



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU 198 692

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61)

(23) Výstavní priorita  
(22) Přihlášeno 04. 04. 78  
(21) PV 2163-78

(11) (B1)

(51) Int. Cl.<sup>3</sup> G 01 N 33/16  
A 61 K 35/16

(40) Zveřejněno 17. 09. 79  
(45) Vydáno 15. 04. 82

(75)

Autor vynálezu TOVÁREK JOSEF RNDr. a VOJTKOVÁ JANA, BRNO

(54) Standardní sérum pro kontrolu správnosti stanovení obsahu lipidových složek v biologickém materiálu

1

Vynález se týká standardního séra pro kontrolu správnosti stanovení obsahu lipidových složek v biologickém materiálu a způsobu jeho přípravy.

V laboratořích, provádějících stanovení cholesterolu, neutrálních tuků a fosfolipidů, se používají pro kontrolu správnosti výsledků standardní séra s normálními nebo jen nepatrně zvýšenými hodnotami, nebo roztoky uvedených složek o známé koncentraci v organických rozpouštědlech.

Roztoky lipidových složek v organických rozpouštědlech je možno připravit v rozmezí tzv. normálních až patologických hodnot (cholesterol od 150 do 700 mg/100 ml = 3,9 až 18 mmol/l, celková lipemie od 3 do 15 g/l, neutrální tuky od 150 do 1500 mg/100 ml = 1,7 až 17 mmol/l, fosfolipidy od 150 do 750 mg/100 ml = 2 až 10 mmol/l (Hořejší a spol.: Základy chemického vyšetřování v lékařství, SZdN Praha 1964, Jiří Homolka: Klinická biochemie, SZdN Praha 1969). Rozmezí se volí s ohledem na potřebu kontrolovat nemocné s normálními i značně zvýšenými hodnotami těchto složek.

Protože však viskozita roztoků organických rozpouštědel (alkoholu, acetonu, chloroformu, isopropanolu, kyseliny octové aj.) se značně liší od viskozity vyšetřovaného biologického materiálu (krve, séra, plasmy, výpotků), dochází při pipetování k rozdílnému o měření vyšetřovaného vzorku a kontroly a tím i k chybám ve stanoveních.

Z těchto důvodů se jako kontrolní vzorky zpracovávají standardní séra. Standardní séra pro stanovení lipidových složek, komerčně dostupná, mají následující hodnoty: cholesterol 140 až 305 mg%, neutrální tuky 43 až 195 mg%, fosfolipidy 150 až 330 mg% a celkové lipidy 360 až 1150 mg%. Protože se uvedené koncentrace pohybují v oblasti normálních nebo jen lehce zvýšených hodnot, lze těmito séry spolehlivě kontrolovat správnost vyšetření jen v sérech pacientů s normálními, nebo jen lehce zvýšenými hodnotami.

Shora uvedené nedostatky v podstatné míře odstraňuje standardní sérum podle vynálezu. Podstatou vynálezu je standardní sérum pro kontrolu správnosti stanovení obsahu lipidových složek v biologickém materiálu obsahující cholesterol, neutrální tuky a fosfolipidy, vyznačené tím, že obsahuje zvýšené koncentrace lipidových složek až do pětinasobku horní hranice obsahu lipidových složek v séru zdravých lidí v molárních poměrech cholesterol : neutrální tuky : fosfolipidy 5 : 2 : 2,5 až 5 : 5 : 3,5. Standardní sérum podle vynálezu se s výhodou připraví tak, že se lipoproteiny krevního séra vysráží 0,020 až 0,030 M roztokem chloridu vápenatého v 0,05 až 0,07 mM heparinu, sraženina se suspenduje v 0,004 až 0,006 M roztoku tris (hydroxymethyl)-aminomethanu a rozpustí se v roztoku látky, která komplexně váže ionty vápníku a v roztoku neutrální soli, s výhodou lze použít 0,20 až 0,25 M citran sodný v 1 až 1,5 M chloridu sodném a potom se pořadí na požadované koncentrace roztokem albuminu, s výhodou 0,7 milimolárním.

#### P ř í k l a d

Ve skleněné nádobě, například kádince o obsahu 3000 ml, se smíchá za stálého míchání 1900 ml 0,025 M chloridu vápenatého, ve kterém je rozpuštěno 250 mg heparinu, se 100 ml séra, získaného z čerstvě odebrané krve. Směs se ponechá v klidu při pokojové teplotě 30 min. a potom se vysrážené lipoproteiny odstředí. Nejvýhodnější je odstřeďování v malém počtu velkých zkumavek po částech vždy asi po 3 min. při 4000 G. Po odstředění se supernatant sleje, k sedimentu lipoproteinů se přidá další směs, která se odstředí, supernatant se opět odleje a tak se pokračuje, až je celý objem odstředěn. Sraženina lipoproteinů se převede do jedné zkumavky pomocí 0,005 M tris(hydroxymethyl) aminomethanu. Vzniklá silně zkalená suspenze se změní v opaleskující roztok přidáním několika kapek roztoku (200 mg citran sodný  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  a 200 mg chloridu sodného NaCl ve 3,0 ml destilované vody).

Tento roztok přidáváme za stálého míchání jen velmi opatrně právě do rozpuštění sraženiny. Po promíchání se v tomto koncentrátu určí hodnoty jednotlivých složek přesně, nejlépe dvěma nezávislými způsoby, např. cholesterol metodou Lieberman-Burchardt a enzymovou metodou, neutrální tuky metodou fotometrickou a enzymovou, fosfolipidy po mineralizaci a přímou metodou. Potom se koncentrát pořadí vzestupnou řadou roztokem 5% albuminu. Tím získáme sérii standardních sér s atestem pro spolehlivější kontrolu správnosti výsledků u nemocných se zvláště vysokými hodnotami lipidových složek. Při zachování vzájemných poměrů roztoků chloridu vápenatého, heparinu a krevního séra jak bylo popsáno výše je možno provádět přípravu ve velkém množství.

Rozptyl měřených patologicky zvýšených hodnot je podstatně nižší při kontrole sérem vynálezu, s komerčně dostupnými séry byl rozptyl nad 10 % měřených hodnot. Se standardním kontrolním sérem podle vynálezu je přesnost lepší a rozptyl měřených hodnot patologických případů je pod 5 %. Standardní sérum podle vynálezu umožňuje tak přesnější vyřazení nemocných s patologicky zvýšenými hodnotami lipidových složek, přičemž přesnost setření při normálních hodnotách je stejná.

#### PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Standardní sérum pro kontrolu správnosti stanovení obsahu lipidových složek v biologickém materiálu obsahující cholesterol, neutrální tuky a fosfolipidy, vyznačené tím, že obsahuje zvýšené koncentrace lipidových složek až do pětinasobku horní hranice obsahu lipidových složek v séru zdravých lidí v molárních poměrech cholesterol ku neutrální tuky ku fosfolipidy 5 ku 2 ku 2,5 až 5 ku 5 ku 3,5.

Způsob přípravy standardního séra podle bodu 1, vyznačený tím, že se lipoproteiny krevního séra vysráží 0,020 až 0,030 M roztokem chloridu vápenatého v 0,05 až 0,07 mM heparinu, sraženina se suspenduje v 0,004 až 0,006 M roztoku tris (hydroxymethyl)-aminomethanu a rozpustí se v roztoku látky, která komplexně váže ionty vápníku a v roztoku neutrální soli, s výhodou lze použít 0,20 až 0,25 M citran sodný 1 až 1,5 M chloridu sodném a potom se pořadí na požadované koncentrace roztoku albuminu s výhodou 0,7 milimolárním.