**День 1**

8.12.2018

Методический день заполнения дневника.

**День 2**

10.12.18

Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат, перчатки и респиратор.

1)Маркировка биологического материала: прием и регистрация кала.

2)Расставляла на подносе кал в порядковом номере с направления, сверяя фамилию и отделение на баночках и направлениях. Первый ряд баночек был на исследование кала на яйцеглист (метод приготовления мазков по Като), второй ряд на копрограмму (копрологическое исследование)

**Приготовление препарата по методу Като**

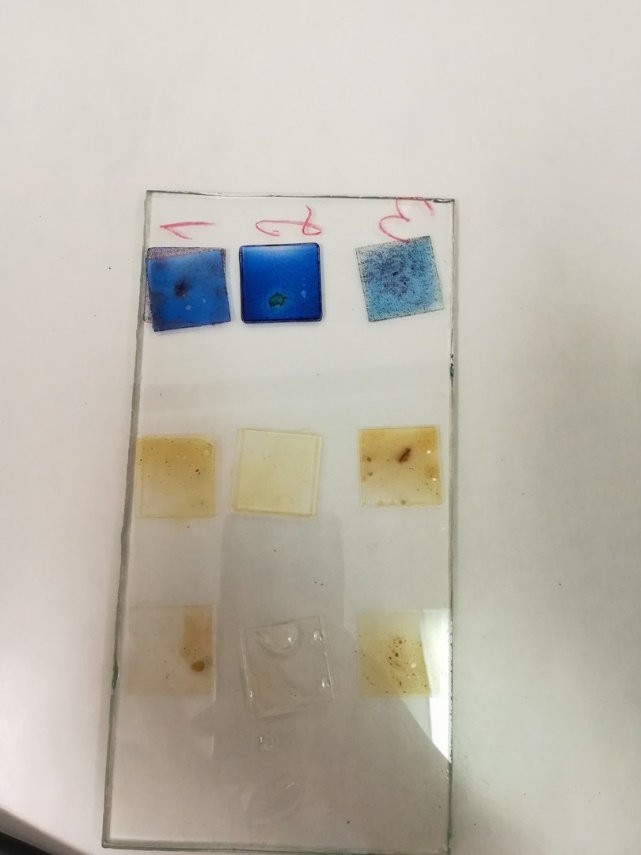
1. Подписываем предметные стекла в соответствии с номером на направлении
2. Берем небольшое количество нужного образца стеклянной палочкой и наносим на центр стекла. Палочку помещаем в стакан с дезраствором (Септолит ДХЦ 0,480% р-р)
3. Затем из сосуда с уже готовым заранее раствора (3% р-р водной малахитовой зелени, глицерин и 6% водный р-р фенола) берем прямоугольный кусочек целофана и накрываем им кал, фекалий равномерно распределяем. Препарат на 1 час кладем на другой поднос, за это время он высветлится и яйца легко обнаруживаются.

****

**Копрологическое исследование**

На стекло 7х10 см накапывается по капле в ряд:

1. Р-р глицерина (детрит, остатки пищи- мышечные волокна, соединительная ткань, растительная клетчатка, переваримая клетчатка)
2. Р-р Люголя (крахмал)
3. Р-р метиленовой сини (нейтральные жиры, жирные кислоты, мыла)

Берем небольшой кусочек кала стеклянной палочкой и растираем в каждой капле. Затем накрывается покровным стеклом и микроскопируется. Результаты микроскопирования записываются на направления.

**День 3**

11.12.18

Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат, перчатки и респиратор.

1)Окрашивание мазков по Романовскому-Гимзе

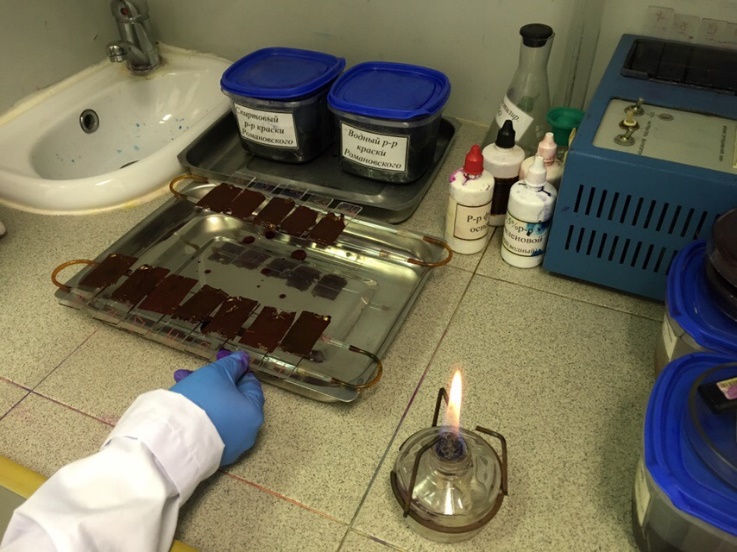
**Окраска по Романовскому-Гимзе**

В каретки составляем препарытне стекла с уже высохшим мазком мокроты. Помещаем их в Спиртовой р-р Романовского на 10 минут,затем достаем и перемещаем в Водный р-р Романоского на 20 минут. После окраски промываем под проточной водой и сушим.

2)Окрашивание мазков на КУМ по Целю-Нильсену

**Окраска препарата мокроты на КУМ по Целю-Нильсену**

На подносе размещаем мостики на которые кладем препарат. На него укладываем фильтровальную бумагу и наливаем раствор карболового фуксина. Препарат нагреваем до поялвения пара (следим,чтобы препарат не кипел). Даем остыть и убираем фильтровальную бумагу. Опускаем препарат в соляно-кислый спирт до полного отхождения краски, затем промываем под проточной водой. Докрашиваем препарат метиленовым синим 20-30 секунд. Промываем водой, высушиваем и микроскопируем с иммерсией.



**День 4**

12.12.18

Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат, перчатки и респиратор.

1)Маркировка биологического материала: прием и регистрация.

2)Расставляла на подносе кал в порядковом номере с направления, сверяя фамилию и отделение на баночках и направлениях. Первый ряд баночек был на исследование кала на яйцеглист (метод приготовления мазков по Като), второй ряд на копрограмму (копрологическое исследование)

**Приготовление препарата по методу Като**

1. Подписываю предметные стекла в соответствии с номером на направлении
2. Беру небольшое количество нужного образца стеклянной палочкой и наношу на центр стекла. Палочку помещаю в стакан с дезраствором (Септолит ДХЦ 0,480% р-р)
3. Затем из сосуда с уже готовым заранее раствора (3% р-р водной малахитовой зелени, глицерин и 6% водный р-р фенола) беру прямоугольный кусочек целофана и накрываю им кал, фекалий равномерно распределяю. Препарат на 1 час кладу на другой поднос, за это время он высветлится и яйца легко обнаруживаются.

**Копрологическое исследование**

На стекло 7х10 см накапывается по капле в ряд:

1. Р-р глицерина (детрит, остатки пищи- мышечные волокна, соединительная ткань, растительная клетчатка, переваримая клетчатка)
2. Р-р Люголя (крахмал)
3. Р-р метиленовой сини (нейтральные жиры, жирные кислоты, мыла)

Берем небольшой кусочек кала стеклянной палочкой и растираем в каждой капле. Затем накрывается покровным стеклом и микроскопируется. Результаты микроскопирования записываются на направления.

3)Окрашивание мазков по Грамму

**Окраска мазков на GN и TR по Грамму**

На подносе размещаем мостики на которые кладем фиксированный препарат. На него укладываем фильтровальную бумагу смоченную генцианвиолетом. Красим 1-2 минуты. Убираем фильтровальную бумагу и заливаем препарат раствором Люголя на 2 минуты. Затем Люголь сливаем и опускаем в спирт до сероватого цета. Промываем пол проточной водой и окрашиваем водным раствором фуксина карболового 10-15 секунд. Как только окрасили последний препарат, первый начинаем смывать под проточной водой и сушим.



**День 5**

13.12.18

Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат, перчатки и респиратор.

1)Маркировка биологического материала: прием и регистрация.

2)Расставляла на подносе кал в порядковом номере с направления, сверяя фамилию и отделение на баночках и направлениях. Первый ряд баночек был на исследование кала на яйцеглист (метод приготовления мазков по Като), второй ряд на копрограмму (копрологическое исследование)

**Приготовление препарата по методу Като**

1. Подписываем предметные стекла в соответствии с номером на направлении
2. Берем небольшое количество нужного образца стеклянной палочкой и наносим на центр стекла. Палочку помещаем в стакан с дезраствором (Септолит ДХЦ 0,480% р-р)
3. Затем из сосуда с уже готовым заранее раствора (3% р-р водной малахитовой зелени, глицерин и 6% водный р-р фенола) берем прямоугольный кусочек целофана и накрываем им кал, фекалий равномерно распределяем. Препарат на 1 час кладем на другой поднос, за это время он высветлится и яйца легко обнаруживаются.

**Копрологическое исследование**

На стекло 7х10 см накапывается по капле в ряд:

1. Р-р глицерина (детрит, остатки пищи- мышечные волокна, соединительная ткань, растительная клетчатка, переваримая клетчатка)
2. Р-р Люголя (крахмал)
3. Р-р метиленовой сини (нейтральные жиры, жирные кислоты, мыла)

Берем небольшой кусочек кала стеклянной палочкой и растираем в каждой капле. Затем накрывается покровным стеклом и микроскопируется. Результаты микроскопирования записываются на направления.

3)Окрашивание мазков по Романовскому-Гимзе

**Окраска по Романовскому-Гимзе**

В каретки составляем препарытне стекла с уже высохшим мазком мокроты. Помещаем их в Спиртовой р-р Романовского на 10 минут,затем достаем и перемещаем в Водный р-р Романоского на 20 минут. После окраски промываем под проточной водой и сушим.

4)Окрашивание мазков на КУМ по Целю-Нильсену

**Окраска препарата мокроты на КУМ по Целю-Нильсену**

На подносе размещаем мостики на которые кладем препарат. На него укладываем фильтровальную бумагу и наливаем раствор карболового фуксина. Препарат нагреваем до поялвения пара (следим,чтобы препарат не кипел). Даем остыть и убираем фильтровальную бумагу. Опускаем препарат в соляно-кислый спирт до полного отхождения краски, затем промываем под проточной водой. Докрашиваем препарат метиленовым синим 20-30 секунд. Промываем водой, высушиваем и микроскопируем с иммерсией.

5)Окрашивание мазков по Грамму

**Окраска мазков на GN и TR по Грамму**

На подносе размещаем мостики на которые кладем фиксированный препарат. На него укладываем фильтровальную бумагу смоченную генцианвиолетом. Красим 1-2 минуты. Убираем фильтровальную бумагу и заливаем препарат раствором Люголя на 2 минуты. Затем Люголь сливаем и опускаем в спирт до сероватого цета. Промываем пол проточной водой и окрашиваем водным раствором фуксина карболового 10-15 секунд. Как только окрасили последний препарат, первый начинаем смывать под проточной водой и сушим.

**День 6**

14.12.18

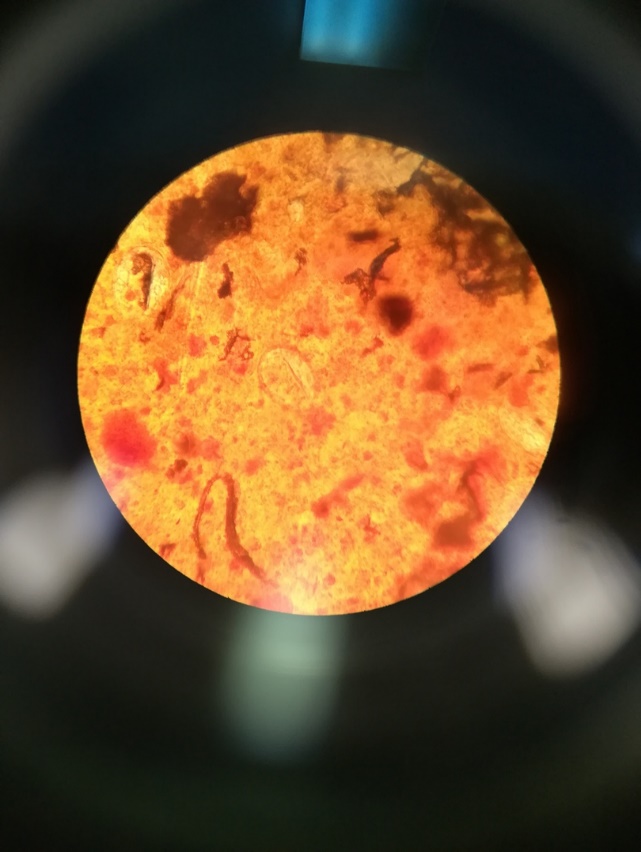
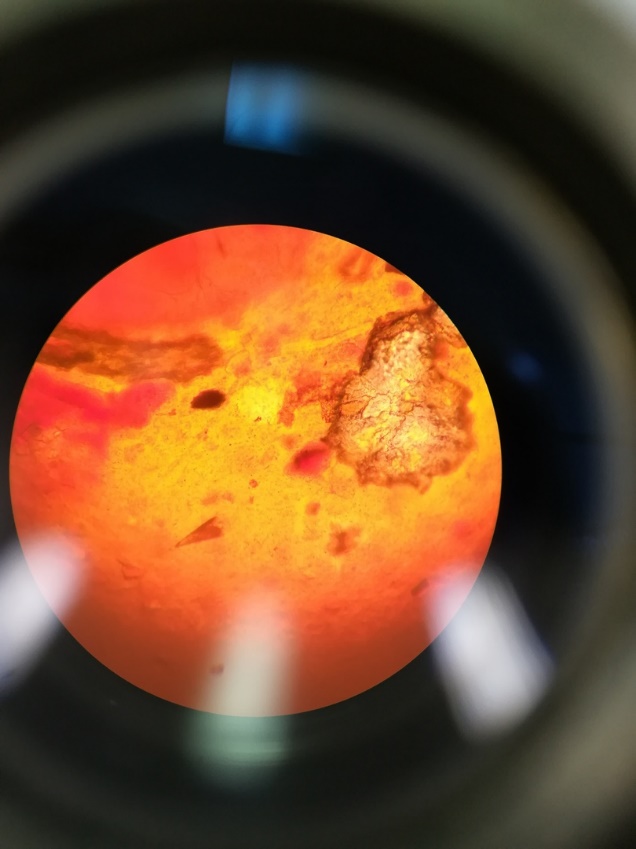
Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат, перчатки и респиратор.

1)Маркировка биологического материала: прием и регистрация.

2)Расставляла на подносе кал в порядковом номере с направления, сверяя фамилию и отделение на баночках и направлениях. Первый ряд баночек был на исследование кала на яйцеглист (метод приготовления мазков по Като), второй ряд на копрограмму (копрологическое исследование)

**Приготовление препарата по методу Като**

1. Подписываем предметные стекла в соответствии с номером на направлении
2. Берем небольшое количество нужного образца стеклянной палочкой и наносим на центр стекла. Палочку помещаем в стакан с дезраствором (Септолит ДХЦ 0,480% р-р)
3. Затем из сосуда с уже готовым заранее раствора (3% р-р водной малахитовой зелени, глицерин и 6% водный р-р фенола) берем прямоугольный кусочек целофана и накрываем им кал, фекалий равномерно распределяем. Препарат на 1 час кладем на другой поднос, за это время он высветлится и яйца легко обнаруживаются.



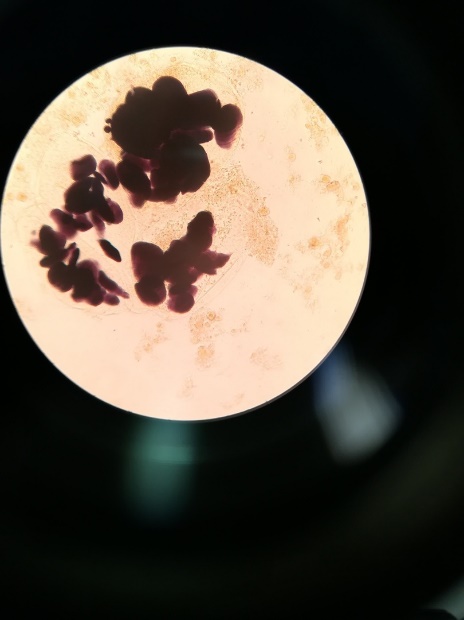
*(яйца широкого лентеца) (яйца сибирской двуустки)*

**Копрологическое исследование**

На стекло 7х10 см накапывается по капле в ряд:

1. Р-р глицерина (детрит, остатки пищи- мышечные волокна, соединительная ткань, растительная клетчатка, переваримая клетчатка)
2. Р-р Люголя (крахмал)
3. Р-р метиленовой сини (нейтральные жиры, жирные кислоты, мыла)

Берем небольшой кусочек кала стеклянной палочкой и растираем в каждой капле. Затем накрывается покровным стеклом и микроскопируется. Результаты микроскопирования записываются на направления.



*(внеклеточный крахмал) (внутриклеточный крахмал)*

3)Окрашивание мазков по Романовскому-Гимзе

**Окраска по Романовскому-Гимзе**

В каретки составляем препарытне стекла с уже высохшим мазком мокроты. Помещаем их в Спиртовой р-р Романовского на 10 минут,затем достаем и перемещаем в Водный р-р Романоского на 20 минут. После окраски промываем под проточной водой и сушим.

4)Окрашивание мазков на КУМ по Целю-Нильсену

**Окраска препарата мокроты на КУМ по Целю-Нильсену**

На подносе размещаем мостики на которые кладем препарат. На него укладываем фильтровальную бумагу и наливаем раствор карболового фуксина. Препарат нагреваем до поялвения пара (следим,чтобы препарат не кипел). Даем остыть и убираем фильтровальную бумагу. Опускаем препарат в соляно-кислый спирт до полного отхождения краски, затем промываем под проточной водой. Докрашиваем препарат метиленовым синим 20-30 секунд. Промываем водой, высушиваем и микроскопируем с иммерсией.

5)Окрашивание мазков по Грамму

**Окраска мазков на GN и TR по Грамму**

На подносе размещаем мостики на которые кладем фиксированный препарат. На него укладываем фильтровальную бумагу смоченную генцианвиолетом. Красим 1-2 минуты. Убираем фильтровальную бумагу и заливаем препарат раствором Люголя на 2 минуты. Затем Люголь сливаем и опускаем в спирт до сероватого цета. Промываем пол проточной водой и окрашиваем водным раствором фуксина карболового 10-15 секунд. Как только окрасили последний препарат, первый начинаем смывать под проточной водой и сушим.

**День 7**

15.12.18

Методический день заполнения дневника.

**День 8**

17.12.18

Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат и перчатки.

1)Маркировка биологического материала: прием и регистрация мочи.

2)Определение физических свойств мочи.

**Определение физических свойств мочи**

1)Прием и регистрация биологического материала(моча)

2)Определение физических свойств мочи:

* кол-во мочи
* цвет
* прозрачность
* осадок
* реакция мочи
* относительная плотность

**Определение количества мочи**

При проведении общего анализа количество мочи определяется обычно приблизительно, на глаз. Точное измерение количества мочи мерным цилиндром проводится только в тех случаях, когда мочи мало – менее 50мл

**Определение цвета мочи**

Цвет мочи определяют в цилиндре. Приподняв цилиндр на уровень глаз, оценивают цвет мочи в проходящем свете на белом фоне.

**Определение прозрачности мочи**

Прозрачность мочи определяют, смещая цилиндр с мочой по отношению к какому-либо предмету. Если контуры предмета видны четко, то моча прозрачна. Если же контуры видны нечетко или совсем не видны, то прозрачность мочи оценивается как «мутноватая» или «мутная».

**Определение осадка мочи**

Осадки мочи определяются на глаз. Если осадка нет, то ставят прочерк. Если же осадок имеется, то описывают его свойства: количество – незначительный, объемистый и т.д. цвет – белый, розовый, кирпично-красный, желтовато-зеленоватый и т.д. характер – аморфный, кристаллический.

**Определение реакции мочи**

Унифицировано 2 метода определения реакции мочи:

1. При помощи индикаторных полосок – универсальной индикаторной бумаги (диапазон значений рН 1,0-10,0), специальной индикаторной бумаги для определения рН мочи (диапазон рН 5,0-8,0), лакмусовой бумаги, комбинированных экспресс – тестов, которыми можно определить, помимо рН, ряд других показателей.

2. По Андрееву с помощью жидкого индикатора.

*Реактивы*: 0,1% раствор индикатора бромтимолового синего. Границы изменения окраски индикатора лежат в диапазоне рН 6,0-7,6. *Ход исследования*.

К 2-3 мл мочи добавляют 1-2 капли индикатора

По цвету раствора судят о реакции мочи:

* Желтый цвет соответствует кислой реакции
* Бурый цвет – слабокислой реакции
* Травянистый цвет – нейтральной реакции
* Буро-зеленый цвет соответствует слабощелочной реакции
* Зеленый- синий цвет – щелочной реакции.
* Синий – резко-щелочной

Эта проба очень проста, но дает только ориентировочное представление о реакции мочи. Отличить мочу с нормальной рН от патологически кислой этим методом невозможно.

О**пределение относительной плотности мочи.**

*Принцип:* Сравнение плотности мочи с плотностью воды при помощи урометра со шкалой от 1,000 до 1,050.

*Оборудование:* цилиндр на 50мл, урометр.

*Ход исследования:* Мочу наливают в цилиндр, избегая образования пены, осторожно погружают в нее урометр. После прекращения его колебаний отмечают относительную плотность по шкале урометра (по нижнему мениску), на уровне глаз. Урометр не должен касаться стенок цилиндра. Температура исследуемой мочи должна быть 15± 3 градуса.

Все выявленные физические свойства записываются на направление, а затем вносятся в базу.

3) Определение суточной потери белка.

**Суточная потеря белка**

Для сбора мочи необходима чистая стеклянная посуда емкостью не менее 3х литров. Утром в день исследования первое мочеиспускание производится в 6:00 утра. Затем при каждом последующем мочеиспускании она собирается в одну посуду до 6:00 утра следующего дня. Часть порции отливаем в чистую центрифужную пробирку объемом 10 мл. и отправляем в центрифугу на 10 минут (1500 оборотов), откручивать. После центрифугирования мочи, мы производим количественное и качественное определение белка. После полученных результатов производит расчет по формуле:

СПБ= Например: СПБ= = 3,24 г/л

**День 9**

18.12.18

Перед началом работы мы переодеваемся, обуваем сменную обувь. Надеваем халат и перчатки.

1)Маркировка биологического материала: прием и регистрация мочи.

2)Определение химических свойств мочи.

**Определение химических свойств мочи**

* Качественное определение белка в моче с помощью 20% ССК
* Количественное определение белка в моче на белуре с пирогаллоловым красным
* Качественное и количественное определение глюкозы в моче с помощью ФКД

**Определение наличия белка в моче с помощью унифицированной пробы с 20% раствором сульфосалициловой кислоты**

**Принцип:** Белки, содержащиеся в моче, под действием сульфосалициловой кислоты свертываются (денатурируются), в результате чего появляется помутнение раствора или выпадение хлопьев.

**Реактивы:** 20% раствор сульфосалициловой кислоты (ССК) **Подготовительная работа.** В некоторых случаях перед проведением пробы необходимо провести подготовку мочи:

1. Мутную мочу необходимо профильтровать через бумажный фильтр

2. Мочу щелочной реакции необходимо подкислить несколькими каплями 10% уксусной кислоты до слабокислой реакции под контролем универсальной индикаторной бумаги

3. При малом содержании солей в моче (водянистый цвет, низкая относительная плотность) перед исследованием к ней необходимо добавить несколько капель насыщенного раствора хлорида натрия, так как при недостатке солей плохо происходит свертывание белка

**Ход определения**. Берем 1 химическую пробирку, маркируем. В пробирку наливаем 2 мл подготовленной мочи и добавляем 2 капли 20% ССК, перемешиваем ее содержимое. Оцениваем, результат пробы на черном фоне, в проходящем свете. При наличии белка в моче содержимое пробирки становится мутным. В норме проба с сульфосалициловой кислотой отрицательная.

**Недостатки метода**. Сульфосалициловая кислота осаждает не только белки, но и *алъбумозы* (полипептиды, продукты неполного распада белка). Для уточнения причины помутнения пробирку слегка подогревают. При этом помутнение, зависящее от альбумоз, исчезает, а от белка - усиливается. **Чувствительность метода**. 0,015г/л.

Чувствительность метода - это минимальное количество вещества, которое может быть обнаружено данным методом.

**Определение концентрации белка в моче с пирогаллоловым красным.**

**Принцип**.

При взаимодействии белка с красителем пирогаллоловым красным образуется окрашенный комплекс, интенсивность поглощения которого на длине волны 500нм увеличивается с ростом концентрации белка в пробе.

**Реактивы** поставляются в наборе: раствор пирогаллолового красного и молибдата натрия в сукцинатном буфере, калибровочные растворы белка 1 г/л и 0,2г/л.

**Специальное оборудование:** БЕЛУР-600 для определения концентрации белка в моче.

**Ход исследования.** Приготовить пробы смешиванием компонентов в количестве, указанном в таблице .

**Приготовление проб:**

После смешивания компонентов пробы инкубируют 10 минут при комнатной температуре. Окраска стабильна в течении 60 минут при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность опытных проб и калибровочной пробы в кюветах на 1см при длине волны 500нм против холостой пробы.

Расчет ведут по формуле:

C=,

где С – концентрация белка в пробе, D – образец- оптическая плотность опытной пробы, D – стандарт - оптическая плотность калибровочной пробы. Если результат определения более 1,9г/л, следует развести исследуемый образец в 2 или более раза дистиллированной водой, повторить тест и результат умножить на степень разведения. Если концентрация белка менее 0,07г/л и требуется уточнение результата, повторить анализ с калибровочной пробой 0,2г/л при соотношении образец/реагент=1:10

**Определение глюкозы в моче с помощью ФКД качественным методом.**

**Ход исследования:** мочу по 0,005 мл раскапываем в иммунологический планшет, добавляем 0,2 мл рабочего реактива.

**Учет результатов:** пробы, вызывающие в течение 2 минут покраснение реакционной смеси, считаются положительными.

Количественное определение проводят аналогично определению содержания глюкозы в сыворотке крови.

**Количественное определение глюкозы в моче**

Для проб, давших положительную реакцию на глюкозу, проводим количественное определение содержания глюкозы.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты, моча | Опытная  проба, мл | Калибровочная проба, мл | Холостая  проба, мл |
| Раствор  ферментно-хромогенной смеси | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Моча | 0,020 | --- | --- |
| Калибратор | --- | 0,020 | --- |
| Вода дистиллированная | --- | --- | 0,020 |

Пробы тщательно перемешать, оставить в течение 25 минут при комнатной температуре. По истечению времени измерить величину оптической плотности опытной и калибровочной проб против холостой пробы в кюветах с длиной оптического пути 5 или 10 мм при длине волны 500 (490-540) нм на приборе «Микрола»

Норма содержания глюкозы в моче не более 0,5 ммоль/л.

Показатели белка и глюкозы записываем в направление и вносим в базу.

**День 10**

19.12.18

**Микроскопическое исследование осадка мочи**

**Микроскопия нативного препарата мочи**

Принцип: Микроскопическое исследование нативных препаратов мочевого осадка, полученного при центрифугировании мочи.

Исследуемый материал: микроскопическое исследование осадка проводится в утренней порции мочи.

Микроскопия осадка мочи может проводиться:

* Ориентировочным методом;
* Количественными методами Ничепоренко, Каковского-Аддиса.

При микроскопии осадка мочи различают:

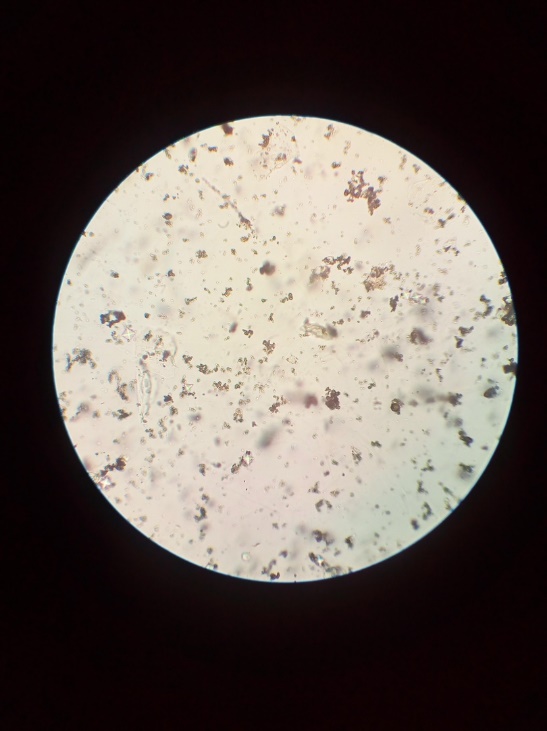
* Организованные (органические) осадки;
* Неорганизованные (неорганические) осадки.

Ход работы:

* Тщательно перемешиваем мочу.
* Наливаем в центрифужную пробирку 10мл. мочи.
* Центрифугируем:

Последовательность действий при работе и установки программы на центрифуге:

* Устанавливаем пробирки друг напротив друга, чтобы уравновесить
* Закрываем крышку центрифуги до щелчка.
* Нажимаем кнопку 1500тыс/об. В течении 10 минут биоматериал центрифугируется при 1.5 тыс/об.
* Сливаем над осадочную жидкость.
* Помещаем набольшую каплю осадка на предметное стекло и накрываем его покровным стеклом.
* Микроскопировала сначала на малом, а затем на большом увеличении с опущенным конденсором.



*(Оксалаты и ураты)*

После завершения микроскопии, привожу в порядок микроскоп (протираю 70% спиртом окуляр, объектив и предметный столик) и утилизирую нативные препараты, перчатки.

В конце вносим результаты исследований в систему qMS.

Произвела микроскопию нативного препарата мочи, обнаружила элементы мочевого характера.

**День 11**

20.12.18

Методический день заполнения дневника.

**День 12**  
21.12.18

Методический день заполнения дневника.