



Pokyny pro odběr a transport vzorku kůže k založení kultury fibroblastů

Odběr se provádí sterilně z vhodného místa (např. z vnitřní strany horní části paže). Jde-li o odběr kůže při pitvě (ověřeno, že se kultivace podaří ze vzorku odebraného do 3 dnů po exitu, ale i po delší době – do 7 dní může být kultivace úspěšná), volíme místo podél řezu a ze dvou až tří míst do oddělených nádobek pro vyšší pravděpodobnost mikrobiální kontaminace a následné ztráty materiálu.

Optimální velikost vzorku je 6x4x1 mm (do škrápy), při odběru při pitvě mohou být i větší.

Pomůcky: 1. Dezinfekční prostředky: Skinsept-mucosa, 70% etanol

2. Sterilní voda (aqua pro injectione) není nutná

3. **Sterilní** jemná chirurgická pinzeta a ostré nůžky (horkovzdušná sterilizace)

4. Transportní médium (**sterilní kultivační médium** M199, MEM, DMEM, RPMI bez séra s přídatkem antibiotik, mohou poskytnout laboratoře, které pěstují buňky, např. virologie, není-li tato možnost, lze použít **sterilní fyziologický roztok nebo PBS**). Optimální objem 5 až 10 ml pro 1 vzorek, (ale větší objem není na závadu), médium musí být cca do 2/3 objemu použité nádoby = zkumavka se šroubovacím uzávěrem 15 až 50 ml z PP, kultivační lahvička, atp

Vhodná antibiotika: Gentamicin 50 ug/ml, nebo kombinace Penicilin, Streptomycin a Amphotericin, v obvyklé koncentraci používané pro kultivaci buněk.

5. Lokální anestetikum Mesocain 1 % (není nezbytné)

Postup: - povrch kůže je třeba řádně otřít (vetřít) sterilními tampony s vhodnou dezinfekcí (např. Skinsept-mucosa), nechá se chvíli působit. Pak se zastříkne 2x 10 až 20 ml 60 až 70 % ethanolu a/nebo isopropanolu, který se nechá odpařit. Pak se kůže opláchne sterilní vodou a sterilními nástroji se kůže odstříhne a vloží do transportního média. Zkumavka se ihned pevně uzavře, vhodně zabalí a odešle do laboratoře.

Důležité je dodržet dostatečnou dobu působení povrchových dezinfekčních prostředků a používat sterilní nástroje. Po odpaření alkoholové dezinfekce není potřeba kůži oplachovat vodou.

Transport:

- Víčko nádobky se sterilně odebranou tkání chraňte proti vniknutí prachu pod víčko překrytím Al fólií, parafilmem nebo vložením do čistého sáčku.
 - Nádobka musí být dále chráněna před mechanickým poškozením a vlivem extrémních teplot, zejména mrazem, v krabici s izolací bublinkovou fólií nebo buničinou. (Buničina a vata jsou zdrojem spor plísní, neobalujte jimi lahvičku s nekrytým víčkem!)
 - Není-li možné odebranou tkáň odeslat a zpracovat krátce po odběru, uložte ji v transportním médiu do chladničky (+6 až +15° C). Takto lze tkáň uchovat max. 7 dní.
- Nemrazit!!!!**
- Odebraná tkáň je do laboratoře transportována při teplotě do 25 °C, při delší době transportu (déle než 6 hodin) při teplotě 6-15°C.



Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2

<http://www.vfn.cz> <http://intranet.vfn.cz>

Klinika dětského a dorostového lékařství

Diagnostické laboratoře dědičných metabolických poruch

Pracoviště: Ke Karlovu 455/2, 128 08 Praha 2

**Pracovní postup
PP-KDDL-DMP-T-08**

Strana 2 z 2

Verze číslo: 3

Platná od 2.1.2019

Transport napěstovaných buněk:

Podají-li se vám dohodnout napěstování fibroblastů v laboratoři poblíž vašeho pracoviště, dohodněte přepravu do naší laboratoře v co nejnižší pasáži, když tvoří téměř souvislou vrstvu (malé mezery mezi buňkami) a to 2 lahvičky o růstové ploše alespoň 25 cm². Kultivační lahvičky je třeba doplnit médiem až po hrdlo, (při otřesech při přepravě se tvoří pěna, která buňkám škodí). Doplňené lahvičky už nedávejte do inkubátoru, ale uchovávejte a přepravujte je při teplotě do 25°C, chráněné před tepelným a mechanickým poškozením.

Případné dotazy zodpoví:

Ing. Markéta Nováková

Diagnostické laboratoře DMP – Laboratoř tkáňových kultur, KDDL VFN a 1.LF UK

Tel.: 22496 5642, Marketa.Novakova3@vfn.cz