

Příprava krevního séra z lidské krve

Teorie:

Krevní sérum se získává z krve ke kvantitativnímu a kvalitativnímu stanovení různých látek nacházejících se v séru a charakterizujících současný zdravotní stav jedince (např. stanovení imunoglobulinů, C-reaktivního proteinu, složek komplementu, proteinů akutní fáze, autoprotilátek proti vlastním tkáním, protilátek proti mikroorganismům, hormonům atd).

Úkol:

Příprava lidského séra z krve pro další zpracování ke kvantitativnímu a kvalitativnímu stanovení různých látek, špachtličky na odlepení krev. koláče, fotky buněk, vzor

Pomůcky:

Ajatin - desinfekce, rukavice, sterilní bodce, mikropipety a špičky, eppendorfy, štítky, popisovač, centrifuga.

Postup práce:

Šetrně a v rukavicích odebereme sterilně krev z prstu do eppendorfy, označíme štítkem a dáme do ledničky do druhého dne. Další den opatrně pomocí špachtličky odlepíme krevní koláč z epiny, pak stočíme na centrifuze do 1500 otáček/min asi 5 - 10 minut, odebereme žlutavou tekutinu (tj. sérum, vyloučené na povrch vzniklého krevního koláče a krevní sraženiny), přemístíme do další eppendorfy, označíme štítkem a zamrazíme pro použití na další cvičení.

Krevní diferenciál leukocytů

Úkol: zjištění krevního diferenciálu u lidské krve a fotka či obrázek tří zástupců bílých krvinek

Pomůcky: kyvety na barvení, barvicí souprava Leukodif (Biolatest), podložní skla, rukavice, alkohol na čištění skel, krevní roztěr, mikroskop, objektiv pro pozorování pod imerzí, olej nebo glycerol

Provedení: Krevní roztěr nabarvíme barvicí soupravou Leukodif podle instrukcí. Pak podle schématu prohlédneme krevní nátěr a zjištěné počty leukocytů zapisujeme do tabulky. Po zapsání 100 leukocytů sečteme jednotlivé sloupce a zjistíme tak procentuální zastoupení jednotlivých druhů leukocytů. V preparátu krevního roztěru se nachází následující krevní elementy: červené (erythrocyty) a bílé (leukocyty) krvinky, a krevní destičky (trombocyty).

Leukocyty dělíme na granulocyty (neutrofil, eozinofil, bazofil) a agranulocyty (monocyt, lymfocyt).

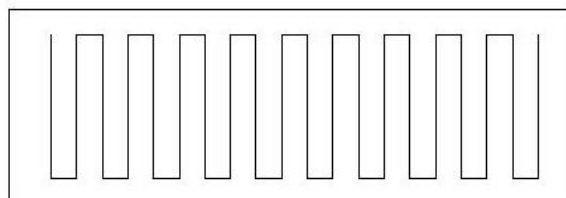
U zdravého jedince by měl být výsledek následující:

leukocyty	
tyčka (prekurzor neutrofilu)	1-2 %
neutrofil	55-60 %
eozinofil	2-3 %
bazofil	0,5 %
monocyt	5-7 %

lymfocyt	30-40 %
----------	---------

Zjištěné počty buněk se zapisují do speciální tabulky (viz dále).

neutrofil	tyčka	lymfocyt	monocyt	eosinofil	bazofil	neznámý	suma
							10
							10
							10
							10
							10
							10
							10
							10
							10
							10
							10
							100



Počítání bílých krvinek se provádí posunováním zorných polí podle tohoto obrázku

Krevní diferencíál se stanovuje při běžném vyšetření zdravotního stavu člověka. Změny v počtu bílých krvinek totiž mohou předznamenávat řadu krevních a jiných chorob, pro které jsou tyto změny typické.

Barvení Leucodif

Alternativní barvení

Barvení podle Pappenheima v kyvetách:

3 min. fixace v kyvetě s metylalkoholem

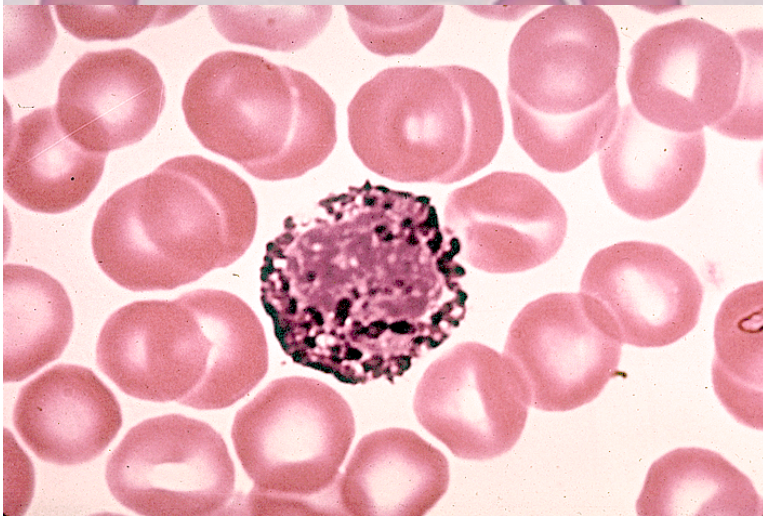
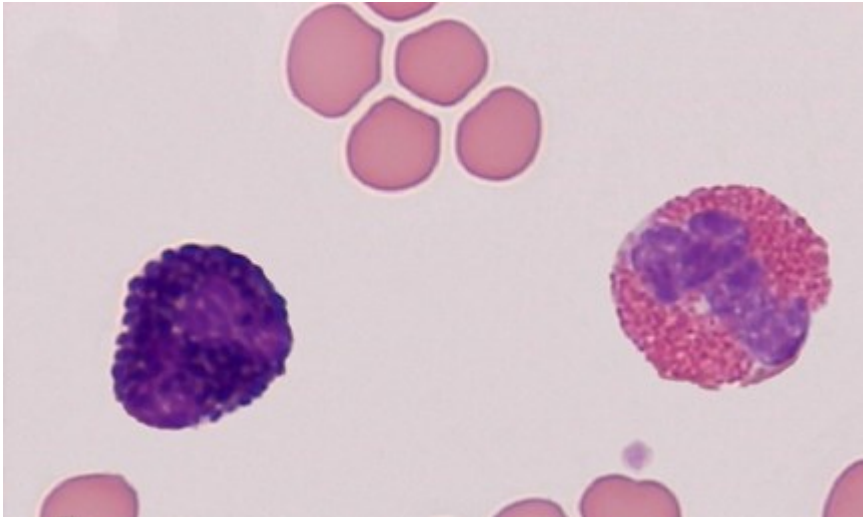
3 min. May - Grunwald 1:1 s vodou (lépe 2 min.)

15 min. Giemsa - Romanowski 1:9 s vodou

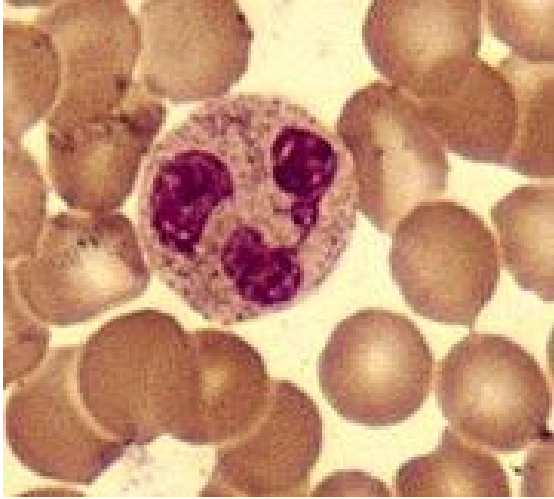
opláchnout ve vodě, nechat schnout

pozn. sklíčka vkládat rubem k sobě do 1 drážky

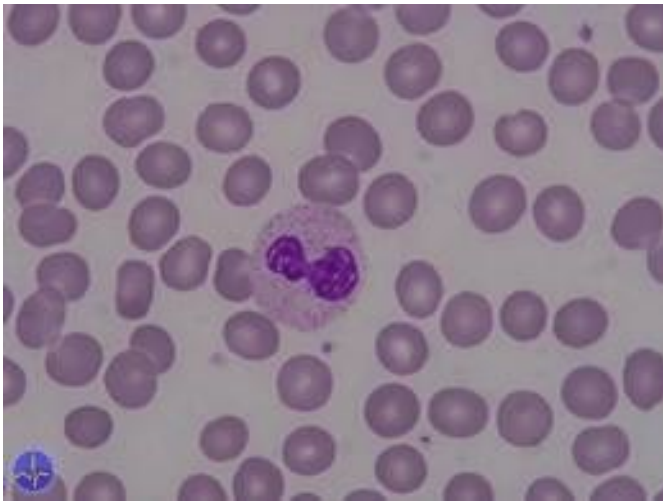
**Leukocyty:
eozionofil**



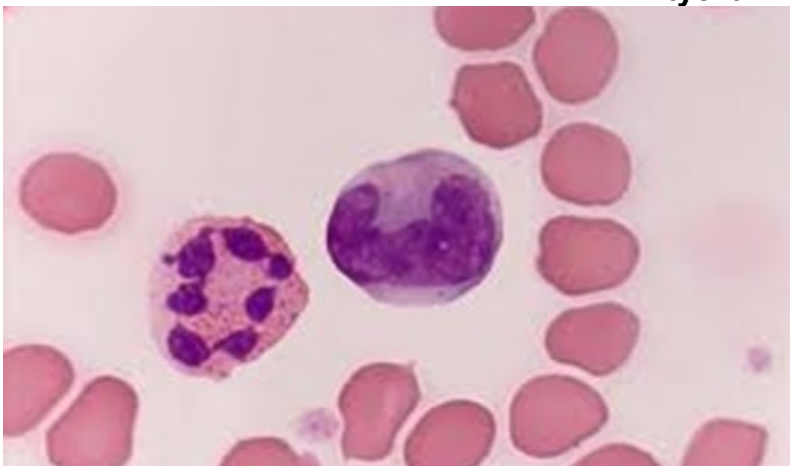
bazofil



neutrofil



tyčka



neutrofil, monocyt



lymfocyt

Zdroje:

http://www.google.cz/search?tbm=isch&hl=cs&source=hp&biw=1280&bih=571&q=bazofil&gbv=2&oq=bazofil&aq=f&aqi=g3gS7&aql=&gs_sm=s&gs_upi=13281440610161721710111101781328161610#hl=cs&gbv=2&tbm=isch&sa=1&q=neutrofil&oq=neutro