

Praktické cvičení č. datum: _____ jméno: _____

Téma praktika:

Interference (hemolýza, lékové interference), ověření rozsahu měření metody, jiný biologický materiál

Okruhy k nastudování a dotazy

1. Trinderova reakce
2. Od jaké koncentrace hemoglobinu může docházet k významným interferencím hemolýzou u metod LD, AST, Bil-D, K?
3. Jakými způsoby/mechanismy může hemolýza interferovat při stanovení?
4. Jaké jsou některé další časté interferenty?
5. Jaký je analytický rozsah metody GLUC3 uváděný výrobcem?

Přístroje a pomůcky:

Automatický biochemický analyzátor

Vzorky

Úkoly:

I. Interference způsobená hemolýzou

- 1) Připravte si hemolýzát - ze vzorku plné nesrážlivé krve přepipetujte 1 000 ul do zkumavky a zmrazte.
- 2) Připravte vzorky o celkovém objemu 240 ul s přidavky hemolýzátu (H) a blanku (deionizovaná voda) dle uvedených tabulek 1 a proveďte analýzu vyšetření LD, AST, BILD a K na analyzátoru c8000.
- 3) Výsledky запиšte do tabulky 2 a v závěru okomentujte.

Tabulka 1 – Přidavky blanku (deionizovaná H₂O) a hemolýzátu:

	Směsné sérum (ul)	Přídavek hemolýzátu (ul)	Přídavek deionizované vody (ul)
Vzorek 1	200	0	40
Vzorek 2	200	10	30
Vzorek 3	200	20	20
Vzorek 4	200	40	0

Tabulka 2 – naměřené výsledky:

	LD (ukat/l)	AST (ukat/l)	BilD (umol/l)	K (mmol/l)
Vzorek 1				
Vzorek 2				
Vzorek 3				
Vzorek 4				

- 4) Změřte spektrum připraveného hemolýzátu v rozmezí vlnových délek 380-700 nm a vytiskněte absorpční spektrum. To stejné proveďte pro hemolýzát 50x, 100x a 200x naředěný do 2 ml celkového objemu.

Závěr: _____

II. Interference způsobená léky – (vysokou koncentrací analytu)

- 1) Připravte si zásobní roztok Dicynonu (D) o koncentraci 500 mg/l z komerčně dostupného Dicynonu o koncentraci 125 mg/ml.
- 2) Ze zásobního roztoku Dicynonu o koncentraci 500 mg/l připravte vzorky séra o celkovém objemu 200 ul s přídatkem Dicynonu (D) tak, aby celková koncentrace Dicynonu byla 0, 40, 80 a 160 mg/l.
- 3) Dobře promíchejte. V připravených vzorcích změřte na analyzátoru c8000 kreatinin, kyselinu močovou, triglyceridy a cholesterol.
- 4) Výsledky zapište do tabulky a v závěru okomentujte.

Tabulka 1 – s přídatkem blanku (deionizovaná H₂O):

	Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	Kys. močová ($\mu\text{mol/l}$)	Triglyceridy (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)
Vzorek 1: 0 mg/l H ₂ O				
Vzorek 2: 40 mg/l H ₂ O				
Vzorek 3: 80 mg/l H ₂ O				
Vzorek 4: 160 mg/l H ₂ O				

Tabulka 2 – s přídatkem dicynonu (D):

Vzorek 1: 0 mg/l D				
Vzorek 2: 40 mg/l D				
Vzorek 3: 80 mg/l D				
Vzorek 4: 160 mg/l D				

	ΔKreatinin (%)	ΔKys. močová (%)	ΔTriglyceridy (%)	ΔCholesterol (%)
Vzorek 2				
Vzorek 3				
Vzorek 4				

Závěr:

III. **Ověření rozsahu měření metody**

1. sledování průběhu reakce metody použité pro stanovení glukózy

- v databázi analyzátoru prohlédněte průběh reakce vzorku sérové glukózy o koncentraci cca 13,3 mmol/l
- z průběhu reakční závislosti určete o jaký typ reakce se jedná

2. vymezení horní hranice pracovního rozsahu metody

- Připravte zásobní roztok glukózy 200 mmol/l ve 100 ml odměrné baňce, $M_r(\text{glu})=180,16$ g/mol.
- Ze zásobního standardu glukózy koncentrace 200 mmol/l připravte ředěním deionizovanou vodou řadu vzorků o koncentracích uvedených v tabulce 1 tak, aby výsledný objem naředěných vzorků byl 2,0 ml.
- Vzorky dobře promíchejte a analyzujte a změřte na analyzátoru.
- Naměřené hodnoty koncentrací zapište do tabulky 1 (bez opakování, bez ředění).
- V Excelu sestrojte graf závislosti průměrných koncentrací glukózy nalezených ve vzorcích na teoretických koncentracích z tabulky 1; ze znázorněné závislosti odhadněte horní hranici pracovního rozsahu analytické metody.

Tabulka 1

Číslo vzorku	Koncentrace glukózy	Naměř. Konc. gluk. (mmol/l)
	(mmol/l) (teoretická)	
1	200	
2	100	
3	50	
4	25	
5	12,5	
6	6,25	

Závěr: _____

IV. Jiný biologický materiál

- 1) Připravit vzorky JBM, seznámit se se zadáváním požadavků na vyšetření JBM do LIS, seznámit se s metodami pro vyšetření JBM.

- 2) Posoudit výsledky vzorků (transsudát x exsudát), pokuste se zjistit, jaký jiný biologický materiál je obsažen v analyzovaném vzorku.

Závěr: _____

