



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Stanovení chloridů v biologickém materiálu a jeho význam

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ/
ZDRAVOTNÍ LABORANT**

Autor: Iveta Korousová, DiS.

Vedoucí práce: prof. MUDr. Jaroslav Racek, DrSc.

České Budějovice 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Stanovení chloridů v biologickém materiálu a jeho význam“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2. 6. 2020

Iveta Korousová, DiS.

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce prof. MUDr. Jaroslavu Rackovi, DrSc. za odborné rady, ochotu, trpělivost a především čas, který mi věnoval při vedení této práce. Dále bych chtěla poděkovat celému pracovišti Ústavu klinické biochemie a hematologie Fakultní nemocnice v Plzni za pomoc při zpracování praktické části práce. Velké poděkování také patří mé rodině, která mě podporovala po celou dobu studia.

Stanovení chloridů v biologickém materiálu a jeho význam

Abstrakt

U pacientů v kritickém stavu lze očekávat významné změny koncentrace minerálů a acidobazické rovnováhy. Jedním ze stanovovaných analytů jsou chloridy. Ke stanovení koncentrace chloridů v plné krvi i v krevním séru se nejčastěji užívá potenciometrie, tedy chloridová iontově selektivní elektroda. Při stanovení může dojít k ovlivnění jinými látkami přítomnými v krvi; nejvýznamnější je interference hydrogenuhličitanů.

Na pracovišti Ústavu klinické biochemie a hematologie Fakultní nemocnice v Plzni bylo od loňského roku shromážděno 260 vzorků krve pacientů z jednotky intenzivní péče I. interní kliniky Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Plzni. Současně používanými metodami pro stanovení chloridů v biologických tekutinách v nich byla změřena koncentrace chloridů. Získané výsledky byly porovnány a vysvětleny možné interference hydrogenuhličitanů u jednotlivých způsobů měření. Za základní metodu byla zvolena coulometrie, kdy hydrogenuhličitanů neinterferují. Žádný vliv hydrogenuhličitanů nebyl zjištěn při stanovení chloridů na přístroji ABL835 FLEX (Radiometer), pozitivní interference byla nalezena při měření na přístrojích GEM Premier 4000 (Instrumentation Laboratory) a Cobas 8000 (Roche). Vliv hydrogenuhličitanů však nebyl v žádném případě z hlediska interpretace výsledků klinicky významný.

Klíčová slova

chloridy; hydrogenuhličitanů; elektrody; coulometrie; přímá potenciometrie; nepřímá potenciometrie, interference

Determination of chlorides in biological material and its significance

Abstract

Significant changes in concentration of minerals and acid-base balance can be expected in critically ill patients. Chlorides are one of the analytes to be determined. Currently the measurement of chlorides in serum and blood samples is predominantly performed by potentiometry with an ion-selective chloride electrode. During the determination of chloride concentration some interferences by other substances in the blood can be found. The most significant of them are interferences of bicarbonates. Since last year, 260 blood samples of patients from the Intensive Care Unit of the 1st Department of Medicine in Faculty Hospital in Pilsen were collected in the Institute of Clinical Biochemistry and Hematology in Faculty Hospital in Pilsen. Concentration of chlorides in biological material was determined by the commonly used methods. The results were compared and the possible interferences of bicarbonates were explained. Basic method for determination of chlorides is coulometry where bicarbonates don't interfere. During the measurement of chlorides on the ABL835 FLEX analyser (Radiometer) no interferences were detected. During the measurement of chlorides on the GEM Premier 4000 (Instrumentation Laboratory) and Cobas 8000 analysers (Roche) interferences of bicarbonates were found. Nevertheless, the effect of bicarbonates was not clinically significant in interpreting the results.

Key words

chlorides; bicarbonates; electrodes; coulometry; direct potentiometry; indirect potentiometry; interferences

Obsah

1. Úvod	8
2. Metabolismus chloridů	9
2.1 Distribuce chloridů v organismu, koncentrace v tělesných tekutinách	9
2.2 Příjem a výdej chloridů	11
2.3 Změny koncentrace chloridů v plazmě	11
2.3.1 Vztah Na^+ a Cl^-	11
2.3.2 Hyperchloridémie	12
2.3.3 Hypochloridémie	13
3. Biologický materiál ke stanovení chloridů	15
3.1 Sérum/plazma	15
3.2 Plná krev	16
3.3 Moč	17
3.3.1 Odpad za 24 hodin	17
3.3.2 Frakční exkrece chloridů	18
3.4 Pot	19
4. Metody stanovení chloridů	20
4.1 Metody historické, již neužívané	20
4.1.1 Argentometrická titrace	20
4.1.2 Merkurimetrická titrace	20
4.1.3 Spektrofotometrické stanovení	21
4.1.3.1 Stanovení chloridů s thiokyanatanem rtuťnatým	22
4.1.3.2 Stanovení chloridů s chloranilanem rtuťnatým	23
4.2 Metody užívané v praxi	23
4.2.1 Potenciometrie (ISE)	24
4.2.1.1 Přímá potenciometrie	25
4.2.1.2 Nepřímá potenciometrie	25
4.2.2 Coulometrie	26
5. Cíl práce	28
6. Metodika	29
6.1 Soubor pacientů	29
6.2 Užití metody stanovení chloridů	29

6.2.1	Přímá potenciometrie	29
6.2.2	Nepřímá potenciometrie	30
6.2.3	Coulometrie	31
6.3	Pracovní postup	31
7.	Výsledky	33
8.	Diskuze	38
9.	Závěr	43
10.	Literatura	45
11.	Seznam obrázků, tabulek, grafů	48
11.1	Seznam obrázků	48
11.2	Seznam tabulek	49
11.3	Seznam grafů	49

1. Úvod

Chloridy jsou nezastupitelnou složkou našeho organismu. Jejich celková zásoba v organismu činí kolem 30 mmol/kg tělesné hmotnosti. Až z 88 % se vyskytují v extracelulární tekutině, kde se podílejí na osmotickém tlaku. Chloridy jsou velice důležité pro udržení acidobazické rovnováhy a tvorbu žaludeční šťávy. Do organismu se dostávají potravou ve formě chloridu sodného. Je velice důležité udržet přesnou koncentraci chloridů v krvi, jinak dochází k rozvratu vnitřního prostředí organismu. Koncentraci v mezích není vždy možné udržet, vlivem některých příčin dochází k jejímu zvýšení nebo naopak snížení. Zvýšená koncentrace chloridů v krvi je nejčastěji způsobena nerovnováhou mezi jejich příjmem a výdejem. Příčinou je selhání ledvin, kdy jsou chloridy přijímány, ale poruchou ledvin nemohou být vyloučeny. Dochází tak k jejich hromadění v krvi.

Sníženou koncentraci chloridů v séru nacházíme nejčastěji při nadměrných ztrátách chloridů mimo močový trakt. Nejčastější příčinou je dlouhodobé zvracení, odsávání kyselého obsahu žaludku nebo nadměrné pocení.

V teoretické části mé bakalářské práce jsem popsala informace o metabolismu chloridů, biologický materiál, ve kterém je možné chloridy stanovit. Metody, kterými byly chloridy měřeny v minulosti a proč byly nahrazeny současnými. Popsala jsem metody současné, jejich výhody a nevýhody.

V praktické části jsem provedla stanovení chloridů třemi současně používanými metodami. Porovnávala jsem výsledky a vysvětlila možné rozdíly, které byly způsobeny interferencemi jiných iontů, zejména hydrogenuhličitanů. Výsledky mohou pomoci lékařům při hodnocení výsledků u pacientů v kritickém stavu, u kterých jsou významné změny koncentrace minerálů a acidobazické rovnováhy.

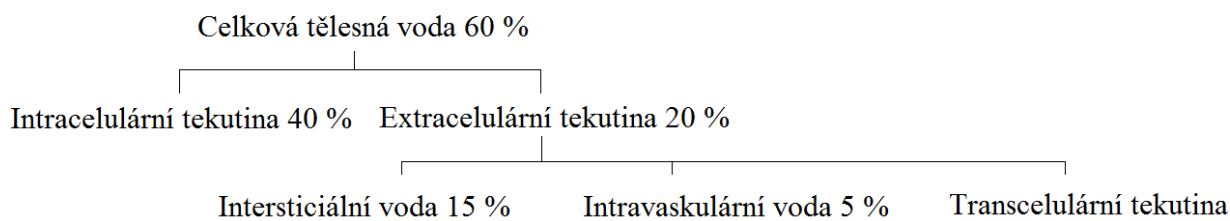
2. Metabolismus chloridů

2.1 Distribuce chloridů v organismu, koncentrace v tělesných tekutinách

Základem vnitřního prostředí lidského těla je voda. Ve vodě jsou rozpuštěny minerály, ionty a ostatní složky v koncentracích, které jsou v extracelulárním a intracelulárním prostoru velice rozdílné (Jabor et al., 2008).

Celková tělesná voda tvoří asi 55 – 60 % celkové tělesné hmotnosti lidského organismu. Množství celkové tělesné vody se v průběhu života mění. Je závislé na pohlaví, věku, stavu hydratace a množství tělesného tuku. Ženy mají nižší podíl celkové tělesné vody než muži, u novorozenců a kojenců představuje celková tělesná voda až 75 %, zatímco u starších lidí dochází naopak k jejímu postupnému poklesu. U obézních lidí nacházíme nižší podíl celkové tělesné vody než u hubených (Breinek, Dastych et al., 2015).

Celková tělesná voda je v organismu rozložena v podobě intracelulární tekutiny, která zaujímá přibližně 40 % celkové tělesné hmotnosti organismu a v podobě extracelulární tekutiny, která zaujímá přibližně 20 % celkové tělesné hmotnosti organismu (Obrázek 1). Asi z 15 % tvoří extracelulární tekutinu intersticiální voda a z 5 % intravaskulární voda. Další složkou celkové tělesné vody v organismu je transcelulární tekutina. Té se však za fyziologických podmínek tvoří velice malé množství. Procentuálně to může být 1 – 2 % celkové tělesné vody (Kazda et al., 2012).

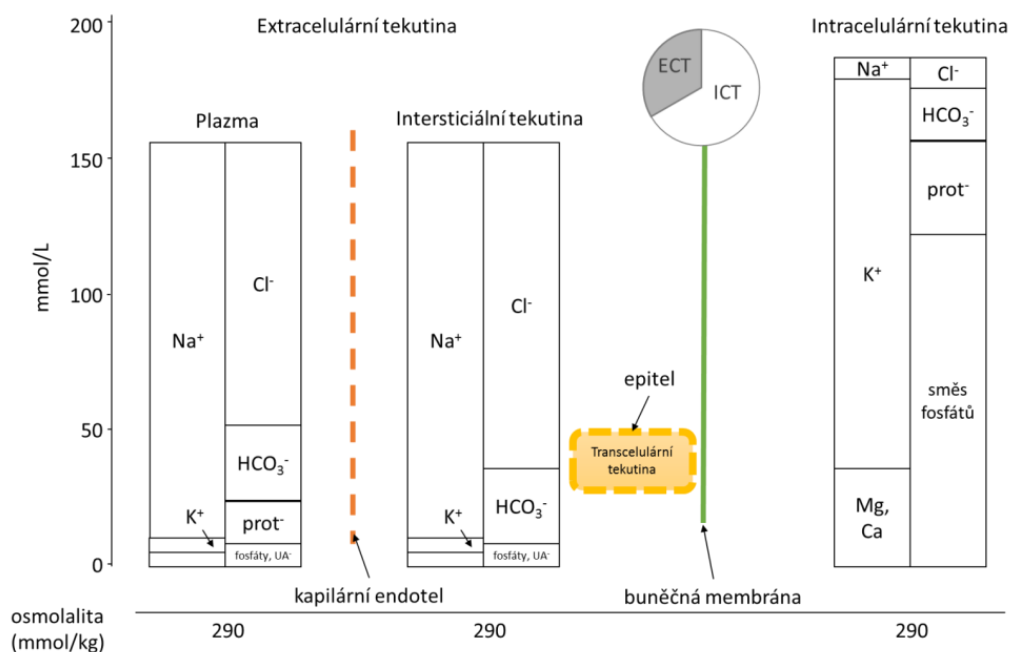


Procenta z celkové tělesné hmotnosti

Obrázek 1. Rozložení celkové tělesné vody v organismu (zdroj: vlastní)

Chloridy jsou hlavním aniontem extracelulární tekutiny. Celková zásoba chloridů v organismu dospělého člověka představuje kolem 30 mmol/kg tělesné hmotnosti. Přibližně 88 % chloridů se nachází v extracelulární tekutině a 12 % v intracelulární tekutině. Nejvíce chloridů se vyskytuje v intersticiální vodě, která je snadno přístupná plazmě; v pojivových tkáních a kostí. Méně pak v intravaskulární vodě a transcelulární tekutině (Kaplan et al., 2003).

V extracelulární tekutině je koncentrace chloridů v rozmezí 98 – 109 mmol/l. Vyšší koncentraci chloridů nalezneme v intersticiální vodě, respektive v tkáňovém moku a v mozkomíšním moku, protože chloridy mohou volně prostupovat membránou z plazmy do intersticiálního prostoru. Bílkoviny takovou možnost nemají, a proto jsou v intersticiální vodě ve sloupci aniontů nahrazeny chloridy (Obrázek 2). V intracelulární tekutině je koncentrace chloridů výrazně nižší. Pohybuje se v rozmezí 3 – 10 mmol/l. V červených krvinkách je koncentrace o něco vyšší, pohybuje se kolem 15 mmol/l. Vyšší koncentrace chloridů než v plazmě může být také v moči. Nejvyšší koncentrace chloridů je však v žaludeční šťávě (Racek, Rajdl et al., 2020).



Obrázek 2. Složení tekutin v plazmě, intersticiální vodě a intracelulárně (zdroj: Racek, Rajdl et al., 2020)

Spolu se sodíkem se chloridy podílejí na osmotickém tlaku extracelulární tekutiny. Chloridy jsou velice důležité pro udržení acidobazické rovnováhy. Pokud dojde ke změně koncentrace chloridů, dojde také většinou ke změně koncentrace

hydrogenuhličitanů, a to tak, aby součet koncentrace chloridů a hydrogenuhličitanů byl konstantní. Zvýšení koncentrace chloridů vede ke snížení koncentrace hydrogenuhličitanů, což má za následek rozvoj metabolické acidózy. Naopak snížená koncentrace chloridů je doprovázená vzestupem koncentrace hydrogenuhličitanů a vede k rozvoji metabolické alkalózy. Další funkcí chloridů je tvorba žaludeční šťávy; její důležitou složkou je kyselina chlorovodíková (Klener et al., 2006).

2.2 Příjem a výdej chloridů

Množství chloridů v organismu je závislé na rovnováze mezi jejich příjmem a výdejem. Chloridy jsou přijímány potravou ve formě chloridu sodného. Příjem chloridů je závislý na množství a typu potravy. Za normálních okolností by měl průměrný dospělý člověk přijmout kolem 50 – 200 mmol chloridů za den (Kaplan et al., 2003).

Chloridy se do organismu dostávají společně se sodíkem v tzv. ekvimolárním množství, respektive ve stejném molárním množství. Ztráty by tedy měly být za fyziologických podmínek stejné u obou iontů. Výdej chloridů je možný třemi různými cestami – močovým traktem, gastrointestinálním traktem a kůží. Za fyziologických podmínek by mělo být močí denně vyloučeno 120 – 240 mmol jak chloridů, tak sodíku. Stolicí se vylučuje 10 mmol za den a potem 10 – 80 mmol za den. Musí se brát v úvahu, že výdej chloridů je závislý na jejich příjmu v potravě. (Zima, 2007).

Za patologických stavů může docházet k nadměrnému vylučování chloridů močí při nadměrném užívání některých diuretik nebo při snížené funkci nadledvin. Trávicím ústrojím to může být při dlouhodobém zvracení nebo odsáváním žaludeční šťávy. Vzácně se chloridy ztrácejí stolicí. Společně se sodíkem se může denně vyloučit až 100 mmol chloridů v potu (Racek et al., 2006).

Pokud dojde k nadměrným ztrátám chloridů v podobě moče a žaludeční šťávy, může dojít k rozvoji tzv. metabolické hypochloremické alkalózy (Racek et al., 2006).

2.3 Změny koncentrace chloridů v plazmě

2.3.1 *Vztah Na^+ a Cl^-*

Chloridy doprovázejí především sodík, který je nejdůležitějším kationtem extracelulární tekutiny. Proto je vždy velice důležité porovnávat koncentraci chloridů v séru

s koncentrací sodíku v séru. Pokud jsou nějaké změny v koncentraci chloridů, většinou jsou souběžně změny v koncentraci sodíku. Chloridy tedy neposuzujeme k referenčnímu rozmezí, ale ke koncentraci sodíku jako chloridy korigované. To je taková koncentrace chloridů, kterou by měl pacient při fyziologické koncentraci sodíku. Většinou se korigují ke koncentraci sodíku 140 mmol/l. Korigované chloridy nám pomohou v posouzení metabolické poruchy acidobazické rovnováhy, například k posouzení přítomnosti metabolické hyperchloremické acidózy nebo metabolické hypochloremické alkalózy. Vypočítají se podle rovnice:

$$Cl_{kor}^{-} = Cl^{-} \cdot \frac{140}{Na^{+}}$$

Na^{+} a Cl^{-} v této rovnici znamenají měřené koncentrace příslušného iontu. Pokud je koncentrace chloridů v referenčním rozmezí, mohou se korigované chloridy vypočítat jako rozdíl sodných kationtů a chloridových aniontů (Jabor et al., 2008).

Pokud jsou korigované chloridy v referenčním rozmezí, lze vyloučit metabolickou poruchu acidobazické rovnováhy; ke změnám koncentrace chloridů spolu s koncentrací sodíku může docházet například při změnách hydratace nebo u centrálních poruch (Racek, Rajdl et al., 2020).

2.3.2 Hyperchloridémie

Nejčastější příčinou zvýšené koncentrace chloridů v séru je snížené vylučování chloridů močí při selhání ledvin. Dochází tak v organismu nejen k zadržování chloridů, ale také aniontů dalších kyselin, jako jsou sulfáty nebo fosfáty. To způsobuje rozvoj renální metabolické acidózy (Dastyh a Králíková, 2014).

Další příčinou může být nadměrný příjem chloridů. Ten je spojen s jejich sníženým vylučováním, tedy také při poruše funkce ledvin. Chloridy jsou do organismu přijímány, ale nedochází k jejich vylučování. Je porušena rovnováha mezi příjmem a výdejem chloridů. Nadbytek chloridů se do organismu dostane nejen potravou v podobě chloridu sodného, ale také s infuzí izotonického roztoku chloridu sodného (Racek, Rajdl et al., 2020).

K zvýšené koncentraci chloridů v séru může také docházet u pacientů, kteří jsou léčeni inhibitory karboanhydrázy (acetazolamid) nebo u pacientů, u nichž došlo k renální

tubulární acidóze. Za těchto okolností je porušena resorpce hydrogenuhličitanů a místo nich se vstřebávají chloridy spolu se sodíkem (Jabor et al., 2008).

V neposlední řadě se mezi příčiny zvýšené koncentrace chloridů v séru může zařadit dehydratace organismu spojená s těžkými průjmy nebo respirační alkalóza způsobená chronickou hyperventilací při horečkách nebo onemocněních centrální nervové soustavy (Levková, 2005).

Další příčinou mohou být geneticky podmíněné choroby. Může se jednat o centrální diabetes insipidus nebo nefrogenní diabetes insipidus (Datový standard MZ ČR, 2019).

Příznaky zvýšené koncentrace chloridů nejsou přesně definované, může se projevovat podrážděností (Datový standard MZ ČR, 2019).

2.3.3 Hypochloridémie

Sníženou koncentraci chloridů v séru nacházíme při nadměrných ztrátách chloridů mimo močový trakt. Nejčastější příčinou je dlouhodobé zvracení, odsávání kyselého obsahu žaludku nebo nadměrné pocení (Datový standard MZ ČR, 2019).

Další příčinou nízké koncentrace chloridů v séru jsou renální ztráty u neléčené diabetické ketoacidózy, respirační acidózy, při užívání diuretik jako jsou thiazidy nebo furosemid. Současně dochází ke ztrátám sodných a draselných kationtů, avšak ztráty chloridů jsou větší (Jabor et al., 2008).

Snížená koncentrace chloridů může být zapříčiněna geneticky podmíněnou poruchou. Jedná se o tzv. Bartterův syndrom, při němž dochází k dědičnému defektu transportu chloridů v ascendentní části Henleho kličky. Mezi laboratorní známky tohoto onemocnění patří ztráta chloridů močí, snížená koncentrace draslíku v séru a metabolická alkalóza. Podobné příznaky můžeme nalézt u opakujícího se zvracení či zneužívání laxativ u pacientek s mentální anorexií. Rozdíl je ve ztrátě chloridů močí, kdy u Bartterova syndromu je ztráta chloridů močí větší (Racek et al., 2006).

Další příčinou jsou hormonální změny. Může se jednat o Addisonovu chorobu, jejíž podstatou je snížená funkce kůry nadledvin. Důsledkem je snižování tvorby příslušných hormonů – kortizolu a aldosteronu (Datový standard MZ ČR, 2019).

Dále mohou nastat poruchy hydratace nebo chronická hyperkapnie, při které nedochází k doplňování vody s obsahem minerálů (Levková, 2005).

Snížená koncentrace chloridů v séru může být způsobena nedostatečným příjmem chloridů v potravě. Příčinou může být zcela neslaná dieta (Datový standard MZ ČR, 2019).

Mezi hlavní příznaky snížené koncentrace chloridů patří letargie a slabost. Metabolickým příznakem je hypochloremická alkalóza (Datový standard MZ ČR, 2019).

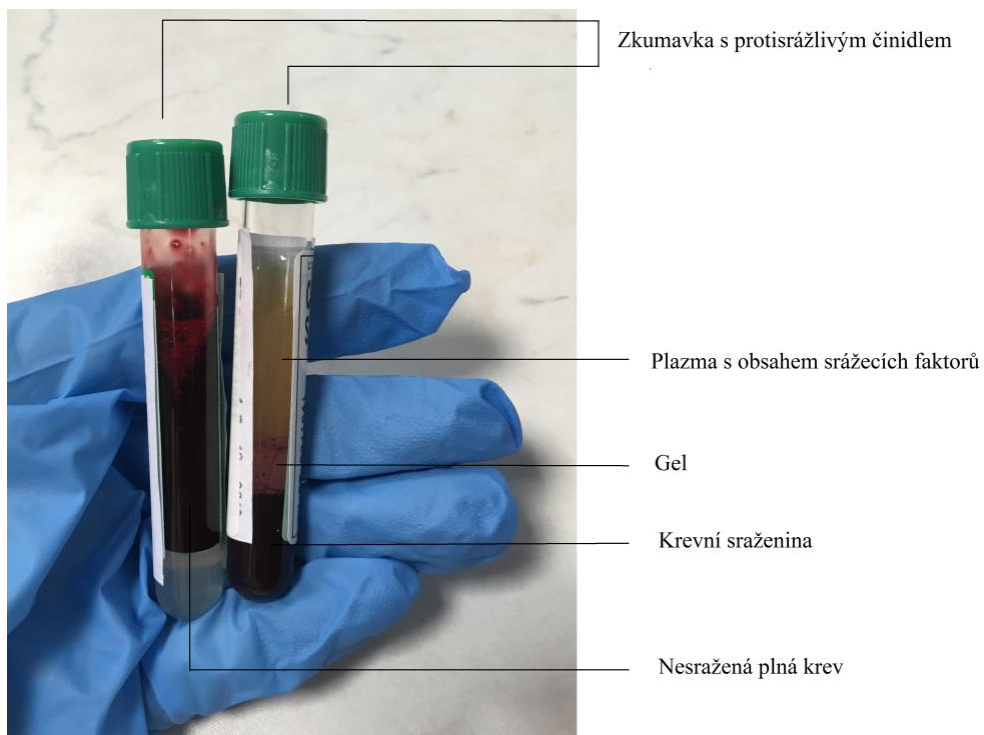
Léčba spočívá ve zjištění zdroje snížené koncentrace a následné terapie podle příčiny (Jabor et al., 2008).

3. Biologický materiál ke stanovení chloridů

Koncentraci chloridů lze měřit v různých biologických materiálech. Stanovují se v séru nebo plazmě, plné krvi, moči a potu. Chloridy se v laboratoři stanovují nepřetržitě. Při rutinním požadavku je odezva laboratoře do 24 hodin od přijetí vzorku do laboratoře, při vyšetření statim do 2 hodin. Výjimkou je vyšetření chloridů v potu, které se provádí pouze v pracovních dnech (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-10-28).

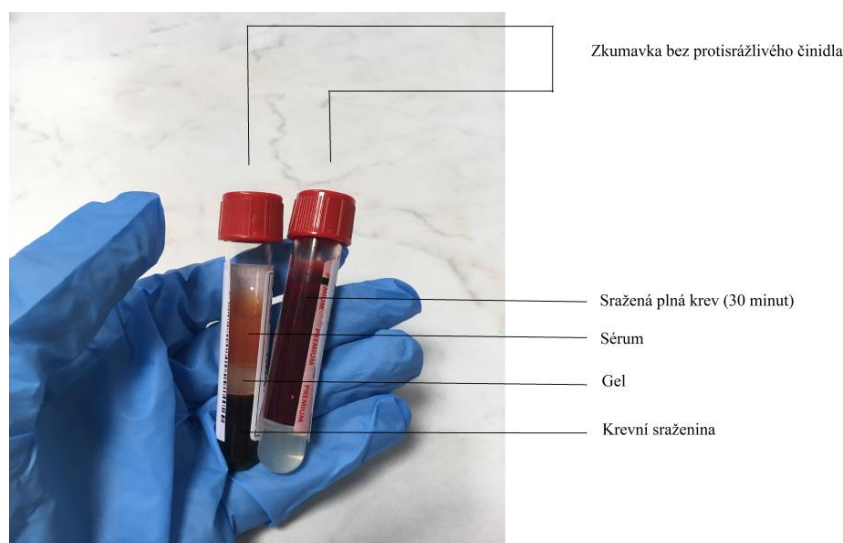
3.1 Sérum/plazma

Ke stanovení koncentrace chloridů v plazmě se používají zkumavky, které obsahují protisrážlivé činidlo (Obrázek 3). Nejčastěji se využívá heparinát lithný. Heparinová plazma je preferovaným materiálem v rutinních laboratořích. Výhodou je možnost včasného zpracování materiálu v naléhavých situacích (statimová vyšetření), kdy krev není potřeba nechat se srážet při pokojové teplotě 30 minut. Během analýzy nedochází ke srážení krve a většinou tak není potřeba následně vyšetření opakovat (Cibiček, Vacek et al., 2014).



Obrázek 3. Krevní plazma (zdroj: vlastní)

Ke stanovení koncentrace chloridů v séru není potřeba žádné protisrážlivé činidlo (Obrázek 4). Krev se musí nechat před odstředěním srážet při pokojové teplotě 30 minut, u pacientů s antikoagulační léčbou 60 minut (Cibiček, Vacek et al., 2014).



Obrázek 4. Krevní sérum (zdroj: vlastní)

Po odstředění jsou chloridy v séru a plazmě stabilní při +20 až +25 °C 8 hodin, při +4 až +8 °C 2 týdny a při -20 °C až 1 rok. Koncentrace chloridů v séru bez lačnění může být nepatrně nižší než při odběru na lačno. (Datový standard MZ ČR, 2019).

Významné ovlivnění výsledku hemolýzou nenastává, protože koncentrace chloridů v červených krvinkách je výrazně nižší než v plazmě či séru (Burtis et al., 2008).

3.2 Plná krev

Ke stanovení koncentrace chloridů v plné krvi je nutné použít speciální stříkačky, skleněné nebo plastové kapiláry s přidavkem balancovaného heparinátu lithného (Obrázek 5). Odběrové nádoby by měly být uchovány při teplotě tajícího ledu až do doby transportu (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-10-28).



Obrázek 5. Plastová kapilára, kapilára AK-fix a stříkačka Radiometer (zdroj: vlastní)

3.3 Moč

Stanovení koncentrace chloridů v moči se využívá především k výpočtu odpadu chloridů v moči za 24 hodin nebo k výpočtu frakční exkrece chloridů. Odběr se provádí do močových zkumavek (Obrázek 6). Ke stanovení chloridů se používá jednorázová moč odebraná ráno, kdykoliv během dne, sběr moče nad 4 hodiny, popřípadě sběr moče 24 hodin bez přidání činidel k úpravě moče (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-10-29).



Obrázek 6. Močová zkumavka Vacuette s kulatým dnem (zdroj: vlastní)

Hodnocení koncentrace chloridů v moči má význam pro odlišení dvou hlavních typů metabolické alkalózy. U metabolické alkalózy, která reaguje na léčbu chloridy a která je způsobena velkými ztrátami chloridů močí nebo trávicím traktem, bývá koncentrace chloridů v moči < 20 mmol/l. Naproti tomu metabolická alkalóza, nereagující na dodání chloridů, způsobená hyperaldosteronismem, má koncentraci chloridů v moči vyšší (Racek, Rajdl et al., 2020).

Stabilita chloridů v moči je nižší než v séru a plazmě, při teplotě $+20$ až $+25$ °C má stabilitu 2 hodiny a při teplotě $+4$ až $+8$ °C 24 hodin. Pokud by moč byla potřeba měřit v pozdější době, je nutné ji okyselit a uložit do lednice. To se však při některých vyšetření nedoporučuje (Datový standard MZ ČR, 2019).

3.3.1 Odpad za 24 hodin

Stanovení koncentrace chloridů v moči slouží k výpočtu jejich odpadu za 24 hodin. Tento výpočet slouží především k zhodnocení denní bilance chloridů, tj. zda je v rovnováze jejich příjem a výdej. K výpočtu je potřeba znát přesné množství sbírané moče a dobu sběru, která by měla být 24 hodin. Výsledek je vydáván v mmol/d (Tabulka 1), referenční rozmezí je rozdílné podle věku a závisí na příjmu chloridů (Doležalová et al., 1995).

Tabulka 1. Referenční rozmezí chloridů v moči

Věk	Referenční rozmezí
0–1 rok	2–10 mmol/d
1–7 let	20–70 mmol/d
7–14 let	50–130 mmol/d
> 14 let	120–240 mmol/d

Zdroj: vlastní

Odpad chloridů se vypočítá podle rovnice:

$$fU_{Cl} = U_{Cl} \cdot V$$

kde, U_{Cl} koncentrace chloridů v moči v mmol/l

V objem sbírané moče za 24 hodin.

Nevýhodou je někdy špatný sběr moče, použití případných čisticích prostředků nebo činidel na úpravu moče (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-10-29).

3.3.2 Frakční exkrece chloridů

K diferenciální diagnostice hyperchloridémie a hypochloridémie se kromě stanovení v séru nebo plazmě používá také stanovení v moči, které slouží především k výpočtu frakční exkrece chloridů v moči. K tomuto výpočtu je potřeba stanovit koncentraci kreatininu a chloridů v moči a zároveň v séru nebo plazmě. Koncentraci v moči je možné stanovit z náhodného vzorku moče nebo ze sbíraného vzorku moče. Doba sběru by měla být nad 4 hodiny. Celkové množství vyloučené moče není k výpočtu potřeba. Výsledek je vydáván v procentech, referenční rozmezí je pak 0,3 – 2 %. Frakční exkrece chloridů se vypočítá podle vzorce:

$$FE_{Cl} = \frac{U_{Cl} \cdot S/P_{kreat.}}{S/P_{Cl} \cdot U_{kreat.}}$$

kde, U_{Cl} koncentrace chloridů v moči v mmol/l

S/P_{Cl} koncentrace chloridů v séru nebo plazmě v mmol/l

$U_{kreat.}$ koncentrace kreatininu v moči v μ mol/l

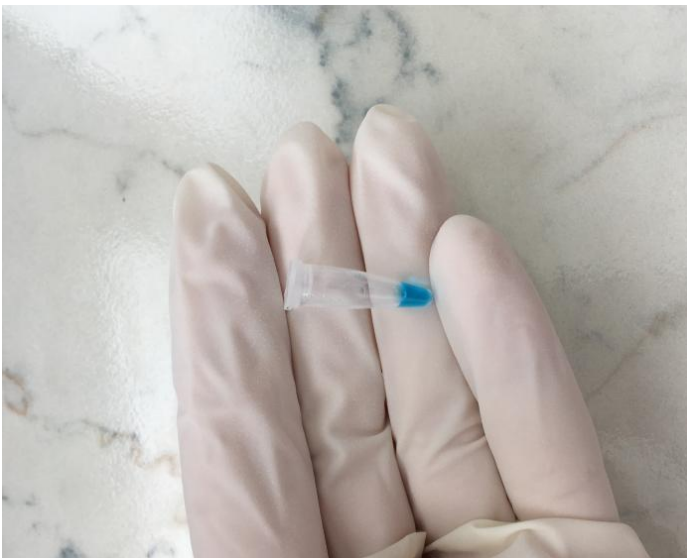
$S/P_{kreat.}$ koncentrace kreatininu v séru nebo plazmě v μ mol/l (Jabor et al., 2008).

3.4 Pot

Pot je možné odebrat ze zad, předloktí nebo podpaží. Odběr je možný do zváženého filtračního papíru v plastové nádobce (Obrázek 7) nebo častěji rovnou do komerčně dostupné plastové kapiláry (Obrázek 8). Z filtračního papíru se chloridy eluují destilovanou vodou (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-10-29).



Obrázek 7. Filtrační papír a plastová nádobka (zdroj: vlastní)



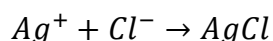
Obrázek 8. Plastová kapilára Macroduct Sweat Collection System (zdroj: vlastní)

4. Metody stanovení chloridů

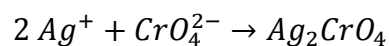
4.1 Metody historické, již neužívané

4.1.1 Argentometrická titrace

Metoda byla založena na reakci chloridových iontů s ionty stříbrnými: vzniká nerozpustný a tedy i nedisociovaný chlorid stříbrný:



Jako indikátor se přidávalo několik kapek roztoku chromanu draselného (Thomas, 1998); jakmile byly spotřebovány všechny chloridové ionty na reakci s Ag^+ , reagovaly přebytečné Ag^+ ionty s chromanovými anionty za vzniku červeně zbarveného chromanu rtuťnatého:



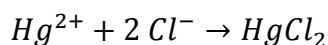
K nevýhodám stanovení patřilo:

- subjektivní hodnocení bodu ekvivalence;
- zdlouhavá práce;
- nemožnost automatizace;
- obtížné hodnocení bodu ekvivalence;
- roztok dusičnanu stříbrného po styku s organickými látkami dává černé zbarvení (Thomas, 1998).

Pro dvě poslední nevýhody se v praxi více rozšířilo stanovení chloridů merkurimetrickou titrací.

4.1.2 Merkurimetrická titrace

Princip byl podobný jako u předchozí metody. Chloridové ionty zde reagovaly s ionty rtuťnatými a vznikl sice rozpustný, ale nedisociovaný chlorid rtuťnatý:



Titrační roztok byl roztokem dusičnanu rtuťnatého; ten je rozpustný a velmi dobře disociovaný – obsahuje tedy ionty rtuťnaté. Indikátorem byl difenylkarbazon, který s ionty rtuťnatými dává růžově fialové zbarvení (Thomas, 1998).

Bod ekvivalence se tedy projevil růžovým zbarvením, které poskytly prvé volné rtuťnaté ionty s indikátorem. Indikátor byl přidáván buď rozpuštěný v metanolu, který se smísil s titrovaným vzorkem; růžově zbarvený byl celý obsah titrační baňky. Druhou variantou byl přídavek několika kapek roztoku difenylkarbazonu v chloroformu. Protože se chloroform s vodnými roztoky nemísí a má hustotu vyšší než titrovaná směs, zůstala kapka chloroformu s indikátorem na dně titrační baňky. Růžové zbarvení bylo pozorováno jen v chloroformové fázi; toto uspořádání bylo citlivější než při rozpuštění indikátoru v metanolu (Kováč et al., 1986).

Stanovení chloridů merkurimetrickou titrací mělo celou řadu nevýhod, přesto se však ještě v sedmdesátých letech minulého století užívalo v klinicko-biochemických laboratořích; soupravy pro stanovení chloridů merkurimetrickou titrací vyráběla např. firma Lachema Brno. K nevýhodám, které byly příčinou opuštění metody, patřilo především:

- subjektivní hodnocení bodu ekvivalence;
- zdlouhavá práce;
- nemožnost automatizace;
- práce s jedovatými činidly; jedovaté bylo jak titrační činidlo (obsahu rozpustné rtuťnaté sloučeniny), tak indikátor (metanol, chloroform) (Kováč et al., 1986).

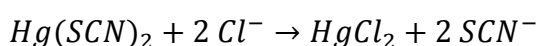
4.1.3 Spektrofotometrické stanovení

Subjektivní a zdlouhavé titrační metody byly nahrazeny spektrofotometrickým stanovením chloridů. V praxi se rozšířily dvě metody; firma Lachema Brno vyráběla soupravy založené na dvou principech. Obě metody vycházely z vysoké afinity chloridových iontů k iontům rtuťnatým. I když byly popsány i jiné metody spektrofotometrického stanovení chloridů, v našich laboratořích se neuplatnily (Kováč et al., 1986).

4.1.3.1 Stanovení chloridů s thiokyanatanem rtuťnatým

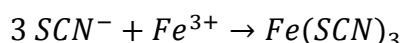
Tato metoda byla před zavedením potenciometrické metody stanovení chloridů velmi rozšířená, laboratoře v Československu obvykle užívaly soupravy Chloridy fotometricky od firmy Lachema Brno. Kromě objektivního měření absorbance byla i možnost automatizace analýzy (Kováč et al., 1986).

Činidlo obsahovalo rozpustný, ale nedisociovaný thiokyanatan (rhodanid) rtuťnatý. Chloridové ionty z této sloučeniny vytěsnilly thiokyanatanové anionty – jejich afinita k rtuťnatým iontům byla výrazně vyšší než tomu bylo u iontů thiokyanatanových:



Protože thiokyanatanové ionty jsou bezbarvé, bylo třeba doplnit indikační reakci (Ashwood a Burtis, 1999).

Činidlo kromě thiokyanatanu rtuťnatého obsahovalo i dusičnan železitý; ionty Fe^{3+} dávají s ionty SCN^- intenzivně červené zbarvení thiokyanatanu železitého (Ashwood a Burtis, 1999); jeho intenzita byla měřena spektrofotometricky při vlnové délce 480 nm:

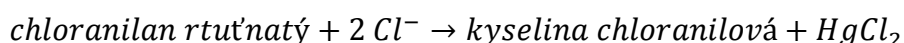


Jakkoliv byla tato metoda rozšířena v praxi, po sestrojení vhodných a dostatečně stabilních iontově selektivních elektrod citlivých na chloridové ionty byla poměrně rychle opuštěna. Důvodem bylo množství nevýhod, které se v praxi ukázaly:

- opět jedovaté činidlo obsahující rtuť;
- nelineární závislost mezi koncentrací chloridů a měřenou absorbancí; toto se projevilo zejména při měření koncentrace chloridů v moči, kde se očekávaná koncentrace pohybuje v širokém rozmezí (od jednotek až po více než 100 mmol/l);
- u pacientů užívajících jako lék deriváty kyseliny salicylové (zejména kyselinu acetylsalicylovou – Aspirin, Anopyrin) se mohla vyskytnout pozitivní chyba, daná interferencí kyseliny salicylové zejména v moči, kde se koncentruje: s ionty Fe^{3+} totiž poskytuje intenzivně fialové zbarvení;
- poslední nevýhoda se projevila u analyzátorů užívajících kyvety z plastu: thiokyanatan železitý barvil povrch kyvet a ty bylo nutno často měnit (Fischer a Chromý, 2000).

4.1.3.2 Stanovení chloridů s chloranilanem rtuťnatým

Činidlem byl chloranilan rtuťnatý; tato sloučenina je ve vodě nerozpustná, musela být tedy připravena jemná suspenze činidla. Po přidání vzorku biologického materiálu (sérum, moči) bylo třeba roztok intenzivně třepat, aby suspenze nesedimentovala. Chloridové ionty s rtuť obsaženou v činidle vytvořily rozpustný, nedisociovaný a bezbarvý chlorid rtuťnatý; z činidla se do roztoku uvolnila kyselina chloranilová. Ta byla rozpustná ve vodě a měla fialové zabarvení (Štern et al., 2011). Jeho intenzita byla měřena spektrofotometricky při vlnové délce 500 nm, hodnota absorbance byla úměrná koncentraci chloridů:



Výhodou metody bylo objektivní měření na spektrofotometru. I zde však byly nevýhody, pro které se metoda příliš nerozšířila:

- jedovaté činidlo obsahující rtuť;
- nutnost třepání během inkubace, což znemožnilo automatizaci metody (Fischer a Chromý, 2000).

4.2 Metody užívané v praxi

Metody titrační a spektrofotometrické jsou v dnešní době nahrazeny metodami, které jsou specifitější, jednodušší a rychlejší. Od stanovení chloridů argentometrickou či merkurimetrickou titrací se opustilo z důvodu určitých odchylek, které mohly nastat subjektivním odhadem barevného přechodu indikátoru. U spektrofotometrického stanovení bylo důvodem menší reprodukovatelnost a další nevýhody, uvedené v podkapitole 4.1.3 (Kováč et al., 1986).

Ke stanovení chloridů v tělesných tekutinách se užívá několik metod založených na odlišném principu. Důležité je, aby poskytly stejné výsledky. Využívá se měření na principu přímé a nepřímé potenciometrie a coulometrie. V praxi se nejčastěji používá stanovení na principu nepřímé potenciometrie na rutinních biochemických analyzátoch a přímé potenciometrie na analyzátoch acidobazické rovnováhy. Coulometricky se stanovují chloridy v potu především u dětských pacientů, u nichž je podezření na onemocnění cystickou fibrózou (Breinek, Dastyh et al., 2015).

4.2.1 Potenciometrie (ISE)

Potenciometrie je elektrochemická metoda, která využívá ke stanovení chloridů, ale i jiných iontů jako například sodných a draselných, iontově selektivní elektrody. Principem je měření rozdílu potenciálu (napětí) pomocí milivoltmetru mezi dvěma elektrodami, které jsou ponořeny do stanovovaného vzorku. Jedna z elektrod je referenční (srovnávací), která má stálý potenciál, nemění se vlivem různé koncentrace měřené látky. Druhá z elektrod je měřicí (indikační), její potenciál se mění v závislosti na koncentraci měřených iontů ve vzorku. Měřicí elektroda je vybavena iontově selektivní membránou, která je propustná pro iont, který chceme měřit (Klouda, 2003).

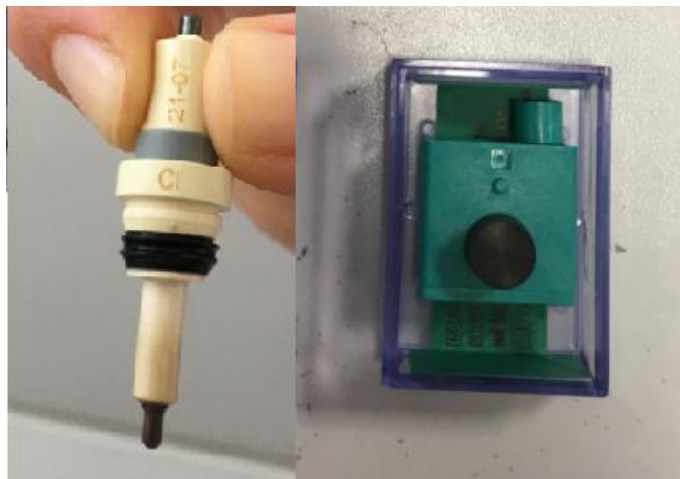
Nejčastěji používanou referenční elektrodou pro stanovení chloridů je argentchloridová elektroda (Obrázek 9), která je tvořena stříbrnou tyčinkou. Tato tyčinka je pokryta chloridem stříbrným a uzavřena v elektrodovém obalu, jehož spodní část je uzavřena membránou. Ten je vyplněn roztokem HCOONa o koncentraci 4 mmol/l a pH 5,5. Zajišťuje tak vodivé spojení se vzorkem (SOP ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-11-08).



Obrázek 9. Argentchloridová elektroda na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 Flex firmy Radiometer a na analyzátoru Cobas 8000 firmy Roche (zdroj: vlastní)

Jako měřicí elektroda se ke stanovení chloridů používá chloridová elektroda (Obrázek 10). Je to iontově selektivní elektroda, která využívá iontově selektivní membrány propustné pro chloridové anionty. Obsahuje senzor, který má v sobě uložené chloridové ionty. Ten je uložen v obalu, který má ve spodní části celofánovou membránu, která ho chrání před kontaminací krví. V obalu je elektrolyt o známé koncentraci chloridových iontů. Tím, že se ponoří do analyzovaného vzorku, dojde ke vzniku

potenciálu, který je přímo úměrný rozdílu koncentrací chloridů v elektrolytu a analyzovaném vzorku (SOP ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-11-20).



Obrázek 10. Chloridová elektroda na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 Flex firmy Radiometer a na analyzátoru Cobas 8000 firmy Roche (zdroj: vlastní)

4.2.1.1 *Přímá potenciometrie*

Jedním z možných způsobů stanovení chloridů je přímá potenciometrie. Tato metoda nevyužívá k měření iontů ředění vzorku. Chloridy se měří na analyzátoch, určených pro měření krevních plynů, acidobazické rovnováhy, minerálů (Na^+ , K^+ , Cl^- a Ca^{2+}) a substrátů (zejména glukóza a laktát). Iontově selektivní elektrody nejsou moc náchylné na interference. Výjimkou jsou však chloridy, u nichž mohou některé nastat. Iontově selektivní membrána může propustit kromě chloridů také jiné anionty, mohou to být ionty hydrogenuhličitanové, bromidové, popřípadě i jodidové. Největší klinický význam může být u extrémních hodnot hydrogenuhličitanových iontů, které membránou proniknou spolu s chloridy; může to ovlivnit výsledek stanovení chloridů. Bromidy a jodidy se ve významné koncentraci v biologickém materiálu nevyskytují, proto je jejich vliv zanedbatelný. Některé analyzátory krevních plynů korigují koncentraci chloridů podle koncentrace hydrogenuhličitanů, aby byl výsledek správný (Racek, Rajdl et al., 2020).

4.2.1.2 *Nepřímá potenciometrie*

Další způsob měření chloridů je nepřímá potenciometrie. Ta oproti přímé potenciometrii využívá ředění vzorku. Toto ředění může být i vyšší než 1 : 200. Tento způsob měření

využívají biochemické automatické analyzátory, na kterých se denně měří veliké množství chloridů (Racek, Rajdl et al., 2020).

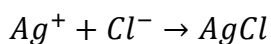
Obecně přímá a nepřímá potenciometrie vydává stejné výsledky. Mohou zde však být nějaké odchylky. Může to nastat ve vzorcích, jejichž obsah pevné složky plazmy je výrazně odlišný, než je obvykle (Racek, Rajdl et al., 2020).

U pacientů s vysokou koncentrací lipidů (triacylglyceroly > 20 mmol/l) nebo bílkovin (celková bílkovina > 100 g/l) u nepřímého měření pomocí iontově selektivních elektrod na automatickém biochemickém analyzátoru dochází k falešnému snížení koncentrace chloridů v séru, k tzv. pseudohypochloridémii. K interferencím nedochází při měření na analyzátorech acidobazické rovnováhy nebo POCT analyzátorech, které jsou založené na přímé potenciometrii, protože zde nedochází k ředění vzorku. V praxi se tedy při koncentracích triacylglycerolů > 20 mmol/l a celkové bílkoviny > 100 g/l přeměřují chloridy společně se sodíkem a draslíkem na analyzátorech acidobazické rovnováhy; tyto výsledky se vydají do laboratorního informačního systému a posléze se přenesou do nemocničního informačního systému (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-12-05).

Naopak k falešnému zvýšení koncentrace chloridů v séru, k tzv. pseudohyperchloridémii dochází u pacientů s nízkou koncentrací bílkovin (celková bílkovina < 40 g/l) při nepřímém měření pomocí iontově selektivních elektrod na automatickém biochemickém analyzátoru (ÚKBH FN Plzeň, cit. 2019-12-05).

4.2.2 Coulometrie

Coulometrie je elektrochemická metoda, která je založena na principu titrace. Stříbrné ionty nejsou k titraci chloridových iontů přidávány jako obvykle ve formě roztoku, ale jsou součástí stříbrné elektrody, ze které jsou pomocí elektrického proudu uvolňovány (Obrázek 11). Stříbrné ionty reagují s chloridovými ionty za vzniku nerozpustného chloridu stříbrného. Při stálém proudu a známém množství vzorku je koncentrace chloridů přímo úměrná času potřebnému k úplnému vytitrování (Dastych et al., 2014).

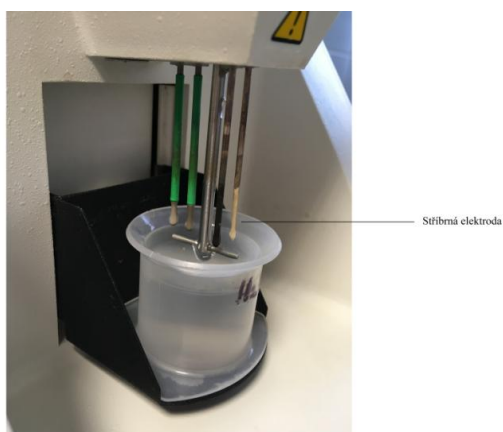


Stanovení se provádí v kyselém prostředí, protože kyseliny zajišťují dobrou elektrickou vodivost. Chloridy jsou měřeny v kyselém pufru, který je tvořen kyselinou octovou či

kyselinou dusičnou nebo jejich směsí. Pufř je obohacen o želatinu nebo polyvinylalkohol, které zlepšují reprodukovatelnost analýzy (Ashwood a Burtis, 1999).

Během analýzy koncentrace chloridů jsou uváděny určité odchylky u vzorků bohatých na bílkoviny, jejichž příčinou je reakce stříbrných iontů s thiolovou skupinou bílkovin (Ashwood a Burtis, 1999).

K přesnému stanovení koncentrace chloridů je rozhodující pravidelná údržba. Pravidelně se sledují expirace referenčního kontrolního materiálu, pufřu i standardu. Stříbrná elektroda má tendenci se zkracovat vlivem uvolňování stříbrných iontů, proto je potřeba ji nepřetržitě kontrolovat (Ashwood a Burtis, 1999).



Obrázek 11. Stříbrná elektroda na analyzátoru Chloridometr Sherwood 926S (typ Clinical Chloride Meter 926S) (zdroj: vlastní)

5. Cíl práce

V praktické části práce jsou popsány současné metody stanovení chloridů, užívané ve Fakultní nemocnici v Plzni a porovnány jejich výsledky na souboru pacientů Fakultní nemocnice v Plzni. Protože se v literatuře popisuje interference hydrogenuhličitanů při stanovení koncentrace chloridů pomocí iontově selektivních elektrod, rozhodli jsme se ověřit jejich vliv na různé způsoby stanovení chloridů; jako referenční metodu jsme zvolili coulometrii, kde hydrogenuhličitaný neinterferují.

Stanovení chloridů bylo provedeno přímou a nepřímou potenciometrií a coulometrií. Současně se stanovením chloridů byla ve všech vzorcích krevního séra stanovena koncentrace celkové bílkoviny (s biuretovým činidlem) a triacylglycerolů (enzymové stanovení) za pomoci souprav firmy Roche na analyzátoru Cobas 8000 od téže firmy. Vyřazeny byly vzorky s výsledky mimo referenční rozmezí, aby byl vyloučen vliv patologické proteinémie a lipémie na rozdíl mezi stanovením chloridů přímou a nepřímou potenciometrií.

Dále byla ve všech vzorcích stanovena koncentrace hydrogenuhličitanů spektrofotometricky pomocí soupravy firmy Roche na analyzátoru Cobas c501 téže firmy.

6. Metodika

6.1 Soubor pacientů

Stanovení chloridů bylo provedeno v krvi respektive krevním séru 260 pacientů, hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče I. interní kliniky Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Plzni od června do října 2019. Pacienti měli různé poruchy acidobazické rovnováhy, a tedy i hladinu hydrogenuhličitanů jakožto potenciálně interferujících iontů.

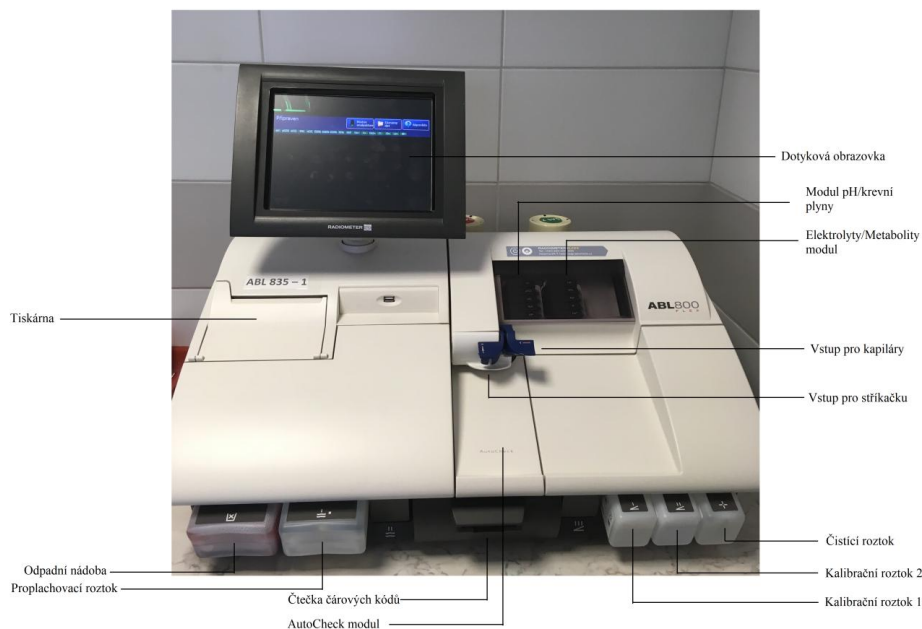
6.2 Užití metody stanovení chloridů

Ke stanovení chloridů byly použity tyto metody: přímá potenciometrie na dvou typech přístrojů (jako vzorek sloužila plná krev odebraná do heparinátu lithného), nepřímá potenciometrie (ředěné krevní sérum) a coulometrie (krevní sérum). Měření probíhalo na následujících přístrojích:

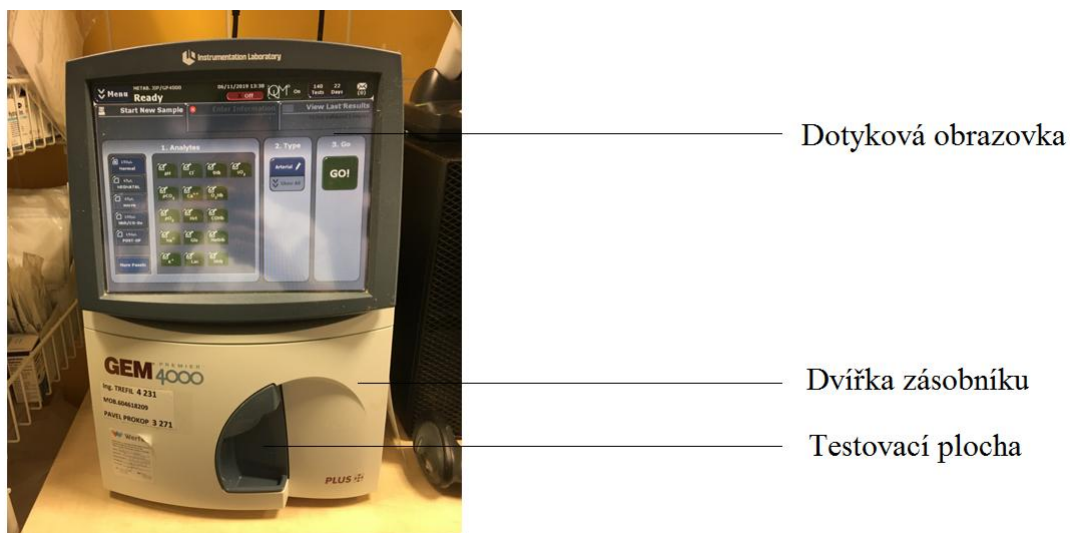
- analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer (přímá potenciometrie);
- analyzátoru GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory (přímá potenciometrie);
- analyzátoru Cobas 8000 od firmy Roche (nepřímá potenciometrie);
- chloridometru Sherwood, typ Clinical Chloride Meter 926S (coulometrie).

6.2.1 *Přímá potenciometrie*

Měření chloridů přímou potenciometrií se provádělo na Ústavu klinické biochemie a hematologie ve Fakultní nemocnici v Plzni na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer (Obrázek 12) a na jednotce intenzivní péče I. interní kliniky Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Plzni na analyzátoru GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory (Obrázek 13).



Obrázek 12. Analyzátor acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer (zdroj: vlastní)



Obrázek 13. Analyzátor GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory (zdroj: vlastní)

6.2.2 Nepřímá potenciometrie

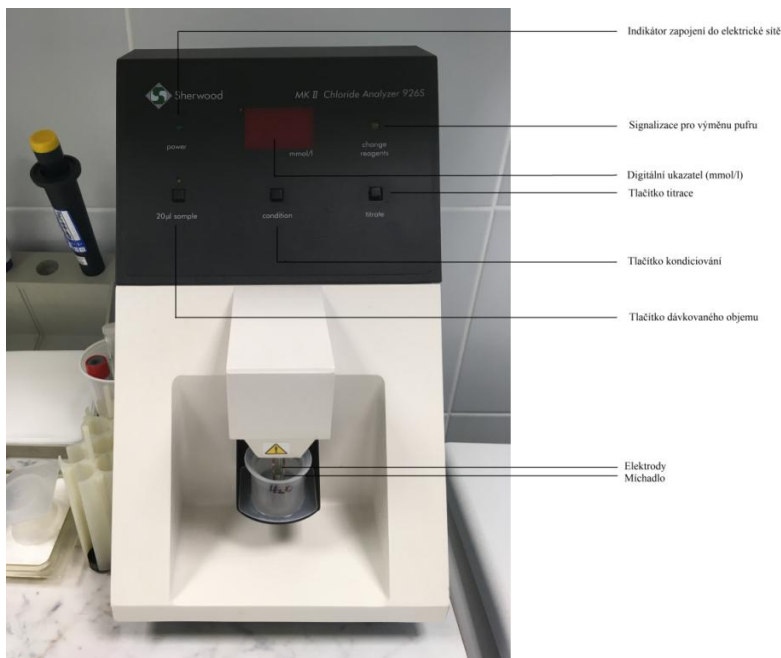
Měření chloridů nepřímou potenciometrií se provádělo na Ústavu klinické biochemie a hematologie ve Fakultní nemocnici v Plzni na analyzátoru Cobas 8000 od firmy Roche (Obrázek 14).



Obrázek 14. Analyzátor Cobas 8000 od firmy Roche (zdroj: vlastní)

6.2.3 Coulometrie

Měření chloridů coulometricky se provádělo na Ústavu klinické biochemie a hematologie ve Fakultní nemocnici v Plzni na chloridometru firmy Sherwood, typ Clinical Chloride Meter 926S (Obrázek 15).



Obrázek 15. Chloridometr firmy Sherwood, typ Clinical Chloride Meter 926S (zdroj: vlastní)

6.3 Pracovní postup

Vzorky byly nejprve změřeny ze speciální stříkačky Radiometer s přidavkem heparinátu lithného na jednotce intenzivní péče I. interní kliniky Lékařské fakulty UK a Fakultní

nemocnice v Plzni na analyzátoru GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory. Bezprostředně nato byly dopraveny do centrální laboratoře, kde byly ihned změřeny ve stejném odběrovém systému na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer, nejpozději však do 30 minut od přijetí. Pokud byl čas z nějakého důvodu překročen, vzorky nemohly být již analyzovány a byly tedy z dalšího měření vyřazeny. Zbylý materiál byl přesunut do dvou štítky označených mikrozkušavek Eppendorf, které byly zcentrifugovány v odstředivce Hettich MIKRO 200 R při 10 600 otáčkách 5 minut při teplotě 4 °C (Obrázek 16). Získaná krevní séra byla následně zamražena a uchovávána při teplotě 80 °C. Po nasbírání dostatečného množství vzorků byla rozmražena jedna mikrozkušavka s krevním sérem a po promíchání na třepačce ihned proběhlo měření na chloridometru Sherwood, typu Clinical Chloride Meter 926S. Následovalo měření krevního séra z druhé mikrozkušavky na analyzátoru Cobas 8000 od firmy Roche. Měření koncentrace chloridů bylo doplněno o spektrofotometrické stanovení celkové bílkoviny a triacylglycerolů na téže analyzátoru a hydrogenuhličitanů na analyzátoru Cobas c501 od firmy Roche.



Obrázek 16. Odstředivka Hettich MIKRO 200 R (zdroj: vlastní)

7. Výsledky

Stanovení chloridů bylo provedeno v krvi 260 pacientů přímou potenciometrií (GEM, ABL), nepřímou potenciometrií (Cobas) a coulometrií (Sherwood). Statistická analýza dat byla provedena pomocí programu Excel (Tabulka 2).

Tabulka 2. Statistické vyhodnocení koncentrace chloridů různými principy stanovení

	GEM	Sherwood	ABL	Cobas	Všechny
Aritmetický průměr	102,64 mmol/l	95,39 mmol/l	104,45 mmol/l	101,00 mmol/l	100,87 mmol/l
Směrodatná odchylka	6,59	7,02	6,72	6,84	7,56
Variační koeficient	6,42 %	7,36 %	6,43 %	6,77 %	7,49 %
Minimum	77 mmol/l	70 mmol/l	79 mmol/l	76 mmol/l	70 mmol/l
Maximum	115 mmol/l	114 mmol/l	116 mmol/l	121 mmol/l	121 mmol/l

Zdroj: program Excel

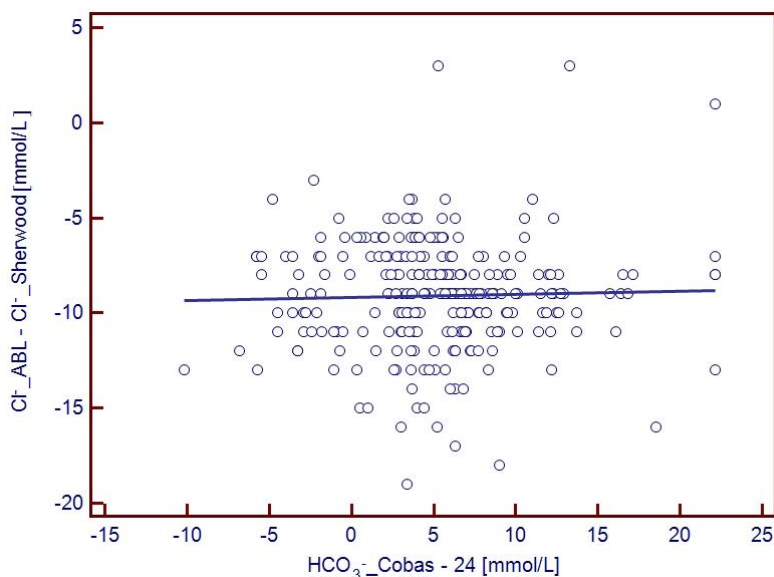
Z tabulky vyplývá, že jednotlivá statistická data se podle principu stanovení mírně liší. Na chloridometru Sherwood, typu Clinical Chloride Meter 926S, jsou koncentrace chloridů obecně nejnižší. Na analyzátoru GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory a analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 Flex od firmy Radiometer jsou koncentrace chloridů srovnatelné. Na obou těchto analyzátorech je koncentrace chloridů v krvi měřena na principu přímé potenciometrie.

Vyloučily se korelace dvou hodnot rozdílu změřených chloridů potenciometricky (GEM, ABL, Cobas) oproti coulometrii (Sherwood) s rozdílem hydrogenuhličitanů oproti normě. Za normální koncentraci hydrogenuhličitanů považujeme 24 mmol/l. Korelační koeficient u ABL je $-0,0417$ a statistická významnost 0,5032, čili nevýznamné. Koncentrace chloridů tedy nebyla hydrogenuhličitanů ovlivněna (Tabulka 3). Grafické znázornění interference koncentrace chloridů hydrogenuhličitanů na analyzátoru ABL835 FLEX je zobrazeno na Graf 1.

Tabulka 3. Interference chloridů hydrogenuhličitanů na analyzátoru ABL835 FLEX

Analyzátor acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer	
Počet vzorků	260
Korelační koeficient	$-0,0417$
Statistická významnost	$P = 0,5032$

Zdroj: program MedCalc



Graf 1. Grafické znázornění interference chloridů hydrogenuhličitanů na analyzátoru ABL835 FLEX (zdroj: program MedCalc)

Korelační koeficient u GEM je 0,217 a statistická významnost 0,0004 (Tabulka 4). U Cobas je korelační koeficient 0,261 a statistická významnost < 0,0001 (Tabulka 5). U těchto dvou analyzátorů rozdíl vyšel, dá se tedy říci, že koncentrace chloridů byla hydrogenuhličitanů ovlivněna. Čím je vyšší koncentrace hydrogenuhličitanů, tím je vyšší rozdíl a tím je korelace více ovlivněna. Z toho vyplývá, že firma Instrumentation Laboratory a firma Roche koncentraci hydrogenuhličitanů nekorigují. Grafické znázornění interference koncentrace chloridů hydrogenuhličitanů na analyzátoru GEM a Cobas je zobrazeno na Graf 2 a Graf 3.

Tabulka 4. Interference chloridů hydrogenuhličitanů na analyzátoru GEM

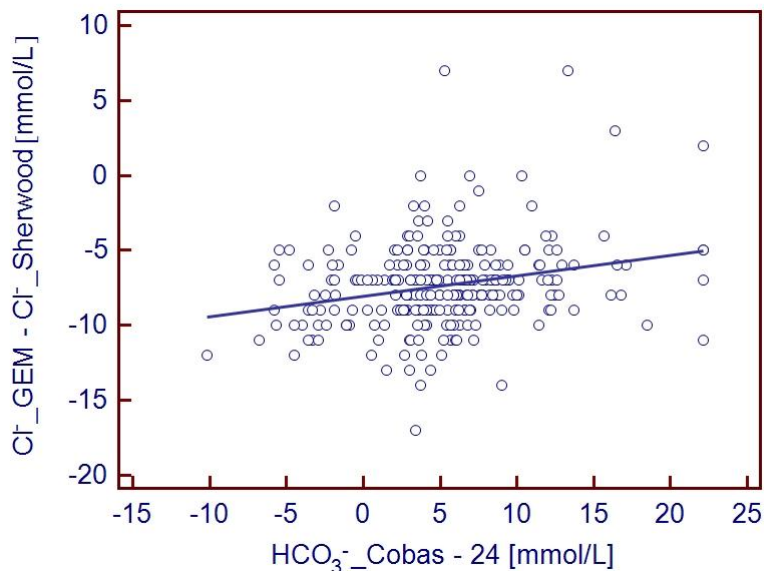
Analyzátor GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory	
Počet vzorků	260
Korelační koeficient	0,217
Statistická významnost	P = 0,0004

Zdroj: program MedCalc

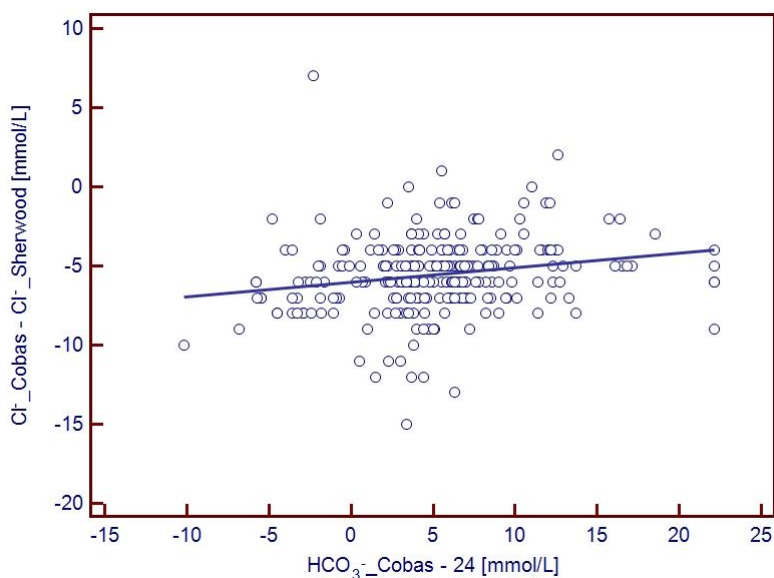
Tabulka 5. Interference chloridů hydrogenuhličitanů na analyzátoru Cobas

Analyzátor Cobas 8000 od firmy Roche	
Počet vzorků	257
Korelační koeficient	0,261
Statistická významnost	P < 0,0001

Zdroj: program MedCalc

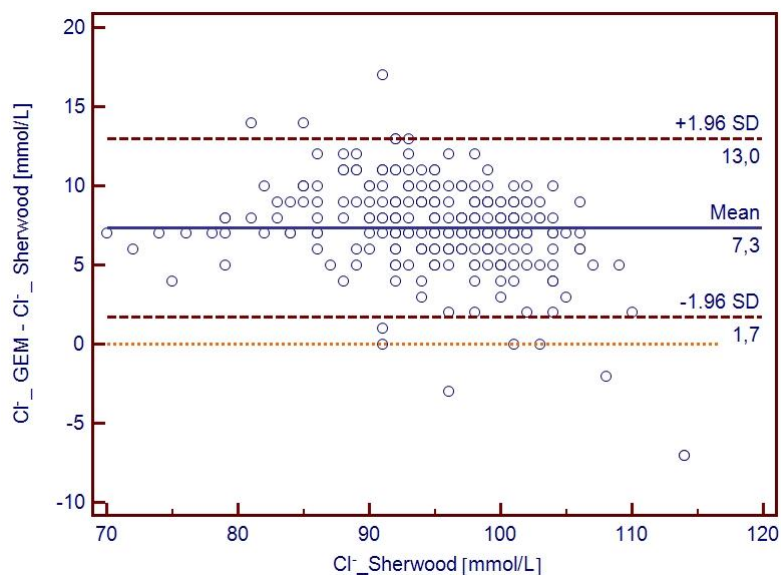


Graf 2. Grafické znázornění interference chloridů hydrogenuhličitany na analyzátoru GEM 4000 (zdroj: program MedCalc)

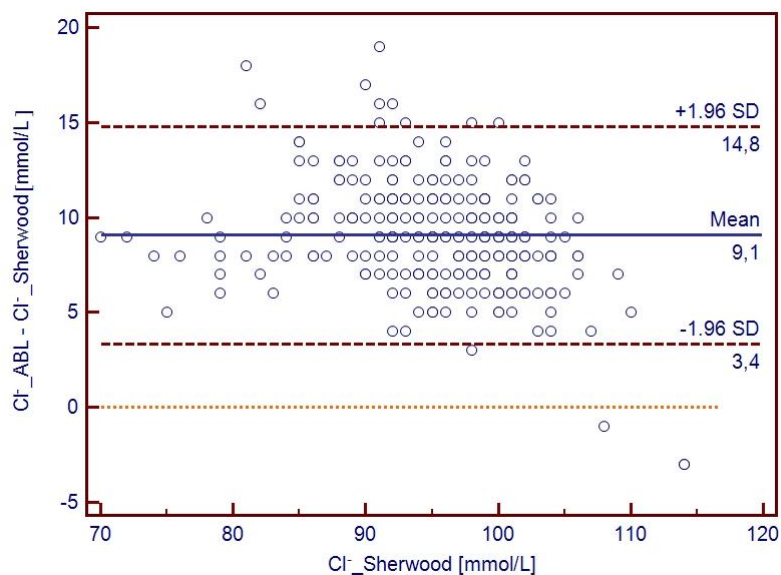


Graf 3. Grafické znázornění interference chloridů hydrogenuhličitany na analyzátoru Cobas 8000 (zdroj: program MedCalc)

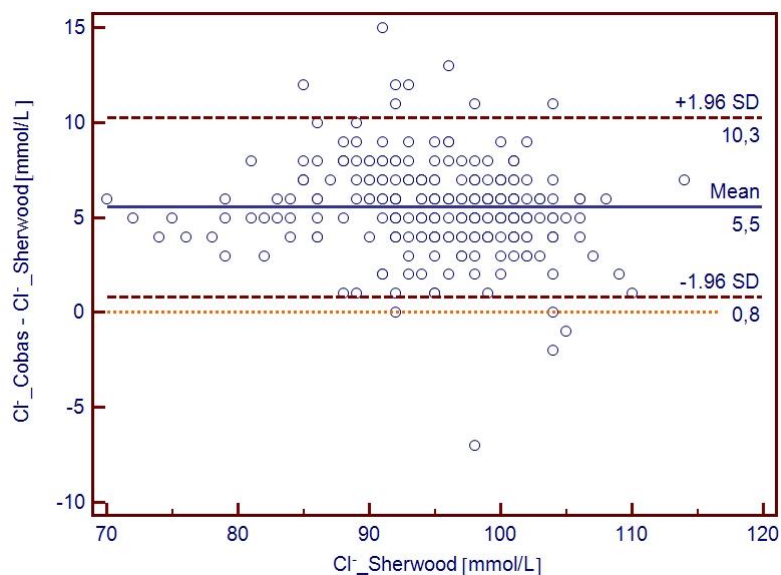
Koncentrace chloridů vychází obecně vyšší na analyzátoch, které pracují na principu potenciometrie než na analyzátoch pracujících na principu coulometrie. K tomuto hodnocení jsme došli pomocí statistického programu MedCalc. Coulometrie je považována za referenční metodu. Proto byl vždy porovnáván rozdíl koncentrací chloridů měřených na GEM, ABL a Cobas a koncentrace získané na chloridometru s koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood.



Graf 4. Srovnání rozdílu koncentrací chloridů měřených na analyzátoru GEM 4000 a koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood (zdroj: program MedCalc)



Graf 5. Srovnání rozdílu koncentrací chloridů měřených na analyzátoru ABL835 FLEX a koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood (zdroj: program MedCalc)



Graf 6. Srovnání rozdílu koncentrací chloridů měřených na Cobas 8000 a koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood (zdroj: program MedCalc)

Všechny tři grafy (Graf 4; Graf 5; Graf 6) ukazují, že potenciometrické měření poskytuje vyšší koncentrace chloridů ve srovnání s metodou coulometrickou. Zjištěný rozdíl nezávisí na koncentraci chloridů, jedná se tedy o konstantní chybu.

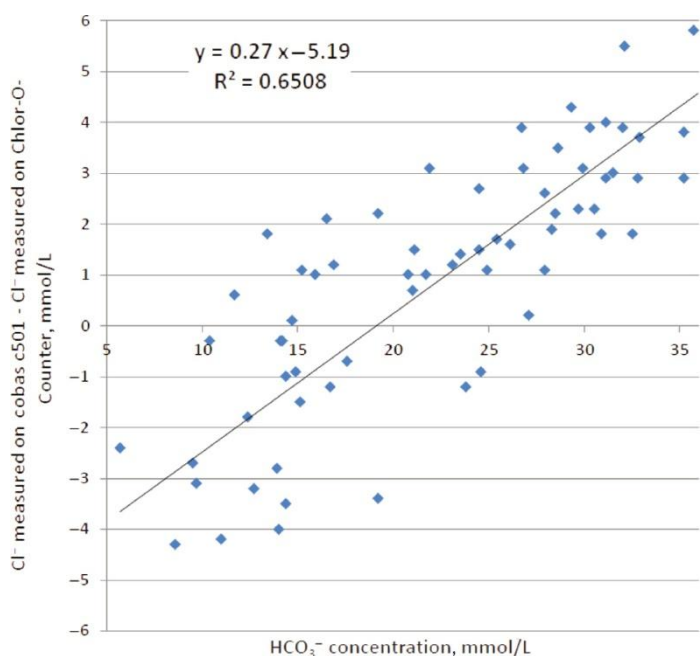
8. Diskuze

Coulometrie je považována za referenční metodu stanovení chloridů v biologickém materiálu. Při stanovení chloridů se nepředpokládají žádné interference hydrogenuhličitanů. Tato metoda však není vhodná pro praxi. V laboratoři se coulometricky rutinně stanovují pouze chloridy v potu u pacientů s podezřením na onemocnění cystickou fibrózou. V praxi se užívá stanovení iontově selektivní chloridovou elektrodou, a to bez ředění vzorku (přímá potenciometrie, obvykle při užití plné krve) nebo ve vzorku ředěném (nepřímá coulometrie, obvykle ve vzorcích séra či plazmy).

V literatuře se popisuje interference hydrogenuhličitanů při stanovení koncentrace chloridů pomocí iontově selektivních elektrod. Proto jsme se rozhodli ověřit vliv hydrogenuhličitanů na stanovení koncentrace chloridů na několika přístrojích, využívajících chloridovou iontově selektivní elektrodu různé konstrukce, a srovnat výsledky se stanovením coulometrickým, které považujeme za metodu referenční. Vliv hydrogenuhličitanů se může lišit v závislosti na konstrukci chloridové iontově selektivní elektrody.

Uvedenou problematikou se zabývalo několik autorů. Autoři Ben Rayana, et al. (2006) konstatují, že většina chloridových iontově selektivních elektrod obsahuje iontoměnič, kvartérní amoniumchlorid. Selektivita je založena na hydratační energii iontu; z toho vyplývá, že ionty se stejnou či vyšší hydratační energií, než odpovídá chloridům, jsou potenciální interferenty (např. bromidy, jodidy, thiokyanatany, salicyláty, ale i hydrogenuhličitanu a heparin).

Autoři Brandt a Schiemsy (2018) srovnali stanovení chloridů pomocí nepřímé potenciometrie (analyzátor Cobas c501, Roche) a coulometrie (Chlor-O-Counter, Marius Instruments). Zjistili, že analyzátor Cobas c501 dává výsledky, které jsou významně ovlivněné koncentrací hydrogenuhličitanů (Graf 7); ta byla měřena enzymovou metodou s fosfoenolpyruvátcarboxylázou. Závěrem shrnují, že by výrobce měl zlepšit selektivitu chloridové elektrody.



Graf 7. Rozdíl výsledku stanovení chloridů pomocí ISE a coulometrií v závislosti na koncentraci hydrogenuhličitanů (zdroj: Brandt a Schiemsy, 2018)

Autoři Bihari a Galluccio (2019) srovnali výsledky stanovení chloridů přímou potenciometrií na analyzátoru ABL800 FLEX (Radiometer) a nepřímou potenciometrií na přístroji Hitachi Modular Analyzer (Roche). Zjistili, že koncentrace chloridů při užití nepřímé potenciometrie by měla být interpretována obezřetně, zejména v případě nízké hladiny hydrogenuhličitanů, kdy byl rozdíl mezi měřeními na obou přístrojích největší.

Další z autorů, kteří se zabývali touto problematikou, jsou autoři Clague a Dimeski (2004), kteří sledovali vliv hydrogenuhličitanů na stanovení chloridů pomocí iontově selektivních elektrod na šesti biochemických analyzátoch. Zatímco při užití iontově selektivní elektrody založené na Ag/AgCl elektrodě (analyzátor Ortho Diagnostics Vitros) nebyl vliv hydrogenuhličitanů pozorován, u dalších pěti biochemických analyzátorů (Bayer 865 Rapidlab, Roche Integra, Bayer Advia 1650, Hitachi Modular a zejména Dade Dimension RxL), které mají iontově selektivní elektrody založené na kvartérních dusíkatých sloučeninách, byla interference hydrogenuhličitanů významná. U těžkých metabolických acidóz nebo alkalóz s extrémní koncentrací hydrogenuhličitanů tak může být stanovení chloridů na těchto přístrojích významně ovlivněno. Řešením by bylo užití korigující rovnice; autoři doporučují výrobcům uvedených analyzátorů, aby tento problém řešili a připravili elektrody s vyšší selektivitou.

Slater a Wyndham (1986) testovali vliv různých interferentů při stanovení chloridů pomocí iontově selektivních elektrod na analyzátoru Hitachi 705, který je předchůdcem dnešních analyzátorů Cobas. Největší byl vliv hydrogenuhličitanů: 1 mmol/l hydrogenuhličitanů zvýšil hodnotu chloridů o 0,5 mmol/l.

Autoři Faulkner a Peake (1991) sledovali vliv hydrogenuhličitanů na stanovení chloridů pomocí iontově selektivních elektrod na analyzátoru Hitachi 717; provedli pokus s přidáváním standardních přísad ke vzorku a zjistili, že hydrogenuhličitan o koncentraci 1 mmol/l zvyšují měřenou koncentraci chloridů přibližně o 0,3 mmol/l. Podhodnocení chloridů na zmíněném analyzátoru dokumentují na pacientovi s těžkou metabolickou ketoacidózou a nízkou koncentrací hydrogenuhličitanů. Při užití coulometrie nebylo stanovení chloridů hydrogenuhličitanem ovlivněno. Závěrem autoři doporučují při zjištěné koncentraci hydrogenuhličitanů mimo rozmezí 15 – 40 mmol/l stanovit koncentraci chloridů metodou, kde hydrogenuhličitan neinterferují.

Autoři Lipke et al. (1993) pozorovali vliv koncentrace hydrogenuhličitanů na výsledek stanovení chloridů pomocí iontově selektivních elektrod na analyzátoru Hitachi 736. Interference byla zkoumána u 234 vzorků s různou koncentrací hydrogenuhličitanů a byla popsána rovnicí:

$$y = 0,231x - 6,6$$

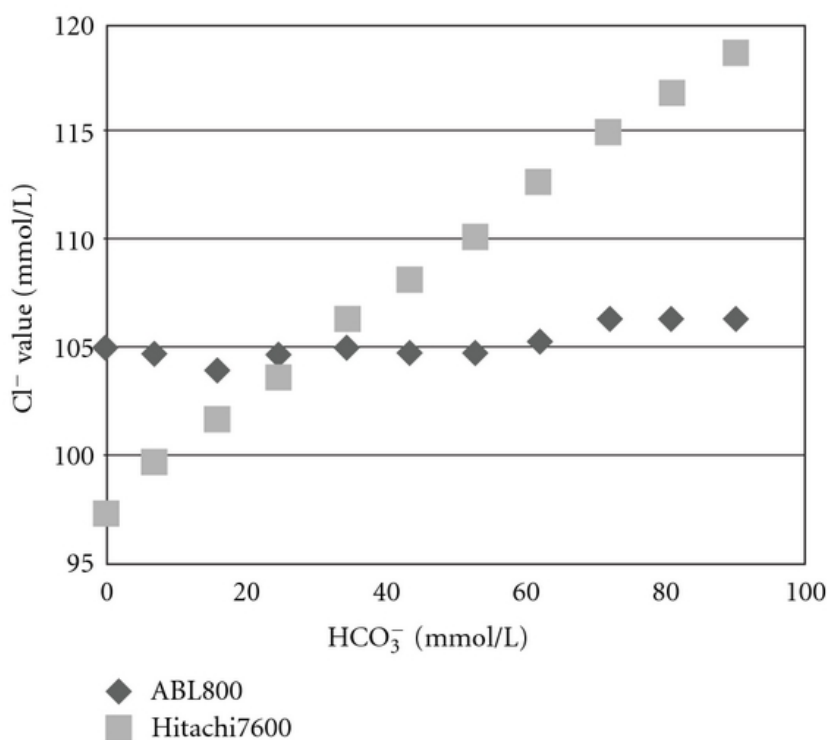
kde, x.....koncentrace celkového CO₂ (hlavní podíl na výsledku má koncentrace HCO₃⁻)

y.....rozdíl měřených chloridů oproti referenční metodě. Tou byla coulometrie na přístroji Radiometer CMT10.

Přístroj Synchron CX3 (Beckman), pracující rovněž na principu nepřímé potenciometrie, vliv hydrogenuhličitanů na stanovení chloridů nevykázal a poskytl výsledky prakticky shodné s coulometrií. Autoři uvádějí, že při koncentraci hydrogenuhličitanů mimo rozmezí 17 – 37 mmol/l je již chyba při stanovení chloridů na přístroji Hitachi 736 příliš velká. Rozdíl mezi chloridovými elektrodami na obou studovaných přístrojích v práci diskutován není.

Autoři Makiishi et al. (2012) měřili koncentraci chloridů u 32 vzorků pacientů s těžkou acidémií (pH < 7,20) na analyzátoru krevních plynů (ABL800 FLEX, Radiometer)

a biochemickém analyzátoru (Hitachi 7600, Roche). Byly zjištěny rozdíly, způsobené vlivem hydrogenuhličitanů na výsledky při užití analyzátoru Hitachi 7600; výsledky získané měřením na přístroji ABL800 FLEX hydrogenuhličitanů ovlivněny nebyly. Toto bylo ověřeno pomocí standardních přídavek hydrogenuhličitanů k Ringerovu roztoku s 3,5 % albuminu, koncentrací chloridů 105 mmol/l a s nulovou koncentrací hydrogenuhličitanů (Graf 8). Koncentrace chloridů korelovala s koncentrací hydrogenuhličitanů ($r = 0,72$; $P < 0,0001$) a hodnotou anion gap ($r = 0,69$; $P < 0,0001$).



Graf 8. Interference hydrogenuhličitanů při stanovení chloridů na přístroji Hitachi 7600 a ABL800 (zdroj: Makiishi et al., 2012)

Během našeho srovnání stanovení chloridů pomocí nepřímé potenciometrie (přístroj Cobas 8000) a coulometrie jsme zjistili, že výsledky měřené nepřímou potenciometrií jsou významně ovlivněny koncentrací hydrogenuhličitanů. Stupeň interference však není takový, jako je tomu u těchto autorů. Možným vysvětlením by mohlo být, že výrobce již zlepšil selektivitu chloridové elektrody a interference již není tak velká.

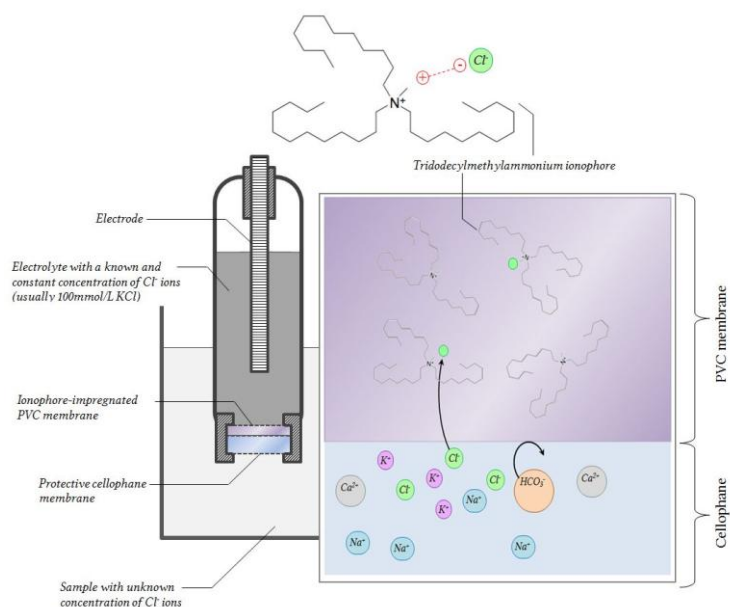
Rovněž u užití iontově selektivní elektrody v přístroji GEM Premier 4000 se ukázala interference hydrogenuhličitanů, přibližně stejně tak velká jako u analyzátoru Cobas. Podle údajů výrobce je tato elektroda pokryta PVC membránou obsahující Cl⁻ neutrální

nosič. Iontově citlivá membrána je dále pokryta polopropustnou celofánovou membránou. Bližší složení elektrody výrobce neuvádí a ani je jako důvěrný údaj nesdělil. V manuálu se však uvádí, že koncentrace chloridů je korigována na vliv hydrogenuhličitanů, přičemž vztažná hodnota koncentrace hydrogenuhličitanů je 24,5 mmol/l. Je uvedena následující korekční rovnice:

$$Cl_{kor}^- = \text{ředicí faktory měření} \times Cl^- - (0,0956 \times HCO_3^-) + \text{ředicí faktor měření}$$

Ze vzorce se dá odvodit, že 10 mmol/l hydrogenuhličitanů vyvolá odpověď elektrody odpovídající koncentraci chloridů přibližně 1 mmol/l. Podle našich výsledků se zdá, že korekce není dostatečná, protože vliv koncentrace hydrogenuhličitanů na měření chloridů je patrný (viz Graf 2).

Co se týká měření koncentrace chloridů na analyzátoru ABL835 FLEX od firmy Radiometer, interference hydrogenuhličitanů nebyla ve shodě s jinými autory prokázána. Důvodem je konstrukce chloridové elektrody, jejíž schéma je uvedeno na Obrázek 17. I zde je elektroda založena na kvarterní amoniové soli, která je obsažena v PVC membráně; vše je pokryto celofánovou membránou. Velikost pórů PVC membrány je však volena tak, aby ionty Cl^- prošly, zatímco větší ionty hydrogenuhličitanů membránou neprojdou; nemohou tedy při měření interferovat.



Obrázek 17. Schéma chloridové elektrody, kterou užívají analyzátoři firmy Radiometer: ionty HCO_3^- neprojdou póry PVC membrány, a proto nemohou interferovat (zdroj: Yartsev, 2015)

9. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo:

- stanovit koncentraci chloridů metodami, které jsou užívány ve Fakultní nemocnici v Plzni, a porovnat jejich výsledky na souboru 260 pacientů hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče I. interní kliniky Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice v Plzni od června do října 2019;
- posoudit v literatuře popisovaný vliv hydrogenuhličitanů na stanovení chloridů při užití různých způsobů měření.

Soubor pacientů v kritickém stavu jsme vybrali s cílem získat celé spektrum koncentrací chloridů i potenciálně interferujících hydrogenuhličitanů. Jako referenční metodu jsme zvolili coulometrii na přístroji Chloridometr Sherwood, typ Clinical Chloride Meter 926S, kde hydrogenuhličitaný neinterferují. Chloridy jsme dále stanovili přímou potenciometrií na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer a na analyzátoru GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory. Dále byly chloridy stanoveny nepřímou potenciometrií na analyzátoru Cobas 8000 od firmy Roche. Současně jsme ve všech vzorcích krevního séra stanovili koncentraci celkové bílkoviny a triacylglycerolů; vyřadili jsme výsledky mimo referenční rozmezí těchto analytů a vyloučili tak vliv patologické proteinémie a lipémie na rozdíl mezi stanovením chloridů přímou a nepřímou potenciometrií. Ve všech vzorcích jsme stanovili koncentraci hydrogenuhličitanů spektrofotometrickou metodou.

Koncentrace chloridů se lišila na různých typech analyzátorů. Coulometrii jsme považovali za referenční metodu, kde jsme nepředpokládali interferenci hydrogenuhličitanů. Výsledky coulometrického stanovení koncentrace chloridů vyšly obecně nižší oproti dalším metodám. Tato metoda se sice jeví z hlediska možných interferencí jako optimální, pro praxi však není vhodná.

Nepřímá potenciometrie využívá ke stanovení chloridů elektrodu obsahující iontoměnič (kvartérní bázi), která je hydrogenuhličitaný ovlivněná. Na tomto principu pracují i elektrody při stanovení chloridů přímou potenciometrií; záleží však na další konstrukci elektrody, zda se jejich vliv uplatní. Interference byla prokázána u stanovení chloridů nepřímou potenciometrií na analyzátoru Cobas 8000 firmy Roche a u stanovení chloridů

přímou potenciometrií na přístroji GEM Premier 4000 firmy Instrumentation Laboratory, i když nižší, než se popisuje v literatuře. Důvodem může být, že některé studie popisující interferenci jsou již staršího data a výrobci elektrody stále zlepšují.

Přímá potenciometrie, na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer využívá ke stanovení chloridů iontově selektivní elektrodu obsahující PVC membránu neprostupnou pro hydrogenuhličitan, proto je jejich vliv eliminován. Tato elektroda se proto jeví pro měření koncentrace chloridů jako nejvhodnější. Nicméně vzhledem k tomu, že námi prokázaná interference hydrogenuhličitanů je z klinického hlediska málo významná, jsou i ostatní přístroje v praxi pro měření koncentrace chloridů použitelné, včetně měření u nemocných s významně sníženou nebo zvýšenou koncentrací hydrogenuhličitanů.

10. Literatura

1. ASHWOOD, E. R., BURTIS, C. A., 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3. vydání. The USA: W. B. Saunders Company. 1917 s. ISBN 0-7216-5610-2.
2. BEN RAYANA, M. C. et al., 2006. Recommendation for measuring and reporting chloride by ISEs in undiluted serum, plasma or blood. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 44(3), 346-352. doi: 10.1515/CCLM.2006.060.
3. BIHARI, S., GALLUCCIO, S., 2019. Discrepancy in chloride measurement with decreasing bicarbonate concentrations. *Clinical Laboratory*. 65(8). doi: 10.7754/Clin.Lab.2019.190121.
4. BRANDT, I., SCHIEMSKY, T., 2018. Bicarbonate interference on cobas 6000 c501 chloride ion-selective electrodes. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 56(8), 214-215. doi: 10.1515/cclm-2018-ššš0004.
5. BREINEK, P., DASTYCH, M. et al., 2015. *Klinická biochemie: bakalářský obor Zdravotní laborant*. 3. vydání. Brno: Masarykova univerzita. 253 s. ISBN 978-80-210-7788-1.
6. BURTIS, C. A. et al., 2008. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6. vydání. The USA: Saunders Elsevier. 952 s. ISBN 978-0-7216-3865-2.
7. CIBIČEK, N., VACEK, J. et al., 2014. *Principy a využití vybraných analytických metod v laboratorní medicíně*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 164 s. ISBN 978-80-244-3951-8.
8. CLAGUE, A. E., DIMESKI, G., 2004. Bicarbonate Interference with Chloride-Ion-Selective Electrodes. *Clinical Chemistry*. 50(6), 1106-1107. doi: 10.1373/clinchem.2004.033589.
9. DASTYCH, M. et al., 2014. *Instrumentální technika: obor zdravotní laborant*. 2. doplněné vydání. Brno: Masarykova univerzita. 201 s. ISBN 978-80-210-7103-2.
10. DASTYCH, M., KRÁLÍKOVÁ, M., 2014. *Význam stanovení Na, K, Cl v klinické praxi* [online]. Praha: Univerzita Karlova [cit. 2019-10-29]. Dostupné z: E-Klinická biochemie.

11. DATOVÝ STANDARD MZ ČR - verze 4, 2019. [online]. [cit. 2019-10-28].
Dostupné z: http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/KVAEI.htm.
12. DOLEŽALOVÁ, V. et al., 1995. *Principy biochemických vyšetřovacích metod II. část. 2.* přepracované vydání. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně (IDVPZ). 231 s. ISBN 80-7013-206-X.
13. FAULKNER, A. M., PEAKE, M. J., 1991. Bicarbonate Interference with Hitachi Chloride Electrodes. *Annals of Clinical Biochemistry*. 28(1), 107-108. doi: 10.1177/000456329102800121.
14. FISCHER, J., CHROMÝ, V., 2000. *Analytické metody v klinické chemii*. Brno: Masarykovo univerzita. 211 s. ISBN 80-210-2363-5.
15. JABOR, A. et al., 2008. *Vnitřní prostředí*. Praha: Grada. 560 s. ISBN 978-80-247-1221-5.
16. KAPLAN, L. A. et al., 2003. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. 4. vydání. The USA: Mosby. 1179 s. ISBN 0-323-01716-9.
17. KAZDA, A. et al., 2012. *Kritické stavy*. Praha: Galén. 346 s. ISBN 978-80-7262-763-9.
18. KLENER, P. et al., 2006. *Vnitřní lékařství*. 3. přepracované a doplněné vydání. Praha: Galén. 1158 s. ISBN 80-7262-430-X.
19. KLOUDA, P., 2003. *Moderní analytické metody*. 2. upravené a doplněné vydání. Ostrava: P. Klouda. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
20. KOVÁČ, G. et al., 1986. *Klinická biochemie II*. Praha: Avicenum. 214 s. ISBN (váz.).
21. LEVKOVÁ, T., 2005. *Cvičení z klinické biochemie II*. Hradec Králové: Střední zdravotnická škola a Vyšší zdravotnická škola. 168 s. ISBN 80-903414-3-8.
22. LIPKE, D. L. et al., 1993. Hitachi 736 chloride bias with abnormal bicarbonate. *Clinical Chemistry*. 39(2), 364-365.

23. MAKIISHI, T. et al., 2012. Potential Inaccuracies in Chloride Measurements in Patients with Severe Metabolic Acidosis. *International Journal of Nephrology*. 2012(768316), 1-7. doi: 10.1155/2012/768316.
24. RACEK, J. et al., 2006. *Klinická biochemie*. 2. přepracované vydání. Praha: Galén. 329 s. ISBN 80-7262-324-9.
25. RACEK, J., RAJDL, D. et al., 2020. *Klinická biochemie*. 3. přepracované vydání. Praha: Galén. Přijato k publikaci v r. 2020.
26. SLATER S., WYNDHAM L., 1986. Nonselectivity of the chloride ion-selective electrode used in the Hitachi 705. *Clinical Chemistry*. 32(2), 405-406.
27. ŠTERN, P. et al., 2011. *Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia*. 2. upravené vydání. Praha: Karolinum. 269 s. ISBN 978-80-246-1979-8.
28. THOMAS, L., 1998. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. Germany: TH-Books. 1527 s. ISBN 3-9805215-4-0.
29. ÚKBH FN PLZEŇ. *Chloridy* [online]. [cit. 2019-10-28].
30. ÚKBH FN PLZEŇ. *Standardní operační postup* [online]. [cit. 2019-11-08].
31. YARTSEV, A., 2015. The chloride-sensitive electrode in the blood gas analyser. *Deranged Physiology* [online]. [cit. 2020-1-10]. Dostupné z: <https://derangedphysiology.com/main/cicm-primary-exam/required-reading/body-fluids-and-electrolytes/Chapter%20508/chloride-sensitive-electrode-blood-gas-analyser>.
32. ZIMA, T., c2007. *Laboratorní diagnostika*. 2. doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén. 906 s. ISBN 978-80-246-1423-6.

11. Seznam obrázků, tabulek, grafů

11.1 Seznam obrázků

Obrázek 1. Rozložení celkové tělesné vody v organismu (zdroj: vlastní).....	9
Obrázek 2. Složení tekutin v plazmě, intersticiální vodě a intracelulárně (zdroj: Racek, Rajdl et al., 2020).....	10
Obrázek 3. Krevní plazma (zdroj: vlastní).....	15
Obrázek 4. Krevní sérum (zdroj: vlastní)	16
Obrázek 5. Plastová kapilára, kapilára AK-fix a stříkačka Radiometer (zdroj: vlastní)	16
Obrázek 6. Močová zkumavka Vacuette s kulatým dnem (zdroj: vlastní)	17
Obrázek 7. Filtrační papír a plastová nádobka (zdroj: vlastní).....	19
Obrázek 8. Plastová kapilára Macroduct Sweat Collection System (zdroj: vlastní)	19
Obrázek 9. Argentchloridová elektroda na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 Flex firmy Radiometer a na analyzátoru Cobas 8000 firmy Roche (zdroj: vlastní).....	24
Obrázek 10. Chloridová elektroda na analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 Flex firmy Radiometer a na analyzátoru Cobas 8000 firmy Roche (zdroj: vlastní).....	25
Obrázek 11. Stříbrná elektroda na analyzátoru Chloridometr Sherwood 926S (typ Clinical Chloride Meter 926S) (zdroj: vlastní)	27
Obrázek 12. Analyzátor acidobazické rovnováhy a krevních plynů ABL835 FLEX od firmy Radiometer (zdroj: vlastní)	30
Obrázek 13. Analyzátor GEM Premier 4000 od firmy Instrumentation Laboratory (zdroj: vlastní)	30
Obrázek 14. Analyzátor Cobas 8000 od firmy Roche (zdroj: vlastní)	31

Obrázek 15. Chloridometr firmy Sherwood, typ Clinical Chloride Meter 926S (zdroj: vlastní)	31
Obrázek 16. Odstředivka Hettich MIKRO 200 R (zdroj: vlastní)	32
Obrázek 17. Schéma chloridové elektrody, kterou užívají analyzátoři firmy Radiometer: ionty HCO_3^- neprojdou póry PVC membrány, a proto nemohou interferovat (zdroj: Yartsev, 2015)	42

11.2 Seznam tabulek

Tabulka 1. Referenční rozmezí chloridů v moči.....	18
Tabulka 2. Statistické vyhodnocení koncentrace chloridů různými principy stanovení	33
Tabulka 3. Interference chloridů hydrogenuhličitanu na analyzátoru ABL835 FLEX ..	33
Tabulka 4. Interference chloridů hydrogenuhličitanu na analyzátoru GEM	34
Tabulka 5. Interference chloridů hydrogenuhličitanu na analyzátoru Cobas	34

11.3 Seznam grafů

Graf 1. Grafické znázornění interference chloridů hydrogenuhličitanu na analyzátoru ABL835 FLEX (zdroj: program MedCalc)	34
Graf 2. Grafické znázornění interference chloridů hydrogenuhličitanu na analyzátoru GEM 4000 (zdroj: program MedCalc)	35
Graf 3. Grafické znázornění interference chloridů hydrogenuhličitanu na analyzátoru Cobas 8000 (zdroj: program MedCalc)	35
Graf 4. Srovnání rozdílů koncentrací chloridů měřených na analyzátoru GEM 4000 a koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood (zdroj: program MedCalc)	36
Graf 5. Srovnání rozdílů koncentrací chloridů měřených na analyzátoru ABL835 FLEX a koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood (zdroj: program MedCalc)	36

Graf 6. Srovnání rozdílu koncentrací chloridů měřených na Cobas 8000 a koncentrací chloridů měřených na chloridometru firmy Sherwood (zdroj: program MedCalc).....	37
Graf 7. Rozdíl výsledku stanovení chloridů pomocí ISE a coulometrií v závislosti na koncentraci hydrogenuhličitanů (zdroj: Brandt a Schiemsy, 2018).....	39
Graf 8. Interference hydrogenuhličitanů při stanovení chloridů na přístroji Hitachi 7600 a ABL800. (zdroj: Makiishi et al., 2012).....	41