých osob pro porovnání

---

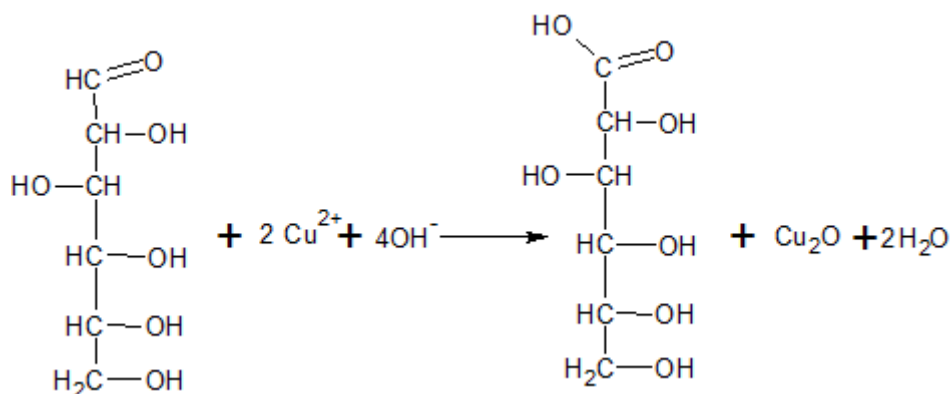
## POSTUP

1. Kvalitativní vyšetření moči pomocí diagnostických proužků Heptaphan
  - Vzorek moče řádně promíchat (uzavřenou zkumavku parafilmem 2x otočit dnem vzhůru)
  - z pouzdra vyjmout proužek a ponořit do vzorku moče na 1 - 2 sec. tak, aby všechny reagenční zóny byly smočeny ! **POUZDRO NENECHÁVAT OTEVŘENÉ!**
  - proužek po vyjmutí ze vzorku otřít hranou o okraj zkumavky, aby byla odstraněna přebytečná moč
  - proužek položit na buničinu na rovnou podložku
  - asi po 1 minutě hodnotit podle stupnice na krabičce zbarvení jednotlivých zón (zapsat pH moče, ostatní zóny hodnotit dle intenzity zbarvení hodnotami **s jednotkami!**)
2. Kvalitativní vyšetření moči pomocí činidel
  - a) Důkaz glukózy Fehlingovým činidlem
    - ve zkumavce smíchat po 1 ml roztoků Fehling I a II
    - přidat 2 ml vzorku moče do zkumavky a promíchat
    - zahřívat obsah zkumavek v horké vodní lázni (80–99 °C) po dobu 2 až 5 minut

Hodnocení: v přítomnosti glukózy se tvoří oranžovohnědá až červená sraženina  $\text{Cu}_2\text{O}$

## Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

Pro Fehlingovu redoxní reakci je zapotřebí znát složení Fehlingova činidla. To je složeno z NaOH a  $\text{KOOCCOONa} + \text{CuSO}_4$  (modrý), dohromady tedy tvoří komplex vianu. Při reakci tohoto komplexu s glukózou bude docházet k redukci komplexu a vzniku rezavé sraženiny  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Tímto se potvrdí pozitivní Fehlingova reakce, která je typická u všech monosacharidů. Tímto způsobem se v lékařství dokazuje cukrovka, pomocí jejího výskytu v moči.

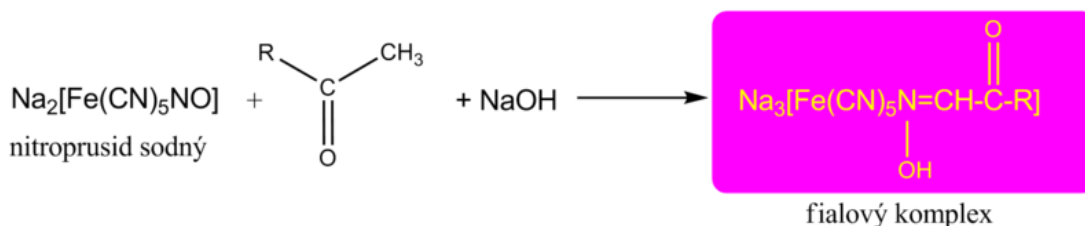


b) Důkaz ketolátek Lestradetovým činidlem (nitroprusid sodný v alkalickém prostředí)

Princip: V alkalickém prostředí tvoří aceton s nitroprusidem sodným barevný komplex.

- na jedno kolečko filtračního papíru nasypat 1 (počet hormádek podle počtu vzorků moče) malou hromádku (na špičku lžičky, **pozor dráždivé!**) Lestradetova činidla a označit je čísly vzorků moče
- na činidlo přikápnout 1 - 2 kapky vzorku moči

Hodnocení: v přítomnosti ketolátek vzniká fialově červené zbarvení



### 3. Semikvantitativní vyšetření moči

Princip zkoušky spočívá v denuraci bílkoviny kyselinou sulfosalicylovou, která se projeví vznikem opalescence až zákalu.

Reakce je citlivá, prokáže 0,1–0,2 g/l celkové proteinurie. Rozdíly v detekci jednotlivých bílkovin nejsou tak výrazné jako u diagnostických proužků. Kyselina sulfosalicylová sráží i globuliny.

Biomedicínské inženýrství pro znalostní ekonomiku, CZ.02.2.69/0.0/0.0/16\_018/0002242

Modernizace laboratoří pro biomedicínské inženýrství, CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_017/0002244



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

Falešně pozitivní výsledky dává tato zkouška při vylučování některých rentgen-kontrastních látek, penicilinu, sulfonamidů, kyseliny salicylové a antidiabetik.

**Důkaz bílkovin kys. sulfosalicylovou**

- do zkumavek odlít asi 2 ml vzorku moče
- přidat asi 10 kapek kys. sulfosalicylové, promíchat

Bílkoviny přítomné v moči jsou kyselinou sulfosalicylovou vysráženy. Hodnotíme intenzitu zákalu (případně vznik sraženiny) proti tmavému pozadí.

K posouzení vzniku zákalu je nutné porovnání s původním vzorkem moče.

Pro hodnocení se používá semikvantitativní stupnice:

**Semikvantitativní hodnocení zkoušky s kyselinou sulfosalicylovou<sup>[5]</sup>**

Nález	Hodnocení	Přibližná koncentrace bílkoviny v g/l
Opalescence	stopy	0,05–0,1
Lehký zákal (průhledný, lze číst podložený text)	+	0,1–0,2
Mléčný zákal (neprůhledný, bez vloček)	++	0,5–1,0
Mléčný zákal s tvorbou vloček	+++	2,0–5,0
Vločkovitá sraženina	++++	≥ 5,0

## STANOVENÍ KONCENTRACE KREATININU V MOČI

### ÚKOL

Stanovte koncentraci kreatininu ve svém vlastním vzorku moči.

### TEORETICKÁ ČÁST

Stanovení koncentrace kreatininu se využívá pro diagnostiku poruch funkce ledvin. Pokud se poškodí více než 50% nefronů (základní stavební jednotka ledvin), zvyšuje se koncentrace kreatininu v krevním séru a naopak snižuje koncentrace v moči. Stanovuje se pravidelně u pacientů s již diagnostikovanou poruchou funkce ledvin, s cukrovkou nebo také pokud pacient užívá větší množství léků.

Pro stanovení funkce ledvin je potřeba nejen stanovení sérové koncentrace či koncentrace v moči, ale využívají se především výpočty glomerulární filtrace (např. **clearance** kreatininu). Clearance je schopnost orgánu očistovat krevní plazmu. Očišťovací schopnost je definována jako objem plazmy zbavený dané látky v určitém časovém intervalu.

Clearance kreatininu se počítá na podkladě měření močového kreatininu ve sledovaném období a hodnotě sérového kreatininu. Výpočet se provádí podle vzorce:

$$\text{clearance kreatininu} = \text{kreatinin moč} \times \text{diuréza}(\text{ml/s}) / \text{kreatinin sérum} \quad (1)$$

Cockroft a Gault navrhli více osvědčený vzorec:

$$\text{clearance kreatininu} = (140 - \text{věk}) \times \text{tělesná hmotnost} / 49 \times \text{kreatinin v séru} \quad (2)$$

kreatininová clearance je v ml/s, věk v rocích, tělesná hmotnost v kg. U žen se takto vypočítaná hodnota násobí faktorem 0,85 (mají menší svalovou hmotu)

Kreatinin vzniká cyklizací kreatinu a kreatinfosfátu. Je to organická látka a vyskytuje se v cyklu obsahující dusík. Ve svalech vzniká rozpadem kreatinfosfátu (ten slouží jako energetická rezerva pro svalový stah). Kreatin je syntetizován v játrech a ledvinách z glycinu, guanidinové skupiny argininu. Krví se dostane do svalu a zde se vyskytuje jako kreatinfosfát. Asi 1 – 2 % kreatinfosfátu se denně cyklizuje na kreatinin, který je z těla vyloučen jako odpadní látka.

Množství kreatinu v krvi ovlivňuje tvorbu a vylučování kreatininu. Toto množství je ovlivňováno dvojím způsobem - exogenně či endogenně. Exogenní část tvoří potrava, masitá strava

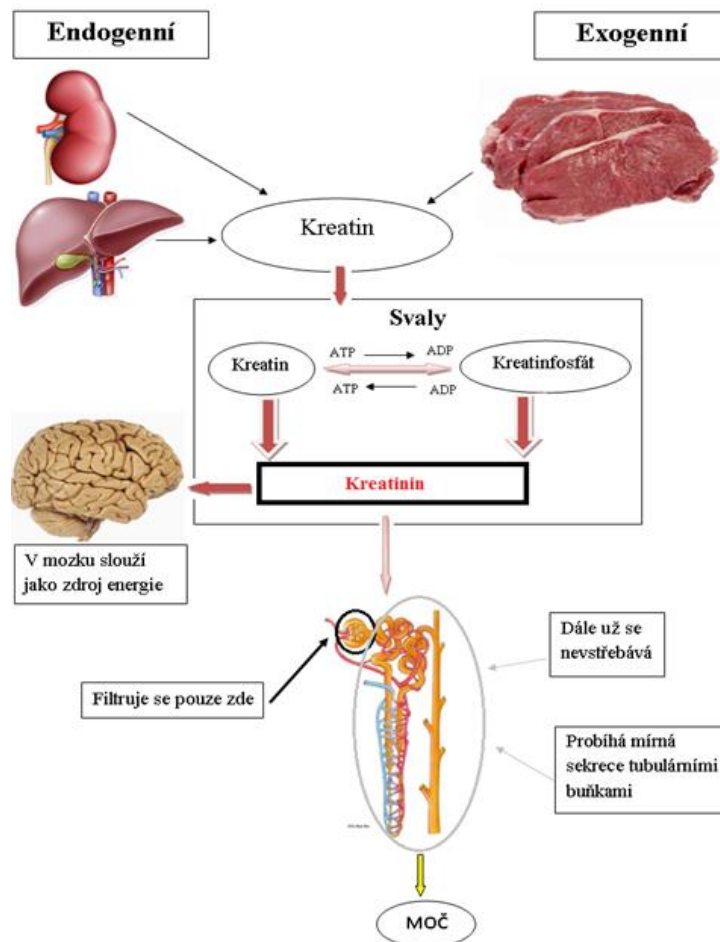


Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

(přímá resorpce z potravy bez předcházející enzymové hydrolyzy). Endogenní závisí na množství svalové hmoty a činnosti svalů, tedy energetickém metabolismu svalové tkáně (uvolněný kreatin se neenzymovou hydratací mění na kreatin). Ženy mají asi o 15% kreatinu méně, protože mají menší svalovou hmotu. Množství vylučovaného kreatininu se přes den mění, právě kvůli většímu namáhání svalů a příjmu potravy přes den, tento výkyv může být až 50%.

Regulace kreatininu je zajištěna glomerulární filtrací. Při průchodu krevní plazmy ledvinami se kreatinin do moči dostává z 90% glomerulární filtrací krve a 10% je sekretováno tubulárními buňkami. Zpětně už se neresorbují (nefron je pro kreatinin nepropustný).

Ke zvýšení hodnot v moči dochází u těhotných žen (zvýšená glomerulární filtrace), u podvyživených a dlouhodobě nemocných s atrofií svalů. Naopak snížení značí nejčastěji poškození ledvin.



Obrázek 1 - metabolismus kreatininu

### Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

V tomto cvičení budeme vycházet z metody založené na Jaffého reakci. V alkalickém prostředí reaguje bezbarvý kreatinin s kyselinou pikrovou, z této reakce vzniká produkt, který má červeno-oranžovou barvu a jeho množství je přímoúměrné množství výchozího kreatininu. Díky tomu, že je látka barevná se může stanovit pomocí spektrofotometrie, jejíž princip je založen na interakci elektromagnetického záření s analyzovaným roztokem.

Záření je látkou pohlcováno a detektor přijímá zbylé a látkou neabsorbované záření. Schopnost látky pohlcovat záření se nazývá absorbance. Intenzita výstupního záření je po průchodu nižší než na začátku a čím více je roztok koncentrován, tím více pohltí záření.

Koncentraci analyzované látky je zjišťována tím, že se sestaví kalibrační křivka, tedy grafické znázornění závislosti absorbance roztoku na koncentraci v něm přítomné stanovované látky. Sestaví se tak, že se změří absorbance roztoků o známých koncentracích a započítá se také slepý vzorek. Slepý vzorek obsahuje všechny činidla až na zkoumanou látku, jeho změřená hodnota se musí následně od ostatních hodnot odečíst, tím je získána pouze hodnota analyzované látky. Poté se spustí kolmice v bodě, kde hodnota absorbance odpovídá bodu na křivce a zjistí se hledaná koncentrace látky ve vzorku.

### Technika sběru moči - 24hodinový sběr moči:

Množství vyloučeného kreatininu se v průběhu 24 hodin mění. Nejnížší množství naměříme ráno a nejvyšší naopak večer (rozdíl může být skoro 50%). Pro správné stanovení kreatininu v moči je nutný celodenní sběr moči, aby se započítalo celé množství vyloučené látky. 24 hodinový sběr moči se provádí takto:

- je vhodné vynechat náročnější tělesnou aktivitu a masitou stravu ve větším množství
- v den zahájení sběru se ráno člověk nejprve vymočí do toalety a až další moč sbírá do čisté nádoby dalších 24 hodin (pokud nádobu naplní, použije další)
- sbírá se veškerá moč i před stolicí
- poslední odběr moči se provede druhý den ráno
- během sběru člověk jí i pije jako obvykle
- celý objem moči se poté smíchá, aby byl vzorek reprezentativní

## POMŮCKY

- spektrofotometr
- kyvety
- automatické pipety + špičky
- stojan a zkumavky
- odměrné baňky (100 ml)
- kádinka
- buničina
- popisovač
- parafilm

---

## CHEMIKÁLIE

- nasycený roztok kyseliny pikrové
- 1 M NaOH
- vzorek vlastní moče (nejlépe ranní, správně by měl být vzorek z 24hodinového sběru)
- destilovaná voda
- 15 mmol/l zásobní roztok kreatininu

---

## PRACOVNÍ POSTUP

1. Nejprve si připravíme kalibrační řadu standardních roztoků kreatininu a to tak, abychom získali koncentrace roztoků: 0 (tzv. slepý vzorek), další standardní roztoky vytvoříme v rozmezí od 5 mmol/l do 15 mmol/l (krok zvolíme 2 mmol/l). Roztoky připravíme ze základního 15 mmol/l roztoku, vždy 0,5 ml konečného roztoku. **KREATININ NEODEBÍRÁME PŘÍMO ZE ZÁSOBNÍ LAHVE**
2. Do označených zkumavek napipetujeme vždy 0,5 ml daného roztoku, do každé přidáme 0,5 ml destilované vody, 0,5 ml kyseliny pikrové a 0,5 ml hydroxidu, následně promícháme.
3. V moči je vysoká koncentrace kreatininu, proto je potřeba ji naředit destilovanou vodou v poměru 1:99 (do 100mililitrové odměrné baňky napipetujeme 1ml moči a doplníme po rysku). Výsledná koncentrace bude však přepočítána na moč původní, neředěnou. Do tří zkumavek napipetujeme 0,5

## F7DIBIOC Biosystém člověka

### Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

ml zředěné moči, 0,5 ml destilované vody a opět do každé přidáme 0,5 ml kyseliny pikrové a 0,5 ml hydroxidu. Promícháme.

4. Roztoky ponecháme přibližně 20 minut stát.
5. Vzorky přelijeme do kyvet a dle Postupu pro práci se spektrometrem proměříme jejich absorbanci. Vykazují-li vzorky hodnotu absorpce vyšší než 2,5, je nutné vzorky naředit a poté spočítat novou koncentraci kreatininu ve vzorku.

### Postup při práci se spektrometrem

#### Kontrola použitých kyvet

**Pozor:** Povrch kyvet musí být vždy udržován v naprosté čistotě! Otřete jej měkkým hadříkem a dbejte na to, abyste povrch nepoškrábali pipetami (plastová jehla!).

Ověřte, zda všechny kyvety uvádějí stejné hodnoty absorpce pro kontrolní roztok.

1. Vyberte vhodné kyvety.
2. Do kyvet přeneseme přibližně 1 ml destilované vody.
3. Spustíme spektrometr: Applications (stiskněte 1) -> single Wavelength (stiskněte 1).
4. Zvolte požadovanou vlnovou délku a potvrďte zeleným tlačítkem.
5. Vložte první vzorek a naměřte jej jako referenci (stisknutím modrého tlačítka OA/100%T). Další vzorky naměřte stisknutím zeleného tlačítka. Hodnoty absorpce jednotlivých vzorků by se neměly lišit. Pokud bude v některé z nich výrazná odchylka, je potřeba kyvetu vyměnit.

#### Naměření spektra

1. Do kyvet přeneste přibližně 1 ml roztoku z kalibrační řady s nulovou koncentrací a s nejvyšší koncentrací
2. Vložte kyvetu se slepým vzorkem do spektrofotometru.
3. Zvolte Wavescan (stiskněte 3), nastavte rozmezí 400 až 700 nm a potvrďte zeleným tlačítkem
4. Stiskněte modré tlačítko OA/100% pro načtení reference.
5. Vyměňte vzorky a stiskněte zelené tlačítko.

Biomedicínské inženýrství pro znalostní ekonomiku, CZ.02.2.69/0.0/0.0/16\_018/0002242

Modernizace laboratoří pro biomedicínské inženýrství, CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_017/0002244



EVROPSKÁ UNIE  
Evropské strukturální a investiční fondy  
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Návod na cvičení 2: Stanovení kreatininu a chemické vyšetření moči

6. Odečtěte z grafu vhodnou vlnovou délku pro měření absorbance vzorků.

**Měření absorpce**

1. Pomocí mechanické pipety do kyvet napipetujeme cca 1 ml roztoku jednotlivých vzorků (všechny vzorky kalibrační řady i se slepým vzorkem a tři vzorky moči)
2. Kyvetu umístíme do spektrofotometru a spustíme jej: Applications -> Single Wavelength
3. Zvolte vhodnou vlnovou délku
4. První vzorek (slepý vzorek) naměřte jako referenci stisknutím modrého tlačítka OA/100%T.
5. Postupně proměřte ostatní vzorky. Po umístění kyvety do spektrofotometru vždy stiskněte zelené tlačítko.

Pozn.: Je-li absorbance vzorku vyšší jak 2,5, vzorek nařed'te (potom nezapomeňte přepočítat absorbanci na původní koncentraci)

6. Výsledky zaneseme do tabulky.

---

ANALÝZA VÝSLEDKŮ

- Sestrojte kalibrační křivku závislosti absorbance na koncentraci a odečtěte z ní koncentrace kreatininu ve vzorku moči.
- Výsledky shrňte do tabulky a porovnejte s fyziologickou hodnotou.
- Z vašeho výsledku vypočítejte ,dle vzorce 1) clearanci kreatininu pokud víte, že koncentrace kreatininu v krvi je 50  $\mu\text{mol/l}$ .

## KONTROLNÍ OTÁZKY

- K čemu se v klinické praxi používá stanovení kreatininu v moči?
- Kde se v těle syntetizuje kreatin?
- Co značí snižování koncentrace v moči?
- Kde se kreatinin filtruje? Čím je specifický oproti jiným látkám?
- Jak se liší koncentrace kreatininu v ranní moči oproti 24hodinovému sběru?

---

## PŘÍKLAD

V nemocniční laboratoři měli pacienta s denním výdejem moči 4,5 litru. Provedli mu rozbor a zjistili, že jeho koncentrace močoviny v plazmě je 8 mmol/l a v moči 320 mmol/l. Další testy se zaměřovaly na koncentrace kreatininu, jeho koncentrace v plazmě je 6mmol/l a v moči 90 mmol/l. Z těchto údajů vypočítejte clearance a glomerulární filtraci a dále stanovte frakční vylučování močoviny pacienta. V moči byly přítomny i látky: vápenaté ionty, hemoglobin, 1 $\mu$ mol/l acetát. Určete, zda jde o fyziologický stav, popř. patologii.

### Použitý zdroj

Sacharidy - Mendelu. (n.d.). [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/files/145/9995.pdf](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/files/145/9995.pdf)

