

Okruhy otázek k atestační zkoušce specializačního vzdělávání v oboru Klinická biochemie

Zdravotní laborant pro klinickou biochemii

I. Laboratorní a přístrojová technika

1. Optické metody. Vlastnosti elektromagnetického záření, základní veličiny a jednotky. Rozdělení optických metod a jejich principy. Molekulová absorpční spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti. Základní části přístrojů – zdroje záření, disperzní prvky, pomocná optika, detektory záření. Hodnocení a chyby spektrofotometrických měření.
2. Atomový absorpční spektrofotometr. Vznik atomových absorpčních spekter. Uspořádání přístroje – zdroj primárního záření, absorpční prostředí při plamenové technice a při elektrotermické atomizaci, disperzní systém, detekce a registrace signálu. Kompenzace pozadí, interference v metodě atomové absorpční spektrofotometrie. Analytické využití.
3. Nefelometrie, turbidimetrie. Uspořádání přístroje – zdroje záření, disperzní systémy, pomocná optika, detektory záření a registrace signálu. Analytické využití, možnosti chyb při měření. Densitometrie, reflexní spektrofotometrie. Uspořádání přístroje, analytické využití.
4. Fotoluminiscence. Molekulová fluorescenční spektrofotometrie. Fluorofory, fluorescenční a excitační spektra, kvantový výtěžek, zhášení fluorescence. Konstrukce fluorimetrů – zdroje záření, disperzní systémy, pomocná optika, detektory záření. Analytické využití.
5. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) a papírová chromatografie (PC). Definice chromatografie, parametry charakterizující chromatografii, rozdělení podle fyzikálního principu a podle uspořádání, síly a efekty, které se u chromatografie uplatňují. Materiály pro tenkou vrstvu, způsoby vyvíjení, detekce a hodnocení chromatogramů.
6. Chromatografie kapalinová (LC). Definice chromatografie, rozdělení podle uspořádání, podle fyzikálního principu, síly a efekty, které se u chromatografie uplatňují. Popis přístrojového vybavení pro kapalinovou chromatografii, druhy kolon a jejich náplně, kapacita kolony, účinnost chromatografické kolony, teoretické patro, eluční čas, eluční objem, způsoby vyvíjení, identifikace látek. Afinitní chromatografie, gelová chromatografie. Popis přístrojového vybavení pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), detektory, typy eluce. Analytické využití.
7. Chromatografie plynová (GC). Definice chromatografie, rozdělení podle fyzikálního principu, síly a efekty, které se u chromatografie uplatňují, druhy kolon, kapacita kolony, účinnost kolon, pracovní techniky. Popis přístrojového vybavení pro plynovou chromatografii, detektory, kombinace plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Popis chromatogramu, retenční charakteristiky. Analytické využití.
8. Elektrochemické metody – rozdělení elektrochemických metod podle principu. Vznik elektrodového potenciálu, Nernstova rovnice, Faradayovy zákony, elektrody prvního druhu, elektrody druhého druhu. Popis skleněné elektrody, iontově selektivní elektrody, elektrody s kapalnou membránou, Severinghausovy elektrody, Clarkovy kyslíkové elektrody, enzymové elektrody. Analytické využití.

9. Osmometrie. Osmotický a onkotický tlak. Měření a výpočet osmolality. Osmometr na principu snížení bodu tuhnutí, osmometr na principu snížení tenze vodních par. Význam měření osmolality - hormonální regulace osmolality.
10. Elektroforetické metody. Princip, nosiče, elektroendoosmóza. Popis zařízení pro elektroforézu, pracovní postup, způsob detekce, elektroforéza na agarozovém gelu, polyakrylamidovém gelu, možnosti automatizace, analytické využití. Kapilární elektroforéza, izoelektrická fokusace, izotachoforéza.
11. Imunochemické techniky. Interakce antigen – protilátka. Výroba antisér, výroba monoklonálních protilátek, křížové reakce. Imunoprecipitační reakce v gelu a v roztoku, rozdělení imunoanalytických metod a jejich principy, způsoby detekce. Standardizace imunochemických metod. Využití v klinických laboratořích.
12. Radioimunoanalýza (RIA). Druhy radioaktivního záření, účinky radioaktivního záření. Klasická RIA, RIA na pevné fázi, imunoradiometrická analýza (IRMA). Přístrojové vybavení, způsob detekce. Analytické využití. Bezpečnostní předpisy.
13. Enzymoimunoanalýza (EIA). Princip podle uspořádání, homogenní EIA (EMIT), heterogenní EIA - (kompetitivní a nekompetitivní ELISA), enzymoimunoanalýza na mikročásticích (MEIA). Přístrojové vybavení, analytické využití.
14. Fluoroimunoanalýza. Princip podle uspořádání, metoda DELFIA, fluorescenční polarizační imunoanalýza (FPIA), fluorescenční imunoanalýza s využitím kryptandů (TRACE). Přístrojové vybavení, analytické využití.
15. Luminiscenční imunoanalýza. Chemiluminiscence, bioluminiscence. Princip podle uspořádání, LIA, ILMA, chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích (CMIA), chemiluminiscenční technika s antigenem na pevné fázi, elektrochemiluminiscence (ECL). Přístrojové vybavení, analytické využití.
16. Automatické biochemické analyzátory. Rozdělení automatických analyzátorů, popis hlavních součástí analyzátorů. Konsolidace a integrace laboratorního provozu. Automatizace a robotizace preanalytické fáze. Laboratorní informační systém.
17. Point-of-care testing (POCT). Druhy POCT. Důvody zavádění POCT, výhody a rizika vyšetřování POCT. Zásady správného zavádění a používání POCT. Zajištění jakosti systému POCT. Principy metod POCT.
18. Průtoková cytometrie. Principy průtokové cytometrie. Popis optických prvků přístroje. Analytické využití v klinické biochemii, hematologii, imunologii.

II. Biochemické vyšetřovací metody

1. Principy metod pro stanovení bílkovin. Celkové bílkoviny, albumin, specifické bílkoviny, frakce bílkovin. Stanovení bílkovin v moči a likvoru. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
2. Laboratorní diagnostika onemocnění diabetes mellitus, příčiny a typy onemocnění, následná péče o diabetiky. Principy metod pro stanovení látek glycidového metabolismu – glukóza, glykovaný hemoglobin. Preanalytická fáze. Základní orientace v metabolismu sacharidů.
3. Principy metod pro stanovení cholesterolu a jeho frakcí HDL, LDL, triacylglycerolů, lipoproteinů. Přehled lipoproteinů, základní orientace v metabolismu. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
4. Principy metod pro stanovení dusíkatých látek nebílkovinné povahy. Močovina, kreatinin, kyselina močová, amoniak. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
5. Principy metod pro stanovení bilirubinu a esterů bilirubinu. Syntéza hemu, degradace hemoglobinu. Metabolismus žlučových barviv, typy hyperbilirubinemií. Patologické deriváty hemoglobinu, principy metod pro stanovení derivátů hemoglobinu. Preanalytická fáze.
6. Principy metod pro stanovení enzymů. AST, ALT, ALP, izoenzymy ALP. Chemická povaha enzymů, koenzymy, enzymová kinetika, využití enzymových reakcí pro stanovení koncentrace substrátů, inhibice, optimální podmínky pro činnost enzymů, názvosloví enzymů. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
7. Principy metod pro stanovení enzymů. GGT, AMS, CK, izoenzymy CK, CK-MB_{mass}. Chemická povaha enzymů, koenzymy, substrátová specifita, specifita účinu, enzymová kinetika, Michaelisova konstanta, inhibice, optimální podmínky pro činnost enzymů. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
8. Principy metod pro stanovení enzymů. LD, izoenzymy LD, LPS, cholinesteráza. Chemická povaha enzymů, koenzymy, substrátová specifita, specifita účinu, enzymová kinetika, inhibice, optimální podmínky pro činnost enzymů. Stanovení katalytické koncentrace enzymu metodou konstatního času a kinetickým postupem. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
9. Principy metod pro stanovení draslíku, sodíku, chloridů, hořčíku. Chemické metody, elektrochemické metody, atomová emisní plamenová spektrofotometrie. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.
10. Principy metod pro stanovení stopových prvků. Esenciální a toxické stopové prvky. Klinický význam stopových prvků – Zn, Cu, Fe, Se, Cr, Mn, I, F, Li, Pb, Al. Preanalytická fáze. Princip atomové absorpční spektrofotometrie.
11. Vnitřní prostředí, obsah vody v organismu, funkce elektrolytů, parametry charakterizující acidobazickou rovnováhu, metabolismus kyslíku. Principy metod pro stanovení – krevních plynů, pH, kyseliny mléčné, ketolátek, amoniaku. Preanalytická fáze. Klinický význam stanovení.

12. Metabolismus vápníku a fosforu. Distribuce a pohyb vápníku v organismu, formy plazmatického vápníku. Řízení metabolismu vápníku. Distribuce fosforu. Principy metod pro stanovení vápníku a fosforu.
13. Laboratorní známky zhoubného novotvaru. Vlastnosti ideálního tumormarkeru, hodnota „cut off“. Validita tumormarkeru (senzitivita, specifita, ROC křivka). Využití tumorových markerů. Jednotlivé tumorové markery a jejich význam. Principy imunoanalytických metod pro stanovení onkogenních markerů.
14. Principy metod pro vyšetření moče. Základní vyšetření moče, mikroskopické vyšetření moče. Barvený močový sediment. Preanalytická fáze. Možnost automatizace vyšetření.
15. Principy metod pro vyšetření mozkomíšního moku. Fyzikální, cytologické a chemické vyšetření mozkomíšního moku. Speciální chemické vyšetření (spektrofotometrie likvoru, funkčnost hematoencefalitické bariéry, intratekální syntéza imunoglobulinů, izoelektrická fokusace bílkovin). Význam cytologického nálezu v diagnostice nervových chorob. Základní cytologické obrazy v mozkomíšním moku – normální, zánětlivý akutní, zánětlivý chronický, reaktivní. Preanalytická fáze.
16. Principy suché chemie, využití v ambulanci lékaře, u lůžka pacienta a v domácí péči. Druhy diagnostických proužků. Reflexní fotometrie, popis přístrojového vybavení, možnosti automatizace. Zásady při práci a význam kontroly kvality.
17. Principy metod pro stanovení markerů kostního metabolismu – markery kostní syntézy a kostní resorpce. Požadavky na ideální kostní marker. Preanalytická fáze. Klinický význam.
18. Principy metod v klinické toxikologii. Otrava, způsoby intoxikace a účinek jedů, klasifikace jedů, jejich biotransformace a vylučování. Biologický materiál k vyšetření. Návykové látky, toxikomanie, typy závislostí. Léky, oxid uhelnatý, metanol, kyanidy, glykoly, pesticidy.

III. Biochemie a klinická biochemie

1. Buňka. Buněčné organely a buněčné membrány. Plazmatická membrána, intracelulární membrány. Transport látek přes membrány – pasivní, aktivní, membránové kanály transport iontů.
2. Aminokyseliny, jejich vlastnosti a rozdělení. Peptidová vazba. Analýza aminokyselin. Struktura bílkovin. Fyzikální a chemické vlastnosti bílkovin. Klinický význam. Polyklonální a monoklonální gamapatie.
3. Nukleové kyseliny. Stavební jednotky nukleových kyselin. Purinové a pyrimidinové báze, nukleosidy, nukleotidy. Struktura nukleových kyselin. DNA jako nositel genetické informace, replikace, mutace. RNA – rozdělení, transkripce, translace. Význam při syntéze bílkovin.
4. Ledviny a močové cesty. Stavba ledvin, funkce ledvin, poruchy funkce ledvin. Proteinurie a jejich dělení. Funkční vyšetření ledvin.
5. Metabolismus železa. Biologický význam. Fyziologické hodnoty. Nedostatek železa, toxicita železa. Stanovení železa, vazebné kapacity železa, transferinu a ferritinu, solubilních transferinových receptorů.
6. Preanalytické vlivy na výsledek laboratorního vyšetření. Pojem preanalytická, analytická a postanalytická fáze laboratorního vyšetření. Faktory ovlivňující spolehlivost biochemických vyšetření – biologické vlivy, příprava pacienta, způsob odběru biologického materiálu, identifikace vzorku, transport a uchování, skladování vzorků v laboratoři, ochrana odebírajícího pracovníka před možnou infekcí, edukace pracovníků, kteří se podílejí na preanalytické fázi.
7. Principy metod pro stanovení markerů srdeční činnosti. Ischemické poškození myokardu, požadavky na markery nekrózy myokardu. Markery nekrózy myokardu – troponin, myoglobin, ischemií modifikovaný albumin, enzymy a isoenzymy. Marker zánětlivého procesu – ultrasenzitivní CRP. Marker srdečního selhání – mozkový natriuretický peptid.
8. Laboratorní vyšetření u onemocnění trávicího traktu. Funkce trávicího ústrojí, trávení, složení a funkce žaludeční šťávy. Průkaz infekce *Helicobacter pylori*. Vyšetření slinivky břišní – akutní a chronická pankreatitida. Testy na poruchu sekrece pankreatu - stanovení aktivity chymotripsinu nebo pankreatické elastázy ve stolici. Testy na poruchu absorpce lipidů, cukrů. Okultní krvácení.
9. Vitamíny. Biochemické funkce vitamínů. Vitamíny rozpustné ve vodě a v tucích. Metody stanovení. Klinický význam.
10. Laboratorní vyšetření v těhotenství. Diagnostika těhotenství, gestační diabetes. Biochemický screening vrozených vývojových vad.
11. Monitorování lékové terapie. Pohyb léčiv v organismu. Přehled stanovovaných léčiv a principy metod používaných při stanovení lékových hladin.
12. Laboratorní vyšetření při onemocnění jater. Struktura jater, metabolické funkce jater. Laboratorní známky poškození hepatocytů. Porucha funkce hepatocytů, porucha exkrece cizorodých a toxických látek – vyšetření s indocyaninovou zelení, MEGX.
13. Volné radikály. Charakteristika, zdroje, Fentonova reakce. Ochranné mechanismy, antioxidanty.

- 14.** Správná laboratorní práce. Struktura dokumentace klinické laboratoře. Požadovaná kvalifikace a školení personálu, prostorové a přístrojové požadavky, archivace dat a písemností, interní a externí audit. Pojmy akreditace, certifikace, legislativa a normy.
- 15.** Kalibrace – metoda jednoho standardu, vícebodová kalibrace, přímý výpočet molárního absorpčního koeficientu. Kalibrace automatického analyzátoru – lineární, nelineární. Referenční materiály, návaznost měření. Metrologická hierarchie metod.
- 16.** Kontrola kvality biochemických vyšetření. Analytická kontrola kvality – interní, externí. Přesnost a správnost metody, chyby laboratorního vyšetření. Lékařská kontrola.
- 17.** Analytické znaky laboratorní metody. Opakovatelnost, reprodukovatelnost, vychýlení, mez detekce, mez stanovitelnosti, výtěžnost, pracovní rozsah měření. Porovnání metod. Odhad nejistoty měření. Validace, verifikace analytických metod.
- 18.** Bezpečnost a ochrana zdraví při práci v laboratoři klinické biochemie. Základní bezpečnostní předpisy, rizika provozu laboratoře. Chemické látky, riziko požáru.

Doporučená literatura

1. ČERMÁKOVÁ M., ŠTĚPÁNOVÁ I., *Klinická biochemie 1. díl*. Brno: NCO NZO, 2003. 120 s. ISBN 80-7013-372-4.
2. ČERMÁKOVÁ M., ŠTĚPÁNOVÁ I., *Klinická biochemie 2. díl*. Brno: NCO NZO, 2005. 164 s. . ISBN 80-7013-424-0.
3. ČSN EN ISO 9001. *Systémy managementu jakosti – Požadavky*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2009.
4. ČSN EN ISO 15 189. *Zdravotnické laboratoře - Zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost*. Praha: Český normalizační institut, 2007.
5. ČSN EN ISO/IEC 17025. *Posuzování shody - Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří*. Praha: Český normalizační institut, 2005..
6. DASTYCH M., BREINEK P. aj. *Klinická biochemie* . Brno: MU, 2008. 232 s. ISBN 978-80-210-4572-9.
7. FAIT, T. *Preventivní medicína* . 2. rozšíř. a přeprac. vyd. . Praha : Maxdorf , 2011 . 770 s. ISBN 978-80-7345-237-7.
8. FRIEDECKÝ B., KRATOCHVÍLA J. *Analytická kvalita v klinické laboratoři*. Pardubice: SEKK, 2002. (CD-ROM).
9. CHROMÝ V., FISCHER J., HAVEL J., VOTAVA M., *Bioanalytika: Analytická chemie v laboratorní medicíně*. 1.vyd. BRNO: MU, 2002. 268 s., ISBN 80-210-2917-X.
10. JABOR A., ZÁMEČNÍK M. *Encyklopedie laboratorní medicíny. 1. část. verze 05*. 503 s. Pardubice: SEKK, 2005. ISBN 80-238-9775-6 .
11. KLOUDA P. *Moderní analytické metody*. 2. uprav. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
12. MATÝŠKOVÁ M., ZAVŘELOVÁ J., ZAVŘEL, S., *Systém managementu jakosti – Využití v laboratoři* 1. vyd. Brno: IDV PZ, 2002. 87 s. ISBN 80-7013-367-8
13. NENADÁL J. *Moderní systémy řízení jakosti*. 2.dopl.vyd. Praha: Management Press, 2002. 282 s. ISBN 80-7261-071-6.
14. NOVÁK F. *Úvod do klinické biochemie*. Praha: Karolinum, 2002. 341 s. ISBN 80-246-0366-7
15. ODSTRČIL, J. *Biochemie* . Vyd. 2. uprav. . Brno : NCO NZO, 2005 . 161 s. . ISBN 80-7013-425-9.
16. OPEKAR, F: *Základní analytická chemie*. Praha: Karolinum, 2003. 201 s. ISBN 80-246-0553-8.
17. PEŠTÁLOVÁ M. *Toxikologie*. Brno: NCO NZO, 2003. 37 s. ISBN 80-7013-382-1 .
18. RACEK J. *Klinická biochemie*. 2. přeprac. vyd. Praha: Galén, 2006. 329 s. ISBN 80-7262-324-9.

19. SCHNEIDERKA P. *Kapitoly z klinické biochemie*. 2. dopl. a přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2004. 365 s. ISBN 80-246-0678-X.
20. SOŠKA V. *Poruchy metabolismu lipidů*. Praha: Grada, 2001. 180 s. ISBN 80-247-0234-7.
21. ŠTERN P. *Obecná a klinická biochemie pro bakalářské obory studia*. Praha: Karolinum, 2005. 219 s. ISBN 80-246-1025-6.
22. ZIMA T. *Laboratorní diagnostika*. 2. dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, 2007. 906 s. ISBN 978-80-7262-372-3.
23. Zákon 258/2000 Sb. *o ochraně veřejného zdraví*. Sbírka zákonů ČR, 2000, částka 74. ISSN 1211-1244.