

# Metody klinické biochemie

RNDr. Bohuslava Trnková

ÚKBLD 1.LF UK

## Optické metody

pro všechny platí Lambertův - Beerův- Bouguerův zákon

### ➤ absorpční fotometrie

☐ měří se změna zbarvení roztoku - absorbance, přechod  $\text{NAD}^+ - \text{NADH}$ ,  $\lambda$  340 - 800 nm, vodorovné uspořádání zdroj – mřížka (filtr) - kyveta - detektor

– nejběžnější analyty – GLU, BILI, enzymy, urea...

### ➤ vertikální fotometrie – svislé uspořádání v přístroji,

☐ měření ELISA destiček

### ➤ reflexní fotometrie – suchá chemie,

☐ měří se intenzita odraženého světla

- atomová absorpční spektrofotometrie –
  - ☐ měří se pokles intenzity spektrální čáry s určitým  $\lambda$   
Fe, Cu, Mg, stopové prvky
- fluorimetrie, chemiluminiscence
  - princip: určité látky po dodání energie vyzáří foton,  
používají se jako značky pro imunochemické reakce
- fluorescenční polarizace - léky
- chemiluminiscence – citlivá (koncentrace  $10^{-6}$ )
  - ☐ měří se koncentrace hormonů, tumormarkerů,  
protilátek
- turbidimetrie – lipasa, měření zákalů
- nefelometrie měření zákalů  
princip: měří se intenzita rozptýleného světla

# Elektrochemické metody

## Potenciometrie

Princip – mezi 2 roztoky na rozhraní tvořeném polopropustnou membránou vzniká elektrický potenciál, měří se proti referenční elektrodě

- iontově selektivní elektrody -  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ioniz. i celkové,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Cl}^-$
- enzymové elektrody – glukosa z prstu

## ➤ polarografie

Princip: závislost elektrického proudu na napětí na dvojici elektrod, katodou je rtuťová kapková elektroda

☐ měří se - směsi bílkovin

## ➤ coulometrie

Princip: analyt je stanoven z velikosti náboje prošlého elektrodou,

☐ měří se:  $\text{Cl}^-$

## ➤ konduktometrie

Princip: elektrická vodivost roztoků závisí na koncentraci iontů v roztoku

☐ kontroluje se kvalita vody pro analyzátory

## Elektroforetické metody

Princip: pohyb makromolekul v elektrickém poli

### ➤ zónová elektroforéza

☐ elfo bílkovin, lipoproteinů, stanovení izoenzymů

### ➤ izoelektrická fokusace – využívá se isoelektrického bodu látek, elektroforéze probíhá v gradientu pH

☐ stanoví se bílkoviny v likvoru v porovnání se sérem

### ➤ kapilární elektroforéza

☐ elfo bílkovin, AK

## Fyzikální metody

### ➤ Osmometrie (onkometrie)

Princip: osmotický tlak závisí na koncentraci osmoticky aktivních látek

- ❑ měření osmotického (onkotického) tlaku na speciál.odděleních

### ➤ Laserová cytometrie

Princip: laserem se proměřuje velikost a tvar částice procházející kapilárou, příp. se porovnává s atlasem

- ❑ stanovení močového sedimentu, krevního obrazu

## Izotopové metody

gamma zářiče –  $J^{125}$ , bezpečnost práce

- RIA – značený antigen, kompetitivní reakce, vyhodnocení – nepřímá úměra
  - IRMA metody – značená protilátka, sendvičové provedení, vyhodnocení – přímá úměra
- ☐ hormony, tumormarkery, protilátky, vitaminy



## Chromatografické metody

Princip: interakce mezi látkou, pevnou a mobilní fází (pevná fáze: hydrofobní nebo hydrofilní charakter, funkční skupiny, antigeny aj., mobilní fáze: metanol, vyšší alkoholy, estery organických kyselin, směsi)

➤ chromatografie na tenkých vrstvách (TLC)

□ bílkoviny

➤ vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

□ léky, vitaminy, AK v moči, aj.

➤ plynová chromatografie - dtto

## **Automatické analyzátory**

univerzální automatické analyzátory –  
otevřené, uzavřené systémy, využití  
souprav, snížení lidské chyby

speciální automatické analyzátory – pro  
jednotlivé typy metod