

# Laboratorní preanalytická fáze

příprava analytického vzorku

# Preanalytická fáze

- Proces laboratorní diagnostiky
- Tři fáze: preanalytická  
analytická  
postanalytická
- Preanalytická – mimolaboratorní  
laboratorní
- Mimolaboratorní – příprava pacienta, odběr,  
identifikace, transport

# Transport biologického materiálu

- Donáška
- Potrubní pošta
- Transportní vozidlo - chlazení



# transportní vozidlo s chladícím agregátem a monitorováním teploty



přenosný  
mrazicí box



# Preanalytická fáze laboratorní

- Příjem a identifikace biologického materiálu – povinné údaje, kontrola
- Vložení identifikačních údajů pacienta do LIS – manuálně, pomocí načítacího zařízení nebo automaticky při načtení čárového kódu
- Příprava analytického vzorku – centrifugace (rozložení, bezpečnost)
- Označení analytického vzorku čárovým kódem
- Vytvoření sekundárních analytických vzorků – aliquotů (aliquoting) a jejich označení štítky s čárovým kódem (labeling)
- Roztřídění analytických vzorků pro jednotlivá cílová pracoviště laboratoře (sorting)

# Laboratorní informační systém (LIS)

- Laboratoře – data – jejich shromáždění a zpracování
- Tvorba laboratorního nálezu
- Předání nálezu lékaři – tisk – elektronicky
- Historie – sběr a uložení dat
- PC – síť
- Čárový kód – jedinečná číselná identifikace
- Oboustranná komunikace

# LIS

- Definice metod
- Vklady
- Nálezy
- Kontrola nálezů
- Interní kontrola kvality
- Ekonomika
- Statistika



**centrifugace**

# Centrifugace (odstředění)

- Postup, který využívá odstředivé síly pro dělení látek různé hustoty, zrychluje proces sedimentace částic
- Používá se k :
  - ✓ Dělení směsi nemísitelných kapalin
  - ✓ Odstranění sraženin
  - ✓ Izolace nebo odstranění buněk a subcelulárních částic
  - ✓ izolace, koncentrace buněk (cytologický preparát z likvoru cytospin)
  - ✓ Zahuštění bílkovin (moč, likvor)



# Způsoby centrifugace

- **Diferenciální** - běžná, založena na rozdílné sedimentační rychlosti částic, určité částice jedné velikosti zcela sedimentují, k odstranění buněk, sraženiny, buněčný homogenát na částice

Probíhá v homogenním mediu s nižší hustotou než jakou sedimentují částice

- **Izopyknická** – rozdělení částic na základě rovnovážné centrifugace, princip rozdílu hustoty částic nezávisle na jejich ostatních vlastnostech, používá se prostředí o měnící se hustotě (hustotní gradient).

k přípravě hustotního gradientu se používají roztoky sacharózy, polymerů, solné roztoky (CsCl), jsou dva typy hustotních gradientů:

- diskontinuální (několik různě hustých vrstev, dělené částice se soustředí na hranici mezi dvěma vrstvami)
- kontinuální (změna hustoty plynulá v celém rozsahu zkumavky)

Použití k dělení makromolekul (bílkoviny, nukleární kyseliny)

## Význam:

- odstranění sraženin (krevní koláč, deproteinace....)
- odstranění buněk (získání plazmy z nesrážlivé krve)
- izolace; koncentrace buněk  
(cytologický preparát z likvoru – cytospin)
- zahuštění bílkovin (moč, likvor)
- dělení směsi nemísitelných kapalin

# Centrifugační síla

- Vliv gravitace nahrazen použitím centrifugy
- Zkumavky se pohybují v tzv. rotoru po kruhové dráze
- Působí na ně odstředivá síla, je tím větší, čím větší rychlostí a po delší dráze se zkumavky pohybují (*síla závisí na poloměru rotoru a jeho rychlosti otáčení*)

$$F = m \cdot r \cdot \omega^2$$

$m$  – hmotnost částic

$r$  – poloměr, tj. vzdálenost dna centrifugační zkumavky od osy otáčení (uvedeno v dokumentaci rotoru)

$\omega$  - úhlová rychlost ( $\omega = 2 \pi f$ , kde  $f$  je frekvence otáček).

Součin  $r \cdot \omega^2$  [ $\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ ] odpovídá *centrifugačnímu zrychlení*

*O rychlosti sedimentace vedle centrifugační síly rozhoduje rozdíl mezi hustotou centrifugované částice a rozpouštědla (přímo úměrně) a faktor tření (nepřímo úměrně)*

**Relativní centrifugační síla (R);**  
anglický termín *Relative Centrifugal Force (RCF)*

vyjadřuje poměr mezi centrifugačním zrychlením  
a zrychlením tíhovým

udává kolikrát je vyvolané centrifugační zrychlení vyšší  
než tíhové zrychlení

Udává se v násobcích g

$$R = r \cdot \omega^2 / g$$

*10 000 x g ≈ 100 000 m.s<sup>-2</sup>*

# Relativní centrifugační síla $R$ se snadno vypočítá pro kteroukoli centrifugu a daný počet otáček

$$R = 4,02 \cdot f^2 \cdot r$$

(je-li frekvence otáček uváděna v jednotkách  $[s^{-1}]$  a vzdálenost  $r$  v  $[m]$ )

$$R = 1,12 \cdot f^2 \cdot r \cdot 10^{-5}$$

je-li frekvence otáček uváděna v jednotkách  $[min^{-1}]$  a vzdálenost  $r$  v  $[cm]$

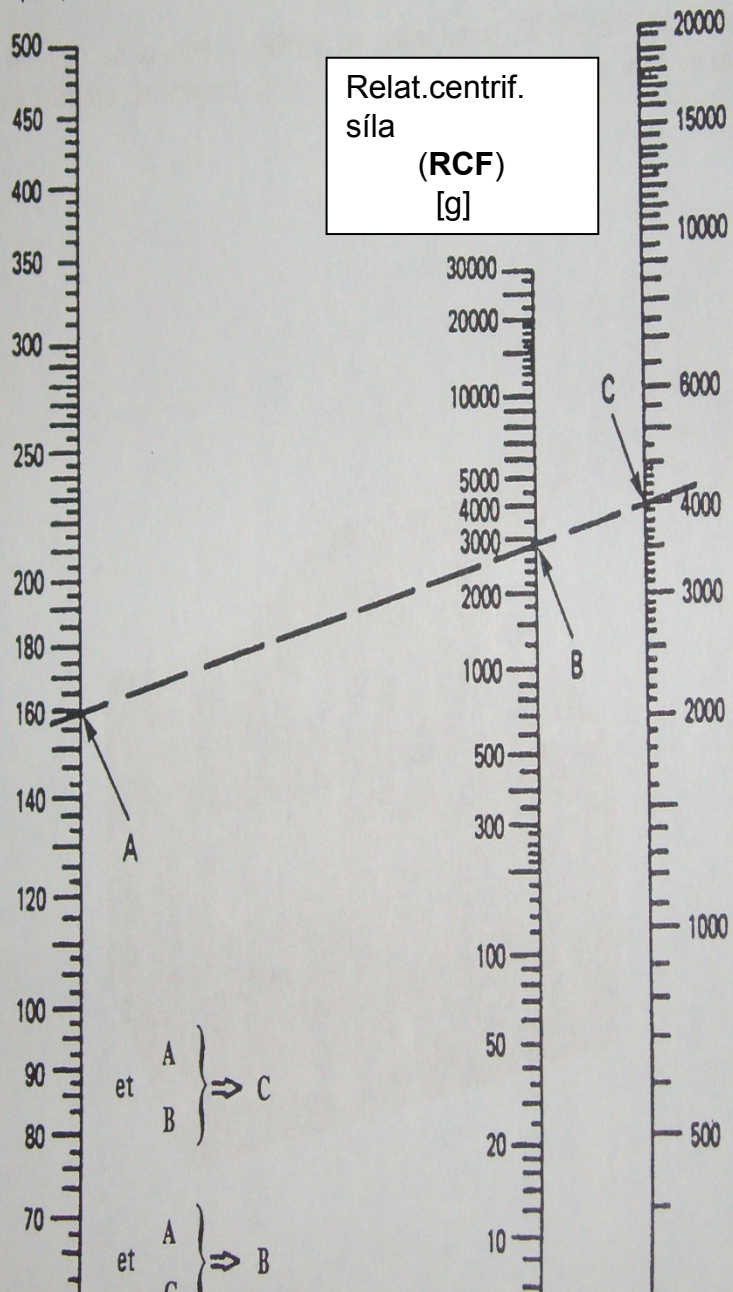
Lze určit rovněž z nomogramu



**r** (poloměr rotoru)  
[mm]

otáčky  
[f / min.]

Relat.centrif.  
síla  
(RCF)  
[g]



et A }  $\Rightarrow$  C  
B }

et A }  $\Rightarrow$  B  
C }

# Typy centrifug

*Dle dosahovaného odstředivého zrychlení:*

- Nízkoobrátkové - zrychlení  $5 \cdot 10^4 \text{ ms}^{-2}$  (5000 x g)
- Středněobrátkové - zrychlení  $2 \cdot 10^5 \text{ ms}^{-2}$  (20000 x g)
- Vysokoobrátkové - zrychlení  $10^7 \text{ ms}^{-2}$

ultracentrifugace virů, rotory těchto centrifug pracují ve vakuu, čímž se omezuje odpor vzduchu a tím vyvolaný vznik tepla třením)

*Dle konstrukce rotoru :*

- Rotory výkyvné - menší zrychlení, rozdělení  
horizontální (odstředivá síla  
kolmo ke dnu)
- Rotory úhlové - větší počet otáček, kratší doba  
dělení





STAINLESS  
STEEL

max rpm 4300

Jouan

T40

max load 3,70 kg









Jouan

v.c. 00531119

0000

SPEED / RPM

~  $\square$  300  
●  $\square$  300  
●  $\square$  300

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14000

min STOP  
0 min TIME START

A 14





17000 mm  
8  
9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24  
HERAEUS SEPATECH  
Cat.-No. 3743  
1 2 3 4 5 6 7

# Centrifugace

- Krevní elementy (erytrocyty, leukocyty, trombocyty, v případě séra krevní sraženina) - vyšší specifická hustota - účinkem odstředivé síly do dolní části odběrové nádobky
- V horní části sérum případně plazma
- Separační gel - specifická hustota mezi krevními elementy a sérem nebo plazmou
  - po centrifugaci mezi nimi – oddělení
  - zabrání průniku látek z krevních elementů (např. draslíku) do séra nebo plasmy
  - odstraňuje nutnost sérum nebo plazmu po centrifugaci přenést do jiné zkumavky

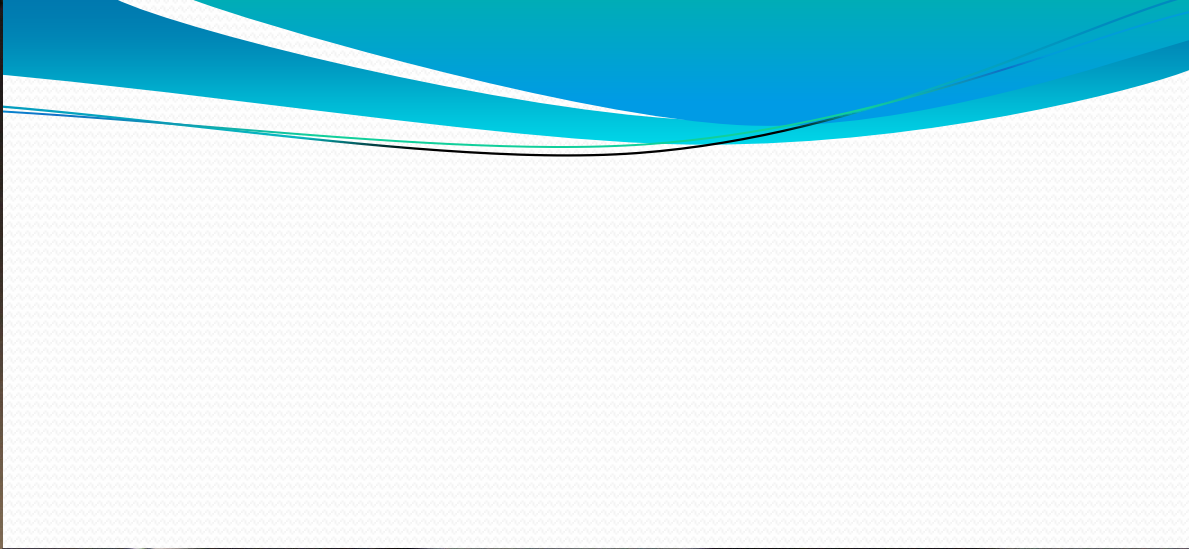
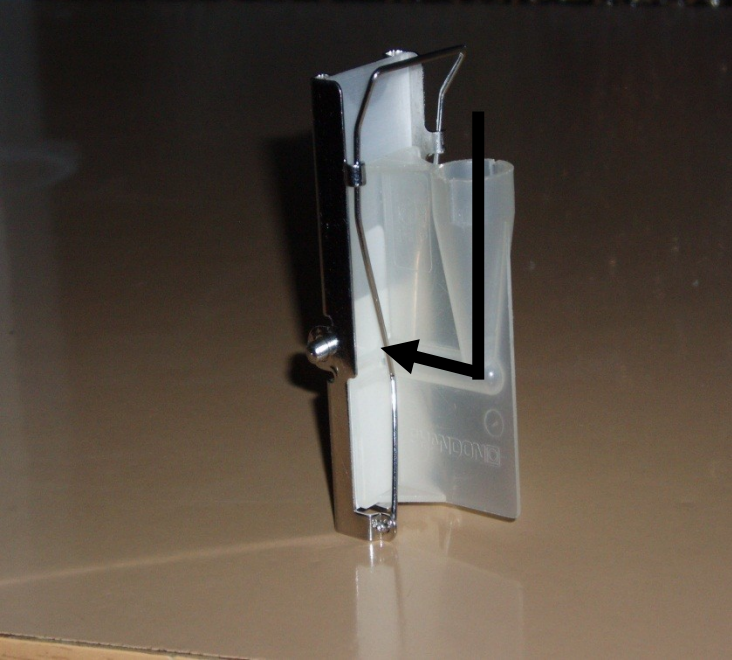




# Cytofuga

Příprava mikroskopického preparátu  
k cytomorfologickému vyšetření mozkomíšního  
moku - cytospin







# Speciální centrifugační nádoby

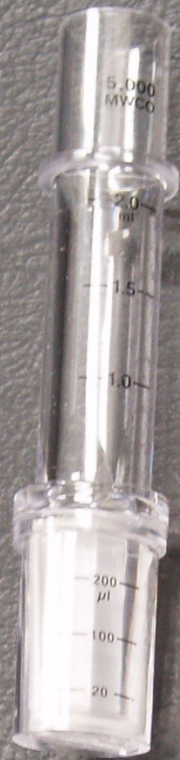
1) Zahuštění močí, likvorů

Stanovení specifických proteinů

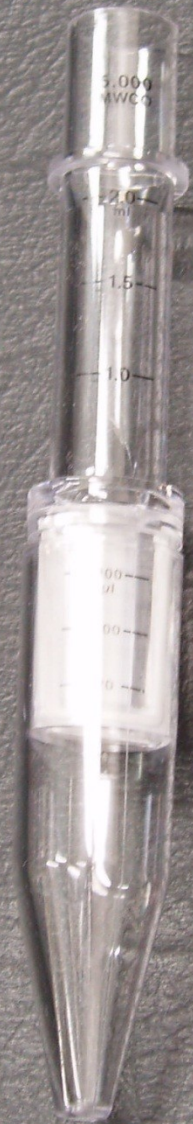
2) Analýza ze slin

Zpracování hustých biologických materiálů













# Automatizovaná a robotizovaná perianalytická laboratorní fáze – jednotlivé kroky :

- Identifikace biologického materiálu
- Centrifugace
- Odzátkování
- Označení aliquotů čárovým kódem - labeling
- Rozpipetování – aliquoting
- Zazátkování
- Roztřídění - sorting
- Archivace
- Skladování

# Typy laboratorní perianalytické automatizace

## Celková

- Perianalytická zařízení spojená transportní dráhou přímo s analyzátory („*On-line*“)
  - a) kruhové uspořádání
  - b) moduly uspořádané stavebnicově za sebou

## Diskrétní

- Samostatně stojící pracovní stanice
- Roznášení vzorků k analýze do samostatně stojících přístrojů



# OLA 2000 (Beckman – dříve Olympus)



**Power Processor (Beckman Coulter) spojený s analyzátorom  
(St. Dominic-Jackson Memorial Hospital, Jackson, Mississippi)**





# Propojení 2x Advia 1600 a Advia Centaur - Siemens



## Základní části:

- Vstup – místo pro vkládání zkumavek
- Dopravníkový systém - transport zkumavek mezi jednotlivými funkčními jednotkami
- Laserová čtečka k identifikaci vzorku načtením čárového kódu
- (Robotizovaná centrifuga)
- Odzátkovací zařízení
- Zásobník zkumavek pro aliquoty
- Tisk a nalepení štítků s čárovým kódem
- Pipetor pro vytvoření aliquotů
- Zařízení pro roztřídění primárních zkumavek a aliquotů pro cílové analyzátory
- Chlazený sklad pro uložení vzorků – automaticky posílá vzorky pro analýzu doordinovaných testů, po uplynutí skladovací doby vyhodí vzorky

# Složení perianalytického systému

- **Vstupní modul**
- **Robotizovaná centrifuga**
- **Odzátkovací zařízení**
- **Alikvotační modul**
- **Modul generující a lepící čárové kódy**
- **Zátkovací modul**
- **Třídící modul**
- **Skladovací zařízení**

# Modular Preanalytics (Roche Diagnostic)







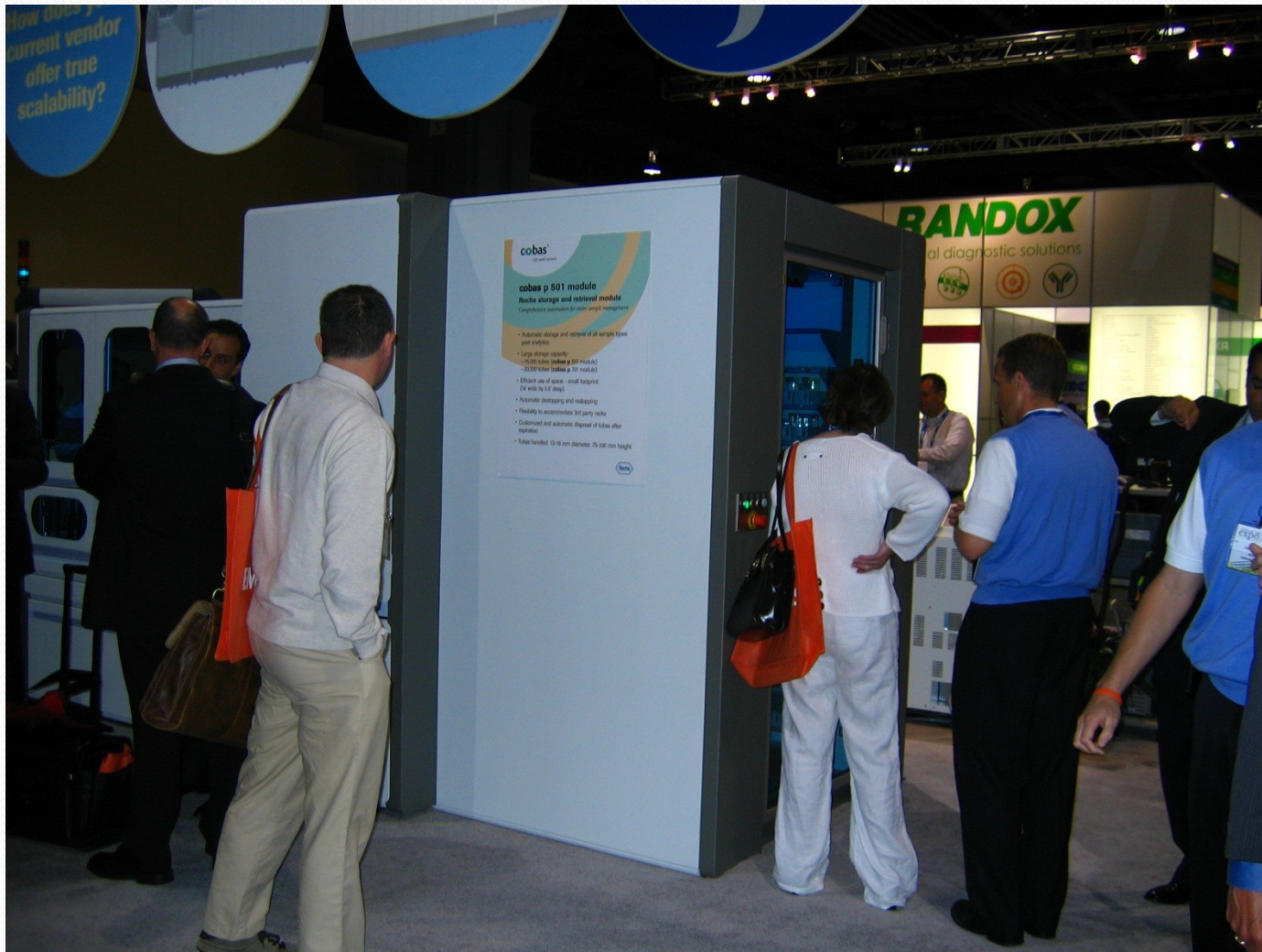
# Chlazený sklad p 501/p701 (k MPA), Roche



# Chlazený sklad p 501/p701 (k MPA), Roche

- Ukládá 400 zkumavek/hod.
- Automaticky zátkuje a odzátkovává
- Likviduje vzorky po uplynutí expirace
- Kapacita 13500 zkumavek modul p501
- Kapacita 27000 zkumavek modul p701









## Preanalytický systém cobas p 312 - „Kolibřík“, Roche

- Malý, výkonný preanalytický systém (1m x 1m)
- Velmi vhodný pro menší laboratoře, pro provozy s nedostatkem místa
- Zpracování 100 až 2000 vzorků za den
- Provede odzátkování, třídění a archivaci vzorků z různých oborů (klinická chemie, imunologie, hematologie, koagulace a močová analýza)



# Power Link, Beckman



**Včetně odzátkování**



# Power Express, Beckman (ještě není na trhu)

- Složeno z AU5800 a UniCel DxI 800 immunoanalyzátor
- RFID technologie
- Konsolidace chemie, klinický informační systém a hematologie
- Možnost integrace s chlazeným skladem (skladování a likvidace vzorků)



# Thermo TCAutomation (Siemens)

- Řešení pro střední a velké laboratoře, 500 zkumavek/ hodinu



# Výhody preanalytických systémů:

- Zkrácení TAT
- Úspora personálu
- Odstranění možnosti potenciální záměny materiálu
- Omezení styku s biologickým materiálem
- Zachycení sraženiny v séru
- Zájem personálu o novou přístrojovou techniku
- Reprezentativní laboratoř



Děkuji Vám za pozornost.

