**1 день. 26.11.18.**

**Ознакомление с правилами работы в КДЛ**

Перед началом работы в Клинико-диагностической лаборатории заведующим лаборатории был проведён **вводный инструктаж по техники безопасности.** Проведение инструктажа было зарегистрировано в специальном журнале.

Далее я ознакомилась с **нормативными документами**, регламентирующими санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ:

* СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»

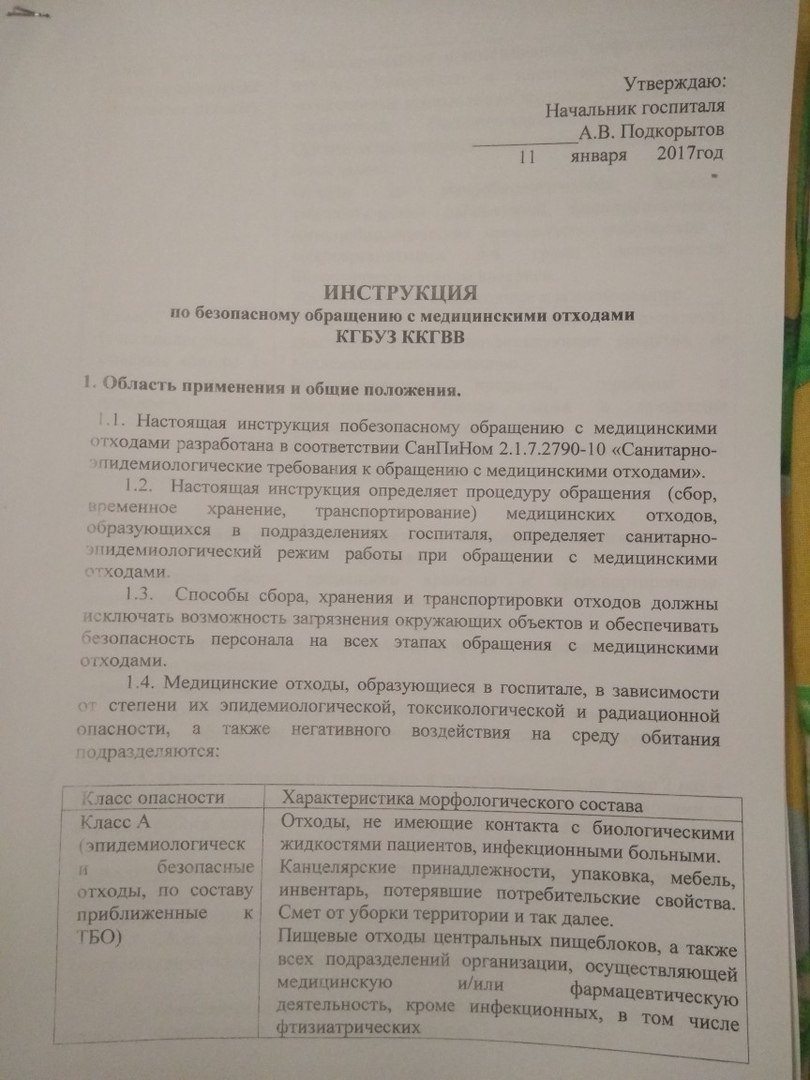
Большее внимание из этого СанПиНа я уделила пункту «10.17. Лабораторные подразделения»:

10.17.1. Клинико-диагностические, микробиологические и другие диагностические лаборатории должны размещаться в изолированных непроходных отсеках зданий. Помещение для забора материала располагают за пределами блока помещений для исследований. Размещение и состав помещений микробиологической лаборатории (отделения) определяются с учетом требований санитарных правил по безопасности работы с микроорганизмами 3 - 4 групп патогенности (опасности) и возбудителей паразитарных болезней. Доставка материала в лаборатории из сторонних организаций осуществляется через самостоятельный вход.

10.17.2. Работы с использованием вредных химических веществ (фиксирование материала, розлив формалина, концентрированных кислот, приготовление реактивов, прокаливание, выжигание, измельчение) должны проводиться в вытяжном шкафу.

10.17.3. Летучие химические вещества хранятся в отдалении от нагревательных приборов и открытого огня. Хранение ядовитых веществ осуществляется в специальных кладовых, в металлических шкафах или сейфах. Кислоты и щелочи хранятся в стеклянной закрытой посуде на нижних полках шкафов отдельно от реактивов и красок. При разбавлении концентрированных кислот во избежание разбрызгивания кислоту добавляют в воду (а не наоборот). Для розлива из емкостей объемом 10 - 20 л в мелкую тару применяются средства малой механизации (опрокидыватели, сифоны).

* СП 3.1.5.2826-10 "Профилактика ВИЧ-инфекции»;
* СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами"
* СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;
* ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы»;
* Инструкция по безопасному обращению с медицинскими отходами КГБУЗ ККГВВ.



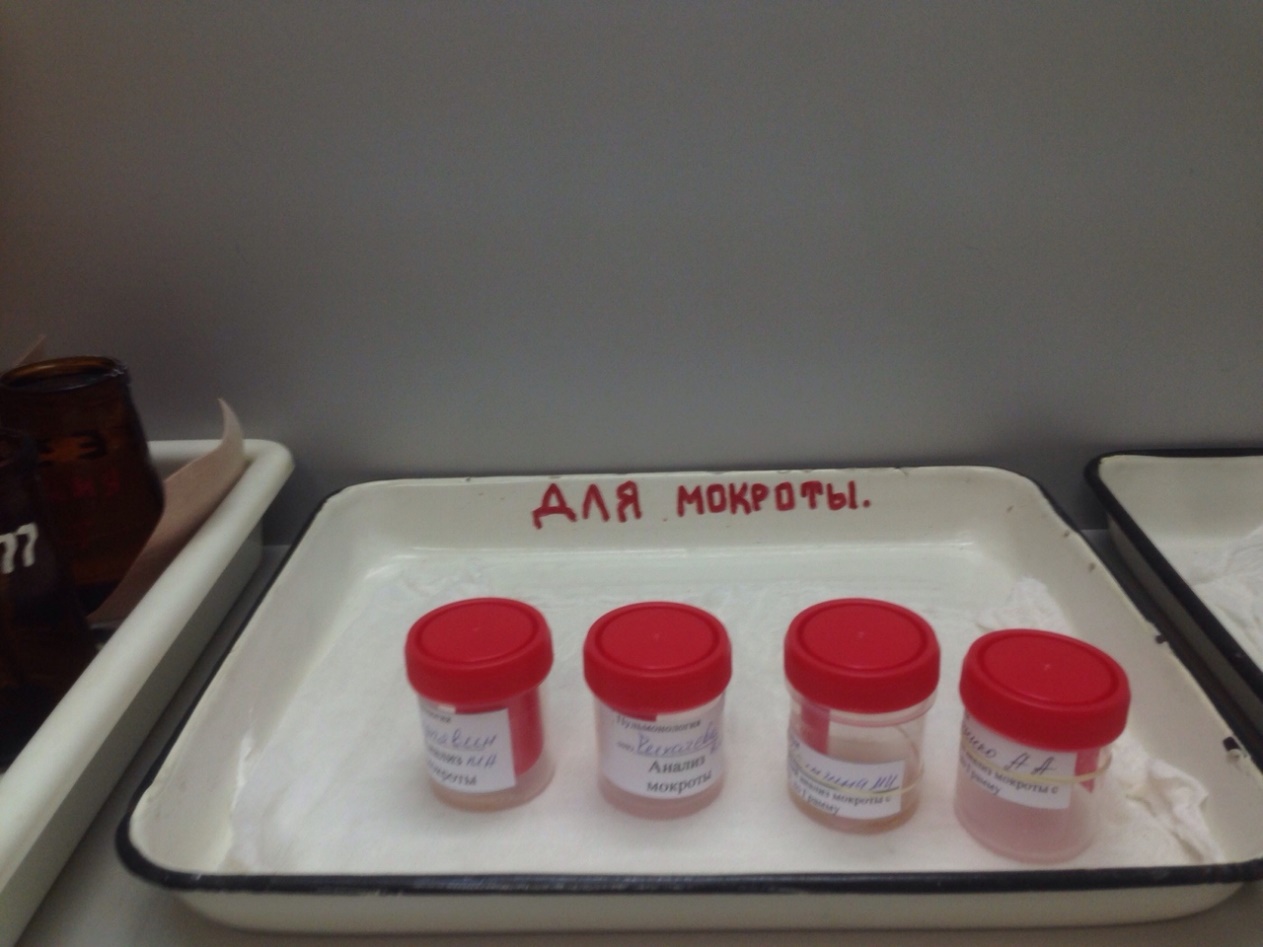
**2 день. 27.11.18.**

**Подготовка материала к общеклиническим исследованиям.**

**Прием, маркировка, регистрация биоматериала.**

В данную общеклиническую лабораторию биологический материал поступает из 4 отделений: урологии, хирургии, кардиологии, пульмонологии. Биоматериал доставляется с направлением, в контейнерах.

****

****

При приёме биоматериала я проверяла целостность и правильность заполнения направлений. Осуществляла маркировку и регистрацию биоматериала.

****

**3 день. 28.11.18.**

**Исследование физико-химических свойств мочи**

Сегодня я работала с мочой, проводила исследование физико-химических свойств. К физическим свойствам относится:

* Количество;
* Цвет;
* Прозрачность;
* Осадок;
* Реакция;
* Запах (большого диагностического значения не имеет);
* Относительная плотность.

К химическим свойствам относится:

* качественное определение белка и глюкозы;
* в случае обнаружения белка и глюкозы определяют их количество.

**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. При проведении пробы Зимницкого во всех порциях определяют точное количества мочи с помощью мерного цилиндра.

**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 относительной плотности мочи**

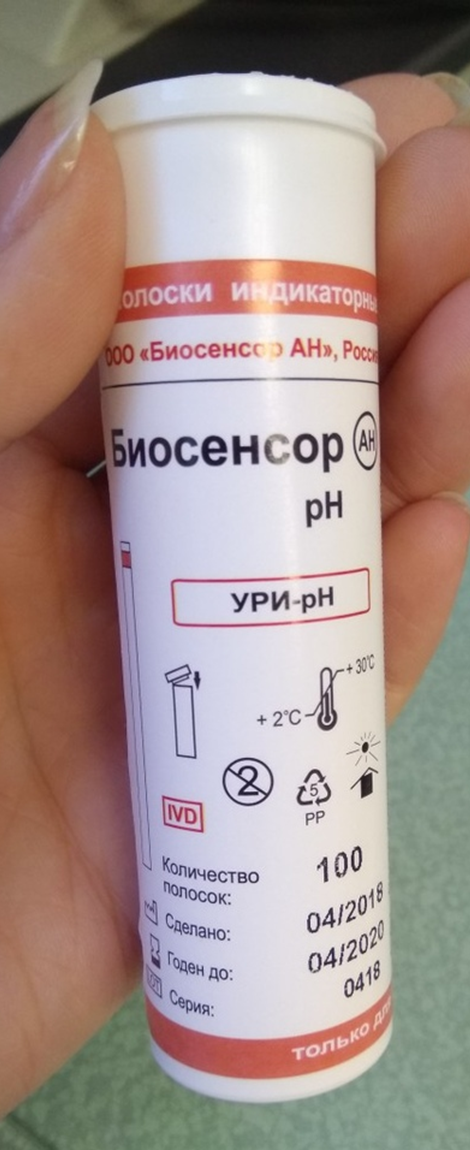
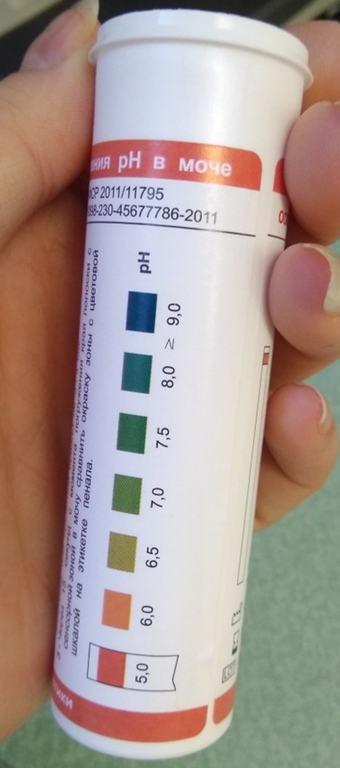
*Принцип.* Сравнение плотности мочи с плотностью воды при помощи ареометра (урометра) со шкалой от 1,000 до 1,050.

*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.

**Определение реакции**

Исследование данного показателя я проводила с помощью **полосок индикаторных УРИ-рН.**



**Принцип метода**

В основе метода определения лежит метод химических рН индикаторов. В зависимости от значений рН мочи изменяется окраска рН индикаторов. Сравнивая окраску рН индикаторов с эталоном на цветной шкале, оценивают величину рН мочи.

**Ход исследования**

Для обследования использовать свежесобранную (не более чем за 2 часа до анализа) в чистую посуду мочу, не центрифугированную и тщательно перемешанную.

Открыть пенал или вскрыть пакет, извлечь полоску индикаторную (в случае пенала – немедленно плотно закрыть пенал крышкой). Погрузить сенсорный элемент полоски полностью в мочу. Через 1-2 секунды извлечь полоску и удалить избыток жидкости на сенсорном элементе резким движением руки, или осторожным прикосновением ребром полоски к чистой фильтровальной бумаге на 2-3 секунды, или осторожным прикосновением ребром полоски к стенке сосуда с мочой.

Через 15-30 секунд с момента погружения сенсорного элемента в мочу сравнить окраску сенсорного элемента с цветной шкалой на этикетке упаковки.

**Качественное определение белка**

Для данного исследования я использовала тест-полоски индикаторные для качественного и полуколичественного определения белка в моче «Урибел».

 **Принцип метода**

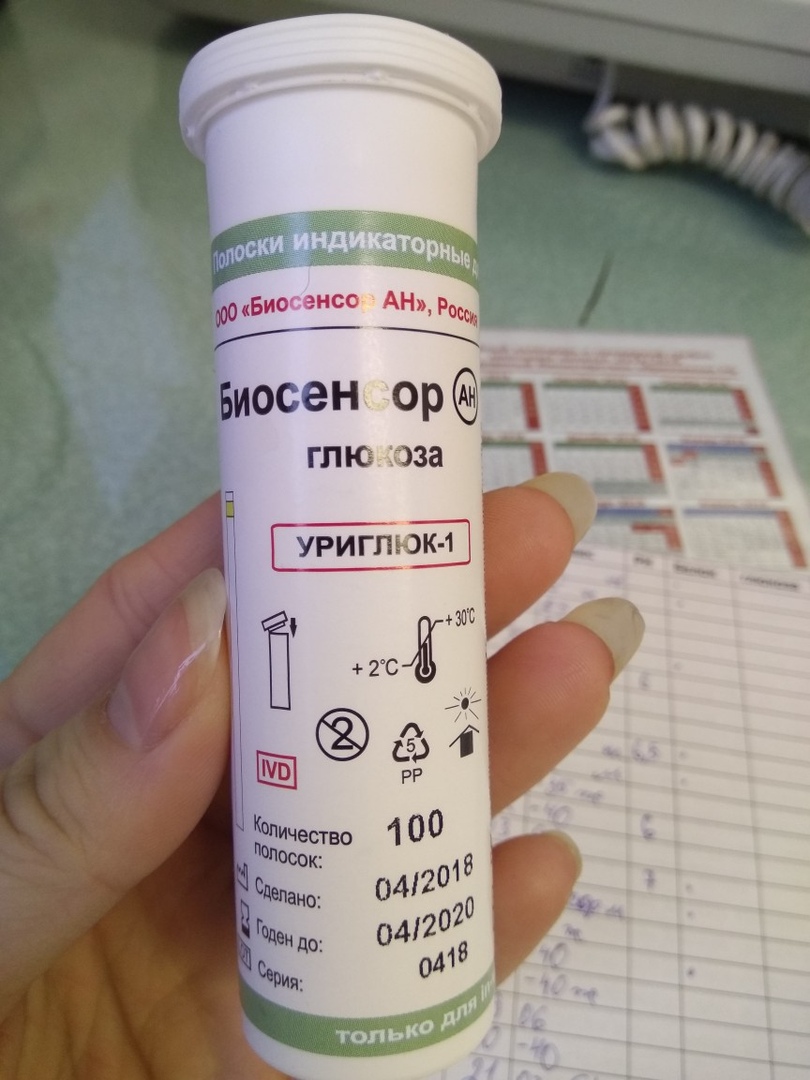
В основе метода определения лежит метод химических рН индикаторов. В зависимости от количества белка в моче изменяется константа диссоциации, а, соответственно, и интенсивность окраски. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию белка в моче.

**Ход определения**

* Открыть пенал или вскрыть пакет, извлечь из него полоску индикаторную. В случае упаковки полосок индикаторных в пенал последний немедленно плотно закрыть крышкой.
* Погрузить сенсорный элемент полоски полностью в мочу.
* Через 1-2 секунды извлечь полоску и удалить избыток жидкости на сенсорном элементе резким движением руки, или осторожным прикосновением ребром полоски к чистой фильтровальной бумаге на 2-3 секунды, или осторожным прикосновением ребром полоски к стенке посуды с мочой.
* Положить полоску индикаторную на ровную чистую сухую поверхность сенсорным элементом вверх.
* Через 1 минуту с момента погружения сенсорного элемента в мочу сравнить окраску сенсорного элемента с цветной шкалой на этикетке упаковки комплекта при хорошем освещении.

**Оценка результатов**

Изменение окраски сенсорного элемента свидетельствует о наличии белка в моче (качественное определение). Полуколичественное определение провести путем сопоставления окраски сенсорного элемента с соответствующими цветовыми полями шкалы.

**Качественное определение глюкозы**

Определение глюкозы я проводила с помощью тест-полосок «Уриглюк-1». Принцип метода и ход определения аналогичен принципу и ходу определения белка.

**4 день. 29.11.18.**

**Исследование химических свойств мочи.**

**Количественное определение белка и глюкозы в моче.**

Сегодня после качественного определения белка и глюкозы я определяла данные показатели количественно.

**Определение количества белка с пирогаллоловым красным**

*Принцип.* При взаимодействии белка с красителем пирогаллоловым красным образуется окрашенный комплекс, интенсивность поглощения которого на длине волны 600 нм 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 0,2 г/л.

*Ход определения:*

* Приготовить пробы смешением компонентов в количестве, указанном в таблице.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Компоненты | Холостая проба | Калибровочная проба | Оытная проба |
| Образец | - | - | 20 мкл |
| Калибровочный раствор белка 1 г/л | - | 20 мкл | - |
| Вода дистиллированная | 20 мкл | - | - |
| Реагент – пирогаллоловый красный | 1 мл | 1 мл | 1 мл |

* После смешения компонентов пробы инкубируют 15 минут при комнатной температуре. Окраска стабильна в течение 30 минут после завершения инкубирования.
* После инкубирования пробы измеряют на анализаторе «БЕЛУР 600».
* *Установление оптического нуля* - проводится ежедневно однократно перед работой:

- В кювету налить холостую пробу, вставить кювету в ячейку, вынуть и нажать В до звукового сигнала.

* *Проверка обнуления:* повторно вставить кювету в ячейку, и, если на табло появляется значение от -3 до +3, обнуление прошло успешно. Если нет, то повторно провести процедуру.
* *Установка калибровки* – проводится однократно первой пробой:

- Кратковременно нажать С, на табло появится CAL, вставить кювету с калибровочной пробой, вынуть и нажать кратковременно С, появится Std.

* *Измерение образца:* вставить кювету с опытной пробой, на табло появится значеиие. Если оно двух- или трёхзначное, то умножить на 0,001, чтобы перевести в г/л. Если однозначное число, это показатель белка в г/л.

**Определение количества глюкозы на автоматическом анализаторе глюкозы «Энзискан Ультра»**

Анализатор глюкозы используется для измерения молярной концентрации глюкозы в различных биологических жидкостях (капиллярная, венозная и артериальная кровь; сыворотка; плазма; спинномозговая жидкость; моча).

*Принцип:* работа медтехники «Энзискан Ультра» базируется на измерении амперометрическим способом концентрации перекиси водорода, получающейся в результате расщепления глюкозы ферментом глюкозооксидазой. Количество перекиси пропорционально содержанию глюкозы в диагнастируемой пробе. При окислении перекиси водорода генерируется электрический ток, который преобразуясь в постоянное напряжение и измеряется АЦП.

*Устройство анализатора:* при нажатии кнопки «Пуск» пипеточного дозатора до первого уровня происходит забор пробы, второе положение этой кнопки - впрыск пробы в измерительную ячейку. Пипеточный дозатор снабжен синхронизирующим датчиком, который запускает цикл «Измерение-промывка» и подсоединен к блоку управления анализатора. В тот момент, когда в измерительную ячейку впрыскивается исследуемая проба, синхронизирующий датчик запускает цикл «Измерение-промывка». В реакционной камере измерительной ячейки имеется амперометрический датчик, на рабочей поверхности которого расположены два электрода: измерительный сделанный из платины в форме небольшого диска и хлорсеребряный электрод осуществляющий сравнение, сделанный из чистого серебра в форме полукольца, окружающий измерительный электрод. Сбоку реакционной камеры напротив амперометрического датчика имеется еще один вспомогательный электрод, сделанный из титана. Он, совместно с измерительным и хлорсеребряным участвует в электрохимической реакции. На рабочей поверхности амперометрического датчика имеется ферментная глюкозооксидазная мембрана. Эта многослойная пленочная конструкция, закреплена с помощью резинового клея, на кольце. Резиновое кольцо предназначено для фиксации мембраны на поверхности датчика. Слои мембраны имеют абсолютно разное функциональное назначение. Один слой обеспечивает избирательную проницаемость для различных газов и молекул, другой - защищает ферментный слой мембраны от загрязнения частицами крови. В ферментный слой иммобилизован фермент глюкозооксидаза, в котором осуществляется химическая реакция окисления глюкозы. При исследовании в ферментной мембране идет ферментативное окисление глюкозы с выделением перекиси водорода и глюконовой кислоты. В результате этого распада на платиновом электроде датчика генерируется электрический ток. По силе этого тока и судят о концентрации глюкозы в крови (мочи), так как имеется четкая прямая зависимость между током датчика и концентрацией глюкозы. Ток обрабатывается и регистрируется в «Блоке измерения» анализатора глюкозы. Результат измерения выводится на экран и фиксируется в «Блоке памяти» устройства медтехники, после чего автоматически запускается режим «Промывка».

**5 день. 30.11.18.**

**Микроскопия осадка мочи**

Я под присмотром непосредственного руководителя проводила микроскопию нативных препаратов осадка мочи.

Ход работы:

• Тщательно перемешивают мочу;

• Наливают в центрифужную пробирку 10 мл мочи;

• Центрифугируют 5 минут при 2000 об/мин.;

• Сливают надосадочную жидкость, опрокидывая пробирку. При этом на дне остается осадок и небольшое количество жидкости;

• Пипеткой с тонко оттянутым концом набирают небольшое количество осадка, стараясь захватить минимальное количество жидкости;

• Помещают одну небольшую каплю осадка на предметное стекло, накрывают его покровным;

• В правильно приготовленном препарате не должно быть пузырьков воздуха и жидкость не должна выходить из-под покровного стекла. Большая капля расплывается, колеблется, препарат становится многослойным, что затрудняет микроскопию.

• Препарат изучают вначале под малым увеличением микроскопа (объектив 8х, окуляр 7х или 10х), а затем - под большим увеличением (объектив 40х, окуляр 7х или 10х), с опущенным конденсором.

• Под малым увеличением делают общий обзор препарата, обнаруживают и подсчитывают цилиндры, составляют общее представление о количестве солей, слизи.

• Под большим увеличением детализируют элементы осадка, подсчитывают количество эритроцитов и лейкоцитов в поле зрения. Для этого необходимо просмотреть не менее 10-15 полей зрения.

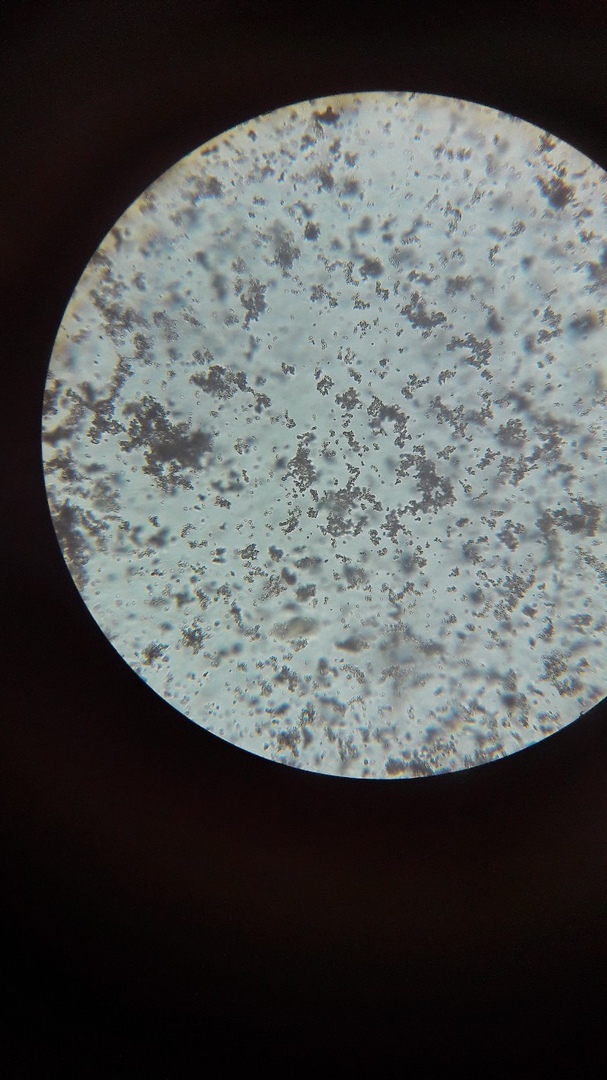
• Цифровое выражение количества лейкоцитов, эритроцитов и цилиндров дают приблизительно, указывая, сколько их в среднем содержится в поле зрения при большом увеличении микроскопа. - При малом количестве элементов указывают их число в препарате, то есть в 10-15 полях зрения.



Клеточные элементы: лейкоциты, эритроциты. Бактерии



Оксалаты



Ураты

**6 день. 01.12.18.**

**Исследование спинномозговой жидкости**

Сегодня я теоретически повторяла методики по разделу «Исследование спинномозговой жидкости», так как в данной лаборатории исследование ликвора не проводят.

*Исследуемый материал:* в лабораторию ликвор должен быть доставлен немедленно после получения в стерильных пробирках, закрытых стерильными ватными пробками. Подсчет количества клеток в спинномозговой жидкости необходимо выполнить в течение 30 минут после пункции. При невозможности немедленного исследования хранить при температуре 2-8ºС (для подсчета цитоза не более 1 часа).

**Определение глобулинов осаждением карболовой кислоты**

**(проба Панди)**

*Принцип.* Реакция основана на осаждении глобулинов насыщенным раствором карболовой кислоты.

*Реактивы:*

Насыщенный раствор карболовой кислоты: 100г карболовой кислоты растворяют в 1л воды, встряхивают и оставляют стоять вначале в термостате при 37˚С на 6-8 часов, а затем при комнатной температуре 7 дней. Сливают надосадочную жидкость, которая используется в качестве реактива.

*Ход исследования:*

На часовое стекло или стекло с лункой, помещенное на черную бумагу, наливают 1мл реактива и по краю наслаивают 1-2 капли ликвора.

*Оценка результатов:*

В случае положительного результата в месте соприкосновения реактива с ликвором образуется молочно-белое облачко, переходящее в муть. Для обозначения результатов пробы Панди пользуются системой четырех плюсов: + слабая опалесценция, ++ заметная опалесценция, +++ умеренное помутнение, ++++ значительное помутнение.

**Определение глобулинов высаливанием (проба Нонне-Апельта)**

*Принцип.* Реакция основана на свойстве глобулинов выпадать в осадок в полунасыщенном растворе сульфата аммония.

*Реактивы:*

Насыщенный раствор сернокислого аммония: 85г соли растворяют в 100мл воды при кипячении. Полученный раствор выдерживают 48 часов при комнатной температуре и фильтруют.

*Ход исследования*:

- В одну пробирку (опыт) вносят 0,5мл ликвора и 0,5мл насыщенного раствора сульфата аммония, перемешивают

- Получается полунасыщенный раствор сернокислого аммония

- В другую пробирку (контроль) наливают 1мл дистиллированной воды

- Сравнивают прозрачность содержимого опытной и контрольной пробирок на черном фоне.

*Проба считается положительной,* если помутнение в опытной пробирке появится в течение 3-х минут. Результаты пробы оцениваются по системе четырех плюсов точно так же, как проба Панди.

**Определение количества белка в ликворе**

*Принцип.* Сульфосалициловая кислота вызывает коагуляцию белка с образованием мутности, интенсивность которой пропорциональна концентрации белка.

*Реактивы:*

1. 6% раствор сульфосалициловой кислоты (ССК)

2. 14% раствор сульфата натрия (безводного)

3. рабочий раствор – готовят перед употреблением путем смешивания равных объемов реактивов № 1 и № 2

4. 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор, физраствор)

5. 1% раствор альбумина для построения калибровочного графика.

*Ход исследования:*

- В пробирку (опыт) наливают 5мл свежеприготовленного рабочего раствора и 0,5мл ликвора

- В другую пробирку (контроль) наливают 5мл физраствора и 0,5 мл ликвора

- Тщательно перемешивают содержимое обеих пробирок

- Ждут 10 минут

- Колориметрируют на ФЭКе при условиях: светофильтр сине-фиолетов, кювета 10мм, против содержимого контрольной пробирки

- Расчет количества белка ведут по калибровочному графику

**7 день. 03.12.18.**

**Исследование испражнений**

В данную лабораторию чаще всего направляют кал для определения скрытой крови и для обнаружения яиц гельминтов.

**Определение скрытой крови в кале амидопириновой пробой.**

*Принцип.* Гемоглобин крови обладает пероксидазными свойствами, то есть способностью расщеплять перекись водорода с образованием атомарного кислорода, который окисляет амидопирин с образованием соединения синего цвета.

*Реактивы:*

1. 5% спиртовой раствор амидопирина

2. 30% раствор уксусной кислоты

3. 3% раствор перекиси водорода

*Ход исследования:* Небольшой кусочек кала растирают с 4-5 мл воды в фарфоровой ступке или в пробирке до образования равномерной эмульсии. Фильтруют эмульсию кала. К фильтрату добавляют равный объем раствора амидопирина и по 10-12 капель растворов уксусной кислоты и перекиси водорода. Проба считается положительной, если в течение первых двух минут появляется сине-фиолетовое окрашивание.

**Приготовление препаратов для микроскопии кала**

Для полного микроскопического исследования кала готовят ряд влажных препаратов:

1. Нативный препарат, в котором дифференцируется большинство элементов кала.

2. Препарат, окрашенный суданом III – служит для обнаружения капель нейтрального жира, приобретающих ярко-оранжевый цвет.

3. Препарат, окрашенный метиленовым синим – служит для дифференцировки капель нейтрального жира и жирных кислот. Капли жирных кислот окрашиваются в синий цвет, а нейтральный жир не окрашивается (остается бесцветным).

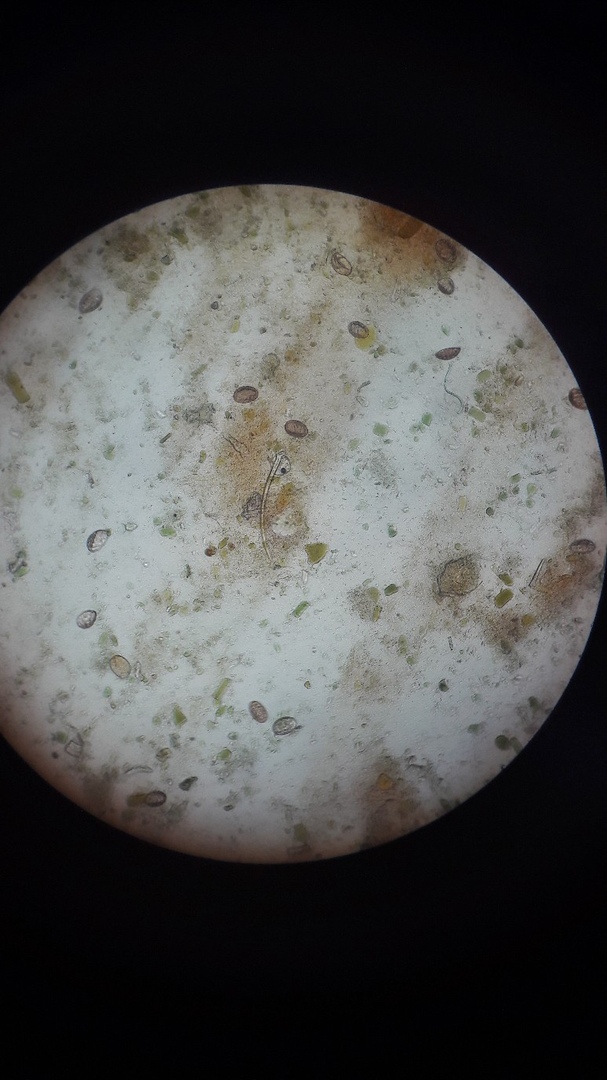
4. Препарат, окрашенный раствором Люголя двойной крепости – для обнаружения крахмала и йодофильной флоры, которые окрашиваются йодом в синий цвет.

5. Нативный препарат с глицерином – для обнаружения яиц гельминтов.

**В данной лаборатории для обнаружения яиц гельминтов используют набор реагентов по методу Като.**



Для приготовления микроскопических препаратов кала готовят каловую суспензию. Небольшое количество кала помещают в ступку, добавляют немного дистиллированной воды или физ.раствора. Смесь хорошо перемешивают. Наносят по 1 капле каловой суспензии на предметные стекла, добавляют к ним по 1 капле красителей, накрывают покровными стеклами и микроскопируют вначале под малым, а затем под большим увеличением микроскопа.

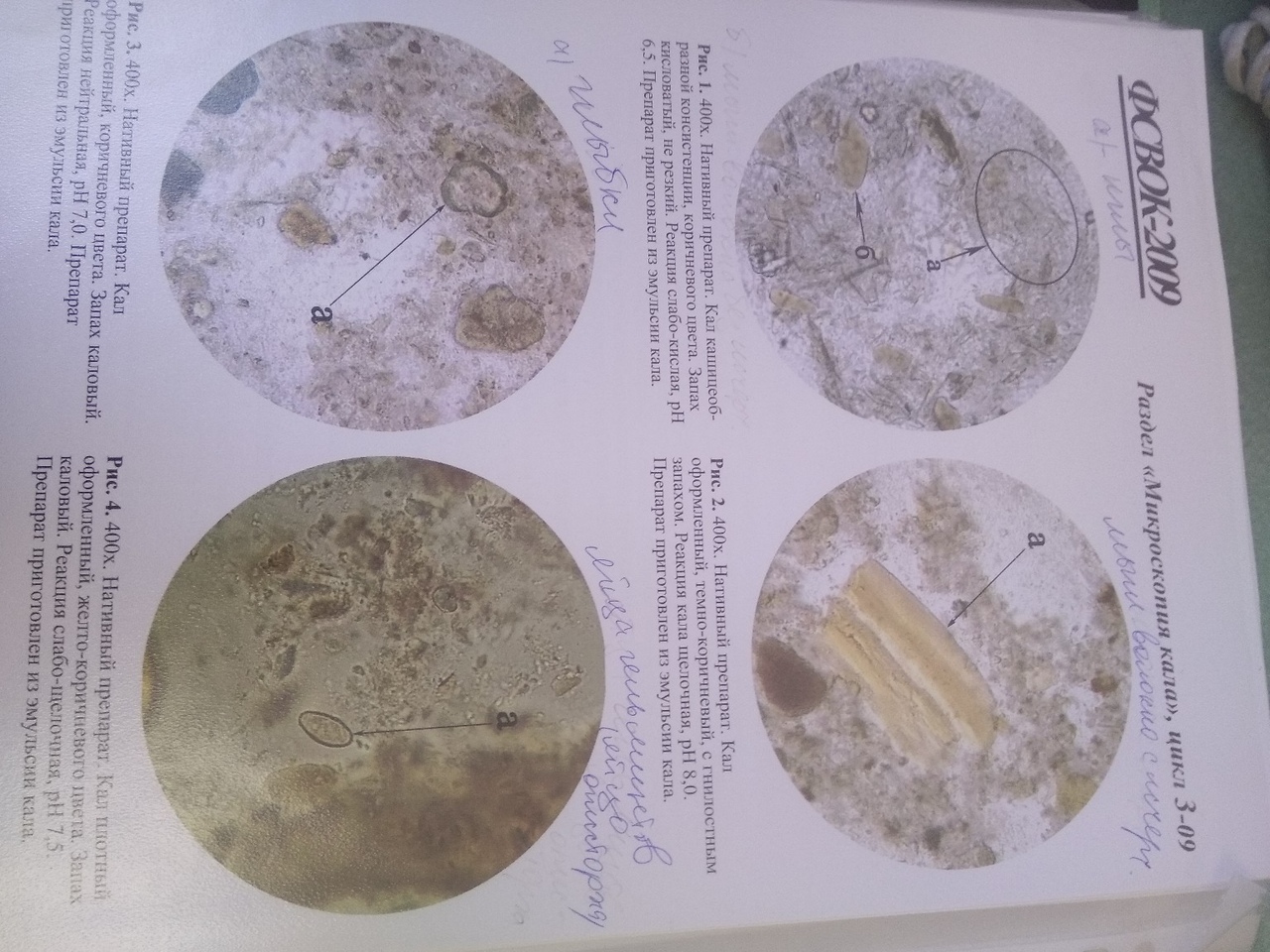


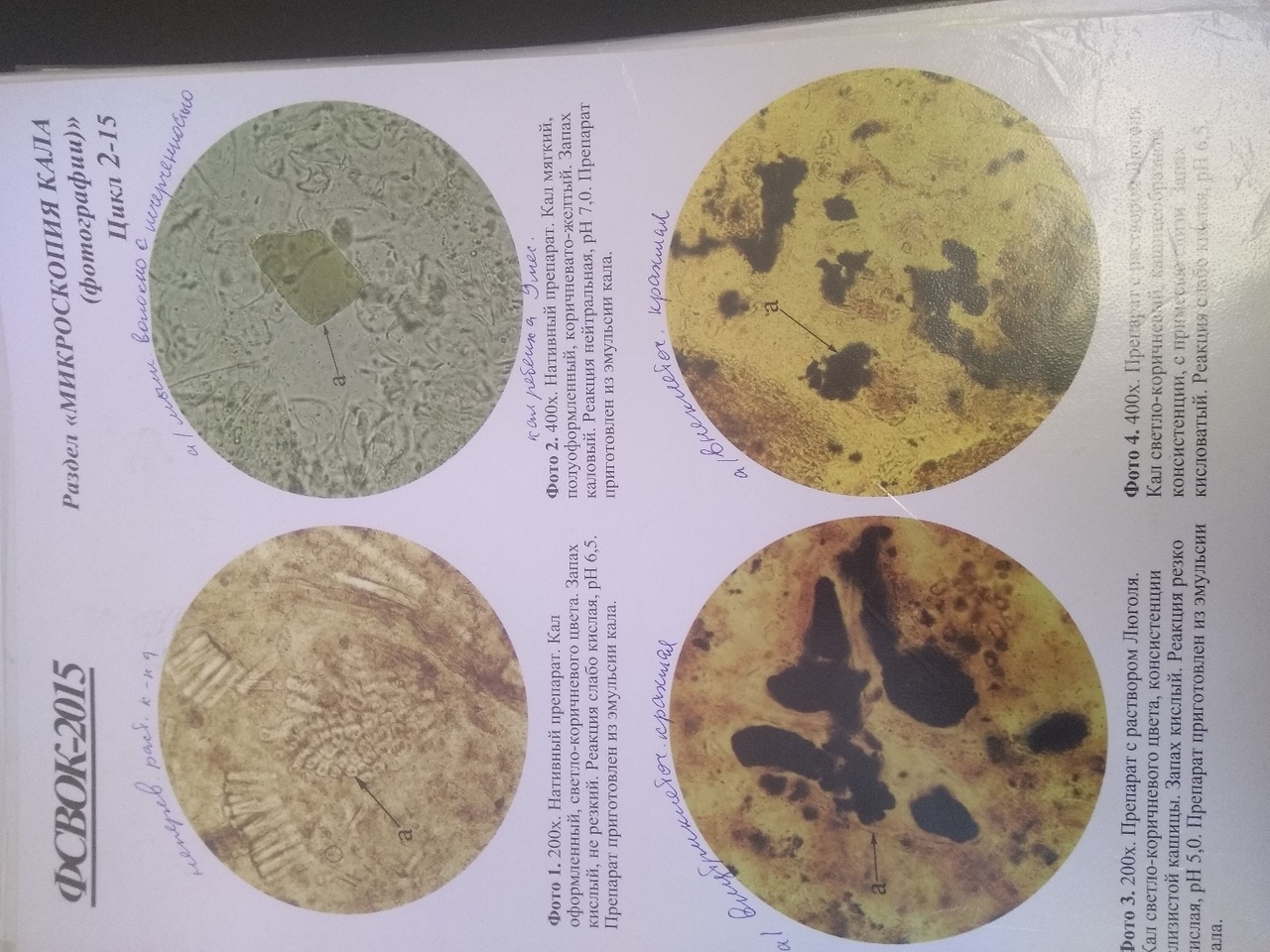


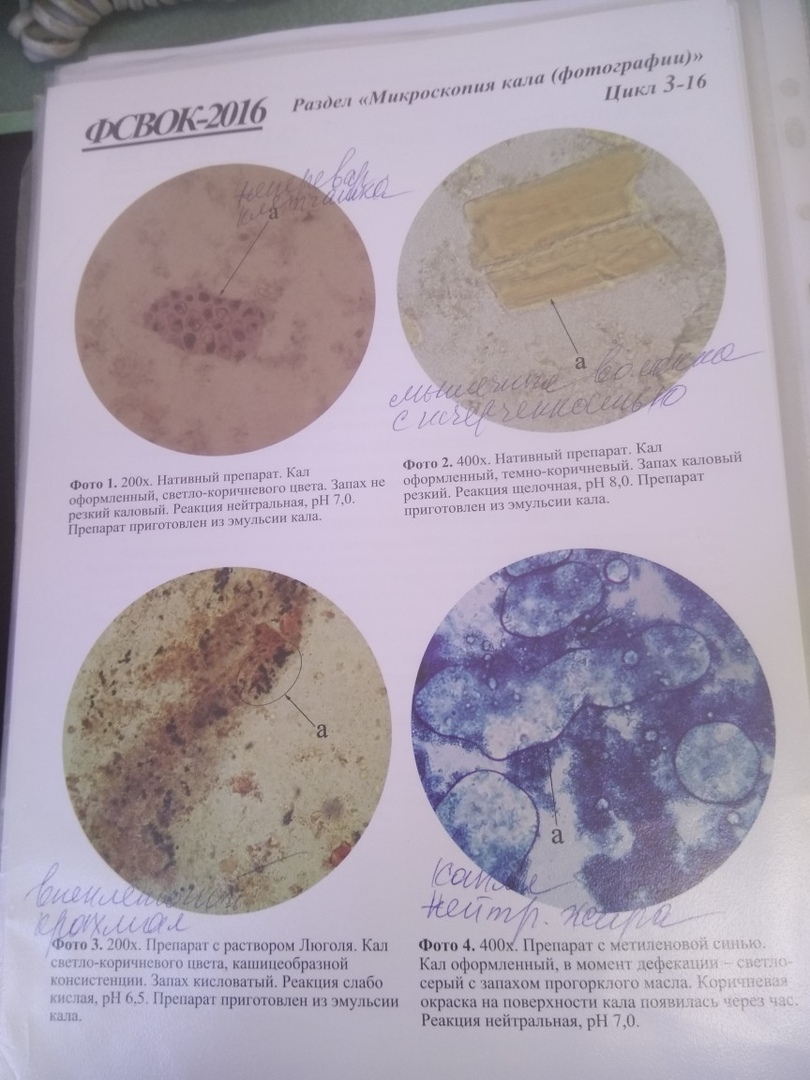
**8 день. 04.12.18.**

**Микроскопическое исследование испражнений**

Сегодня я более подробно изучала морфологию микроскопических элементов кала и дифференцировала их.







**9 день. 05.12.18.**

**Исследование отделяемого половых органов.**

В лаборатории, в которой я прохожу практику, делают только окраску мазков, микроскопирует готовые препараты врач.

Сразу после получения материала из него готовят мазок, высушивают его на воздухе, фиксируют 15-20 минут в смеси Никифорова, а затем окрашивают. Для окраски используют: монохромные методы, при которых ядро и цитоплазма клеток окрашиваются в один цвет разной интенсивности (1% раствором метиленового синего, 10% водным раствором фуксина, 0,36% спиртововодным раствором кислого фуксина; полихромные методы окраски (по Романовскому, гематоксилинэозином, по Докумову), при которых ядро и цитоплазма клетки окрашиваются в разные цвета (ядро – в фиолетовый цвет, цитоплазма – в розовый).

**Окраска 1% водным раствором метиленового синего**

На фиксированный мазок наливают 1% раствор красителя на 1-2 минуты, смывают и высушивают мазки. Ядра клеток окрашиваются в синий цвет, а цитоплазма – в голубой.

Окраска 10% водным раствором фуксина проводится так же.

**Окраска 0,36% спиртоводным раствором кислого фуксина**

Реактив: 3г кислого фуксина растворяют в 100мл 96% спирта. К 12мл этого раствора прибавляют 100мл дистиллированной воды. Красят в течение 1 минуты. Ядра клеток окрашиваются в красный, а цитоплазма – в розовый цвет.

*Для окраски в данной лаборатории используют: метод окраски по Граму и по Романовскому.*

**Методика окраски по Граму**

Для окраски используют набор реагентов, в который входят: Карболовый раствор генцианвиолета 1 фл (100 мл); Раствор Люголя 1 фл (100 мл); Фуксин Циля 1 фл (10мл)

Ход окраски:

* Помещают на мазок полоску фильтровальной бумаги и наносят на фиксированный мазок несколько капель карболового раствора генцианвиолета (реагент 1) и выдерживают 2-3 минуты. Сливают краску, удаляют фильтровальную бумагу и споласкивают в проточной воде (до 30 сек).
* Мазок заливают на 1-2 мин раствором Люголя (реагент 2) до почернения препарата.
* Раствор сливают, мазок промывают водой.
* Дифференцируют 96° спиртом, наливая и сливая его, пока отходит синяя краска и не обесцветится мазок (приблизительно 20-60 секунд). Во время дифференцировки препарат все время покачивают. Если вместо спирта использовать ацетон, то промывание продолжается 30 сек. Можно дифференцировать смесью спирта и ацетона (1:1) 30 с.
* Тщательно промывают стекло в воде 1-2 мин
* Для выявления грамотрицательной группы бактерий препараты дополнительно окрашивают рабочим фуксином Циля (несколько капель) в течение 1-3 минут.
* Промывают в проточной воде и высушивают фильтровальной бумагой.
* Окрашенные мазки исследуют в масле, с иммерсионным объективом; при желании заключают в бальзам, в таком случае на окрашенный и хорошо высушенный мазок кладут каплю бальзама и покрывают покровным стеклом.

**10 день. 06.12.18.**

**Исследование желудочного сока**

Сегодня я проводила общий анализ мочи. Так как в лаборатории, в которой я прохожу практику, не исследуют желудочный сок, я теоретически повторила методики по разделу: *«Исследование желудочного сока».*

**Определение кислотности желудочного сока методом Михаэлиса.**

*Принцип.* Кислотность желудочного сока определяют методом нейтрализации при титровании щелочью в присутствии индикаторов, меняющих свой цвет в зависимости от рН среды.

*Реактивы:*

1) 0,1N раствор едкого натра

2) 1% спиртовой раствор фенолфталеина. Это индикатор на общую кислотность. В кислой среде он бесцветен, а в щелочной (рН более 8,2) приобретает красный цвет.

3) 0,5% спиртовой раствор диметиламиноазобензола - специфический индикатор на свободную соляную кислоту. В присутствии свободной HCl диметиламиноазобензол имеет красный цвет, а в ее отсутствии приобретает желто-оранжевый цвет (цвет семги). Интервал перехода окраски при рН 2,4-4,0.

*Ход исследования:*

- В химический стаканчик мерной пипеткой отмеривают 5мл профильтрованного желудочного сока

- Добавляют по 1 капле индикаторов – фенолфталеина и диметиламиноазобензола. Желудочный сок приобретает красный цвет за счет диметиламиноазобензола в присутствии свободной соляной кислоты - Отмечают в бюретке исходный (I) уровень щелочи.

- Титруют щелочью до желто-оранжевого цвета (цвета семги), который свидетельствует о полной нейтрализации свободной соляной кислоты и появляется за счет индикатора диметиаминоазобензола в отсутствии свободной HCl. Отмечают II уровень щелочи в бюретке.

- Титруют далее до лимонно-желтого цвета, что соответствует III уровню щелочи в бюретке

- Продолжают титровать до стойко розового цвета – IV уровень, который зависит от фенолфталеина, приобретающего красный цвет в щелочной среде, то есть при нейтрализации всех кисло реагирующих веществ.

*Расчет.* Так как для титрования было взято 5мл желудочного сока, а расчет кислотности ведется на 100 мл, количество щелочи, пошедшей на разных этапах титрования, умножают на 20.

Свободная HCl = (II-I) ·20ммоль/л

Общая кислотность = (IV-I) ·20ммоль/л

Сумма свободной и связанной HCl = ((III+IV)/2-I) · 20ммоль/л

Связанная HCl = сумма свободной и связанной HCl – свободная HCl

Кислотный остаток = общая кислотность - сумма свободной и связанной HCl

**Определение кислотности желудочного сока методом Тепффера.**

*Принцип.* Такой же, как в методе Михаэлиса, но используются 3 индикатора и титрование ведется в двух стаканчиках.

*Реактивы:*

1) 0,1N раствор едкого натра

2) 1% спиртовой раствор фенолфталеина.

3) 0,5% спиртовой раствор диметиламиноазобензола

4) 1% водный раствор ализаринсульфоновокислого натрия – индикатор на связанную соляную кислоту. В кислой среде он имеет желтый цвет, а при нейтрализации всех кислых факторов, кроме связанной соляной кислоты, становится фиолетовым. Интервал перехода окраски при рН = 5,0-6,8.

*Ход исследования:*

- В два химических стаканчика отмеривают по 5мл профильтрованного желудочного сока

- В первый стаканчик добавляют по 1 капле индикаторов – фенолфталеина и диметиламиноазобензола. Желудочный сок приобретает красный цвет - Отмечают в бюретке исходный (I') уровень щелочи.

- Титруют щелочью до желто-оранжевого цвета (цвета семги). Отмечают II' уровень щелочи в бюретке.

- Титруют далее до стойко розового цвета (III' уровень щелочи в бюретке)

- Во второй стаканчик добавляют 1 каплю 1% ализаринсульфоновокислого натрия. Раствор приобретает желтый цвет.

- Замечают уровень щелочи в бюретке (I" уровень)

- Титруют щелочью до появления светло-фиолетового цвета (II"уровень). *Расчет* свободной соляной кислоты и общей кислотности проводится по первому стаканчику; связанная соляная кислота рассчитывается по второму стаканчику.

Свободная HCl = (II'-I') ·20ммоль/л

Общая кислотность = (III'-I') · 20ммоль/л

Связанная HCl = [(III' - I') – (II" - I")] · 20ммоль/л

**Обнаружение молочной кислоты в желудочном соке по Уффельману.**

*Принцип.* Соли трехвалентного железа образуют с молочной кислотой лактат железа желто-зеленого цвета.

*Реактивы:*

* 1% раствор карболовой кислоты (фенола)
* 10% раствор хлорного железа.

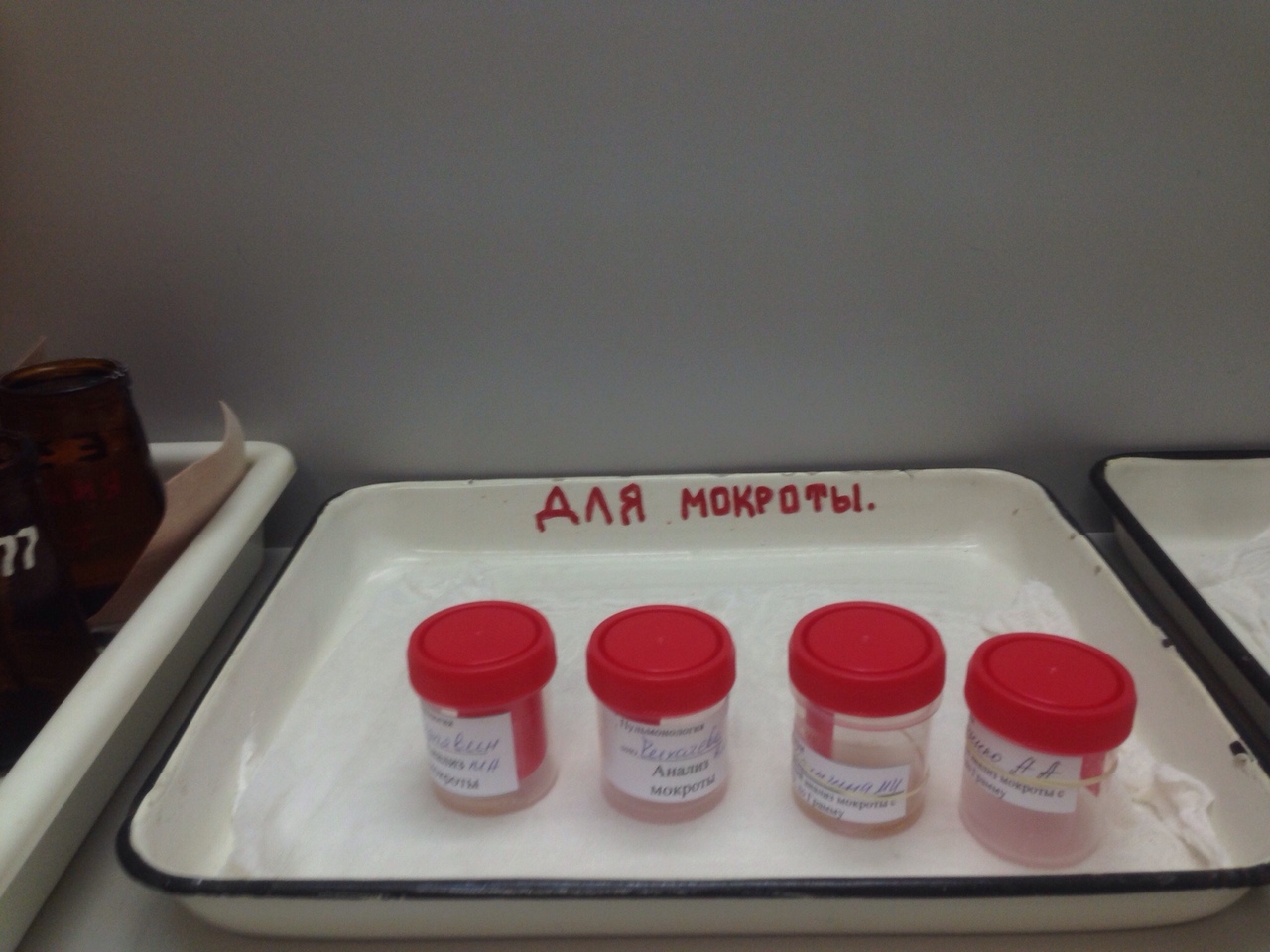
*Ход исследования:*

* К 2-3мл 10% карболовой кислоты добавляют 1 каплю раствора хлорного железа. При этом цвет смеси становится фиолетовым.
* По каплям приливают к смеси профильтрованный желудочный сок.
* При наличии молочной кислоты капли желудочного сока опускаются на дно в виде желто-зеленого облачка, а затем весь раствор приобретает желтый цвет.

**11 день. 07.12.18.**

**Исследование мокроты**

В этот день я повторяла теорию по разделу «Исследование мокроты» и училась окрашивать и микроскопировать препараты мокроты.

****

*Исследуемый материал:* собирают утреннюю порцию мокроты до приема пищи в сухую чистую широкогорлую склянку с крышкой. Исследованию подлежит мокрота, выделенная при откашливании. Чтобы предотвратить примешивание к мокроте содержимого полости рта, перед сбором мокроты больной должен тщательно прополоскать рот и глотку кипяченой водой и почистить зубы. Желательно как можно скорее исследовать мокроту. Если это невозможно, мокроту необходимо хранить в прохладном месте или холодильнике. Некоторые исследования (например, обнаружение микобактерий туберкулеза) могут быть проведены не сразу после получения мокроты.

*Физические свойства* – консистенция, цвет, запах и слоистость – определяют на глаз.

**Приготовление нативных препаратов мокроты**

Мокроту помещают в чашку Петри и, раздвигая препаровальными иглами, рассматривают её поочередно на белом и черном фоне. Выявляют образования, клочки, отличающиеся от фона формой, окраской, плотностью и т.д. Полноценность микроскопического исследования мокроты зависит от правильности приготовления и количество просмотренных препаратов. Отобранные частицы переносят на предметное стекло и, не размазывая, накрывают отобранный материал покровным стеклом, слегка надавливая на него ручкой препаровальной иглы. Для исследования нужно брать материал в таком количестве, чтобы препарат не был слишком толстым, и чтобы при надавливании на покровное стекло содержимое не выступало за его края. Готовят не менее 4-х нативных препаратов их различных участков мокроты. Микроскопируют полученные нативные препараты под малым (объектив 8, окуляр 10), а затем под большим увеличением (объектив 40, окуляр 10) микроскопа. В нативном препарате могут быть обнаружены практически все элементы мокроты.

**Приготовление и микроскопия окрашенных препаратов мокроты**

Проводится для дифференциации клеточных элементов – эозинофилов, макрофагов, содержащих гемосидерин, эластических волокон и др. Для приготовления окрашенного препарата нужно с нативного препарата, в котором обнаружены трудно определяемые элементы, снять покровное стекло, высушить на воздухе и окрасить.

**Исследование мокроты на микобактерии туберкулеза – окраска препаратов по Цилю-Нильсену**

* На предметное стекло с приготовленным и зафиксированным препаратом мокроты помещают полоску фильтровальной бумаги чуть меньше предметного стекла. Поверх бумаги наливают столько краски Циля (карболовый раствор фуксина), чтобы она не переливалась через край стекла.
* Затем стекло подогревают снизу на горелке до образования паров (но не до кипения!), после чего пинцетом снимают фильтровальную бумагу, смывают дистиллированной водой излишек краски и помещают препарат в 3°/о раствор солянокислого спирта, в котором держат до обесцвечивания.
* Затем препарат обмывают дистиллированной водой и в течение 1/2—1 минуты дополнительно окрашивают раствором метиленового синего.
* Затем остаток краски смывают дистиллированной водой и препарат высушивают на воздухе.

Под микроскопом на синем фоне вырисовываются красные микобактерии, имеющие вид тонкой короткой палочки.

