

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

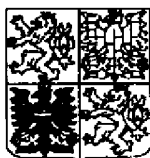
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3895-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **30. 05. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **31.05.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/19622090**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 07. 99**
(Věstník č. 7/99)

(86) PCT číslo: **PCT/EP97/02835**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/45733**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

G 01 N	33/52
G 01 N	33/70
G 01 N	33/72
C 12 G	1/00
C 12 G	1/32

(71) Přihlášovatel:

BOEHRINGER MANNHEIM GMBH,
Mannheim, DE;

(72) Původce:

Welsheit Ralph, Weilheim, DE;
Pfischler Elke, Oberhausen, DE;

(74) Zástupce:

Čermák Karel Dr., Národní 32, Praha 1,
11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob odstranění rušivého vlivu
hemoglobinu při analýze lékařských
vzorků

(57) Anotace:

Způsobem je stanovení analytů ve vzorku, který obsahuje volný hemoglobin, optickým bichromatickým měřením při hlavní vlnové délce a vedlejší vlnové délce, přičemž se používá pro měření vedlejší vlnová délka nad 475 nm, při které se nachází absorpční pásy hemoglobinu. Analytem je amoniak, kreatinkináza a její isoenzymy ktátdehydrogenáza a její isoenzymy a laktátdehydrogenáza a její isoenzymy.

CZ 3895-98 A3

-1-

Způsob odstranění rušivého vlivu hemoglobinu při analýze lékařských vzorků

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu stanovení analytů ve vzorku, který obsahuje volný hemoglobin, při kterém se stanovení provádí optickým bichromatickým měřením při délce hlavní měřené vlny a vedlejší měřené vlny. Tento způsob se hodí zejména pro stanovení parametrů amoniaku, kreatinkinázy a jejích isoenzymů a laktátdehydrogenázy a jejích isoenzymů v lékařském vzorku, například ve vzorku séra nebo vzorku plazmy.

Dosavadní stav techniky

Všeobecně je známo, že hemolýza ruší stanovení velkého počtu analytů v částečně značné míře. Aby se přesto získaly nezkreslené naměřené hodnoty, publikovaly se v minulosti různé způsoby pro odstranění rušivého vlivu hemolýzy.

Jeden z těchto způsobů spočívá v tom, že se při měření v automatických analytických přístrojích používá vedle první měřené vlnové délky / hlavní měřené vlnové délky / často druhá měřené vlnové délka / měřená vedlejší vlnové délka /, pomocí nichž se odstraní nebo při nejmenším může minimalizovat rušivý vliv interferujících látek, jako například hemoglobinu, bilirubinu a lipemie.

Požadavkem při tom je, aby se měřená látka při vedlejší vlnové délce co nejméně absorbovala, na-

proti tomu, aby se rušivá látka absorbovala pokud možná ve stejné výšce jako u hlavní vlnové délky. /Praxistechnik: Photometer für die "Ärtzliche Praxis, Deutscher Ärzteverlag 1977, strana 41 - 42/.

V DIA-Letter / Boehringer Mannheim/ č. 70 /1985/ je zmínka, že by vedlejší vlnová délka měla ležet co nejblíže hlavní vlnové délce, neboť zpravidla potom má rušící látka při hlavní a vedlejší vlnové délce podobné extinkce.

V Clin Chem 25/6, 951 - 959 / 1979 / se poukazuje na to, že se vedlejší vlnová délka má zvolit tak, aby tato ležela blízko absorpčního minima chromogenu a blízko absorpčního maxima rušící látky. V této souvislosti se pro stanovení glukózy / hlavní vlnová délka 340 nm/ doporučuje vedlejší vlnová délka 340 nm , neboť zde se absorbují rušící látky podobně jako při 340 nm.

Naproti tomu se v Eur J Clin Chem Clin Biochem 31/9, 595 - 601 /1993/ pohlíží kriticky na to, aby se UV-testy měřily s vedlejší vlnovou délkou 380 nm, neboť v tomto případě vede konverze Hb-O₂ v Meth-Hb ke změnám spektra při 380 nm a tím k chybným měřením. Pro testy, které spočívají na měření NAD/P/H- úbytku nebo přírůstku, se proto doporučuje vedlejší vlnová délka, která je v tak zvaném Soret-regionu, jako například 475 nm.

Všechny dříve popsané způsoby se týkají odrušení chybných měření způsobených hemolýzou. Spolu s výrobou náhražek krve na bázi hemoglobinu vyvstává otázka odstranění poruch způsobených nativním nebo syntetickým hemoglobinem popřípadě sloučeninami analogický-

mi Hb ještě daleko brisančněji než až dosud. Takové poruchy se potom objevují totiž jednak i v nehemo-lytických materiálech vzorků a jednak ještě v daleko větší míře než při nativní hemolyze, neboť při terapii, při níž se používají náhražky krve, může obsah Hb v krevním séru nebo krevní plasmě být až 2. 000 mg/dl.

Kromě toho bylo zjištěno, že při měření určitých analytů, jako například amoniaku, kreatinkinázy a isoenzymů kreatinkinázy stejně tak jako laktátdehydrogenázy a jejich isoenzymů se nedosahuje použitím vedlejší vlnové délky 475 nebo vyšší, například kolem 480, 505, 600, 660 nebo 700 nm, beze všeho dostatečné odrušení hemoglobinu. Vzhledem k tomu, že tyto parametry mají v rámci diagnostiky srdce- krevního oběhu a diagnostiky nouzových případů stejně tak jako diagnostiky pacientů léčených náhražkami krve podstatný význam, bylo úkolem předloženého vynálezu dát k dispozici jednoduchý způsob odstranění poruch, které jsou vyvolány nativním hemoglobinem nebo náhražkami krve, založený na syntetickém hemoglobinu nebo sloučeninách, analogických hemoglobinu, zejména při měření výše uvedených analytů.

Podstata vynálezu

Úloha, která je základem vynálezu byla vyřešena způsobem stanovení analytu ve vzorku, obsahujícím volný hemoglobin, pomocí optického bichromatického měření při hlavní vlnové délce a vedlejší vlnové délce, při kterém se použije vedlejší vlnová délka nad 475 nm, ve které se nacházejí absorpční pásy hemoglobinu.

Výhodné vedlejší vlnové délky pro způsob podle

vynálezu jsou v rozmezí 546 ± 10 nm, zejména 546 ± 5 nm, jakož i v rozmezí 570 ± 10 nm a nejvýhodněji 570 ± 5 nm, Nejvýhodnější jsou vlnové délky 546 popřípadě 570 nm.

Volba vlnových délek podle vynálezu jako vedlejších vlnových délek byla překvapující, neboť při vlnové délce 405 nm, známé ze stavu techniky /např. Geräteinstellungen für das Boehringer Mannheim/Hitachi 717- analytický přístroj podle doporučení příbalového letáku pro činidlo pro stanovení kreatinkinázy, č. obj. 1 273 248, Boehringer Mannheim Diagnostica Katalog 1997/ , při které dochází také k absorpci hemoglobinu, docházelo právě k největším rušením hemoglobinem. Dále se ve výše jmenované publikaci Eur.J.Clin.Chem.Clin. Biochem. poukazuje na to, že by se pro odrušení hemoglobinu měla používat právě vedlejší vlnová délka, která je na druhé straně Soret-regionu /hlavní absorpční pás hemoglobinu /, takže by každopádně bylo nasnadě zvolit jako vedlejší vlnovou délku takové vlnové délky, při kterých nedochází vůbec ke vzniku absorpčních pásů hemoglobinu.

Metoda odrušení podle vynálezu se hodí pro způsoby, při kterých se měření analytů provádí opticky, zejména pomocí optických měření při hlavní vlnové délce v UV-oblasti. Zejména se s výhodou provádí způsob při testech, které spočívají na měření přírůstku nebo úbytku koncentrace NADH nebo NADPH ve vzorku. V tomto případě se s výhodou používá hlavní vlnová délka v rozmezí 340 ± 10 nm.

Způsob podle vynálezu se hodí pro stanovení libovolných vzorků, ve kterých je přítomný volný hemoglobin. Příklady takovýchto vzorků jsou hemolytické vzorky séra nebo plasmy, které obsahují náhražku krve.

Příklady náhražek krve, které spadají ve smyslu předloženého vynálezu pod pojem "volný hemoglobin", jsou derivatizované, polymerní, modifikované nebo příčně zesíťované deriváty hemoglobinů, zejména hu -

mánního hemoglobinu nebo hovězího hemoglobinu, na -
příklad DCL-hemoglobinu /Diaspirincrosslinkend-hemo-
globin/, stejně tak jako rekombinantně vyrobený hemo-
globin.

Ve výhodném provedení způsobu podle vynálezu se
určuje obsah analytu, vybraného ze skupiny sestávající
cí z amoniaku, kreatinkinázy a jejích isoenzymů a lak-
tátdehydrogenáz a jejích isoenzymů.

Stanovení amoniaku pomocí způsobu podle vynále-
zu se provádí s výhodou enzymatickou UV-metodou
/Da Fonseca-Wollheim F., Z. Klin. Chem. Klin. Bio -
chem. 11 / 1973/ 421 /.

Stanovení kreatinkinázy /CK/ se provádí s výho-
dou podle " Optimierten Standard Methode " der Deut-
schen Gesellschaft für klinische Chemie /J.Clin. Chem.
Clin. Biochem. 15 /1977/ ,249/. Stanovení isoenzymu
CK-MB kreatinkinázy se provádí s výhodou podle imunolo-
gické UV-metody /Würzburg U. et al., Klin. Wschr.
54 /1976/, 357/.

Stanovení laktátdehydrogenázy /LDH/ nebo iso-
enzymu laktátdehydrogenázy /HBDH/ /l-hydroxybutyrát-
dehydrogenázy / se s výhodou provádí podle " Optimier-
ten Standard-Methode " der Deutschen Gesellschaft für
Klinische Chemie /Z. Klin. Chem.Klin. Biochem. 8
/1970/, 658 a 10 /1972/, 182/.

Jako vzorek se při způsobu podle vynálezu používá
s výhodou vzorek séra nebo plasmy, zejména pak hu-
mánního séra nebo humánní plasmy.

Obzvláštní výhoda způsobu podle vynálezu spočívá
v tom, že se může provádět v analytických automa-

tických zařízeních, jako například na Boehringerově Mannheim/Hitachi 704 nebo 717 analytickém přístroji. U takovýchto analytických přístrojů se mohou bez dalšího nastavit výhodné vedlejší vlnové délky 546 popřípadě 750 nm.

Příklady provedení vynálezu

Dále je vynález blíže vysvětlen následujícími příklady.

Obecné metody

Část zkušebního vzorku séra se doplní roztokem obsahujícím hemoglobin tak, aby se dosáhl obsah hemoglobinu 2.000 mg/dl. Jiná, stejně velká část zkušební vzorku séra se doplnila ekvivalentním množstvím roztoku NaCl / 154 mmol/l/. Obě části se smísily spolu v různém poměru tak, aby vznikla řada koncentrací Hb, sestávající z 11 vzorků, přičemž jeden vzorek neobsahoval žádný Hb a nejvyšší vzorek obsahoval 2.000 mg/dl Hb.

Příklad 1

Stanovení amoniaku

Stanovení se provádělo na Boehringer Mannheim/Hitachi 717 analytickém přístroji. Byla použita následující činidla:

Činidlo 1 : 150 mmolů/l pufru triethanolaminu, pH 8,6 ;
15 mmolů/l α -ketoglutarátu; 1,5 mmolů/l
NADP

Činidlo 2 : 150 mmolů/l pufru triethanolaminu; pH 8,6;
15 mmolů/l α -ketoglutarátu; 1,5 mmolů/l
ADP ; 0,31 mmolů/l NADPH; $\geq$ 24 U/ml glutamátdehydrogenázy /GLDH/

Provedení testu bylo následující : Ke 20 μ l vzorku se přidalo 200 μ l činidla 1 a po 5 minutách 50 μ l činidla 2. Stanovení analytů se provádělo po dalších 40 sek. Pro měření byla použita hlavní vlnová délka 340 nm a vedlejší vlnové délky 405 nm, 480 nm, 600 nm, 660 nm a 700 nm, /srovnání / , stejně tak jako 546 a 570 nm / vynález /.

Výsledek tohoto stanovení je uveden v tabulce 1. Je vidět, že při použití vlnových délek 546 popřípadě 570 podle vynálezu byla dosažena lepší návratnost /recovery/ než při jiných vlnových délkách použitých pro měření.

Příklad 2

Stanovení kreatinkinázy

Stanovení se provádělo na Boehringer-Mannheim/Hitachi 717 analytickém přístroji. Byla použita následující činidla:

činidlo 1 : 110 mmolů/l pufru imidazolu; pH 6,7 ;
20,5 mmolů/l glukózy ; 2,05 mmolů/l EDTA;
2,5 mmolů/l ADP; 6,1 mmolů/l AMP; 12 μ molů/l
diadenosinpentafosfátu; 2,5 mmolů/l NADP;
25 mmolů/l N-acetylcysteinu ; $\geq$ 3,1 U/ml
hexokinázy /HK/; $\geq$ 1,8 U/ml glukózy-6-
-fosfátdehydrogenázy /G6P-DH/

činidlo 2 : 25 mmolů/l pufru imidazolu; pH 7,5 ; 20,5
mmolů/l glukózy; 2,05 mmolů/l EDTA; 61
mmolů/l Mg^{2+} ; 184 mmolů/l kreatinfosfátu.

Provedení testu bylo následující : K 7 μ l vzorku se přidalo 250 μ l činidla 1 a po 5 minutách 50 μ l činidla 2. Stanovení analytů se provádělo po dalších

2 minutách. Pro měření byla použita hlavní vlnová délka 340 nm a vedlejší vlnové délky 450 nm, 480 nm, 505 nm, 600 nm, 660 nm a 700 nm / srovnání / stejně tak jako 546 nm a 570 nm / vynález /.

Výsledek tohoto stanovení je uveden v tabulce 2. Lze seznat, že při použití vlnových délek při měření podle vynálezu a to 546 popřípadě 570 nm se dosáhla zřetelně zlepšená návratnost /recovery/ než při jiných vlnových délkách.

Příklad 3

Stanovení isoenzymu kreatinkinázy CK-MB

Stanovení se provádělo na Boehringer-Mannheim/Hitachi 717 analytickém přístroji. Byla použita následující činidla :

činidlo 1 : 110 mmolů/l pufru imidazolu ; pH 6,7 ;
21 mmolů/l glukózy; 11 mmolů/l Mg^{2+} ;
2,1 mmolů/l EDTA; 2,4 mmolů/l ADP ;
6,0 mmolů/l AMP; 12 umol/l diadenosin-
pentafofátu; 2,4 mmolů/l NADP; 24
mmolů/l N-acetylcysteinu ; $\geq 3,0$ U/ml
HK; $\geq 1,8$ U/ml G6P- δ H ; antitěliška,
inhibiční kapacita vůči CK-M až 2000
U/l;

činidlo 2 : 110 mmolů/l pufru imidazolu ; pH 6,7 ;
21 mmolů/l glukózy; 2,1 mmolů/l EDTA ;
11 mmolů/l Mg^{2+} ; 186 mmolů/l kreatin-
fosfátu.

Provedení testu bylo následující : K 12 ul vzor-
ku bylo přidáno 250 μ l činidla 1 a po 5 minutách
50 μ l činidla 2. Stanovení analytů se provádělo po

dalších 3 minutách. Pro měření byla použita hlavní vlnová délka 340 nm a vedlejší vlnové délky 405 nm, 480 nm, 505 nm, 600 nm, 660 nm a 700 nm / srovnání / stejně tak jako 546 nm a 570 nm /vynález /,

Výsledek tohoto stanovení je uveden v tabulce 3. Lze seznat, že při použití vlnových délek 546 nm a 570 nm podle vynálezu se dosáhlo zřetelně zlepšené návratnosti / recovery / než při jiných vlnových délkách.

Příklad 4

Stanovení laktátdehydrogenázy

Stanovení se provádělo na Boehringer Mannheim / Hitachi 717 analytickém přístroji. Byla použita následující činidla:

činidlo 1 : 68 mmolů/l fosfátového pufru; pH 7,5;
2 0,73 mmolů/l pyruvátu

činidlo 2 : 2 1,1 mmolu/l NADH.

Provedení testu bylo následující : k 5 μ l vzorku se přidalo 250 μ l činidla 1 a po 5 minutách 50 μ l činidla 2. Stanovení analytů se provádělo po dalších 60 sek. Pro měření byla použita hlavní vlnová délka 340 nm a vedlejší vlnové délky 405 nm, 480 nm, 505 nm, 600 nm, 660 nm a 700 nm / srovnání / jakož i 546 nm a 570 nm / vynález /.

Výsledek tohoto stanovení je uveden v tabulce 4. Lze zjistit, že při použití vlnových délek 546 a popřípadě 570 nm pro měření podle vynálezu dosáhlo se zřetelně zlepšené návratnosti / recovery / než u jiných vlnových délek.

Příklad 5

Stanovení LDH-isoenzymů HBDH

Stanovení se provádělo na Boehringer Mannheim/
Hitachi 717 analytickém přístroji. Byla použita
následující činidla:

činidlo 1 : 68 mmolů/l fosfátového pufru; pH 7,5;
3,7 mmolů/l -oxobutyrátu

činidlo 2: $\approx$ 1,1 mmolu/l NADH

Provedení testu bylo následující : K 5 μ l vzor-
ku se přidalo 250 μ l činidla 1 a po 5 minutách 50 μ l
činidla 2. Stanovení analytů se provádělo po dalších
60 sekundách. Pro měření byla použita hlavní vlnová
délka 340 nm a vedlejší vlnové délky 405 nm, 480 nm,
505 nm, 600 nm, 660 nm a 700 nm / srovnání / jakož i
546 nm a 570 nm / výsledek/.

Výsledek tohoto měření je uveden v tabulce 5.
Lze seznat, že při použití vlnových délek 546 popří-
padě při měření podle výsledu, dosáhlo se zřetel-
ně zlepšené návratnosti / recovery/ než při jiných
vlnových délkách.

vzorek	Hb obsah [mg/dl]	obsah při obsah při obsah při obsah při obsah při					
		405 nm [μg/dl]	480 nm [μg/dl]	505 nm [μg/dl]	546 nm [μg/dl]	570 nm [μg/dl]	700 nm [μg/dl]
1	0	157	163	160	159	158	154
2	200	145	162	162	157	156	155
3	400	140	165	163	162	158	160
4	600	133	166	162	161	153	161
5	800	145	172	171	164	158	158
6	1000	144	173	172	162	155	167
7	1200	160	171	175	167	156	164
8	1400	159	177	177	166	155	170
9	1600	176	180	178	162	152	180
10	1800	175	183	177	163	157	183
11	2000	178	189	192	172	159	187

vzorek	Hb- obsah [mg/dl]	regenerace regenerace regenerace regenerace regenerace regenerace					
		405 nm [%]	480 nm [%]	505 nm [%]	546 nm [%]	570 nm [%]	700 nm [%]
1	0	100	100	100	100	100	100
2	200	92	99	101	99	99	101
3	400	89	101	102	102	100	104
4	600	85	102	101	101	97	105
5	800	92	106	107	103	100	103
6	1000	92	106	108	102	98	108
7	1200	102	105	109	105	99	106
8	1400	101	109	111	104	98	110
9	1600	112	110	111	102	96	117
10	1800	111	112	111	103	100	119
11	2000	113	116	120	108	101	121

Tabulka 2

vzorek	Ht obsah [mg/dl]	obsah pxi 405 nm [U/l]	obsah pxi 480 nm [U/l]	obsah pxi 505 nm [U/l]	obsah pxi 546 nm [U/l]	obsah pxi 570 nm [U/l]	obsah pxi 600 nm [U/l]	obsah pxi 660 nm [U/l]	obsah pxi 700 nm [U/l]
1	0	175	175	177	175	177	176	179	174
2	200	181	176	177	175	180	176	180	178
3	400	189	177	179	178	180	176	179	178
4	600	182	165	165	168	171	165	170	166
5	800	191	164	166	168	170	162	166	166
6	1000	195	164	164	170	172	163	166	163
7	1200	196	163	164	170	174	163	166	165
8	1400	205	163	163	170	174	160	165	164
9	1600	212	163	163	173	174	161	164	162
10	1800	214	160	163	172	177	161	165	163
11	2000	224	160	161	173	178	160	164	164

vzorek	Hb1 obsah [mg/dl]	regenerace 405 nm [%]	regenerace 480 nm [%]	regenerace 505 nm [%]	regenerace 546 nm [%]	regenerace 570 nm [%]	regenerace 600 nm [%]	regenerace 660 nm [%]	regenerace 700 nm [%]
1	0	100	100	100	100	100	100	100	100
2	200	103	101	100	100	102	100	101	102
3	400	108	101	101	102	102	100	100	102
4	600	104	94	93	96	97	94	95	95
5	800	109	94	94	96	96	92	93	95
6	1000	111	94	93	97	97	93	93	94
7	1200	112	93	93	97	98	93	93	95
8	1400	117	93	92	97	98	91	92	94
9	1600	121	93	92	99	98	91	92	93
10	1800	122	91	92	98	100	91	92	94
11	2000	128	91	91	99	101	91	92	94

tabulka 3

vzorek	Hb- obsah [mg/dl]	obsah při obsahu při obsahu při obsahu při					obsah při obsahu při	
		405 nm	480 nm	505 nm	546 nm	570 nm	600 nm	660 nm
		[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]
1	0	40,6	40,2	40,7	41,5	40,1	40,7	40,8
2	200	49,7	41,2	39,4	40,7	42,6	39,1	39,7
3	400	58,9	37,3	38,2	41,8	41,6	38,8	36,0
4	600	68,1	38,5	36,8	43,1	40,8	36,1	37,7
5	800	75,3	36,6	35,7	42,6	42,4	32,7	36,3
6	1000	82,4	34,9	35,4	44,1	43,4	30,8	32,6
7	1200	82,5	39,6	33,9	44,4	44,5	27,5	36,7
8	1400	95,0	35,5	34,5	44,8	43,0	26,1	33,4
9	1600	99,2	37,3	35,0	44,1	44,3	25,9	31,7
10	1800	98,9	33,9	29,8	46,7	42,9	24,8	27,1
11	2000	97,1	33,2	29,1	48,1	44,1	22,4	27,9

vzorek	Hb obsah [mg/dl]	regenerace regenerace regenerace regenerace regenerace					regenerace regenerace	
		405 nm	480 nm	505 nm	546 nm	570 nm	600 nm	660 nm
		[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
1	0	100	100	100	100	100	100	100
2	200	122	102	97	98	106	96	97
3	400	145	93	94	101	104	95	88
4	600	168	96	90	104	102	89	92
5	800	185	91	88	103	106	80	89
6	1000	203	87	87	106	108	76	80
7	1200	203	98	83	107	111	68	90
8	1400	234	88	85	108	107	64	82
9	1600	244	93	86	106	110	64	78
10	1800	244	84	73	113	107	61	66
11	2000	239	83	71	116	110	55	68

vzorek	Hb. obsah [mg/dl]	obsah p _{xi} 405 nm		obsah p _{xi} 480 nm		obsah p _{xi} 505 nm		obsah p _{xi} 546 nm		obsah p _{xi} 570 nm		obsah p _{xi} 600 nm		Gehalt bei 660 nm		obsah p _{xi} 700 nm	
		[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]
1	0	196	197	199	197	199	197	199	197	199	199	199	199	199	199	205	205
2	200	162	202	206	202	206	203	203	203	198	198	208	208	200	200	206	206
3	400	127	210	215	210	215	199	199	199	195	195	219	219	207	207	215	215
4	600	95	218	223	218	223	202	202	202	196	196	229	229	217	217	224	224
5	800	72	220	228	220	228	200	200	192	192	192	225	225	222	222	222	222
6	1000	45	224	226	224	226	199	199	193	193	193	230	230	226	226	222	222
7	1200	27	223	232	223	232	201	201	190	190	190	236	236	228	228	233	233
8	1400	11	237	240	237	240	203	203	192	192	192	243	243	234	234	236	236
9	1600	-13	230	238	230	238	199	199	190	190	190	242	242	233	233	236	236
10	1800	-1	234	244	234	244	198	198	192	192	192	245	245	237	237	238	238
11	2000	-15	233	246	233	246	197	197	191	191	191	247	247	238	238	241	241

vzorek	Hb. obsah [mg/dl]	regenerace 405 nm		regenerace 480 nm		regenerace 505 nm		regenerace 546 nm		regenerace 570 nm		regenerace 600 nm		regenerace 660 nm		regenerace 700 nm	
		[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
1	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	200	83	103	104	103	104	103	103	99	99	99	104	104	101	101	100	100
3	400	65	107	108	107	108	101	101	98	98	98	110	110	104	104	105	105
4	600	48	111	112	111	112	103	103	98	98	98	115	115	109	109	109	109
5	800	37	112	115	112	115	102	102	96	96	96	113	113	112	112	108	108
6	1000	23	114	114	114	114	101	101	97	97	97	116	116	114	114	108	108
7	1200	14	113	117	113	117	102	102	95	95	95	119	119	115	115	114	114
8	1400	6	120	121	120	121	103	103	96	96	96	122	122	118	118	115	115
9	1600	-7	117	120	117	120	101	101	95	95	95	122	122	117	117	115	115
10	1800	-1	119	123	119	123	101	101	96	96	96	123	123	119	119	116	116
11	2000	-8	118	124	118	124	100	100	96	96	96	124	124	120	120	118	118

vzorek	Hb obsah [mg/dl]	obsah při obsah při		obsah při obsah při		obsah při obsah při		obsah při obsah při	
		405 nm	480 nm	546 nm	570 nm	600 nm	660 nm	700 nm	
		[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	[U/l]	
1	0	88,0	93,4	93,8	92,6	90,8	92,1	93,0	91,0
2	200	83,5	91,1	99,4	97,4	90,3	94,3	91,9	93,1
3	400	68,5	95,0	97,5	90,6	92,5	95,6	87,1	99,3
4	600	58,0	97,0	98,7	94,4	90,2	97,6	103,6	99,4
5	800	45,0	100,2	99,1	91,3	85,6	94,2	100,7	103,0
6	1000	38,6	101,8	101,5	91,4	92,3	105,3	100,9	99,4
7	1200	38,1	101,4	101,1	90,3	87,8	104,7	98,0	100,8
8	1400	18,0	101,4	104,8	92,0	91,6	104,9	109,3	104,6
9	1600	22,6	104,0	104,4	94,9	90,3	103,0	99,4	104,7
10	1800	20,2	102,9	102,2	91,9	94,3	102,8	106,8	94,0
11	2000	18,7	103,4	102,7	91,8	89,2	100,3	106,2	102,0

vzorek	Hb obsah [mg/dl]	regenerace regenerace		regenerace regenerace		regenerace regenerace		regenerace regenerace	
		405 nm	480 nm	505 nm	546 nm	570 nm	600 nm	660 nm	700 nm
		[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
1	0	100	100	100	100	100	100	100	100
2	200	95	98	106	105	99	102	99	102
3	400	78	102	104	98	102	104	94	109
4	600	66	104	105	102	99	106	111	109
5	800	51	107	106	99	94	102	108	113
6	1000	44	109	108	99	102	114	109	109
7	1200	43	109	108	98	97	114	105	111
8	1400	20	109	112	99	101	114	118	115
9	1600	26	111	111	102	99	112	107	115
10	1800	23	110	109	99	104	112	115	103
11	2000	21	111	110	99	98	109	114	112

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob odstranění rušivého vlivu hemoglobinu při analýze lékařských vzorků, obsahujících volný hemoglobin optickým bichromatickým měřením při hlavní vlnové délce a vedlejší vlnové délce, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se použije pro měření vedlejší vlnová délka nad 475 nm, při níž se nacházejí absorpční pásy hemoglobinu.

2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se použije vedlejší vlnová délka v rozmezí 546 ± 10 nm.

3. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se použije pro měření vedlejší vlnová délka v rozmezí 570 ± 10 nm.

4. Způsob podle jednoho z nároků 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí test, který spočívá v měření přírůstku nebo úbytku koncentrace NADH nebo NADPH.

5. Způsob podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se použije hlavní vlnová délka v rozmezí 340 ± 10 nm.

6. Způsob podle jednoho z nároků 1 až 5, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se stanoví obsah analytu, vybraného ze skupiny sestávající z amoniaku, kreatinkinázy a jejích isoenzymů a laktátdehydrogenázy a jejích isoenzymů.

7. Způsob podle nároku 6, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se stanoví obsah analytu, vybraného ze skupiny sestávající z amoniaku, kreatinkinázy a jejích isoenzymů a laktátdehydrogenázy a jejích isoenzymů.

27.11.98

-17-

c í s e t í m , že se provádí stanovení amonia-
ku.

8. Způsob podle nároku 6, v y z n a ě u j í c í
s e t í m , že se provádí stanovení kreatinkiná-
zy a/nebo isoenzymu CK-MB kreatinkinázy.

9. Způsob podle nároku 6 , v y z n a ě u j í c í
s e t í m , že se provádí stanovení laktátdehydro-
genázy a/nebo isoenzymu HBDH laktatdehydrogenázy.

10. Způsob podle jednoho z nároků 1 až 9 , v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se analyzuje vzo-
rek, který obsahuje náhrádku krve.

11. Způsob podle jednoho z nároků 1 až 10 , v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se stanovení
provádí u vzorku krve nebo séra.

12. Způsob podle jednoho z nároků 1 až 11 , v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se stanovení pro-
vádí v automatickém analytickém zařízení.