

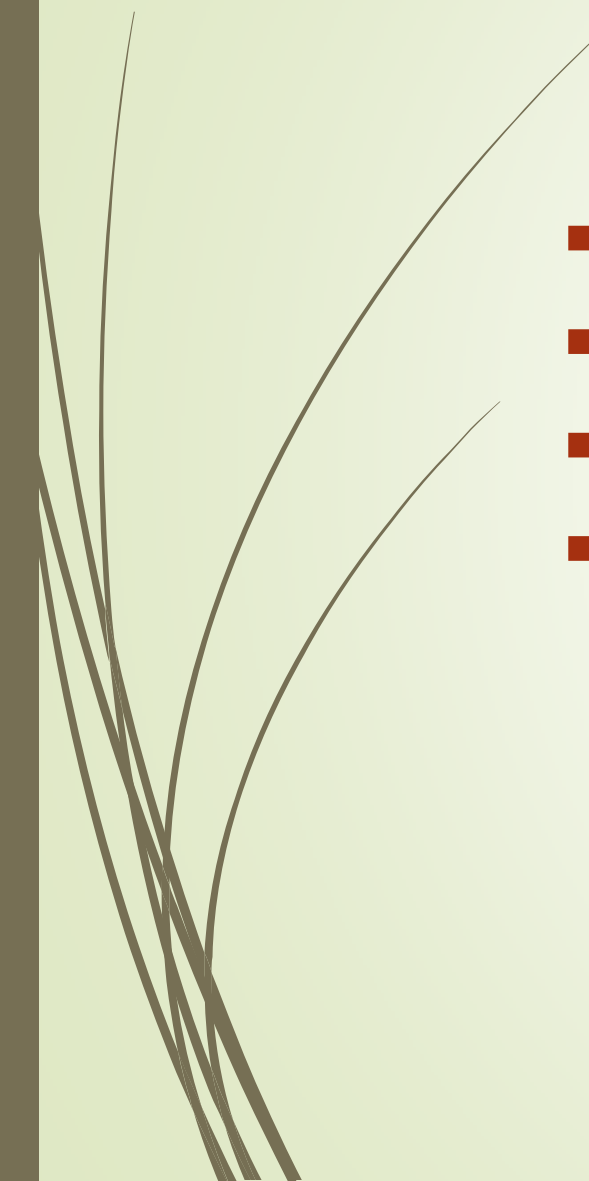


Bezpečnost práce v laboratoři a práce s biologickým materiálem

Doc. RNDr. Sabina Ševčíková, PhD
Ústav patologické fyziologie



Biologický materiál

- Každý biologický materiál je potencionálně infekční
 - Může být původcem vysoce virulentní nákazy
 - Může obsahovat polyrezistentní kmeny v čisté kultuře
 - Dochází v něm k pomnožení původců infekce
- 




Cesty přenosu



- Inhalace – vdechnutí: centrifugace, vypalování klíček, rozlití infekční tekutiny,...
- Kontaminace úst, spolknutí: pipetování ústy, kousání tužky, nehtů,...
- Poranění: jehlou, rozbitým sklem
- Kontaminace kůže, sliznic: rozlití nebo vyšpláchnutí infekčního materiálu




Osobní hygiena

- Hygienické mytí rukou
 - Nepoužívat mobily
 - Nejíst nepít nekouřit
 - Pozor – okusování tužek, mnutí očí, nosu
- 

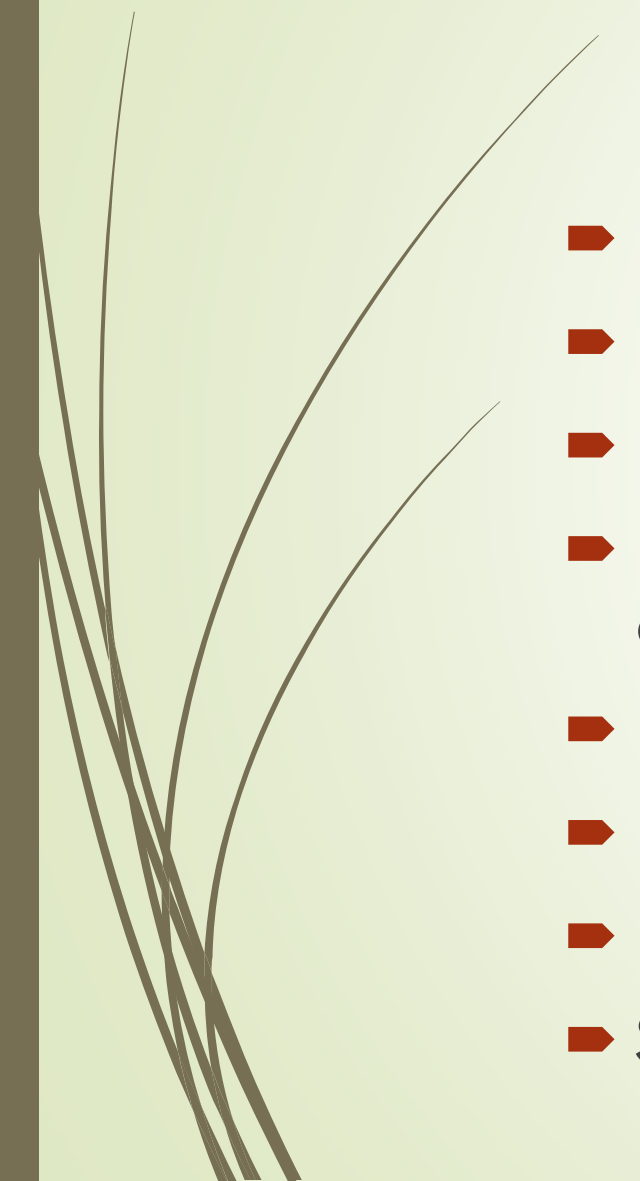


Prevence rizik

- Ochranné pomůcky – plášť, rukavice, náustek, ochrana hlavy
 - Nejíst, nepít, nekouřit
- 



Práce s biologickým materiálem

- Na určeném místě s určeným materiálem a pomůckami
 - Pracovat bezpečně
 - Pozor na ostré předměty
 - Po skončení práce nutné použité věci vyhodit do odpadu na biologický materiál
 - Pozor na ostrý odpad
 - Pozor na tekutý odpad
 - Dezinfekce nástrojů, a pod
 - Sundat rukavice
- 




Co je nejdůležitější?

- Chránit sebe
 - Ochranné pomůcky
 - Pozor na přenos chorob
 - **každý biologický materiál je potenciálně infekční !**
- 




Příprava materiálu

- První nejdůležitější krok
 - Volba správného vzorku
 - Stabilizace
 - Rychlý transport
- 




Odběry krve a kostní dřeně

- 2-10 ml periferní krve
 - 1-5 ml kostní dřeně
 - Antikoagulans důležitý – preference pro EDTA
 - Leukocyty poměrně odolné k degradaci ale degradují NK
- 




Separace cílových buněk

- Krev a KD: deplece erytrocytů (lyze)
 - Následná separace populace podle povrchových markerů (FACS) a nebo pomocí magnetických kuliček (MACS)
- 

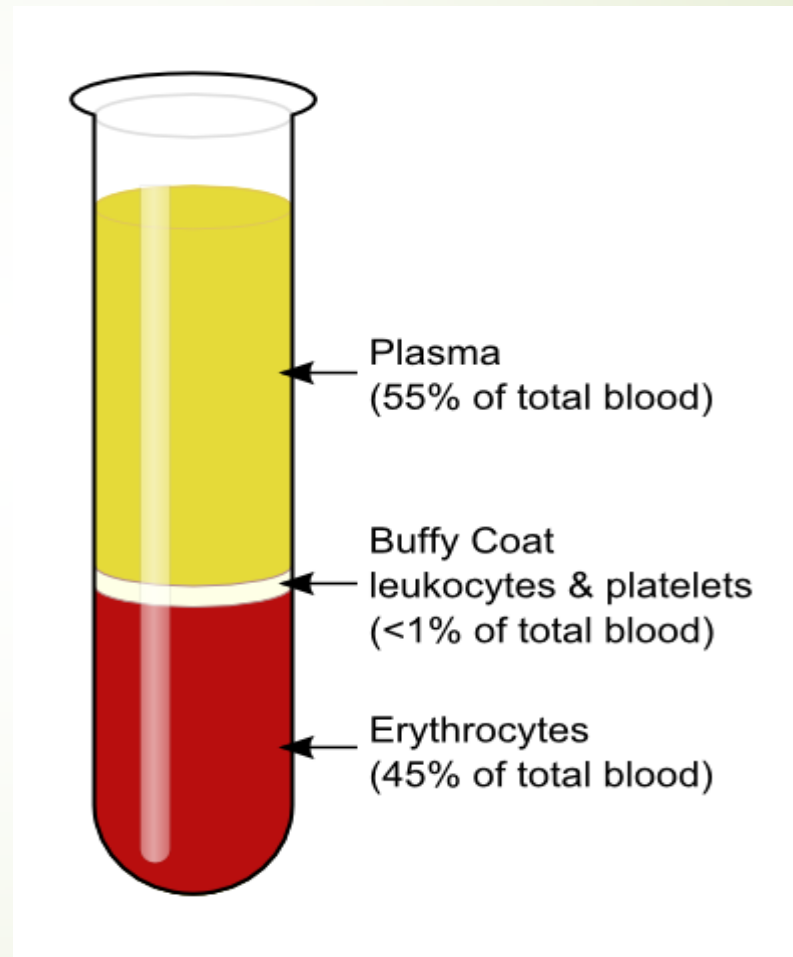


Reprezentativnost materiálu

- Zastoupení ostatních populací
 - Malé množství ostatních buněk může ovlivnit výsledky
 - Nutná separace a kontrola čistoty
- 

Buffy coat

- Frakce krve – bílé krvinky a destičky
- Izolace DNA, RNA...





Co budeme dělat?

- Izolace frakce mononukleárních buněk z buffy coats
 - Izolace RNA
 - Reverzní transkripce do cDNA
 - Real-time PCR
- 