

Praktické cvičení č.2 datum _____ jméno _____

Téma praktika:

Laboratorní preanalytická fáze

- Laboratorní informační systém
- Příprava analytického vzorku

Okruhy k nastudování a otázky:

1. Typy rotorů u centrifug, možnosti funkcí programů.
3. Zahušťování močí.
4. Typy odběrových nádobek, antikoagulační prostředky, separační gel – vlastnosti.

Přístroje a pomůcky:

Terminál LIS INFOLAB, LIS Steiner
Tiskárna čarových kódů

Hettich Rotanta 460 R
Hettich ROTOFIX 32A
Hettich – cytofuga (cytospin)
Eppendorf 5810R
Centrifuga MPW 352

Úkoly:

a) Preanalytická laboratorní fáze

- Příjem a identifikace biologického materiálu
- Centrifugace
- Zadání identifikace pacienta a požadavků na biochemické vyšetření do LIS Infolab a LIS Steiner
- Tisk štítků s čarovým kódem
- Nalepení štítků na zkumavky s krevní plazmou (po centrifugaci)
- Vložení odběrových nádobek do stojánku
- Vložení stojánku do analyzátoru

b) Seznámení se s konstrukcí a funkcemi různých typů centrifug

- Nastavení centrifugačních programů (centrifuga Eppendorf 5810R)
2000 g, doba centrifugace 8 minut
1000 g, doba centrifugace 5 minuty
- A) Výpočítat RCF (Relativní centrifugační síly) pro centrifugy Eppendorf 5810R, Rotanta 460R, Rotofix 32A, cytofuga
- B) Vypočítat počet ot/min. nutných k dosažení RCF 4000g a 8000g pro centrifugy Rotanta 460R a Eppendorf 5810R, HETTICH; 10000g pro ROTOFIX 32A; 1500g cytofuga
- Výpočty porovnat s odečtem z nomogramu

Vzorec pro výpočet relativní odstředivé síly **RCF (x g)**:

$$\text{RCF} = 1,118 \times 10^{-3} \times n^2 \times r$$

Vzorec pro výpočet počtu otáček za minutu **n**:

$$N = \sqrt{\text{RCF} / (1,118 \times 10^{-3} \times r)}$$

n [min⁻¹] počet otáček za minutu (RPM – Rotation Per Minute)
RCF [x g] relativní odstředivá síla – Relative Centrifugal Force)
r [m] poloměr rotoru (údaj v metrech !!)

Typ centrifugy	r		n (ot/min)	RCF (x g)	
	Naměřený	Z návodu		výpočet	nomogram
Eppendorf 5810R			2000		
			4000		
HETTICH 460R			2000		
			4000		
HETTICH 32A			10000		
cytofuga			800		

Typ centrifugy	r	n (ot/min)	RCF (x g)
Eppendorf 5810R			4000
			8000
HETTICH 460R			4000
			8000
HETTICH 32A			10000
cytofuga			1500

c) Zahušťování moči pro gelovou elektroforézu

- Vzorek moči zahustíte pomocí koncentrátoru VIVASPIN 2 firmy Sartorius
- Pracovní postup:
 - Napipetujte 2,5 ml zcentrifugované moče do koncentrátoru (po rysku). (Pokud použijeme nový koncentrátor, napipetujte moč přímo, pokud je koncentrátor po procesu čištění naplněn deionizovanou vodou, nejprve vodu vylijte.)
 - Centrifugujte při 3160 g 9 minut (program 1 na centrifuze MPW 352).

- Zahušťujeme cca 36x, tj. na objem 70 μL . Pokud po první centrifugaci je objem větší než 100 μL , centrifugaci opakujeme. V případě, že se zahustí moč na menší objem (mrtvý objem, který vždy zůstane, aby nedošlo k vysušení vzorku, je 8 μL), doplníme profiltrovanou močí pacienta nebo destilovanou vodou na 70 μL .
- Odstraňte kontejnerek s filtrátem.
- Nasadte na zkumavku krycí klobouček, obraťte dnem vzhůru a centrifugujte 3 min při 3160 g (program 2 na centrifuze MPW 352).
- Takto získaný koncentrát přepipetujte do eppendorfky a řádně označte.