

Méně často vyšetřované tělní tekutiny

- Punkrát
- Stolice
- Sliny
- Pot
- Slzy

Punktát (výpotek)

- Zmnožená tekutina v tělesných dutinách
- Peritoneální – v dutině břišní (ascites)
Pleurální – v dutině hrudní
Perikardiální – v dutině srdeční
Kloubní(synoviální)

Typy punktátu:

Transsudát – ultrafiltrát plasmy

- Proti plasmě nižší koncentrace bílkovin, enzymů (součástí struktury jsou bílkoviny), látek na bílkoviny navázaných – lipidy
- Vzniká při zvýšeném filtračním tlaku v kapilárách nebo sníženém onkotickém tlaku v plasmě

Exsudát – tekutina zánětlivého původu

- Koncentrace bílkovin a látek na ně vázaných se blíží plasmě
- Leukocyty a bakterie snižují koncentraci glukosy, přemění ji na laktát (jeho konc. se zvýší)
- Zvýšené koncentrace enzymů
- Vzniká při poškození výstelky tělesných dutin zánětem nebo karcinomem, při zvýšené permeabilitě kapilár

Tab. 31.1. Rozlišení transsudátu a exsudátu

Parametr	Transsudát	Exsudát
vzhled	čirý, lehce nažloutlý	žlutý, často zakalený
celková bílkovina	< 30 g/l	> 30 g/l *
albumin	< 12 g/l	> 12 g/l
$\frac{\text{bílkovina ve výpotku}}{\text{bílkovina v séru}}$	< 0,5	> 0,5
fibrinogen	negativní	pozitivní
cholesterol	< 1,15 mmol/l	> 1,15 mmol/l *
triacylglyceroly	< 0,5 mmol/l	> 0,5 mmol/l *
hustota	< 1015 kg/m ³	> 1015 kg/m ³
pH	7,4	< 7,4
glukóza	jako v plazmě	< 1,7 mmol/l **
laktát	< 1,85 mmol/l	> 1,85 mmol/l
laktátdehydrogenáza	< 5,3 μ kat/l	> 5,3 μ kat/l
buňky	< 100/ μ l (lymfocyty, mezotelie)	> 100/ μ l (polynukleáry, nádorové buňky)

* u nejtěžších zánětů se blíží hodnotě v plazmě

** u nejtěžších zánětů se blíží 0

Odlišení typu tělní tekutiny pomocí laboratorních vyšetření:

Odlišení transsudátu a exsudátu

Odlišení moče v břišní dutině (močová píštěl) od ascitu:

- moč má proti ascitu vysokou ureu, kreatinin, kalium

Odlišení likvoru od tělní tekutiny z nosu, ucha, krku:

- Likvor obsahuje β_2 - transferin (elektroforeticky)

Stanovení punktátu

- Stejně metody jako v séru či v moči
- Nejčastěji stanovované parametry:
urea, kreatinin, bilirubin, amylasa,
laktátdehydrogenáza, cholesterol,
triacylglyceridy, celková bílkovina,
albumin, Na, K, Cl, pH, tumormarkery

Peritoneální tekutina- příklady vyšetření

fyziologicky 50 ml

- ALP – při poranění střev bývá několikrát zvýšená proti hodnotám v séru
- NH_3 – konc.vyšší než 176 mmol/l svědčí o perforaci duodenálního vředu, apendixu, střev
- Amy – výrazně zvýšená proti sérovým hodnotám u akutní pankreatitidy
- Bil – zvýšené hodnoty ukazují na problém biliárního systému
- hCG – vyšší než v séru při mimoděložním těhotenství
- LD – výrazně zvýšené po zranění jater
- Leu – zvýšené při zánětech

Pleurální tekutina - příklady vyšetření

Fyziologicky 15 ml

Výpotek se objevuje při chorobách srdce, karcinomech, při zánětu po plicní embolii

- LD, Chol – hodnota pomůže rozlišit transsudát od exsudátu
- Alb - transsudát – menší než 12 g/l, exsudát větší než 12 g/l
- Amy, lipasa – zvýšení při akutní pankreatitidě
- CEA – výrazně vyšší již v počátku maligních onemocnění

Perikardiální tekutina - příklady vyšetření

- Triacylglyceroly – hodnoty vyšší než v séru ukazují na přítomnost lymfy (po operaci může dojít k porušení hrudního mízovodu)

Synoviální tekutina - příklady vyšetření

Významná pro revmatologické vyšetření

- pH - norma 7,31-7,64, zánět 7,25-7,54
- CB – zvýšené hodnoty při terminální artritidě
- Lakt – zvýšené hodnoty při zánětu
- Glu - snížené hodnoty při zánětu

Stolice:

- Hnědé zbarvení způsobují produkty odbourávání bilirubinu – sterkobilirubin
- Zápach tvoří sirné sloučeniny tvořené anaerobními bakteriemi

Vyšetření:

- Test na okultní (skryté) krvácení ve stolici
- Stanovení elastázy
- Mikroskopické vyšetření

Test na OK - stolice

- **Vyšetření přítomnosti krve**
- **Doporučený screening v ČR – po 50 roku věku každé dva roky**

Test na OK - stolice

Příklady souprav na stanovení okultního krvácení:

Imunochemický test (firma Hemosure, DINONA, slovenská firma Biogema)

- Test je specifický, nevyžaduje žádná dietní opatření
- Pacient nabere stolicí pomocí spirálového aplikátoru z 5-6 různých částí a umístí do přiloženého pufru
- Vyhodnocení se provede kápnutím vzniklého roztoku na speciální testovací kazetku – pozitivní dva proužky, negativní jeden proužek
- Test má vysokou citlivost –vhodný pro sledování po zákroku – zachytí první změnu

Princip imunochemického testu na OK

- Metoda využívá kombinaci konjugátu (monoklonální protilátka – barvivo) a polyklonální protilátky navázané na pevnou fázi na identifikaci hemoglobinu
- Vzorek se extrahuje do nakapaného roztoku
- Vytvoří se komplex konjugát-hemoglobin
- Komplex se naváže na protilátku umístěnou v v pozitivní reakční zóně a vytvoří se tmavočervená čárka
- Nezareagovaný konjugát tvoří čárku v kontrolní zóně

Automatizace stanovení OK

Automatický analyzátor OC-Sensor-m

- k detekci okultního krvácení ve stolici =>
k detekci/screeningu kolorektálních nádorů
- výrobce: japonská firma EIKEN Chemical co., Ltd.
(Tokyo, Japan)
- obecný princip: kombinace kvantitativní analýzy
s kvantitativním odběrem vzorku stolice
- analytický princip: latexová, imunochemická, aglutinační
reakce s monoklonálním antigenem k proteinu lidského
hemoglobinu typu A0
- detekční jednotka - křemíková fotodioda
- kalibrace 6-ti bodová
- systém zahrnuje interní kontrolu
- citlivost detekce: 50 – 2000 ug Hb/l
- kapacita - 80 vzorků/h
- dodává Dialab

Aplikace pro stanovení OK na automatických analyzátorech

- **Reagencie firmy Sentinel**
- **Reagencie firmy EIKEN Chemical, dodává Dialab**

Test na OK - stolice

Klasický test s guajakem, forma psaníčka– chemický test
např. HemoCare (firma Care diagnostica)

- **Test již není doporučen**
- Pacient nanese vzorky z různých míst stolice na tři políčka psaníčka, odběr provede ve třech stolicích po sobě
- V laboratoři se ze zadní strany psaníčka na vysušené vzorky v testovacím políčku impregnovaném guajakem kápne peroxid vodíku
- V přítomnosti volného hemoglobinu (pozitivní test) proběhne pseudoperoxidázová reakce s guajakem, vzniká modré zbarvení
- Test může být ovlivněn některými léky, velkým množstvím vitamínu C atd.
- Vyžaduje tedy přípravu pacienta

Význam testu – stolice na OK

- Zjištění positivity může zabránit vzniku karcinomu tlustého střeva (patří k nejrozšířenějším příčinám úmrtí v ČR), nebo přispět k jeho včasnému odhalení
- Positivita testu může ukazovat na přítomnost polypů na střevě
- Možnost vývoje v karcinom
- Polypy se dají snadno odstranit neinvazivní metodou

Stanovení pankreatické elastázy ve stolici

- Elastáza patří mezi enzymy používané pro vyšetření činnosti pankreatu
- Odběr stolice provádí pacient do zkumavky s extrakčním pufrem
- Vlastní stanovení je založeno na metodice ELISA – na reakci polyklonální protilátky proti lidské pankreatické elastáze
- Stanovení slouží k posouzení funkce pankreatu a hodnocení míry pankreatické insuficience

Kalprotektin (Biovendor)

- Leukocytární cytosolový protein – stanovení ELISA nebo POCT (snímač Quantum Blue)
- Uvolňuje se z leukocytů po jejich aktivaci nebo lýze
- Tvoří jej především monocyty a neutrofilly
- Vhodný ukazatel při diagnostice i monitorování akutních i chronických střevních zánětlivých onemocnění – ulcerózní kolitidy, Crohnovy choroby a nekrotizující enterokolitidy u dětí
- Obsah kalprotektinu ve stolici koreluje s množstvím leukocytů vyloučených do střevního lumen.
- Stanovení koncentrace **ve vzorku stolice** - cut-off hodnota 30 mg/l
- **Pro diferenciální diagnostiku mezi IBD – Inflammatory Bowel Disease (ulcerózní kolitida, akutní Crohnova choroba) a IBS (syndromem dráždivého tračníku)**
- Kalprotektin ve stolici je rovněž testován jako marker kolorektálního karcinomu

Mikroskopické vyšetření stolice

- Vyšetřuje se nativní a barvená stolice (barvivo Sudan III a Lugolův roztok KJ + J2)
- Zjišťujeme přítomnost svalových vláken, škrobových zrn a tukových kapének
- Svalová vlákna jsou dobře viditelná, možno pozorovat i příčné pruhování
- Tuky se barví s barvivem Sudan III červeně
- Škroby modře s Lugolovým roztokem
- Positivní nálezy ukazují na onemocnění pankreatu, poruchy resorpce

Sliny:

Vyšetření se provádí zřídka

Příklady:

- Alkohol – viz přednáška alkohol
- Kortizol
- Stanovení estrogenů, IgA, drog atd.

Stanovení kortizolu ve slinách

Výhody proti stanovení v krvi a moči

- Je neinvazivní a kortizol je zde přítomen pouze ve formě volné (biologicky aktivní)
- Není vázán na transportní proteiny
- Stanovení volného kortizolu v séru je náročné a rutinně se neprovádí
- Stanovení volné frakce v moči – sběr za 24 hod - se provádí po extrakci
- Stanovení ve slinách výhodné při potvrzení diagnózy Cushingův syndrom, typické zvýšené koncentrace v nočních hodinách (kortizol má výrazný cirkadiánní rytmus)

Koncentrace ve slinách - 3 – 5% celkového kortizolu v séru

Provedení stanovení:

- Speciální zkumavky (Salivette od firmy Sarstedt) se smotkem vaty
- Smotek pacient žvýká
- Poté ho vrátíme do zkumavky a zcentrifugujeme
- Získané sliny použijeme pro imunochemické stanovení

Pot :

Provádí se stanovení Cl (případně Na)

Stanovení Cl⁻:

- Pot se zachytí do čtverečku filtračního papíru po stimulaci pocení pilokarpinem (pilokarpinová iontoforéza)
- Vážkově se stanoví celková hmotnost potu
- Po eluci se stanoví koncentrace chloridů fotometricky nebo coulometricky
- Zvýšenou koncentraci nalézáme u dětí s cystickou fibrózou
- Cystická fibróza je nejčastější dědičná choroba mezi Indoevropany
- Vede k recidivující bronchopneumonii, příčina předčasné smrti

Vyšetření chloridů v potu se používá v diagnostickém algoritmu cystické fibrózy (CF):

- U dětí, které ještě neprošly novorozeneckým screeningem CF (tento celoplošně zaveden až koncem r. 2009) a mají klinické podezření na toto onemocnění
- U dětí s pozitivním nálezem biochemického markeru při novorozeneckém screeningu CF a nálezem jedné či dvou mutací při genové analýze CFTR genu
 - nález 2 mutací = homozygot, nemocný, pozitivní potní test
 - nález 1 mutace – vyšetřovaný může být zdravý heterozygot, potní test negativní nebo
 - nemocný, jemuž byla dosavadním vyšetřením odhalena pouze 1 mutace, potní test pozitivní

Chloridy v potu

Referenční rozmezí: 10-30 mmol/l ,
(hraniční nález 30-60 mmol/l, pozitivní nad
60 mmol/l)

Slzy:

- Při zánětech spojivek – možnost stanovení IgE , LD

Bronchoalveolární laváž – výplach plic fyziologickým roztokem:

- Posuzuje makroskopický vzhled, hemoglobin diagnostickým použkem, kvantitativní cytologie (rozlišují se ery a non-ery), CB, Alb a imunoglobuliny
- Používá se při posuzování plicních zánětů