

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО О ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**ОСНОВНЫЕ ВОПРОСЫ
КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ**

Учебно-методическое пособие

Владикавказ, 2017

Основные вопросы клинической лабораторной диагностики:
Учебно-методическое пособие / А.Е. Гурина, А.Б. Плиева. – Владикавказ:
2017. – 182 с.

Авторы:

Гурина А.Е. - к.м.н., доцент, заведующая кафедрой биологической химии
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Плиева А.Б. - ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО СОГМА
Минздрава России, заведующая клинко-диагностической лабораторией
Клинической больницы ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Рецензенты:

Гильманов А.Ж. - д.м.н., профессор, заведующий кафедрой лабораторной
диагностики ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский
университет» Минздрава России

Дзеранова Р.Г. - к.м.н., заведующая отделом иммунологии клинко-
диагностической лаборатории ГБУЗ "Республиканская детская клиническая
больница" Минздрава РСО-Алания (ГБУЗ РДКБ)

В учебно-методическом пособии представлены современные данные лабораторной медицины и освещены основные разделы клинической лабораторной диагностики. Каждый раздел содержит теоретические вопросы, справочный материал, достаточно подробно написаны методики, согласно которым производятся лабораторные исследования, хорошо представлены основные подходы для изучения лабораторных исследований. В каждом разделе имеется перечень вопросов и тестовых заданий для самостоятельной работы. Для лучшего усвоения изучаемого материала, некоторые разделы содержат ситуационные задачи.

Структура учебного пособия составлена таким образом, что помогает изучить методы клинической лабораторной диагностики и получить современные данные о значении лабораторных исследований в практической медицине

Предназначено для студентов 3-4 курса, обучающихся по специальности «Медико-профилактическое дело»

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ПРЕДИСЛОВИЕ	9
ОСНОВНЫЕ ВОПРОСЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ	10
Раздел 1. Основы организации лабораторной службы	10
Занятие №1. Нормативная документация.....	10
Занятие №2. Виды контроля качества в клинико-диагностической лаборатории.....	18
Занятие №3. Оснащение КДЛ. Аппаратура, правила эксплуатации, принцип работы.....	23
Раздел 2. Лабораторная гематология	35
Занятие №1. Понятие о гемопоэзе. Схема кроветворения.....	35
Занятие №2. Микроскопическое исследование мазка костного мозга. Цитохимические реакции.....	44
Раздел 3. Физико-химические и микроскопические исследования биологического материала	52
Занятие №1. Клинический анализ мочи, физико-химические свойства мочи, микроскопическое исследование.....	52
Занятие №2. Исследование мочи по Нечипоренко. Лабораторные тесты на повреждение нефрона (проба по Зимницкому).....	58
Занятие №3. Основные методы получения желудочного и дуоденального содержимого.....	63
Занятие №4. Состав панкреатического и кишечного секрета. Клиническое исследование кала.....	69
Занятие №5. Физико-химические свойства мокроты, микроскопическое исследование.....	73
Занятие №6. Физико-химические свойства ликвора, микроскопическое исследование.....	77

Занятие №7. Физико-химические свойства выпотных жидкостей, микроскопическое исследование.....	83
Занятие №8. Инфекции, передающиеся половым путем.....	88
Раздел 4. Лабораторная диагностика паразитарных болезней.....	95
Занятие №1. Гельминтозы и кишечные протозоозы.....	95
Занятие №2. Тема: Лабораторная диагностика малярии.....	101
Раздел 5. Биохимические методы исследования.....	106
Занятие №1. Белковый обмен. Определение мочевины, креатинина унифицированными методами.....	106
Занятие №2. Методы исследования углеводного и липидного обмена.....	112
Занятие №3. Методы исследования пигментного обмена.....	122
Занятие №4. Методы исследования витаминов.....	129
Раздел 6. Лабораторная диагностика неотложных состояний.....	132
Занятие №1. Методы исследования кислотно-щелочного состояния.	132
Раздел 7. Основные звенья системы гемостаза.....	139
Занятие №1. Лабораторные методы оценки процессов свертывания и фибринолиза. Особенности при гипо- и гиперкоагуляции. Коагулограмма. Клинико-диагностическое значение.....	139
Раздел 8. Иммунологические методы исследования в КДЛ.....	151
Занятие №1. Определение группы крови по системе АВО. Клиническая иммунология, оценка иммунного статуса.....	151
Занятие №2. Методы иммуноферментного анализа. ИФА исследования гормонов щитовидной железы, гормонов половой сферы и инфекций, передающихся половым путем. Диагностика вирусных гепатитов.....	160
Раздел 9. Цитологические исследования.....	168
Занятие №1. Описание морфологии клеточных элементов. Цитограмма органов и тканей в норме.....	168

Раздел 10. Методы бактериологических исследований. Принцип работы при выполнении анализа в бактериологической лаборатории. Методы молекулярно-генетического исследования.	
Принцип работы при выполнении ПЦР анализа.....	173
Занятие №1. Методы бактериологических исследований. Методы молекулярно-генетического исследования.....	173
ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ.....	178
ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ.....	186

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

АДФ	- аденозидифосфат
АДГ	- антидиуретический гормон
АЛТ	- аланинаминотрансфераза
АСТ	- аспаратаминотрансфераза
АТФ	- аденозинтрифосфат
АИГА	- аутоиммунная гемолитическая анемия
АТ III	- антитромбин III
АФА	- антифосфолипидные антитела
АФС	- антифосфолипидный синдром
АЧТВ	- активированное частично тромбопластиновое время (синоним – АПТВ)
БОЕ-Э	- бляшкообразующая единица эритропоэтина
ГМ-КСФ	- гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
Г-6-ФДГ	- глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа
ДВС	- диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ИЛ	- интерлейкин
ИФА	- иммуноферментный анализ
ИГА	- иммунная гемолитическая анемия
ИЛ	- интерлейкин
ИППП	- инфекции, передающиеся половым путем
КОЕ-Э	- колониобразующая единица эритропоэтина
КСФ	- колониестимулирующий фактор
КФК	- креатинфосфокиназа
КУМ	- кислотоустойчивые бактерии
ЛПНП	- липопротеиды низкой плотности

ЛПОНП	- липопротеиды очень низкой плотности
ЛДГ	- лактатдегидрогеназа
ЛПВП	- липопротеиды высокой плотности
МАЛ	- метаболический алкалоз
МАТ	- моноклональные антитела
М-КСФ	- макрофагальный колониестимулирующий фактор
МНО	- международное нормализованное отношение
МПО	- миелопероксидаза
МИЧ	- международный индекс чувствительности
ОЛЛ	- острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ	- острый миелоидный лейкоз
ОСТ	- отраслевой стандарт
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ПВ	- протромбиновое время
П S	- протеин S
П С	- протеин С
РАЛ	- респираторный алкалоз
РАЦ	- респираторный ацидоз
РГА	- реакция гемагглютинации
РИФ	- реакция иммунофлюоресценции
РПГА	- реакция пассивной гемагглютинации
РФМК	- растворимые фибрин-мономерные комплексы
РФ	- ревматоидный фактор
РЭС	- ретикулоэндотелиальная система
СКВ	- системная красная волчанка (синоним –SLE)
ТВ	- тромбиновое время

ТФР	- трансформирующий фактор роста
ТФ	- тканевой фактор
ТСR	- Т-клеточный рецептор
TdT	- терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза
ТЭЛА	- тромбоэмболия легочной артерии
ф. VIII:C	- коагуляционная активность фактора VIII
ф. VII	- фактор коагуляции VII
ф. VIIa	- активированный фактор коагуляции VII
ФНО	- фактор некроза опухолей
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат
ЭФП	- электрофоретическая подвижность

ПРЕДИСЛОВИЕ

Реформа здравоохранения в России и развитие новых экономических отношений в медицинской практике требуют коренного совершенствования лечебно-профилактической помощи населению, повышения качества диагностики заболеваний. Важное место среди диагностических служб занимает клиническая лабораторная диагностика, поставляющая практическому здравоохранению 70-80 % объема диагностической информации, необходимой для принятия правильного клинического решения. Клиническая лабораторная диагностика - медицинская научная дисциплина, предметом которой является изучение закономерностей взаимосвязей между физиологическим и патологическим состоянием организма, с одной стороны, и изменением состава компонентов его клеток и биологических жидкостей - с другой; разработка методов объективного исследования клеточного и химического состава тканей, биологических жидкостей (клиническая аналитика) и использование сведений, полученных с помощью рекомендованных методов, для выявления отклонений от нормы; установление диагноза, прогноза заболеваний, оценка эффективности проводимого лечения, профилактики расстройств здоровья.

В учебно-методическом пособии представлены практически все разделы лабораторной медицины: лабораторная гематология, клинические исследования биологического материала, биохимические исследования, иммунологические исследования, освещены разделы паразитологии, цитологических, бактериологических и молекулярно-генетических исследований. Нашли свое отражение нормативные документы, регламентирующие деятельность лабораторий. Изучение методов лабораторной диагностики необходимо, как в профилактической медицине (оценка состояния здоровья), так и в практикующем здравоохранении (диагностика и дифференциальная диагностика, динамика и прогноз заболевания, определение достижения результата лечения и т. д.).

Учебно-методическое пособие способствует получению определенного объема знаний для правильного выбора лабораторного исследования и интерпретации результатов исследования.

Раздел 1. «ОСНОВЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ».

Занятие №1

Тема: Нормативная документация

I. Научно-методическое обоснование темы:

Структура лабораторной службы соответствует потребностям учреждений здравоохранения в лабораторной диагностике и мониторинге за лечением больных, обеспечивая повседневные запросы лечащих врачей в наиболее распространенных исследованиях (клинико-диагностическая лаборатория общего типа), экстренном их выполнении в urgentной практике (экспресс-лаборатории), а также серийное производство наиболее сложных исследований (специализированные лаборатории).

Клиническая лабораторная диагностика включает в себя клиническую химию (биохимия), клиническую гематологию, общеклинические методы исследования, клиническую цитологию, иммунологию, микробиологию, клиническую лабораторную паразитологию и токсикологию.

Осуществляются предусмотренные законодательными и нормативными актами меры по лицензированию лечебно-профилактических учреждений и их клинико-диагностических лабораторий и сертификации специалистов (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 25 декабря 1997 г. № 380 "О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации" и приложение к данному приказу «Положение о клинико-диагностической лаборатории лечебно-профилактического учреждения и централизованной клинико-диагностической лаборатории»).

Клинико-диагностическая лаборатория (в дальнейшем - КДЛ) является диагностическим подразделением лечебно-профилактического учреждения (ЛПУ) и создается на правах отделения.

Централизованные КДЛ создаются по указанию соответствующих территориальных органов управления здравоохранением для выполнения как

различных видов исследований, так и одного их вида: биохимические, иммунологические, цитологические, микробиологические и другие исследования (**специализированные лаборатории**).

Организационная структура и порядок финансирования централизованных КДЛ устанавливается органом управления здравоохранением с учетом выполняемых ими задач и в соответствии с договором об участии лабораторий в осуществлении территориальных медицинских программ.

КДЛ, независимо от подчиненности и формы собственности, должна иметь *сертификат* на избранный вид деятельности.

Руководство КДЛ осуществляет заведующий, назначаемый и освобождаемый от должности руководителем учреждения здравоохранения в установленном порядке.

Деятельность КДЛ регламентируется соответствующими нормативными документами.

Штаты КДЛ устанавливаются в соответствии с действующими нормативными документами с учетом местных условий или рассчитываются в соответствии с объемом работы.

Оснащение КДЛ осуществляется в соответствии с профилем и уровнем лечебно-профилактического учреждения.

КДЛ размещается в специально оборудованных помещениях, полностью соответствующих требованиям правил по устройству, эксплуатации и техники безопасности.

Нагрузка персонала определяется задачами лаборатории, положением о его функциональных обязанностях, а также расчетными нормами времени на проведение лабораторных исследований.

Основными задачами КДЛ являются:

- проведение клинических лабораторных исследований в соответствии с профилем ЛПУ (общеклинических, гематологических, иммунологических, цитологических, биохимических, микробиологических и других, имеющих

высокую аналитическую и диагностическую надежность) в объеме согласно заявленной номенклатуре исследований при аккредитации КДЛ в соответствии с лицензией ЛПУ. Объем выполняемых исследований не должен быть ниже минимального объема, рекомендуемого для ЛПУ данной мощности;

- внедрение прогрессивных форм работы, новых методов исследований, имеющих высокую аналитическую точность и диагностическую надежность;

- повышение качества лабораторных исследований путем систематического проведения внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований и участия в программе Федеральной системы внешней оценки качества (в дальнейшем - ФСВОК);

- оказание консультативной помощи врачам лечебных отделений в выборе наиболее диагностических информативных лабораторных тестов и трактовке данных лабораторного обследования больных;

- обеспечение клинического персонала, занимающегося сбором биологического материала, детальными инструкциями о правилах взятия, хранения и транспортировки биоматериала, обеспечивающими стабильность образцов и надежность результатов. Ответственность за точное соблюдение этих правил клиническим персоналом несут руководители клинических подразделений;

- повышение квалификации персонала лаборатории;

- проведение мероприятий по охране труда персонала, соблюдение техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима в КДЛ;

- ведение учетно-отчетной документации в соответствии с утвержденными формами.

В соответствии с указанными задачами *КДЛ осуществляет:*

- освоение и внедрение в практику методов клинической лабораторной диагностики, соответствующих профилю и уровню лечебно-профилактического учреждения;

- проведение клинических лабораторных исследований и выдачу по их результатам заключений.

КДЛ имеет право:

- проводить на договорной основе лабораторные исследования для других ЛПУ;

- участвовать в других системах внешней оценки качества клинических лабораторных исследований;

- принимать участие в научных разработках, проводимых с использованием полученных в лаборатории данных (результаты исследований, полученные в лаборатории, являются ее интеллектуальной собственностью и не могут быть использованы без ее согласия).

Особое значение придается выполнению требований противозидемического режима, инструкции составлены на основании приказов МЗ СССР №408, №720, №770 О введении в действие ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы».

- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 25 декабря 1997 г. №380 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 7 февраля 2000 г. № 45 "О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации";

- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26 января 1994 г. № 9 "О совершенствовании работы по внешнему контролю качества клинических лабораторных исследований";
- Приказ Минздравмедпрома РФ от 3 мая 1995 г. № 117 "Об участии клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений России в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований
- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 26 мая 2003 г. № 220 "Об утверждении отраслевого стандарта "Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов"

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Основные регламентирующие приказы и инструкции, применяемые в КДЛ.
2. Структуру лабораторной службы.
3. Оснащение КДЛ.
4. Виды деятельности КДЛ
5. Учетно-отчетную документацию КДЛ

Студент должен уметь:

1. Правильно написать номера приказов, регламентирующих деятельность КДЛ.
2. Написать, какие приказы используются в лаборатории при проведении санитарно-эпидемиологического режима.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Приказы, регламентирующие деятельность КДЛ.
2. Приказы, на основании которых составлены инструкции противэпидемического режима в КДЛ.

3. Приказы, на основании которых проводится контроль качества в КДЛ.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Ознакомление с деятельностью лабораторной службы в клинической лаборатории КБ СОГМА.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-Б; 2-А; 3-Б; 1-А; 3А, 2-Б.

- | | |
|-----------------|-----------------------|
| 1) приказ № 380 | А) положение о КДЛ |
| 2) приказ № 408 | Б) санэпидрежим в КДЛ |
| 3) приказ №720 | |

2. Напишите права КДЛ.

3. Напишите, какие мероприятия проводятся по охране труда персонала в КДЛ?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какой приказ является основополагающим в деятельности лаборатории?

2. Перечислите приказы санитарно-эпидемиологического режима?

3. Какие разделы включает в себя клиническая лабораторная диагностика?

4. На результаты анализа могут повлиять следующие факторы внелабораторного характера:

- 1) физическое и эмоциональное напряжение больного
- 2) циркадные ритмы, влияние климата
- 3) положение тела
- 4) прием медикаментов
- 5) все перечисленное

5. Основными задачами клинико-диагностической лаборатории являются:

- 1) обеспечение клинических лабораторных исследований в соответствии с профилем ЛПУ
- 2) внедрение прогрессивных форм работы, новых методов
- 3) оказание консультативной помощи врачам лечебных отделений в трактовке лабораторных данных
- 4) повышение квалификации персонала лаборатории
- 5) проведение мероприятий по охране труда персонала, соблюдение техники безопасности
- б) все перечисленное верно

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	30 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Ознакомление с деятельностью КДЛ		30 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Какое минимальное число исследований для контроля качества результатов должно быть сделано в лаборатории?

2. Какая аппаратура используется при проведении биохимических и гематологических исследований?

3. В сопроводительном бланке к материалу, поступающему в лабораторию, должно быть указано следующее, кроме:

- 1) Ф.И.О. больного (№ истории болезни)
- 2) вид исследования
- 3) предполагаемый диагноз
- 4) фамилия лечащего врача
- 5) метод исследования

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: Том I / под ред. В. В. Долгов, В. В. Меньшиков. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013, 923 стр.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.
3. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. А.Луговская, М.Е.Почтарь, В.В. Долгов. – М. – Тверь: ООО Издательство «Триада» , 2008. – 112 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - Т1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.
3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 25 декабря 1997 г. № 380 "О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации"

Занятие №2

Тема: Виды контроля качества в клинико-диагностической лаборатории.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Виды контроля качества в КДЛ.

Контроль качества клинических лабораторных исследований существует в двух взаимосвязанных формах: внутрилабораторного контроля качества и внешней оценки качества. Внешняя оценка качества лабораторных исследований в медицинских организациях Российской Федерации регламентируется соответствующими нормативными документами. Внутрилабораторный контроль качества клинических лабораторных исследований осуществляется сотрудниками каждой клинико-диагностической лаборатории с целью поддержания стабильности аналитической системы и регламентируется нормативными документами медицинской организации.

Цель внутрилабораторного контроля качества – выявление и устранение отклонений от стабильного выполнения теста в лаборатории, т. е. выявление и устранение недопустимых аналитических ошибок. Порядок проведения внутрилабораторного контроля качества состоит из трех последовательных стадий:

Стадия 1: оценка сходимости результатов измерения.

Стадия 2: оценка воспроизводимости и правильности результатов измерений (установочные серии), построение контрольных карт.

Стадия 3: проведение оперативного контроля качества результатов лабораторных исследований в каждой аналитической серии.

Внутренний контроль качества в КДЛ проводят при использовании аттестованных коммерческих контрольных материалов (контроль правильности и воспроизводимости), а также без использования контрольной крови (контроль воспроизводимости).

Внешний контроль качества обеспечивается в России Федеральной системой внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСФОК).

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Основные регламентирующие приказы и инструкции, применяемые в КДЛ.
2. Виды контроля качества.
3. Принцип проведения внутреннего контроля качества.
4. Принцип проведения внешнего контроля качества.

Студент должен уметь:

1. Написать статистические показатели, применяемые при проведении внутрилабораторного контроля качества.
2. Уметь составлять контрольную карту при проведении внутрилабораторного контроля качества.
3. Уметь применять правила Вестгарда для оценки результатов внутреннего контроля качества.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Приказы, на основании которых проводится контроль качества в КДЛ.
2. Виды контроля качества, проводимые в КДЛ.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Лабораторные работы:

Проведение статистических расчетов и составление контрольных карт с применением данных, полученных при проведении внутрилабораторного контроля качества в КДЛ.

Лабораторная работа №1.

Проведение статистических расчетов и составление контрольных карт с применением данных, полученных при проведении внутрилабораторного контроля качества в КДЛ.

Принцип метода: для построения контрольной карты использовать полученные результаты при проведении ежедневного контроля качества на гематологическом анализаторе.

Методика выполнения: Проведение контроля качества в КДЛ осуществлялось с использованием аттестованного коммерческого контроля ежедневно в течение 20 дней. Получены данные для каждого вида контрольной крови (нормальная, патологическая низкая и патологическая высокая). Для каждого вида контроля строится своя контрольная карта. Проводится расчет статистических данных и оценка контрольных карт.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-Б; 2-В; 3-Г; 3-Б; 1-А; 4-Б; 4-Г.

- | | |
|-----------------|---|
| 1) приказ № 380 | А) положение о КДЛ |
| 2) приказ № 220 | Б) качество лабораторных исследований |
| 3) приказ № 45 | В) внутрилабораторный контроль качества |
| 4) приказ № 9 | Г) внешний контроль качества |

2. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-Г; 5-А; 4-Г; 3-Г; 5-Б; 1-А; 2-В; 3-Б.

- | | |
|-------------|---------------------------|
| 1) X_{cp} | А) средняя арифметическая |
| 2) b | Б) коэффициент вариации |
| 3) σ | В) абсолютная величина |
| 4) SD | Г) стандартное отклонение |
| 5) CV | |

3. Напишите формулу расчета средней арифметической ($X_{\text{ср}}$).
4. Напишите формулу коэффициента вариации (CV)

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какой приказ является основополагающим в деятельности лаборатории?
2. На основании, какого приказа проводится внешний контроль качества?
3. На основании, какого приказа проводится внутренний контроль качества?
4. На основании, какого приказа проводится повышение качества внутреннего контроля качества?
5. Какие задачи решает КДЛ в ЛПУ?
6. Внешний контроль качества – это
 - 1) метрологический контроль
 - 2) контроль использования методов исследования разными лабораториями
 - 3) система мер, призванных оценить метод
 - 4) система объективной проверки результатов лабораторных исследований разных лабораторий
 - 5) все перечисленное верно
7. Внутрилабораторный контроль качества – это
 - 1) выявление и устранение недопустимых аналитических ошибок
 - 2) оценка сходимости результатов измерения.
 - 3) оценка воспроизводимости и правильности результатов измерений, построение контрольных карт
 - 4) проведение оперативного контроля качества результатов лабораторных исследований в каждой аналитической серии
 - 5) все перечисленное верно

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	30 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	30 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

Составить произвольно контрольную карту внутрилабораторного контроля качества.

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: Том I / под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013, 923 стр.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А. Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.
3. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. А.Луговская, М.Е.Почтарь, В.В. Долгов. – М. – Тверь: ООО Издательство «Триада» , 2008. – 112 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.
3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 25 декабря 1997 г. № 380 "О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации"

Занятие №3

Тема: Оснащение КДЛ. Аппаратура, правила эксплуатации, принцип работы.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Оснащение КДЛ. Аппаратура, правила эксплуатации, принцип работы.

Оснащение КДЛ Клинической больницы ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России

Наименование	Количество
Лабораторное оборудование	
Автоматический биохимический анализатор СА-400 Furuno	1
Система автоматическая «Alisei»	1
Гематологический анализатор «Medonic»	1
Одноканальный коагулометр «BioBas 1»	1
Турбодиметрический коагулометр «Solar»	1
Гемоглобинометр «Минигем»	2
Анализатор тест-полосок для исследования мочи «UroMeter»	1
Микроскоп бинокулярный «Миктрон»	1
Анализатор газов и электролитов GEMPremier 3000	1
Анализатор тест-полосок биохимический NanoCheker	1
Секундомер	2
Дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет»,	4
Вспомогательное оборудование	
Стерилизатор	2
Сушильный шкаф	1
Центрифуга «Листон»	2

Торсионные весы	1
Весы лабораторные	1
Счетчик форменных элементов кондуктометрический	1
Урометр	1
Камера Горяева	2
Камера Фукса-Розенталя	1
Минишейкер	1
Дистиллятор	1
Холодильники	6

В лаборатории разработаны инструкции по всем проводимым исследованиям (биохимическим, гематологическим, клиническим, иммунологическим, коагулометрическим).

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Основные регламентирующие приказы и инструкции, применяемые в КДЛ.
2. Основное и вспомогательное оборудование КДЛ.
3. Принцип работы и правила эксплуатации основного и вспомогательного оборудования КДЛ
4. Технику безопасности при работе на оборудование.

Студент должен уметь:

1. Проводить исследования биологического материала согласно инструкциям и технике безопасности, на оборудовании в клинко-диагностической лаборатории.
2. Уметь интерпретировать полученные значения.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Приказы, на основании которых проводится оснащение КДЛ.
2. Основной перечень оборудования КДЛ.
3. Лабораторные исследования, проводимые в КДЛ.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Анализаторы:

- биохимический анализатор СА-400;
- гематологический анализатор «Медоник»;
- турбидиметрический гемокоагулометр «Solar»;
- дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет»;
- центрифуга «Листон».

Лабораторная работа: проведение исследований, согласно инструкциям, совместно с сотрудниками лаборатории, на автоматическом биохимическом анализаторе СА-400, гематологическом анализаторе «Медоник», турбидиметрическом гемокоагулометре «Solar».

Лабораторная работа №1.

Проведение исследований, согласно инструкциям, на автоматическом биохимическом анализаторе СА-400.

Принцип метода: ознакомление студентов с работой автоматического биохимического анализатора СА-400 и проведение биохимических исследований биологического материала согласно инструкциям, составленным в КДЛ для работы на данной аппаратуре.

Методика выполнения:

Проверка перед работой:

- проверить правильность присоединения к анализатору линии слива (с правой стороны прибора) и линии подачи чистой воды (кол-во подаваемой воды 18л/ч);
- емкости с промывочными растворами (раствор-1 и раствор- 2) должны быть заполнены и трубки вставлены до упора;
- проверить правильность установки блока измерения ISE;
- опустошить резервуар для отходов с жидкостью из блока ISE;
- электрод (K, Na, Cl) присоединен к блоку;

- раствор Cal-A в достаточном кол-ве в упаковке.

Включение анализатора:

- включить анализатор (выключатель источника питания с правой стороны анализатора) установив сетевой выключатель в положение «Включено»;

- включить источник питания принтера;

Включить источник питания компьютера, после включения все программное обеспечение запускается автоматически.

Для входа в систему – ввести пароль «xxxxxx»

Код доступа - 3

- 3

- ВХОД

- ОК;

- каждая крышка для блоков ASP, RSU и ISE должна быть закрыта;
- температура в блоке RSU 15°C или ниже;
- температура в блоке IRU 37°C ±0,5°C;
- в блоке IRU находится 30 или более используемых кювет;
- в емкостях (R и L) анализатора должно быть достаточное кол-во очищенной воды.

Размещение флаконов с реагентами (блок RCU)

- установить все необходимые реагенты, растворы и промывочные растворы в карусель (RCU) – 30 типов флаконов по 70 мл и 20 мл. Флаконы должны быть размещены в карусели согласно их регистрации.

Для просмотра реагентов:

Справа – реестр – реагенты

Начало измерения и контроль

- измерение можно запустить нажатием клавиши F1;
- Start (F1) – процесс проверки старта, процесс проверки учетных записей;

- ОК – продолжение запуска измерения;
- Cancel – отмена запуска измерения;
- ОК- проверка объема оставшегося промывочного раствора;
- Cancel – отмена проверки;
- процесс подготовки измерения.
- представление процесса измерения (RunF5)

Контроль качества

справа – стандарт К/К

позиция

03 – N (сыворотка)– выбрать реагенты для контроля – сохранить!

04 – P (сыворотка) – выбрать реагенты для контроля – сохранить!

Автостарт

Все полученные результаты N и P должны соответствовать пределам значений.

Калибровка

позиция - 1

тип пробы – *мультистандарт*

образец – *общий*

MS – *TriCal (на все реагенты)*

-*LHDL(липопротеины)*

сохранить!

Измерение

-задать номер слота ASP – «Pos»

-выбрать тип образца – «Normal»

-выбрать тип чашечки – «Normal»

-установить ID номер образца

-установить ID номер пациента

-установить спецификацию образца (обращение с нормальным образцом, кликнуть окно «E»)

-установить дату пробы крови, выбрав из календаря ниспадающего меню)

-выбрать категорию образца (общий - установлено автоматически)

-выбрать тип нормального диапазона (по умолчанию «HumanAuto»)

-определить метод (по левой стороне окна задать необходимое кол-во методов)

-определить число измерений (по умолчанию -1)

Сохранить!

Старт!

Проверить реагенты – ОК!

Проверить промывающие растворы – ОК!

Вывод на печать

- тип пробы – норма

- образец – все

- вывод результатов – печать – отчет – поиск (печать всех сделанных образцов)

- вывод результатов –

- указать определенный номер образца

- указать цикл

- печать – отчет – поиск (печать указанного номера образца)

Выключение

- выбрать– выкл.

- выбрать – выкл. пит.

- промывка анализатора – автоматически

- перевести переключатель в режим ON

- выгрузить реагенты (перенести карусель с реагентами в холодильник)

Лабораторная работа №2.

Проведение исследований, согласно инструкции на гематологическом анализаторе «Медоник».

Принцип метода: ознакомление студентов с работой гематологического анализатора «Медоник» и проведение гематологических исследований биологического материала согласно инструкциям, составленным в КДЛ для работы на данной аппаратуре.

Включение анализатора:

- подсоединить кабель питания прибора к сети (220 v);
- подсоединить шланги подачи изотонического и лизирующего растворов и сливной шланг к соответствующим штуцерам и разъемам на задней панели прибора, опустить их в соответствующие канистры с реагентами и в сливную емкость;
- включить прибор (клавиша ON на задней панели прибора);
- клавишей (Выход) на сенсорном экране перейти на вкладку «Меню» в главном МЕНЮ (Реагенты/Новый Реагент, с помощью штрих-кодера или вручную ввести штрих-коды с упаковок изотонического и лизирующего растворов;
- заполните систему реагентами 2 раза (из главного МЕНЮ – «Меню» 2/Обслуживание/Заполнение системы или Очистка/Заполнение).

Подготовка к выполнению анализа:

- использовать одноразовые системы с ЭДТА К3 или ЭДТА К2
- кровь после взятия и смешивания с ЭДТА должна быть выдержана 10-15 минут;
- образец должен храниться при комнатной температуре.

Ежедневно перед началом работы:

- нажать стартовую клавишу цельной крови для начала выполнения холостой пробы, которая расположена за иглой пробоотборника цельной крови. Прибор будет пытаться забрать кровь в течение 10 секунд,

после чего он определит отсутствие крови и продолжит выполнение счетного цикла;

- проверить фоновые значения для холостой пробы (Меню/новый анализ), которые не должны превышать значений:

Параметры	Допустимые величины
RBC	$\leq 0.01(10^{12}/L)$
WBC	$\leq 0.1(10^9/L)$
HGB	$\leq 0.2(g/dL)$
PLT	$\leq 10(10^9/L)$

- перед выполнением анализа провести исследование контрольного образца;
- результаты подсчета контрольного материала должны находиться в допустимых пределах;
- ввести номер образца на вкладке «Новый анализ»;
- перед началом измерения перемешать плавным переворачиванием 8-10 раз;
- на вкладке Меню/новый анализ осторожно опустить левую пробозаборную иглу цельной крови в пробирку с перемешанным образцом (игла не должна касаться стенок и дна пробирки) и нажать стартовую клавишу, находящуюся за иглой;
- по окончании забора крови должен прозвучать короткий звуковой сигнал, после появления надписи «Забор образца. Удалите пробирку», удалить пробирку из-под иглы пробозаборника;
- после активации клавиши «Новый анализ» можно приступить к выполнению анализа следующего образца.

При завершении измерения, данные измерения сохраняются в памяти, а цифровые результаты и гистограмма появляются на экране.

По окончании работы на приборе перевести в «Спящий режим» с вкладки «МЕНЮ» для выполнения цикла автопромывки.

Осторожно. Всегда пользуйтесь защитными перчатками и очками!

Ежедневная очистка

Протереть иглу пробозаборника цельной и разведенной крови бумажной салфеткой, смоченной 70% спиртом, удалить следы крови или кристаллов соли от реагентов на приборе и на столе бумажной салфеткой с дезинфицирующим раствором.

Согласно инструкции проводить ежемесячную очистку и очистку прибора, выполняемую раз в полгода.

Лабораторная работа №3

Проведение исследований, согласно инструкции, на турбидиметрическом гемокоагулометре CGL 2110.

Принцип метода: ознакомление студентов с работой турбидиметрического гемокоагулометра CGL 2110. и проведение коагулологических исследований биологического материала согласно инструкциям, составленным в КДЛ для работы на данной аппаратуре; исследование биологического материала, согласно инструкциям, составленным в КДЛ для работы на данной аппаратуре.

Включение анализатора:

- включить анализатор (выключатель источника питания на боковой стенке анализатора) установив сетевой выключатель в положение «ON»;
- включить источник питания принтера и термостата (нагрев 3-4 мин);
- на коагулометре появится надпись – SOLAR

На индикаторе термостата появится надпись 37°и будет слышен звуковой сигнал.

Начало измерения:

- выбор режимов работы осуществляется последовательным нажатием кнопки «MODE»:

- режим «Pt»;

- добавить в кювету с магнитным якорем 100 мкл плазмы и выдержать в течение 2-х минут в блоке подготовки проб;

- установить пробу в кюветное отделение коагулометра;

- старт;

- появится символ «Add» и звуковой сигнал;

- добавить 200 мкл реагента;

- на индикаторе высвечивает значение времени свертывания в секундах (для пересчета в % контрольное значение серии делим на полученный показатель и умножаем на 100%).

- режим «At»;

- добавить в кювету с магнитным якорем 100 мкл плазмы;

- выдержать кювету с плазмой в течение 2-х минут при 37° в блоке подготовки проб;

- добавить 100 мкл кефалин-каолиновой смеси;

- установить пробу в кюветное отделение коагулометра;

- старт;

- появится символ «Add» и звуковой сигнал;

- добавить 100 мкл хлорида кальция;

Значение на индикаторе – полученный результат.

Выход осуществляется кнопкой «RESET»/

Реагент для Pt – на 1 фл. – 8 мл дистиллированной воды (30мин).

Реагент для At – на 1 фл. – 4 мл дистиллированной воды (30мин).

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-Б; 2-В; 3-Г; 1-А; 4-Г; 2-А.

1) приказ № 380

А) положение о КДЛ.

2) приказ №220

Б) качество лабораторных исследований

- 3) приказ №45 В) внутрилабораторный контроль качества
4) приказ №9 Г) внешний контроль качества

2. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-Б; 2-В; 3-Г; 1-А; 4-Г; 2-А; 3-Б.

- 1) гемоглобин А) гематологический анализатор
2) липидный спектр Б) биохимический анализатор
3) глюкоза В) коагулометр
4) МСНС Г) микроскоп
5) протромбин

3. Напишите, какие исследования проводят на гематологическом анализаторе?

4. Напишите, какие исследования проводят на турбодиметрическом коагулометре?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какой приказ является основополагающим в деятельности лаборатории?

2. На основании, какого приказа проводится оснащение КДЛ?

3. На каком анализаторе проводят биохимические исследования?

4. На каком анализаторе проводят гематологические исследования?

5. На каком анализаторе проводят коагулологические исследования?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени - 1 час 40 минут

Перекличка - 5 минут

Разбор основных вопросов темы - 30 минут

Тестовый опрос - 20 минут

Проведение лабораторной работы - 30 минут

Оформление протоколов - 10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

Составить краткую инструкцию работы на одном из аппаратов КДЛ.

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.
3. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. А.Луговская, М.Е.Почтарь, В.В. Долгов. – М. – Тверь: ООО Издательство «Триада» , 2008. – 112 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.
3. Приказ №380 от 25.12.1997 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»

Раздел 2. «ЛАБОРАТОРНАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ».

Занятие №1

Тема: Понятие о гемопоэзе. Схема кроветворения.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Понятие о гемопоэзе. Схема кроветворения.

Кроветворение (гемопоэз) – многостадийный процесс дифференцировки клеточных элементов, в результате которого образуются эритроциты, лейкоциты, тромбоциты.

Образование и дифференцировка этих клеток осуществляется в кроветворных органах: костном мозге, тимусе, селезенке и лимфатических узлах, представляющих единую кроветворную систему.

Выделяют 4 критических периода становления гемопоэза:

- возникновение первых кроветворных клеток – предшественников в желточном мешке эмбриона (4-5-я неделя развития плода, внеэмбриональное кроветворение);
- заселение печени плода кроветворными клетками - предшественниками (5-я неделя внутриутробного развития);
- проникновение ранних Т-лимфоцитов в тимус и формирование Т-клеточной иммунной системы (9-10я неделя);
- смена печеночного кроветворения на костномозговое (15-18-я неделя).

Кроветворная ткань заключена в костный чехол, который выполняет не только защитную, но и регулирующую гемопоэз функцию. Клеточными элементами костной ткани являются остеобласты, остеоциты и остеокласты. Различают два типа капилляров: питающие (обычные) и функциональные (синусоиды). Между синусоидами находятся кроветворные клетки. Стенки синусоидов состоят из трех слоев: базальная мембрана, клетки эндотелия и адвентиции (фибробласты - непрерывным слоем покрывающие эндотелий и образующие барьер для кроветворных клеток). Кроветворение в костном

мозге происходит островками, в котором группируются клетки по росткам гемопоэза. Способность гемопоэтических клеток распознавать соответствующие клетки стромы и размещаться в своих определенных зонах называется *хомингом*. Предшественники и развивающиеся кроветворные клетки располагаются следующим образом: в центре - делящиеся и незрелые клетки, на периферии (около стенок синусоидов) - более зрелые клетки. Способность зрелых клеток перемещаться в направлении венозного синуса называется *хемотаксисом*. *Эмпириоплезис* - прохождение клеток через мегакариоцит.

Современная теория кроветворения базируется на унитарной теории А.А. Максимова (1918), согласно которой все клетки крови происходят из единой родоначальной клетки, (морфологически напоминающей лимфоцит).

На самом вершине иерархической лестницы тотипотентные ЭСК (I отдел). II отдел - пул поли- или мультипотентных СКК. Основная масса находится в состоянии покоя, но при выходе из состояния покоя клетка вступает на путь дифференцировки, постепенно снижая пролиферативный потенциал, после нескольких циклов деления, может вернуться в состояние покоя и отвечать на наличие запроса. Такое устройство имеет большой биологический смысл. III отдел – полиолигопотентные комитированные клетки предшественники (commit - принятие на себя обязательств) к дифференцировке в направлении 2-5 гемопоэтических линий. Клетки IV отдела – монопотентные комитированные предшественники. V отдел – морфологически распознаваемые клетки, созревающие и зрелые клетки всех 8 клеточных линий.

Краткие сведения номенклатуре, морфологии и функции клеток крови.

Эритропоэз (дифференцировка и созревание клеток происходит в костном мозге).

Эритробласт, пронормобласт, нормобласт базофильный, нормобласт полихроматофильный, нормобласт оксифильный, ретикулоцит, эритроцит.

Эритроциты выполняют важнейшие функции поддержания жизнедеятельности организма: белковые комплексы на мембране эритроцита - определение групп крови, участие в газообмене, поддержание гомеостаза организма.

Гранулоцитопоз (дифференцировка и созревание клеток происходит в костном мозге).

Миелобласт, промиелоцит, миелоцит (нейтрофильный, эозинофильный, базофильный), метамиелоцит (нейтрофильный, эозинофильный, базофильный), палочкоядерный (нейтрофил, эозинофил, базофил), сегментоядерный (нейтрофил, эозинофил, базофил).

Моноцитопоз (моноклеарные фагоциты) включают костномозговые предшественники, пул циркулирующих в сосудистом русле моноцитов и тканевых макрофагов. Ранние предшественники развиваются из полипотентной стволовой клетки – пул КОЕ-ГМ. Комитированные КОЕ-ГМ дают начало КОЕ-М (колониеобразующая единица макрофагальная). Процесс дифференцировки и созревания регулируется ГМ-КСФ, М-КСФ, ИЛ-3.

Монобласт, промоноцит, моноцит (макрофаг).

Мегакарицитопоз (дифференцировка и созревание клеток происходит в костном мозге).

Мегакариобласт, промегакариоцит, мегакариоцит.

Лимфоцитопоз (дифференцировка и созревание клеток происходит в костном мозге).

Лимфобласт, пролимфоцит, лимфоцит, большой гранулярный лимфоцит.

Плазмобласт, проплазмобласт, плазматическая клетка

Нормальные показатели периферической крови у взрослых

Показатель	Нормальные значения	
	М	Ж
гемоглобин	130,0-160,0	120,0-140,0
эритроциты, г/л	4,0-5,0	3,9-4,7
цветовой показатель	0,85-1,05	
средний объем эритроцита, фл, мкм ³	80,0-100,0	
среднее содержание гемоглобина в эритроците, %	27,0-31,0	
средняя концентрация гемоглобина в эритроците, %	30,0-38,0	
ретикулоциты, ‰	2,0-10,0	
лейкоциты хх10 ⁹ /л	4,0-9,0	
нейтрофилы, % (10 ⁹ /л)		
палочкоядерные	1,0-6,0 (0,040-0,300)	
сегментоядерные	47,0-72,0 (2,000-5,500)	
эозинофилы	0,5-5,0 (0,020-0,300)	
базофилы	0-1,0 (0-0,065)	
лимфоциты	19,0-37,0 (1,200-3,000)	
моноциты	3,0-11,0 (0,090-0,600)	
тромбоциты	180,0-320,0	
СОЭ, мм/час	2,0-10,0	2,0-15,0

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Схему кроветворения.
2. Номенклатуру, морфологию и функцию клеток крови.
3. Показатели клинического анализа крови.

4. Классификацию анемий.
5. Характеристику острых и хронических лейкозов.

Студент должен уметь:

1. Расшифровать показатели клинического анализа крови.
2. При микроскопическом исследовании мазка крови дать характеристику эритроцитам.
3. При микроскопическом исследовании мазка крови дифференцировать лейкоциты.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Схема кроветворения.
2. Номенклатура, морфология и функции клеток крови.
3. Классификация анемий.
4. Показатели клинического анализа крови.
5. Понятие о лейкозах.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»;
- счетчик форменных элементов кондуктометрический;
- окрашенные по Романовскому-Гимзе мазки периферической крови;
- иммерсионное масло.

Лабораторные работы: микроскопическое исследование мазка периферической крови и интерпретация полученных результатов.

Лабораторная работа №1.

Микроскопическое исследование мазка периферической крови и интерпретация полученных результатов.

Проведение данного исследования включает:

- микроскопическое исследование морфологии эритроцитов;

- микроскопическое исследование и проведение дифференцированного подсчета лейкоцитов;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: микроскопическое исследование окрашенного мазка периферической крови проводится с помощью микроскопа (иммерсионный объектив (90x) и окуляра 7x или 10x). Подсчет лейкоцитарной формулы заключается в регистрации всех встречающихся в поле зрения лейкоцитов с использованием гематологического счетчика по принципу зубчатой траектории и проведения дифференциации лейкоцитов согласно их принадлежности росткам кроветворения в процентном соотношении на 100 клеток. Проводится морфологическое исследование эритроцитов (размер, форма, насыщение гемоглобином).

Методика выполнения:

1. *Исследование мазка крови.* Окрашенный препарат крови должен сначала быть просмотрен с помощью иммерсионного объектива (90x) и окуляра 7x или 10x. При исследовании мазка оценить клеточное распределение, ориентировочное количество лейкоцитов в мазке, выявить отклонения в размере, форме, степени насыщения и распределения гемоглобина, наличие включений;

2. *Дифференциальный подсчет лейкоцитов.* Подсчет лейкоцитарной формулы заключается в регистрации всех встречающихся в поле зрения лейкоцитов отдельно по их принадлежностям к тем или иным росткам. По краям чаще встречаются нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, в середине – лимфоциты. Поэтому передвигать стекло надо в определенном порядке. Считают несколько полей зрения вдоль края, затем возвращаются к центру и так далее по зубчатой траектории. При подсчете лейкоцитарной формулы используют лабораторные счетчики. Подсчитывают 100 клеток с последующим выведением процентного, а при необходимости абсолютного количества клеток, исходя из общего количества лейкоцитов.

Источники ошибок: неравномерное распределение клеток в препарате, нераспознавание клеток и статистика.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-А; 2-А; 1-Б; 3-Е; 4-Е; 5-Д; 7-Д; 8-З; 6-Д; 7-Г; 8-Ж; 4-З; 5-В.

- | | |
|--------------------------------|---|
| 1) норма гемоглобина у женщин | А) 130-160 г/л |
| 2) норма гемоглобина у мужчин | Б) 120-140 г/л |
| 3) норма лейкоцитов у взрослых | В) снижение содержания гемоглобина |
| 4) эритроцитарные индексы | Г) острый лейкоз |
| 5) анемия | Д) опухоль кроветворной ткани |
| 6) эритремия | Е) $4-9 \times 10^9 /л$ |
| 7) бласты | Ж) появление миелоцитов, юных, увеличение палочко- ядерных сегментов |
| 8) сдвиг влево | З) среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците |

2. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-Г; 5-А; 4-Д; 3-А; 5-Б; 1-А; 3-В; 3-Б; 2-А.

- | | |
|---------|--|
| 1) MCV | А) среднее содержание гемоглобина в эритроците |
| 2) MCH | Б) количество тромбоцитов |
| 3) MCHC | В) средняя концентрация гемоглобина в эритроците |
| 4) RDW | Г) средний объем эритроцита |
| 5) PLT | Д) показатель анизоцитоза |

3. Напишите нормальную лейкоцитарную формулу крови в % соотношении.

4. Увеличены или снижены эритроцитарные индексы при железодефицитной анемии?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. В каком органе происходит гемопоэз?
2. Что такое хоминг и хемотаксис?
3. Какую функцию выполняют эритроциты?
4. Какую функцию выполняют эритроциты?
5. Как выглядит в % соотношении нормальная лейкоцитарная формула периферической крови?
6. Что такое «сдвиг влево»?
7. Дайте характеристику лейкоцитозу и лейкопении?

Ситуационная задача № 1

При морфологической оценке эритроцитов периферической крови выявлены следующие изменения: гиперхромия, макроцитоз, гиперсегментация нейтрофилов, снижение количества тромбоцитов. Для какой анемии характерны данные изменения.

Ситуационная задача № 2

При морфологической оценке эритроцитов периферической крови выявлены следующие изменения: гипохромия, микроцитоз, пойкилоцитоз. Для какой анемии характерны данные изменения.

Ситуационная задача № 3

При проведении ОАК на гематологическом анализаторе было выявлено увеличение значения МСНС 400 г/л. На что указывает увеличение эритроцитарного индекса?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	- 1 час 40 минут
Перекличка	- 5 минут

Разбор основных вопросов темы	- 30 минут
Тестовый опрос	- 20 минут
Проведение лабораторной работы	- 30 минут
Оформление протоколов	- 10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Дать характеристику клинического анализа крови при нормохромной анемии.
2. Какие показатели клинического анализа крови указывают на макроцитарную анемию?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А. Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.
3. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. А. Луговская, М.Е. Почтарь, В.В. Долгов. – М. –Тверь: ООО Издательство «Триада» , 2008. – 112 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Лабораторная гематология. С. А.Луговская, В.Т.Морозова, М.Е. Почтарь, В.В. Долгов. – М. –Тверь: ООО Издательство «Триада» ,2006. – 224 с.
3. Кровь. Клинический анализ. Диагностика анемий и лейкозов. Интерпретация результатов. Г.И. Козинец, В.М.Погорелов, О.А. Дягилева, И.Н. Наумова. М.2006. – 256с.
4. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.

Занятие №2

Тема: Микроскопическое исследование мазка костного мозга. Цитохимические реакции.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Исследование костно-мозговых элементов - миелограмма – отражает процессы пролиферации и дифференцировки отдельных ростков кроветворения, его клеточный состав и функциональное состояние. Важное значение имеет анализ пунктатов костного мозга при различных гемобластозах, анемиях, метастазах рака в костный мозг и других заболеваниях.

Характеристика костномозгового кроветворения включает описание и подсчет:

- клеточности костного мозга;
- процентного состава миелокариоцитов;
- индексов миелограммы;
- морфологических особенностей гемопоэза;
- заключение.

Подсчет миелокариоцитов производят в камере Горяева, для этого костный мозг разводят в 200 раз (к 4 мл 3-5% уксусной кислоты добавляют 0,02 мл пунктата), тщательно перемешивают и заполняют камеру. Подсчитывают клетки в 100 больших квадратах (аналогично лейкоцитам крови).

Количество миелокариоцитов рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{n \times 200 \times 250}{100} = n \times 500,$$

X-количество миелокариоцитов в 1 мкл, n - количество миелокариоцитов в 100 больших квадратах, 200 – разведение костного мозга, 250 – коэффициент пересчета на 1 мкл.

Ориентировочная оценка клеточности костного мозга может проводиться по окрашенным мазкам (15-25 миелокариоцитов в одном поле зрения).

Подсчет мегакариоцитов также может проводиться двумя способами: в счетной камере и ориентировочно по окрашенным мазкам.

Подсчет миелокариоцитов производят в камере Фукса-Розенталя, для этого костный мозг разводят в 20 раз (к 0,4 мл 3-5% уксусной кислоты добавляют 0,02 мл пунктата), тщательно перемешивают и заполняют камеру. Подсчет проводят по всей сетке камеры.

Количество мегакариоцитов рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{n \times 20}{3,2},$$

X-количество мегакариоцитов в 1 мкл, *n* - количество мегакариоцитов по всей камере, 20 – разведение костного мозга, 3,2мкл – объем камеры Фукса-Розенталя.

Ориентировочная оценка количества мегакариоцитов может проводиться по окрашенным мазкам (5-7 мегакариоцитов в препарате).

Миелограмма представляет собой процентное соотношение всех кроветворных клеток костного мозга.

Нормальные показатели миелограммы у взрослых

Показатель	Пределы колебаний
Бласты	0,1-1,1
Миелобласты	0,2-1,7
Промиелоциты	1,0-4,1
Миелоциты	7,0-12,2
Метамиелоциты	8,0-15,0
Палочкоядерные нейтрофилы	12,8-23,7
Сегментоядерные нейтрофилы	13,1-24,1
Все нейтрофильные элементы	52,7-68,9

Эозинофилы (всех генераций)	0,5-5,8
Базофилы	0,1-0,5
Эритробласты	0,2-1,1
Пронормобласты	0,1-1,2
Нормобласты базофильные	1,4-4,6
Нормобласты полихроматофильные	8,9-16,9
Нормобласты оксифильные	0,8-5,6
Все эритрокариоциты	14,5-26,5
Лимфоциты	4,3-13,7
Моноциты	0,7-3,1
Плазматические клетки	0,1-1,8
Ретикулярные клетки	0,1-1,6

Цитохимические реакции позволяют изучить ферментативную активность и используются для изучения направленности дифференцировки кроветворных клеток.

Маркеры миелоидного ряда - МПО (миелопероксидаза) – лизосомальная каталаза, в присутствии перекиси водорода окисляет различные субстраты.

Липиды - обнаруживаются во всех лейкоцитах, за исключением лимфоцитов.

PAS - реакция основана на окислении йодной кислотой гликолевых групп. Альдегидные группировки при взаимодействии с реактивом Шиффа образуют продукт красного цвета.

Диффузное окрашивание свойственно клеткам гранулоцитарного ряда, в моноцитах - в виде пылевидной зернистости.

В лимфоцитах - в виде гранул.

Для дифференцировки применяют и другие цветные реакции (неспецифические эстеразы, фосфатазы, щелочная фосфатаза, кислая фосфатаза).

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Схему кроветворения.
2. Номенклатуру, морфологию и функцию клеток крови.
3. Показатели миелограммы.
4. Характеристику острых и хронических лейкозов.

Студент должен уметь:

1. Расшифровать показатели миелограммы.
2. При микроскопическом исследовании мазка костного мозга уметь различать ростки кроветворения.
3. При микроскопическом исследовании мазка крови дифференцировать клеточные элементы.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Схема кроветворения.
2. Номенклатура, морфология и функции клеток костного мозга.
3. Показатели миелограммы.
4. Понятие о лейкозах.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»;
- счетчик форменных элементов кондуктометрический;
- окрашенные по Романовскому-Гимзе мазки костного мозга;
- иммерсионное масло.

Лабораторные работы: микроскопическое исследование мазка костного мозга.

Лабораторная работа №1

Микроскопическое исследование мазка костного мозга и интерпретация полученных результатов.

Проведение данного исследования включает:

- исследование под малым увеличением мазка костного мозга.
- микроскопическое исследование морфологии клеток всех ростков;
- микроскопическое исследование и проведение дифференцированного подсчета клеток костного мозга;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: исследование костного мозга проводится с помощью микроскопа сначала под малым увеличением (20x10) и в дальнейшем микроскопическое исследование окрашенного препарата (иммерсионный объектив (90x) и окуляра 7x или 10x). Миелограмма представляет процентное соотношение всех кроветворных клеток костного мозга. Микроскопическое исследование мазка костного необходимо для изучения морфологии клеток костного мозга, характеристики костно-мозговой деятельности и дифференциального анализа всех предшественников.

Методика выполнения:

1. *Исследование мазка костного мозга.* Предварительное изучение окрашенных препаратов костного мозга проводится под малым увеличением (20x10). Выявляются: клеточность костного мозга; наличие и число мегакариоцитов; состав и характер костномозгового пунктата. Далее подсчет проводится под увеличением (90x10), используя иммерсионное масло. Подсчитывают все встречающиеся в поле зрения кроветворные клетки (считается не менее 3 и более препаратов) регистрируя их число с помощью счетчика. Вычисляется % соотношение каждого вида клеток.

2. *Дополнительную информацию для оценки костномозгового кроветворения получают при расчете следующих индексов:*

- лейкоэритробластическое соотношение Л/Э, соотношение всех клеток белого ростка (гранулоцитарного, моноцитарного и лимфоидного) к ядродержащим клеткам эритроидного ростка. В норме 2,1-4,5.
- индекс созревания нейтрофилов (ИСН), соотношение незрелых и зрелых нейтрофилов костного мозга. В норме 0,5-0,9

- индекс созревания эритрокариоцитов (ИСЭ), соотношение полихроматофильных и оксифильных эритрокариоцитов ко всем клеткам эритроидного ростка. В норме 0,8-0,9.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-А; 2-Г; 1-Б; 3-В; 4-Е; 5-А; 6-Е; 4-Д; 5-В; 6Д.

- | | |
|--------------------------------|----------------|
| 1) норма бластных клеток в к/м | А) 2,1 - 4,5 |
| 2) норма ИСН | Б) 0,1 - 1,1 |
| 3) норма эозинофилов в к/м | В) 0,5 - 5,8 |
| 4) % эритрокариоцитов в к/м | Г) 0,5 - 0,9 |
| 5) норма Л/Э | Д) 7,0 - 12,2 |
| 6) % миелоцитов в к/м | Е) 14,5 - 26,5 |

2. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-В; 5-А; 2-В; 4-Д; 3-А; 4-Г; 1-А; 3-В; 2-Б; 5-Д.

- | | |
|-------------------|--|
| 1) миелобласты | А) это молодые клетки миелоидного ростка |
| 2) нормобласты | Б) ядродержащие эритроциты |
| 3) миелокарициты | В) клетки костного мозга |
| 4) миелограмма | Г) подсчет клеток к/м |
| 5) эритрокарициты | Д) клетки эритроидного ростка |

3. Напишите, как рассчитать Л/Э соотношение?

4. Какой показатель отражает созревание нейтрофилов?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. В каком органе происходит гемопоэз?

2. Что такое миелограмма?

3. Как называют ядродержащие эритроциты?

4. Для чего нужно проводить цитохимическое исследование мазков костного мозга?

5. Как оценить клеточность костного мозга?
6. Перечислите костномозговые индексы?

Ситуационная задача № 1

При подсчете лейкоцитарной формулы выявлено увеличение количества лейкоцитов до 20×10^{12} /л, увеличение значения лимфоцитов до 80%. Какое заболевание кроветворной ткани может иметь место при данной лейкограмме?

Ситуационная задача № 2

В периферической крови снижено количество эритроцитов, гемоглобин 80 г/л, снижено количество тромбоцитов, увеличено количество лейкоцитов и выявлено до 28 % бластных клеток. Какое заключение можно сделать, учитывая ОАК?

Ситуационная задача № 3

При проведении ОАК на гематологическом анализаторе было выявлено увеличение количества лейкоцитов до 40×10^9 и % гранулоцитов. Какое исследование необходимо провести для уточнения диагноза?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Перекличка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Дать характеристику нормального костного мозга.
2. Какие показатели костного мозга указывают на лейкемию?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.
3. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. А. Луговская, М.Е. Почтарь, В.В. Долгов. – М. –Тверь: ООО Издательство «Триада» , 2008. – 112 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Лабораторная гематология. //С.А.Луговская, В.Т.Морозова, М.Е. Почтарь, В.В. Долгов. - М. -Тверь: ООО Издательство «Триада», 2006. - 224 с
3. Кровь. Клинический анализ. Диагностика анемий и лейкозов. Интерпретация результатов. //Г.И. Козинец, В.М.Погорелов, О.А. Дягилева, И.Н. Наумова. М.2006. – 256 с.
4. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. //Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.

Раздел 3. «ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА».

Занятие №1

Тема: Клинический анализ мочи, физико-химические свойства мочи, микроскопическое исследование.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Клинический анализ мочи, физико-химические свойства мочи, микроскопическое исследование.

Клинический анализ мочи складывается из оценки ее физических свойств, химического исследования и микроскопии осадка. Физические свойства мочи включают определение количества, цвета, мутности и плотности. Химическое исследование мочи включает определение рН, белка и глюкозы. Микроскопия осадка мочи – это анализ, который предполагает изучение осадка под микроскопом на малом увеличении, а затем на большом объектив x 40, окуляр x 7,5.

Кристаллы солей, которые обнаруживают при микроскопии осадка мочи, обозначают - неорганизованный осадок.

Основными соединениями, образующими кристаллы в моче, являются:

- щавелевая кислота и ее соли - оксалаты, преимущественно кальциевые (кислая и щелочная реакция мочи);
- мочева кислота и ее соли - ураты (кислая реакция мочи);
- соли фосфорной кислоты (фосфаты) - аммонийные, магниевые и кальциевые (щелочная реакция мочи).

В организованном осадке мочи различают клетки 3-х видов эпителия - плоского, переходного и почечного, эритроциты, лейкоциты, цилиндры, грибы и бактерии.

Воспалительные заболевания нижних мочевыводящих путей (цистит, уретрит, простатит) характеризуются наличием белка (не превышает 1 г/л), лейкоцитов, эритроцитов, эпителия, бактериурия.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинический анализ мочи, физико-химические свойства мочи, микроскопическое исследование.
2. Изменения в клиническом анализе мочи при воспалительных заболеваниях мочевыводящих путей.

Студент должен уметь:

1. Расшифровать показатели клинического анализа мочи.
2. Проводить микроскопическое исследование осадка мочи.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Клинический анализ мочи, физические свойства мочи.
2. Химическое исследование мочи.
3. Микроскопическое исследование организованного осадка мочи.
4. Микроскопическое исследование неорганизованного осадка мочи.
5. Понятие дисметаболической нефропатии.

III. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- анализатор тест-полосок для исследования мочи «UroMeter»;
- микроскоп бинокулярный «Миктрон».
- центрифуга «Листон».

Лабораторные работы: определение физико-химических свойств мочи, микроскопическое исследование осадка мочи.

Лабораторная работа №1.

Определение физико-химических свойств мочи, микроскопическое исследование осадка мочи.

Проведение данного исследования включает:

- определение физико-химических свойств мочи на мочевом анализаторе «Урометр 120»;
- микроскопическое исследование осадка мочи;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: фотометрическое определение химических свойств мочи с помощью тест-полосок на приборе «Урометр 120». На мочевом анализаторе можно определить рН, относительную плотность, наличие белка, глюкозы, кетоновых тел, лейкоцитов и эритроцитов; микроскопия и изучение осадка под микроскопом.

Методика выполнения:

1. ***Клинический анализ мочи*** выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом.

Общий анализ мочи складывается из оценки физических свойств, химического исследования и микроскопии осадка.

Физико-химические свойства исследуют с помощью мочевого анализатора «Урометр 120» и диагностических полосок. Мочевую полоску опускают в контейнер с мочой (излишки мочи убирают) устанавливают мочевую полоску в анализатор. Через несколько секунд производится обработка биологического материала и данные образца выходят на печать

2. Приготовление осадка мочи.

Перед центрифугированием мочу тщательно перемешивают, наливают в центрифужную пробирку около 10 мл и центрифугируют 10 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость полностью сливают, содержимое осадка перемешивают пластиковой пипеткой и наносят каплю на предметное стекло. Далее на каплю кладут покровное стекло и производят микроскопию.

Кристаллы солей, которые обнаруживают при микроскопии (объектив х40, окуляр х 7,5) осадка мочи, обозначают - неорганизованный осадок.

В организованном осадке мочи различают клетки 3-х видов эпителия – плоского, переходного и почечного, эритроциты, лейкоциты, цилиндры, грибы и бактерии.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-А; 2-В; 4А; 3-Б; 2-А; 1-В; 4-Г; 3-Д.

- | | |
|-------------------------------------|----------------------|
| 1) норма лейкоцитов в моче у женщин | А) 1 - 2 - 0 в п/зр |
| 2) норма лейкоцитов в моче у мужчин | Б) <150 мг/сутки |
| 3) норма белка в моче | В) 2 - 1 - 4 в п/зр |
| 4) норма эритроцитов в моче | Г) 0 - 1 - 0 в пз/зр |
| | Д) >150 мг/сутки |

2. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-В; 2-Б; 4А; 3-В; 1-В; 4-Г; 3-А.

- | | |
|-----------------|-------------------------------------|
| 1) уробилиноиды | А) наличие желчных пигментов в моче |
| 2) глюкозурия | Б) наличие глюкозы в моче |
| 3) протеинурия | В) увеличение белка в моче |
| 4) гематурия | Г) эритроциты в моче |

3. Какие цилиндры могут встречаться в моче здорового человека и в каком количестве?

4. При какой патологии почек наблюдается увеличение количества лейкоцитов и белка в моче?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Что такое организованный осадок мочи?
2. Как определяют наличие солевого осадка мочи?
3. Какую патологию отражает наличие лейкоцитов в моче?
4. Что является структурно-функциональной единицей почки?

Ситуационная задача № 1

У больного, который находится на лечении в терапевтическом отделении клиническое исследование общего анализа мочи выявило – значительное кол-во переходного эпителия, увеличение количества лейкоцитов (30-25-40 в п/зр), наличие зернистых цилиндров (2- 3- 1в вп/зр.). Какие действия необходимо предпринять и какие дополнительные лабораторные исследования провести данному пациенту для постановки диагноза?

Ситуационная задача №2

Пациентка, находящейся на лечении в терапевтическом отделении, предъявила жалобы на увеличение мочи в ночное время суток, при снижении общего объема выделяемой мочи за сутки. Какое исследование необходимо провести в клиничко-диагностической лаборатории для установления заболевания почек, и какое поражение почек возможно, исходя из анамнеза заболевания?

Ситуационная задача №3

На приеме у врача основными жалобами пациента были боли в животе, редкие мочеиспускания с большими объемами мочи. Анализ лабораторного исследования мочи выявил: высокую плотность мочи, протеинурию до 1г/л, микрогематурию, значительную кристалурию (значительное количество оксалатов). О каком заболевании можно подумать, и какие дополнительные исследования провести данному пациенту?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Перекличка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. При каких заболеваниях происходит повышение уровня кетоновых тел?
2. Какие вещества накапливаются при уремии?
3. При каких клинических состояниях возможна глюкозурия, при нормогликемии?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Лабораторная диагностика заболеваний почек с основами патофизиологии. Пособие для врачей. //И.А. Волкова. М.,2012.-82 с.
3. Протеинурия Методы ее выявления. //А.В. Козлов.– Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. – 60 с.
4. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. //Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.
5. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Занятие №2

Тема: Исследование мочи по Нечипоренко. Лабораторные тесты на повреждение нефрона (проба по Зимницкому).

I. Научно-методическое обоснование темы:

Исследование мочи по Нечипоренко.

Исследование мочи по Нечипоренко относится к количественным методам оценки содержания форменных элементов мочи. Метод используется для диагностики начальных стадий заболеваний почек и позволяет выявить микрогематурию, повышение содержания лейкоцитов и цилиндров.

Для анализа мочи по Нечипоренко используется средняя порция утренней мочи. Мочу тщательно перемешивают. В мерную центрифужную пробирку отливают 10 мл мочи и центрифугируют 10 мин при 1500 об/мин. После центрифугирования верхний слой мочи отбирают так, чтобы в пробирке остался 1 мл. Оставшуюся в пробирке мочу перемешивают, заполняют камеру Горяева (объем 0,9 мкл) и производят подсчет форменных элементов. Форменные элементы подсчитывают по всей камере Горяева. Полученный результат умножают на 111, чтобы получить количество форменных элементов в 1 мл.

Референтные значения содержания форменных элементов в моче:

Эритроциты – до 1000/мл (10^6 /л)

Лейкоциты – до 2000/мл (2×10^6 /л)

Цилиндры – до 20/мл (2×10^4 /л 1 на 5 камер Горяева)

Исследование мочи по Нечипоренко проводится при проведении дифференциальной диагностики заболеваний почек (при пиелонефрите преобладает кол-во лейкоцитов, при гломерулонефрите кол-во эритроцитов.)

Гломерулонефрит – протеинурия до 1 г/л, гематурия различной степени, цилиндры (чаще гиалиновые), лейкоциты, клетки почечного эпителия.

Пиелонефрит – лейкоцитурия (25 000 и более в 1 мл мочи), бактериурия, протеинурия (1-3 г/л), эритроцитурия.

Проба по Зимницкому.

Проба по Зимницкому позволяет оценить функцию осмотического разведения и осмотического концентрирования мочи почками. В пробе по Зимницкому пациент собирает мочу каждые 3 часа (8 порций). Оценка проб:

- за сутки почками должно выделиться не менее 65% полученной жидкости;
- за дневное время должно выделиться около 2/3 всего объема;
- разброс плотности в разных порциях мочи должен быть не ниже, чем 7 г/л.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Как правильно исследовать мочу по Нечипоренко.
2. Какая дифференциальная диагностика проводится при исследовании мочи по Нечипоренко.
3. Как проводится исследование мочи по Зимницкому.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результаты анализа мочи по Нечипоренко.
2. Интерпретировать результаты анализа мочи по Зимницкому.
3. Проводить дифференциальную диагностику заболеваний мочевыводящих путей на основании анализа мочи по Нечипоренко.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Анализ мочи по Нечипоренко.
2. Основные причины лейкоцитурии.
3. Основные причины гематурии.
4. Причины образования цилиндров в моче.
5. Исследование мочи по Зимницкому.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- анализатор тест-полосок для исследования мочи «Урометр 120».

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»;
- центрифуга «Листон»;
- камера Горяева.

Лабораторные работы: исследование мочи по Нечипоренко.

Лабораторная работа №1.

Исследование мочи по Нечипоренко.

Проведение данного исследования включает:

- приготовление мочи для исследования;
- подсчет форменных элементов в камере Горяева;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода:

1. Форменные элементы (эритроциты и лейкоциты) подсчитывают в камере Горяева.

2. Полученный результат умножают на 111, чтобы получить количество форменных элементов в 1 мл

Методика выполнения:

1. ***Клинический анализ мочи*** выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом.

В мерную центрифужную пробирку отливают 10 мл мочи и центрифугируют 10 мин при 1500 об/мин. После центрифугирования верхний слой мочи отбирают так, чтобы в пробирке остался 1 мл. Оставшуюся в пробирке мочу перемешивают, заполняют камеру Горяева (объем 0,9 мкл) и производят подсчет форменных элементов.

2. Подсчет форменных элементов

Форменные элементы подсчитывают по всей камере Горяева. Полученный результат умножают на 111, чтобы получить количество форменных элементов в 1 мл.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Подберите правильный ответ

По Нечипоренко у здорового человека в 1 мл мочи содержится:

- 1) лейкоцитов не более 1000, эритроцитов не более 500, цилиндров – 1
- 2) лейкоцитов 5000, эритроцитов - 2500, цилиндров – 5
- 3) лейкоцитов 4000, эритроцитов до 1000, цилиндров – нет
- 4) лейкоцитов до 2000, эритроцитов до 1000, цилиндров – нет

2. Какую функцию почек оценивают при проведении пробы по Зимницкому?

3. При какой патологии почек необходимо исследование мочи по Нечипоренко?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. К каким методам исследования относят анализ мочи по Нечипоренко?

2. Сколько порций мочи необходимо собрать в пробе по Зимницкому?

3. Какой параметр исследуют при проведении пробы по Зимницкому?

4. Определение относительной плотности мочи дает представление о:

- А) выделительной функции почек;
- Б) концентрационной функции;
- В) фильтрационной функции;
- Г) всех перечисленных функций

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Перекличка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут

Проведение лабораторной работы - 20 минут

Оформление протоколов - 10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Перечислите виды ОПН?
2. Перечислите причины ХПН?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II/ под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Лабораторная диагностика заболеваний почек с основами патофизиологии. Пособие для врачей. /И.А. Волкова. М. 2012. - 82 с.
3. Протеинурия Методы ее выявления. /А.В. Козлов.– Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. – 60 с.
4. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. /Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.
5. Лабораторные методы исследования. /В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Занятие №3

Тема: Основные методы получения желудочного и дуоденального содержимого.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Микроскопическое исследование желудочного содержимого в норме и патологии.

При извлечении желудочного сока оценивают цвет, объем, производят микроскопическое исследование, определяют кислотность (общую - сумму всех содержащихся в желудочном соке кислых продуктов: свободной и связанной соляной кислоты, органических кислот, фосфатов; связанную соляную кислоту – недиссоциированную соляную кислоту белково-солянокислых комплексов; свободную соляную кислоту). Методы основаны на титровании желудочного сока раствором щелочи (1 титрационная единица равна кол-ву 0,1 N раствора щелочи, пошедшему на титрование 100 мл желудочного сока). Принято рассматривать показатели общей кислотности ниже 20 ммоль/л (гипоцидные) и выше 100 ммоль/л – гиперацидные.

Исследование дуоденального содержимого. Физико-химические свойства желчи. Микроскопическое исследование желчи.

1 фазаА (желчь, кишечный сок, секрет поджелудочной железы) - цвет - золотистый, все порции прозрачны, относительная плотность 1,003-1,016, реакция нейтральная или щелочная, микроскопия - единичные клетки плоского и цилиндрического эпителия, единичные лейкоциты;

2 фаза (цвет закрытого сфинктера Одди) - период отсутствия желчи, все порции прозрачны, микроскопия - единичные клетки плоского и цилиндрического эпителия, единичные лейкоциты;

3 фаза желчь А₁(желчь печеночная) - цвет - золотистый, консистенция - тягучая, относительная плотность 1,007-1,005, реакция - щелочная, микроскопия - единичные клетки плоского и цилиндрического эпителия, единичные лейкоциты;

4 фаза В (желчь из желчного пузыря) - цвет - оливковый, консистенция - тягучая, относительная плотность 1,016-1,032, реакция - щелочная, микроскопия - единичные клетки плоского и цилиндрического эпителия, единичные лейкоциты);

5 фаза С (желчь, попадающая в двенадцатиперстную кишку, в период зондирования) - цвет - золотистый, консистенция - тягучая, относительная плотность 1,007-1,011, реакция - щелочная, микроскопия - единичные клетки плоского и цилиндрического эпителия, единичные лейкоциты.

Наличие лейкоцитов:

- порция А - дуодениты, крупные желчные протоки;
- порция В - локализация процесса в желчном пузыре;
- порция С - холангиты.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Основные методы получения желудочного содержимого.
2. Основные методы получения дуоденального содержимого.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать показатели желудочного содержимого;
2. Интерпретировать показатели дуоденального содержимого.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Основные методы получения желудочного содержимого.
2. Основные методы получения дуоденального содержимого.
3. Физико-химические свойства желудочного содержимого.
4. Физико-химические свойства дуоденального содержимого.
5. Микроскопическое исследование желудочного содержимого.
6. Микроскопическое исследование дуоденального содержимого

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- анализатор тест-полосок «Урометр 120».

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»;
- центрифуга «Листон»;

Лабораторные работы: определение физико-химических свойств дуоденального содержимого, микроскопическое исследование осадка.

Лабораторная работа №1.

Определение физико-химических свойств дуоденального содержимого, микроскопическое исследование осадка.

Проведение данного исследования включает:

- определение физико-химических свойств дуоденального содержимого;
- микроскопическое исследование осадка дуоденального содержимого;
- интерпретация полученных данных.

Принцип метода:

1. Определение физико-химических свойств дуоденального содержимого на анализаторе с использованием полосок позволяет определить рН, относительную плотность.

2. Микроскопическое исследование дуоденального содержимого проводят в каждой порции. Обнаружение в желчи кристаллов холестерина, кристаллов жирных кислот, билирубината кальция указывает на изменения коллоидных свойств желчи и возможность развития холелитиаза. Микроскопическое исследование используют для диагностики паразитарных заболеваний (лямблиоз, инвазия кишечной угрицей, инвазия печеночной двуусткой, инвазия сибирской двуусткой). Обнаружение в желчи лейкоцитов может указывать на воспалительный процесс в желчевыводящих путях.

3. Для определения билирубина в желчи можно использовать те же методы, что и для определения билирубина в крови.

Методика выполнения:

1. ***Клинический анализ дуоденального содержимого*** выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом. Полоску

опускают в каждую пробирку согласно извлеченным порциям, излишки содержимого убирают фильтровальной бумагой, устанавливают полоску в анализатор. Через несколько секунд производится обработка биологического материала и данные образца выходят на печать.

2. *Микроскопическое исследование* проводится в каждой порции (объектив x 40, окуляр x 7,5).

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов

1-А; 3-Г; 4-Б; 2-А; 3-Б; 3-Д; 5-Д; 2-В; 4-Г; 1-В; 5-Б:

- | | |
|--|---------------|
| 1) цвет дуоденального содержимого (порция А) | А) оливковый |
| 2) цвет дуоденального содержимого (порция В) | Б) 15-45 мл |
| 3) количество (порция А) | В) золотистый |
| 4) количество (порция В) | Г) 20-50 мл |
| 5) количество (порция А ₁) | Д) 3-5 мл |

2. Выберите правильный ответ из представленных вариантов:

Темная окраска желчи наблюдается при:

- 1) циррозе печени
- 2) хроническом холецистите
- 3) инфекционном гепатите
- 4) гемолитической анемии
- 5) болезни Боткина

3. На что указывает наличие лейкоцитов в желчи (порция А)?

4. В какой порции наличие лейкоцитов указывает на наличие воспалительного процесса в желчном пузыре?

Ситуационная задача №1

При микроскопическом исследовании желудочного содержимого в 0 порции было выявлено непереваренная клетчатка, жир и мышечные волокна. О каком нарушении функции желудка может идти речь?

Ситуационная задача №1

При микроскопическом исследовании дуоденального содержимого было обнаружено значительное количество микролитов, умеренное количество лейкоцитов. Какая порция желчи была исследована и о каком заболевании можно подумать?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какие показатели определяют для суждения кислотообразующей функции желудка?
2. Каким заболеванием обусловлен зеленый цвет желчи в порции В?
3. Что лежит в основе титрования желудочного сока?
4. Высокие или низкие цифры кислотности чаще всего указывают на язвенную болезнь желудка?
5. Ахилия – это....

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Напишите показатели свободной соляной кислоты в желудочном содержимом, которые соответствуют норме.
2. Для чего проводят микроскопическое исследование дуоденального содержимого?

IX. Список используемой литературы

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.

2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.

2. Клиническая лабораторная диагностика. Справочник для врачей/ под ред. В.Я. Яковлева.- Изд. 2-е, стереотипн.- СПб.: Гиппократ, 1997. – 208 с.

3. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950.-804 с.

Занятие №4

Тема: Состав панкреатического и кишечного секрета. Клиническое исследование кала.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Состав панкреатического и кишечного секрета. Состав нормального кала.

Исследование макроскопической картины кала.

Цвет:

- коричневый - норма;
- светло-желтый – употребление молочной пищи;
- темно-коричневый – употребление мясной пищи;
- черный - при кровотечениях из верхних отделов желудочно-кишечного тракта;
- обесцвеченный - при прекращении или уменьшении поступления билирубина в кишечник;
- светлый - при большом содержании нем жира.

Оценивается кол-во кала (норма 100-250 г), консистенция, примесь остатков пищи (при нарушении перевариваемости), примесь крови (геморрой, язвенные колиты, рак прямой кишки), примесь слизи и гноя (воспаление).

В нормальном кале растворимый белок не содержится, появление белка наблюдается при воспалительных процессах в кишечнике.

Основным источником органических кислот (молочной, масляной, уксусной) являются углеводы пищи. Уменьшение содержания органических кислот - повышение процессов гниения, увеличение - усиление брожения.

Увеличение содержания мышечных волокон (креаторея) и появление непереваренных остатков пищи - ахилия, ускоренная эвакуация, нарушение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы, гнилостной диспепсии.

Увеличение содержания жира (стеаторея) - нарушение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы, при механической желтухе, гепатитах, нарушении всасывания в тонком кишечнике.

Увеличение содержания в кале клетчатки (китаринорея) - встречается при состояниях, сопровождающихся ахилией, энтеритом, энтероколитом, уменьшается - при запорах.

Крахмал в нормальном кале не обнаруживается. Появление крахмала в кале - ускоренное продвижение пищи по кишечнику, при броидильной диспепсии.

Обнаружение в кале лейкоцитов при микроскопическом исследовании имеет диагностическое значение при воспалительных процессах различной этиологии в кишечнике, появление эритроцитов - для диагностики кровотечений.

В кале могут быть обнаружены патогенные (дизентерийная амеба, балантидий кишечный, кишечные трихомонады) и непатогенные простейшие (кишечная амеба и т.д.) Патогенность лямблий ставится под сомнение.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Состав панкреатического и кишечного секрета.
2. Общие свойства кала.
3. Химическое исследование кала.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать показатели клинического исследования кала.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Состав панкреатического секрета.
2. Состав кишечного секрета.
3. Клиническая оценка результатов исследования кала.

III. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- тест-система для исследования кала на скрытую кровь.
- центрифуга «Листон».

Лабораторные работы: исследование кала на скрытую кровь.

Лабораторная работа №1.

Исследование кала на скрытую кровь

Проведение данного исследования включает:

- определение скрытой крови в кале с помощью теста;
- тест основан на иммунной хроматографии;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: иммунная хроматография (тест на скрытую кровь).

Методика выполнения:

Прогреть реагенты до комнатной температуры (20 - 25°C). В пробирку добавить 1 мл буфера (Diluenta). Стул (100 мкл или 50 мг) поместить в пробирку с буфером. Перемешать на Vortexe, гомогенизировать и оставить на 3 минуты. 200 мкл supernatanta перенести в кассету. По истечении 5 минут снять результат.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

1-А; 3-А; 2-Б;3-В;1-В; 3-В.

- | | |
|----------------|--|
| 1) креаторея | А) появление мышечных волокон в кале |
| 2) стеаторея | Б) повышение содержания жира в кале |
| 3) китаринорея | В) повышение содержания клетчатки в кале |

2. На что указывает наличие растворимого белка в кале?

3. При каком заболевании в кале появляется крахмал?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Что такое копрограмма?

2. Резко щелочная реакция кала свидетельствует о

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. При каких заболеваниях может отмечаться положительная реакция на скрытую кровь?

2. Какой фермент окрашивает кал?

Ситуационная задача №1

При копрологическом исследовании кала было выявлено значительное количество примеси гноя и неизменной крови. О каких заболеваниях может идти речь при таких показателях копрограммы?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая лабораторная диагностика. Справочник для врачей/ под ред. В.Я. Яковлева.- Изд. 2-е, стереотипн.- СПб.: Гиппократ, 1997. – 208 с.
3. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950.-804 с.

Занятие №5

Тема: Физико-химические свойства мокроты, микроскопическое исследование.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Физико-химические свойства мокроты, микроскопическое исследование.

Макроскопическое исследование мокроты:

количество - указать количество исследуемой мокроты (за сутки);

цвет - определение окраски производится визуально (зависит от характера мокроты);

характер - слизистый, слизисто-гнойный, слизисто-гнойный-кровянистый, серозный, серозно-гнойный, кровянисто-слизистый и пр.;

консистенция - жидкая, полужидкая, вязкая, клейкая (зависит от состава мокроты);

запах - свежевыделенная мокрота запаха не имеет, неприятный запах определяется при абсцессе легкого и гнилостный – при гангрене, распаде злокачественной опухоли;

реакция (pH) - определяется с помощью тест-системы.

Клиническое исследование мокроты:

- определение физико-химических свойств мокроты;
- микроскопия мазка при наличии клеточных элементов.

Бактериоскопическое исследование мокроты:

- на фиксированный мазок кладут кусочек фильтровальной бумаги, не превышающий по размерам предметное стекло, наливают фуксин Циля и нагревают на горелке до отхождения паров;

- снимают бумагу с фуксином, ополаскивают водой;

- опускают в стакан с 5% серной кислотой, промывая до обесцвечивания, тщательно промывают водой;

- докрашивают метиленовой синькой в течение 3-5 минут;

- проводят микроскопическое исследование мазка.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Физико-химические свойства мокроты.
2. Микроскопическое исследование.
3. Бактериоскопическое исследование мокроты.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать показатели клинического анализа мокроты.
2. Интерпретировать показатели бактериоскопического анализа

мокроты.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Физико-химические свойства мокроты.
2. Микроскопическое исследование.
3. Бактериоскопическое исследование мокроты.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»

Лабораторные работы: определение физико-химических свойств мокроты (количество, цвет, характер, консистенция, запах, реакция pH); микроскопическое исследование окрашенного препарата мокроты.

Лабораторная работа №1.

Определение физико-химических свойств мокроты, микроскопическое исследование мокроты.

Проведение данного исследования включает:

- определение физико-химических свойств мокроты;
- микроскопическое исследование окрашенного препарата мокроты;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: проводится макроскопическая оценка мокроты (цвет, запах, вязкость, рН с помощью лакмусовых полосок); микроскопия окрашенного препарата мокроты.

Методика выполнения:

1. Клинический анализ мокроты выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом.

2. Микроскопия окрашенного препарата и дифференциация клеточных элементов, эпителия, альвеолярных макрофагов, эластических волокон, кристалл Шарко-Лейдена и спираль Куршмана, при наличии данных элементов в мокроте.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

2-Д; 3-Г; 4-Г; 5-Д; 3-В; 6-Б; 2-Г; 4-В; 6-А; 1-А; 5-Е.

- | | |
|--------------------------------------|---------------------|
| 1) рН мокроты в норме | А) 5,5 - 6,5 |
| 2) характер мокроты в норме | Б) 7,5 - 8,0 |
| 3) консистенция мокроты в норме | В) жидкая |
| 4) консистенция мокроты при бронхите | Г) вязкая |
| 5) характер мокроты при бронхите | Д) слизистый |
| 6) рН мокроты при бронхите | Е) слизисто-гнойный |

2. На что указывает наличие клеточных элементов при микроскопии мазка мокроты?

3. При каком заболевании бывает неприятный запах мокроты?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Для чего проводят бактериоскопическое исследование мокроты?

2. Что можно выявить при макроскопическом исследовании мокроты?

3. Что лежит в основе микроскопии мазка мокроты?

4. Эозинофилия в мокроте характерна для:

- А) бронхиальной астмы
- Б) острого бронхита
- В) хронического бронхита
- Г) туберкулеза легких

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Напишите показатели клинического анализа мокроты в норме?
2. При каких заболеваниях верхних дыхательных путей мокрота имеет слизисто-гнойный?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая лабораторная диагностика. Справочник для врачей/ под ред. В.Я. Яковлева.- Изд. 2-е.- СПб.: Гиппократ, 1997. – 208 с.
3. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950.- 804 с.

Занятие №6

Тема: Физико-химические свойства ликвора, микроскопическое исследование.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Физико-химические свойства, микроскопическое исследование.

Понятие цитоза.

Ликвор следует исследовать немедленно после пункции.

Макроскопическое исследование включает цвет (в норме - бесцветна, при патологических процессах СМЖ может быть окрашена в различные цвета), красный цвет - примесь неизменной крови (эритроцитархия). Прозрачность определяют путем сравнения его с дистиллированной водой. Мутность может быть обусловлена присутствием в ней эритроцитов, лейкоцитов, клеточных тканевых элементов, большого кол-ва микроорганизмов и повышенным содержанием белка. Реакция ликвора 7,4-7,5, относительная плотность в норме 1,005-1,009. Для подсчета форменных элементов пользуются счетной камерой Фукса-Розенталя и микроскопом. Подсчет лейкоцитов (цитоз) в норме - 7-10 кл/3 мкл. Подсчет эритроцитов - диагностика геморрагического инсульта. Дифференциация клеточных элементов производится в окрашенных препаратах. Определение белка в ликворе допустимо с помощью тест-систем (диагностические полоски АльбуФан, Урискан и т.д.). Нормальное содержание белка в ликворе из желудочков мозга 0,12 -0,2 г/л, из большой цистерны - от 0,1 до 0,22 г/л, при люмбальной пункции - от 0,22 до 0,33 г/л. Определение глюкозы применяют те же методы, что для выявления глюкозы в крови, чаще всего ферментативный, но можно использовать тест-системы. Определение электролитов в СМЖ производят так же, как при исследовании крови. Понижение содержания хлоридов в ликворе – постоянный признак менингита.

Острые нарушения мозгового кровообращения - инсульты делят на две группы: геморрагические (кровоизлияния в мозги под оболочки) и ишемические (тромботические и нетромботические инфаркты мозга).

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Физико-химические свойства ликвора;
2. Микроскопическое исследование;
3. Подсчет клеточных элементов в камере Фукса-Розенталя.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать показатели клинического анализа ликвора.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Клинический анализ ликвора. Физико-химические свойства ликвора.
2. Интерпретация микроскопического исследования ликвора.
3. Клинико-диагностическое значение микроскопического исследования ликвора.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»
- камера Горяева
- камера Фукса-Розенталя
- центрифуга «Листон»

Лабораторные работы: определение физико-химических свойств ликвора; подсчет клеточных элементов в камере Фукса-Розенталя.

Лабораторная работа №1.

Определение физико-химических свойств ликвора. Подсчет клеточных элементов в камере Фукса-Розенталя.

Проведение данного исследования включает:

- определение физико-химических свойств ликвора с помощью тест-полосок;

- подсчет клеточных элементов в камере Фукса-Розенталя;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: определение физико-химических свойств ликвора с использованием тест-полосок позволяет определить рН, относительную плотность, наличие белка, глюкозы; подсчет лейкоцитов в камере Горяева и камере Фукса-Розенталя.

Методика выполнения:

1. *Клинический анализ ликвора* выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом. Тест-полоску опускают в пробирку с ликвором, устанавливают тест-полоску в анализатор. Через несколько секунд производится обработка биологического материала и данные образца выходят на печать.

2. С целью *разрушения эритроцитов ликвор* смешивают с 30% раствором уксусной кислоты, используя смеситель для лейкоцитов. Набрать до метки «1» реактив, кончик смесителя вытереть и до метки «11» набрать ликвор (ликвор в пробирке перемешать и перелить в кювету).

Оставить смеситель на 20-30 минут, первые 2 капли смесителя вылить, затем заполнить счетную камеру (Фукса-Розенталя). Лейкоциты считают по всей камере при малом увеличении микроскопа.

$$X = A \cdot 11 / 3,2 \cdot 10, \text{ т.е. } A/3$$

A – кол-во клеток по всей камере;

3,2 – объем камеры;

11/10 – степень разведения ликвора реактивом.

Подсчет эритроцитов.

Количество эритроцитов подсчитывают в счетной камере Горяева.

Для этого 9 частей изотонического раствора хлорида натрия и 1 часть ликвора смешивают в пробирке, перемешивают, заполняют счетную камеру

Горяева, определяют число эритроцитов в 5 больших квадратах (расчерченных) по диагонали. Полученный результат умножают на 500.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

2-Ж; 1-Е; 3-А; 4-Г; 3-З; 2-В; 4-Д; 1-Б.

- | | |
|-------------------------------|------------------------|
| 1) рН ликвора в норме | А) 2,8 - 3,9 ммоль/л |
| 2) норма белка в ликворе | Б) 7,4 - 7,5 |
| 3) норма глюкозы в ликворе | В) 0,22 г/л - 0,33 г/л |
| 4) норма лейкоцитов в ликворе | Г) 7 - 10 кл/3 мкл |
| | Д) 0 - 2 кл/3 мкл |
| | Е) 6,4 - 7,8 ммоль/л |
| | Ж) 0,12 г/л - 0,24 г/л |
| | З) 3,4 - 5,4 |

2. На что указывает повышение белка в ликворе?

3. На какое заболевание указывает наличие эритроцитов в ликворе?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Что такое цитоз?

2. Эритроцитархия – это...

3. Гипопротеинария – это...

4. Ксантохромия – это...

5. Нормальное содержание белка в ликворе:

А) 0,033 - 0,1 г/л

Б) выше 0,5 г/л

В) 0,2 - 0,3 г/л

Г) 0,3 - 0,5 г/л

Д) полностью отсутствует

Ситуационная задача №1

В неврологическое отделение поступил больной с высокой температурой и жалобами на головную боль. В лабораторном исследовании ликвора было выявлено увеличение белка до 3 г/л, цитоз 400/3, отсутствие глюкозы. О каком заболевании можно подумать?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	- 1 час 40 минут
Переключки	- 5 минут
Разбор основных вопросов темы	- 40 минут
Тестовый опрос	- 20 минут
Проведение лабораторной работы	- 20 минут
Оформление протоколов	- 10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. На что указывает снижение глюкозы в ликворе?
2. При каких заболеваниях ЦНС встречается цитоз в ликворе?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А. Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013 - 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая лабораторная диагностика. Справочник для врачей/ под ред. В.Я. Яковлева.- Изд. 2-е, стереотипн.- СПб.: Гиппократ, 1997. – 208 с.
3. Лабораторное исследование спинномозговой жидкости. // С.Г. Марданлы, Ю.В. Первушин, Н.И. Ковалевич, В.Н. Иванова. Методическое пособие. Электрогорск. 2006. -76 с.

4. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Занятие №7

Тема: Физико-химические свойства выпотных жидкостей, микроскопическое исследование.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Физико-химические свойства выпотных жидкостей, микроскопическое исследование. Дифференциальная диагностика экссудатов и трансудатов, микроскопическое исследование.

Исследования	Трансудаты	Экссудаты
Относительная плотность	обычно < 1,015 редко >1,025	1,015 - 1,018
Свертывание	Не свертывается	Свертывается
Цвет и прозрачность	Почти прозрачен, лимонно-желтого или светло-желтого цвета	Серозные экссудаты по виду не отличаются от трансудатов, остальные виды экссудатов мутные, цвет различен
Реакция Ривальты	Отрицательная	Положительная
Содержание белка, г/л	5 - 25	30 - 50
Отношение концентрации белка в выпоте/сыворотке крови	< 0,5	>0,5
ЛДГ	< 200 МЕ/л	> 200 МЕ/л
Отношение ЛДГ в выпоте/сыворотке крови	< 0,6	> 0,6
Отношение концентрации холестерина в выпоте/сыворотке крови	< 0,3	> 0,3
Цитологическое исследование	Клеточных элементов мало, обычно мезотелиальные клетки,	Клеточных элементов больше, чем в трансудатах.

	эритроциты, иногда преобладают лимфоциты, после повторных пункций иногда эозинофилы	иногда после пункций	Количество клеточных элементов, их виды и состояние зависят от этиологии и фазы воспалительного процесса
--	---	----------------------	--

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Физико-химические свойства выпотных жидкостей;
2. Микроскопическое исследование.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать показатели выпотных жидкостей.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Физико-химические свойства транссудатов;
2. Физико-химические свойства экссудатов;
3. Клинико-диагностическое значение микроскопического исследования выпотных жидкостей.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- автоматический биохимический анализатор СА-400;
- микроскоп бинокулярный «Миктрон»4
- центрифуга «Листон».

Лабораторные работы: определение физико-химических свойств выпотных жидкостей; микроскопическое исследование выпотных жидкостей.

Лабораторная работа №1.

Определение физико-химических свойств выпотных жидкостей.

Микроскопическое исследование выпотных жидкостей.

Проведение данного исследования включает:

- определение физических свойств выпотных жидкостей;

- определение количества белка и глюкозы на биохимическом анализаторе;
- микроскопическое исследование выпотных жидкостей;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: определение физических свойств выпотных жидкостей с использованием тест-полосок (рН и относительную плотность); определение концентрации белка и глюкозы на биохимическом анализаторе; микроскопическое исследование мазка, приготовленного из осадка выпотных жидкостей.

Методика выполнения:

1. *Клинический анализ выпотных жидкостей* выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом. Тест-полоску опускают в контейнер с жидкостью, излишки убирают фильтровальной бумагой, устанавливают тест-полоску в анализатор. Через несколько секунд производится обработка биологического материала и данные образца выходят на печать

2. Пробирку с жидкостью откручивают на центрифуге (2000 об/мин, 15 минут), отбирают для биохимического исследования и устанавливают в анализатор. *Определяют содержание белка и глюкозы.*

3. Из осадка приготавливают мазок и окрашивают по Романовскому (7-10 минут).

4. При *микроскопическом исследовании* дифференцируют все клеточные элементы.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Выберите правильные ответы из представленных вариантов:

2-В; 1-Ж; 5-Г; 4-Г; 5-А; 2-Б; 3-В; 6-Д; 3-Б; 6-Ж; 1-Д; 4-А.

- | | |
|--|---------------------|
| 1) рН асцитической жидкости в норме | А) 3,9 -6,4 ммоль/л |
| 2) содержание белка в трансудате | Б) 5 - 30 г/л |
| 3) содержание белка в экссудате | В) выше 30 г/л |
| 4) норма глюкозы в асцитической жидкости | Г) <1 ммоль/л |
| 5) норма глюкозы в плевральной жидкости | Д) >7,3 |
| 6) рН плевральной жидкости в норме | Ж) 7,47 |

2. На что указывает наличие лейкоцитов в синовиальной жидкости?

3. При каком заболевании чаще всего накапливается асцитическая жидкость?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Что такое трансудат?

2. Что такое экссудат?

3. Что лежит в основе дифференциальной диагностики выпотных жидкостей?

4. На что указывает увеличение эозинофилов при микроскопическом исследовании плевральной жидкости?

5. На что указывает увеличение атипичных клеток при микроскопическом исследовании асцитической жидкости?

6. Количество белка в экссудате:

А) 5 - 10 г/л

Б) 5 - 25 г/л

В) 25 - 30 г/л

Г) 30 г/л и выше

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. При каких заболеваниях происходит образование экссудата?
2. При каких заболеваниях происходит образование транссудата?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I /под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.-1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая лабораторная диагностика. Справочник для врачей/ под ред. В.Я. Яковлева.- Изд. 2-е, стереотипн.- СПб.: Гиппократ, 1997. – 208 с.
3. Лабораторные методы исследования. В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Занятие №8

Тема: Инфекции, передающиеся половым путем.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Сифилис (устар.: люэс) - хроническое системное венерическое инфекционное заболевание с поражением кожи, слизистых оболочек, внутренних органов, костей, нервной системы с последовательной сменой стадий болезни, вызываемое бактериями вида *Treponema pallidum* (бледная трепонема).

В целом все случаи заболевания сифилисом можно разделить на следующие группы:

- первичный сифилис
- вторичный сифилис
- третичный сифилис
- врождённый сифилис

Сифилис передаётся в основном половым путём, в связи с чем относится к группе венерических заболеваний или ИППП (инфекций, передаваемых половым путём).

В классическом течении сифилитической инфекции принято выделять 4 периода:

- инкубационный;
- первичный;
- вторичный;
- третичный

Материалом для исследования от больных сифилисом служит кровь, отделяемое твердого шанкра, пунктат регионарных лимфатических узлов, ликвор. Выбор материала для исследования и метода микробиологической диагностики определяется стадией патогенеза болезни.

Лабораторное исследование инфекций, передающихся половым путем (ИППП), включает бактериоскопический (в начальной стадии) метод и серологический методы исследования биологического материала.

- *бактериоскопический метод* в начальной стадии заболевания (прямые тесты основаны на непосредственном выявлении возбудителей в очагах поражения);
- *серологический метод* (непрямые тесты основаны на выявлении АТ к возбудителю сифилиса в сыворотке крови).

Гонорея - инфекционное венерическое заболевание, проявляющееся воспалением слизистых оболочек преимущественно мочеполовых путей. Гонококк - возбудитель гонореи, инфекционного венерического заболевания, проявляющегося воспалением слизистых преимущественно мочеполовых путей.

Диагностика гонореи основывается на следующих данных: анамнез заболевания, клиническая картина, обнаружение возбудителя.

Решающее значение имеют лабораторные методы исследования. При подозрении на наличие гонококковой инфекции исследуют отделяемое мочеиспускательного канала, парауретральных протоков, большой железы преддверия влагалища, канала шейки матки, стенок влагалища, секрет предстательной железы, семенных пузырьков, желёз и лакун мочеиспускательного канала, промывные воды прямой кишки.

Трихомониаз - инфекционное воспалительное заболевание, передаваемое половым путем, вызывается простейшим *Trichomonas vaginalis*.

Основными очагами поражения при урогенитальном трихомониазе являются мочеиспускательный канал у мужчин, влагалище и уретра у женщин. В связи с многоочаговостью трихомонадной инфекции при постановке диагноза указывается локализация поражения.

Различают 4 степени чистоты влагалища:

Первая степень - в мазке присутствуют только клетки эпителия и крупные грамположительные неподвижные ацидофильные, не образующие спор палочки, относящиеся к роду *Lactobacillus* - *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum* и др., представляющие основной компонент нормальной микрофлоры влагалища и носящие общее название палочек Дёдерлейна.

Реакция содержимого кислая (рН 4,0 - 4,5).

Вторая степень - кроме палочек Дёдерлейна, которых меньше, чем при первой степени, присутствуют единичные лейкоциты, грамположительные диплококки; в мазке много эпителиальных клеток; реакция содержимого кислая (рН 5,0 - 5,5).

Третья степень - в мазке мало палочек Дёдерлейна, увеличено количество лейкоцитов; присутствует разнообразная микрофлора; реакция слабокислая или слабощелочная (рН 6,0- 7,2).

Четвёртая степень - палочки Дёдерлейна отсутствуют; всё поле зрения микроскопа покрыто отторгнувшимися клетками эпителия, лейкоцитами и различными формами микроорганизмов (например, стрептококки, кишечные палочки, трихомонады и др.); реакция щелочная (рН свыше 7,2). Третья и четвёртая степени чистоты влагалища свидетельствуют о патологических процессах в половых органах.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Краткую характеристику инфекций, передающихся половым путем (ИППП).
2. Микроскопическое исследование влагалищного мазка.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Какой метод является наиболее широко используемым в КДЛ при обследовании на наличие ИППП?
2. Методы, используемые для подтверждения диагноза при ИППП.
3. Интерпретация наличия «ключевых клеток» при микроскопическом исследовании.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»

Лабораторные работы: микроскопическое исследование влагалищных мазков.

Лабораторная работа №1.

Микроскопическое исследование влагалищных мазков.

Проведение данного исследования включает:

- микроскопическое исследование влагалищных мазков;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: окраска влагалищного мазка по методике и микроскопическое исследование.

Методика выполнения:

Микроскопическое исследование влагалищных мазков выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом.

Мазок окрашивают метиленовым синим (7-10 минут). По окрашенным мазкам оценивают характер и количество флоры, выявляют признаки воспаления или дисбактериоза влагалища, а также идентифицируют трихоманады, гонококки и другие возбудители инфекций. Оценка мазков на большом увеличении с иммерсией (окуляр 10, объектив 100), основная диагностическая процедура. Просматривается не менее десяти полей зрения для описания мазка.

Описание флоры.

Оценка флоры проводится с учетом морфологии и грам-принадлежности бактерий. Описание флоры включает обильность, размер, форму бактерий.

Обильность флоры: массивная, обильная, умеренная, скудная, единичные бактерии в п/зр., единичные бактерии в препарате.

+ - до 10 микробных клеток - незначительное количество «скудный рост»;

- ++ от 11 до 100 микробных клеток - умеренное количество;
- +++ от 100 до 1000 микробных клеток - большое количество;
- ++++ более 1000 микробных клеток - массивное количество.

Размер: мелкая, крупная.

Форма: палочковая (бациллярная), кокковая, диплококковая, смешанная (преимущественно палочковая, преимущественно кокковая).

Эпителий:

- единичный в п/зр – до 1 п/зр;
- мало – до 3-х в п/зр;
- умеренно – до 10 в п/зр;
- много – до 20 п/зр;
- обильно – больше 20-25 в п/зр;
- сплошь – покрывают все п/зр.

Лейкоциты.

min - X – max,

min – минимальное количество лейкоцитов в просмотренных п/зр,

X – условная средняя величина, т.е. число лейкоцитов наиболее часто встречающееся в просмотренных полях зрения.

max – максимальное количество лейкоцитов в просмотренных п/зр.

Эритроциты

Количество эритроцитов обозначается аналогично лейкоцитам.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. На что указывает увеличение более 8 лейкоцитов в поле зрения в мазке?

2. Как проводится описание флоры в мазке?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Что такое незавершенный фагоцитоз?

2. Какие функции выполняет микрофлора влагалища?

3. Гонококковая инфекция не поражает:

- А) уретру
- Б) шейку матки
- В) тонкий кишечник
- Г) толстый кишечник
- Д) конъюнктиву глаза

4. При обследовании на гонорею женщин взятие отделяемого для бактериологического анализа проводится из всех очагов, кроме:

- А) уретры
- Б) парауретральных и бартолиновых желез
- В) прямой кишки
- Г) заднего свода влагалища
- Д) цервикального канала

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Перекличка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. «Ключевые клетки» - это
2. Причины дисбактериоза влагалища?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.-1280 с.

Дополнительная

1. Лабораторная диагностика бактериального вагиноза: методические рекомендации/ Савичева А.М., Башмакова М.А., Красносельских Т.В. и др. – СПб: Изд-во Н –Л, 2011. – 28 с.
2. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. Методические рекомендации для лечащих врачей/ А.М. Савичева, Е.В. Соколовский, М. Домейка – Санкт-Петербург: Изд-во Н - Л, 2017. – 60 с.
3. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Раздел 4. «ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ».

Занятие №1

Тема: Гельминтозы и кишечные протозоозы.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Для выявления возбудителей паразитарных болезней применяются: - прямые паразитологические методы, когда возбудитель (гельминты, их фрагменты, яйца и личинки гельминтов, цистные и вегетативные формы простейших) выявляются непосредственно в исследуемом биоматериале (кал, дуоденальное содержимое, моча, кровь, послеоперационный материал, содержимое язв и т.п.), и непрямые паразитологические методы к которым относятся серологические (иммунологические) методы исследования, когда определяют выработку специфических антител организмом инвазированного человека в ответ на внедрение того или иного антигена (паразита).

Цестодозы - гельминтозы, вызываемые ленточными червями – цестодами, относящимися к типу плоских червей.

Дифиллоботриозы - заболевания морских и наземных млекопитающих, птиц и человека, вызываемые широким (*Diphyllobothrium latum*) и другими лентецами.

Нематоды - это непрерывно расширяющийся поток вновь открываемых видов и родов.

Нематодозы - инвазии, вызываемые представителями класса собственно круглых червей (*Nematoda*). Тело нематод удлиненное, нитевидной или веретенообразной формы, длиной от 1 мм до 1 м и более.

Большинство паразитических видов нематод развиваются без промежуточных хозяев - геогельминты (аскарида, власоглав, анкилостома и др.). У некоторых видов нематод (филярии) происходит смена хозяев - биогельминты. Для трихинелл окончательным и промежуточным хозяином является один и тот же организм.

Аскаридоз - пероральный геогельминтоз, антропоноз.

Окончательным хозяином и единственным источником инвазии является человек.

Трихоцефалез - пероральный гельминтоз, антропоноз.

Возбудитель инвазии - власоглав (*Trichocephalustrichiurus*, Власпагд, 1895). Тело власоглава состоит из двух отделов: головного - волосовидного и хвостового - утолщенного.

Энтеробиоз - пероральный контагиозный гельминтоз, антропоноз.

Возбудитель - острица, *Enterobius vermicularis* (Linnaeus, 1758) Нематода небольших размеров. Длина самки 9 - 12 мм, самца 3 - 4 мм.

Дигенетические сосальщики, или трематоды (лат. Digenea) - класс паразитических плоских червей (Plathelminthes).

К трематодам относятся печёночная двуустка (*Fasciolahepatica*), кошачья двуустка (*Opisthorchisfelineus*), шистосома (*Schistosoma*), лейкохлоридийпарадоксальный (*Leucochloridiumparadoxum*).

Чтобы отнести яйца гельминтов к определенным группам по величине, целесообразно исходить из следующих ориентировочных размеров их длины:

очень крупные - от 0,15 мм и больше (*Nematodiruspathiger*);

крупные - 0,1-0,14 мм (*Fasciolaliepatica*);

средние - 0,06-0,09 мм (*Ascarissuum*);

мелкие - 0,03-0,05 мм (*Dicrocoeliumlanceatum*);

очень мелкие - менее 0,03 мм (*Opisthorchisfelineus*).

Простейшие распространены на всей поверхности нашей планеты и живут в самых различных средах.

Простейшее - это самостоятельный организм на клеточном уровне организации.

Низшие представители простейших (например, амёбы) не обладают постоянной формой тела

В диагностике амебиаза главную роль играют исследование кала, серологические реакции, а также неинвазивные методы исследования печени.

Разрабатываются методы, позволяющие дифференцировать этих простейших с помощью моноклональных антител и ПЦР.

Балантидиаз - протозойная инфекция, при которой происходит заражение человека инфузориями *Balantidium coli*, попадающих в организм больного от зараженных свиней.

Лямблиоз (гиардиаз) - заболевание, вызываемое простейшими - лямблиями, паразитирующими в тонкой кишке.

Самым доступным методом лабораторной диагностики лямблиоза является копрологическое исследование. Однако следует отметить, что цисты лямблий в кале можно обнаружить не всегда. Кроме этого желательно провести исследование дуоденального содержимого. А также проводится серологическая диагностика лямблиоза, когда специфические антитела обнаруживаются в крови через 2-4 недели после заражения.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Краткую характеристику возбудителей паразитарных болезней.
2. Методы лабораторной диагностики паразитарных болезней.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Какие методы применяются для выявления возбудителей паразитарных болезней?
2. Цестодозы - гельминтозы, которые относятся к типу...
3. Нематодозы - инвазии, вызываемые представителями класса...

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

Наглядные пособия.

Лабораторные работы: не предусмотрены.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Где паразитируют половозрелые аскариды?
2. Возбудителем инвазии трихоцефалеза является

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Где паразитируют половозрелые острицы?
2. Чем отличаются яйца нематод от яиц трематод?
3. В слизисто-кровянистых выделениях больного с амебиазом

можно обнаружить:

- А) цисты
- Б) споры
- В) гематофаги
- Г) полифаги
- Д) нет правильного ответа

Ситуационная задача № 1

В испражнениях обнаружены яйца нематод, форма яиц овальная, встречаются и шаровидные. У одних из них оболочка фестончатая, окрашена в темно-желтый или коричневый цвет, непрозрачная. У других – оболочка гладкая, двухконтурная, прозрачная и бесцветная. Внутри яйца виден бластомер, между краями которого и полюсами ядра видно свободное пространство.

Обнаружены яйца нематод:

- 1) анкилостоматид;
- 2) власоглава;
- 3) остриц;
- 4) аскарид;
- 5) любой из перечисленных.

Ситуационная задача № 2

У больного с выраженной гипохромной анемией в фекалиях обнаружены яйца гельминтов овальной формы, оболочка прозрачная с тупо закругленными концами, содержит 4 бластомера.

Можно думать о:

- 1) энтеробиозе;
- 2) аскаридозе;
- 3) трихоцефалезе;
- 4) анкилостомидозе;
- 5) любом из перечисленных заболеваний.

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Перекличка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Гельминтокопроскопия - это
2. Какой материал кроме фекалий можно исследовать, учитывая локализацию гельминтов, простейших в организме человека и путей их выделения из организма?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Иммунологические методы исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. //А.А. Кишкун. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 712 с.

2. Лабораторные методы диагностики паразитарных болезней.// Лысенко А.Я., Красильников А.А., М. 1999.-58 с.
3. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Занятие №2

Тема: Лабораторная диагностика малярии.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Паразитологический диагноз **малярии** основан на обнаружении паразитов в окрашенных препаратах (толстая капля и мазок) крови.

Известны 4 вида малярийных паразитов человека:

Plasmodium vivax - возбудитель трехдневной малярии;

Plasmodium malariae - возбудитель четырехдневной малярии;

Plasmodium falciparum - возбудитель тропической малярии;

Plasmodium ovale - возбудитель малярии трехдневного типа.

Морфология малярийных паразитов в мазке крови. Мерозоит, внедрившись в эритроцит, превращается в молодой шизонт, имеющий вид **кольца**. Затем паразит, увеличиваясь, принимает **амебовидную** форму, при этом сохраняется просвет (вакуоль) между ядром паразита и основной частью его цитоплазмы. В цитоплазме паразита появляются зерна пигмента. Амебовидный шизонт заполняет значительную часть эритроцита, затем начинает округляться, вакуоль исчезает (стадия подготовки к делению), пигмент начинает собираться в отдельные пучки. Для плазмодия малярии **шизонты** - лентовидные формы. Ядро паразита начинает делиться, а затем цитоплазма паразита делится так, что к каждому дочернему ядру прилегает отдельный комочек цитоплазмы (меруляция). В результате получается кучка мерозоитов - **морула**. Пигмент на стадии морулы собран в одну компактную кучу. При распаде шизонта на отдельные мерозоиты эритроцит разрушается.

Продолжительность цикла развития малярийного паразита в эритроците составляет для *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium falciparum* - 48 ч, для *Plasmodium malariae* – 72 ч.

Циркулирующие в крови человека половые стадии малярийных паразитов называют гамонтами и гаметоцитами. Гамета – половая клетка, способная участвовать в оплодотворении. Мужские гаметоциты способны к

оплодотворению только в теле камара. Женские гамонты – гаметы в крови человека.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Краткую характеристику малярии.
2. Стадии развития малярийного плазмодия.
3. Микроскопическое исследование «толстой капли».

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Виды малярийных паразитов.
2. Стадии развития малярийного плазмодия.
3. Клинико-диагностическое значение микроскопического исследования «толстой капли».

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Бинокулярный микроскоп «Миктрон».

Лабораторные работы: микроскопическое исследование «толстой капли».

Лабораторная работа №1

Микроскопическое исследование «толстой капли».

Проведение данного исследования включает:

- микроскопическое исследование «толстой капли»;
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: микроскопическое исследование «толстой капли».

Методика выполнения:

Микроскопическое исследование мазков выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом.

На стекле готовят мазок, а потом на еще влажный мазок дают упасть капле крови. Капля равномерно растекается, образуя круг. После того как капля высохнет, на мазке простым карандашом делают соответствующую отметку. Препарат без фиксации окрашивают (20 - 30 минут). Затем осторожно (чтобы не смыть каплю) препарат споласкивают водопроводной водой и высушивают. Мазки и толстые капли микроскопируют иммерсионной системой.

Оценка мазков на большом увеличении с иммерсией (окуляр 10, объектив 100), основная диагностическая процедура.

Просматривается не менее 100 полей зрения для описания мазка.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Какие виды малярийных плазмодиев можно выявить при исследовании «толстой капли»?
2. Что указывает на давность заболевания при тропической малярии?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какое минимальное число полей зрения толстой капли крови необходимо просмотреть при стандартном исследовании крови на малярию?
2. Какое условие нужно выполнять при приготовлении «толстой капли»?
3. Определение видов малярийного плазмодия необходимо для:
 - А) назначения схемы лечения
 - Б) проведения противоэпидемических мероприятий
 - В) прогноза в отношении возможности излечения
 - Г) прогноза в отношении смертельного исхода
 - Д) всего перечисленного

Ситуационная задача № 1

Больной поступил в клинику с приступами лихорадки. Повышение температуры наступает обычно в вечерние часы. Полтора года тому назад он находился в центральной Африке. В мазках крови плазмодии в виде крупных колец, занимающих $1/3$ эритроцита, округлые, крупные компактные трофозоиты с большим ядром и крупными зернами пигмента в цитоплазме, а также стадии зрелого шизонта, состоящего из 6 - 12 мерозоитов, расположенных беспорядочно. Форма у отдельных эритроцитов овальная или с фестончатыми краями.

Обнаружен малярийный паразит:

- 1) *P.falciparum*;
- 2) *P.ovale*;
- 3) *P.malariae*;
- 4) *P.vivax*;
- 5) любой из перечисленных.

Ситуационная задача № 2

У больного через месяц после переливания крови начались приступы лихорадки, повторяющиеся каждый четвертый день. В толстой капле крови обнаружены мелкие, округлой формы, компактные, содержащие пигмент трофозоиты. Теней эритроцитов нет.

Обнаружен вид плазмодия:

- 1) *P.vivax*;
- 2) *P.falciparum*;
- 3) *P.malariae*;
- 4) *P.ovale*;
- 5) любой из перечисленных.

VIII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	- 1 час 40 минут
Перекличка	- 5 минут

Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. «Гаметоциты» - это
2. Назовите самые молодые формы плазмодиев малярии в мазке крови, окрашенной по Романовскому?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Лабораторные методы диагностики паразитарных болезней. //Лысенко А.Я., Красильников А.А., М. 1999.- 58 с.
2. Иммунологические методы исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. //А.А. Кишкун. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 712 с.
3. Лабораторные методы исследования. //В.Е. Предтеченский, В.М. Боровская, Л.Т. Марголина. М. 1950. - 804 с.

Раздел 5. «БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ».

Занятие №1

Тема: Белковый обмен. Определение мочевины, креатинина унифицированными методами.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Белки (протеины) - органические соединения, структурной основой которых служит полипептидная цепь, состоящая из аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями (-CO-NH₂-) в определенной последовательности. Белки являются главными компонентами всех организмов, обеспечивающими выполнение важнейших процессов жизнедеятельности.

Белки плазмы в организме играют многообразную и важную роль:

- поддерживают вязкость и тягучесть крови в сосудистом русле;
- транспорт экзо - и эндогенных веществ;
- участвуют в связывании гормонов, минеральных компонентов, липидов, пигментов и других биологически важных соединений;
- регуляция кислотно-основного состояния;
- являются факторами связывания крови, антителами.

Клинико-биохимический анализ начинается с определения количества общего белка.

Клинико-диагностическое значение содержания общего белка в сыворотке крови можно характеризовать понятиями «нормо-», «гипер-» и «гипопротеинемия». Изменения уровня белка могут быть как абсолютными, так и относительными. Последние обычно наблюдаются при увеличении (уменьшении) объема крови. Большинство заболеваний внутренних органов сопровождаются сдвигами в белковом обмене.

Клинико-диагностическое значение имеют продукты белкового обмена: азот мочевины (46 - 60%), азот аминокислот (до 25%), креатинин (2,5-7,5%), креатин (5%), мочевая кислота (4%) и др.

Азотистый обмен начинается с переваривания азотистых соединений пищи в желудочно-кишечном тракте при участии протеолитических ферментов пепсина, гастриксина, трипсина, химотрипсина и др. с образованием полипептидов, олигопептидов и отдельных аминокислот, которые всасываются в тонкой кишке, поступают в кровь и с ней разносятся по всему организму. Аминокислоты, поступающие в составе белков пищи, используются для синтеза белков органов и тканей организма

Азотистый обмен регулируется на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. У здоровых людей содержание азотистых соединений в органах, тканях, биологических жидкостях находится на относительно постоянном уровне.

Методы определения содержания мочевины подразделяют на две основные группы: *ферментативные* (уреазные) и *неферментативные* (газометрические, ксантигидроловые, и др.). Способы определения содержания креатинина разделены на две основные группы: *неферментативные* (колориметрические и кинетические) и *энзиматические*.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинико-диагностическое содержание общего белка, мочевины и креатинина в сыворотке.
2. Методы определения содержания общего белка, мочевины и креатинина в сыворотке.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы определения содержания общего белка, мочевины и креатинина в сыворотке.
2. Конечные продукты обмена белка.
3. Фракции белка и их клиническое значение.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- автоматический биохимический анализатор «СА-400».
- дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет».
- центрифуга «Листон».

Лабораторные работы: определение содержания общего белка, мочевины и креатинина в сыворотке.

Лабораторная работа №1.

Определение содержания общего белка, мочевины и креатинина в сыворотке на автоматическом биохимическом анализаторе с помощью унифицированных методик.

Проведение данного исследования включает:

- определение общего белка, мочевины и креатинина в сыворотке с помощью унифицированных методик;
- интерпретацию полученных данных.

Методика выполнения:

Биохимическое исследование крови выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом. Биохимические исследования проводятся на автоматическом биохимическом анализаторе « ».

Для калибровки автоматизированного биохимического анализатора используется калибратор фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов используют контрольные сыворотки TruCalN(норму) иР (патологию).

Для работы на анализаторе используются реагенты фирмы DiaSys.

Определение общего белка.

Принцип метода

«Уреазный - глутаматдегидрогеназный»: ферментативный унифицированный тест.

Реагенты R1 (трис, 2-оксоглутарат, АДФ, уреазы, глутаматдегидрогеназа) и R2 (НАДН).

Исследуемые образцы - сыворотка.

Тест на «линейность» в диапазоне концентраций 0,3-50 ммоль/л.

Нормальные величины в сыворотке/плазме

Взрослые.

Общие пределы 2,8 – 7,2 ммоль/л.

Определение мочевины.

Принцип метода

«Уреазный – глутаматдегидрогеназный»: ферментативный унифицированный тест.

Реагенты R1 (трис, 2-оксоглутарат, АДФ, уреазы, глутаматдегидрогеназа) и R2 (НАДН).

Исследуемые образцы - сыворотка.

Тест на «линейность» в диапазоне концентраций 0,3-50 ммоль/л.

Нормальные величины в сыворотке/плазме

Взрослые.

Общие пределы 2,8 – 7,2 ммоль/л.

Определение креатинина

Принцип метода

Кинетический тест без депротеинизации, в соответствии с методом Яффе.

Реагенты R1(гидроокись натрия) и R2 (пикриновая кислота).

Исследуемые образцы - сыворотка.

Тест на «линейность» в диапазоне концентраций 18,0 – 1330 мкмоль/л.

Нормальные величины в сыворотке/плазме

Взрослые.

Общие пределы 53 – 115 мкмоль/л.

Предполагаемые результаты:

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Что является конечным продуктом катаболизма белка?
2. На что указывает повышение значения креатинина в сыворотке?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Что позволяет оценить скорость гломерулярной фильтрации?
2. Для чего проводят параллельное измерение мочевины и креатинина?
 3. Нарушение водного баланса может сопровождаться изменением:
 - 1) гематокрита
 - 2) гемоглобина
 - 3) КОС
 - 4) общего белка
 - 5) всего перечисленного
 4. Лабораторные признаки гипопропротеинемии:
 - 1) снижение количества общего белка и альбумина
 - 2) снижение количества общего белка и повышение альбумина
 - 3) снижение количества общего белка и снижение глобулинов
 - 4) снижение количества общего белка и повышение С-реактивного белка.
 3. С-реактивный белок:
 - 1) повышен при острых воспалительных процессах
 - 2) содержание в крови при остром и хроническом процессе одинаково
 - 3) повышен при хронических заболеваниях
 - 4) не определяется при инфекционных заболеваниях

Ситуационная задача № 1

В биохимическом анализе крови у пациента увеличено содержание общего белка в сыворотке до 96 г/л. Какие дополнительные исследования необходимо провести пациенту?

Ситуационная задача № 2

При проведении биохимического исследования крови было выявлено снижение кол-ва общего белка до 57 г/л и снижение альбумина до 24 г/л. Причины гипопроотеинемии? Какие дополнительные исследования необходимо провести для дифференциальной диагностики выявленных изменений белкового обмена?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Гипопроотеинемия
2. Какая фракция белка увеличивается при гиперпротеинемии?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая биохимия. /под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.- 512 с.
3. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.

Занятие №2

Тема: Методы исследования углеводного и липидного обмена.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Углеводы представляют собой большой класс соединений, включающих в себя моносахариды, ди-, олиго- и полисахариды.

Глюкоза - основной представитель углеводов плазмы.

Методы установления концентрации глюкозы в крови весьма многочисленны.

Редуктометрические основаны на свойствах глюкозы восстанавливать соли тяжелых металлов в щелочной среде (титриметрический способ Хагедорна и Йенсена, который основан на способности глюкозы восстанавливать при кипячении в щелочной среде железосинеродистый калий).

Калориметрические - базируются на методологии определения в конечной точке.

В зависимости от химической природы аналитической реакции эти методы подразделены на *неферментные* и *ферментные* («ручные»).

Для обнаружения глюкозы и кетоновых тел в моче используют диагностические тест-полоски.

Гликоген рассматривается как депонированная форма углеводов. Уровень глюкозы в крови поддерживается в пределах нормальных величин за счет распада гликогена в печени и выхода глюкозы в кровь.

Метаболизм глюкозы на уровне клеток во многом зависит от особенностей гормонального статуса организма, основная роль отводится инсулину – гормону, синтезирующемуся в бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы, который способствует прохождению глюкозы через клеточные мембраны, усиливает поступление глюкозы из крови в ткани, где происходит либо окисление до углекислого газа и воды, либо отложение в гликоген, либо превращение в жиры и аминокислоты.

Глюкагон - гормон, вырабатываемый альфа-клетками островкового аппарата поджелудочной железы, активирует фосфоорилазу печени обуславливая гипергликемию.

Увеличение содержания глюкозы в крови выше пределов нормы носит название *гипергликемия*, появление глюкозы в моче - *глюкозурия*. Повышение глюкозы в крови и наличие глюкозы и кетонных тел в моче - достаточно для подтверждения диагноза сахарного диабета.

Гипергликемия обусловлена двумя основными группами:

- инсулярные - недостаточное содержание в крови инсулина или неэффективностью его действия;

- экстраинсулярные - не зависящие от влияния инсулина.

Принято выделять диабет I типа и диабет II типа.

Гипогликемия - снижение глюкозы в крови - чаще всего связана с абсолютным или относительным повышением уровня инсулина в крови.

Первичная – при заболеваниях поджелудочной железы (гиперплазия бета-клеток, дегенерация альфа-клеток).

Вторичная – у больных с поражением печени, желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, нервные и физические перегрузки, нарушение функции гипоталамуса, надпочечников.

Липиды - разнообразные по химическому строению вещества, проявляющие ряд общих физических, физико-химических и биологических свойств.

Методология исследования общих липидов и их фракций.

Липиды – это группа разнообразных по химическому строению веществ, растворимых в неполярных растворителях (эфире, хлороформе, бензоле) и относительно нерастворимых в воде.

Функции липидов:

- структурная (входят в состав клеточных мембран и обеспечивают их жидкокристаллическое состояние и конформацию белков-рецепторов для гормонов);

- отдельные представители липидов являются гормонами (кортикостероиды, кальцитриол) и витаминами (D₃, F);
- влияют на активность мембранно-связанных ферментов, формируя их конформацию, образование активного центра;
- транспортную (транспортная форма «метаболического топлива» в организме в виде липопротеинов, комплексов жирных кислот с альбуминами и т.д.);
- участвуют в виде передачи нервного импульса;
- являются растворителями для жирорастворимых витаминов А, Д, Е, К, способствуя их всасыванию;
- обеспечивают теплоизоляцию;
- энергетическую - откладываются в запас клетках жировой ткани (адипоцитах).

Классификация липидов

1. Простые липиды - это сложные эфиры жирных кислот и различных спиртов - триацилглицерины, диацилглицерины, моноацилглицерины, эфиры холестерина.

2. Сложные липиды - это сложные эфиры жирных кислот и спиртов, дополнительно содержащие и другие компоненты. Сложные липиды делятся на классы:

- фосфолипиды;
- гликолипиды;
- сульфоллипиды;

3. Предшественники и производные липидов: жирные кислоты, глицерин, стероиды, жирорастворимые витамины, холестерин, простагландины, простагландинины, тромбоксаны.

Высшие жирные кислоты - это алифатические высшие карбоновые кислоты, выделенные из жиров (содержат от 4 до 24 атомов углерода).

Наиболее часто встречаются в организме человека:

1. Насыщенные: пальмитиновая; стеариновая

2. Ненасыщенные: олеиновая; линолевая; линоленовая; арахидоновая.

Биологическое значение.

- входят в структуру простых и сложных липидов;
- полиеновые жирные кислоты, в первую очередь арахидоновая кислота, является субстратом для образования гормоноподобных веществ: простагландинов, простацклинов, тромбоксанов, лейкотриенов;
- основной источник энергии (при окислении 1 молекулы пальмитиновой кислоты образуется 130 молекул АТФ);
- эссенциальные жирные кислоты необходимы для нормального роста, развития и функционирования организма (группа витаминов F).

Все природные ненасыщенные жирные кислоты имеют цис-конфигурацию.

Простагландины -20-С содержащие полиеновые жирные кислоты, имеющие в своем составе пятичленный углеродный цикл.

Простагландины и родственные им простацклины, тромбоксаны, лейкотриены обеспечивают нормальное протекание биохимических и физиологических процессов путем участия в обмене веществ (например, простагландины семейства E вызывают расслабление гладких мышц бронхов и трахеи, простагландины семейства F, наоборот, сокращение, участвуют в воспалительном процессе, усиливая его в очаге воспаления).

Простые липиды:

- нейтральные жиры – это сложные эфиры жирных кислот и трехатомного спирта - глицерина. Природные жиры – смесь триацилглицеринов, в молекулах которых все три сложноэфирные связи образованы разными жирными кислотами. Триацилглицерины – основные компоненты адипоцитов жировой ткани, являющейся депо нейтральных жиров в организме человека и животных.

Сложные липиды (фосфолипиды):

- *глицерофосфатиды* (образованы глицерином и двумя жирными кислотами (насыщенной и ненасыщенной), фосфорной кислотой и

различными азотистыми основаниями. Представители - фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин (кефалин), плазмалогены, кардиолипин, лизофосфолипиды.

- **сфинголипиды** (вместо глицерина содержат высший ненасыщенный спирт сфингозин. Представители - сфингомиелины (в больших количествах встречаются в нервной ткани в цитоплазме клеток, в мембране – фосфолипидный биослой, формируют гидрофильную оболочку липопротеинов, способствуя транспорту гидрофобных липидов.

Гликолипиды (не содержат фосфорной кислоты, вместо азотистых оснований их молекулы содержат углеводы):

- **цереброзиды** (в состав входит сфингозин, ВЖК и D-галактоза. Содержатся в мембранах клеток нервной ткани).

Холестерин – одноатомный циклический спирт, содержащий 27 атомов углерода и способным образовывать с жирными кислотами сложные жиры.

Холестерин - предшественник биологически активных веществ: желчных кислот; мужских и женских половых гормонов; глюкокортикоидов; минералокортикоидов; витамина D₃.

Среди существующих способов количественного определения содержания общих липидов в сыворотке (плазме) крови можно выделить следующие основные группы:

1. Гравиметрические методы, состоящие в установлении навески липидов, извлеченных из определенного объема биологических жидкостей либо гомогената тканей.

2. Окислительные методы, в которых используется окисление липидов бихроматом калия, хромовой кислотой или другими окислителями с последующим титриметрическим или колориметрическим завершением исследования.

3. Методы, основанные на свойстве липидов сыворотки избирательно окрашиваться суданом черным (или другим растворителем, проявляющим “сродство” к липидам).

4. Турбидиметрические методы, базирующиеся на сравнении степени мутности стандартной и исследуемой проб.

5. Методы, основанные на цветной реакции (описанной в 1937 г. Чабролом и Чаранатом), развивающейся при взаимодействии продуктов распада ненасыщенных липидов с реактивом, включающим в себя ванилин, фосфорную и серную кислоты (сульфофосфанилиновый реактив).

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинико-диагностическое значение содержания глюкозы в сыворотке.
2. Клинико-диагностическое значение содержания липидов в сыворотке.
3. Методы определения содержания глюкозы в сыворотке.
4. Методы определения содержания холестерина в сыворотке.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы определения содержания глюкозы в сыворотке.
2. Методы определения содержания холестерина в сыворотке.
3. Тесты, проводимые в КДЛ при повышении уровня глюкозы в крови.
4. Фракции холестерина и их клиническое значение.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- автоматический биохимический анализатор «СА-400».
- центрифуга «Линстон».

- дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет».

Лабораторные работы: определение содержания глюкозы в сыворотке.

Лабораторная работа №1.

Определение содержания глюкозы в сыворотке на автоматическом биохимическом анализаторе с помощью унифицированной методики.

Проведение данного исследования включает:

- определение глюкозы в сыворотке с помощью унифицированной методики;
- интерпретацию полученных данных.

Методика выполнения:

1. Биохимическое исследование крови выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом. Биохимические исследования проводятся на автоматическом биохимическом анализаторе «СА - 400 ».

2. Для калибровки автоматизированного биохимического анализатора используется калибратор фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов используют контрольные сыворотки TruCalN(норму) иР (патологию).

Для работы на анализаторе используются реагенты фирмы DiaSys.

Определение глюкозы.

Принцип метода

Ферментативный фотометрический тест с использованием глюкозооксидазы.

Окрашенный индикатор хинонимин образуется из фенола и 4-аминоантипирина под действием пероксида водорода при каталитическом воздействии пероксидазы (реакция Триндера).

Исследуемые образцы – сыворотка.

Реагент

Фосфатный буфер, ммоль/л рН 7,5

Фенол, моль/л

4- Аминоантипирин, ммоль/л

Глюкозооксидаза, кЕ/л

Пероксидаза, кЕ/л

Стандарт, ммоль/л

Тест на «линейность» в диапазоне концентраций 0,06 – 22,2 ммоль/л

Нормальные величины в сыворотке/плазме

Взрослые.

Общие пределы 3,9 -6,4 ммоль/л

Определение холестерина

Принцип метода

Ферментативный фотометрический тест.

Определение холестерина ферментативным гидролизом и окислением.

Окрашенный индикатор хинонимин образуется из фенола и 4-Аминоантипирина под действием пероксида водорода при каталитическом воздействии пероксидазы (реакция Триндера).

Исследуемые образцы – сыворотка.

Реагенты:

Good·сбуфер, ммоль/л рН 6,7

Фенол, ммоль/л

4-Аминоантипирин, ммоль/л

Холестеринэстераза, Е/л

Холестериноксидаза, Е/л

Пероксидаза, кЕ/л

Стандарт, ммоль/л

Тест на «линейность» в диапазоне концентраций 0,08 – 19,4 ммоль/л

Нормальные величины в сыворотке/плазме

Взрослые.

Общие пределы 5,2 ммоль/л

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. На что указывает повышение значения глюкозы в сыворотке?
2. На что указывает повышение значения холестерина в сыворотке?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Гипогликемический эффект осуществляет
2. Основным органом, участвующим в гемостазе глюкозы крови является...
3. Основным признаком сахарного диабета типа 2 является:
 - А) нарушение взаимодействия инсулина с клетками инсулинзависимых тканей
 - Б) кетоацидоз
 - В) ожирение
 - Г) поражение бета-клеток островков поджелудочной железы
 - Д) уменьшение уровня инсулина в крови
4. Какой класс липопротеинов указывает на высокий риск атеросклероза:
 - А) ЛПВП
 - Б) ЛПНП
 - В) ЛПОНП
 - Г) хиломикроны

Ситуационная задача № 1

При проведении биохимического анализа крови впервые было выявлено увеличение уровня глюкозы (7,8 ммоль/л). Какое исследование необходимо провести пациенту для установления длительности гипергликемии?

Ситуационная задача № 2

При биохимическом исследовании крови выявлено увеличение общего холестерина и ЛПНП. Какому риску подвергается пациент при таком соотношении аналитов в липидограмме?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Что характерно для гипергликемической комы?
2. Какая фракция липопротеинов указывает на высокий риск атеросклероза?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая биохимия. /под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 512 с.
3. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.

Занятие №3

Тема: Методы исследования пигментного обмена.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Наиболее хорошо известен пигмент крови - гемоглобин (хромопротеин, который состоит из белковой части глобина и простетической группы, представленной 4 гемами, каждый гемм состоит из 4 пиррольных ядер, которые связаны между собой метиновыми мостиками, в центре находится ион железа со степенью окисления 2^+). Средний срок жизни эритроцита составляет 100-110 суток. По окончании этого периода происходит разрушение и деструкция гемоглобина. Процесс распада начинается уже в сосудистом русле, завершается в клеточных элементах системы фагоцитирующих мононуклеаров (купферовские клетки печени, гистиоциты соединительной ткани, плазматические клетки костного мозга). Гемоглобин в сосудистом русле связывается с гаптоглобином плазмы и задерживается в сосудистом русле, не проходя почечный фильтр. Вследствие трипсиноподобного действия бета-цепи гаптоглобина и вызванных его влиянием конформационных изменений в порфириновом кольце гема создаются условия для более легкого разрушения гемоглобина в клеточных элементах системы фагоцитирующих мононуклеаров. Образующийся таким образом высокомолекулярный пигмент зеленого цвета **вердоглобин** (синонимы: вердогемоглобин, холеглобин, псевдогемоглобин) представляет собой комплекс, состоящий из глобина, разорванной системы порфиринового кольца и трехвалентного железа. Дальнейшие превращения приводят к потере вердоглобином железа и глобина, в результате чего порфириновое кольцо разворачивается в цепь и формируется низкомолекулярный желчный пигмент зеленого цвета - **биливердин**. Почти весь он ферментативным путем восстанавливается в важнейший красно-желтый пигмент желчи - **свободный билирубин**, являющийся обычным компонентом плазмы крови. На поверхности плазматической мембраны гепатоцита подвергается диссоциации. При этом высвобожденный билирубин образует временный

ассоциат с липидами плазматической мембраны и перемещается через нее благодаря деятельности определенных ферментных систем. Дальнейшее прохождение свободного билирубина в клетку происходит при участии в этом процессе двух белков-переносчиков: лигандина (он транспортирует основное количество билирубина) и протеина Z.

Билирубинглюкурониды (или связанный, конъюгированный билирубин) в отличие от свободного билирубина тотчас вступают в реакцию с диазореактивом (“прямой” билирубин). Следует иметь в виду, что в самой плазме крови билирубин, не конъюгированный с глюкуроновой кислотой, может быть либо связан с альбумином, либо нет. Последняя фракция (не связанного ни с альбумином, ни с липидами, ни с другими компонентами крови билирубина) наиболее токсична.

Билирубинглюкурониды благодаря ферментным системам мембран активно перемещаются через них (против градиента концентрации) в желчные ходы, выделяясь вместе с желчью в просвет кишечника. В нем под воздействием ферментов, продуцируемых кишечной микрофлорой, происходит разрыв глюкуронидной связи. Высвобожденный свободный билирубин восстанавливается с образованием в тонком кишечнике сначала мезобилирубина, а затем и мезобилиногена (уробилиногена). В норме определенная часть мезобилиногена, всасываясь в тонком кишечнике и в верхнем отделе толстого, через систему воротной вены попадает в печень, где практически полностью разрушается (путем окисления), превращаясь в дипиррольные соединения – пропент-диопент и мезобилилейкан.

Мезобилиноген (уробилиноген) при этом в общий ток кровообращения не поступает. Часть его вместе с продуктами разрушения вновь направляется в просвет кишечника в составе желчи (энтерогепотальный круговорот). Однако даже при самых незначительных изменениях в печени ее барьерная функция во многом “снимается” и мезобилиноген попадает сначала в общий ток кровообращения, а затем в мочу. Основная же масса его направляется из тонкого кишечника в толстый,

где под влиянием анаэробной микрофлоры (кишечной палочки и других бактерий) подвергается дальнейшему восстановлению с образованием стеркобилиногена. Образовавшийся стеркобилиноген (суточное количество 100-200 мг) почти полностью выделяется с калом. На воздухе он окисляется и превращается в стеркобилин, являющийся одним из пигментов кала. Небольшая часть стеркобилиногена попадает путем всасывания через слизистую оболочку толстого кишечника в систему нижней полой вены, доставляется с кровью в почки и выделяется с мочой.

Таким образом, в моче здорового человека мезобилиноген (уробилиноген) отсутствует, но в ней содержится некоторое количество стеркобилина (который часто не совсем правильно называют “уробилином”)

Для определения содержания билирубина в сыворотке (плазме) крови используют в основном химические и физико-химические методы исследования, среди которых выделяют колориметрические, спектрофотометрические (ручные и автоматизированные), хроматографические, флюориметрические и некоторые другие.

Один из важных субъективных признаков нарушения пигментного обмена - появление желтухи, которое отмечается обычно при уровне билирубина в крови 27-34 мкмоль/л и более. Причинами гипербилирубинемии могут быть: 1) усиление гемолиза эритроцитов, 2) нарушение функции печеночных клеток и 3) задержка оттока желчи. В первом случае говорят о так называемой гемолитической желтухе, во втором - о паренхиматозной (может быть вызвана наследственно обусловленными дефектами в процессах транспорта билирубина и его глюкуронидирования), в третьем - о механической (или обтурационной, застойной) желтухе.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинико-диагностическое значение содержания билирубина в сыворотке.
2. Методы определения содержания билирубина в сыворотке.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы определения содержания билирубина в сыворотке.
2. Фракции билирубина.
3. Дифференциальная диагностика желтух.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- автоматический биохимический анализатор «СА-400».
- центрифуга «Линстон».
- дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет».

Лабораторные работы: определение содержания билирубина в сыворотке.

Лабораторная работа №1

Определение содержания билирубина в сыворотке на автоматическом биохимическом анализаторе.

Проведение данного исследования включает:

- определение билирубина в сыворотке с помощью унифицированной методики;
- интерпретацию полученных данных.

Методика выполнения:

Биохимическое исследование крови выполняют при соблюдении всех правил работы с биологическим материалом. Биохимические исследования проводятся на автоматическом биохимическом анализаторе «СА - 400 ».

Для калибровки автоматизированного биохимического анализатора используется калибратор фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов используют контрольные сыворотки TruCalN(норму) и P (патологию).

Для работы на анализаторе используются реагенты фирмы DiaSys.

Определение билирубина

Принцип метода

Фотометрический тест с 2,4- дихлоранилином.

В кислой среде, в присутствии диазотированного 2,4- дихлоранилина, билирубин образует азотсоединение красного цвета. Специфическая смесь детергентов делает возможным надежное и точное определение общего билирубина.

Исследуемые образцы – сыворотка.

Реагенты

R1: Фосфатный буфер, ммоль/л pH 7,5

NaCl, г/л

Детергент, стабилизаторы

R2: Диазониевая соль

2,4- дихлорфенила, ммоль/л

HCl, ммоль/л

Детергент, стабилизаторы

Тест на «линейность» в диапазоне концентраций 0,1 – 30 мг/дл

Нормальные величины в сыворотке/плазме

Взрослые.

Общие пределы 1,7 - 21 мкмоль/л

Выполняется обсуждение результатов, и делаются выводы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. На что указывает повышение значения общего билирубина в сыворотке?
2. На что указывает повышение значения непрямого билирубина в сыворотке?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какой билирубин увеличивается при гемолизе эритроцитов?
2. Для какого заболевания характерно повышение в крови конъюгированного билирубина?

3. Содержание общего билирубина в крови здорового человека:
- А) 6,5 – 8,5 мкмоль/л
 - Б) 1,7 – 21 мкмоль/л
 - В) 10,0 – 18,0 мкмоль/л
 - Г) 9,5 – 25,5 мкмоль/л
 - Д) 8,5 – 20,5 мкмоль/л
4. Умеренное повышение содержания неконъюгированного билирубина в крови происходит при:
- А) усиленном разрушении эритроцитов;
 - Б) конкурентное вытеснение неконъюгированного билирубина из связи с альбумином;
 - В) нарушение захвата гепатоцитами неконъюгированного билирубина из крови;
 - Г) недостаточной активности уридиндифосфат-глюкуронил трансферазы гепатоцитов;
 - Д) все перечисленное верно

Ситуационная задача №1

При проведении лабораторных исследований были выявлены следующие изменения:

- общий анализ крови - нормохромная анемия (84 г/л);
- общий анализ мочи - красный цвет мочи, при микроскопическом исследовании выявлены эритроциты (значительное) кол-во;
- биохимическое исследование – высокие цифры общего билирубина.

О каком заболевании может идти речь?

Какое дополнительное исследование нужно провести для постановки диагноза?

VII. Хронокарта учебного занятия

- | | |
|----------------------|------------------|
| Общий бюджет времени | - 1 час 40 минут |
| Перекличка | - 5 минут |

Разбор основных вопросов темы	- 40 минут
Тестовый опрос	- 20 минут
Проведение лабораторной работы	- 20 минут
Оформление протоколов	- 10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Какой билирубин проходит через почечный фильтр и экскретируется с мочой?

2. Какой билирубин особенно токсичен для нервных клеток?

IX. Список используемой литературы

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.

2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.

2. Клиническая биохимия. /под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 512 с.

3. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.

Занятие №4

Тема: Методы исследования витаминов.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Витаминами называют незаменимые низкомолекулярные органические вещества, поступающие в организм извне и участвующие в регуляции биохимических процессов на уровне ферментов. Витамины не являются пластическим материалом и не расходуются в качестве источника энергии. Витамины входят в состав ферментов и являются коферментами или кофакторами.

Классификация:

- 1) жирорастворимые: А, D, Е, К, F.
- 2) водорастворимые: группа В, РР, Н. С, ТГФК, пантотеновая кислота (В₃), Р (рутин).

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинико-диагностическое значение витамина В₁₂ и фолиевой кислоты.
2. Методы исследования витамина В₁₂ и фолиевой кислоты.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы исследования витамина В₁₂ и фолиевой кислоты.
2. Значение определения витамина В₁₂ и фолиевой кислоты в клинической практике.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Наглядные пособия.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Сходство и различие витаминов и гормонов.

2. Классификация витаминов.

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Каково значение витаминов в метаболизме организма человека?
2. Какие витамины могут вызвать нарушение кроветворения и анемию?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Каково значение жирорастворимых витаминов в организме?
2. Каково значение водорастворимых витаминов в организме?
3. Витамин В₁₂ (кобаламин) синтезируется:
 - А) в печени
 - Б) в почках
 - В) микроорганизмами в кишечнике
 - Г) поступает с пищей
4. Витамины - это:
 - А) ферменты
 - Б) белки
 - В) глюкокортикоиды
 - Г) биоактивные медиаторы

Ситуационная задача №1

При проведении лабораторных исследований пациенту, находящемуся в терапевтическом отделении, было выявлено:

- общий анализ крови - гиперхромная анемия, снижение кол-ва тромбоцитов, лейкомоидная реакция (сдвиг влево) крови;

- биохимическое исследование – умеренное повышение АСТ (52 Е\Л0 и АЛТ (65 Е\Л), значительное повышение ЛДГ (900 Е/Л), повышенный уровень сывороточного железа.

Какая ваша интерпретация лабораторных данных и какие исследования необходимо провести данному пациенту для уточнения диагноза?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013, 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая биохимия. /под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 512 с.
3. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.

Раздел 6. «ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ»

Занятие №1

Тема: Методы исследования кислотно-щелочного состояния.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Водно-минеральный обмен обеспечивает постоянство ионного состава, кислотно-основного равновесия, объема жидкостей внутренней среды организма, осмотическое давление.

Регуляция водно-солевого обмена осуществляется специальными рефлекторными системами, одна из которых реагирует на изменение объема жидкостей (волюморегуляция), другая - их осмотической концентрации (саморегуляция).

Водно-минеральный обмен обеспечивает постоянство ионного состава, кислотно-основного равновесия, объема жидкостей внутренней среды организма, осмотическое давление.

Функции воды в организме:

- внутренняя среда организма;
- структурная;
- транспортная;
- участие в биохимических реакциях;
- гомеостаз (гидролиз, гидратация, диссоциация);
- растворение и диссоциация веществ;
- всасывание в желудочно-кишечном тракте;
- обеспечение конформации белков;
- конечный продукт обмена;
- выведение из организма конечных продуктов метаболизма.

Распределение воды между клеткой и внеклеточным пространством определяется величиной осмотического давления (осмолярностью).

Осмолярность - концентрация катионов и анионов моль/л (мОсм/л).

Общая осмолярность = $2(\text{Na}^+)$ плазма + (глюкоза) +(мочевина)

Норма: 285 мОсм/л.

Нарушения водного обмена.

- дегидратация (уменьшение объема жидкости в организме):

- 1) гипертоническая,
- 2) изотоническая,
- 3) гипотоническая;

- гипергидратация (увеличение объема в организме):

- 1) гипертоническая,
- 2) изотоническая,
- 3) гипотоническая;

Обмен воды в организме тесно связан с обменом натрия, поэтому в водно-минеральном обмене выделяют:

- 1) водно-электролитный обмен воды и натрия;
- 2) минеральный обмен – обмен кальция, фосфатов и других минеральных веществ.

Таким образом, в регуляции водно-электролитного обмена участвуют вазопрессин, альдостерон и ренин-ангиотезиновая система.

Осморецепторы гипоталамуса регулируют синтез антидиуретического гормона - вазопрессина (хим. структура – нонапептид, место выработки - гипоталамус). При повышении осмотического давления крови вследствие потери организмом воды или избыточного поступления в него соли происходит возбуждение осморецепторов, усиливается биосинтез вазопрессина, что приводит к усилению реабсорбции воды почечными канальцами и уменьшению диуреза. Одновременно возбуждаются нервные механизмы, обуславливающие возникновение жажды. При избыточном поступлении воды в организм образование и выделение антидиуретического гормона резко снижается, что приводит к уменьшению обратного всасывания воды в почках и выделению ее из организма.

Это приводит к несахарному диабету (клинический синдром, который характеризуется полиурией и вторичной полидипсией).

Волноморецепторы при повышении объема жидкости и снижении концентрации ионов натрия через гипоталамус (кортиколиберины) и гипофиз (АКТГ) активируют секрецию альдостерона в корковом слое надпочечников. Альдостерон активируя в клетках дистальных канальцев почек транскрипцию генов, содержащих информацию о Na^+ - транспортных белках, способствует активации натриевого насоса и задержке в организме ионов натрия (одновременно и ионов хлора).

Альдостерон (хим. структура - минералокортикоид, место выработки корковый слой надпочечников. Патология – при усиленной секреции (опухоль коры надпочечников), что приводит к увеличению артериального давления, потере ионов калия и задержке ионов натрия, увеличению артериального давления.

Ренин-ангиотензиновая система.

При снижении артериального давления в почках, в юкстагломулярных клетках вырабатывается протеолитический фермент ренин, отщепляющий в крови от ангиотензиногена (синтез в печени) с N-конца декапептид - ангиотензин-I. Далее, ангиотензин-I в легких под действием фермента карбоксидипептилпептидазы превращается в ангиотензин-II. Клетки-мишени для ангиотензина-II: кровеносные сосуды, надпочечники.

Механизм действия: стимулируют секрецию альдостерона и вазопрессина; вызывает сужение артериол, увеличению АД, полидипсии.

Основу неотложной диагностики составляют определения КЩС.

В поддержании КЩС принимают участие:

- буферные системы крови;
- внутриклеточный метаболизм, в процессе которого образуется и используется ион водорода;
- легкие, удаляющие углекислый газ;
- почки, реабсорбирующие бикарбонат и выделяющие ион водорода.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинико-диагностическое значение кислотно-щелочного состояния.
2. Методы исследования кислотно-щелочного состояния.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы исследования кислотно-щелочного состояния.
2. Причины нарушения гомеостаза.
3. Определение электролитов и их клиническое значение.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- анализаторе газов крови и электролитов GEM Premier 3000.

Лабораторные работы: исследование кислотно-щелочного состояния крови (КЩС) на анализаторе газов крови согласно инструкции.

Лабораторная работа № 1.

Исследование кислотно-щелочного состояния крови (КЩС) на анализаторе газов крови и электролитов GEM Premier 3000.

Выполнить исследование крови на анализаторе газов крови

Принцип метода: предназначение системы GEM Premier 3000-измерение в цельной крови следующих параметров: pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, Ca⁺, глюкоза, лактат и гематокрит.

Принцип измерения:

- pH, pCO₂, Na⁺, K⁺, Ca⁺ - потенциометрия;
- pO₂, глюкоза, лактат – амперометрия;
- гематокрит – проводимость крови.

Методика выполнения:

Исследование КЩС проводится на анализаторе газов крови GEM Premier 3000.

Проверка перед работой:

Проводить анализы проб на приборе возможно только в случае, если он находится в состоянии готовности – экран готовности содержит следующую информацию:

- текущая дата и время;
- выпадающие меню;
- кнопки, предназначенные для анализа различных проб.

Перед проведением анализа необходимо заполнить информацию о пациенте.

Представление процесса измерения

Перед проведением анализа тщательно перемешать антикоагулянт с пробой крови. Правильное перемешивание помогает предотвратить формирование сгустков и способствует образованию гомогенной структуры.

Для перемешивания пробы произведите следующие действия:

- выдавите воздух из шприца;
- зажмите шприц между ладонями и вращайте вокруг оси шприца (минимум 5 раз), вращайте шприц в других направлениях (минимум 5 раз);
- выдавите несколько капель крови на марлю для предотвращения образования сгустков в наконечнике шприца;
- немедленно проведите анализ.
- объем пробы 150 мкл. (концентрация гепарина в пробе - 25 ед/мл);
- после появления на экране надписи «Поднесите пробу. Нажмите ОК для начала забора» поместите заборную иглу внутрь шприца и нажмите ОК;
- появится сообщение «Забор пробы. Ждите»;

- после окончания забора, прибор 4 раза издаст звуковой сигнал и появится сообщение «Уберите пробу»;

- результаты анализа в автоматическом режиме выйдут на печать.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Основные показатели кислотно-щелочного состояния.
2. Назовите показатели электролитного баланса.
3. Что определяет кислородный статус крови.

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Причины респираторного ацидоза?
2. Причины респираторного алкалоза?
3. рН артериальной крови человека составляет в норме:
 - А) 0,0-1,0
 - Б) 6,7-7,7
 - В) 7,0-7,35
 - Г) 7.35-7,45
 - Д) 7,0-10.0
4. К метаболическому ацидозу относится:
 - А) кетоацидоз
 - Б) лактоацидоз
 - В) почечный ацидоз
 - Г) энтероацидоз
 - Д) все перечисленное верно
5. Ацидоз характеризуется:
 - А) повышением рН крови;
 - Б) повышением концентрации OH^- в крови
 - В) снижением рН крови
 - Г) снижением концентрации H^+
 - Д) уменьшением лактата крови

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	1 час 40 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	40 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Проведение лабораторной работы	-	20 минут
Оформление протоколов	-	10 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Перечислите причины метаболического ацидоза?
2. Перечислите причины метаболического алкалоза?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Клиническая биохимия. / под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 512 с.
3. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Т 1. В.С. Камышников.- Изд. «Беларусь», 2002. – 495 с.

Раздел 7. «ОСНОВНЫЕ ЗВЕНЬЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА».

Занятие №1

Тема: Лабораторные методы оценки процессов свертывания и фибринолиза. Особенности при гипо- и гиперкоагуляции. Коагулограмма. Клинико-диагностическое значение.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Система гемостаза - это биологическая система, обеспечивающая сохранение жидкого состояния крови, с одной стороны, предупреждение и остановка кровотечений - с другой, путем поддержания структурной целостности стенок кровеносных сосудов и достаточно быстрого тромбирования последних при повреждениях.

Составляющие систему гемостаза компоненты условно можно разделить на морфологические и функциональные .

Морфологические компоненты системы гемостаза:

- сосудистая стенка;
- тромбоциты и клеточные элементы крови;
- плазменные компоненты – белки, пептиды и небелковые медиаторы гемостаза, цитокины, гормоны;
- костный мозг, печень, селезенка тоже могут рассматриваться как компоненты системы гемостаза, поскольку в них синтезируются и пулируются тромбоциты и плазменные компоненты системы гемостаза.

Функциональные компоненты системы гемостаза:

- прокоагулянты;
- ингибиторы коагуляции, антикоагулянты;
- профибринолитики;
- ингибиторы фибринолиза

Реализуется гемостаз в основном тремя, взаимодействующими между собой функционально-структурными компонентами: стенками кровеносных сосудов, клетками крови и плазменными ферментными системами -

свертывающей, фибринолитической, калликреин-кининовой и другими. Система подчинена сложной нейрогуморальной регуляции, в ней четко функционируют механизмы положительной и отрицательной обратной связи, вследствие чего клеточный гемостаз и свертывание крови вначале подвергаются самоактивации, а затем нарастает антитромботический потенциал крови.

Система гемостаза.

Свёртывание крови – это важнейший этап работы системы гемостаза, отвечающий за остановку кровотечения при повреждении сосудистой системы организма. Совокупность взаимодействующих между собой весьма сложным образом различных факторов свёртывания крови образуют систему свёртывания крови.

В условиях жизни организма гемостаз является единой системой, все звенья которой тесно взаимосвязаны. Условно система гемостаза разделена на первичный сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и вторичный плазменно-ферментный коагуляционный гемостаз, состоящий из коагуляционного и фибринолитического звеньев.

В полисистему гемостаза также включены калликреин-кининовая система и система комплемента и иммунитета.

Повреждение сосудов сопровождается немедленной активацией тромбоцитов. Адгезия (прилипание) тромбоцитов к волокнам соединительной ткани по краям раны обусловлена гликопротеином фактором Виллебранда. Одновременно с адгезией наступает агрегация тромбоцитов: активированные тромбоциты присоединяются к повреждённым тканям и к друг другу, формируя агрегаты, преграждающие путь потере крови. Появляется тромбоцитарная пробка.

Формирование первичной тромбоцитарной пробки при повреждении сосуда условно проходит в 3 стадии:

I стадия - адгезия тромбоцитов к субэндотелию;

II стадия - активация тромбоцитов с выбросом медиаторов из пула

хранения.

III стадия - агрегация тромбоцитов.

Из тромбоцитов, подвергшихся адгезии и агрегации, усиленно секретируются различные биологически активные вещества (АДФ, адреналин, норадреналин и др.), которые приводят к вторичной, необратимой агрегации. Одновременно с высвобождением тромбоцитарных факторов происходит образование тромбина, который воздействует на фибриноген с образованием сети фибрина, в которой застревают отдельные эритроциты и лейкоциты - образуется так называемый тромбоцитарно-фибриновый сгусток (тромбоцитарная пробка). Благодаря контрактильному белку тромбостенину тромбоциты подтягиваются друг к другу, тромбоцитарная пробка сокращается и уплотняется, наступает её ретракция.

Процесс свёртывания крови представляет собой преимущественно проферментно-ферментный каскад, в котором проферменты, переходя в активное состояние, приобретают способность активировать другие факторы свёртывания крови. В самом простом виде процесс свёртывания крови может быть разделён на три фазы:

- фаза активация включает комплекс последовательных реакций, приводящих к образованию протромбиназы и переходу протромбина в тромбин;
- фаза коагуляции - образование фибрина из фибриногена;
- фаза ретракции - образование плотного фибринового сгустка.

В настоящее время условно выделяют 2 звена плазменного гемостаза: коагуляционное и фибринолитическое. Оба звена тесно взаимодействуют между собой и с тромбоцитарным гемостазом.

Факторы свертывания: I - фибриноген; II - протромбин; III - тромбопластин; IV - ионы кальция; V - проакцелерин; VI - акцелерин; VII-проконвертин; VIII - антигемофильный глобулин А; IX - антигемофильный глобулин В; X - фактор Проуэра-Стюарта; XI - антигемофильный глобулин

С; XII - фактор контакта (фактор Хагемана); XIII - фибринстабилизирующий фактор.

В коагуляционном гемостазе выделяют четыре последовательные фазы: I - формирование активной протромбиназы; II-образование тромбина; III - образование фибрина и IV - послефаза, представленная процессами ретракции и фибринолиза.

Фибринолиз.

Свертывающая система крови функционально взаимосвязана с фибринолитической, кининовой и системой комплемента. Фибринолитическая система, обеспечивающая лизис фибрина в кровяном русле, запускается теми же факторами, что и свертывание крови. Фактор XIIа взаимодействует с прекалликреином и высокомолекулярным кининогеном плазмы (ВМК) и активирует плазминоген.

Ингибиторы свертывания крови.

Известны две группы естественных ингибиторов свертывания крови:

- первичные, предшествующие свертыванию крови (антитромбин III, протеин С, α 2-макроглобулин);

- вторичные, образующиеся в процессе свертывания крови, группа протеолиз (растворимые фибрин-мономерные комплексы РФМК, продукты деградации фибрина/фибриногена ПДФ).

Ключевым ферментом системы фибринолиза является плазмин. Основная задача – растворить фибрин, однако при повышенной активности может расщеплять фибриноген.

При патологических состояниях фибринолиз может быть генерализованным, в результате могут накапливаться продукты деградации фибрина (ПДФ), клинически у пациента наблюдается кровотечение.

Активация плазминогена осуществляется по внутреннему (XII, XI, ВМК – высокомолекулярный кининоген, ПК-прекалликреин) и внешнему пути (урокиназа, которая синтезируется и выделяется клетками разных

органов, в том числе почками, фибробластами, макрофагами и эндотелиальными клетками).

Нефизиологическими активаторами пламиногена может быть стрептокиназа гемолитического стрептококка и ферменты других бактерий.

В кровотоке плазмин быстро инактивируется естественными ингибиторами. Различают два вида ингибиторов:

- антиплазины ($\alpha 2$ - антиплазмин, $\alpha 2$ - макроглобулин, $\alpha 1$ – антитрипсин и др.)

- ингибиторы активаторов пламиногена (РАІ - 1, РАІ - 2, РАІ – 3).

При деградации фибрина и фибриногена образуются низкомолекулярные продукты (продукты деградации фибрина/фибриногена), а при расщеплении нерастворимого фибрина образуются фрагменты - Д-димеры.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Клинико-диагностическое значение системы гемостаза.
2. Методы исследования процессов свертывания и фибринолиза.
3. Контроль за лечением антикоагулянтами прямого и непрямого действия, тромболитиками, ДВС-синдром, антифосфолипидный синдром.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать показатели свертывающей системы в норме.
2. Интерпретировать показатели противосвертывающей системы.
3. Проводить дифференциальную диагностику нарушений системы гемостаза.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы исследования системы гемостаза.
2. Внутренний и внешний путь системы гемостаза.
3. Особенности при гипо- и гиперкоагуляции.
4. Клинико-диагностическое значение.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- гемокоагулометр «CGL 2110»
- коагулометр «BioBas 1»
- центрифуга «Линстон»
- дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет».

Лабораторные работы: определение АЧТВ; определение МНО.

Лабораторная работа №1.

Определение АЧТВ (контроль за лечением антикоагулянтами).

Принцип метода: к исследуемой плазме добавляют реагент, представляющий собой водный раствор эллаговой кислоты (активатор внутреннего пути свертывания) в комплексе с соевыми фосфолипидами. В процессе измерения АЧТВ регистрирует время от момента добавления ионов кальция до момента образования сгустка.

Методика выполнения:

Исследование проводят на анализатор гемокоагулометр CGL 2110

Включение анализатора:

- включить анализатор (выключатель источника питания на боковой стенке анализатора) установив сетевой выключатель в положение «ON»;
- включить источник питания принтера и термостата (нагрев 3-4 мин);
- на коагулометре появится надпись – SOLAR

На индикаторе термостата появится надпись 37°и будет слышен звуковой сигнал.

Начало измерения:

- выбор режимов работы осуществляется последовательным нажатием кнопки «MODE»:

- ***Режим «Pt»;***

- добавить в кювету с магнитным якорем 100 мкл плазмы и выдержать в течение 2-х минут в блоке подготовки проб;

- установить пробу в кюветное отделение коагулометра;
- старт;
- появится символ «Add» и звуковой сигнал;
- добавить 200 мкл реагента;
- на индикаторе высвечивает значение времени свертывания в секундах (для пересчета в % контрольное значение серии делим на полученный показатель и умножаем на 100%).

- **Режим «At»;**

- добавить в кювету с магнитным якорем 100 мкл плазмы;
- выдержать кювету с плазмой в течение 2-х минут при 37° в блоке подготовки проб;

- добавить 100 мкл кефалин-каолиновой смеси;
- установить пробу в кюветное отделение коагулометра;
- старт;
- появится символ «Add» и звуковой сигнал;
- добавить 100 мкл хлорида кальция;

Значение на индикаторе – полученный результат.

Выход осуществляется кнопкой «RESET»

Реагент для **Pt** – на 1 фл. – 8 мл дистиллированной воды (30мин).

Реагент для **At** – на 1 фл. – 4 мл дистиллированной воды (30мин).

Лабораторная работа №2.

Определение МНО (контроль за лечением варфарина).

Принцип метода: при добавлении к цитратной плазме избытка тканевого тромбопластина и ионов кальция время образования сгустка фибрина зависит только от активности факторов внешнего и общего пути коагуляции: I, II, V, VII, X. Измеряют время от момента добавления к плазме тромбопластина с кальцием до момента образования фибринового сгустка.

Методика выполнения:

Исследование проводят на анализаторе одноканальном коагулометре BioBas 1

Включение анализатора:

- включить анализатор (выключатель источника питания подключен к внешнему адаптеру). Внешний силовой адаптер подключается к сети;
- источник питания принтера подключен к внешнему адаптеру;
- при подключении к сети на дисплее появится сообщение (знак ← обозначает бегущую строку);
- сменяющиеся окна покажут: название анализатора, самопроверка (SELFTEST), проверка постоянной памяти (ROMok), проверка оперативной памяти (RAMok), прогрев (WARMUP), фактическая температура измерительного блока, оставшееся время прогрева;
- анализатору требуется 30 минут, чтобы прогреть термостат до температуры 37,4°C и на дисплее появится надпись – 37,4°C;
- анализатор готов к работе.

Смена метода.

Сменить используемый метод можно только из режима ожидания;

- нажмите клавишу «Esc», чтобы перейти в режим ожидания «STANDBY»;
- нажмите клавишу правой стрелки, в окне появятся обозначения имеющихся методов:

- <1 PT> - протромбиновое время, ПВ;
- <2 aPTT> - АЧТВ;
- <3 Fib. > - фибриноген, г/л;
- <4 Fib. 2 > - фибриноген, мг/дл;
- <5 Thrmb> - тромбиновое время, ТВ;
- <6 Intr.> - факторы внутреннего пути свертывания крови;
- <7 Extr> - факторы внешнего пути свертывания крови;
- <UTILIT> - утилиты.

Выберите нужный метод (1-7).

Нажмите «Enter», чтобы активировать выбранный метод.

Выбранный метод запускается. Можно проводить инкубацию для первого измерения.

Нажмите «Esc», чтобы вернуться к окну режима ожидания;

Начало измерения:

При выборе режима на дисплее отображается выбранный метод:

Измерение МНО, ПВ:

- выбор <1 RT>;
- нажмите «Enter», чтобы зайти в режим измерений;
- на экране появится сообщение запроса инкубации проб «cuvin»;
- измерение производится в единственном канале;
- инкубация проб всегда должна проводиться в измерительном канале;
- перейдите в режим измерений «cuvin»;
- откройте светозащитную крышку;
- заберите 100 мкл цитратной плазмы в кювету;
- поставьте кювету в измерительный канал;
- - закройте светозащитную крышку.

Анализатор автоматически распознает кювету и начинает отсчет времени инкубации пробы. За 5 секунд до окончания периода инкубации раздается звуковой сигнал:

- отсчет времени;
- регулировка проб;
- запрос добавить 100 мкл стартового реагента;
- наберите 100 мкл стартового реагента;
- расположите пипетку вертикально на светозащитную крышку;
- измерение начинается автоматически после пипетирования стартового реагента в кювету пробы;
- результат измерения появляется на экране;

- через 5 сек, результат измерения автоматически выводится на печать;
- текущее измерение при распознании сгустка в измерительном канале анализатор выдает звуковое предупреждение и останавливает таймер.

Извлеките кюветы и нажмите «RESET».

- откройте светозащитную крышку;
- извлеките кювету из измерительного канала;
- нажмите клавишу «RESET».

Выход осуществляется кнопкой «RESET».

Реагент для МНО (ренампластин 5пг/1)– на 1 фл. – 8 мл дистиллированной воды (30мин).

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Морфологические компоненты системы гемостаза.
2. Функциональные компоненты системы гемостаза.

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Причины гиперкоагуляции?
2. Причины гипокоагуляции?
3. Причины ДВС-синдрома?
4. Система гемостаза включает:
 - А) факторы фибринолиза
 - Б) плазменные факторы
 - В) антикоагулянты
 - Г) тромбоциты
 - Д) все перечисленное
5. Протромбинаобразование по внутреннему пути следует контролировать:
 - А) агрегацией тромбоцитов
 - Б) определением фибриногена
 - В) активированным частичным тромбопластиновым временем
 - Г) протромбиновым временем
 - Д) временем кровотечения

Ситуационная задача № 1

У больного, который находится на лечении в кардиологическом отделении показатели МНО больше 4 . Какие действия необходимо предпринять, для предотвращения риска кровотечения?

Ситуационная задача № 2

Какое состояние свертывающей системы возможно у пациента, у которого в анализах крови протромбиновый индекс увеличен, протромбиновое отношение и МНО снижены, РФМК, Д-димеры повышены. Какие действия необходимо предпринять?

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	240 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	155 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Решение ситуационных задач		20 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Перечислите плазменные факторы свертывания крови?
2. Как изменяются показатели гемостаза при гиперкоагуляции?
3. Как изменяются показатели гемостаза при гипокоагуляции?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.-1280 с.

Дополнительная

1. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. //Долгов В.В., Свиринов П.В. –М.- Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005- 227 с.

2. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
3. Клиническая биохимия. /под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.- 512 с.
4. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. //Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.

Раздел 8. «ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В КДЛ».

Занятие №1

Тема: Определение группы крови по системе АВО. Клиническая иммунология, оценка иммунного статуса.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Группы крови - это генетически наследуемые признаки, не изменяющиеся в течение жизни при естественных условиях. Группа крови представляет собой определенное сочетание поверхностных антигенов эритроцитов (агглютиногенов) системы АВО. Определение групповой принадлежности широко используется в клинической практике при переливании крови и ее компонентов, в гинекологии и акушерстве при планировании и ведении беременности. Система групп крови АВО является основной системой, определяющей совместимость и несовместимость переливаемой крови, т.к. составляющие ее антигены наиболее иммуногенны. Особенностью системы АВО является то, что в плазме у неиммунных людей имеются естественные антитела к отсутствующему на эритроцитах антигену. Систему группы крови АВО составляют два групповых эритроцитарных агглютиногена (А и В) и два соответствующих антитела - агглютинины плазмы альфа (анти-А) и бета(анти-В). Различные сочетания антигенов и антител образуют 4 формы групп крови:

Группа 0(I) - на эритроцитах отсутствуют групповые агглютиногены, в плазме присутствуют агглютинины альфа и бета.

Группа А (II) - эритроциты содержат только агглютиноген А, в плазме присутствует агглютинин бета;

Группа В (III) - эритроциты содержат только агглютиноген В, в плазме содержится агглютинин альфа;

Группа АВ(IV) - на эритроцитах присутствуют антигены А и В, плазма агглютининов не содержит.

На основании наличия или отсутствия того или иного антигена

выделено 4 группы крови: O(I), A(II), B(III) и AB (IV) . Группа крови не изменяется в течение всей жизни. Переливание несовместимой крови приводит к тяжелым осложнениям: гемолизу и поражению почек, иногда с летальным исходом.

Основной поверхностный эритроцитарный антиген системы резус, по которому оценивают резус-принадлежность человека.

Антиген Rh - один из эритроцитарных антигенов системы резус, располагается на поверхности эритроцитов. В системе резус различают 5 основных антигенов. Основным (наиболее иммуногенным) является антиген Rh (D), который обычно подразумевают под названием резус-фактор. Эритроциты примерно 85% людей несут этот белок, поэтому их относят к резус-положительным (позитивным). У 15 % людей его нет, они резус-отрицательны (негативны). Наличие резус-фактора не зависит от групповой принадлежности по системе АВ0, не изменяется в течение жизни, не зависит от внешних причин.

Определение резус принадлежности и группы крови применяется в общей клинической практике при переливании крови и ее компонентов, а также в гинекологии и акушерстве при планировании и ведении беременности.

Основная функция *иммунной системы* состоит в поддержании постоянства внутренней среды организма за счет:

- защиты от инфекций посредством нейтрализации с последующей элиминацией всех генетически чужеродных для данного организма высокомолекулярных веществ биологического происхождения: белков, полисахаридов, липополисахаридов и т.д;
- обеспечения противоопухолевой защиты, т.е уничтожение собственных измененных ,трансформированных клеток;
- уничтожения собственных клеток и клеточных элементов, не характерных для данной стадии развития организма.

Иммунная система представлена органами и клетками, взаимодействие между которыми опосредовано различными молекулами.

А. Органы иммунной системы:

1) центральные – тимус и костный мозг, в которых происходит развитие и созревание клеток иммунной системы;

2) периферические – селезенка, лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани, ассоциированные с кожей, ассоциированные со слизистыми желудочно-кишечного тракта (миндалины, Пейеровы бляшки, аппендикс, одиночные фолликулы), органов дыхания, мочеполовой сферы. Во вторичных органах иммунной системы происходит дифференцировка лимфоцитов в зрелые формы и собственно, иммунный ответ.

В. Клетки иммунной системы:

1) фагоцитирующие клетки: нейтрофилы, макрофаги, моноциты, дендритные клетки, эозинофилы;

2) базофилы и тучные клетки;

3) лимфоциты: Т-лимфоциты, В-лимфоциты, натуральные киллеры.

Субпопуляционный состав лимфоцитов.

Большинство иммунокомпетентных клеток, и прежде всего лейкоциты, несут на своей мембране поверхностные маркеры дифференцировки отражающие фенотип клеток. Лимфоциты периферической крови включают Т- и В-клетки и натуральные киллеры. Если принять сумму этих клеток за сто процентов, то на долю Т-лимфоцитов приходится до двух третей клеточного состава циркулирующих лимфоцитов, а В-лимфоциты и НК делят делят примерно поровну оставшуюся клеточную массу.

Для выявления клеток и уточнения их функционального состояния в качестве антигенов используют собственный рецепторный аппарат клетки. По номенклатуре ВОЗ дифференцировочным антигенам присваивают название CD (кластер дифференцировки) и порядковый номер.

Т-лимфоциты –CD3⁺

Т-лимфоциты – хелперы $CD3^+CD4^+$

Т-лимфоциты – супрессоры $CD3^+CD8^+$

Т-лимфоциты – киллеры $CD3^+CD(16 + CD56)^+$

В-лимфоциты – $CD19^+, CD20^+, CD22^+, CD79^+$

Натуральные киллеры $CD3^-CD(16 + CD56)^+$

Дополнительно при оценке субпопуляционного состава лимфоцитов могут быть использованы маркеры активации:

- $CD25$ на $CD3^+ CD4^+$ - лимфоцитах – для количественной оценки активированных Т-лимфоцитов;
- HLA-DR на В-лимфоцитах, моноцитах и активированных Т-лимфоцитах.

С. *Высокомолекулярные соединения*: белки острой фазы, системы комплемента, пропердиновый комплекс, иммуноглобулины, цитокины и другие.

Для выполнения иммунной системой своих функций ее компоненты организованы в различные уровни защиты.

1. Поверхностные барьеры. К ним относятся: кожные покровы и слизистые оболочки, которые:

- а) создают механические и физико-химические препятствия для чужеродных частиц;
- б) содержат в своем составе антибактериальные вещества;
- в) осуществляют нормальный физиологический кишечный транспорт, нормальный ток бронхиального секрета и мочи, которые удаляют инфекцию из соответствующих систем.

Важную роль в защите слизистых оболочек от бактерий, вирусов, аллергенов играет мукозный иммунитет, реализуемый на поверхности слизистых оболочек полости рта, желудочно-кишечного тракта, респираторных путей и мочеполового тракта.

2. Ранний воспалительный ответ – неспецифический – наблюдается во всех случаях инфекции, попадания аллергенов и других сходных

ситуациях. Основной целью раннего воспалительного ответа является предотвращение распространения патогенов в организме.

3. Специфический иммунный ответ обычно возникает в течение жизни человека как часть сложной последовательности событий, включающей специфическую защиту и иммунологическую память. Для их реализации необходима презентация антигена.

Наиболее доступные и информативные методы диагностики нарушения иммунной системы включают:

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Групповые агглютиногены.
2. Агглютинины в плазме.
3. На основании наличия или отсутствия того или иного антигена на поверхности эритроцита и наличия агглютининов в плазме написать 4 группы крови по системе АВО.
4. Органы и клетки иммунной системы.
5. Субпопуляционный состав лимфоцитов.
6. Основные функции иммунной системы.

Студент должен уметь:

1. Уметь правильно снимать результат при определении группы крови.
2. Уметь правильно снимать результат при определении резус-принадлежности.
3. Уметь интерпретировать результаты иммунологических исследований.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Эритроцитарные антигены А и В.
2. Агглютинины плазмы (анти-А) и (анти-В).
3. Эритроцитарный антиген по резус-принадлежности.

4. Понятие о гемотрансфузии.
5. Понятие о первичном и вторичном иммунном ответе.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- центрифуга «Листон».
- планшет для определения групп крови.
- набор цоликлонов по системе АВО для определения групп крови.

Лабораторные работы: определение группы крови с помощью цоликлонов.

Лабораторная работа №1.

Определение группы крови и резус фактора с помощью цоликлонов и стандартных эритроцитов.

Проведение данного исследования включает:

- определение группы крови с использованием цоликлонов (анти-А и анти-В.);
- определение резус-принадлежности с использованием цоликлона (анти-D);
- интерпретацию полученных данных.

Принцип метода: В основе работы цоликлонов лежит реакция прямой агглютинации эритроцитов соответствующими антителами (анти-А, анти-В, анти-D).

Методика выполнения:

Определение производится в крови, взятой без консерванта на планшете.

- нанести на планшет индивидуальной пипеткой Цоликлоны анти-А, анти-В, анти-АВ и анти-D по одной капле (0,1 мл) под соответствующими надписями и по одной капле (0,01 -0,02 мл) исследуемой крови;

- смешать кровь с реагентом;

- наблюдать за ходом реакции при легком покачивании планшета в течение 3 минут;

4. Для чего нужно проводить определение группы крови и резус-принадлежности?

5. Какое клиническое значение имеет определение уровня иммуноглобулинов в крови?

6. Что определяют с помощью иммунофенотипирования лимфоцитов?

7. Центральные органы иммунной системы:

А) тимус, костный мозг

Б) печень

В) лимфатические узлы

Г) селезенка

Д) пейеровы бляшки подвздошной кишки

8. К периферическим органам иммунной системы относятся:

А) миндалины

Б) лимфатические узлы

В) селезенка

Г) пейеровы бляшки

Д) все перечисленное верно

9. Какое созревание В-клеток происходит в костном мозге?

А) антиген-независимое

Б) антиген-зависимое

В) созревание В-клеток не происходит

Г) в костном мозге происходит сначала антиген-независимое, а затем антиген-зависимое.

Д) правильного ответа нет

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени - 240 минут

Переключка - 5 минут

Разбор основных вопросов темы - 155 минут

Тестовый опрос - 20 минут

Решение ситуационных задач 20 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Составить таблицу для определения групп крови.

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
2. Лабораторная гематология. /С.А.Луговская, В.Т.Морозова, М.Е. Почтарь, В.В. Долгов. -М. -Тверь: ООО Издательство «Триада» ,2006. – 224 с
3. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. /Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.
4. Кровь. Клинический анализ. Диагностика анемий и лейкозов. Интерпретация результатов. /Г.И. Козинец, В.М.Погорелов, О.А. Дягилева, И.Н. Наумова. М., 2006. - с.251.
5. Гемотрансфузионные реакции и осложнения. /В.А. Аграненко, Н.Н. Скачилова. М. «Медицина» 1986 - 240 с.

Занятие №2

Тема: Методы иммуноферментного анализа. ИФА исследования гормонов щитовидной железы, гормонов половой сферы и инфекций, передающихся половым путем. Диагностика вирусных гепатитов.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Иммуноферментный анализ (сокращённо **ИФА**, англ. *enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA*) - лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных соединений, макромолекул, вирусов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки для регистрации сигнала.

Классификация по типу иммунохимического взаимодействия:

I метод (*неконкурентный*)

- в системе присутствуют только анализируемое соединение и соответствующие ему центры связывания (антиген и специфические антигены).

Примером *неконкурентного* формата ИФА является «сэндвич» - метод.

«Сэндвич» - метод может быть использован для анализа только тех антигенов, на поверхности которых существуют, по крайней мере, две антигенные детерминанты. На этом формате основано большое количество тест-систем для иммуноферментной диагностики различных инфекций: ВИЧ – инфекция, вирусные гепатиты, цитомегаловирусная, герпесная, токсоплазменная и другие инфекции.

II метод (*конкурентный*)

- в системе одновременно присутствует анализируемое соединение и его аналог (меченное ферментом анализируемое соединение или анализируемое соединение, иммобилизованное на твердой фазе), конкурирующие за ограниченное количество центров специфического связывания.

Прямой конкурентный формат ИФА использует иммобилизованные на твердой фазе специфические антитела, а меченый ферментом и немеченый антиген конкурируют за связь с иммобилизованным антителом.

В **непрямом конкурентном** формате ИФА используются меченные ферментом антитела (специфические или вторичные) и иммобилизованный на твердой фазе конъюгат антиген-белок-носитель. Непрямая схема с использованием меченых антивидовых антител является одной из наиболее распространенных схем ИФА.

Маркеры функционального состояния:

ТТГ, общТ4, свТ4, общТ3, свТ3

Маркеры аутоиммунной патологии:

Ат-ТГ, Ат-ТПО, Ат-ТТГ

Маркеры онкологической патологии:

Тиреоглобулин (ТГ), кальцитонин (КЦ)

Ключевыми гормональными маркерами заболеваний ЩЖ являются ТТГ и св Т4

Маркеры для диагностики заболеваний ЩЖ

Тест **первого уровня** (определяется уровень ТТГ) - необходим для дифференцировки состояния эутиреоза от гипо- и гипертиреоза

Тест **второго уровня** (определяется уровень свТ4) - необходим для подтверждения наличия гипо- и гипертиреоза

Тест **третьего уровня** (определяется уровень общего Т3 или свободного Т3) необходим только для диагностики относительно редкого Т3-тиреотоксикоза

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Методы ИФА анализа.
2. ИФА исследования гормонов щитовидной железы.
3. ИФА исследования гормонов половой сферы и инфекций передающихся половым путем.

4. ИФА диагностика вирусных гепатитов.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат исследования.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Особенности при гипо- и гиперфункции щитовидной железы.

2. Исследование гормонов половой сферы и их клиническое значение.

3. Клинико-диагностическое значение определения инфекций, передающихся половым путем.

4. Диагностика вирусных гепатитов.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

- система автоматическая «Alisei».
- дозатор автоматический портативный медицинский «Ленпипет».
- центрифуга «Листон».

Лабораторные работы: определение гормонов щитовидной железы на автоматической системе для ИФА исследований «Alisei».

Лабораторная работа № 1.

Определение гормонов щитовидной железы на иммуноферментном автоматическом анализаторе «Alisei».

Методика выполнения

Исследование проводится на иммуноферментном автоматическом анализаторе «Alisei»

Проверка перед работой:

• проверить наличие триала (минимум 3 литра) в 15-литровых баках, 4-ая линия должна быть опущена в воду, сточный бак должен быть опустошен, подвести блок игл в удобную позицию и протереть наружные поверхности и торцы игл 70% спиртом (после протирки поднять иглы, **не двигать блок с опущенными иглам**);

- включить прибор выключателем на правой стенке и нажать желтую кнопку;

- включить компьютер, и после появления иконки «Alisei» на мониторе, два раза щелкнуть по ней левой кнопкой мыши;

- дождаться окончания самотестирования. Если изменились концентрации стандартов, нажать **МЕНЮ**, войти в **МЕТОДЫ**, выделить методику, нажать **Редактировать – Пространственные параметры– СТАНДАРТ – Редактировать** (откорректировать значения) – **ОК – Выход – Рабочий план**;

- в появившемся окне нажать **Новый рабочий лист**;

- нажать **Данные пациента – ввести ИН пациента – выделить левой кнопкой мыши названия тестов из списка – Enter**(переход к следующему пациенту) – для ввода групп пациентов использовать кнопку **Последовательность ИН**;

- после ввода последнего пациента нажать **Резюме** и проверить рабочий лист - **ОК**

- в области **Выполнение** оставить флажок на **Полностью** (проведение теста) или переключить на **Только чтение** (если надо прочесть планшеты в фотометре);

- нажать **СТАРТ**;

- в окне **Контрольная сыворотка** ввести лоты, сроки годности и концентрации КС, поставьте галочки в столбце **Актив**. – **ОК**

- в окне **Лоты и Калибровки** ввести лоты и сроки годности наборов, выбрать тип калибровки – **ОК**

- нажать **Компиляция рабочего листа** и дождаться окончания компиляции рабочего листа

- проверьте наличие и правильность подключения растворов для промывки стрипов в окне **Растворы**, расположить сыворотки по позициям на столе по схеме в окне **Образцы** (оранжевыми кружками обозначены места

под пустые пробирки для разведения), расположить реагенты на столе по схеме в окне **Флаконы**, подготовить планшеты со стрипами, как показано в окне **Планшеты**

- загрузить планшеты в прибор – нажать **Загрузка планшетов**. Разместить стрипы в соответствии со схемой и вставить планшет в каретку на реакционном столе. Опустить края планшета до фиксации металлическими зажимами. После загрузки планшеты будут проверены на наличие нужного количества стрипов.

- нажать **Старт**. При предварительной проверке проверить объем реагентов (в случае необходимости долить до запрошенного объема) – нажать **Предварительная проверка**.

- после сессии нажать **Выгрузка планшетов**, войти в **Результаты**. Вывести общую распечатку и просмотреть полученный график нажав кнопку **См. тест** (при полной калибровке по 6 стандартам – сохранить для последующей рекалибровки нажав **Сохранить**) – **Утвердить**

- для распечатки пациента войти **История – Печать – Свойства** (секция **Принтер**) в окне окончательная обработка установить 4 страницы на листе – **ОК – ОК** для печати результатов (сессия при этом обязательно должна быть утверждена)

- при завершении работы нажать **Выход** – отключить прибор – выключить компьютер – слить сточный бак.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Перечислите гормоны щитовидной железы и их роль в организме.
2. В каком случае необходимо определение антител к ТПО?
3. Как передается вирусный гепатит С?
4. Почему необходимо исследование на предмет наличия инфекций, передающихся половым путем?

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Увеличение гормона ТТГ и клиническая интерпретация.
2. Что подтверждает увеличение уровня IgM при инфекции?
3. Гормоны гипоталамуса оказывают прямое действие на:
 - А) щитовидную железу
 - Б) поджелудочную железу
 - В) надпочечники
 - Г) гипофиз
4. В щитовидной железе образуется:
 - А) тиреотропный гормон
 - Б) тиреолиберин
 - В) трийодтиронин, тироксин
 - Г) АКТГ
5. Антитела, класса IgM:
 - А) проявляют антибактериальные свойства
 - Б) связывают комплемент
 - В) участвуют в первичном иммунном ответе
 - Г) все перечисленное верно
 - Д) правильного ответа нет
6. Антитела, класса IgG:
 - А) связывают комплемент
 - Б) связываются с фагоцитирующими клетками
 - В) проникают через плаценту
 - Г) все перечисленное верно
7. Инфекция, сопровождающаяся формированием Т-клеточного иммунодефицита:
 - А) ВИЧ-инфекция
 - Б) скарлатина
 - В) грипп
 - Г) корь
 - Д) коклюш

8. В каких случаях целесообразно определение хорионического гонадотропина (ХГЧ)?

- А) опухоли матки
- Б) диагностика беременности на ранних сроках и патология плода
- В) опухоли трофобласта
- Г) опухоли яичка
- Д) все перечисленное верно

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	240 минут
Переключка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	155 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Решение ситуационных задач		20 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Какие гормоны образуются в щитовидной железе?
2. В каких случаях исследуют кровь на наличие HBsAg?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.
2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.

Дополнительная

1. Иммунологические методы исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. /А.А. Кишкун. М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2009. – 712 с.
2. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II/ под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.

3. Клиническая биохимия. /под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 512 с.
4. Анализы крови и мочи. Клиническое значение. /Г.И. Козинец. 2-е изд., доп. и перераб.- М.: Практическая медицина, 2008.-152 с.

Раздел 9. «ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ».

Занятие №1

Тема: Описание морфологии клеточных элементов. Цитограмма органов и тканей в норме.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Цитологические методы применяются:

1) в онкологии для распознавания злокачественных и доброкачественных опухолей; при массовых профилактических осмотрах с целью выявления ранних стадий опухолевого процесса и предраковых заболеваний; при наблюдении за ходом противоопухолевого лечения;

2) в гематологии для диагностики заболеваний и оценки эффективности их лечения;

3) в гинекологии - как с целью диагностики онкологических заболеваний, так и для определения беременности, гормональных нарушений и т.д.;

4) для распознавания многих заболеваний органов дыхания, пищеварения, мочевыделения, нервной системы и т.д. и оценки результатов их лечения.

Цитологические методы позволяют распознавать злокачественные опухоли различного характера и судить о распространении процесса, тканевой принадлежности опухоли (в 70-85% случаев рака определяется гистологическая форма опухоли и степень злокачественность). Разработаны критерии цитологической диагностики болезней крови, ретикулоэндотелиальной системы, некоторых заболеваний желудка, почек, туберкулёза лёгких, кожных болезней и т.д. Цитологические методы часто сочетают с гистологическими исследованиями.

Для цитологического исследования препараты готовят на предметных стеклах. В зависимости от целей исследования применяют микроскопию нативных или фиксированных и окрашенных с помощью стандартных методов окраски препаратов, фазово-контрастную, ультрафиолетовую и

флуоресцентную (с использованием флуорохромов для окраски препаратов) микроскопию. Практическое применение получили специфические цитохимические методы. В научных исследованиях используют также специальные методы - автордиографию, иммуноцитохимию, цитоспектрофото- и цитофлуориметрию, электронную микроскопию, метод тканевой культуры.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Описание морфологии клеточных элементов.
2. Методы, применяемые при цитологическом исследовании.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результат цитологического исследования в норме.
2. Интерпретировать результат цитологического исследования при патологии.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы цитологического исследования.
2. Клинико-диагностическое значение цитологического исследования.
3. Цитограмма органов и тканей в норме.
4. Цитограмма органов и тканей при патологии.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств

ТСО

- микроскоп бинокулярный «Миктрон»;
- окрашенные мазки из шейки матки в норме;
- окрашенные мазки из шейки матки при патологии.

Лабораторные работы: микроскопическое цитологическое исследование окрашенного мазка из шейки матки.

Лабораторная работа №1.

Микроскопическое цитологическое исследование окрашенного мазка из шейки матки.

Принцип метода: микроскопическое исследование окрашенного мазка из шейки матки проводится с помощью микроскопа (иммерсионный объектив (90x) и окуляра 7x или 10x). Проводится морфологическое исследование клеточных структур и комплексов (размер, форма, строение ядра, характеристика цитоплазмы, ядерно-цитоплазматическое соотношение). В основе исследования лежит изучение особенностей клеток и неклеточных компонентов мазка из материала разных органов и тканей.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Морфология клеточных элементов в норме при цитологическом исследовании.
2. Морфология клеточных элементов при патологии при цитологическом исследовании.

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Какие признаки злокачественного процесса имеют место при цитологическом исследовании?
2. С каким исследованием чаще всего сочетаются цитологические методы?
3. Рак развивается из:
 - А) соединительной ткани
 - Б) мышечной ткани
 - В) эпителиальной ткани
 - Г) нервной ткани
 - Д. мезенхимальной ткани
4. Для злокачественных опухолей наиболее характерен:
 - А) медленный рост
 - Б) экспансивный рост
 - В) инфильтративный рост
 - Г) ни один из перечисленных факторов
 - Д) все перечисленное характерно

5. К полиморфизму клеток следует отнести следующие морфологические признаки:

- А) многообразие форм клеток
- Б) разнообразие размеров клеток
- В) различие степени созревания отдельных клеток
- Г) ни один из перечисленных признаков
- Д) все перечисленные признаки

6. В мочевом пузыре наиболее часто встречаются:

- А) переходноклеточные опухоли
- Б) соединительнотканые опухоли
- В) плоскоклеточные опухоли
- Г) сосудистые опухоли
- Д) все перечисленное верно

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	240 минут
Переключки	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	155 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Решение ситуационных задач		20 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Перечислите специальные методы, применяемые при цитологическом исследовании?

2. Как изменяется морфология клеток при злокачественном процессе?

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Меншикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.

2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.-1280 с.

Дополнительная

1. Шабалова И.П. Цитологический атлас. М., Триада. 2001. - 113 с.
2. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.

Раздел 10. «МЕТОДЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ПРИНЦИП РАБОТЫ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ АНАЛИЗА В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ.

МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. ПРИНЦИП РАБОТЫ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПЦР АНАЛИЗА».

Занятие №1

Тема: Методы бактериологических исследований. Методы молекулярно-генетического исследования.

I. Научно-методическое обоснование темы:

Разнообразие клинического материала и своеобразие микрофлоры отдельных органов определяют особенности методов бактериологического исследования, которые требуют применения специальных приемов отбора проб, посевов на питательные среды и проведения хода анализов.

Бактериологическое исследование клинического материала состоит из нескольких этапов:

- отбор проб на исследование;
- посев на питательные среды;
- выделение чистой культуры;
- идентификация и дифференциация выделенных культур микроорганизмов;
- анализ результатов исследования.

Бактериологический метод заключается в выделении чистой культуры возбудителя (популяции, содержащей бактерии одного вида) и идентификации этого возбудителя является основным методом бактериологического исследования.

Изучение свойств микроорганизмов в бактериологической лаборатории с целью установления принадлежности к той или иной систематической группе (виду, роду) и называется их идентификация.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - это метод, который позволяет найти в исследуемом клиническом материале небольшой участок

генетической информации (ДНК/РНК) инфекционного возбудителя, многократно его размножить и выявить с помощью различных современных технологий (гибридизационно-флюоресцентная детекция в режиме «реального времени» и «по конечной точке»).

Молекулярно-генетические методы позволяют анализировать фрагменты ДНК, находить и изолировать отдельные гены и их сегменты и устанавливать в них последовательность нуклеотидов.

Метод клонирования ДНК позволяет изолировать отдельные гены или их части, создавать неограниченное количество их копий, транскрибировать и транслировать изолированные гены, что стало возможным благодаря открытию ферментов-рестриктаз. Эти ферменты «узнают» специфическую олигонуклеотидную последовательность в двухнитевой ДНК и разрезают ее в данном месте - сайте. Разные рестриктазы распознают различные последовательности нуклеотидов и разрезают ДНК в разных сайтах. В последние годы для получения достаточного количества фрагментов ДНК используется полимеразная цепная реакция - метод амплификации ДНК в условиях *in vitro*. В течение нескольких часов можно размножить ДНК в количестве, превышающем исходное в миллионы раз.

Методы гибридизации нуклеиновых кислот. После разрезания ДНК на фрагменты рестриктазами проводится их электрофорез на агарозном или полиакриламидном геле с целью разделения этих фрагментов. Далее осуществляется идентификация фрагментов ДНК.

II. Цель деятельности студентов на занятии

Студент должен знать:

1. Методы, применяемые при бактериологическом исследовании.
2. Методы ПЦР анализа.

Студент должен уметь:

1. Интерпретировать результаты бактериологического исследования материала.
2. Интерпретировать результаты ПЦР анализа.

III. Содержание обучения:

Основные вопросы

1. Методы исследования в бактериологической лаборатории.
2. Методы ПЦР анализа.
3. Клинико-диагностическое значение бактериологических исследований.
4. Клинико-диагностическое значение молекулярно-генетических исследований.

IV. Перечень лабораторных работ, наглядных пособий и средств ТСО

Таблицы.

V. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

1. Особенности методов бактериологического исследования.
2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - это метод....

VI. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Этапы бактериологического исследования?
2. Какие молекулярно-генетические исследования являются актуальными для современной профилактической медицины?
3. Идентификация гонококков основывается на следующих признаках, кроме :
 - А) парности кокков
 - Б) грамотрицательности
 - В) грамположительности
 - Г) внутриклеточного расположения
 - Д) бобовидности формы
4. Бактериологический метод заключается:
 - А) агглютинации
 - Б) преципитации
 - В) иммунодиффузии
 - Г) выделении чистой культуры возбудителя и идентификация
 - Д) все перечисленное верно

5. Преимущество метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний:

- А) прямое определение наличия возбудителя
- Б) высокая специфичность и чувствительность
- В) универсальность процедуры выявления различных возбудителей
- Г) высокая скорость получения результата анализа при острых и

латентных инфекциях

Д) все указанное верно

6. Метод ПЦР - это:

- А) метод диагностики инфекционных заболеваний
- Б) метод выявления генетических заболеваний
- В) метод фармакогенетики
- Г) нет правильного ответа
- Д) все перечисленное верно

VII. Хронокарта учебного занятия

Общий бюджет времени	-	240 минут
Перекличка	-	5 минут
Разбор основных вопросов темы	-	155 минут
Тестовый опрос	-	20 минут
Решение ситуационных задач		20 минут

VIII. Самостоятельная работа студентов

1. Какой метод является высокочувствительным в диагностике инфекционных заболеваний?

2. Антибиотикограмма – это

IX. Список используемой литературы

Обязательная

1. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. I / под ред. проф. В.В. Долгова, В.В. Миньшикова. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 928 с.

2. Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам. 4 издание. Ред. А.Ву (пер. с англ. В.В. Меньшикова) М., Лабора, 2013.- 1280 с.
3. ПЦР в реальном времени. 6-е издание. /под редакцией д.б.н. Д.В. Ребрикова. Москва. БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 223с.

Дополнительная

1. Иммунологические методы исследования и методы диагностики инфекционных заболеваний в клинической практике. /А.А. Кишкун. М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2009. – 712 с.
2. Клиническая лабораторная аналитика. в 2 т. – Т. II /под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ – РАМЛД, 1999. – 352 с.
3. Клиническая биохимия./под ред. чл. – корр. РАН., акад. РАМН В.А. Ткачука, испр. и доп. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. -512 с.

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К ТЕСТОВЫМ ЗАДАНИЯМ

Раздел 1. Основы организации лабораторной службы.

Занятие №1. Нормативная документация.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Вопрос 1.

Ответ: 1-А; 2-Б; 3-Б

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 4.

Ответ: 5

Вопрос 5.

Ответ: 6

Самостоятельная работа студентов

Вопрос 3.

Ответ: 5

Занятие №2. Виды контроля качества в клинико-диагностической лаборатории.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Вопрос 1.

Ответ: 1-А; 2-В; 3-Б; 4-Г

Вопрос 2.

Ответ: 1-А; 2-В; 3-Г; 4-Г; 5-Б; 4-Г

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 6.

Ответ: 4

Вопрос 7.

Ответ: 5

Занятие №3. Оснащение КДЛ. Аппаратура, правила эксплуатации, принцип работы

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

Вопрос 1.

Ответ: 1-А; 2-В; 3-Б; 4-Г

Вопрос 2.

Ответ: 1-А; 2-Б; 3-Б; 4-А; 5-В

Раздел 2. Лабораторная гематология

Занятие №1. Понятие о гемопоэзе. Схема кроветворения

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-Б; 2-А; 3-Е; 4-З; 5-В; 6-Д; 7-Г; 8-Ж

Вопрос 2.

Ответ: 1-Г; 2-А; 3-В; 4-Д; 5-Б

Занятие №2. Микроскопическое исследование мазка костного мозга. Цитохимические реакции.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-Б; 2-Г; 3-В; 4-Е; 5-А; 6-Д

Вопрос 2.

Ответ: 1-А; 2-Б; 3-В; 4-Г; 5-Д

Раздел 3. Физико-химические и микроскопические исследования биологического материала.

Занятие №1. Клинический анализ мочи, физико-химические свойства мочи, микроскопическое исследование

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-В; 2-А; 3-Б; 4-Г

Вопрос 2.

Ответ: 1-А; 2-Б; 3-В; 4-Г

Занятие №2. Исследование мочи по Нечипоренко. Лабораторные тесты на повреждение нефрона (проба по Зимницкому).

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 4

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 4.

Ответ: Б

Занятие №3. Основные методы получения желудочного и дуоденального содержимого

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-В; 2-А; 3-Б; 4-Г; 5-Д

Вопрос 2.

Ответ:4

Занятие №4. Состав панкреатического и кишечного секрета.

Клиническое исследование кала.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-А; 2-Б; 3-В

Занятие №5. Физико-химические свойства мокроты, микроскопическое исследование.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-Б; 2-Д; 3-В; 4-Г; 5-Е; 6-А

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 4.

Ответ: А

Занятие №6. Физико-химические свойства ликвора, микроскопическое исследование.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-Б; 2-В; 3-А; 4-Г

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 5.

Ответ: 5

Занятие №7. Физико-химические свойства выпотных жидкостей, микроскопическое исследование

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-Ж; 2-Б; 3-В; 4-Г; 5-А; 6-Д

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 6.

Ответ: Г

Занятие №8. Инфекции, передающиеся половым путем.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: В

Вопрос 4.

Ответ: Г

Раздел 4. Лабораторная диагностика паразитарных болезней.

Занятие №1. Гельминтозы и кишечные протозозы.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: В

Занятие №2. Лабораторная диагностика малярии.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3. Определение видов малярийного плазмодия необходимо для:

Ответ: Д

Раздел 5. Биохимические методы исследования.

Занятие №1. Белковый обмен. Определение мочевины, креатинина унифицированными методами.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3. Нарушение водного баланса может сопровождаться изменением:

Ответ: 5

Вопрос 4.

Ответ: 1

Вопрос 5.

Ответ: 1

Занятие №2. Методы исследования углеводного и липидного обмена.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: А

Вопрос 4. Какой класс липопротеинов указывает на высокий риск атеросклероза:

Ответ: Б, В

Занятие №3. Методы исследования пигментного обмена.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: Д

Вопрос 4.

Ответ: Д

Занятие №4. Методы исследования витаминов.

Самостоятельная работа студентов

Вопрос 3.

Ответ: Г

Вопрос 4.

Ответ: Г

Раздел 6. Лабораторная диагностика неотложных состояний.

Занятие №1. Методы исследования кислотно-щелочного состояния.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: Г

Вопрос 4.

Ответ: Д

Вопрос 5.

Ответ: В

Раздел 7. Основные звенья системы гемостаза.

Занятие №1. Лабораторные методы оценки процессов свертывания и фибринолиза. Особенности при гипо- и гиперкоагуляции. Коагулограмма. Клинико-диагностическое значение.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 4.

Ответ: Д

Вопрос 5.

Ответ: В

Раздел 8. Иммунологические методы исследования в КДЛ.

Занятие №1. Определение группы крови по системе АВО.

Клиническая иммунология, оценка иммунного статуса.

Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний.

Вопрос 1.

Ответ: 1-Г; 2-А; 3-Б; 4-В

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 7.

Ответ: А

Вопрос 8.

Ответ: Д

Вопрос 9.

Ответ: А

Занятие №2. Методы иммуноферментного анализа. ИФА исследования гормонов щитовидной железы, гормонов половой сферы и инфекций, передающихся половым путем. Диагностика вирусных гепатитов.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: Г

Вопрос 4.

Ответ: В

Вопрос 5.

Ответ: Г

Вопрос 6.

Ответ: Г

Вопрос 7.

Ответ: А

Вопрос 8.

Ответ: Б

Раздел 9. Цитологические исследования.

Занятие №1. Описание морфологии клеточных элементов.

Цитограмма органов и тканей в норме.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: В

Вопрос 4.

Ответ: В

Вопрос 5.

Ответ: Д

Вопрос 6.

Ответ: А

Раздел 10. Методы бактериологических исследований. Принцип работы при выполнении анализа в бактериологической лаборатории. Методы молекулярно-генетического исследования. Принцип работы при выполнении ПЦР анализа.

Занятие №1. Методы бактериологических исследований. Методы молекулярно-генетического исследования.

Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

Вопрос 3.

Ответ: В

Вопрос 4.

Ответ: Г

Вопрос 5.

Ответ: Д

Вопрос 6.

Ответ: Д

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ К СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ

Раздел 2. Лабораторная гематология

Занятие №1. Понятие о гемопоэзе. Схема кроветворения

Ситуационная задача № 1.

Ответ: макроцитарная анемия (дефицит В₁₂, фолиевой кислоты)

Ситуационная задача № 2

Ответ: микроцитарная гипохромная анемия

Ситуационная задача № 3.

Ответ: ошибка в работе гематологического анализатора.

Занятие №2. Микроскопическое исследование мазка костного мозга. Цитохимические реакции.

Ситуационная задача № 1

Ответ: хронический лимфолейкоз

Ситуационная задача № 2

Ответ: острый лейкоз

Ситуационная задача № 3

Ответ: провести микроскопическое исследование периферической крови

Раздел 3. Физико-химические и микроскопические исследования биологического материала.

Занятие №1. Клинический анализ мочи, физико-химические свойства мочи, микроскопическое исследование

Ситуационная задача № 1

Ответ: анализ мочи по Нечипоренко и бактериологическое исследование мочи на флору и чувствительность к антибиотикам

Ситуационная задача №2

Ответ: анализ мочи по Зимницкому. Нарушена концентрационная способность почек

Ситуационная задача №3

Ответ: дисметаболическая нефропатия. Для исключения оксалатной нефропатии необходимо определение уровня кальция в моче.

Занятие №3. Основные методы получения желудочного и дуоденального содержимого.

Ситуационная задача № 1

Ответ: нарушение эвакуаторной функции желудка

Ситуационная задача № 2

Ответ: порция В (желчь из желчного пузыря). Калькулезный холецистит

Занятие №4. Состав панкреатического и кишечного секрета.

Клиническое исследование кала.

Ситуационная задача № 1

Ответ: дизентерия, туберкулез кишечника, распад опухоли

Занятие №6. Физико-химические свойства ликвора, микроскопическое исследование.

Ситуационная задача № 1

Ответ: менингококковая инфекция

Раздел 4. Лабораторная диагностика паразитарных болезней.

Занятие №1. Гельминтозы и кишечные протозоозы.

Ситуационная задача № 1

Ответ: аскарид

Ситуационная задача № 2

Ответ: анкилостомидозе

Занятие №2. Лабораторная диагностика малярии.

Ситуационная задача № 1

Ответ: P.ovale

Ситуационная задача № 2

Ответ: P.malariae

Раздел 5. Биохимические методы исследования.

Занятие №1. Белковый обмен. Определение мочевины, креатинина унифицированными методами.

Ситуационная задача № 1

Ответ: определить фракции белка сыворотки крови, исключить парапротеинемии

Ситуационная задача № 2

Ответ: гипопроteinемия (алиментарная, нарушена синтетическая функция печени, протеинурия). Для установления причины необходимо исключить перечисленные варианты с помощью дополнительных лабораторных исследований

Занятие №2. Методы исследования углеводного и липидного обмена.

Ситуационная задача № 1

Ответ: определить уровень гликированного гемоглобина

Ситуационная задача № 2

Ответ: риск развития атеросклероза

Занятие №3. Методы исследования пигментного обмена.

Ситуационная задача № 1

Ответ: внутрисосудистый гемолиз (гемолитическая анемия). Необходимо определить фракции билирубина (определение количества прямого и непрямого билирубина)

Занятие №4. Методы исследования витаминов.

Ситуационная задача № 1

Ответ: гиперхромная анемия. Недостаток витамина В₁₂ или фолиевой кислоты. Для исключения заболеваний печени (гепатит, цирроз) и заболеваний желудочно-кишечного тракта провести дополнительные лабораторные и инструментальные исследования. Определить уровень витамина В₁₂ или фолиевой кислоты в крови (алиментарный фактор)

Раздел 7. Основные звенья системы гемостаза.

Занятие №1. Лабораторные методы оценки процессов свертывания и фибринолиза. Особенности при гипо- и гиперкоагуляции. Коагулограмма. Клинико-диагностическое значение.

Ситуационная задача № 1

Ответ: отмена приема лекарственного препарата «Варфарин»; контроль МНО

Ситуационная задача № 2

Ответ: гиперкоагуляция, необходимо назначить лекарственный препарат «Гепарин» под контролем АЧТВ