# **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:***

1. ***Interference způsobená hemolýzou***
2. Připravte si hemolyzát - ze vzorku plné nesrážlivé krve přepipetujte 1 000 ul do zkumavky a zmrazte.
3. Připravte vzorky o celkovém objemu 240 ul s přídavky hemolyzátu (H) a blanku (deionizovaná voda) dle uvedených tabulek 1 a proveďte analýzu vyšetření LD, AST, BILD a K na analyzátoru c8000.
4. Výsledky zapište do tabulky 2 a v závěru okomentujte.

*Tabulka 1 – Přídavky blanku (deionizovaná H2O) a hemolyzátu:*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | ***Směsné sérum (ul)*** | ***Přídavek hemolyzátu (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** |  |  |  |  |

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

***Závěr:***\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

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

*Tabulka 1 – s přídavkem blanku (deionizovaná H2O):*

***Kreatinin Kys. močová Triglyceridy Cholesterol***

***(umol/l) (umol/l) (mmol/l) (mmol/l)***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Vzorek 1:** 0 mg/l H2O |  |  |  |  |
| **Vzorek 2:** 40 mg/l H2O |  |  |  |  |
| **Vzorek 3:** 80 mg/l H2O |  |  |  |  |
| **Vzorek 4:** 160 mg/l H2O |  |  |  |  |

*Tabulka 2 – s přídavkem 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 |  |  |  |  |

Δ***Kreatinin (%)*** Δ***Kys. močová (%)*** Δ***Triglyceridy (%)*** Δ***Cholesterol (%)***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Vzorek 2** |  |  |  |  |
| **Vzorek 3** |  |  |  |  |
| **Vzorek 4** |  |  |  |  |

***Závěr:***

1. ***Ověření rozsahu měření metody***
2. **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

1. **vymezení horní hranice pracovního rozsahu metody**

* Připravte zásobní roztok glukózy 200 mmol/l ve 100 ml odměrné baňce, Mr (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:**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1. ***Jiný biologický materiál***

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

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

**Závěr:**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_