



H U 0 0 0 2 2 6 3 9 3 B 1

(19) **HU****MAGYAR KÖZTÁRSASÁG**
Magyar Szabadalmi Hivatal(11) Lajstromszám: **226 393**(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 02 02018**(22) A bejelentés napja: **2002. 06. 19.**(40) A közzététel napja: **2004. 06. 28.**(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértesítőben: **2008. 10. 28.**(51) Int. Cl.: **G01N 1/30**

(2006.01)

C12M 1/32

(2006.01)

G01N 33/00

(2006.01)

G01N 1/14

(2006.01)

(72) (73) Feltalálók és szabadalmasok:

dr. Rózsa J. Balázs 34%, Budapest (HU);**Tóth Sándor 33%, Budapest (HU);****Valenta László 33%, Budapest (HU)**

(74) Képviselő:

**Várnai Anikó, INTERINNO Szabadalmi Iroda,
Budapest**

(54)

Berendezés és eljárás biológiai szövetminták festésére

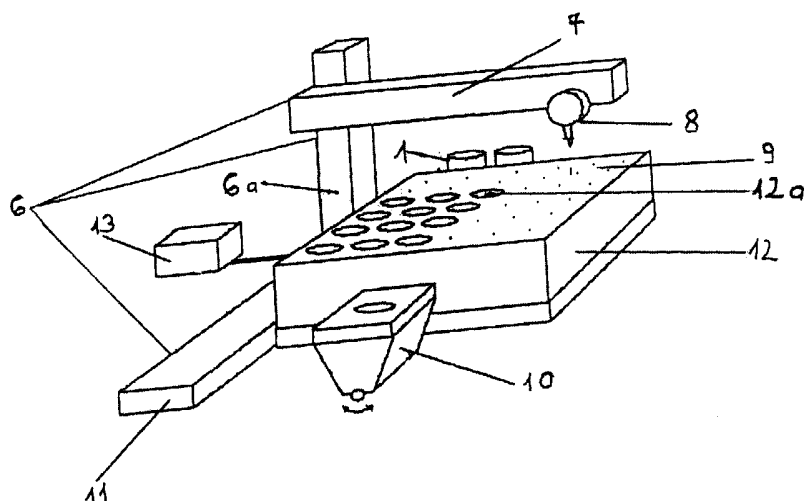
(57) Kivonat

A találmány tárgya berendezés és eljárás biológiai szövetminták festésére.

A berendezésre az jellemző, hogy vezérlőelektronikával irányítható (13) olyan robottal (6) rendelkezik, amelynek mozgásra szolgáló Y tengelye (7), X tengelye (11) és Z tengelye (6) van, amelyekhez egy, a tetején befogadónylásokkal (12a) ellátott, hűthető-fűthető rázóasztal (12) és egy dönthető asztal (10) kapcsolódik, míg az Y tengely (7) egy dönthető fejjel (8) van összekapcsolva.

A dönthető fejhez (8) csatlakoztatható a mintatartó egység (9), amelynek olyan reagenstartálya (1) van, amely egy pipettában (2) végződik, és a pipetta (2) be van vezetve egy szűrővel (3a) záródó kémcsőbe (3), amely egy megvezetőperselyen (5a) keresztül benyúlik egy lapos fenekű mintatartó kémcsőbe (4), és lapos fenekű mintatartó kémcső (4) megvezetőperselyt (5a) tartalmazó kémcsőtetővel (5) van lezárva.

A találmány szerinti festési eljárás a fenti berendezés alkalmazásával történik, célszerűen lebegtetett fázisban.



1. ábra

HU 226 393 B1

A találmány tárgya berendezés és eljárás biológiai szövetminták festésére.

A biológiai szövetminták festése fontos szerepet játszik mind az orvosi biológiai kutatásban, mind az egyre jobban fejlődő orvosi diagnosztikai eljárásokban.

A festési folyamat során a szövetminta (szöveti szelet, illetve kenet) egyes komponenseit teszik megkülönböztethetővé.

Az eljárásokra általánosan jellemző, hogy többféle oldattal kell a mintákat reagáltatni, illetve több alkalommal kell ezután mosási eljárást alkalmazni az egyes festési komponensek megfelelő eltávolítása céljából.

Igy például egy átlagos immunológiai kettős festésnél 30–40 lépés is szükséges.

Sokféle festési eljárás alakult ki.

Csupán kémiai festési eljárások: például hematoxin-eozinnal, krezilbolyával stb. végzett eljárások.

Immunológiai festések makromolekulák, fehérjemolekulák, kompartmentek kimutatására: kettős festések, arany szemcsés eljárások, in vivo vírusjelölés, különböző in vivo sejtfeltöltések és immunfestések stb.

Egyéb festési eljárások: in situ hibridizáció.

Ezek a festési eljárások nagyon időigényesek, de egy részük jól automatizálható: ilyenek azok a festési eljárások, amelyek során a szöveti metszet az eljárásnál fix hordozófelülethez rögzíthető. Ilyenek a vérkenetek, az egyéb paraffinos, apoláris komponensekkel feldolgozható metszetek.

Ezek feldolgozásának automatizálása önmagában nem jelent jelentősebb problémát, hiszen a hordozófelületre való rögzítés után a feladat a felület (tárgylemez) mozgatása a festési reagenseket tartalmazó kádak között.

A leszívás után a metszeteken megmaradó folyadék vastagságával arányosan rontja a festés minőségét, ugyanakkor hiánya a metszetek kiszáradását, tönkremenetelét eredményezi.

A PCT 97/20981 számú közzétett szabadalmi bejelentés in vivo festőkészítmények alkalmazását ismerteti diszplázias szövetek azonosítására.

A szabadalmi leírás azonban magát a festési technológiát nem ismerteti részletebben.

Az US 6150 158 számú szabadalmi leírás növényi anyagok, például magvak ellenőrzésére alkalmas berendezést és eljárást ismertet, amely berendezés mintaadagolása automatikus, de nem biológiai minta festésére vonatkozik.

A drága reagensek, savók gyakran kontaminálódnak, ha nem megfelelő a tárolásuk, illetve sérül a sterilítás.

Bizonyos agresszív reagensek, például a legtöbb festés utolsó lépését jelentő DAB (diamino-benzidin) és Ni-DAB (nikkel-diamino-benzidin) minden nem speciális anyagból készült alkatrészt tönkretesznek.

Célul tűztük ki egy olyan berendezés és eljárás megvalósítását, amellyel a fenti problémák megoldhatók, illetve csökkenthetők.

A jelen találmány tárgyát képező berendezéssel és eljárással tökéletesen megvalósítható a lebegtetett metszetek festése, tetszőleges festési eljárás, met-

szet- és kémcsőszám, reakcióidő mellett, vagyis tökéletesen helyettesíteni tudjuk az eddigi kézi festési folyamat minden lépését.

A metszetek az eddigi megoldásokkal ellentétben egy körpályán mozgatott, üvegedényekből alkotott mátrix aljában helyezkednek el.

Ez az elrendezés biztosítja a legkisebb mechanikai igénybevételt két leszívás között a metszetek megfelelő keverésének biztosítása mellett, és nem engedi meg a metszetek összetapadását.

A metszeteken megtapadó folyadékfilm a folyadékok makroszkopikus tulajdonságaitól alapvetően eltérően viselkedik.

A készülék váza egy háromdimenziós robotmechanika, erre építjük rá a kémcsőmátrixot, a leszívófejet, hőmérséklet-szabályozó blokkot, az oldatok kis mennyiségekben történő adagolását és a használt oldatot felszívását is lehetővé tevő pumpát és a metszetek tárgylemezre húzását elősegítő speciális kádat.

A találmány tárgya tehát berendezés biológiai szövetminták festésére.

A találmány szerinti berendezésnek 1 reagenstartálya, ehhez kapcsolódó 2 pipettája, továbbá mintatartó 3 kémcsőve van.

A berendezésre az jellemző, hogy vezérlőelektronikával irányítható olyan 13 robottal rendelkezik, amelynek mozgatásra szolgáló 7 Y tengelye, 11 X tengelye és 6 Z tengelye van, amelyekhez egy, a tetején 12a befogadónylásokkal ellátott – 9 mintatartó egységet befogadó – 12 hűthető-fűthető rázóasztal és egy 10 dönthető asztal kapcsolódik, míg a 7 Y tengely egy 8 dönthető fejfel van összekapcsolva, a 8 dönthető fejhez csatlakoztatható a 9 mintatartó egység, melynek olyan 1 reagenstartálya van, amely egy 2 pipettában végződik, és a 2 pipetta be van vezetve egy alul 3a szűrővel záródó 3 kémcsőbe, amely egy 5a megvezetőperselyen keresztül benyúlik egy 4 lapos fenékű mintatartó kémcsőbe, és a 4 lapos fenékű mintatartó kémcső 5a megvezetőperselyt tartalmazó 5 kémcsőtetővel van lezárva.

A találmány szerinti berendezésnek célszerűen +45 fokban elfordítható 8 dönthető feje van.

A berendezésnek olyan 2 pipettája van, amely egyszer használatos vagy újra tisztítható.

A 3 kémcső, melynek vége 3a szűrővel záródik, átlátszó sav- és lúgálló műanyagból vagy üvegből van kialakítva. A 3a szűrő célszerűen teflon.

Az 5a megvezetőpersely célszerűen szintén teflonból van kialakítva.

A találmány tárgya berendezés biológiai szövetminták festésére, amelynek 1 reagenstartálya, ehhez kapcsolódó 2 pipettája, továbbá mintatartó 3 kémcsőve van. A 13 vezérlőelektronikával irányítható olyan 6 robottal rendelkezik, amelynek mozgatásra szolgáló 7 Y tengelye, 11 X tengelye és 6 Z tengelye van, amelyekhez egy, a tetején 12a befogadónylásokkal ellátott – a 9 mintatartó egységet befogadó – 12 hűthető-fűthető rázóasztal és egy – a 9 mintatartó egységet befogadó – 10 dönthető asztal kapcsolódik, míg a 7 Y tengely egy 8 dönthető fejfel van összekapcsolva, a 8 dönthető

fejhez csatlakoztatható a 9 mintatartó egység, melynek olyan 1 reagenstartálya van, amely egy 2 pipettában végződik, és a 2 pipetta be van vezetve egy alul 3a szűrővel záródó 3 kémcsőbe, amely egy 5a megvezetőperselyen keresztül benyúlik egy 4 lapos fenekű mintatartó kémcsőbe, és a 4 lapos fenekű mintatartó kémcső 5a megvezetőperselyt tartalmazó 5 kémcsőtetővel van lezárva.

A találmány tárgya továbbá eljárás biológiai szövetminták festésére, célszerűen lebegtetett fázisban, a fenti – 1 reagenstartállyal, ehhez kapcsolódó 2 pipettával, továbbá mintatartó 3 kémcsővel ellátott – berendezés alkalmazásával.

Az eljárást az jellemzi, hogy 9 mintatartó egységet úgy állítjuk össze, hogy 1 reagenstartálynak 2 pipettája egy alul 3a szűrővel végződő 3 kémcsőbe nyúljon, és a 3 kémcsövet pozicionáltan bevezetjük egy 4 lapos fenekű mintatartó kémcsőbe, a 3 kémcsőbe betöltjük a feldolgozandó biológiai mintát, és behelyezzük a 9 mintatartó egységbe, a 9 mintatartó egységet az adott pozícióban lévő 12 rázóasztal 12a befogadónylásába helyezzük, első fokozatban mosófolyadékot adagolunk felülről a 2 pipettán keresztül a 4 lapos fenekű mintatartó kémcsőbe, majd a 12 rázóasztalt körpályán rázatva inkubálunk, és ezután a beadagolt mosófolyadékot a 2 pipettával leszívjuk, és ezt a fokozatot egyszer vagy többször megismételjük, majd a követő fokozatban reagenst adagolunk felülről a 2 pipettán keresztül a 4 lapos fenekű mintatartó kémcsőbe, majd a 12 rázóasztalt körpályán rázatva inkubálunk, ezután a reagenst a 2 pipettával leszívjuk, és ezt a fokozatot egyszer vagy többször megismételjük, a leszívási lépésnél úgy járunk el, hogy a mosófolyadék vagy reagensfolyadék 80–95%-nyi mennyiségét a 4 lapos fenekű mintatartó kémcső függőleges helyzetében szívjuk le a 2 pipettával a 3a szűrővel lezárt 3 kémcsővön keresztül, majd a folyadék maradék hányadát, a 10 dönthető asztalba helyezett, célszerűen +45 fokban, megdöntött 4 lapos fenekű mintatartó kémcsőből távolítjuk el a 2 pipettával, ezután a leszívást a 4 lapos fenekű mintatartó kémcső, ellenkező irányban, célszerűen –45 fokkal megbillentett helyzetében folytatjuk, miközben a 2 pipettát mozgatjuk, célszerűen süllyesztjük, a 4 lapos fenekű mintatartó kémcsőben, ezután a 4 lapos fenekű mintatartó kémcsövet ismét függőleges helyzetbe állítjuk, és visszaszállítjuk a 12 rázóasztalban lévő 12a befogadónylásába.

Egy előnyös eljárás változat esetén a 2 pipettával 0,3–0,7 mm-re közelítjük meg a 4 lapos fenekű mintatartó kémcső alját, és a megtapadt folyadékfilmet összefüggő réteggé szedjük le.

A találmány szerinti berendezés és eljárás alkalmas a vizes fázisú biológiai festési eljárások (elsősorban immunhisztokémiai festések) automatizált kivitelezésére.

A találmány szerinti berendezés és eljárás előnye a következők.

A lebegtetett fázisban történő festés automatizálható.

Rendkívül kevés – akár 10 mikroliternyi – antitestoldatot használunk metszetenként.

Gyakorlatilag minimális veszteséggel visszamentjük a festés során fel nem használt primer antitestet.

Speciális anyagból kialakított edények, elszívórendszer és elrendezésük biztosítja, hogy az antitestek nem tapadnak ki a készülék alkatrészeihez.

A berendezés teljesen automatizáltá teszi az oldatok felhasználását, még az egyes reakcióhoz szükséges frissen elkészített reagensek keverék-előállítására is képes.

Lehetővé teszi a festési eljárások pontos reprodukálását, pontosan mérhetővé és összehasonlíthatóvá teszi azokat.

Gyorsabbá teszi a festési eljárást.

A készülékbe integrált speciális fűtési-hűtési-sterilizációs lépések eredményeképpen lehetséges az immunfestés egy éjszaka alatti gyors elvégzése.

Egy speciálisan kialakított kád és szivattyú segítségével lehetővé válik a már megfestett metszetek tárgylemezre történő gyors felhúszása, ami szintén többórás időmegtakarítást jelent festésenként.

Lehetséges a DAB-, NiDAB-reagensek adagolásának pontos időzítése, megfelelő elkészítése, és ezen igen agresszív reagensek biztonságos használata.

Új, a jelenlegieknél bonyolultabb, festési eljárások megvalósíthatók eljárásunkkal. A találmány szerinti berendezés kompakt méretű (mintegy egy printer méretű), és a speciális vezérlés miatt csendes üzemű.

Több festési protokollt is le lehet tárolni a berendezésbe PC-s összeköttetés révén, illetve interneten keresztül lehetőség nyílik a legújabb protokollok betöltésére.

Cserélhető blokk segítségével alkalmassá válik a berendezés lebegtetett technika mellett rögzített metszetek festésére, illetve egyéb biológiai minták automatizált feldolgozására (például northern blot).

Automatikusan tisztítható.

Beépített hűtés-, fűtésrendszere alapján egyrészt biztosítja az azonos reakció-hőmérsékletet, másrészt lehetővé teszi a reagensoldatok folyamatos tárolását is.

A találmány szerinti berendezést az alábbi ábrákon mutatjuk be.

Az 1. ábra olyan axonometrikus ábra, amely a berendezés kapcsolási elrendezését mutatja be.

A 2. ábrán a mintatartó egység előlnézeti rajza látható függőleges helyzetben.

A 2a. ábrán a +45 fokban megdöntött mintatartó egység előlnézeti rajza látható.

A 2b. ábrán az ellenkező irányban, –45 fokban, megdöntött mintatartó egység előlnézeti rajzát mutatjuk be.

A 3. ábra egy olyan axonometrikus rajz, amely a kémcső elhelyezését mutatja be a rázóasztalon.

A 4. ábrán a vezetőpersely előlnézeti metszeti rajza látható.

Az 5. ábrán a robot tengelyek axonometrikus rajza látható.

Az 1. ábrán látható, hogy a berendezés 13 vezérlőelektronikával irányítható olyan 6 robottal rendelkezik,

amelynek mozgatásra szolgáló 7 Y tengelye, 11 X tengelye és 6a Z tengelye van, amelyekhez egy, a tetején 12a befogadóníylásokkal ellátott, hűthető-fűthető 12 rázóasztal és egy 10 dönthető asztal kapcsolódik, míg az 7 Y tengely egy 8 dönthető fejfel van összekapcsolva. A 8 dönthető fejhez csatlakozik a 9 mintatartó egység, amelynek olyan 1 reagenstartálya van, amely egy 2 pipettában végződik, és amely el van látva egy 3a szűrővel végződő 3 kémcsővel, és a 3a szűrővel végződő 3 kémcső egy 5a megvezetőperselyen keresztül be van vezetve egy 4 lapos fenékű mintatartó kémcsőbe, amely az 5a megvezetőperselyt tartalmazó 5 kémcsőtetővel van lezárva.

A találmány szerinti berendezésnek célszerűen ± 45 fokban elfordítható 8 dönthető feje van.

A berendezésnek olyan 2 pipettája van, amely egyszerűen használatos vagy újra tisztítható.

A 3 kémcső, melynek vége 3a szűrővel záródik, célszerűen átlátszó sav- és lúgálló műanyagból vagy üvegből van kialakítva.

A 3a szűrő célszerűen teflonból készül.

Az 5a megvezetőpersely célszerűen szintén teflonból van kialakítva.

A 2. ábrán látható a 9 mintatartó egység előlnézeti rajza, amelyen a 9 mintatartó egységet normálhelyzetben, függőleges helyzetben ábrázoljuk.

A 9 mintatartó egység az 1 reagenstartályból áll, amely a 2 pipettával végződik, amely a 3 kémcsőbe nyúlik be, amelynek vége a 3a szűrővel van lezárva.

A 3 kémcső az 5a megvezetőperselyen keresztül pozicionálva benyúlik a 4 lapos fenékű mintatartó kémcsőbe.

Ennek teteje az 5a megvezetőpersellyel ellátott 5 kémcsőtetővel záródik.

Az „s” jellel a metszetek elhelyezkedési helyzetét mutatjuk be a 4 lapos fenékű mintatartó kémcsőben.

A 9 mintatartó egység fenti helyzetében szívható le a folyadék túlnyomó része.

A 2a. ábrán a 9 mintatartó egységet mutatjuk be a függőlegeshez képest $+45$ fokban megdöntve.

Látható, hogy az „s” metszetek elhelyezkedési helyzete olyan, hogy azok a 4 lapos fenékű mintatartó kémcső egyik sarkában helyezkednek el.

A 2 pipetta, a 3a szűrővel rendelkező 3 kémcsőbe lesüllyesztve foglal helyet.

A körpályán történő rázás, a metszetek sokféle inkubálási megoldása közül a legkíméletesebb és a legtakarékosabb az anyagfelhasználás szempontjából is.

Példa

Az immunhisztokémiás festés első lépéseként a 3 kémcsövet kiemeljük, és betöltjük a feldolgozandó biológiai mintát.

Ezután a 3 kémcsövet visszahelyezzük a 9 mintatartó egységbe, amelyet behelyezünk a 12 rázóasztal 12a befogadóníylásába.

A 12 rázóasztal hűthető és fűthető.

A hűtést Peltier-elemes (hűtőcellás) hűtéssel biztosítjuk.

Ekkor a 12 rázóasztal egy adott pozícióban van.

A festési reakció felépítése az alábbi.

START-M-M-M-R-M-M-M-R- -----M-M-M-R-STOP.

Az M lépés a következőkből áll: először anyagbetáplálás (mosófolyadék), majd inkubálás, ezután leszívás.

Az R lépés a következőkből áll: először anyagbetáplálás (reagens), majd inkubálás, ezután leszívás.

Vannak olyan eljárások is, ahol két reagens egymásra épül, így az előző reageneket nem szabad kimosni, ekkor a reagensadagolások között kimarad az M lépés.

Az anyagbetáplálás úgy történik, hogy a 6 robot az 1 reagenstartályból a 2 pipettán keresztül felszívja a kívánt reagenst vagy mosófolyadékot, majd a 3a szűrőn keresztül a 3 kémcsőbe tölti.

Ennek során a 3a szűrőre tapadt metszetek egy része leválik, a maradék metszet a 12 rázóasztal beindítása után válik le a 3a szűrőről, amely azután kiemelhető teljesen vagy a folyadék felszínéig, ahol már mechanikailag nem sérti a metszeteket rázás közben.

Az eljárás során a szűrőt a kiszáradás előtt be kell meríteni a folyadékba.

A veszélyes DAB-reagenst a 8 dönthető fej segítségével nem a 3a szűrőn keresztül, hanem egy külön nyíláson keresztül is be lehet tölteni.

Ez a szűrő élettartamát meghosszabbítja.

A leszívási lépésnél úgy járunk el, hogy a mosófolyadék vagy reagens nagyobb hányadát a 4 lapos fenékű mintatartó kémcső függőleges helyzetébe szívjuk le, míg ennek maradék részét a 10 dönthető asztalra helyezett, $+45$ fokban megdöntött 4 lapos fenékű mintatartó kémcsőből eltávolítjuk.

Ezután a 4 lapos fenékű mintatartó kémcsövet ellenkező irányban, -45 fokban megdöntjük, és közben a 2 pipettát sülljesztjük.

Ekkor távolítjuk el a folyadék még meglévő mennyiségét és a metszetekre tapadt folyadékfilmet.

Ezután a 4 lapos fenékű mintatartó kémcsövet ismét függőleges helyzetbe állítjuk, majd a 6 robottal visszazsúllítjuk a 12 rázóasztalban lévő 12a befogadóníylásba.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Berendezés biológiai szövetminták festésére amelynek reagenstartálya (1), ehhez kapcsolódó pipettája (2), továbbá mintatartó kémcsője (3) van, *azzal jellemelve*, hogy vezérlőelektronikával irányítható (13) olyan robottal (6) rendelkezik, amelynek mozgatásra szolgáló Y tengelye (7), X tengelye (11) és Z tengelye (6) van, amelyekhez egy, a tetején befogadóníylásokkal (12a) ellátott – a mintatartó egységet (9) befogadó – hűthető-fűthető rázóasztal (12) és egy – a mintatartó egységet (9) befogadó – dönthető asztal (10) kapcsolódik, míg az Y tengely (7) egy dönthető fejfel (8) van összekapcsolva, a dönthető fejhez (8) csatlakoztatható a mintatartó egység (9), melynek olyan reagenstartálya (1) van, amely egy pipettában (2) végződik, és a pipetta (2) be van vezetve egy alul szűrővel (3a) záródó kém-

csőbe (3), amely egy megvezetőperselyen (5a) keresztül benyúlik egy lapos fenekű mintatartó kémcsőbe (4), és a lapos fenekű mintatartó kémcső (4) megvezetőperselyt (5a) tartalmazó kémcsőtetővel (5) van lezárva.

2. Az 1. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy ± 45 fokban elfordítható dönthető feje (8) van.

3. Az 1. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy egyszer használatos pipettája (2) van.

4. Az 1. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy kémcsőve (3), melynek vége szűrővel (3a) záródik, átlátszó sav- és lúgálló műanyagból vagy üvegből van kialakítva.

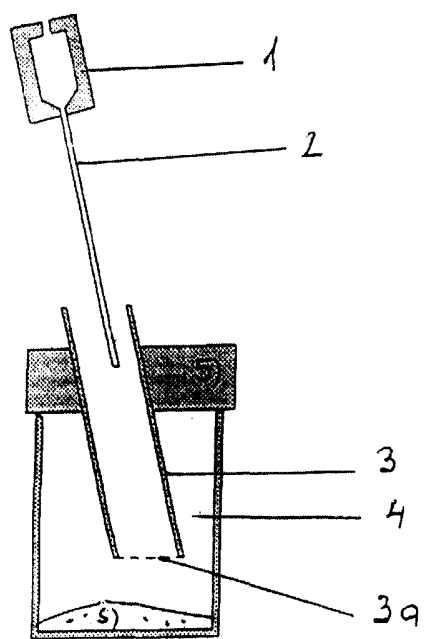
5. Az 1. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy szűrője (3a) teflonból van kialakítva.

6. Az 1. igénypont szerinti berendezés, *azzal jellemezve*, hogy megvezetőperselye (5a) teflonból van kialakítva.

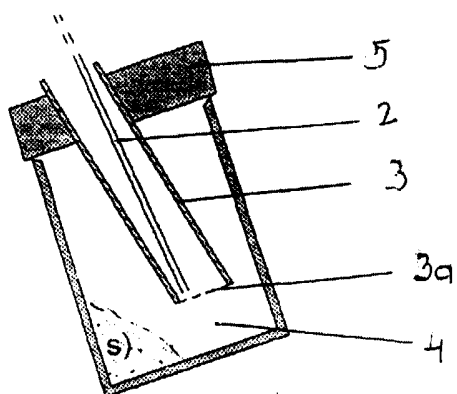
7. Eljárás biológiai szövetminták festésére, célszerűen lebegtetett fázisban, az 1. igénypont szerinti – reagenstartállyal, ehhez kapcsolódó pipettával (2) és mintatartó kémcsővel (3) ellátott – berendezés alkalmazásával, *azzal jellemezve*, hogy mintatartó egységet (9) úgy állítjuk össze, hogy reagenstartályának (1) pipettája (2) egy alul szűrővel (3a) végződő kémcsőbe (3) nyúljon, és a kémcsövet (3) pozicionáltan bevezetjük egy lapos fenekű mintatartó kémcsőbe (4), a kémcső (3) kiemelése után a lapos fenekű mintatartó kémcsőbe (4) betöltjük a feldolgozandó biológiai mintát, a kémcsövet (3) behelyezzük a mintatartó egységbe (9), és a mintatartó egységet (9) az adott pozícióban lévő

rázóasztal (12) befogadóníllásába (12a) helyezzük, első fokozatban mosófolyadékot adagolunk felülről a pipettán (2) keresztül a lapos fenekű mintatartó kémcsőbe (4), majd a rázóasztalt (12) körpályán rázatva inkubálunk, és ezután a beadagolt mosófolyadékot a pipettával (2) leszívjuk, és ezt a fokozatot egyszer vagy többször megismételjük, majd a követő fokozatban reagenst adagolunk felülről, pipettán (2) keresztül, a lapos fenekű mintatartó kémcsőbe (4), majd a rázóasztalt (12) körpályán rázatva inkubálunk, ezután a reagenst a pipettával (2) leszívjuk, és ezt a fokozatot egyszer vagy többször megismételjük, a leszívási lépésnél úgy járunk el, hogy a mosófolyadék vagy reagens folyadék 80–95%-nyi hányadát a lapos fenekű mintatartó kémcső (4) függőleges helyzetében szívjuk le a pipettával (2) a szűrővel (3a) lezárt kémcsővön (3) keresztül, majd a folyadék maradék hányadát, a dönthető asztalba (10) helyezett, célszerűen $+45$ fokban megdöntött lapos fenekű mintatartó kémcsőből (4) távolítjuk el a pipettával (2), ezután a leszívást a lapos fenekű mintatartó kémcső (4), ellenkező irányban, célszerűen -45 fokkal megbillentett helyzetében folytatjuk, miközben a pipettát (2) mozgatjuk, célszerűen süllyesztjük, a lapos fenekű mintatartó kémcsőben (4), ezután a lapos fenekű mintatartó kémcsövet (4) ismét függőleges helyzetbe állítjuk, és visszaszállítjuk a rázóasztalban (12) lévő befogadóníllásába (12a).

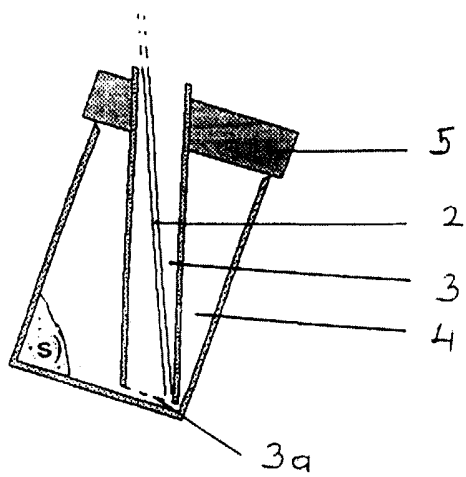
8. A 7. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a pipettával (2) 0,3–0,7 mm-re közelítjük meg a lapos fenekű mintatartó kémcső (4) alját, és a megta-
padt folyadékfilmet összefüggő réteggént leszívjuk.



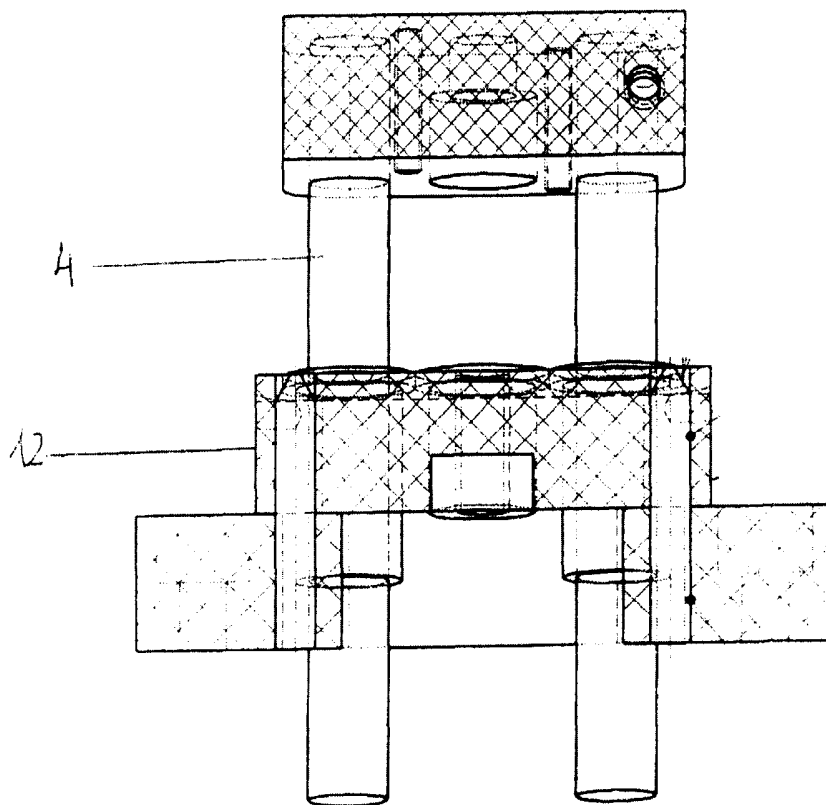
2. ábra



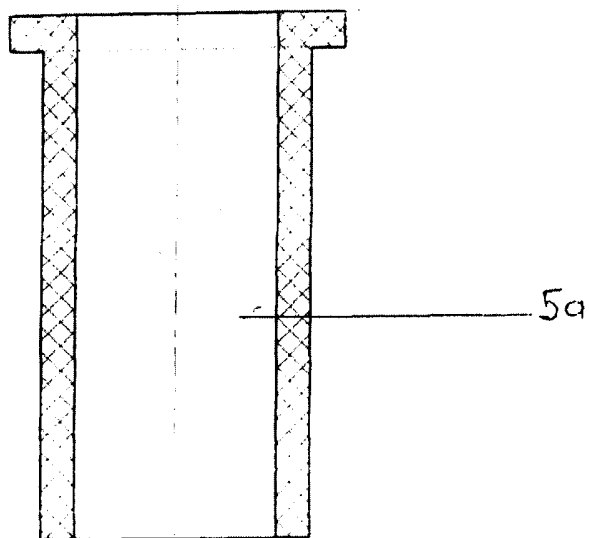
2a. ábra



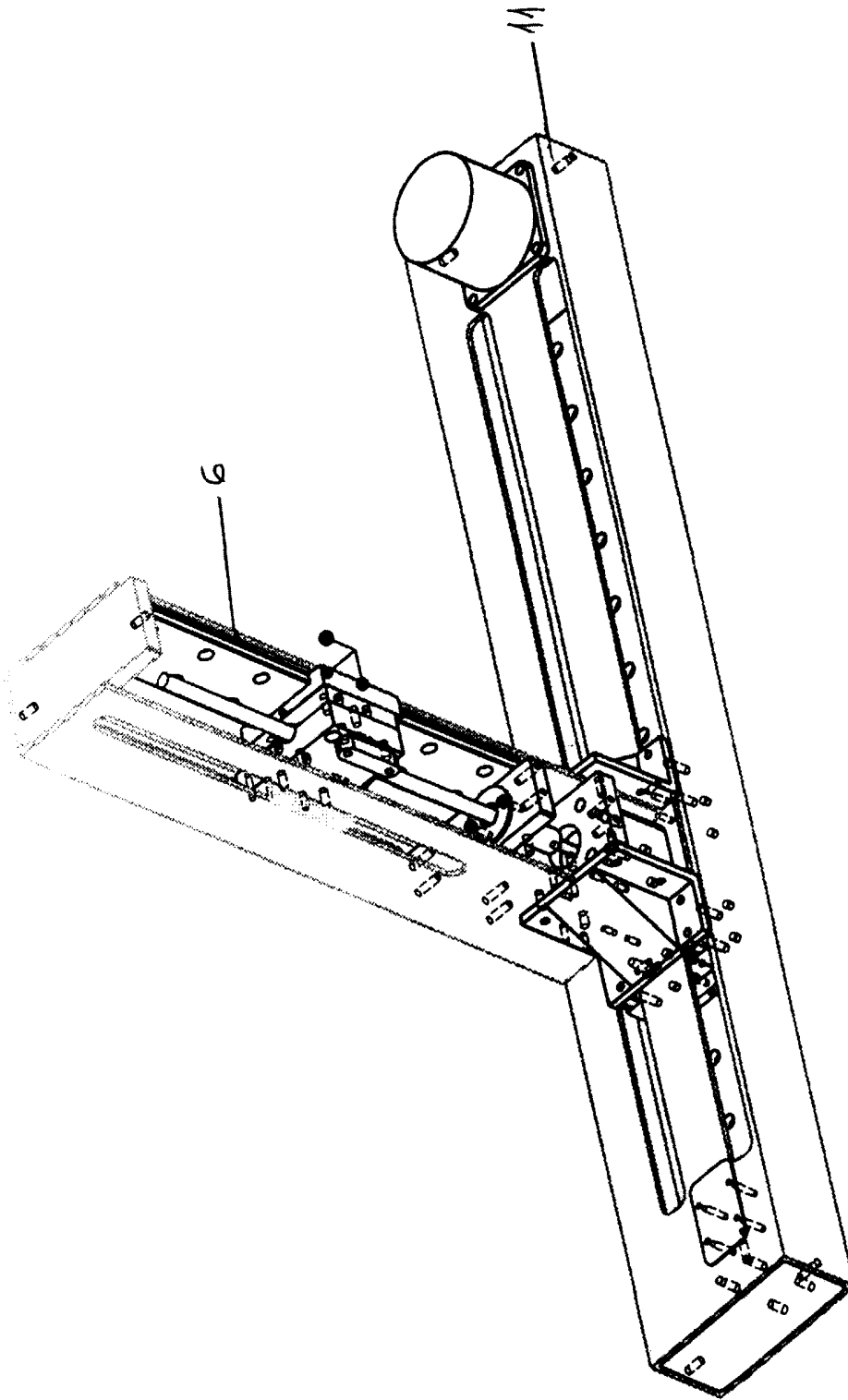
2b. ábra



3. ábra



4. ábra



5. ábra