

Praktické cvičení č.

Datum

Jméno

Téma: Ověření některých vlastností analytické metody

Okruhy k nastudování a dotazy:

1. **Přečtěte si protokol a zopakujte si, co je to kalibrační křivka.**
2. **Co je to End point měření?**
3. **K čemu slouží a jak se provádí orální glukózový toleranční test (o-GTT)?**
4. **Připravte si princip stanovení bilirubinu s DPD a glukózy s hexokinázou.**

Úkol:

1. **sledování průběhu reakce metody pro stanovení glukózy**
2. **určení vhodných měřících bodů**
3. **vymezení horní hranice pracovního rozsahu metody**
4. **analýza vzorků s koncentrací analytu nad pracovní rozsah metody – rerun funkce analyzátoru – manuální ředění vzorku**

Přístroje a pomůcky:

Automatický analyzátor Cobas 8000 (Roche),

Glukosa, reagentie pro stanovení glukózy s hexokinázou Roche, zkumavky, pipety, destilovaná voda

Provedení:

1. sledování průběhu reakce metody použité pro stanovení glukózy

- v databázi analyzátoru cobas 8000 prohlédněte průběh reakce vzorku sérové glukózy o koncentraci cca 10 mmol/l
- z průběhu reakční závislosti určete o jaký typ reakce se jedná

Závěr: _____

2. určení vhodných měřících bodů

- na základě znalosti průběhu reakce určete body (čas) vhodné pro měření absorbance vzorku

Závěr: _____

3. vymezení horní hranice pracovního rozsahu metody

- ze zásobního standardu glukózy koncentrace 200 mmol/l připravte ředěním destilovanou vodou řadu vzorků o koncentracích uvedených v tabulce 1 tak, aby výsledný objem naředěných vzorků byl 2,0 ml
- vzorky dobře promíchejte, rozdělte na dva podíly a oba analyzujte za podmínek určených v bodě 2
- naměřené hodnoty koncentrací a jejich průměrné hodnoty zapište do tabulky 1 (bez opakování po ředění)
- v Excelu sestrojte graf závislosti průměrných koncentrací glukózy nalezených ve vzorcích na teoretických koncentracích z tabulky 1
- ze znázorněné závislosti odhadněte horní hranici pracovního rozsahu analytické metody

Tabulka 1

Číslo vzorku	Koncentrace glukózy	Objem zásobního standardu	Objem destil. vody	Naměř. Konc. gluk. (mmol/l)
	(mmol/l) (teoretická)			
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

Závěr: _____

4. analýza vzorků s koncentrací analytu nad pracovní rozsah metody

- nařed'te vzorky 2 - 8 manuálně v poměru 1 + 9 destilovanou vodou a k analýze použijte nekorigovaný objem vzorku v kvěťě, výsledky vynásobte stupněm ředění
- analyzuje neředěné vzorky 2 – 8, použijte automatického ředění vzorku analyzátořem – funkce rerun => ředění 3,14x.
- výsledky obou měření zapište do tabulky 2 a porovnejte je
- do grafu přidejte závislost hodnot koncentrací glukózy z tab.2 – rerun na teoretických koncentracích z tabulky 1.

Tabulka 2

Číslo vzorku	Koncentrace glukózy mmol/l		
	naměř. konc. gluk. (mmol/l)	nekorigovaný objem vzorku - vzorky ředěné 1 + 9	korigovaný objem vzorku - rerun
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			

Závěr: _____

Praktické cvičení č.

Datum

Jméno

Téma: Ověření některých vlastností analytické metody

Úkol:

- 5. sledování průběhu reakce metody pro stanovení celkového bilirubinu**
- 6. určení vhodných měřicích bodů**
- 7. vymezení horní hranice pracovního rozsahu metody**
- 8. analýza vzorků s koncentrací analytu nad pracovní rozsah metody – rerun funkce analyzátoru – manuální ředění vzorku**

Přístroje a pomůcky:

Automatický analyzátor Cobas 8000 (Roche),
zásobní standard bilirubinu o koncentraci 1566 $\mu\text{mol/l}$, reagentie pro stanovení celkového bilirubinu T Bili (Roche Diagnostic), zkumavky, pipety, destilovaná voda

Provedení:

5. sledování průběhu reakce metody použité pro stanovení bilirubinu

- na analyzátoru analyzujte vzorek bilirubinu o koncentraci cca 200 $\mu\text{mol/l}$
- z průběhu reakční závislosti určete o jaký typ reakce se jedná

Závěr: _____

6. určení vhodných měřicích bodů

- na základě znalosti průběhu reakce určete body (čas) vhodné pro měření absorbance vzorku

Závěr: _____

7. vymezení horní hranice pracovního rozsahu metody

- ze zásobního standardu bilirubinu koncentrace 1566 $\mu\text{mol/l}$ připravte ředěním destilovanou vodou řadu vzorků o koncentracích uvedených v tabulce 1 tak, aby výsledný objem naředěných vzorků byl kolem 200 μl .
- vzorky dobře promíchejte a oba analyzujte za podmínek určených v bodě 2
- naměřené hodnoty koncentrací a jejich průměr запиšte do tabulky 1 (bez opakování po ředění)
- sestrojte v Excelu graf závislosti průměrných koncentrací bilirubinu nalezených ve vzorcích na teoretických koncentracích z tabulky 1
- ze znázorněné závislosti odhadněte horní hranici pracovního rozsahu analytické metody

Tabulka 1

Číslo vzorku	Koncentrace bilirubinu (umol/l) (teoretická)	Objem zásobního standardu (ul)	Objem destilované vody (ul)	Konc. bilirubinu naměřené (umol/l)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

Závěr: _____

8. analýza vzorků s koncentrací analytu nad pracovní rozsah metody

- nařed'te vzorky 2 - 8 manuálně v poměru 1 + 9 destilovanou vodou a k analýze použijte nekorigovaný objem vzorku v kyvetě, výsledky vynásobte stupněm ředění
- analyzuje neředěné vzorky 2 – 8, použijte automatického ředění vzorku analyzátořem (1,5x) – funkce rerun => do kyvety je pipetován snížený objem vzorku
- výsledky obou měření zapište do tabulky 2 a porovnejte je
- do grafu přidejte závislost hodnot koncentrací bilirubinu z tab.2 – rerun na teoretických koncentracích z tabulky 1

Tabulka 2

Číslo vzorku	Koncentrace bilirubinu umol/l		
	konc. bilirubinu naměřené (umol/l)	nekorigovaný objem vzorku - vzorky ředěné 1 + 9	korigovaný objem vzorku - rerun
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			

Závěr: _____

