

Obr. 6.3 a 6.4 Nekróza vzniká důsledkem kryoglobulinemie při prochlazení



(není proto možné ho požadovat ve statimovém režimu).

Některé laboratoře mohou požadovat odběr dvou zkumavek srážlivé a dvou zkumavek nesrážlivé krve; po výše popsaném zpracování pak sérum, resp. plazmu z jedné zkumavky uchovávají při 37 °C a z druhé zkumavky v lednici. Výhodou je možnost porovnat v *teplém* a *chladném* vzorku elektroforetický obraz a koncentrace imunoglobulinů, popř. i dalších bílkovin. Nevýhodou je komplikovanější zpracování.

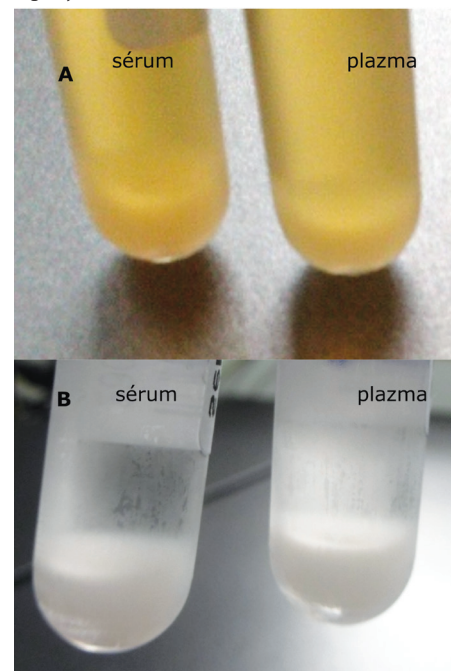
V případě nálezu kryoprecipitátu je zásadní odlišit, zda je přítomen v séru i plazmě nebo pouze v plazmě. V prvním případě se jedná o kryoglobulin, ve druhém případě o kryofibrinogen. Podle potřeby můžeme kryoprecipitát charakterizovat odsátím supernatantu a opakovaným promytím chladným fyziologickým roztokem nebo fosfátovým puforem (PBS). Po každém odsátí supernatantu a napipetování

promývacího roztoku je nutné vzorek okamžitě uložit zpět do lednice a počkat, až se kryoprecipitát znovu dokonale vytvoří (nejlépe do druhého dne), někteří autoři místo toho doporučují centrifugaci v chlazené centrifuzě po každém promytí. Je doporučeno promýt vzorek třikrát a poté precipitát rozpustit v promývacím roztoku zahřátém na 37 °C. Následně provedeme elektroforézu (obr. 6.6) a imunofixaci. Výhodná zde může být kapilární elektroforéza a imunosubtrakce, neboť tyto analýzy probíhají při teplotě blízké 37 °C. Při použití gelové elektroforézy s instrumentací a reagensii firmy Sebia se nám osvědčila úprava vzorku Fluidilem (obr. 6.7); někteří autoři doporučují před elektroforézou ošetřit vzorek redukčním činidlem, např. β-merkaptoethanolem nebo dithiothreitem. V každém případě vzorek ponecháme při 37 °C do odečtení výsledku pro případ, že se napoprvé

Obr. 6.5 Poškození ušního boltce při kryoglobulinemii



Obr. 6.6 Vzhled kryoprecipitátu ve vzorku séra a plazmy; A – před promytím, B – po promytí fyziologickým roztokem



vyšetření nepovede a bude třeba ho opakovat za modifikovaných podmínek.

Existuje také několik metod, kterými můžeme odhadovat kvantitu kryoprecipitátu – jako kryokrit vyjadřující v podstatě objemový podíl kryoprecipitátu na celkovém objemu vzorku séra, jako koncentraci celkové bílkoviny a/nebo imunoglobulinů (IgG + IgM + IgA) v promytém precipitátu, popř. rozdíl koncentrací imunoglobulinů ve vzorku uchovávaném při 37 °C a vzorku uchovávaném v lednici.