
1 SEDIMENTACE ČERVENÝCH KRVINEK (SUSPENZNÍ STABILITA KRVE)

Klíčová slova

Sedimentace, suspenzní stabilita krve, suspenze, Helmholtzova elektrická dvojrstva, FW, SE, šikmá sedimentace, faktory ovlivňující sedimentaci, nesrážlivá krev.

Pracovní část

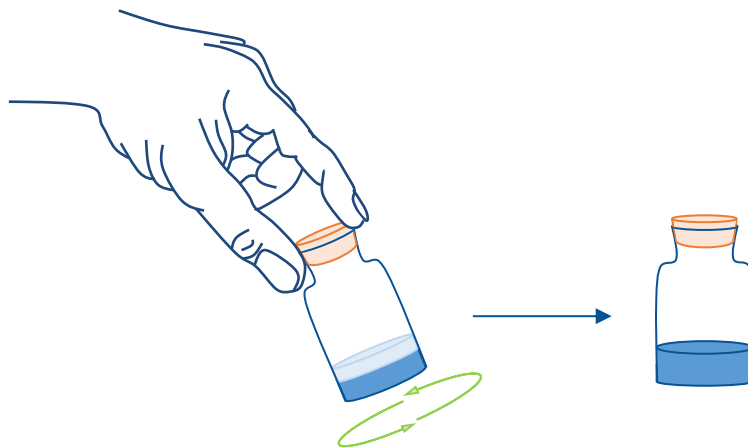
Potřeby

Stojan se sedimentačními pipetami, sada pro určení sedimentace (plná lidská krev, lidská krev – plazma nahrazena fyziologickým roztokem), plná hovězí krev, plná koňská krev, koňská krev – nahrazená plazma fyziologickým roztokem).

Postup práce

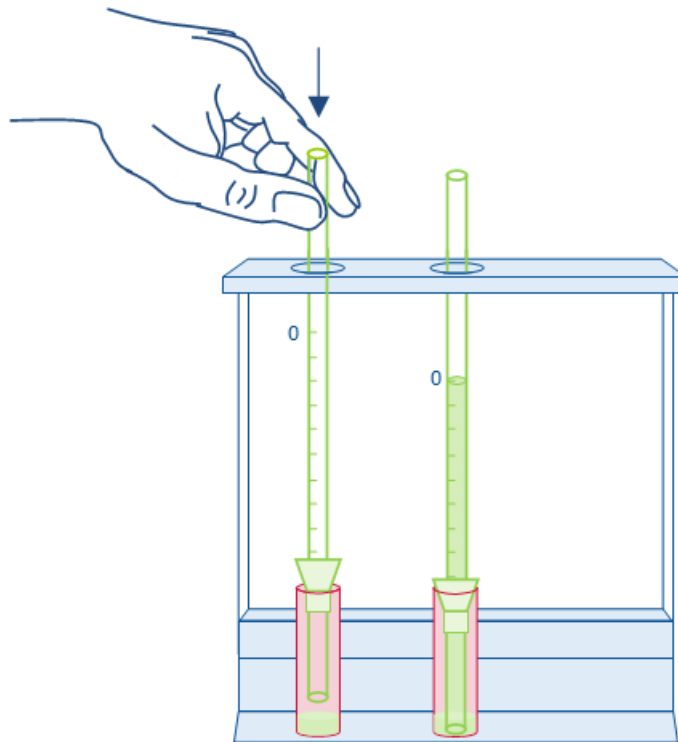
Striktní zásada pro práci s krví: pracujeme pouze v gumových rukavicích!

1. Pomocí kapátka doplníme do zkumavka přibližně 2 ml krve (po černou rysku); každý vzorek má svoji zkumavku i svoje kapátko.



Obrázek 1-1 Je velice důležité promíchat každou krev těsně před použitím. Zvláště koňská krev sedimentuje velice rychle, a proto při nedostatečném zamíchání by docházelo k hodnocení v podstatě pouze plazmy. Krev míchejte pomalými krouživými pohyby, v opačném případě dojde ke vzniku směsi krve a vzduchu, která ovlivní průběh pokusu.

2. Levou rukou uchopíme naplněnou zkumavku a pravou rukou pipetku mírným tlakem zasuneme kolmo dovnitř zkumavky (kalíšku)s krví. Vytvoří se tak podtlak.
3. Při správném postupu sloupec krve postupně vystoupá po značku 0. Zkumavku „zacvakneme“ do příslušného stojanu.
4. V časových intervalech odečítáme v milimetrech rychlost sedimentace krevního sloupce erytrocytů, zapíšeme do grafu v protokolu.



Obrázek 1-2 Správné nasátí krve do Westergrenovy pipety.

Komentář: Automatickou pipetu přitlačíme ke kalíšku se vzorkem tak, aby vznikl v kalíšku přetlak. Při plnění kalíšku je potřeba věnovat pozornost zvláště vhodnému množství krve. Při přeplnění kalíšku může dojít po vsunutí pipety k vylití vzorku.

Hodnocení a výsledky

Tabulka 1-1 Zapište typy hodnocené krve a sedimentaci v mm po uplynutí dané doby.

Vzorky					
Čas
15 minut					
30 minut					
45 minut					
60 minut					

Tabulka 1-2 Fyziologické hodnoty sedimentací po odečtu nejméně 1 h.

Typ	Sedimentace
Muži:	2 - 8 mm/h
Ženy:	7 - 12 mm/h
Novorozenci:	2 mm/h
Kojenci:	4 - 8 mm/h

Závěr

Popište rozdílné průběhy sedimentací a zdůvodněte příčinu.

2 OSMOTICKÁ REZISTENCE ERYTROCYTŮ

Klíčová slova

Osmotický tlak, izotonicita, hypotonicita, hypertonicita, hemolýza.

Pracovní část

Potřeby

stojan s 13 zkumavkami, nesrážlivá krev, destilovaná voda, fyziologický roztok, 1 % roztok NaCl, 0,9 % NaCl, kapátko, 2 pipety, emitní miska.

Postup práce

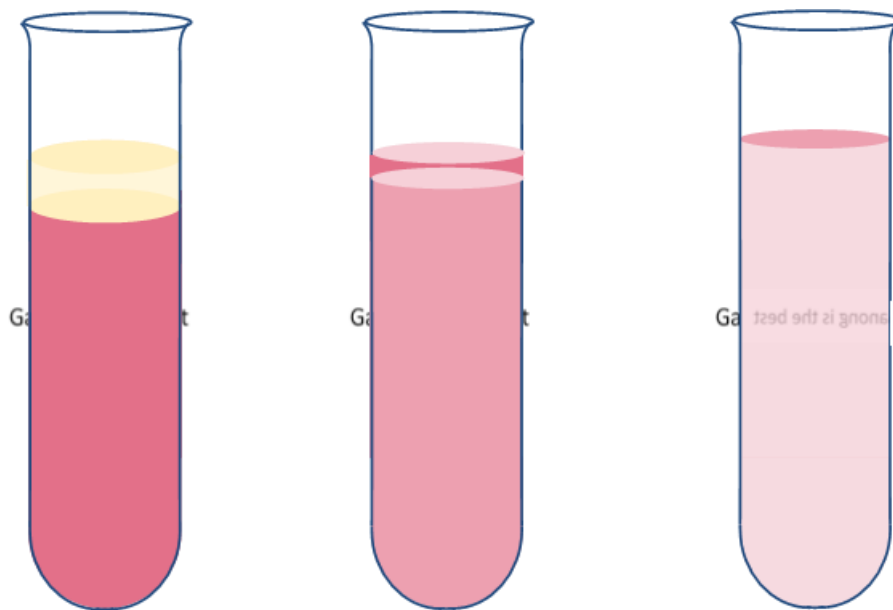
1. Do 12 zkumavek napipetujte 1 % roztok NaCl v následujících množstvích: 6,3; 6,0; 5,7; 5,4; 5,1; 4,8; 4,5; 4,2; 3,9; 3,6; 3,3; 3,0 ml.
2. Doplňte zkumavky destilovanou vodou do celkového objemu 10 ml.
3. Do 13. zkumavky napipetujte 10 ml fyziologického roztoku (0,9 %NaCl).
4. Zkumavky s roztoky mírně zamíchejte.
5. Krev v lahvičce opatrně promíchejte a pomocí kapátka do každé zkumavky kápněte 2 kapky krve. Zkumavky palcem v rukavici uzavřete, pomalu překlópte a vraťte do původní polohy (opravdu pomalu, nechceme vytvořit fyzikální hemolýzu). Nechejte minimálně 30 minut reagovat.
6. Po daném čase subjektivně stanovte přítomnost hemolýzy. Jako kontrolu použijte zkumavku s fyziologickým roztokem.

Hodnocení a výsledky

Zakreslete do zkumavek stav hemolýzy -

Tabulka 2-1.

- Nepřítomnost hemolýzy: Nehemolyzované erythrocyty tvoří neprůhlednou suspenzi. Nad touto suspenzí v důsledku sedimentačního efektu se nachází tenká čirá do žluta zbarvená vrstva čisté plazmy
- Částečná hemolýza: Hemolyzované erythrocyty mění barvu vrstvy plazmy ze žluté na jemně růžovou. Její intenzita závisí od úrovně hemolýzy v roztoku
- Úplná hemolýza: Zkumavka obsahuje průhledný, rovnoměrně růžově zbarvený roztok. Není patrná žádná zákal na dně zkumavky.



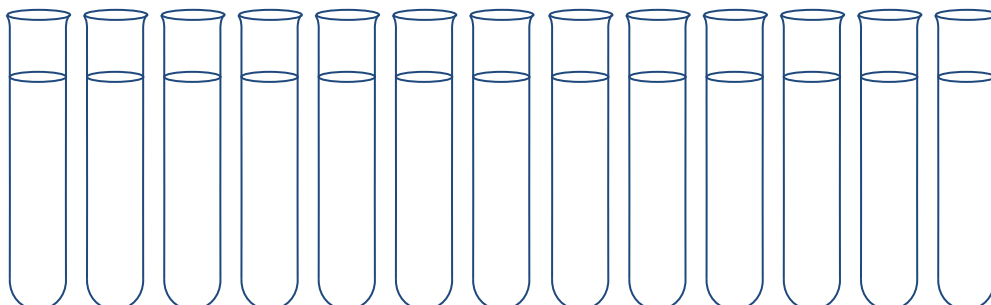
Obrázek 2-1 Stav hemolýzy ve zkumavkách.

Komentář: Vlevo nepřítomná hemolýza. Uprostřed částečná hemolýza. Vpravo úplná hemolýza. **Tip:** Položte za zkumavky list s textem a sledujte, zda lze přes zkumavku text číst. Pokud ano, znamená to, že v této zkumavce již probíhá hemolýza (nejčitelnější text je ve zkumavce s úplnou hemolýzou, žádné membrány odolných erytrocytů nebrání viditelnosti textu).

Určení minimální, maximální rezistence a rezistentní šíře

- Minimální osmotická rezistence: Odečítá se na první zkumavce s načervenalým zbarvením plazmy nad neprůhledným sedimentem. V této zkumavce dochází k hemolýze nejméně odolných erytrocytů.
- Maximální osmotická rezistence: Odečítá se na poslední zkumavce se zákalem u dna. Ten je tvořen nejvíce odolnými erytrocyty.
- Osmotická rezistentní šíře: Jedná se o rozmezí mezi hodnotou minimální a maximální osmotické rezistence.

Tabulka 2-1 Zanešte do tabulky přítomnost hemolýzy v jednotlivých zkumavkách



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Koncentrace Roztoku NaCl [%]	0,63	0,6	0,57	0,54	0,51	0,48	0,45	0,42	0,39	0,39	0,33	0,3	0,9
Přítomnost hemolýzy [ANO/NE]													

Závěr

Shrňte všechny naměřené výsledky a stručně popište fyziologické jevy, které se s nimi pojí. Popište, zda naměřené hodnoty byly ve fyziologickém rozmezí. Jaké nemoci jsou spojeny se zvýšenými nebo sníženými hodnotami osmotické rezistence?

3 URČENÍ KREVNÍ SKUPINY SKLÍČKOVOU METODOU

Klíčová slova

Antigen, protilátka, aglutinogen, aglutinin, aglutinace, Rh faktor, fetální erytroblastóza.

Pracovní část

Potřeby

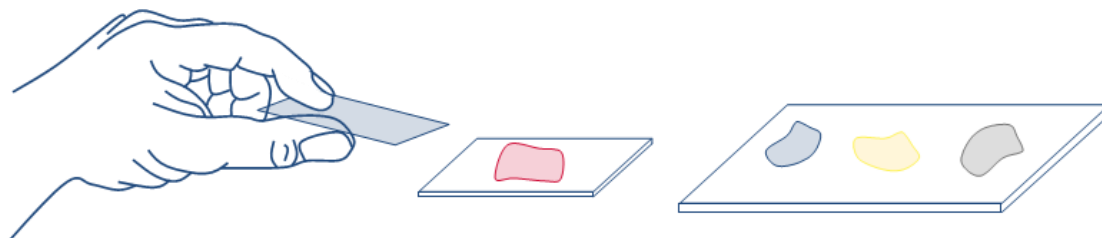
Standardní séra skupiny anti A, anti B a anti AB, nesrážlivá krev, emitní miska, miska s dezinfekčním roztokem.

Postup práce

Striktní zásada pro práci s krví:

Pracujte pouze ve vyhrazeném prostoru. S krví se manipuluje pouze v gumových rukavicích.

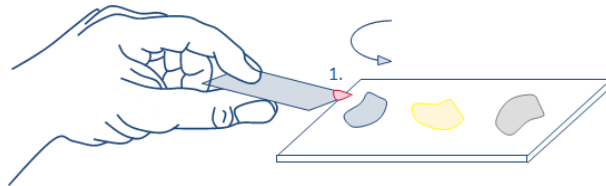
1. Před začátkem práce zkontrolujte baňky se séry (datum výroby, průhlednost, souhlasné označení a barvy sér).
2. Na podložní sklíčko aplikujte jednotlivá séra. Každé sérum je rozlišitelné podle svého barevného označení (modrá – anti A sérum, žlutá – anti B sérum, průhledná – anti AB sérum). Ujistěte se, že na sklíčku nedochází k mísení sér (Obrázek 3-1 vpravo).
3. Krev v lahvičce opatrně promíchejte a pomocí kapátka aplikujte 1-2 kapky krve na další separátní sklíčko (Obrázek 3-1). Uzavřete lahvičku s krví a odložte.



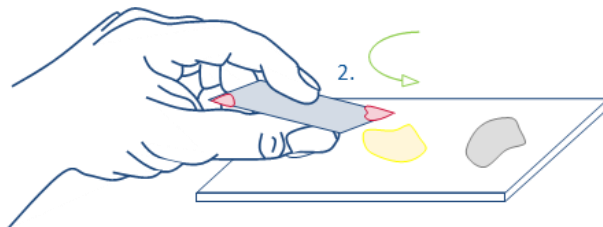
Obrázek 3-1 Počáteční příprava krve a sér na oddělená sklíčka. Dejte pozor, aby na sklíčku s jednotlivými séry nedošlo k jejich vzájemnému promíchání.

4. Připravte si další podložní sklíčko pro přenos krve do sér. Do kapky krve namočte roh podložního sklíčka a přeneste jej na první sérum. Krouživým pohybem obě kapaliny smíchejte. Poté pootočte sklíčko a dalším čistým rožkem přeneste krev na další sérum (Obrázek 3-1, Obrázek 3-2). Množství krve a séra by mělo být v poměru asi 1:10.

Vždy použijte čistý rožek tak, aby nedošlo ke smíchání sér.



5. Pozorujte reakci na jednotlivých sérech a výsledky překreslete do připravených obrázků.



Hodnocení a výsledky

Obrázek 3-2 Pro míchání séra a krve použijte vždy jiný rožek tak, aby nedocházelo k promíchání jednotlivých sér.

Překreslete výsledky pokusu a určete typ testované krevní skupiny. Popište probíhající děje.

Pokus A			
Zakreslete výsledky reakce na sérech.			
	Sérum Anti A	Sérum Anti B	Sérum Anti AB
Výsledek pokusu: (Reakce/bez reakce)			
Krevní skupina: 			

Jakou krevní skupinu mohli mít rodiče majitele této krevní skupiny:

Pokus B

Zakreslete výsledky reakce na sérech.

	Sérum Anti A	Sérum Anti B	Sérum Anti AB
Výsledek pokusu: (Reakce/bez reakce)			
Krevní skupina:			
Jakou krevní skupinu mohli mít rodiče majitele této krevní skupiny:			

Závěr:

Shrňte všechny naměřené výsledky a stručně popište fyziologické jevy, které se s nimi pojí.