**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение**

**высшего образования**

**«Красноярский государственный медицинский университет**

**имени профессора В.Ф. Войно - Ясенецкого»**

**Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Фармацевтический колледж**

### Дневник

Учебной практики

по **МДК** 07.03 «Теория и практика лабораторных иммунологических исследований»

Шустовой Нины Александровны

ФИО

Место прохождения практики

с «31» марта 2020 г. по «03» апреля 2020 г.

Руководители практики:

Воронова М.Ф

Красноярск, 2020

## Содержание

1. Цели и задачи практики

2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики

3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Инструктаж по технике безопасности

6. Содержание и объем проведенной работы

7. Манипуляционный лист (Лист лабораторных / химических исследований)

8. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цель** учебной практики «Теория и практика лабораторных иммунологических исследований» состоит в закреплении и углублении теоретической подготовки обучающегося, приобретении им практических умений, формировании компетенций, составляющих содержание профессиональной деятельности медицинского технолога.

**Задачи**:

1.Ознакомление со структурой иммунологической лаборатории и организацией рабочего места медицинского технолога ;

2.Проведение основных и дополнительных лабораторных исследований для дифференциальной диагностики заболеваний иммунной системы;

3.Проведение исследований на современном лабораторном оборудовании;

4.Обучение студентов оформлению медицинской документации;

5.Формирование основ социально-личностной компетенции путем приобретения студентом навыков межличностного общения с медицинским персоналом и пациентами;

**Программа учебной практики.**

*В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:*

1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных исследований.
2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
6. Регистрировать проведенные исследования.
7. Вести учетно-отчетную документацию.
8. Пользоваться приборами в лаборатории.
9. Выполнять методики определения веществ согласно алгоритмам

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Характеристику, заверенную подписью руководителя практики и печатью ЛПУ.
3. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
4. Выполненную самостоятельную работу.
5. Аттестационный лист.

**В результате учебной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

**ПО. 2** Проведение основных и дополнительных лабораторных исследований для дифференциальной диагностики заболеваний органов кроветворения;

**ПО. 3** Современные методы постановки оценки иммунного статуса;

**Умения:  
У.7** дифференцировать патологические клетки крови при подсчете лейкоцитарной формулы;

**У.8** проводить контроль качества гематологических исследований;

**У.9** проводить основные и дополнительные методы оценки состояния клеточного и гуморального иммунитета;

**У.10** работать на современном медицинском и лабораторном оборудовании;

**У.11** проводить контроль качества иммунологических исследований;

**Знания:  
З.13** роль и место клинической иммунологии в современной диагностической медицине;

**З.14** строение и функции иммунной системы;

**З.15** основные иммунопатологические процессы;

**З.16** принципы оценки клеточного и гуморального иммунитета, нарушений лимфо- и миелопоэза;

**З.17** основные признаки пролиферации, дисплазии, метаплазии, фоновых процессов;

**Прохождение данной учебной практики направлено на формирование общих (ОК) и профессиональных (ПК) компетенций**:

ПК 7.1. Готовить рабочее место и аппаратуру для проведения клинических лабораторных исследований.

ПК 7.2. Осуществлять высокотехнологичные клинические лабораторные исследования биологических материалов.

ПК 7.3. Проводить контроль качества высокотехнологичных клинических лабораторных исследований.

ПК 7.4. Дифференцировать результаты проведенных исследований с позиции «норма - патология».

ПК 7.5. Регистрировать результаты проведенных исследований.

ПК 7.6. Проводить утилизацию биологического материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

|  |  |
| --- | --- |
| ОК 1 | Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес. |
| ОК 2 | Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество. |
| ОК 3 | Решать проблемы, оценивать риски и принимать решения в нестандартных ситуациях. |
| ОК 4 | Осуществлять поиск, анализ и оценку информации, необходимой для постановки и решения профессиональных задач, профессионального и личностного развития. |
| ОК 5 | Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности. |
| ОК 6 | Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями. |
| ОК 7 | Ставить цели, мотивировать деятельность подчиненных, организовывать и контролировать их работу с принятием на себя ответственности за результат выполнения заданий. |
| ОК 8 | Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации. |
| ОК 9 | Быть готовым к смене технологий в профессиональной деятельности. |
| ОК 10 | Бережно относиться к историческому наследию и культурным традициям народа, уважать социальные, культурные и религиозные различия. |
| ОК 11 | Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку. |
| ОК 12 | Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях. |
| ОК 13 | Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности. |
| ОК 14 | Вести здоровый образ жизни, заниматься физической культурой и спортом для укрепления здоровья, достижения жизненных и профессиональных целей. |

Тематический план учебной практики

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | | **Всего часов** |
|
|
| **8семестр** | | | **36** |
| 1 | *Ознакомление с правилами работы :*  - изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ. | | 2 |
| 2 | *Организация рабочего места:*  - приготовление реактивов, подготовка оборудования, посуды для исследования | | 3 |
| 3 | *Определение иммунологических показателей*  *-*клеточного звена  -гуморального звена  - систему комплемента | | 24 |
| 4 | *Регистрация результатов исследования.* | | 2 |
| 5 | *Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима :*  - проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;  - утилизация отработанного материала. | | 4 |
| **Вид промежуточной аттестации** | | Зачет | 1 |
| **Итого** | | | **36** |

**График прохождения практики.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Дата** | **Часы** | **оценка** | **Подпись руководителя.** |
| 1 |  | 6 |  |  |
| 2 |  | 6 |  |  |
| 3 |  | 6 |  |  |
| 4 |  | 6 |  |  |
| 5 |  | 6 |  |  |
| 6 |  | 6 |  |  |

**Лист лабораторных исследований.**

**8 семестр**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследования. |  | | | | | | итог |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |  |
| Исследование клеточного звена иммунной системы |  |  |  |  |  |  |  |
| Исследование гуморального звена иммунной системы |  |  |  |  |  |  |  |
| Исследование системы комплемента |  |  |  |  |  |  |  |
| Проведение исследований методом ИФА |  |  |  |  |  |  |  |
| Участие в контроле качества |  |  |  |  |  |  |  |

# 2. Текстовой отчет

|  |
| --- |
| 1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики: |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Самостоятельная работа: |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей: |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Замечания и предложения по прохождению практики: |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |

Общий руководитель практики **\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_** \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

*(подпись) (ФИО)*

М.П.организации

**День 1.**

**1. Нормативные документы, регламентирующих работу цитологической лаборатории**

1. Приказ №380 от 25.12.1997 «СОСТОЯНИИ И МЕРАХ ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ ЛАБОРАТОРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ В УЧРЕЖДЕНИЯХ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

2. ПРИКАЗ МЗ РФ №117 от 3 мая 1995 г. «ОБ УЧАСТИИ КЛИНИКО - ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ ЛЕЧЕБНО - ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ РОССИИ В ФЕДЕРАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ВНЕШНЕЙ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ»

3. ПОСТАНОВЛЕНИЕ ПРАВИТЕЛЬСТВА РФ №30 от 22 января 2007 г. «ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ПОЛОЖЕНИЯ О ЛИЦЕНЗИРОВАНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ»

4. ПРИКАЗ МЗ РФ № 109 от 21 марта 2003 г. «О СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»

5. СанПиН 2.1.3.2630-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность"

6. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»,

7.СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

**2. " Утилизация отходов различных классов, преимущество и недостатки методов утилизации"**

Утилизация отходов производится с помощью нормативного документа:

# СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

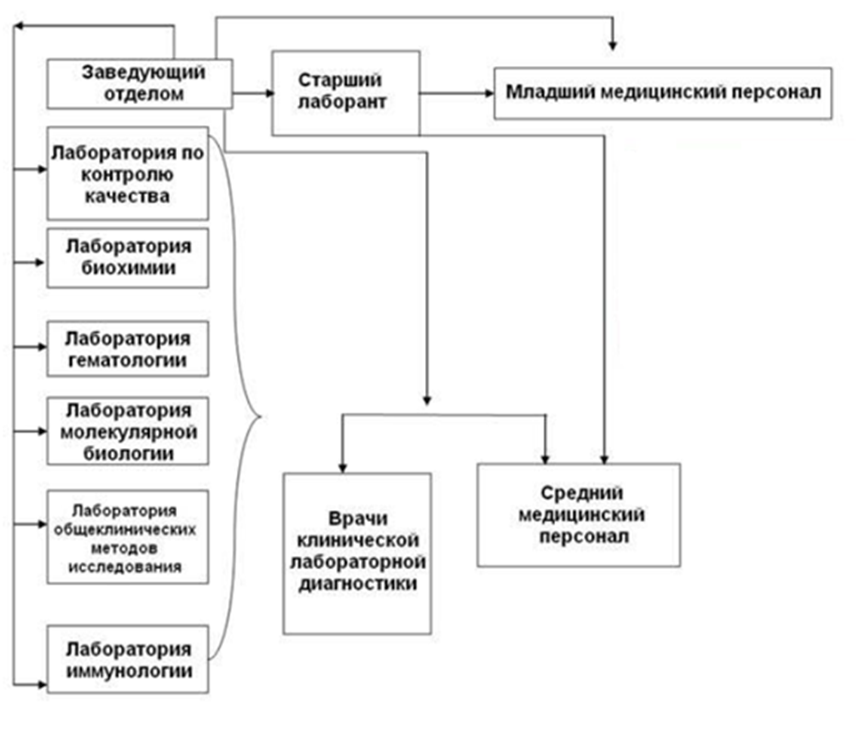
|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Класс отходов | Характеристика класса | Утилизационная тара | Способ утилизации | Преимущество метода | Недостаток метода |
| Класс А  (неопасные) | Отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными, нетоксичные отходы | Белые полиэтиленовые многоразовые емкости или одноразовые пакеты с маркировкой. Многоразовая тара после сбора и опорожнения подлежит мытью и дезинфекции. Тара заполняется полностью | Уничтожение или захоронены на полигоне ТБО ( Твердые Бытовые Отходы) | Простота и сравнительная быстрота исполнения. Отсутствие риска инфицирования людей, взаимодействующих с данными отходами. | Для данной категории отходов недостатков нет |
| Класс Б  (Опасные) | Потенциально инфицированные отходы - имеющие контакт с биологическими жидкостями пациентов | Желтые одноразовые полиэтиленовые пакеты и контейнеры с маркировкой, закрепленные на специальных стойках (тележках). Тара заполняется на ¾ после чего производится удаление воздуха и гермитизация | После дезинфекции физическими методами (автоклав, пароформалиновые камеры и тд) отходный материал уничтожаются на специальных установках по обезвреживанию отходов ЛПУ термическими методами. Органические отходы собираются в одноразовую твердую герметическую упаковку. Сбор острого инструментария осуществляется отдельно от других видов отходов в одноразовую твердую упаковку. | Простота и сравнительная быстрота исполнения. Возможность осуществить сбор, хранение и утилизацию самими сотрудниками медицинских организаций. | Есть риск инфицирования людей, взаимодействующих с данными отходами |
| Класс В (чрезвычайно опасные) | Материалы, контактирующие с больными особо опасными инфекциями. | Красные одноразовые пакеты и контейнеры с плотно прилегающей крышкой | После дезинфекции упакованные отходы собирают: в специально оборудованную комнату временного хранения (с вентиляцией, бактерицидными лампами, приборами для мытья и дезинфекции) и уничтожаются на специальных установках по обезвреживанию отходов ЛПУ термическими методами. | Простота исполнения. Возможность осуществить сбор, хранение и утилизацию самими сотрудниками медицинских организаций. | Увеличена длительность исполнения утилизации. Есть риск инфицирования людей, взаимодействующих с данными отходами |
| Клас Г  Токсико  логическ  и  опасные  (Отходы  близкие  к  промыш  ленным) | Отходы от лекарственных и диагностических препаратов, цитостатики, ртутьсодержащие предметы | Черная одноразовая герметичная упаковка с маркировкой. | Дезинфекция и утилизация специальными службами с лицензией на этот вид деятельности. Захоронение на специальном полигоне, без обеззараживания | Минимизирован риск для сотрудников медицинской организации | Трудоемкость и длительность исполнения Риск отравления и различных неблагоприятных последствий для людей, взаимодействующих с этими отходами |
| Клас Д  Радиоакт  ивные  отходы | Все виды отходов, содержащие радиоактивные компоненты. | Цвет тары синий. Обязательна специальная метка «радиоактивно» - жидкости собирают в специализированные герметичные контейнеры - Любые вещества с активностью излучения выше установленной нормы собирают в пластиковые или бумажные пакеты, которые складываются в герметично закрывающуюся экранированную емкость | Сбор, дезинфекцию и утилизацию этих отходов проводят специализированные организации с лицензией на этот вид деятельности. Когда радиационный фон приходит в норму, мусор утилизируют на обычном полигоне для ТБО. | Минимизирован риск для сотрудников медицинской организации | Трудоемкость и длительность исполнения. Риск радиоактивного поражения для людей, взаимодействующих с этими отходами |

3.  **Организация иммунологической лаборатории.**

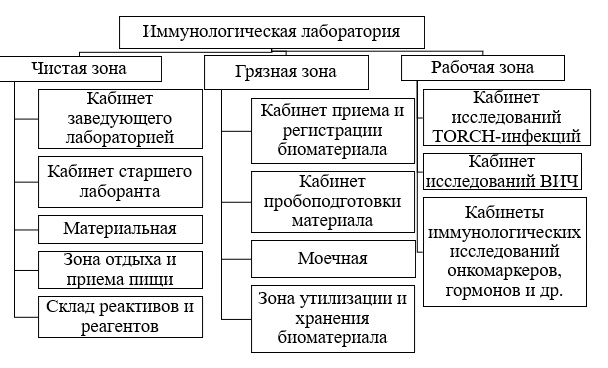
Лаборатория должна иметь 2 входа: один — для персонала, второй — для приема биологического материала на исследования. На входных дверях должно быть обозначено название лаборатории и размещен международный знак «Биологическая опасность».

Производственные помещения лаборатории разделяют на «заразную» и «чистую» зоны. В «заразной» зоне выполняют любые виды работ с микроорганизмами и биологическим материалом. «Чистая» зона предназначена для тех видов деятельности, при которых невозможен контакт с патогенными биологическими агентами.





Организация иммунологической лаборатории:



4. **Вакутейнеры, для иммунологических исследований.**

Использование вакуумных пробирок с разноцветными крышечками позволяет медицинским специалистам точно знать, где какие пробы находятся. Кроме того, разделение пробирок по цветам снижает вероятность случайно перепутать образцы анализов.

Для иммунологического исследования забор крови осуществляются в следующие вакутейнеры:

* Вакуумные пробирки (вакутейнеры) с красной крышкой, не содержащую антикоагулянт, но содержащие активатор свертывания используется для сбора сыворотки на тестирование на наличие инфекционных заболеваний, или скрининга донорской крови.
* Золотые или красно-серые пробирки известные, как «тигр-пробирки» содержат активатор свертывания и гель — используются для разделения сыворотки крови.
* Вакуумные пробирки (вакутейнеры) с желтой крышкой, содержащие разделительный гель. Желтая пробирка с гелем и активатором свертывания позволяет получать сыворотку с четким отделением от форменных элементов. Разделитель-гель во время центрифугирования создает надежный барьер, благодаря которому разделяется сыворотка, предназначенная для проведения исследований, и форменные элементы крови.

**День 2.**

1. «Методы исследования в иммунологической лаборатории».

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Метод | Принцип метода | Преимущества | Недостатки |
| **РИФ** - Реакция  ИммуноФлюоресценции  (метод Кунса). | Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами, 45 меченными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета. Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. | Высокая чувствительность метода  Высокая специфичность  Небольшое количество расходных материалов  Относится к методам экспресс- диагностики, так как в течение нескольких часов можно получить ответ, а также возможно провести эпидемиологический анализ инфекционной заболеваемости. | Недолгое хранение материалов для исследование.  Оценка результатов весьма субьективна |
| **РСК -**  Реакция Связывания Комплемента | РСК ставят в два приема: вначале соединяют антиген с испытуемой сывороткой крови, в которой отыскивают антитело, а затем добавляют комплемент. Если антиген и антитело соответствуют друг другу, то образуется иммунный комплекс, который связывает комплемент. При отсутствии в сыворотке антител иммунный комплекс не образуется и комплемент остается свободным. | Высокая чувствительность метода;  Относится к методам экспресс-диагностики.  Позволяет оценить эффективность вакцинопрофилактики; | Относительная достоверность из-за ранней иммунизации;  Не редки ложноположительные результаты |
| **ИФА**  -ИммуноФерментный анализ | При взаимодействии специфического антитела с антигеном происходит активация фермента, и именно количество образованных продуктов цветной (ферментативной) реакции, определяемое по интенсивности их окрашивания, позволяет оценить количество антигенов или антител во взятом для исследования материале. Таким образом, иммуноферментный анализ позволяет провести качественную и количественную диагностику определённой инфекции. | Высокая чувствительность  Высокая специфичность метода  Широкий спектр выявляемых инфекций,  Относится к экспресс диагностике  Относительная простота метода  Отслеживание динамики иммунного ответа и патологического процесса | Не строгая специфичность - не возможно выявить собственно самого возбудителя |
| **Проточная**  **цитометрия** | Основан на регистрации флюоресценции и светорассеяния от каждой отдельно взятой клетки в клеточной суспензии. Суспензия клеток под давлением подается в проточную ячейку, где за счет разности давлений между образцом и обтекающей жидкостью клетки, находясь в ламинарном потоке жидкости, 36 выстраиваются в цепочку друг за другом (т.н. гидродинамическое фокусирование). Клетки одна за другой проходят через лазерный луч, а высокочувствительные детекторы, расположенные вокруг проточной ячейки регистрируют флюоресценцию и рассеянное лазерное излучение каждой клетки. | Объективность оценки результатов (не на глаз а с использованием анализаторных систем оценивающих интенсивность флюоресценции)  Возможность провести анализ большого количества элементов за короткое время за счет высокой скорости  Возможность детектирование субпопуляций клеток, измерение параметров редко встречающихся клеток; | Высокая сложность исполнения и необходимость наличия специально обученного персонала  Высокая стоимость  Невозможность цифровой визуализации |
| **ПЦР** -  Полимеразная  Цепная Реакция - | Заключается в многократном копировании (амплификации) в пробирке определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов. На каждом цикле амплификации синтезированные ранее фрагменты вновь копируются ДНК-полимеразой. Благодаря этому происходит многократное увеличение количества 46 специфических фрагментов ДНК, что значительно упрощает дальнейший анализ. | Прямое определение наличия возбудителей; высокая специфичность; высокая чувствительность; универсальность процедуры выявления различных возбудителей; высокая скорость получения результата анализа; возможность диагностики не только острых, но и вялотекущих, скрытых инфекций. | Высокая сложность исполнения и необходимость наличия специально обученного персонала  Высокая стоимость реактивов и оборудования  Выявление ДНК как живого так и погибшего микроорганизма.  Получение ложноотрицательных и ложноположительных результатов  Возможность перекрестной реакции  элиминация возбудителя не ранее 4-8 недель;  вероятность контаминации |

## 2. Преаналитичсекий этап иммунологического исследования

Преаналитический этап иммунологического исследования включает:

**Внелабораторно:**

* Постановка диагноза лечащим врачом пациента и заполнение направления на исследование
* Информирование пациента о подготовке к исследованию
* Взятие биоматериала у пациента
* Доставка биоматериала в лабораторию

**Внутрилабораторно:**

* Прием биоматериала сотрудником лаборатории
* Сортировка биоматериала
* Регистрация биоматериала

**Биологическим материалом** в иммунологической лаборатории является венозная кровь в количестве 1 мл цельной крови для 3-4 иммуноанализов строго в соответствии количеству обьема крови для иммунологических вакутейнеров

.

**В направлении** на лабораторные исследования (заявке) должны быть отображены следующие данные:  
- дата и время назначения;

- дата и время взятия крови (сбора биологического материала);

- фамилия и инициалы пациента;

- отделение, номер истории болезни, номер палаты;

- возраст, пол;

- диагноз;

- время приема последней дозы препаратов, способных повлиять на результата анализа;

- фамилия и инициалы лечащего врача, назначившего исследование;

- перечень необходимых исследований;

- подпись специалиста, проводившего взятие крови или другого биологического материала.

**Транспортировка и хранение**

При необходимости более длительного транспортирования в лабораторию образцы свернувшейся крови (обычно свертывание происходит в течение 30 мин), предназначенные для получения сыворотки, должны быть отцентрифугированы на месте не позднее, чем через 1 ч после взятия образца. Кровь для получения сыворотки или плазмы центрифугируют в течение 10-15 мин при ускорении 1000-1200 g (оборотов в минуту) при температуре 20 °С - 22 °С. Транспортировка должна производиться в специальных флаконах для гемокультур (вакутейнерах) при комнатной температуре или при 37 градусах С без тряски

Хранение образцов сыворотки крови допустимо при температуре холодильника 4 °С в течение до четырех дней.

**Критерии для отказа в принятии лабораторией биоматериала на исследования:**  
  
- расхождение между данными заявки и этикетки (инициалы, дата, время и т.д.);  
- отсутствие этикетки на емкости для взятия пробы (контейнере или пробирке);  
- невозможность прочесть на заявке и/или этикетке паспортные данные пациента;  
- отсутствие названия отделения, номера истории болезни, фамилии лечащего врача, подписи процедурной сестры, четкого перечня необходимых исследований;  
- гемолиз (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза не влияет);  
- взятый материал находится в несоответствующей емкости (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.);  
- наличие сгустков в пробах с антикоагулянтом;  
- материал взят в вакуумные емкости с просроченным сроком годности.

**Регистрация биоматериала**

Проводится в электронной информационной базе ЛИС и/ или в журналах регистрации. Форма журнала произвольная, обязательно содержащая ФИО пациента, его регистрационный номер, номер пробирки, номер истории болезни, фамилию лаборанта и результат исследования

**Документы, регламентирующие преаналитический этап**

ГОСТ ISO 9001-2011 Системы менеджмента качества. Требования

ГОСТ Р ИСО 15189-2009 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности.

ГОСТ Р 53079.3-2008 Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Национальный стандарт РФ. Часть 3.

ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические . Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа.

# День 3

## Клеточный иммунитет

**Схема исследования гуморального иммунитета**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Клеточный иммунитет | **Уровни обследования** | | |
| **Районная поликлиника** | **Лаборатория при стационарах** | **Специализированные лаборатории** |
| * Общий анализ крови * Подсчет количества лимфоцитов в периферической крови * Постановка кожных аллергических проб, (например проба Манту с туберкулином) * Определение содержания С-реактивного белка в сыворотке крови | * Биохимический анализ крови * Подсчет количества Т-лимфоцитов в периферической крови. * Оценка бласттрансформации Т-лимфоцитов * Определение гормонов Тимуса * Определение ревматоидных факторов | * Дифференцировка субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови. * Оценка Т-лимфоцитов под действием Т-клеточных митогенов * Определение уровня секретируемых цитокинов. * Контактная сенсибилизация динитрохлорбензолом для оценки способность организма к индукции первичного иммунного ответа * Оценка Бактерицидной активность сыворотки крови |

**День 4**

## Гуморальный иммунитет

**Схема исследование гуморального иммунитета**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Гуморальный иммунитет | Уровни обследования | | |
| **Районная поликлиника** | **Лаборатория при стационарах** | **Специализированные лаборатории** |
| * Общий анализ крови * Подсчет количества лимфоцитов в периферической крови * Определение содержания С-реактивного белка в сыворотке крови | * Определение уровню иммуноглобулинов классов G, M, A, D, Е в сыворотке крови * Определение ревматоидных факторов * Дифференциальная оценка гиперчувствительности немеделенного типа * Определение уровня процента и абсолютного количества В-лимфоцитов в периферической крови * Определение бласттрансформации В-лимфоцитов | * Определение Количества специфических антител, * Определения соотношения сигма и гамма цепей * Оценка катаболизма иммуноглобулинов * Оценка степени бласттрансформации В-лимфоцитов (пролиферативная способность В-лимфоцитов в ответ на В- и Т - митогены) * Титрование СЗ-, С4-компонентов комплемента * Определение аутоантител * Оценка Бактерицидной активность сыворотки крови |

# День 5

## Диагностика иммунодефицитных состояний

Методы исследования системы комплемента

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Метод** | **Принцип метода** | **Приемущества** | **Недостатки** | **Референтные значения** |
| **«СН 50»**  Определение общей гемолитической активности с использованием эритроцитов барана с фиксированными на них антителами | Разведенная ( 1:10) сыворотка с добавлением гемолитической системы при нагревании до 37°С вызывает лизис 50% сенсибилизированных эритроцитов – СН50.  Активность комплемента оценивается по количеству сыворотки, которое необходимо добавить в смесь, чтобы вызвать разрушение 50% эритроцитов. | * Скрининговый метод – быстрое получение результатов, что обеспечивает исследование большого количества людей * Оценивает активность как классического так и альтернативного пути активации комплимента | * Является косвенной и субъективной характеристикой | 40-60 СН 50. |
| **«СН 50»**  При помощи ИФА – Иммуноферментного анализа | Используется раствор с содержащимися готовыми иммунными комплексами, который играет роль активатора. При добавлении исследуемой сыворотки он запускает каскад активации комплемента по классическому пути, в результате которого образуются молекулы мембраноатакующего комплекса. Полученным раствором заполняют планшет, в лунках которого сорбированы антитела к МАК. При формировании комплекса МАК-антитело специальный фермент, добавленный в реакционную смесь, изменяет её окраску, интенсивность которой пропорциональна концентрации образовавшихся комплексов и измеряется специальным прибором | * Высокая точность и чувствительность метода. * Скрининговый метод – быстрое получение результатов, что обеспечивает исследование большого количества людей | * Оценивает активность исключительно классического пути активации комплемента. * Дефицит и высокая стоимость реагентов | 42 – 129 у.е./мл. |
| Гемолитический метод определения функциональной активности компонентов комплимента | К сенсибилизированным эритроцитам добавляют реагент на определенный компонент комплемента и смешивают с разведенной сывороткой (в 40-50 -раз, для классического пути а альтернативного - в 5-7). Таким образом можно установить дефект определенных компонентов и определить профиль комплемента при различных заболеваниях | * Сравнительно объективный метод * Можно применять для диагностики острофазного состояния | * Дефицитность и высокая стоимость реагентов * Необходимость комплексной оценки всех компонентов * Не высокая специфичность - Частое появление артефактных значений | 25 – 200% |
| Tetrahymena pyriformis | Определение функциональной активности отдельных компонентов комплимента на основании автоматизированного приборного измерения обездвиживающего действия комплемента на инфузории Tetrahymena pyriformis | * Достаточно высокая точность и чувствительность метода * Объективность оценки результата | * Большая длительность исполнения * Занижена специфичность | 50 – 70% |
| **Иммуноферментный метод определения активности компонентов**  **комплемента** | Каскадный характер активации системы комплемента позволяет,  искусственно создавая дефициты отдельных компонентов в экспериментальной  системе и определяя иммуноферментным способом ковалентную иммобилизацию  компонента, стоящего позже в процессе активации, определять функциональную  активность любого из предшествующих компонентов, дефицит к которому создан | * Скрининговый метод – быстрое получение результатов, что обеспечивает исследование большого количества людей * Высокая чувствительность и надежность | * Дефицит и высокая стоимость реагентов | С3 - 0,9 - 1,8 г/л.  С4 - 0,1 - 0,4 г/л.  MASP 3 3,5 – 4,1 мг/мл |
| Радиальная иммунодиффузия в arapе. | Иммунную сыворотку с расплавленным агаровым гелем равномерно наливают на стекло. После застывания в геле делают лунки, в которые помещают антиген в различных разведениях. Антиген, диффундируя в гель, образует с антителами кольцевые зоны преципитации вокруг лунок. Диаметр кольца преципитации. позволяет определить концентрацию каждого из белков комплемента, | * Достаточно высокая чувствительноть * Простота исполнения, нет необходимости в дополнительном дорогостоящем оборудовнии | * Не высокая скорость получения результатов * Низкая специфичность * Низкая точность * Субъективность постановления оценки, зависящая от многих факторов | Диаметр кольца преципитации пропорционален концентрации компонента  В норме 2- 4 см |
| Радиальный гемолиз в агаровом геле | Гемолитическую систему смешивают с расплавленным агаром в соотношении и быстро выливают в стерильные чашки Петри. После застывания в агаре проделывают лунки диаметром 4.мм- (до 15 лунок на 1-ой чашке). Лунки заполняются испытуемыми сыворотками и помещают чашки в холодильник при 4°С на 21 час для диффузии белков комплемента в агар. Затем чашки помещают в термостат на 60 минут для проявления зон гемолиза. Критерием активности комплемента служит квадрат диаметра зон гемолиза. | * Простота исполнения, * Нет необходимости в дополнительном дорогостоящем оборудовнии | * Низкая специфичность * Нищзкая точность * Субъективность оценки, зависящая от многих факторов * Не высокая скорость получения результатов | Квадрат Диаметраа зоны гемолиза пропорционален концентрации компонента |

Задача.

Больной Т., 27 лет, неоднократно обращался к врачу по поводу рецидивирующих ОРВИ, трахеобронхита, слабости, недомогания. Из анамнеза установлено, что в течение года 6 раз переболел ОРВИ, трижды осложнявшихся трахеобронхитом. В течение 3-х месяцев отмечает субфебрилитет, сухой кашель, рецидивирующие везикулезные высыпания на слизистой полости рта.  
  
Объективно: пониженного питания, кожа бледная, на слизистой полости рта белый налет, эрозии, периферические лимфоузлы увеличены, в легких ослабленное дыхание, сухие рассеянные хрипы по всей поверхности. Печень, селезенка не увеличены.

Общий анализ крови: эритроциты – 4,0х1012 /л, Hb – 120 г/л, лейкоциты – 3,2х109 /л, палочкояд. – 7%, с/яд – 79%, эоз. – 0%, мон – 2%, лимф – 12 %, СОЭ – 10 мм/ч.

ВИЧ-инфекция.  
 Исследование крови на антитела к ВИЧ методом ИФА и в иммуноблоте.  
Вторичный иммунодефицит на фоне другой патологии.  
 Выраженная иммунодепрессия клеточного звена иммунитета, повышение уровня ЦИК, снижение фагоцитарной активности НФ. Цитотоксическое действие ВИЧ.

Табл.3 «Методы исследования фагоцитарного звена»

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Метод** | **Принцип метода** | **Приемущества** | **Недостатки** | **Референтные значения** |
| Микроскопический.  Определение количества нейтрофилов и изучение их морфологии | Делается мазок крови, окрашивается по Романовскому и под микроскопом оператором оценивается количество и морфология колеток | * Простота исполнения обеспечивает повсеместное использование метода * Доступность реактивов и оборудования | * Высокая длительность реализации метода из-за чего невозможно применять для скрининга масс * Точность зависит от человеческого фактора | 1,6- \* 7^9 /л  (41-78% от всех лейкоцитов) |
| Турбодиметрический | Определение количества нейтрофилов и изучение их морфологии с помощью анализатора | * Высокая чувствительность * Высокая специфичность * Высокая быстрота исполнения | * Высокая стоимость оборудования и реактивов * Небходимость в специально обученном персонале * Низкая точность и необходимость допреверять на глаз | 1,6- \* 7^9 /л  (41-78% от всех лейкоцитов.  Референтные значения могут отличаться у разных производителей прибора |
| ***НСТ-тест*** | Определение ***образования активных форм кислорода*** основанное на восстановлении нитросинего тетразолия (НСТ) супероксидным анионом, образующимся при кислородном взрыве в лейкоцитах.  Реакцию учитывают микроскопически по количеству темно-синих гранул диформазана в клетке, образующихся при восстановлении НСТ | * Простота исполнения * Не высокая стоимость реактивов и доступное оборудование * Высокая специфичность * Метода * Сравнительно неплохая чувствительность | * Сравнительно большая длительность исполнения * Точность зависит от человеческого фактора | 95 – 100%  Может отличаться в зависимости от лабораторий |
| Микроскопический метод оценки бактерицидной активности. | Идентификация дегенеративных, полуразрушенных микробов в окрашенных препаратах лейкоцитов | * Простота исполнения обеспечивает повсеместное использование метода * Доступность реактивов и оборудования | * Высокая длительность реализации метода * Точность зависит от человеческого фактора | Гранулоцитов - 95-100%,  Моноцитов - 70-100% |
| Проточная цитометрия | Определения бактерицидной активности и активных форм кислорода ( АФК) с помощью цитометра | * Скрининговый метод – быстрота получения результатов обеспечивает возможность исследования масс * Высокая точность * Высокая чувствитеность * Высокая специфичность | * Высокая стоимость оборудования и реактивов * Небходимость в специально обученном персонале | АФК - 95 – 100%  Гранулоцитов - 95-100%,  Моноцитов - 70-100% |