



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

**Vyšetření albuminu v moči od mikroalbuminu po ACR z
pohledu ambulantní biochemické laboratoře**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

Autor: Michaela Švecová

Vedoucí práce: Ing. Václav Šojdel

České Budějovice 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Vyšetření albuminu v moči od mikroalbuminu po ACR z pohledu ambulantní biochemické laboratoře“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské/diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích 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 bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3.5.2022

.....

Michaela Švecová

Poděkování

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu bakalářské práce Ing. Václavu Šojdelovi, za ochotu a vstřícnost po celou dobu práce, také MUDr. J. Ambrožové za pomoc při shromažďování informací. Velké poděkování také patří laborantům z laboratoře Aeskulab k.s za trpělivost, poskytování rad a materiálů. Svě rodině děkuji za podporu po dobu celého studia.

Vyšetření albuminu v moči od mikroalbuminu po ACR z pohledu ambulantní biochemické laboratoře

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá vyšetřením albuminu v lidské moči a významem tohoto vyšetření v diagnostice. Teoreticky se zabývá způsoby, metodami a interpretací vyšetření albuminu v moči dříve nazývaným mikroalbuminurie (MAU) a v současnosti preferovaným způsobem stanovení poměru albumin/kreatinin (ACR) z pohledu ambulantní laboratoře. Práce je rozdělena na část obecnou a praktickou. Obecná část shrnuje teoretické poznatky o mikroalbuminurii a jejímu vztahu k souvisejícím onemocněním a dále se zabývá metodami analýzy, kde jsou popsány základní používané způsoby stanovení albuminu v moči. Praktická část pak obsahuje popis konkrétního procesu stanovení albuminu v moči v ambulantní biochemické laboratoři.

Onemocnění spojená s abnormálním vylučováním albuminu do moči jsou v populaci široce rozšířena. Především se jedná o diabetes mellitus, hypertenzi a onemocnění ledvin. Důležitou součástí bakalářské práce je praktická část shrnující výsledky z praxe. Tato část zahrnuje statistická data získaná v ambulantní laboratoři v letech 2018-2020. Statistická data jsou uvedena v závislosti na vývoji objemu požadavků na vyšetření albuminurie, indikovaných diagnózách a odbornostech ordinujících lékařů. Porovnáním počtů a frekvence vyšetřovaných pacientů je poukázáno na důležitost včasného vyšetření a dalšího monitorování vylučování albuminu do moči (MAU) pro stanovení diagnózy nefropatie, vznikající především následkem diabetu mellitu nebo hypertenze a zahájení náležité terapie tohoto onemocnění.

Klíčová slova

albumin, mikroalbumin, moč, ACR, diagnóza, léčebný postup, statistická data

"Examination of albumin in urine from microalbuminuria to ACR from the point of view of an outpatient private biochemical laboratory"

Abstract

The bachelor work deals with the human urine examination for the albumin and its importance of this examination in diagnosis. Theoretically, it deals with methods and interpretation of urinary albumin testing formerly called microalbuminuria (MAU) and the currently preferred method of determining the albumin / creatinine ratio (ACR) from the perspective of an outpatient laboratory. The work is divided into general and practical part. The general part summarizes the theoretical knowledge about microalbuminuria and its relationship to related diseases and also deals with methods of analysis describing the basic methods used to determine albumin in urine. The following practical part contains specific proces description important for the determination of albumin in urine in an outpatient biochemical laboratory.

Diseases associated with abnormal urinary albumin excretion are widespread in the population. These are mainly diabetes mellitus, hypertension and kidney disease. An important part of the bachelor thesis is the practical part summarizing the results from practice. This part includes statistical data obtained in the outpatient laboratory in the years 2018-2020. Statistical data here presented depends on the volume examination requirements for the albuminuria analysis, according to the indicated diagnoses and the expertise of prescribing physicians. By comparing the numbers and frequency of examined patients we emphasize the importance of the early examination and the further urinary albumin excretion monitoring (MAU) especially in nephropathy diagnosis, mainly due to diabetes mellitus or hypertension, and also its consequence for the timely appropriate treatment initiation of this disease.

Key words

albumin, microalbumin, urine, ACR, diagnosis, treatment procedure, statistic data

OBSAH

1	ÚVOD.....	8
1.1	Historie analýzy moči	9
1.2	Současná kritéria hodnocení proteinurie.....	10
1.3	Zrod mikroalbuminurie.....	11
2	OBEČNÁ ČÁST	13
2.1	Mikroalbuminurie	13
2.1.1	Úvod.....	13
2.1.2	Definice.....	13
2.2	Mikroalbuminurie a přidružená onemocnění, přehled	14
2.2.1	Diabetes Mellitus	14
2.2.2	Esenciální hypertenze	14
2.2.3	Gravidita	14
2.2.4	Jiná onemocnění a metabolické odchylky	14
2.3	Diabetes Mellitus a mikroalbuminurie.....	15
2.3.1	Úvod.....	15
2.3.2	Diabetes Mellitus 1.typu	15
2.3.3	Diabetes Mellitus 2.typu	16
2.4	Komplikace diabetu, diabetická nefropatie.....	17
2.4.1	Epidemiologická charakteristika.....	18
2.4.2	Morfologická charakteristika.....	18
2.4.3	Klinická charakteristika diabetické nefropatie	18
2.4.4	Diagnostika	19
2.4.5	Vyšetření albuminurie/proteinurie.....	20
2.4.6	Vyšetření funkce ledvin	21
2.4.7	Léčba diabetické nefropatie.....	21
2.5	Kardiovaskulární onemocnění a mikroalbuminurie.....	22
2.5.1	Mikroalbuminurie a hypertenze.....	22
2.5.2	Léčba kardiovaskulárního onemocnění	23
2.6	Gravidita a mikroalbuminurie	23
3	METODY ANALÝZY	23
3.1	SCREENINGOVÉ METODY	24
3.1.1	Testovací proužky.....	24
3.1.2	Testovací proužky firmy Erba Lachema MicroalbuPHAN.....	25
3.1.3	Testovací proužky firmy Roche Micral-Test strip.....	26

3.1.4	Testovací souprava AFINION ACR.....	26
3.1.5	POCT vyšetření QuickRead.....	27
3.2	LABORATORNÍ ANALÝZY.....	28
3.2.1	Preanalytické podmínky stanovení albuminu v moči.....	28
3.2.2	Rutinní metody.....	29
3.3	METODY VYŠETŘENÍ.....	29
3.3.1	Princip imunonefelometrie.....	30
3.3.2	Princip imunoturbidimetrie.....	30
3.3.3	Další metody.....	30
4	PRAKTICKÁ ČÁST.....	32
4.1	Cíl práce.....	32
4.2	METODIKY.....	32
4.2.1	Fáze před analýzou.....	32
4.2.2	Princip testu.....	32
4.2.3	Reagencie.....	33
4.2.4	Vzorky.....	33
4.2.5	Měření.....	34
4.2.6	Kalibrace.....	34
4.2.7	Referenční meze.....	35
4.2.8	Interní a externí kontrola kvality.....	35
4.2.9	Zpracování analytických dat.....	37
4.2.10	Vydávání výsledků.....	37
4.3	VÝSLEDKY PRAXE.....	38
4.3.1	Celkový přehled naměřených výsledků ACR 2018-2020.....	38
4.3.2	Statistický pohled na frekvenci indikace ACR z hlediska lékařské odbornosti.....	39
4.3.3	Statistika požadovaných vyšetření ACR vzhledem k diagnóze.....	40
4.3.4	Tabulky s přehledem opakovaných vyšetření ACR.....	42
5	ZÁVĚR.....	46
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	48
7	SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK.....	50
7.1	Seznam tabulek.....	50
7.2	Seznam obrázků.....	51
8	SEZNAM ZKRATEK.....	52

1 ÚVOD

Ve své bakalářské práci se detailně zabývám vyšetřením albuminu v moči se zřetelem na soudobé vyšetřování poměru albumin/kreatinin ratio (ACR), tj. koncentrace albuminu a kreatininu v prvním ranním vzorku moči z pohledu ambulantní biochemické laboratoře. Stanovení albuminu v moči patří mezi základní vyšetřovací metody v nefrologii a diabetologii, kde hraje významnou roli mj. v časně diagnostice onemocnění ledvin, v monitorování jejich funkčnosti, ve zjišťování reakcí na léčbu a v odhadu rizika vývoje selhání ledvin včetně kardiovaskulárního rizika. Albumin v moči je citlivějším a specifičtějším ukazatelem poruch glomerulární permeability než celkový protein. Již řadu let se doporučuje stanovovat ACR v náhodných vzorcích ranní moči (převážně v prvním ranním vzorku moči), na místo dříve používaného stanovení odpadu albuminu ve sbírané moči.

Cílem této práce je pomocí retrospektivního zkoumání souboru dat naměřených v laboratoři Aeskulab k.s. České Budějovice vyhodnotit požadavky na stanovení albuminu v moči včetně ACR z pohledu diagnózy a odbornosti indikujících lékařů a stanovit rozložení naměřených hodnot a vývoj objemu požadavků na toto laboratorní vyšetření v čase. Pro retrospektivní vyhodnocení dat je použita databáze naměřených hodnot z laboratorního informačního systému ENVIS z rozmezí let 2018 až 2020. Všechna data jsou popsána v praktické části mé bakalářské práce. Jejich porovnání je zahrnuto do poslední části této práce. Výsledkem práce je porovnání dat a na základě souhrnu uvedených zjištění o požadavcích na stanovení albuminu v moči nadále přispět k intenzivnímu využívání tohoto snadno dostupného vyšetření v ambulantní praxi v zájmu zlepšování a zpřesňování časně diagnostiky i následného monitorování onemocnění ledvin.

1.1 Historie analýzy moči

Biologickým materiálem, který byl historicky zkoumán jako jeden z prvních ukazatelů nemoci byla často právě lidská moč. Hlavní metodou, která byla tehdy použita, byly lidské smysly. Metoda se nazývala uroskopie a byla jednou z důležitých součástí historie diagnostiky lékařství. Uroskopie je tedy metoda, která je založena na zkoumání moči podle příznaků zjistitelných lidskými smysly, tedy: barvě, konzistenci, chuti a zápachu. Ze sensorického hodnocení zůstalo do současnosti významné pouze hodnocení barvy a zřádku moči.

Využití moči k diagnostice poprvé popsal Hippokrates roku 460-377 př.n.l. Prvním, tehdy ještě nevědomým průkazem bílkoviny v moči, byla tvorba pěny na močovém vzorku. Poté se věnovali diagnostice moči i další antičtí lékaři a podle různých aspektů popsalí onemocnění ledvin, cukrovku, hematurii a jiné. Jejich pokračovatelem byl dále perský lékař Avicenna, který se věnoval metodám sběru a vyšetřování moči. Celkem popsal informace o 17 chorobných stavech.

První racionální diagnostika analýzy moči byla popsána v 18.-19. století. Významným posunem v analýze proteinů v moči byl objev Bence-Jonesovy bílkoviny v moči nemocného (1847). Po rozvoji klinických laboratoří a zavedení analytických vyšetřovacích metod a mikroskopie se analýza moči posunula o mnoho kroků dále. Následovaly objevy hemoglobinurie, melanogenurie, a začalo se používat stanovení kreatininu pro určení glomerulární filtrace. Roku 1957 byly použity první indikátorové papírky pro analýzu moči na průkaz přítomnosti albuminu v moči (Albustix) [3]. Používání multifunkčních diagnostických proužků výrazně usnadnilo základní chemické vyšetření moči, které se tak stalo rychlým a snadno dostupným vyšetřením. Dále pokračoval rozvoj kvantitativních stanovení analytů v moči a morfologické vyšetření močového sedimentu včetně jeho kvantitativního vyhodnocení. V roce 1982 se poprvé objevil důkaz, že mikroalbuminurie je ukazatel diabetické nefropatie [24].

Dynamický rozvoj analýzy moči v poslední době dospěl do používání současných automatických analyzátorů pro chemickou i morfologickou analýzu moči, umožňujících plně automatické zpracování vzorku moči. Samozřejmostí se tak dnes stala i možnost stanovit s využitím těchto analyzátorů albuminurii a také ACR automatickým vyhodnocením diagnostického proužku.

1.2 Současná kritéria hodnocení proteinurie

V klinické laboratorní praxi je nejčastějším příznakem onemocnění ledvin průkaz bílkoviny v moči – proteinurie. Kvalitativně ji lze prokázat pomocí testovacích proužků. Stanovení je obvykle založeno na tzv. proteinové chybě pH indikátoru a důkazem přítomnosti proteinu (albuminu) v moči je posun zbarvení pH indikátoru. Proto je v případě pozitivního kvalitativního nálezu doporučováno kvantitativní stanovení bílkoviny [24].

Hodnocení proteinurie stanovené kvantitativně na analyzátoru se udává v mg/den. Fyziologická proteinurie je složena ze 30 mg albuminu a zbylých 120 mg jsou některé proteiny secernované tubulem (Tamm-Horsfallův glykoprotein a imunoglobulin A). Pro velké molekuly bílkovin včetně albuminu je glomerulární membrána za normálních okolností nepropustná [24].

Sledování denních ztrát bílkovin je ukazatelem progresu onemocnění. Denně je přefiltrováno 150 litrů primární moči a ve filtrátu je několik gramů bílkoviny, která se vstřebává ve zdravé ledvině. Proteinurie do 2 g/den je většinou benigní nález. Nad 2 g/den je ukazatelem glomerulárního poškození a nad 3,5 g/den je považována za nefrotický syndrom [24].

Podle velikosti ztrát (odpadu) bílkoviny do moči za 24 hodin se proteinurie také rozlišuje na:

- malá proteinurie 0,15-1,5g/24 h
- střední proteinurie 1,5-3,5 g/24 h
- velká proteinurie >3,5 g/24 h

Podle studie Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) je proteinurie vyšší než 1 g/den u řady chorob ledvin spojena s rychlejší progresí nemoci. Někdy je potřeba detailně znát i jednotlivé proteiny vylučované do moči. Ke zjištění zastoupení jednotlivých proteinů se obvykle využívá elektroforetické dělení bílkovin v nativní moči [24].

Klasifikace proteinurií podle původu

- Funkční proteinurie: přechodná po námaze, cvičení
- Prerenální proteinurie: zvýšená produkce nízkomolekulárních proteinů
- Glomerulární proteinurie: poškození kapilární stěny glomerulu
- Tubulární proteinurie: poškození tubulů, které ztratily schopnost zpětného vstřebání
- Postrenální proteinurie: bílkovina z močových cest
- Arteficiální proteinurie: cizorodá bílkovina, která byla do moči uměle přidána
- Albuminurie (mikroalbuminurie): přítomnost malého množství albuminu v moči
- Hematurie: přítomnost erytrocytů v moči

- Smíšená proteinurie: tubulární a glomerulární neselektivní proteinurie – kombinace u nefropatií

1.3 Zrod mikroalbuminurie

V roce 1963 popsali Keen a Chlouverakis radioimunoanalýzu pro měření malých koncentrací albuminu v moči pod detekčním limitem v té době existujících metod [14]. Cílem tohoto výzkumu bylo, že se snížením detekčního limitu albuminu v moči bude možné včas diagnostikovat (a možná i léčit) diabetické onemocnění ledvin, které bylo v té době onemocnění téměř vždy s fatálními následky.

Autoři Keen a spol. použili tuto radioimunoanalýzu pro stanovení albuminu v moči následně po provedeném oGTT ve třech skupinách pacientů (normální kontrolní skupina, hraniční diabetici a diabetičtí pacienti) [13]. Práce těchto autorů poukazuje na termín mikro-albuminurie jako takový. Mikro-albuminurie (jako sousloví s pomlčkou) se tímto začala poprvé objevovat v lékařské literatuře. V původním kontextu byl termín používán ve významu malé množství albuminu v moči. Následně pak sloužil k označení malého zvýšení koncentrace albuminu v moči nad hladinu normální albuminurie, ale pod úrovní klinické albuminurie detekovatelné běžnými testovacími proužky.

Pojem mikroalbuminurie dále nabyl na významu, když byla v roce 1982 publikována 14ti letá longitudinální studie, která ukázala, že u diabetu 1. typu mikroalbuminurie předpovídá zvýšené riziko onemocnění ledvin a časnější úmrtnost [16]. Předpovědní

význam mikroalbuminurie pro progresi onemocnění ledvin, kardiovaskulární choroby a vyšší úmrtnost byl následně potvrzen u diabetu 2. typu, arteriální hypertenze a také v běžné populaci.

Počet publikovaných prací o mikroalbuminurii začal od té doby prudce narůstat. Současně se ale začalo objevovat tvrzení, že pojem mikroalbuminurie není správný a že ve skutečnosti neznamena existenci nějaké malé molekuly albuminu v moči. V souvislosti s vylučováním albuminu do moči se začaly objevovat označení oligoalbuminurie, nebo mírná albuminurie.

Výsledky mnoha dalších studií nicméně dokazují, že na mikroalbuminurii lze nahlížet jako na časný marker progresivního onemocnění ledvin u diabetu a současně je jedním z nejsilnějších prediktivních biomarkerů v kardio-renálního onemocnění. Faktem zůstává, že zvýšené vylučování albuminu je znamením časného rizika a míra tohoto rizika se dále zvyšuje se zhoršováním albuminurie [9].

Použití citlivé metody pro stanovení albuminu v moči poprvé umožnilo popsat charakter vylučování albuminu močí u běžné populace v závislosti na poruše glukózové tolerance.

Bylo zjištěno, že vylučování albuminu močí významně souvisí s hladinou glykémie a s hodnotou systolického tlaku. Autoři tehdejších studií předpokládali, že kombinace hyperglykémie a hypertenze by měla vést i ke zvýšení hladiny albuminurie.

Autoři těchto studií prováděli svá pozorování s cílem předpovědět, že léčba hypertenze spojená s cukrovkou může zmírnit, nebo oddálit nástup onemocnění ledvin. Předpovědi se opět ukázaly jako správné a pro následujících 30 let řada klinických studií prokázala, že léčba hypertenze byla klíčová pro ochranu ledvin při cukrovce [9].

2 OBECNÁ ČÁST

2.1 Mikroalbuminurie

2.1.1 Úvod

Albumin je nejvýznamnější bílkovinou tekutin lidského těla. Prochází ledvinami, denně 35-40 kg albuminu. Ledviny dokážou bránit úniku albuminu do moči. Fyziologické hodnoty dospělých osob jsou do 20 µg/min (30 mg/24 hod) tedy normoalbuminurie. Zvýšené hodnoty nad fyziologickou hranici považujeme za mikroalbuminurii (MAU).

MAU je příznakem zvýšené propustnosti albuminu stěnou glomerulárních kapilár nebo jeho nedostatečné reabsorpce v proximálních tubulech [12].

Zvýšení renální exkrece albuminu je součástí průniku albuminu z kapilárního řečiště a její zvýšení způsobuje rozvoj aterosklerózy v orgánech [17].

2.1.2 Definice

Klasifikace albuminurie viz tab. 1.

Označení použitá pro zvýšené hodnoty jsou nepřesná a zavádějící. Molekuly intaktního albuminu mají ve všech třech pásmech stejnou velikost. Hodnoty, které ukazují normoalbuminurii a MAU jsou podmíněny způsobem odběru moči a metodě vyšetření.

Tabulka 1.: Klasifikace albuminurie dle [17]

	24 hod (mg/24 hod)	Noční sběr (µg/min)	Albumin	Pohlaví	Poměr ACR (mg/mmol)	ACR (mg/g)
Normální AU	<15	<10	<10	M	<1,25	<10
				Ž	<1,75	<15
Vysoká normální AU	15-30	10-20	10-20	M	1,25-2,5	10-20
				Ž	1,75-3,5	15-30
MAU	30-300	20-200	20-200	M	2,5-25	20-200
				Ž	3,5-35	30-300
Proteinurie	> 300	> 200	> 200	M	> 25	> 200
				Ž	> 35	> 300

AU-albuminurie, MAU-mikroalbuminurie, M-muži, Ž-ženy, ACR-poměr albuminu a kreatininu

2.2 Mikroalbuminurie a přidružená onemocnění, přehled

2.2.1 *Diabetes mellitus*

MAU může být známkou počínající diabetické nefropatie. V prvních letech onemocnění diabetem 1.typu se trvale zvýšené vylučování albuminu neobjevuje. Rizikovými faktory rozvoje jsou nedostatečná metabolická kontrola a hypertenze.

MAU ohrožuje diabetiky 1. i 2.typu progresí diabetické nefropatie. Diabetiky 2.typu navíc ohrožuje vznik kardiovaskulárních chorob. Je důležitá i ve vztahu k makroangiopatickým komplikacím. Při delším trvání diabetu obou typů je riziko mortality až 70 % [17].

2.2.2 *Esenciální hypertenze*

MAU vzájemně souvisí s hodnotami systolického a diastolického tlaku, s hypertrofií levé srdeční komory, s kardiovaskulární morbiditou i mortalitou. Není pouze důsledkem hypertenze, ale je nejspíš vázána na změny propustnosti kapilární stěny.

Lidé, kteří se léčí s hypertenzí, jsou pravidelně sledováni i na přítomnost mikroalbuminu v moči a jeho snížení je známkou úspěšné léčby [17].

2.2.3 *Gravidita*

MAU je také ukazatelem vývoje těhotenské hypertenze. Zvýšená hodnota albuminu v moči může být známkou zvýšení krevního tlaku několik týdnů před porodem. MAU se vyskytuje u 15 % těhotných diabetiček v 15.-20. týdnu gravidity [17].

2.2.4 *Jiná onemocnění a metabolické odchylky*

Zvýšená hodnota albuminu v moči se také vyskytuje u jedinců s metabolickým syndromem, obezitou, hyperlipoproteinemií, hyperfibrinogenémií, chronickým etylizmem a retardací růstu [17]. Mikroalbuminurie nastává v souvislosti s obezitou,

inzulínovou rezistencí a diabetem, jakož i dalšími příznaky metabolického syndromu jako je např. dyslipidémie. Mikroalbuminurie bývá také znakem řady zánětlivých stavů, ale může být také reakcí na fyziologické abnormální stresory, jako je intenzivní cvičení, hypoxie ve vysokých nadmořských výškách, která odezní po odstranění stresu, což naznačující přechodnou a proměnlivou povahu MAU související s napětím cévní stěny [1].

2.3 Diabetes Mellitus a mikroalbuminurie

2.3.1 Úvod

Diabetická nefropatie často provází vylučování albuminu do moči. To často provází zvyšování krevního tlaku a snižování glomerulární filtrace až do konečného selhání ledvin.

Trvalé zvyšování vylučování albuminu do moči je kritériem stupně diabetického ledvinného postižení. Rychlost vylučování albuminu do moči v časovaném sběru napomáhá hodnocení stavu pacienta.

Dnes se ale ve většině laboratoří používá ACR v ranním vzorku moči. ACR je ovlivňován mnoha faktory např.: cvičení, infekce, srdeční selhání, horečka aj. Důležité je taky dbát na preanalytickou část odběru vzorku, tedy nesprávný sběr moči. Pro definitivní potvrzení MAU nutná pozitivita 2-3 vzorků sběrů moči v průběhu 4-6 měsíců [15].

2.3.2 Diabetes mellitus 1. typu

Při onemocnění DM jsou často přítomné odchylky renální funkce. Jde o glomerulární hyperfiltraci, zvýšené vylučování albuminu do moči a zvětšené ledviny. U většiny pacientů se hodnoty vrací do normálu po zahájení léčby inzulinem.

U pacientů se podle délky onemocnění objevují různé hodnoty albuminu v moči. Ne u každého pacienta vždy močová exkrece albuminu přejde do mikroalbuminurie nebo

až do postupného selhávání ledvin. U těch, kteří se dostanou do fáze selhání ledvin se objevuje prudký vzestup močové exkrece albuminu v prvních 10 letech onemocnění.

Delší trvání diabetu (15-20 let), cca 1,5-2,5 % pacientů s normální exkrecí močového albuminu ročně přechází do stadia MAU. Rizikem pro tento přechod je špatná kompenzace diabetu spojená s vysokým krevním tlakem a přítomností retinopatie.

Studie dokazují že asi u 30 % pacientů s MAU se močová exkrece albuminu vrátí do normálu, 50 % zůstane mikroalbuminurických a u 20 % se rozvine proteinurie během 5-9 roků [15].

U dětských diabetiků hraje pro rozvoj MAU velkou roli období dospívání. Důležitou roli hrají hladiny pohlavních hormonů nebo růstové faktory. Záchyt MAU je častější u dívek, na rozdíl od dospělosti, kdy je tomu naopak a výskyt je častější u mužů. Tento fakt byl potvrzen v této práci (viz tab. 6).

2.3.3 *Diabetes mellitus 2.typu*

Průběh rozvoje MAU je u tohoto typu velmi podobný rozvoji MAU u DM 1.typu, i když s některými důležitými rozdíly. Při zjištění tohoto typu onemocnění může být exkrece močového albuminu normální nebo vysoká. U některých pacientů se po léčbě vrací do normálu, avšak u většiny přetrvává vysoká hladina, a tak vzniká strukturální poškození ledvin.

Progrese z normální exkrece močového albuminu k MAU nastává u cca 4 % pacientů s DM 2.typu je tedy o něco vyšší než u DM 1.typu. Mezi faktory ovlivňující hodnoty MAU patří hladina glykovaného hemoglobinu, hodnoty krevního tlaku a hladina cholesterolu v séru. Udává se, že mortalita na kardiovaskulární onemocnění je 3krát vyšší u diabetiků 2.typu než u nedíabetiků, a dokonce 37krát vyšší u diabetiků s nefropatií než u pacientů s nefropatií bez diabetu.

Díky vysoké převaze hypertenze u diabetiků 2. typu (až 91 %) je vztah mezi hypertenzí a MAU a proteinurií méně zřejmý než u diabetiků 1. typu. Nicméně většina pacientů s MAU nebo proteinurií má hypertenzi, a krevní tlak u těchto pacientů a tento vztah se zvyšující se albuminurií roste.

MAU u diabetiků 1. typu je převážně ukazatel diabetické nefropatie, kdežto u diabetu 2. typu je ukazatelem rizika kardiovaskulárního onemocnění [15].

2.4 Komplikace diabetu, diabetická nefropatie

Diabetická nefropatie je onemocnění ledvin vznikající na základě morfologických a funkčních změn ledvin u nemocných s diabetem 1. a 2. typu. Onemocnění vzniká díky metabolickým poruchám a genetickým predispozicím, které nebyli dosud přesně určeny.

Hlavními klinickými projevy jsou narůstající albuminurie, proteinurie, hypertenze a porucha renální funkce. Diabetická nefropatie nastává většinou po 10 letech onemocnění diabetem. Téměř vždy je jeho součástí diabetická retinopatie a neuropatie s výskytem kardiovaskulárních onemocnění. Diabetické onemocnění ledvin dnes představuje hlavní příčinu vzniku chronického selhání ledvin [18].

Normální albuminurie je obvykle definovaná hodnotou ACR do 3 mg/mmol kreatininu. Počínající diabetické onemocnění ledvin je přítomno, je-li prokázána albuminurie 2. stupně (ACR 3-30 mg/mmol kreatininu).

K orientačnímu vyšetření albuminurie jsou vhodné i testovací proužky či tablety (hranicí citlivosti bývá koncentrace albuminu 20 mg/l), pozitivní nález by však měl být ověřen standardním kvantitativním postupem [18].

Také bylo zjištěno, že rychlost vylučování albuminu močí narůstá u pacientů s déle trvajícím DM. To prokazuje progresivní průběh onemocnění. Obecně bývá diabetická nefropatie diagnostikována po 4 letech trvání DM a rychlost vylučování albuminu může být i vyšší než 300 mg/24 hodin. To znamená že se funkce ledvin začne zhoršovat vlivem nedostatečné kompenzace hladiny glukózy v krvi a nástupem chronické hyperglykémie. Po deseti letech onemocnění se stává, že se rychlost vylučování albuminu navrátí do rozmezí 200-300 mg/den. To je způsobenou terapií antidiabetiky a antihypertenzivy, které působí na ledviny ochranným vlivem. Studií bylo zjištěno, že na hladině rovné nebo vyšší než 30mg/g je senzitivita stanovení ACR 95,9 % a specifita 100 %. Vysoké hodnoty senzitivity ACR lze využít především pro screening diabetické nefropatie u pacientů s chronickou hyperglykemií [7].

2.4.1 Epidemiologická charakteristika

Diabetickým onemocněním ledvin bylo v minulosti postiženo až 30 % nemocných s diabetem 1. typu, i když údaje z řady zemí ukazují na snižování jeho výskytu a rychlosti progresu jako nepochybný důsledek progresu zlepšení preventivní a léčebné péče. Data o výskytu diabetické nefropatie u nemocných s diabetem 2. typu jsou méně spolehlivá. Podle pravděpodobně neúplných statistických dat bylo v roce 2015 onemocnění ledvin jako komplikace diabetu v České republice přítomno u více než 104 tisíc (asi 12 %) nemocných s diabetem, z nichž 38 tisíc mělo sníženou glomerulární filtraci ve smyslu Glomerular Filtration Rate (GFR). Ve stejném roce tvořili nemocní s diabetem 41 % pacientů zařazených v ČR do pravidelného hemodialyzačního režimu. Nutno ovšem zdůraznit, že ne všechny případy selhání ledvin u nemocných s diabetem jsou podmíněny diabetickým onemocněním ledvin [18].

2.4.2 Morfologická charakteristika

Na vzniku diabetické nefropatie se podílejí dva faktory: metabolické a hemodynamické. Mezi metabolické faktory patří: dlouhodobá hyperglykémie, oxidační stres, následná glykace proteinů prostřednictvím polyolové cesty metabolismu glukózy.

K hemodynamickým faktorům patří systémová a intraglomerulární hypertenze, která působí na produkci cytokinů a růstových faktorů [18].

2.4.3 Klinická charakteristika diabetické nefropatie

Onemocnění se projevuje zvyšující se albuminurií a snižující se renální funkcí. Klinický průběh uvedený u diabetu 1. typu je hypertrofie a hyperfiltrace ledvin. Některé změny jsou po léčbě inzulínem vratné. Prvním dokazatelným projevem je albuminurie čili zvýšené vylučování albuminu do moči.

Dříve bylo malé množství albuminu v moči označováno jako mikroalbuminurie a pro toto stadium vývoje diabetické nefropatie jsme užívali termín incipientní diabetická nefropatie [18].

Albuminurie indikuje možnost vzniku poškození ledvin, a jeho závažnost úzce souvisí s hodnotami úrovně albuminurie. U pacientů s diabetem 1. typu dochází k postupnému zvyšování albuminurie a krevního tlaku. Při dlouhodobém trvání nemoci dochází k trvalé proteinurii, hypertenzi a klesá i renální funkce. Proteinurie má různé fáze, a může přejít až do nefrotického syndromu. Během onemocnění klesá i glomerulární filtrace. To značí chronické onemocnění ledvin (CKD) s neodkladným zahájením náhrady jejich funkce.

U pacientů s onemocněním diabetu 2. typu je průběh podobný. Je však závislý na věku nemocného, době stanovení diagnózy a případných aterosklerotických komplikací. Albuminurie je příčinou vzniku kardiovaskulárních komplikací.

Onemocnění ledvin při diabetu může mít různý klinický průběh, u části nemocných se zpočátku projevuje pouze albuminurií, jindy pouze poklesem renální funkce, event. mohou být přítomny obě abnormality současně, dáváme v současné době přednost klasifikaci onemocnění ledvin jako komplikaci diabetu, která kopíruje klasifikaci CKD a zohledňuje úroveň GFR a míru albuminurie. Tato klasifikace nahrazuje dříve používané hodnocení stadií diabetické nefropatie [18].

2.4.4 Diagnostika

Zvýšené vylučování albuminu či proteinu do moči, pokles renální funkce či jiné známky může doprovázet poškození ledvin při diabetu, viz tab.2.

Tabulka 2: Definice chronického onemocnění ledvin dle [18]

CKD je obecně definováno jako funkční nebo strukturální abnormalita ledvin, která trvá déle než 3 měsíce a má dopad na zdraví nositele. Kritéria pro CKD (jakékoliv z následujících přítomné déle než 3 měsíce):

- přítomnost poškození ledvin nebo
- pokles funkce ledvin s eGFR $<1,0 \text{ ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^2$

Ukazatele poškození ledvin jsou:

- Albuminurie: ≥ 30 mg/24 hodin nebo poměr albumin/kreatinin $\geq 3,0$ mg/mmol (fyziologická albuminurie je $< 1,0$ mg/mmol kreatininu)
- Nález v močovém sedimentu (např. erytrocytární válce, leukocytární válce, granulované válce)
- Nález ukazující na renální tubulární poruchy = elektrolytové a jiné poruchy vnitřního prostředí způsobené tubulárními poruchami (např. renální tubulární acidóza, renální tubulární proteinurie)
- Histologický nález při biopsii
- Nález zjištěný zobrazovacími metodami (např. polycystické ledviny, hydronefróza způsobená obstrukcí)
- Transplantace ledvin

Tabulka 3: Klasifikace proteinurie a albuminurie [18]

Kategorie	PCR (mg/mmol kreatininu)	Proteinurie (mg/mmol kreatininu)	ACR (mg/mmol kreatininu)	Albuminurie (mg/24 hodin)
Fyziologická až mírně zvýšená	<15	<150	<3	<30
Zvýšená	15-50	150-500	3-30	30-300
Závažná	>50	>500	>30	>300

PCR-protein-kreatininový kvocient v moči, ACR-albumin-kreatininový kvocient v moči

2.4.5 Vyšetření albuminurie/proteinurie**1. Kvantitativní stanovení albuminu a ACR v moči**

Výsledky albuminurie je doporučeno uvádět ve vztahu ke koncentraci kreatininu ve vzorku ranní moče jako poměr ACR (mg albuminu / mmol kreatininu), eventuálně jako koncentrace albuminu v ranní moči (mg/l).

2. Kvantitativní stanovení celkového proteinu a PCR v moči

Výsledky celkové proteinurie je doporučeno uvádět ve vztahu ke koncentraci kreatininu ve vzorku ranní moče jako PCR (g/mmol), eventuálně jako koncentrace proteinu

ve vzorku ranní moči (g/l). U nemocných s nefrotickým syndromem a dobrou spoluprací stále vyšetřuje odpad proteinů do moči za 24 hodin (g/den).

3. Orientační semikvantitativní stanovení albuminu nebo proteinu testovacími proužky

Semikvantitativní stanovení albuminu nebo proteinu se provádí testovacími proužky. Pozitivní výsledky semikvantitativních stanovení albuminu a celkového proteinu je nezbytné potvrdit opakovanou kvantitativní analýzou v klinické laboratoři.

Preferují se vyšetření jednorázového vzorku ranní moče před sběry za časové údobí, protože sběry moče jsou zatíženy velkými chybami na straně pacienta [18].

2.4.6 Vyšetření funkce ledvin

Součástí vyšetření funkce ledvin je sérový kreatinin a odhad glomerulární filtrace (GF). V současné době se GF určuje pomocí markerů filtrace. V praxi používáme k jejímu odhadu například sérovou koncentraci kreatininu, popřípadě cystatin C. Používají se různé formy výpočtů. Dříve se prováděl výpočet tzv. MDRD, který počítá se sérovým kreatininem, ureou, rasou, věkem.

Dnes nejčastěji používaná rovnice CKD-EPI, poskytuje reálnější odhady GFR. Ve výpočtu se používá sérového kreatininu a věku. Výsledek také potom zohledňujeme v závislosti na pohlaví [18].

2.4.7 Léčba diabetické nefropatie

Léčebnými postupy u pacientů s diabetickou nefropatií je důležitá optimální kompenzace hladiny glykémie, včasné nasazení antihypertenzní léčba a restrikce bílkovin v dietě. U pacientů s diabetem 2. typu je předepsána hypolipidemická léčba z důvodu ke snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění. Dalším doporučením pro tyto pacienty s tímto onemocněním je také přestat kouřit [22].

2.5 Kardiovaskulární onemocnění a mikroalbuminurie

Výzkumy dokazují, že stárnutí cév je spojeno s endoteliální dysfunkcí. Projevem je snížený vnitřní arteriální průměr, zvýšení tloušťky cévní stěny a její tuhosti, což nakonec vede k ateroskleróze. Zmíněná endoteliální dysfunkce má nejspíše souvislost s rozvojem mikroalbuminurie. Často se z ní vyvine ateroskleróza.

Bylo dokázáno, že se stoupajícím věkem roste výskyt mikroalbuminurie. Je zde možná souvislost s dalšími klinickými projevy jakož to riziko cévních mozkových příhod, kardiovaskulárního onemocnění či selhání ledvin.

Mikroalbuminurie a snížená rychlost glomerulární filtrace jsou také ukazateli renálních vaskulárních projevů, od systémové endoteliální dysfunkce po systémovou aterosklerózu.

Popsané abnormality, jakými jsou např. endoteliální dysfunkce nebo snížená dilatace cév má souvislost s mikroalbuminurií.

Vylučování albuminu do moči může být odrazem mikrovaskulárních abnormalit, které jsou spouštěči celé řady dalších procesů, na jejichž počátku jsou změny reverzibilní, protože souvisejí s vývojem MAU, která klesá při vhodné terapii hypertenze, obezity, cukrovky a zánětu [1].

2.5.1 Mikroalbuminurie a hypertenze

Podle doporučení Evropské společnosti pro hypertenzi a Evropské kardiologické společnosti [10] je pro esenciální hypertenze doporučován cílový krevní tlak nižší než 140/90 mm Hg pro diabetiky doporučován cílový krevní tlak nižší než 130/85 mmHg, a pro diabetiky s proteinurií cílový krevní tlak dokonce nižší než 125/75 mm Hg.

Mikroalbuminurii lze snížit a zabránit přechodu do zjevné proteinurie razantním snižováním krevního tlaku. Nadací “National Kidney Foundation” je doporučeno, aby byla u osob s diabetem nebo onemocněním ledvin udržována hladina krevního tlaku na hodnotě 130/80 mm Hg nebo nižší. Toho je třeba dosahovat užíváním antihypertenziv, která brání vzestupu MAU a tím i následnému rozvoji proteinurie. V jedné z prospektivních studií u více než 2000 osob bylo prokázáno, že přítomnost

mikroalbuminurie více než zdvojnásobila riziko rozvoje ischemické choroby srdeční. U pacientů s normálním krevním tlakem <140/90 mmHg přítomnost mikroalbuminurie zdvojnásobila riziko rozvoje ischemické choroby ve srovnání se skupinou s normoalbuminurií [2].

2.5.2 Léčba kardiovaskulárního onemocnění

Snížením krevního tlaku docílíme i snížení mikroalbuminurie. Mezi důležité faktory k ovlivnění léčby hypertenze je omezení příjmu kuchyňské soli ve stravě, snížení hmotnosti u obézních, omezení příjmu alkoholu a zanechání kouření. Nedílnou součástí léčby jsou preparáty z řad antihypertenziv (diuretika, beta-blokátory) [4].

2.6 Gravidita a mikroalbuminurie

V těhotenství může být vzestup exkrece albuminu častější. Většinou tento vzestup předchází postupně se zvyšujícím krevnímu tlaku a tím je dáno, že MAU je indikátorem rizika vývoje těhotenské hypertenze.

Mikroalbuminurie byla pozorována u 18 % těhotných žen zahrnutých do studie a byla zjištěna u 14,5 % poprvé těhotných žen. Bylo zjištěno, že vývoj gestační hypertenze ve skupině s mikroalbuminurií je statisticky významný. Riziko předčasného porodu bylo významné u žen s mikroalbuminurií. Proto se dospělo k závěru, že mikroalbuminurii lze považovat za prognostický marker a lze ji použít jako screeningový nástroj pro včasnou detekci gestační hypertenze, preeklampsie a předčasného porodu [16].

3 METODY ANALÝZY

K prvotnímu screeningu vyšetření MAU je testovací proužek určený pro kvalitativní nebo semikvantitativní hodnocení. Pozitivní nález je potřeba ověřit dalším vyšetřením. Dnes nejpoužívanějším vyšetřením je stanovení ACR v prvním ranním vzorku moči. Toto

vyšetření je lepší než stanovení samotné koncentrace albuminu v moči, kterou ovlivňuje hydratace, diuretika a další faktory. Při vlastním stanovení koncentrace kreatininu v séru je nutné přihlížet k pohlaví, etnické příslušnosti, dietním zvyklostem a hodnotě Body Mass Index (BMI) [17].

Ke stanovení koncentrace močového albuminu jsou používány imunochemické metody založené na interakci protilátky s albuminem, např. nefelometrie, imunoturbidimetrie a radioimunoassay (RIA). Neimunoreaktivní podíl albuminu se stanovuje vysokotlakou kapalinovou chromatografií (HPLC). Díky ní lze určit MAU u diabetiků o několik let dříve [17].

Přesné posouzení ztrát albuminu do moči je možné z několika hodinových sběru moči. Nicméně nejčastěji se vyšetřuje poměr ACR z ranního vzorku moči. Intervaly vyšetření jsou 2-3krát během 3-6 měsíců. U pozitivních výsledků provádíme i celkové chemické vyšetření testovacími proužky kvůli možné kontaminaci močovou infekcí (leukocyty) nebo menstruační krví (erytrocyty) [17].

3.1 SCREENINGOVÉ METODY

3.1.1 Testovací proužky

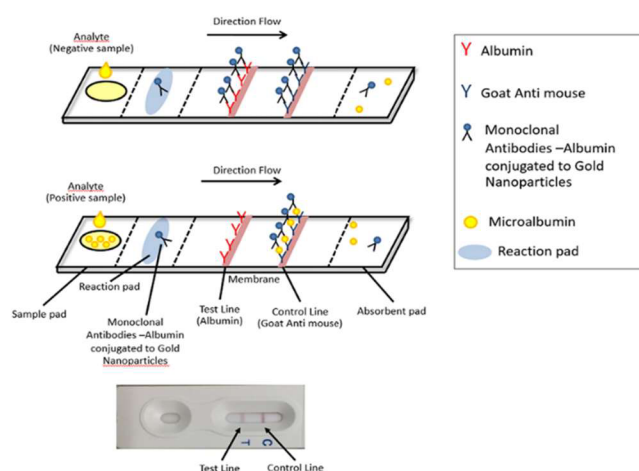
Použití testovacích proužků nebo testovacích kazet pro semikvantitativní stanovení albuminu v moči může být klinicky významné pro časnou fázi detekce MAU.

Hlavní výhodou použití proužků je možnost screeningového použití, jednoduché provedení, ekonomické řešení a současné stanovení proteinurie i MAU najednou mnohdy včetně stanovení kreatininu, které upřesňuje výsledky MAU. Nespornou výhodou je rychlost získání výsledku (do 1 minuty). Mezi dva základní principy metod používaných u diagnostických proužků pro stanovení albuminu patří chemický princip založený na tzv. proteinové chybě acidobazického indikátoru a imunochemický založený na použití značených protilátek proti lidskému albuminu.

Vyhodnocování výsledků testování se provádí buď vizuálně porovnáním s barevnou škálou, nebo reflexní fotometrií analyzátozem. Přes nesporné výhody použití diagnostických proužků, je vlivem omezené citlivosti a specifčnosti stanovení většinou

nutné potvrdit výsledek kvantitativním stanovením MAU, nebo ACR v laboratoři. Vzhledem k nízké senzitivitě, nízké specifičnosti a nízké negativní predikční hodnotě se rutinní screeningové vyšetřování proteinurie (albuminurie) testovacími proužky přestává v běžné populaci doporučovat [23].

Přesto se v poslední době objevují řešení POCT testování MAU, která mají ambice stát se porovnatelnými s kvantitativním stanovením laboratorní metodou [5]. Schéma tohoto imunochemického stanovení viz obr. 1.



Obrázek 1 Schéma testovacího proužku

<https://doi.org/10.1002/jcla.23729>

3.1.2 Testovací proužky firmy Erba Lachema MicroalbuPHAN

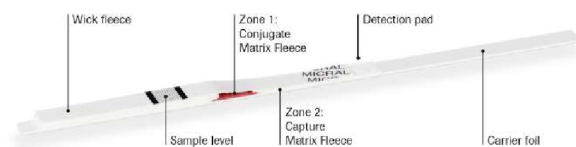
Tyto testovací proužky patří k hojně užívaným v tuzemsku. MicroalbuPHAN je určen pro semikvantitativní stanovení mikroalbuminurie. Je vyhodnocován buď vizuálně, nebo pomocí analyzátoru LAURA Smart. Pro zvýšení přesnosti větší spolehlivost vyhodnocení obsahuje kromě zóny pro stanovení albuminu i zónu pro stanovení kreatininu. Test na stanovení albuminu v moči je založen na principu změny barvy acidobazického indikátoru. Test na stanovení kreatininu v moči je založen na reakci kreatininu s 3,5-dinitrobenzoovou kyselinou v alkalickém prostředí.

3.1.3 Testovací proužky firmy Roche Micral-Test strip

Tento specifický proužek je založen na principu imobilizované zlatem značené protilátky proti lidskému albuminu. Vzorek moči je absorbován testovacím proužkem a před dosažením detekční plošky projde přes následující dvě zóny:

Zóna 1 – zóna konjugace obsahuje volné, zlatem značené protilátky

Zóna 2 – zóna záchytu s fixovaným lidským sérovým albuminem



Obrázek 2 Testovací proužek od firmy Roche

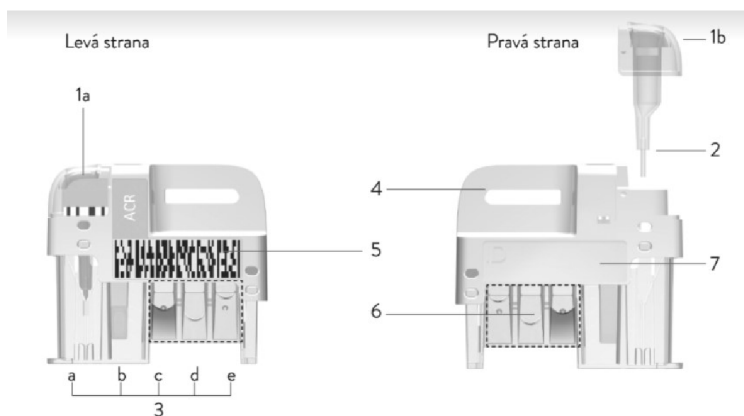
<https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/micral-tests.html>

3.1.4 Testovací souprava AFINION ACR

Afinion ACR je diagnostická testovací souprava in vitro pro kvantitativní stanovení albuminu, kreatininu a poměru albumin/kreatinin (ACR) v lidské moči na POCT analyzátoru AfinionTM2 (Abbott).

Princip stanovení

Albumin je stanovován použitím imunochemického stanovení na pevné fázi. V testovací kazetě Afinion ACR se vzorek automaticky zředí a nasává přes membránu potaženou protilátkami proti albuminu, která koncentruje a imobilizuje albumin ze vzorku. Konjugát zlata a protilátek se pak váže na imobilizovaný albumin a následkem toho se na membráně vytvoří červenohnědé skvrny. Přebytek konjugátu zlata a protilátek se odstraní v kroku promývání. Analyzátor Afinion měří intenzitu zbarvení membrány, která je úměrná množství albuminu ve vzorku. Kreatinin se kvantifikuje s použitím enzymatického kolorimetrického testu zahrnujícího čtyři enzymatické kroky. Test vyžaduje inkubaci se dvěma odlišnými enzymovými roztoky. Zbarvený konečný produkt se měří v jedné z jamek kazety.



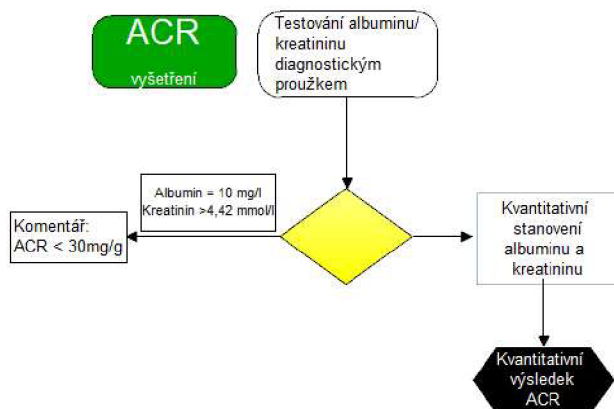
Obrázek 3 Schéma testovací kazety AFINION ACR

3.1.5 POCT vyšetření QuickRead

Důležité místo v POCT diagnostice zaujímá i stanovení albuminu v moči na přístroji QuickRead 101 (Aidian). Kvantitativní test U-ALB umožňuje na tomto přístroji stanovení albuminu v koncentračním rozmezí 5-150 mg/l s rychlou odezvou do tří minut.

Je možné nahradit testovacími proužky kvantitativní stanovení MAU?

Byl popsán postup možné náhrady kvantitativního stanovení albuminu diagnostickým proužkem. V uvedené studii se hodnotí role testování ACR diagnostickým močovým proužkem jako důležitý semikvantitativní nástroj k rozhodování o nutnosti kvantitativního stanovení albuminu v moči. Výzkum ukazuje, že semikvantitativní stanovení ACR diagnostickým proužkem je platný a spolehlivý test k identifikaci pacientů bez patologických hodnot albuminurie, aby se tak omezilo nákladnější kvantitativní stanovení. Je také navržen jednoduchý vývojový diagram, který lze použít k vytvoření algoritmu hodnocení pomocí LIS. Pomocí vytvořeného algoritmu se tak lze vyhnout kvantitativnímu měření u přibližně 40 % vzorků moči, což vede k významným ekonomickým úsporám [21].



Obrázek 4 Vývojový diagram

K hodnocení testovacích proužků byl v této studii použit analyzátor Sysmex U-3500. Test s diagnostickým proužkem na stanovení ACR je založen na proteinové chybě indikátoru (tetrabromfenolová modř) a je vyhodnocován reflexní fotometrií pomocí plně automatického močového analyzátoru U-3500.

Testovací proužek obsahuje tři detekční plochy, dvě pro albumin a jeden pro kreatinin. Citlivější plocha obsahující 10 µg tetrabromfenolové modři s rozsahem měření albuminu do 150 mg/l a méně citlivá plocha, která obsahuje 15 µg tetrabromfenolové modři pro měření albuminu v koncentraci nad 10 g/l a kreatininová plocha založena na principu metody Benedict-Behre s rozsahem měření od 10 do 300 mg/dl. Analyzátor poskytuje semikvantitativní výsledek ACR, v závislosti na získaných hodnotách albuminu a kreatininu a je hlášen jako „normální“, když je pod 30 mg/g, „středně zvýšená albuminurie“, když je hodnota mezi 30 a 300 mg/g nebo „závažně zvýšená albuminurie“ nad 300 mg/g; navíc analyzátor vydává semikvantitativní výsledky albuminu a kreatininu (10,30,80,150 nebo >150 mg/l; resp. 10,50,100,200 nebo 300 mg/dl) [11].

3.2 LABORATORNÍ ANALÝZY

3.2.1 Preanalytické podmínky stanovení albuminu v moči

Moč pro stanovení albuminu skladujeme minimálně 1 týden při teplotě 4-20 °C. Při zmrazení na -20 °C dochází ke snižování koncentrace albuminu. Při teplotách -70°C

a nižších nedochází ke změnám ani po 6 měsících. Koncentrace albuminu v moči jsou ovlivňovány dále akutními chorobnými stavy, infekcí močových cest, zvýšenou fyzickou námahou, zvýšenou koncentrací glukózy v krvi [23].

3.2.2 Rutinní metody

Mezi nejrozšířenější metody kvantitativní stanovení MAU patří metody založené na principu imunoturbidimetrie a imunonefelometrie. Existují důkazy o tom, že tyto metody však nejsou schopné zachytit tu část albuminu, která je fragmentovaná a u které došlo ke ztrátě části imunoreaktivity. Mohou tak v některých případech poskytovat falešně nízké hodnoty. Mez detekce musí dosahovat minimálně hodnoty 20 mg/l albuminu, nebo lépe nižší [23]. Pro kvantitativní stanovení MAU jsou v malém rozsahu používány i jiné metody.

Dalšími metodami, kterými se stanovuje albumin v moči, ale používají se jen v menší míře jsou radioimunoanalýza (RIA), vysokotlaká účinná chromatografie (HPLC), fotometrie, suchá chemie, ELISA nebo elektroforéza.

3.3 METODY VYŠETŘENÍ

Nejčastěji jsou používány dva principy stanovení albuminu v moči a sice imunonefelometrie a imunoturbidimetrie. Základní analytické charakteristiky těchto metod jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Analytické charakteristiky metod používaných ke stanovení mikroalbuminurie, imunonefelometrie (analyzátor Beckman Array), imunoturbidimetrie (analyzátor Dade-Behring) [6]

Metoda	Koeficient variace	Mez detekce
Imunonefelometrie	4,2 % při 12,1 mg/l 5,3 % při 45,0 mg/l	2mg/l
Imunoturbidimetrie	4,1 % při 10,6 mg/l 2,2 % při 77,9 mg/l	6 mg/l

3.3.1 Princip imunonefelometrie

Albumin obsažený ve vzorku moči se dostává do kontaktu s protilátkou proti lidskému albuminu a tím se vyvolá reakce antigen-protilátka za vzniku zákalu. Fotometricky je stanoveno zvýšení rozptýleného světla v důsledku této reakce a tím se zjistí koncentrace albuminu [6].

3.3.2 Princip imunoturbidimetrie

Albumin ve vzorku moči a lidský albumin vázaný na latexové částice „soutěží“ o monoklonální protilátka, a tím dochází k agregaci latexových částic. V důsledku toho je výsledné množství agregace nepřímo úměrné množství albuminu ve vzorku moči. Míra agregace je měřena fotometricky a matematicky prostřednictvím kalibrační křivky je pak převedena na koncentraci albuminu [6]. Na principu imunoturbidimetrie je založena většina stanovení albuminu v moči na automatických biochemických analyzátorech.

3.3.3 Další metody

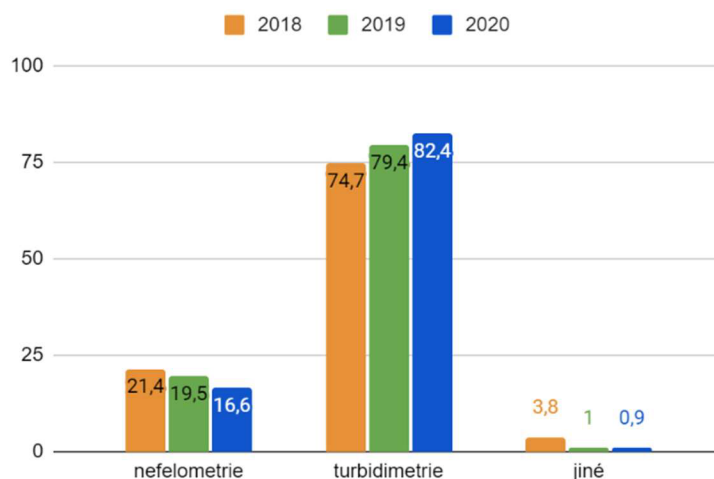
Metodiky využívající vysoce účinnou kapalinovou chromatografii (HPLC) jsou ve srovnání se staršími metodami detekce mnohem citlivější a specifitější a mohou se ukázat jako velmi užitečné pro časnější identifikaci vysoce rizikových pacientů. HPLC na rozdíl od imunochemických postupů je schopna detekce veškerého albuminu včetně imuno-nereaktivního a umožňuje tak klinikům lépe posoudit závažnost onemocnění a monitorovat účinnost léčby s vyšší důvěrou v přesnost naměřených hodnot mikroalbuminurie [6].

Ve studii porovnávající imunoturbidimetrické a HPLC stanovení albuminu v moči bylo prokázáno, že největší rozdíly mezi oběma metodami byly nalezeny u pacientů s diabetem a dosud normální albuminurií zjištěnou imunoturbidimetricky. Na základě tohoto zjištění by bylo 30 % původně zjištěných normoalbuminurií imunoturbidimetricky překlasifikováno jako mikroalbuminurie zjištěné pomocí HPLC. Metoda HPLC však pro svou časovou náročnost a nutnost speciální erudice obsluhy není použitelná v rutinní praxi [8].

Princip RIA spočívá v tom, že albumin ve vzorku moči vytěsňuje izotopově značený lidský albumin s navázanou protilátkou. V důsledku toho je množství značeného albuminu, které zůstává vázáno na protilátku, nepřímo úměrné množství albuminu ve vzorku [6]. Z důvodu rizikové práce s radioizotopy tato metoda není v rutinních laboratořích využívána.

Obrázek číslo 5 uvádí přehled používaných metodik účastníků EHK RfB. Z uvedeného obrázku je zřejmé, že počet účastníků EHK používajících ke stanovení albuminu v moči nefelometrickou metodu meziročně klesá, zatímco počet účastníků používajících turbidimetrii roste. Počet účastníků používajících jiné metody stanovení je trvale velmi nízký a nadále klesá.

Procentuální poměr metodik stanovení albuminu v moči v cyklech EHK RfB Bonn



Obrázek 5 Poměr metodik stanovení albuminu v moči

4 PRAKTICKÁ ČÁST

4.1 Cíl práce

Ve své práci jsem se zaměřila na retrospektivní zkoumání souborů dat získaných v laboratoři Aeskulab k.s. České Budějovice. Zkoumání naměřených hodnot je zacíleno k vyhodnocení požadavků na stanovení albuminu v moči včetně poměru ACR z pohledu diagnózy a odbornosti indikujících lékařů. Dále bylo posuzováno rozložení naměřených hodnot a vývoj objemu požadavků na laboratorní vyšetření v čase.

4.2 METODIKY

Vyšetření albuminu v moči se provádí na automatickém analyzátoru Architect c8000 od firmy Abbott. Metoda je určena ke kvantitativnímu stanovení albuminu v lidské moči.

4.2.1 Fáze před analýzou

Mikroalbuminurie se vyšetřuje pomocí měření vyloučeného albuminu ve vzorcích moči, které mohou být sbírané za 24 hodin, nebo za pevný časový interval. Dnes však nejčastěji za pomoci stanovení poměru albuminu a kreatininu v jednorázových vzorcích moči bez provádění sběru moči. Sběr moči je často zatížen chybami, které znehodnocují výsledek vyšetření. Koncentrace albuminu v jednorázovém vzorku moči je ovlivněna hydratací pacienta. Stanovení poměru proteinu nebo albuminu a kreatininu v jednorázovém vzorku moči umožňuje korigovat odchylky v hydrataci, a navíc se vyhnout chybám, ke kterým může dojít při sběru moči za 24 hodin nebo za určitou dobu [19].

4.2.2 Princip testu

Metoda se nazývá MULTIGENT Microalbumin. Je to turbidimetrická imunoanalýza, která využívá polyklonální protilátky proti lidskému albuminu. Když je vzorek smíchán s reagensii, albumin ve vzorku se naváže na kozi protilátky proti lidskému albuminu

v reagentii za vzniku nerozpustné sraženiny, která způsobí zvýšení zákalu v roztoku. Míra vzniklého zákalu je přímo úměrná koncentraci albuminu ve vzorku a lze jej měřit fotometricky [19].

4.2.3 Reagencie

Reagenční souprava MULTIGENT Microalbumin obsahuje dvě kapalné reagentie. Reagencie 1 obsahuje Goodův pufr, chlorid sodný a hydroxid sodný. Reagencie 2 obsahuje TRIS pufr, koží protilátky proti albuminu, chlorid sodný a kyselinu chlorovodíkovou. Reagentie od výrobce jsou připraveny k přímému použití, jen je potřeba je před použitím jemně promíchat bez případné tvorby pěny. Reagentie se uchovávají v lednici při teplotě 2-10°C a jsou stabilní až do data expirace. Stabilita reagentií po otevření na palubě přístroje je 28 dní [19].

4.2.4 Vzorky

Pro tento typ vyšetření se používají vzorky lidské moči. Vzorek většinou odebírá pacient za 24 hodin, za určitou dobu nebo jako jednorázový vzorek do čistých, nepoužitých odběrových nádobek. Každý pacient by měl od lékaře dostat návod a poučení o tom, jak správně vzorek k analýze albuminu odebrat. Skladování vzorků před nebo po analýze se liší v závislosti na odběru. Vzorky sbírané za 24 hodin nebo za určitou dobu se musí vyšetřit co nejdříve po ukončení sběru. Skladujeme je při teplotě max. 4°C 2 týdny nebo při teplotě – 70°C je lze uchovat až 5 měsíců. Vzorky by se neměly opakovaně zmrazovat a rozmrazovat. Jednorázové vzorky se také vyšetřují ihned po odběru, nejlépe čerstvé. Jejich skladování je případně možné v lednici při teplotě 4°C po dobu max. 6 dní. Vzorky je potřeba vždy před analýzou zkontrolovat, zda neobsahují pevné částice, pokud ano, je nutné je před analýzou promíchat a odstředít [19].

4.2.5 Měření

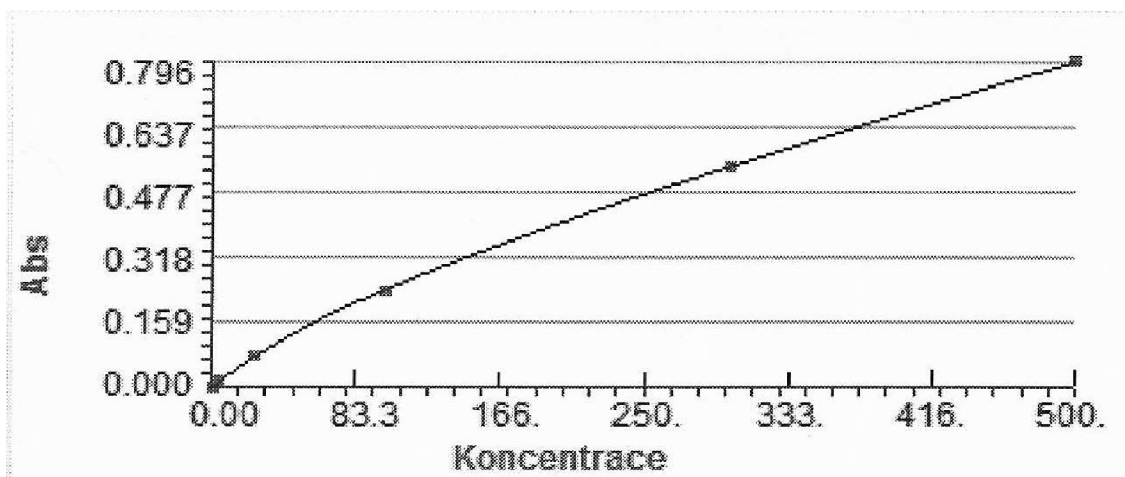
Před každou analýzou vzorků je metoda v analyzátoru připravena k měření. Před analýzou vzorků je provedena kalibrace a kontrola kvality. Tato metoda totiž využívá polyklonální protilátky proti lidskému albuminu, které mohou reagovat s obdobnými proteiny jako je třeba bovinní albumin. Tato zkřížená reaktivita se může lišit mezi šaržemi reagensů a může tak způsobit posun hodnot kontrol. Je třeba kontrolovat každou změnu šarže reagensie nebo kontroly [19].

4.2.6 Kalibrace

Kalibrační sada je také dodávána od výrobce. Kalibrace metody je stabilní 28 dní. Metodu je třeba kalibrovat při každé změně šarže reagensie. Po každé kalibraci je třeba ověřit kalibrační křivku dvěma hladinami kontrol, které se musí nacházet v přijatelném rozmezí hodnot. Z důvodu principu metody se nesmí používat kalibrátory obsahující proteiny, které nejsou lidského původu [19].

Kalibrace je standardně prováděna sadou kapalných kalibrátorů obsahujících lidský sérový albumin hodnotami koncentrace 5-25-100-300-500 mg/l.

Kalibrační návaznost: hodnoty koncentrace albuminových kalibrátorů byly stanoveny turbidimetrickou imunoanalýzou za použití primárního referenčního standardu CRM 470. Kalibrační křivka je vyhodnocena matematickým algoritmem "Spline". Na základě kalibrační křivky jsou následně koncentrace vzorků vypočítány ze změřených hodnot absorbance za použití uvedeného matematického algoritmu.



Obrázek 6 Grafický záznam kalibrační křivky

4.2.7 Referenční meze

Výsledky albuminu v moči se vydávají v jednotkách mg/l. Výsledky ACR se vydávají v jednotkách g/mol. Referenční meze používané v laboratoři Aeskulab České Budějovice pro ACR, viz tab.5.

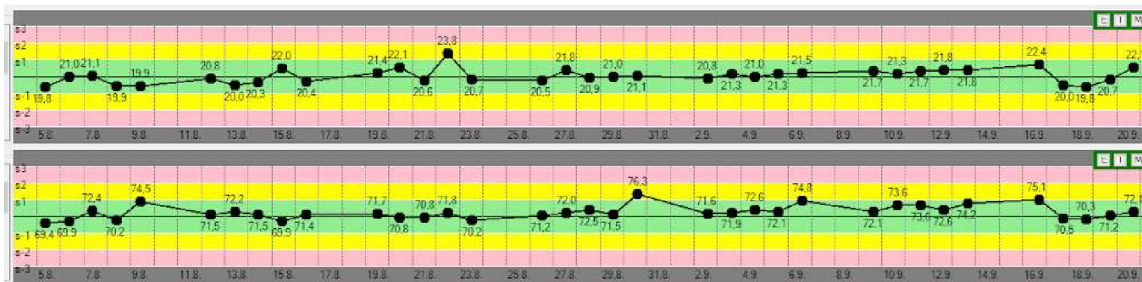
Tabulka 5: Referenční meze mikroalbuminu Laboratoře Aeskulab Č.Budějovice

Pohlaví	Věk	ACR g/mol
M	> 15 R	0 - 2,5
Z	> 15 R	0 - 3,5

4.2.8 Interní a externí kontrola kvality

Interní kontrola kvality (IKK) je prováděna denně při přípravě analyzátoru k činnosti. Jako nezávislý kontrolní materiál je používán kontrolní materiál firmy BioRad “Liquichek Urine Chemistry Control” na dvou hladinách koncentrace. Výsledky analýz kontrolních vzorků jsou následně vyhodnoceny v kontrolním modulu laboratorního informačního systému ENVIS a kontinuálně vizualizovány v podobě Levey-Jenningsových grafů.

Na základě výsledků kontrolních analýz je možné kontinuálně vyhodnocovat přesnost metody pomocí stanovení variačního koeficientu (CV) na každé sledované kontrolní hladině.



Obrázek 7 Zobrazení výsledků kontrolních analýz na obou kontrolních hladinách

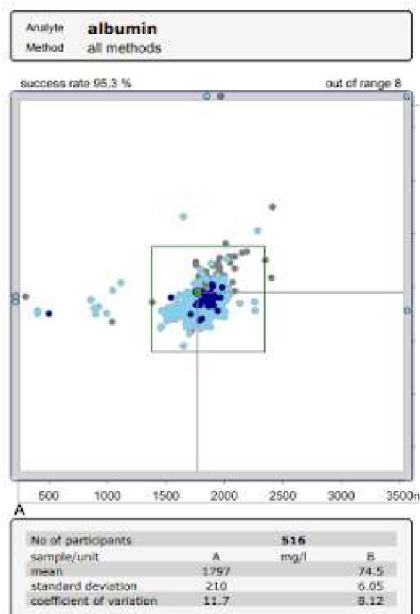
Externí kontrola kvality (EHK) je nedílnou součástí monitorování kvality výsledků a účast v něm je pro akreditovanou laboratoř závazná. Obvyklá kontrola systémem EHK je v případě stanovení albuminu v moči prováděna 2× ročně. Pro EHK stanovení albuminu v moči byl zvolen akreditovaný poskytovatel RfB Bonn. Laboratoř se účastní 2× ročně analýzy a vyhodnocení kontrolních cyklů Klinisch-chemische Analyte im Urin (KU).

Kontrolní vzorky dodané poskytovatelem EHK jsou zpracovány na analyzátoru jako běžné patientské vzorky a výsledky analýz jsou pak zasilány elektronickou formou k vyhodnocení poskytovateli EHK.

Po statistickém zpracování a vyhodnocení výsledků kontrolních výsledků všech účastníků kontrolního cyklu pak každý účastník obdrží certifikát úspěšnosti společně s detailním vyhodnocením vlastních výsledků EHK.

Vyhodnocení vlastního výsledku je provedeno vůči cílové hodnotě koncentrace albuminu v kontrolním vzorku s vyhodnocením kritéria kvocientu D/D_{max} . Je-li $D/D_{max} \leq 1,0$ pak je požadavek splněn a udělen certifikát pro stanovení albuminu v kontrolním vzorku EHK.

Tmavě modré body jsou výsledky účastníků využívajících stejnou metodu stanovení albuminu v moči (v tomto případě Abbott Architect c8000). Bod v průsečíku úseček je pak vlastní výsledek kontrolní analýzy EHK. Čtverec uprostřed grafu představuje akceptovatelné rozmezí hodnot kontrolní analýzy.



Obrázek 8 Grafické vyhodnocení výsledku EHK (Youdenův graf)

Pozn.:D = rozdíl vlastní naměřené hodnoty od cílové hodnoty koncentrace albuminu,
Dmax = maximální povolená diference

4.2.9 Zpracování analytických dat

Všechna data získaná měřením na automatickém analyzátoru se on-line přenáší do laboratorního informačního systému (LIS). V LIS po přenosu dat z analyzátoru probíhá dvoustupňová kontrola výsledků a poté jejich uvolnění k expedici požadujícímu lékaři. V nastavení LIS je zajištěn tištěný i elektronický přenos výsledků. Zároveň je zajištěno zálohování dat pro možnost jejich zpětného obnovení.

4.2.10 Vydávání výsledků

Výsledky vyšetření jsou vydávány v elektronické i tištěné podobě.

BIOCHEMIE – moč			
U_Kreatinin	4,91	mmol/l	5,60 - 14,70
U_Albumin	182	mg/l	0 - 30
U_Albumin/kreatinin	37,1	g/mol	0,0 - 2,5

Obrázek 9 Příklad výtisku patologického výsledku na nálezovém listě

4.3 VÝSLEDKY PRAXE

4.3.1 Celkový přehled naměřených výsledků ACR 2018-2020

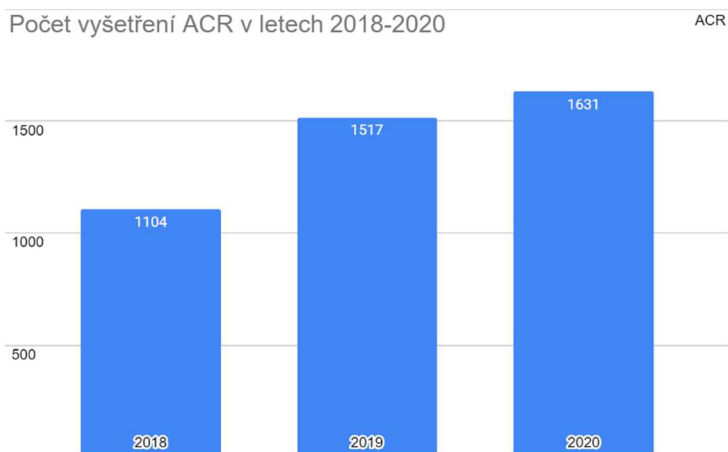
Z celkové statistiky (viz tab. 6) hodnotící ACR podle kategorií normoalbuminurie, mikroalbuminurie a proteinurie je zřejmé, že u žen byly procentuální nálezy v kategorii mikroalbuminurie a proteinurie nižší než u mužů. Výskyt normoalbuminurií byl ve sledovaném souboru u žen o více než 10% vyšší než u mužů.

Tabulka 6: Statistika ACR dle hodnocení a počtu všech vyšetřených pacientů v letech 2018-2020

	Celkem	Normoalbuminurie	Mikroalbuminurie	Proteinurie
Muži		<2,5 mg/mmol	2,5-25 mg/mmol	> 25 mg/mmol
	2207	1 596	503	109
	51,9 %	72,3 %	22,8 %	4,9 %

	Celkem	Normoalbuminurie	Mikroalbuminurie	Proteinurie
Ženy		<3,5 mg/mmol	3,5-25 mg/mmol	> 25 mg/mmol
	2045	1691	283	71
	48,1 %	82,7 %	13,8 %	3,5 %

Na obrázku 7 je ve sloupcovém grafu znázorněn počet vyšetření ACR. Je zřejmý meziroční nárůst během let 2018-2020.



Obrázek 10 Počet vyšetření ACR v letech 2018-2020

4.3.2 Statistický pohled na frekvenci indikace ACR z hlediska lékařské odbornosti

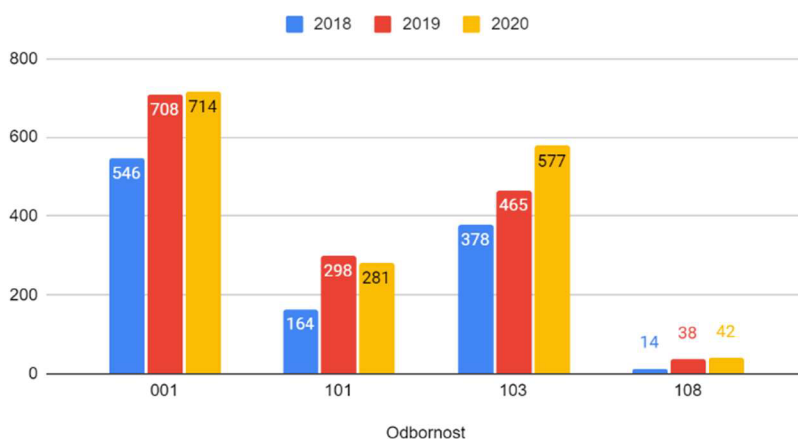
V této statistice (viz tab. 7) je znázorněn počet indikujících lékařů vyšetření ACR.

Tabulka 7: Přehled odborností indikujících vyšetření ACR

Odbornost	Kód	2018	2019	2020	celkem za tři roky
Všeobecné lékařství /praktický lékař	001	546	708	714	46,3 %
Vnitřní lékařství/interna	101	164	298	281	17,5 %
Diabetologie	103	378	465	577	33,4 %
Nefrologie	108	14	38	42	2,2 %

Z uvedených dat je zřejmé, že počet indikovaných ACR vyšetření meziročně roste. Mírnější meziroční nárůst mezi roky 2019-2020 u odborností 001 (praktický lékař) a dokonce pokles u odbornosti 101 (vnitřní lékařství) může být zapříčiněn pandemií COVID-19 a z toho pramenící větší pozornosti lékařů tomuto onemocnění ve všech jeho souvislostech a zřejmě i menší frekvencí návštěv pacientů vlivem restriktivních opatření. Prakticky lineární meziroční nárůst u odbornosti 103 je pozitivní zprávou o rostoucím zájmu diabetologie o toto vyšetření. Relativní počet odbornosti 108 (nefrologie) byl meziročně pozoruhodně nízký.

Přehled požadavků na ACR dle odborností v letech 2018-2020



Obrázek 11 Přehled požadavků na ACR dle odborností

4.3.3 Statistika požadovaných vyšetření ACR vzhledem k diagnóze

Z LIS laboratoře Aeskulab jsem do tabulky (viz tab.8) zaznamenala počet pacientů, kteří v závislosti na diagnóze byli vyšetřeni na ACR. V letech 2019-2021 bylo v této laboratoři vyšetřeno 4252 pacientů na ACR s různými diagnózami.

Tabulka 8.: Počet vyšetření ACR vzhledem k diagnóze

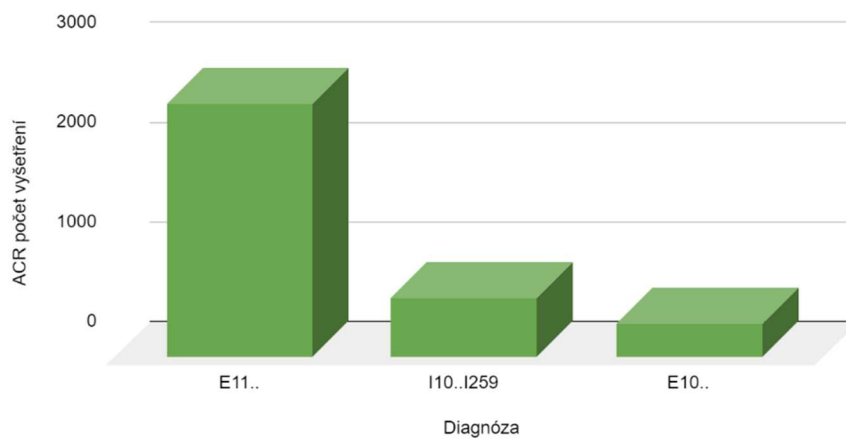
		Celkový počet ACR 4252	
Diagnózy			%
Diabetes mellitus 2.typu	E11...	2551	60,0 %
Hypertenze + ICHS	I10...I259	603	14,2 %
Diabetes mellitus 1.typu	E10...	345	8,1 %

Z celkového počtu indikovaných vyšetření ACR v letech 2018-2020 bylo 61% požadavků přidruženo k diagnóze DM 2.typu a 8,3 % k diagnóze DM 1.typu. 14,3% požadavků bylo požadováno u pacientů s diagnózou hypertenze. Z přibližně 16,5% zbylých požadavků na vyšetření ACR bylo nejvíce požadováno pro

diagnózu Z000, tj. celkové lékařské vyšetření 6,5 %. Diagnózou, která v počtu požadavků přesáhla 1 % byla ještě diagnóza R739, tj. hyperglykemie NS.

Uvedené statistické hodnocení požadavků potvrzuje domněnku, že převážná část ambulantně sledovaných pacientů přichází s diagnózou Diabetes mellitus nebo Esenciální primární hypertenze, kde včasné zachycení MAU je klíčové pro další vývoj následného onemocnění ledvin a jeho terapii.

Počet vyšetření ACR v letech 2018-2020 v závislosti na uvedené diagnóze



Obrázek 12 Počet vyšetření ACR v letech 2019-2021 v závislosti na uvedené diagnóze

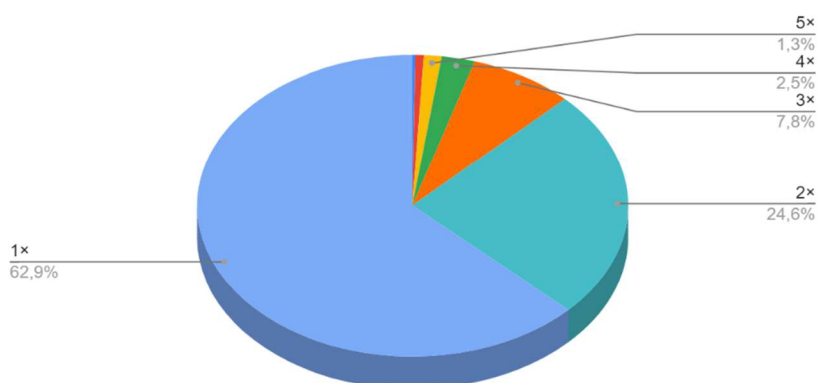
4.3.4 Tabulky s přehledem opakovaných vyšetření ACR

Tabulka 9: Počet vyšetření všech pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020

Počet opakování	Počet pacientů	Počet testů ACR	%
7×	6	42	0,2 %
6×	17	102	0,6 %
5×	36	180	1,3 %
4×	67	268	2,5 %
3×	211	633	7,8 %
2×	665	1330	24,6 %
1×	1696	1697	62,9 %
CELKEM	2698	4252	

Počet opakovaných vyšetření ACR zde koreluje s celkovým nálezem okolo 65% normoalbuminurií a 25 % mikroalbuminurií. Přesto v celkovém průměru připadá na jednoho pacienta pouze 1,5 vyšetření ACR za sledované období.

Počet opakování vyšetření ACR



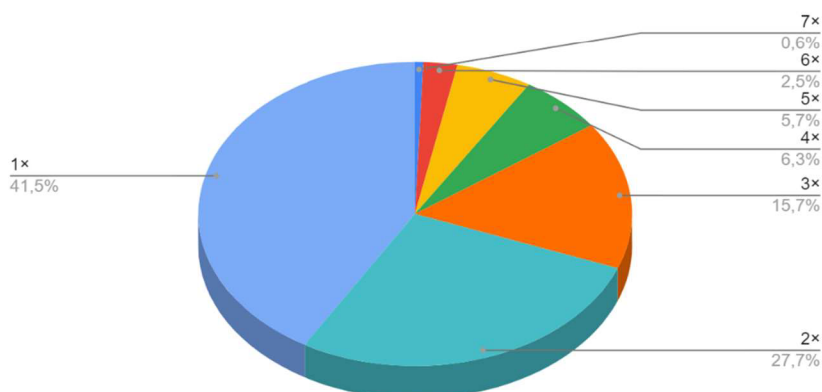
Obrázek 13 Počet opakování vyšetření

Tabulka 10: Počet vyšetření pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020 s diagnózou DM 1.typu

Počet opakování	Počet pacientů	Počet testů ACR	%
7×	1	7	0,6 %
6×	4	24	2,5 %
5×	9	45	5,7 %
4×	10	40	6,3 %
3×	25	75	15,7 %
2×	44	88	27,7 %
1×	66	66	41,5 %
CELKEM	159	345	

U pacientů s DM 1.typu bylo nalezeno 54 % normoalbuminurií (ACR <3), 35,4% mikroalbuminurií (ACR 3-30) a 10,6 % proteinurií (ACR >30). U pacientů s DM 1.typu je již patrné vyšší opakování vyšetření ACR, průměr na jednoho pacienta činí 2 vyšetření za sledované období.

Počet opakování vyšetření ACR u DM 1.typu



Obrázek 14 Počet opakování vyšetření ACR u DM 1.typu

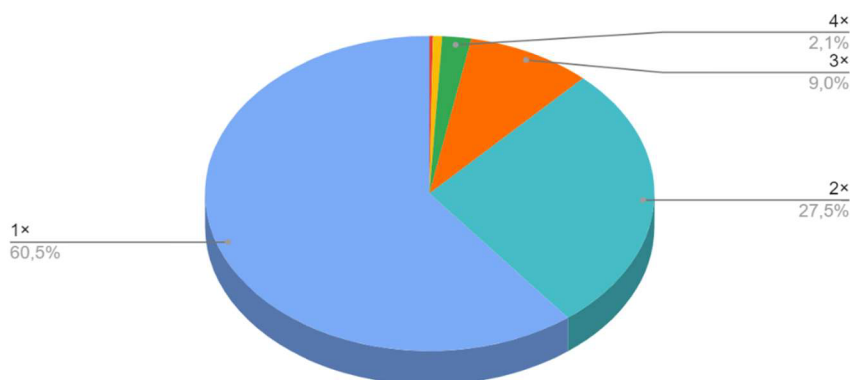
Tabulka 11: Počet vyšetření pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020 s diagnózou DM 2.typu

Počet opakování	Počet pacientů	Počet testů ACR	%
7×	0	0	0,0 %
6×	4	24	0,2 %
5×	11	55	0,7 %
4×	34	136	2,1 %
3×	147	441	9,0 %
2×	451	902	27,5 %
1×	993	993	60,5 %
CELKEM	1640	2551	

U pacientů s DM 2.typu bylo nalezeno 72,3 % normoalbuminurií (ACR <3), 23,3% mikroalbuminurií (ACR 3-30) a 4,4 % proteinurií (ACR >30).

U pacientů s DM 2.typu bylo celkově provedeno nejvíce vyšetření ACR a počet opakovaných vyšetření zůstává podobný celkovému průměru. Na jednoho pacienta připadá 1,5 vyšetření za sledované období.

Počet opakování vyšetření ACR u DM 2.typu



Obrázek 15 Počet opakování vyšetření ACR u DM 2.typu

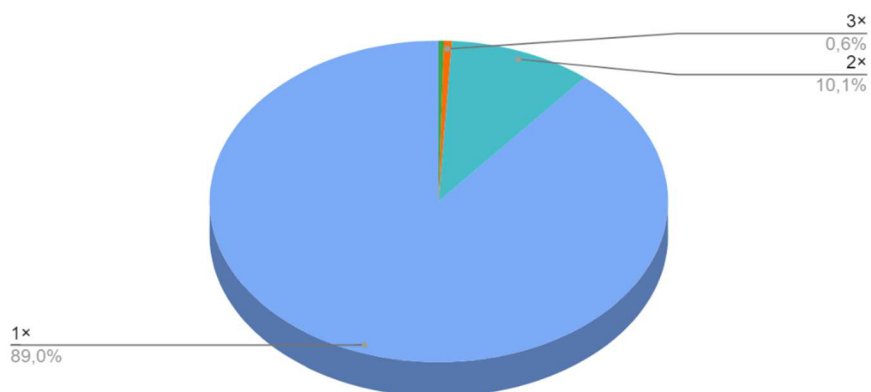
Tabulka 12: Počet vyšetření pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020 s diagnózou hypertenze nebo ICHS

Počet opakování	Počet pacientů	Počet testů ACR	%
7×	0	0	0,0 %
6×	0	0	0,0 %
5×	0	0	0,0 %
4×	2	8	0,4 %
3×	3	9	0,6 %
2×	54	108	10,1 %
1×	478	478	89,0 %
CELKEM	537	603	

U pacientů s hypertenzí a ICHS bylo nalezeno 88,5 % normoalbuminurií (ACR <3), 10,6% mikroalbuminurií (ACR 3-30) a 0,9 % proteinurií (ACR >30).

U pacientů s hypertenzí a ICHS jsou počty opakovaných vyšetření ACR nižší než u DM, zřejmě vlivem výrazně většího počtu normoalbuminurických vzorků v tomto souboru.

Počet opakování vyšetření ACR u hypertenze a ICHS



Obrázek 16 Počet opakování vyšetření ACR u hypertenze a ICHS

Z přehledů celkových počtů vyšetřených ACR vzhledem k diagnózám vyplývá rozdílná potřeba opakovaných vyšetření ACR pro monitorování vývoje mikroalbuminurie v čase. Celkové průměrné počty vyšetření ACR na jednoho pacienta ve sledovaném období se i navzdory vysokému počtu normoalbuminurických vzorků zdají být nízké a naznačují, že stále není úplně doceněn význam stanovení albuminu v moči pro monitorování vývoje mikroalbuminurie, které významnou měrou přispívá k diagnostice a léčbě nefropatie.

Zdrojová data hodnot ACR byla použita z laboratorního informačního systému ENVIS (© DS Soft Olomouc, spol. s r.o.) a statistické přehledy a grafy byly vytvořeny v aplikaci tabulky Google (<https://docs.google.com/spreadsheets>)

5 ZÁVĚR

Záměrem pro vypracování mé práce bylo popsat a zhodnotit vyšetření, které je v praxi ambulantní biochemické laboratoře snadno dostupné a má velký význam ve vztahu k nejrozšířenějším civilizačním onemocněním a sice cukrovce, kardiovaskulárním chorobám a v konečném důsledku onemocnění ledvin. Logicky tak padla volba na vyšetření albuminu v moči.

V obecné části je uveden souhrn informací o vylučování albuminu moči (dříve nesprávně nazývaném mikroalbuminurie) a jeho vztahu k těmto onemocněním. Je zde uveden souhrn základních informací o míře vylučování albuminu do moči a klasifikace albuminurie podle těchto kritérií. Dále je uveden soupis onemocnění, které přímo souvisí se vznikem a progresí albuminurie.

Zvláštní část je pak detailně věnovaná vlivu a důsledkům diabetu na albuminurii a na následné onemocnění ledvin. Jsou uvedeny charakteristiky MAU v obou typech DM a dále popsán vliv MAU na rozvoj diabetické nefropatie. V části metody analýzy je uveden přehled v současnosti používaných metod pro stanovení albuminu v moči

od semikvantitativních testů na bázi diagnostických proužků po imunoturbidimetrická a imunonefelometrická stanovení na automatických analyzátorech.

Praktická část práce shrnuje poznatky o použité metodice stanovení albuminu v moči v konkrétních podmínkách ambulantní biochemické laboratoře. Jsou zde uvedeny konkrétní údaje o použité přístrojové technice a metodě stanovení albuminu v moči včetně popisu řízení interní a externí kontroly kvality.

Výsledky mé práce pak na základě statistického rozboru souboru naměřených dat získaných z laboratorního informačního systému demonstrují přehledy získaných výsledků ACR v období let 2018-2020 podle různých kritérií. Jsou prezentované přehledy o vyhodnocení nálezů podle míry vylučování albuminu močí, o frekvenci požadovaných vyšetření ACR z hlediska lékařských odborností a uváděných diagnóz.

Cílem zpracování laboratorních dat o vyšetření albuminu v moči byla snaha poukázat na snadnou dostupnost toho vyšetření v podmínkách ambulantní biochemické laboratoře i vzhledem k nenáročné preanalytické fázi vyšetření a získání vzorku k analýze (jednorázový odběr moči). Na základě statistických dat pak poukázat na míru a strukturu požadavků na toto důležité vyšetření, které hraje významnou roli v diagnostice nefropatie související hlavně s diabetem a hypertenzí. Vzhledem k platným odborným doporučením týkajících se četnosti vyšetřování albuminurie u diabetu a dalších přidružených onemocnění lze ze statistických výsledků mé práce dedukovat, že počet vyšetření ACR sice meziročně narůstá, ale stále ještě nedosahuje objemu, který by si toto vyšetření zasloužilo.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Abdelhafiz A.H., Ahmed S., El Nahas M., Microalbuminuria: Marker or Maker of Cardiovascular Disease, *Nephron Exp Nephrol* vol. 119, 2011
2. Atul Ch., MD; Bakris G. L., MD, Microalbuminuria: What Is It? Why Is It Important? What Should Be Done About It? An Update. (*J Clin Hypertens.*; 9:196–200), 2007
3. Aukland K., Lygren T., Albustix for Testing Proteinuria a Comparison with Heller's Test Judged by Quantitative Determination of Protein (1959), *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 11:2, 172-176
4. Bouček P., Kvapil M., Monhart V., Pelikánová T., Rychlík I., Šmahelová A., Teplan V., Tesař V., Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin, *ČLS JEP*, 2012, 10
5. Development and validation of point-of-care testing of albuminuria for early screening of chronic kidney disease. *J Clin Lab Anal.* ;35: e23729, 2021
6. Douglas E. Busby, MD, MSc, George L. Bakris, MD, Comparison of commonly used assay for the detection of microalbuminuria, vol.3, 2004
7. Fatrinawati, Windarwati, Osman Sianipar, Accuracy of albumin creatinine ratio in comparison with albumine excretion rate for diagnosis diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus, *J Med Sci*, Volume 50, No. 3: 303-312, 2018
8. Fořtová M., Klapková E., Průša R., Stanovení albuminurie – porovnání imunoturbidimetrické metody a vysokoúčinné kapalinové chromatografie. *Klin. Biochem. Metab.*, 20 (41), 2012, No. 4, p. 216–221
9. Viberti G., Karalliedde J., Commentary: The birth of microalbuminuria: a milestone in the history of medicine, *International Journal of Epidemiology*, Volume 43, Issue 1, February 2014, 18–20
10. Guidelines Committee: 2003 European Society of Hypertension – European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*, 2003; 21: 1011–1053
11. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0546>
12. *International Journal of Epidemiology*, Volume 43, Issue 1, February 2014, Pages 18–20

13. Keen H, Chlouverakis C, Fuller J, Jarrett RJ. The concomitants of raised blood sugar: studies in newly detected hyperglycaemics. *Guy's Hosp Rep* 1969;118: 247–254. Reprinted *Int J Epidemiol* 2014;43:11–15
14. Keen H, Chlouverakis C. An immunoassay method for urinary albumin at low concentrations. *Lancet* 1963;2: 913–14
15. Krusová D., Diabetes Mellitus a mikroalbuminurie, *Vnitřní lékařství* 2007 (12),8
16. Lavanyakumari K., Sangeereni, Sethupathy S. and D., Chithra S., Microalbuminuria: A potential marker for adverse obstetric and fetal outcome, *International Journal of Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2018; 2(5): 64-68
17. Monhart V., Mikroalbuminurie. Od diabetu ke kardiovaskulárnímu riziku. *Vnitřní lékařství*. 2011, 6
18. Pelikánová T., Viklický O., Rychlík I., Saudek, F., Kvapil M., Tesař V., Zima T., Racek J., Bouček P., Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin, *ČLS JEP*, 2018, 43-54
19. Příbalový leták firmy Abbott Mikroalbumin, 2012
20. Příbalový leták firmy Erba Lachema s.r.o., MicroalbuPHAN
21. Salinas M., López-Garrigós M., Flores E., Lugo J., Leiva-Salinas K., On behalf of the PRIMary Care-LABoratory (PRIMLAB) working group, Urinary albumin strip assay as a screening test to replace quantitative technology in certain conditions, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*,vol. 57, 2018
22. Tesař V., Diabetická nefropatie-nové možnosti léčby, 2002,50-55
23. Tesař V., Zima T, Racek J., Teplan V., Friedecký B., Kratochvíla J., Granátová J., Kubíček Z., Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie *ČLS JEP* k vyšetřování proteinurie, 2011,13
24. Tichý M., Monhart V., Analýza moči *Vojenské zdravotnické listy*, 2009 (1), 6
25. Viberti GC, Hill RD, Jarrett RJ, Argyropoulos A, Mahmud U, Keen H. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982; 1:1430–32
26. Zima T., Racek J., Ryšavá R., Čertíková Chábová V., Zieg J., Tesař V., Viklický O., Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin, 2021, 94-103

7 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

7.1 Seznam tabulek

Tabulka 1	Klasifikace albuminurie
Tabulka 2	Definice chronického onemocnění ledvin
Tabulka 3	Klasifikace proteinurie a albuminurie
Tabulka 4	Analytické charakteristiky metod používaných ke stanovení mikroalbuminurie
Tabulka 5	Referenční meze mikroalbuminurie laboratoře Aeskulab k.s. České Budějovice
Tabulka 6	Statistika ACR dle hodnocení a počtu vyšetřených pacientů v letech 2018-2020
Tabulka 7	Nejčastěji indikující odbornosti
Tabulka 8	Počet vyšetření ACR vzhledem k diagnóze
Tabulka 9	Počet vyšetření všech pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020
Tabulka 10	Počet vyšetření pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020 s diagnózou DM 1. typu
Tabulka 11	Počet vyšetření pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020 s diagnózou DM 2. typu
Tabulka 12	Počet vyšetření pacientů podle rodného čísla v letech 2018-2020 s diagnózou hypertenze nebo ICHS

7.2 Seznam obrázků

- Obrázek 1 Schéma testovacího proužku
- Obrázek 2 Testovací proužek od firmy Roche
- Obrázek 3 Schéma testovací kazety AFINION ACR
- Obrázek 4 Vývojový diagram
- Obrázek 5 Poměr metodik stanovení albuminu v moči
- Obrázek 6 Grafický záznam kalibrační křivky
- Obrázek 7 Zobrazení výsledků kontrolních analýz na obou kontrolních hladinách
- Obrázek 8 Grafické vyhodnocení výsledku EHK (Youdenův graf)
- Obrázek 9 Příklad výtisku patologického výsledku na nálezovém listě
- Obrázek 10 Počet vyšetření ACR v letech 2018-2020
- Obrázek 11 Přehled požadavků na ACR dle odborností
- Obrázek 12 Počet vyšetření ACR v letech 2019-2021 v závislosti na uvedené diagnóze
- Obrázek 13 Počet opakování vyšetření
- Obrázek 14 Počet opakování vyšetření ACR u DM 1. typu
- Obrázek 15 Počet opakování vyšetření ACR u DM 2. typu
- Obrázek 16 Počet opakování vyšetření ACR u hypertenze a ICHS

8 SEZNAM ZKRATEK

ACR	Albumin/kreatinin ratio
BMI	Body Mass Index
CKD	Chronické onemocnění ledvin
CV	Variační koeficient
DM	Diabetes Mellitus
EHK	Externí kontrola kvality
GF	Glomerulární filtrace
GFR	Glomerular Filtration Rate
HPLC	Vysokotlaká účinná chromatografie
ICHS	Ischemická choroba srdeční
IKK	Interní kontrola kvality
KU	Klinische-chemisch Analyt im Urine
LIS	Laboratorní Informační systém
MAU	Mikroalbuminurie
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
oGTT	Orální glukózo-toleranční test
PCR	Protein/kreatinin ratio
RIA	Radioimunoanalýza