**День 1**

В первый день ознакомились с ТБ и основными документами лаборатории.

Ознакомление с нормативными документами:

- Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения (протокол № 58).

- Правила техники безопасности при эксплуатации изделий медицинской техники в учреждениях здравоохранения. Общие требования.

- Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в КДЛ ЛПУ.

- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 17.09.1993г. № 220 «О мерах по развитию и совершенствованию инфекционной службы в Российской Федерации».

- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 25.12.1997г. № 380 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».

- Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 15189-2009 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности», идентичный международному стандарту ИСО 15189-2007 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности», утвержден приказом Ростехрегулирования от 09.12.2009 № 629-ст.

* Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в отделении лабораторной диагностики.
* Инструкция по проведению мероприятий при возникновении аварийной ситуации при работе с патогенными биологическими агентами.
* Инструкция по применению дезинфицирующих средств в отделении лабораторной диагностики
* Инструкция по правилам сбора, временного хранения и удаления отходов из ОЛД.
* План ликвидации аварии, связанной с нарушением целостности кожных покровов.
* План ликвидации аварии с разбрызгиванием ПБА на рабочем месте при работе с патогенными биологическими агентами.
* План ликвидации аварии без разбрызгивания ПБА на рабочем месте при работе с патогенными биологическими агентами.
* Инструкция по охране труда для персонала, работающего с ультрафиолетовыми бактерицидными облучателями открытого типа.

**День 2**

Сегодня ставили СОЭ и определяли ее показатели.

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – показатель, определение которого входит в общий анализ крови. Это неспецифический лабораторный скрининговый тест, изменение которого может служить косвенным признаком текущего воспалительного или иных патологических процессов, таких как злокачественные опухоли и диффузные заболевания соединительной ткани.

Скорость оседания эритроцитов определяют в разведенной цитратом крови за определенный промежуток времени (1час) и выражают в мм за 1 час. Значение СОЭ определяют как расстояние от нижней части поверхностного мениска (прозрачная плазма) до верхней части осевших эритроцитов в вертикальном столбце стабилизированной цитратом цельной крови.

Удельная масса эритроцитов выше, чем удельная масса плазмы, поэтому в пробирке при наличии антикоагулянта (цитрата натрия) под действием силы тяжести эритроциты оседают на дно. Процесс оседания (седиментации) эритроцитов можно разделить на 3 фазы, которые происходят с разной скоростью:

* **Первая фаза:** медленное оседание отдельных эритроцитов.
* **Вторая фаза:** образование агрегатов эритроцитов (т.н. "монетные столбики"), ускорение оседания.
* **Третья фаза:** образование множества агрегатов эритроцитов и их «упаковка», оседание замедляется и постепенно прекращается.

**Метод Панченкова**

* **Капилляр Панченкова.**Стандартный стеклянный капилляр для определения СОЭ: длина – 172 мм; наружный диаметр – 5 мм; диаметр отверстия – 1,0 мм; четкая коричневая градуировка от 0 до 10 см, шаг шкалы – 1,0 мм; верхнее деление шкалы отмечено «0» и буквой «К» (кровь), напротив деления 50 имеется буква «Р» (реактив).
* **Прибор ПР-3 (СОЭ-метр, аппарат Панченкова)**–представляет собой пластиковый штатив с гнездами для установки 20 капилляров.
* Время измерения: один час.

**Процедура определения:**

1. Подготовить 5% раствор цитрата натрия и внести на часовое стекло.
2. Промыть капилляр 5% раствором цитрата натрия.
3. Произвести забор капиллярной крови в промытый капилляр.
4. Перенести кровь из капилляра на часовое стекло.
5. Повторить шаги 3 и 4.
6. Перемешать кровь с цитратом натрия на часовом стекле и вновь заполнить капилляр.
7. Установить капилляр в штатив Панченкова. Запустить таймер для каждого капилляра отдельно.
8. Через 1 час определить СОЭ по высоте столба прозрачной плазмы.

**День 3**

Приготовление и окраска мазков крови.

На сухое подготовленное предметное стекло ближе к короткой стороне наносят стеклянной палочкой (или непосредственно из места укола пальца) небольшую каплю крови. Оставляют стекло в горизонтальном положении и размазывают кровь по стеклу с помощью сухого чистого шлифованного стекла, держа его под углом 45°. Коротким ребром, подождав, пока вся кровь не расплывется по нему, быстро проводят по предметному стеклу. Сильно нажимать на предметное стекло не следует, так как это может привести к повреждению форменных элементов крови. Мазки высушивают на воздухе и маркируют (лучше простым карандашом). Высохший мазок должен быть равномерно тонким, желтоватого цвета, достаточной величины, занимать почти всю длину стекла и заканчиваться «метелочкой». Толстые (густо-розового цвета) мазки использовать не следует, так как в них морфология клеток трудноразличима.

Фиксация и окраска мазков крови. Перед окраской мазки крови обычно фиксируют 5 мин в метиловом спирте для предотвращения гемолиза, который может произойти при контакте с водой в процессе окрашивания водорастворимой краской или при последующем контакте с водой. Методики фиксации описаны ниже вместе с методиками окраски.

**День 4**

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ.

Определение времени свертывания крови по Сухареву.

Для определения используется капиллярная кровь, взятая из пальца (первая капля крови обязательно удаляется сухой стерильной салфеткой). Взятая кровь набирается в капилляр Панченкова, который наклоняется в заданном ритме то влево, то вправо под определенным углом. Секундомером засекается время, когда кровь перестает свободно перемещаться внутри сосуда, то есть начинает свертываться. Время свертываемости крови (по Сухареву) в норме составляет: начало образования фибрина от 30 до 120 секунд, окончание процесса от 3-х до 5-ти минут.

**День 5**

Прием и маркировка биоматериала. Прием материала осуществляется при наличии направления с номером, соответствующим номеру на вакутейнере с кровью. Также в направлении указывается ФИО пациента, возраст и наименование исследований. При маркировке на вакутейнере ставится регистрационный номер, который соответствует номеру на направлении.

При приеме биоматериала необходимо соблюдать технику безопасности:

1. Использование средств индивидуальной защиты (медицинский костюм или халат, перчатки, медицинская шапочка);
2. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина, 6% раствором перекиси водорода.
3. В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биологическими жидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 минут тампоном, обильно смоченным 70% спиртом, вымыть под проточной водой с мылом и вытереть индивидуальным тампоном.
4. При подозрении на попадание крови на слизистые оболочки их немедленно обрабатывают струей воды, 1% раствором борной кислоты или вводят несколько капель нитрата серебра; нос обрабатывают 1% раствором протаргола; рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором перманганата калия.

Правила дезинфекции и утилизации биоматериала и использованных лабораторных инструментов.

Утилизация биоматериала происходит путем замачивания пробирок вместе с остатками материала в специальной емкости, маркированной Класс «Б» в дезинфицирующем растворе.

Дезинфекция использованных лабораторных инструментов происходит путем замачивания в специальных маркированных емкостях с дезинфицирующим раствором, на которых указана дата изготовления раствора и время экспозиции.

**День 6-7**

**Самостоятельная работа с дневником.**

**День 8**

**Определение количества эритроцитов и лейкоцитов в крови.**

Для подсчета эритроцитов необходимы камера Горяева, исследуемая кровь, 3,5% раствор натрия хлорида, микроскоп с объективом 40 и окуляром 7, стерильные пробирки. Предварительно покровное стекло плотно притирают к камере. Кровь перед исследованием разводят в специальном растворе натрия хлорида из расчета 200: 1. По принципу капиллярности кровь распространяется под покровным стеклом в счетной камере. Эритроциты подсчитывают в пяти больших квадратах, разделенных на малые. Для подсчета выбирают эритроциты внутри квадрата и по двум границам (например, верхней и правой или нижней и левой). Нормальное содержание эритроцитов – 3,4–5,0\*1012/л у женщин и 4,0–5,6\*1012/л у мужчин.

**Подсчет лейкоцитов.**

В пробирку вносят 0,4 мл 5% раствора уксусной кислоты, подкрашенной метиленовым синим (уксусная кислота лизирует эритроциты, метиленовый синий окрашивает ядра лейкоцитов) и 0,02 мл капиллярной крови. Полученное разведение считается равным 1 : 20. Перед заполнением камеры Горяева пробирку с разведенной кровью тщательно встряхивают. Камеру Горяева заполняют так же, как для подсчета эритроцитов. Подсчет лейкоцитов производят в 100 больших квадратах (неразграфленных).

Нормальное содержание лейкоцитов - 4-9\*109/л.

**День 9-10**

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ.

При гематологическом анализе (или общем анализе крови) в первую очередь диагностируется состояние 3 основных кровяных видов клеток, состояние которых во многом отражают производительность работы всего человеческого организма, - эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов. Чаще всего назначается такой лабораторный гематологический анализ, при котором проводится подсчет количества указанных кровяных клеток.

Сегодня работа большинства гематологических лабораторий автоматизирована. Для проверки анализов крови используются гематологические анализаторы. Анализатор способен выполнять до 100 анализов в час.

Гематологические анализаторы бывают полностью автоматические и полуавтоматические. Разница между ними лишь в том, что при использовании полуавтоматического анализатора необходимо присутствие в лаборатории и контроль оператора, в то время как автоматический гематологический анализатор все выполняет сам и не требует постороннего человеческого вмешательства.

Работа на гематологическом анализаторе **Sysmex XT-4000i**

Гематологический анализатор Sysmex XT-4000i – это автоматический гематологический анализатор новейшего поколения, способный исследовать основные параметры не только крови, но и Body Fluids (BF) — жидкостей тела. Sysmex XT-4000i – это 6 DIFF анализатор, позволяющий проводить анализ по 73 параметрам, что позволяет сформировать полную диагностическую картину исследуемого образца. Sysmex XT-4000i подойдет лаборатории любых размеров, поскольку его возможности способны удовлетворить самые высокие требования. Данный анализатор выпускается с 2009 года и уже отлично себя зарекомендовал в работе. Производитель – компания Sysmex Corporation (Япония).

В основе работы анализатора Sysmex XT-4000i лежит метод проточной цитофлюориметрии, позволяющий всего за 1 минуту с высочайшей точностью определить количество лейкоцитов, мононуклеаров, полиморфноядерных клеток и эритроцитов не только в крови, но и в спинномозговой жидкости, в синовиальной жидкости, в плевральном выпоте, в перитонеальной/асцитической жидкости.

**Параметры, измеряемые анализатором Sysmex XT-4000i**

* Анализатор Sysmex XT-4000i измеряет 73 параметра, 3 скаттерограммы, 2 гистограммы.

|  |  |
| --- | --- |
| Обозначение | Параметр |
| RBC | количество эритроцитов |
| PMN | % и # (количество полиморфноядерных клеток = нейтрофилы + эозинофилы + базофилы) |
| WBC | количество лейкоцитов |
| RBC-o | общий счет эритроцитов и ретикулоцитов (флуоресцентным методом) |
| HGB | гемоглобин |
| RBC-He | содержание гемоглобина в эритроцитах, пг |
| HCT | гематокрит |
| Delta He | разница между содержанием гемоглобина в ретикулоцитах и эритроцитах, пг |
| MCV | cредний объем эритроцитов |
| Ret-Y | величина флуоресцентного сигнала популяции ретикулоцитов, RET-канал |
| MCHC | cредняя концентрация гемоглобина |
| RBC-Y | величина флуоресцентного сигнала популяции эритроцитов, RET-канал |
| MCH | cреднее содержание гемоглобина |
| IRF-Y | величина флуоресцентного сигнала популяции ретикулоцитов, RET-канал |
| RDW-СV | ширина распределения эритроцитов (коэффициент вариации) |
| FRC | % и # фрагментированных эритроцитов |
| RDW-SD | ширина распределения эритроцитов (cтандартная девиация) |
| RPI | индекс продукции ретикулоцитов |
| PLT | тромбоциты, импедансный метод |
| HF-BF | % и # количество клеток высокой флюоресценции в жидкостях тела |
| MPV | cредний объем тромбоцитов |
| TC-BF | % и # общего количества ядросодержащих клеток в жидкостях тела |
| PDW | ширина распределения тромбоцитов |
| EO-BF | % и # количество эозинофилов в жидкостях тела |
| P-LCR | % крупных тромбоцитов |
| HFLC | % и # лимфоциты с высокой флуоресценцией |
| PCT | тромбокрит, % |
| NEU%& |  |
| NEU | % и # количество нейтрофилов |
| NEU#& |  |
| LYM | % и # количество лимфоцитов |
| NEU% Research |  |
| MONO | % и # количество моноцитов |
| NEU# Research |  |
| EO | % и # количество эозинофилов |
| LYM%& |  |
| BASO | % и # количество базофилов |
| LYM#& |  |
| IG | и # количество незрелых гранулоцитов |
| LYM% Research |  |
| RET | % и # количество ретикулоцитов |
| LYM# Research |  |
| IRF | фракция незрелых ретикулоцитов, % |
| MONO% Research |  |
| LFR | фракция ретикулоцитов низкой флуоресценции, % |
| MONO# Research |  |
| MFR | фракция ретикулоцитов средней флуоресценции, % |
| EO% Research |  |
| HFR | фракция ретикулоцитов высокой флуоресценции, % |
| ЕО# Research |  |
| PLT-о | тромбоциты (флуоресцентный метод) |
| BASO% Research |  |
| RET-He | содержание гемоглобина в ретикулоцитах, пг |
| BASO# Research |  |
| WBC-BF | количество лейкоцитов в жидкостях тела |
| IG% Research |  |
| RBC-BF | количество эритроцитов в жидкостях тела |
| MN | % и # (количество мононуклеаров = лимфоциты + моноциты) |

**День 11**

Взятие капиллярной крови:

* Идентифицировать пациента.
* Оформить/проверить направления.
* Выяснить, соблюдал ли пациент предписанную диету и нет ли у него аллергии на вещества, содержащиеся в дезинфицирующем средстве для очищения кожи в месте пункции.
* Обеспечить пациенту удобное и подходящее для взятия крови положение и проверить теплые ли руки у пациента. При необходимости согреть их.
* Надеть перчатки.
* Подготовить необходимые средства для работы.
* Выбрать место пункции.
* Обработать перчатки дезинфицирующим средством.
* Очистить место предполагаемой пункции дезинфицирующим средством и дать коже высохнуть.
* Фиксировать руку пациента и палец, куда планируется нанести прокол; сдавить мягкую часть дистальной фаланги до возникновения легкого отека и конец пальца приобретает темно-красную окраску.
* Произвести прокол кожи немного латеральнее от центральной оси пальца.
* Первая капля крови удаляется сухой очищающей салфеткой.
* Полностью заполнить капилляр кровью.
* После взятия крови на место прокола следует поместить салфетку, смоченную дезинфицирующим раствором и сдавить на 3-5 минут.
* Маркировать пробирки.
* Все используемые во взятие крови необходимые средства собрать в специальный контейнер.

**День 12**

**Самостоятельная работа с дневником.**

**День 13-14**

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ.

Подсчет лейкоцитарной формулы

Подсчет лейкоцитарной формулы крови производят в окрашенных мазках периферической крови.

Приготовление мазков. Тщательно вымытым и обезжиренным предметным стеклом (его краем) прикасаются к капле крови на месте укола. Мазок делают шлифовальным стеклом, поставив его под углом в 45° к предметному стеклу впереди капли. Подведя стекло к этой капле, ждут, пока кровь расплывется вдоль его ребра, затем быстрым легким движением проводят шлифовальное стекло вперед, не отрывая от предметного раньше, чем иссякнет вся капля. Мазок высушивают и фиксируют используя смесь Никифорова (равные части абсолютного этилового спирта и эфира) в течение 30 минут. Используют краситель Романовского-Гимзе (заводского приготовления). Рабочий раствор краски приготавливают из расчета 1,5—2 капли готовой краски на 1 мл дистиллированной воды. Краску наливают на мазок возможно более высоким слоем, длительность окраски — 30—35 мин. По истечении этого срока мазки промывают водой и высушивают на воздухе. Подсчет лейкоцитарной формулы крови производят в окрашенных мазках периферической крови. Считать лучше ближе к концу мазка в самом тонком месте, не менее 200 клеток (исключение составляют выраженные лейкопении), а затем выводят процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов.

**День 15**

Взятие капиллярной крови:

* Идентифицировать пациента.
* Оформить/проверить направления.
* Выяснить, соблюдал ли пациент предписанную диету и нет ли у него аллергии на вещества, содержащиеся в дезинфицирующем средстве для очищения кожи в месте пункции.
* Обеспечить пациенту удобное и подходящее для взятия крови положение и проверить теплые ли руки у пациента. При необходимости согреть их.
* Надеть перчатки.
* Подготовить необходимые средства для работы.
* Выбрать место пункции.
* Обработать перчатки дезинфицирующим средством.
* Очистить место предполагаемой пункции дезинфицирующим средством и дать коже высохнуть.
* Фиксировать руку пациента и палец, куда планируется нанести прокол; сдавить мягкую часть дистальной фаланги до возникновения легкого отека и конец пальца приобретает темно-красную окраску.
* Произвести прокол кожи немного латеральнее от центральной оси пальца.
* Первая капля крови удаляется сухой очищающей салфеткой.
* Полностью заполнить капилляр кровью.
* После взятия крови на место прокола следует поместить салфетку, смоченную дезинфицирующим раствором и сдавить на 3-5 минут.
* Маркировать пробирки.
* Все используемые во взятие крови необходимые средства собрать в специальный контейнер.

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ. Регистрация результатов в рабочий журнал.