

**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 H<sub>2</sub>O) a hemolýzátu:

	Směsné sérum (ul)	Přídavek hemolýzátu (ul)	Přídavek deionizované vody (ul)
<b>Vzorek 1</b>	200	0	40
<b>Vzorek 2</b>	200	10	30
<b>Vzorek 3</b>	200	20	20

Tabulka 2 – naměřené výsledky:

	LD (ukat/l)	AST (ukat/l)	BilD (umol/l)	K (mmol/l)
<b>Vzorek 1</b>				
<b>Vzorek 2</b>				
<b>Vzorek 3</b>				

- 4) Změřte spektrum připraveného hemolýzátu 200x naředěného do 2 ml celkového objemu v rozmezí vlnových délek 380-700 nm a vytiskněte absorpční spektrum.

**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) Se zásobním roztokem Dicynonu o koncentraci 500 mg/l upravte vzorky séra - celkový objem 200  $\mu$ l s přidavkem Dicynonu (D) tak, aby celková koncentrace Dicynonu byla 40 a 80 mg/l (stejně vzorky s přidavkem vody místo Dicynonu).
- 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 přidavkem blanku (deionizovaná H<sub>2</sub>O):

	<b>Kreatinin (<math>\mu</math>mol/l)</b>	<b>Kys. močová (<math>\mu</math>mol/l)</b>	<b>Triglyceridy (mmol/l)</b>	<b>Cholesterol (mmol/l)</b>
	<b>cobas 8000_2</b>		<b>cobas 8000_1</b>	
<b>Vzorek 1:</b> 40 mg/l H <sub>2</sub> O				
<b>Vzorek 2:</b> 80 mg/l H <sub>2</sub> O				

Tabulka 2 – s přidavkem dicynonu (D):

<b>Vzorek 1:</b> 40 mg/l D				
<b>Vzorek 2:</b> 80 mg/l D				

	<b><math>\Delta</math>Kreatinin (%)</b>	<b><math>\Delta</math>Kys. močová (%)</b>	<b><math>\Delta</math>Triglyceridy (%)</b>	<b><math>\Delta</math>Cholesterol (%)</b>
<b>Vzorek 1</b>				
<b>Vzorek 2</b>				

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