# **Praktické cvičení č.**  datum:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ jméno:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

*Téma praktika:*

**Interference (hemolýza, chylozita, bilirubin )**

***Okruhy k nastudování a dotazy:***

1. Přečtěte si protokol a nastudujte si, jak vypadá hemolytické, chylózní a ikterické sérum.
2. Co je to hemolyzát?
3. Které lipidové částice nejčastěji způsobují chylozitu?

***Přístroje a pomůcky****:*

Automatický biochemický analyzátor

Sérové vzorky (hemolytické, chylózní, ikterické)

***Úkoly:***

1. Seznámit se s vizuální klasifikací hemolytických, chylózních a ikterických vzorků –

 např. slabá hemolýza

 hemolýza

 silná hemolýza

1. Z většího počtu (200) vyberte a slovně ohodnoťte hemolytické, chylózní a ikterické vzorky
2. Seznámení s jinými typy interference:

Léky – např. diuretika a kortikosteroidy zvyšují kreatinin, marihuana a vankomycin kreatinin naopak

 snižují

 estrogeny – zvyšují Cu v séru

 Gamapatie - ve vzácných případech při této diagnóze může být KM snížena, bilirubin zvýšen.

 Monoklonální imunoglobuliny jsou u turbidimetrických metod pravidelně zvýšeny – nelze je správně

 stanovit jinak než elektroforeticky.

Interference vzniklá nedodržením preanalytických podmínek – zvýšené parametry po podávání Fe, T4, infuzi, intenzivní fyzické aktivitě (CK).

1. U vybraného vzorku změřte na biochemickém analyzátoru sérové indexy a zapište je:

 L: H: I:

1. Dle následujícího postupu připravte hemolyzát:

1 ml nestážlivé krve zmrazit, rozmrazit a centrifugovat. Supernatant odpovídá hemolyzátu.

1. Připravte si dva vzorky séra. Z každého z nich odpipetujte dva jednomililitrové alikvoty.

Vzorek č.1: K jednomu alikvotu přidejte 20 ul deionizované vody, k druhému 20 ul hemolyzátu.

Vzorek č.2: K jednomu alikvotu přidejte 50 ul deionizované vody, k druhému 50 ul hemolyzátu.

Dobře promíchejte. V obou alikvotech z každého vzorku změřte na analyzátoru následující parametry: K, LD, Bil přímý(BilD), AST

Výsledky zapište do tabulky a v závěru okomentujte.

***LD (ukat/l) AST (ukat/l) BilD (umol/l) K (mmol/l)***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Vzorek č.1 + H2Odeioiniz.** |  |  |  |  |
| **Vzorek č.1 + hemolyzát** |  |  |  |  |
| **Vzorek č.2 + H2O deioniz.** |  |  |  |  |
| **Vzorek č.2 + hemolyzát** |  |  |  |  |

***Závěr:***

1. Seznamte se s komentováním interference u vzorků pacientů v LIS, vložení komentáře si prakticky vyzkoušejte
2. Proveďte vyčeření lipemického séra (mléčně zkaleného) s využitím zkumavky ***Lipoclear*** dle přiloženého návodu:

**Pracovní postup:**

1. Zkumavku Lipoclear po vyjmutí z lednice necháme stát 5 min. při pokojové teplotě
2. Do zkumavky napipetujeme 0,5 ml séra, dobře promícháme
3. Necháme stát dalších 5 min. při pokojové teplotě
4. Zcentrifugujeme na centrifuze 2 min. při 10 000 ot.
5. Opatrně odstraníme tukovou vrstvu, která se vytvořila na povrchu
6. Všechny výsledky vynásobíme faktorem 1,2(jako kompenzace ředění originálního vzorku)

Vyčeřování se používá, obsahuje-li mléčně zkalené sérum některou z následujících metod:

 Mg, Ca, CB, IgG, Krea

Vyčeřování se nepoužívá, ,je-li požadováno vyšetření Chol, TG, HDL-Chol, LDL-Chol, APO A1, APO

B, IgM, CRP, amoniak, alkohol, ionty a osmolalita.

V případě, kdy se jedná o kombinaci vyšetření z obou skupin, stanovuje se část vzorku z vyčeřeného

a část z nevyčeřeného séra.

V původním i vyčeřeném vzorku stanovte na automatickém analyzátoru koncentraci Ca, CB, MG a kreatininu. Výsledky vložte do tabulky a v závěru porovnejte.

 ***Ca (mmol/l) CB (g/l) MG (mmol/l) Krea (umol/l)***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bez vyčeření** |  |  |  |  |
| **Po vyčeření x 1,2** |  |  |  |  |

***Závěr:***