

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

Дневник

производственной практики
по ПМ 02 «Проведение лабораторных гематологических исследований»

Саксоновой Валерии Игоревны

ФИО

Место прохождения практики КГБУЗ «Краевая клиническая больница»
(медицинская организация, отделение)

с «26» марта 2020 г. по «15» марта 2020 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) _____

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) _____

Методический – Букатова Е. Н.

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)

Цели и задачи практики:

1. Закрепление в производственных условиях профессиональных умений и навыков по методам гематологических исследований.
2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам гематологических исследований.
3. Повышение профессиональной компетенции студентов и адаптации их на рабочем месте, проверка возможностей самостоятельной работы.
4. Осуществление учета и анализ основных клинико-диагностических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в гематологических лабораториях.

Программа 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.

В результате производственной практики обучающийся должен:

Приобрести практический опыт:

проведения общего анализа крови и дополнительных методов исследований ручными методами и на гематологических анализаторах;

уметь:

- производить забор капиллярной крови для лабораторного исследования;
- готовить рабочее место для проведения общего анализа крови и дополнительных исследований;
 - проводить общий анализ крови и дополнительные исследования
 - дезинфицировать отработанный биоматериал и лабораторную посуду;
 - работать на гематологических анализаторах

знать:

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в гематологической лаборатории;
- теорию кроветворения; морфологию клеток крови в норме;
- понятия «эритроцитоз» и «эритропения»; «лейкоцитоз» и «лейкопения»; «тромбоцитоз» и «тромбоцитопения»;
- изменения показателей гемограммы при реактивных состояниях, при заболеваниях органов кроветворения (анемии, лейкозах, геморрагических диатезах и др. заболеваниях);
- морфологические особенности эритроцитов при различных анемиях;
- морфологические особенности лейкоцитов при различных патологиях

№	Наименование разделов и тем практики	Всего часов
бсеместр		108
1	<i>Ознакомление с правилами работы в КДЛ:</i> - изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ.	6
2	<i>Забор капиллярной крови</i> для общего анализа крови	6
3	<i>Организация рабочего места:</i> - приготовление реактивов, подготовка оборудования, посуды для исследования	6
4	<i>Определение гематологических показателей</i> -определение гемоглобина -определение СОЭ -определение количества лейкоцитов -определение количества эритроцитов -приготовление мазка крови -окрашивание мазков крови -подсчёт лейкоцитарной формулы - супровитальная окраска ретикулоцитов -подсчет ретикулоцитов в мазке крови -определение гематокрита -определение длительности кровотечения - определение время свёртывания крови -определение количества тромбоцитов -определение осмотической стойкости эритроцитов -определение гематологических показателей на гематологическом анализаторе - определение групп крови -определение резус принадлежности крови	78
5	<i>Регистрация результатов исследования.</i>	6
6	<i>Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ:</i> - проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; - утилизация отработанного материала.	6
Вид промежуточной аттестации		Дифференцированный зачет
Итого		108

График прохождения практики.

№ п/п	Дата	Часы	Оценка	Подпись руководителя
1	26.03.2020	6		
2	27.03.2020	6		
3	28.03.2020	Методический день		
4	30.03.2020	6		
5	31.03.2020	6		
6	01.04.2020	6		
7	02.04.2020	6		
8	03.04.2020	6		
9	04.04.2020	Методический день		
10	06.04.2020	6		
11	07.04.2020	6		
12	08.04.2020	6		
13	09.04.2020	6		
14	10.04.2020	6		
15	11.04.2020	Методический день		
16	13.04.2020	6		
17	14.04.2020	6		
18	15.04.2020	6		

Техника безопасности

К работе лаборанта КДЛ допускаются лица в возрасте не моложе 18 лет, имеющие законченное среднее медицинское образование. Лаборант КДЛ должен проходить обязательный медицинский осмотр для работы не реже раза в 12 мес.

Правила работы с кровью и другими биологическими жидкостями (предупреждение профессиональных заражений).

Перед началом работы:

1. Надеть и привести в порядок рабочую одежду: халат х/б, застегнуть манжеты халата, надеть шапочку и подобрать под нее волосы. На ноги надеть сменную обувь.

2. Подготовить и проверить средства индивидуальной защиты.

3. Повреждения кожи на руках, если таковые имеются, заклеить пластырем или надеть напальчники.

4. Убедиться в укомплектованности аптечки на случай производственной травмы.

Во время работы:

1. Медперсонал должен неукоснительно соблюдать меры индивидуальной защиты, особенно при проведении инвазивных процедур, сопровождающихся загрязнением рук кровью и другими биологическими жидкостями:

- работать в резиновых перчатках, при повышенной опасности заражения - в двух парах перчаток;
- использовать маски, очки;
- осторожно обращаться с острым медицинским инструментарием;
- микротравмы на руках закрывать лейкопластырем или напальчником.

До и во время работы следует проверять, не пропускают ли перчатки влагу, нет ли в них повреждений;

· взятие крови у пациентов или проведение других процедур, когда медработник может случайно пораниться использованной иглой, необходимо производить в латексных перчатках, т.к. они уменьшают количество инокулята крови, который передается при уколе;

· после снятия перчаток в отходы класса Б, руки двукратно вымыть с мылом и вытереть индивидуальным полотенцем;

· снимать перчатки осторожно, чтобы не загрязнить руки;

· резиновые перчатки снятые единой, повторно не использовать из-за возможности загрязнения рук.

2. Для предохранения себя от инфицирования через кожу и слизистые оболочки медперсонал должен соблюдать следующие правила:

- применять спиртовые дезинфекционные растворы для рук; дезинфекцию рук никогда не следует предпочитать использованию одноразовых перчаток; руки необходимо мыть водой с мылом, каждый раз после снятия защитных перчаток;
- после любой процедуры необходимо двукратно тщательно мыть руки в проточной воде с мылом;
- руки следует вытирать только индивидуальным полотенцем, сменяемым ежедневно, или салфетками одноразового использования;
- избегать частой обработки рук раздражающими кожу дезинфектантами, не пользоваться жесткими щетками;
- никогда не принимать пищу на рабочем месте, где может оказаться кровь или отделяемое пациента;
- для защиты слизистых оболочек ротовой полости и носа применять маску, она должна плотно прилегать к лицу ;
- надевать халат или фартук либо и халат, и фартук, чтобы обеспечить надежную защиту от попадания на участки тела биологических жидкостей. Защитная одежда должна закрывать кожу и одежду медперсонала, не пропускать жидкость, поддерживать кожу и одежду в сухом состоянии.

Передать большую заразную дозу через одежду практически невозможно.

3. Использовать барьерные средства защиты необходимо не только при работе с инфицированными пациентами, каждый пациент считается потенциально опасным в отношении инфекционных заболеваний.

4. Все диагностические исследования, лечебные процедуры, оперативные вмешательства ВИЧ-инфицированным пациентам необходимо проводить в последнюю очередь, весь биологический материал дезинфицируется и уничтожается.

5. Выполнять манипуляции ВИЧ-положительному пациенту следует в присутствии второго специалиста, который в случае разрыва перчаток или пореза может продолжить их выполнение.

6. В клинко-диагностической лаборатории при работе с кровью, сывороткой или другими биологическими жидкостями запрещается:

- пипетировать ртом, следует пользоваться резиновой грушей;
 - переливать кровь, сыворотку через край пробирки;
 - использовать для маркировки пробирок этикетки из лейкопластыря.
- Пробирки следует маркировать карандашом по стеклу.

7. При центрифугировании исследуемого материала центрифуга обязательно должна быть закрыта крышкой до полной остановки ротора.

8. При транспортировке крови и других биологических жидкостей нужно соблюдать следующие правила:

- емкости с кровью, другими биологическими жидкостями сразу на месте взятия плотно закрывать резиновыми или пластиковыми пробками;
- запрещается вкладывать бланки направлений или другую документацию в пробирки;
- для обеспечения обеззараживания при случайном истечении жидкости кровь и др. биологические жидкости, транспортировать в штативах, поставленных в контейнеры, биксы или пеналы, на дно которых укладывать четырехслойную сухую салфетку;
- если существует вероятность разбрызгивания крови или биологических жидкостей, надевать защитную одежду (халаты, фартуки) и средства защиты слизистых оболочек лица (маски, закрывающие рот и нос, защитные очки для защиты глаз);
- если халат и фартук загрязнены биологическими жидкостями следует переодеться как можно быстрее; смену одежды проводить, в перчатках и снимать их в последнюю очередь.

9. Разборку, мойку и прополаскивание медицинского инструментария, соприкасавшегося с кровью или сывороткой, нужно проводить после предварительной дезинфекции. Работу осуществлять в резиновых перчатках.

На каждом рабочем месте должна быть укомплектована аптечка первой помощи.

1. О каждом случае повреждения, связанного с возможностью загрязнения кровью и др. биологическими жидкостями при выполнении своих обязанностей, ставить в известность заведующего отделением и старшего лаборанта. Регистрировать их в журнале регистрации несчастных случаев, хранящихся на рабочем месте.

2. В случае оказания мед. помощи, персонал, получивший травмы кожи или загрязнения слизистых биоматериалом пациента, расценивается как «медицинский контакт». Если пациент известен, его при возможности необходимо обследовать на ВИЧ, вирусные гепатиты В и С.

Подпись общего руководителя _____

Подпись студента _____

Печать лечебного учреждения

1 день производственной практики (26.03.2020)

Изучила нормативные документы:

1. Приказ № 408 МЗ СССР от 12.07.89 «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами»;

2. Приказ № 170 МЗ РФ от 15.08.94 «О мерах по совершенствованию профилактики и лечения ВИЧ инфекции в РФ»;

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

4. ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения».

2 день производственной практики (27.03.2020)

Организовала рабочее место для взятия капиллярной крови.

Капиллярную кровь у взрослых получают, как правило, из 4 пальца левой руки, а если это невозможно – из любого другого пальца или мочки уха. Кожа в месте прокола должна быть сухой, розовой и теплой.

Забор крови для общего анализа проводится в определенной последовательности:

- 1) готовят 2 мазка для подсчета лейкоцитарной формулы;
- 2) делают забор крови на СОЭ;
- 3) берут кровь для подсчета количества эритроцитов;
- 4) для определения концентрации гемоглобина;
- 5) для подсчета количества лейкоцитов.

Произвела взятие крови, согласно инструкции:

- Участок кожи, предназначенный для взятия крови, продезинфицировать и обезжирить 70% спиртом. После обработки спиртом кожа должна высохнуть, чтобы кровь не растекалась;

- Сдавить мякоть 4-го пальца обследуемого;

- Иглу-скарификатор следует ставить строго перпендикулярно месту прокола, чтобы разрез пришелся поперек кожных линий. Сделать укол

скарификатором до упора. Глубина прокола должна быть такой, чтобы формировалась свободно натекающая капля;

- Первую выступившую каплю крови, содержащую примесь тканевой жидкости удалить сухим ватным шариком;
- Кровь с поверхности пальца после приготовления мазков набрать в индивидуальные, стерильные капилляры;
- После получения необходимого количества крови к поверхности кожи приложить ватный тампон с 70% спиртом на 1-2 минуты до полной остановки кровотечения;
- По окончании работ произвести дезинфекцию рабочей поверхности.

Изучила методику определения концентрации гемоглобина крови унифицированным гемиглобинцианидным методом.

Принцип. Гемоглобин при взаимодействии с железосинеродистым калием (красной кровяной солью) окисляется в метгемоглобин (гемиглобин), образующий с ацетонциангидрином соединение красного цвета – гемиглобинцианид, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию гемоглобина.

Реактивы: Трансформирующий раствор;

Специальное оборудование: МИНИГЕМ-540.

Ход определения. В пробирку с помощью автоматического дозатора налить 5 мл трансформирующего раствора и внести в него 0,02 мл (капилляр Сали) крови, промывая капилляр 2-3 раза трансформирующим раствором. Тщательно перемешать содержимое пробирки. При этом получается разведение крови в 250 раз. Отколориметрировать содержимое пробирки через 20 минут на МИНИГЕМе-540.

Нормальное содержание гемоглобина в крови: у мужчин 130-160 г/л; у женщин 120-140 г/л.

3 день производственной практики (28.03.2020)

Методический день. Заполнение дневника.

4 день производственной практики (30.03.2020)

Изучила методику определения СОЭ унифицированным микрометодом Панченкова.

Принцип. Смесь крови с цитратом при стоянии разделяется на два слоя: нижний – эритроциты и верхний – плазма, по высоте отстаивания которой и судят о величине СОЭ.

Реактивы: 5% раствор цитрата натрия.

Специальное оборудование: штатив Панченкова, капилляры Панченкова.

Ход определения. Капилляр Панченкова промыть раствором цитрата натрия, набрать цитрат натрия в капилляр до метки 75 (1/4 часть капилляра Панченкова, то есть 25 делений капилляра) и спустить (выдуть грушей) его в пробирку. Набрать кровь, согласно вышеизложенной инструкции, в тот же капилляр Панченкова без пузырьков воздуха до метки «0» («К»). Выдуть грушей кровь в пробирку с цитратом. Тщательно перемешать кровь с цитратом. При этом получается соотношение крови и цитрата как 4:1. Набрать смесь крови с цитратом в тот же капилляр Панченкова до метки «0» без пузырьков воздуха и установить в штатив Панченкова строго вертикально. Точно через 1 час отметить скорость оседания эритроцитов по высоте отстоявшегося слоя плазмы в миллиметрах.

Нормальные величины СОЭ: у мужчин 1-10 мм/час, у женщин 2-15 мм/час.

Источники ошибок при определении СОЭ: несоблюдение соотношения крови с цитратом; недостаточное перемешивание крови и цитрата, вследствие чего кровь может свернуться; косое положение капилляра; температурные условия: при температуре выше 22°C СОЭ увеличивается, при температуре ниже 18°C – замедляется.

5 день производственной практики (31.03.2020)

Изучила унифицированный метод подсчета количества лейкоцитов крови в счетной камере.

Принцип. Подсчитывают лейкоциты под микроскопом в определенном объеме счетной камеры при постоянном разведении крови после разрушения эритроцитов.

Реактивы: 3-5% раствор уксусной кислоты, подкрашенный водным раствором метиленового синего для окраски ядер лейкоцитов и облегчения их подсчета.

Специальное оборудование: микроскоп, счетная камера Горяева.

Ход определения. В пробирку с помощью автоматического дозатора налить 0,4 мл раствора уксусной кислоты, произвести взятие крови, согласно вышеизложенной инструкции, и внести в раствор 0,02 мл (капилляр Сали) крови. Промыть капилляр несколько раз раствором кислоты и перемешать содержимое пробирки. При этом получается разведение крови в 20 раз. Оставить до момента счета, но не более 2-4 часов после забора крови. Подготовить к работе камеру Горяева, притирая покровное стекло так, чтобы появились радужные кольца. Ещё раз тщательно встряхнуть содержимое пробирки и заполнить этой смесью камеру Горяева с помощью пастеровской пипетки или стеклянной палочки с оплавленным концом. Оставить заполненную счетную камеру на 1 минуту в горизонтальном положении для оседания лейкоцитов. Подсчитать лейкоциты в 100 больших не разграфленных квадратах счетной камеры при условиях: конденсор опущен, окуляр 10х или 15х, объектив 8х. Счет начать от левого верхнего угла сетки камеры Горяева. При подсчете лейкоцитов руководствоваться правилом: считать все клетки, находящиеся внутри квадрата и на разграничительных линиях, если они большей частью заходят внутрь квадрата. Клетки же, пересеченные разграничительной линией точно пополам, подсчитывают лишь на двух сторонах квадрата (например, левой и верхней).

Расчет. При расчете количества лейкоцитов в 1 мкл крови используют формулу:

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 20}{1600} = a \cdot 50, \text{ где}$$

X- количество лейкоцитов в 1 мкл крови;

a- количество лейкоцитов, подсчитанное в 100 больших квадратах;

4000 – коэффициент перевода объема на 1 мкл, исходя из объёма малого квадрата, который составляет $\frac{1}{4000}$ мкл;

1600 – количество сосчитанных малых квадратов;

20 – разведение крови.

Для перевода количества лейкоцитов в единицы СИ (в 1 л крови) полученную цифру умножают на 10^6 .

Практически для определения содержания лейкоцитов в 1 л крови количество лейкоцитов, подсчитанное в 100 больших квадратах счетной камеры, умножают на 50, делят на 1000 (то есть переносят запятую на 3 знака влево) и умножают на 10^9 .

Нормальное количество лейкоцитов в крови составляет $4-9 \cdot 10^9/\text{л}$. Увеличение количества лейкоцитов называется лейкоцитоз, уменьшение – лейкопения.

6 день производственной практики (01.04.2020)

Изучила унифицированный метод подсчета количества эритроцитов крови в счетной камере

Принцип. Подсчитывают эритроциты под микроскопом в определенном объеме счетной камеры при постоянном разведении крови.

Реактивы: 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор).

Специальное оборудование: микроскоп, счетная камера Горяева.

Ход определения. В чистую сухую пробирку с помощью автоматического дозатора налить 4 мл физиологического раствора и 0,02мл (капилляр Сали) крови. Промыть капилляр раствором 2-3 раза и перемешать содержимое пробирки - при этом получается разведение крови в 200 раз.

Оставить до момента счета, но не более 2-3 часов. При подозрении на анемию подсчет проводят тотчас же после взятия крови, так как эритроциты при некоторых видах анемий быстро разрушаются. Подготовить к работе камеру Горяева. Ещё раз тщательно перемешать содержимое пробирки и заполнить этой смесью камеру Горяева с помощью пастеровской пипетки или стеклянной палочки с оплавленным концом. Оставить заполненную счетную камеру на 1 минуту в горизонтальном положении для оседания эритроцитов. Подсчитать эритроциты в 5 больших квадратах, разграфленных каждый на 16 малых квадратов и расположенных по диагонали сетки Горяева. Таким образом, считают эритроциты в 80 малых квадратах. Счет начать с левого верхнего угла сетки и ведут при условиях: конденсор опущен, окуляр 10х или 15х, объектив 8х. При подсчете эритроцитов руководствуются теми же правилами, что и при подсчете лейкоцитов, то есть считают все клетки, находящиеся внутри квадрата и на разграничительных линиях, если они большей частью заходят внутрь квадрата. Клетки же, пересеченные разграничительной линией точно пополам, подсчитывают лишь на двух сторонах квадрата (например, левой и верхней).

Расчет. Количество эритроцитов в 1мкл крови рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200}{80} = a \cdot 10000, \text{ где}$$

X - количество эритроцитов в 1 мкл крови;

a- количество эритроцитов, подсчитанных в 80 малых квадратах,

4000 – коэффициент перевода объема на 1 мкл (объем одного малого квадрата равен $\frac{1}{4000}$ мкл);

200 – разведение крови;

80 – количество сосчитанных малых квадратов.

Чтобы перевести содержание эритроцитов в единицы СИ (1 л крови), количество эритроцитов в миллионах умножают на 10^{12} . Практически для определения содержания эритроцитов в 1 л крови количество эритроцитов,

подсчитанное в 5 больших квадратах, делят на 100 (то есть переносят запятую на 2 знака влево) и умножают на 10^{12} .

Подсчет эритроцитов в счетной камере является трудоемким и недостаточно точным методом. На результатах подсчета сказываются малейшая неточность при взятии крови в капилляр, недостаточное перемешивание крови с 0,9% раствором NaCl, любое отклонение от правил подготовки счетной камеры, её заполнения и подсчета клеток, а также недоброкачественность реактива и мокрая или грязная посуда (пробирки, пипетки, капилляры).

Нормальное количество эритроцитов в крови: у мужчин составляет $4,0-5,0 \cdot 10^{12}/л$; у женщин $3,7-4,7 \cdot 10^{12}/л$.

Цветовой показатель крови (ЦПК) отражает относительное (по сравнению с нормой) содержание гемоглобина в эритроцитах. ЦПК высчитывают по формуле:

$$\text{ЦПК} = \frac{Hb \cdot 3}{er}, \text{ где}$$

Hb – концентрация гемоглобина в крови в г/л,

er - первые 3 цифры количества эритроцитов в крови.

Нормальные величины ЦПК 0,86 – 1,05

7 день производственной практики (02.04.2020)

Изучила методику приготовления и окраски мазков крови.

Мазки крови готовят на предметных стеклах, которые предварительно моют и обезжиривают.

Подготовка стекол. Стекла (новые и бывшие в употреблении) замачивают на 8-10 часов в 2% растворе хозяйственного мыла или СМС в эмалированной посуде, кипятят в этом же растворе 5-10 минут. Более длительное кипячение и использование алюминиевой посуды не рекомендуется, так как приводит к помутнению стекол. Промывают стекла в проточной воде, насухо вытирают и помещают для обезжиривания на 30-60

минут в смесь Никифорова (спирт 96% и диэтиловый эфир в соотношении 1:1). Насухо вытирают чистой тканью и хранят в закрытой чистой посуде.

Приготовление мазков. Мазок крови делается с помощью шлифованного стекла с идеально ровным краем, ширина которого должна быть на 2-3 мм меньше, чем у предметного стекла; или специальным шпателем. После прокола пальца первую каплю удаляют сухим ватным тампоном. К куполу следующей капли прикасаются предметным стеклом на расстоянии 1,5-2 см от края стекла. К коже в месте прокола не прикасаться! Капля крови на предметном стекле должна иметь диаметр 2-3мм. Шлифованное стекло ставят под углом 45° на 1-2 мм перед каплей и двигают его назад к капле так, чтобы вся кровь растеклась по краю шлифованного стекла. Быстрым легким движением делают мазок, пока не кончится вся капля крови. Высушивают мазки на воздухе. Маркируют их простым карандашом, обозначая на толстой части мазка фамилию и инициалы пациента или его регистрационный номер. Делают не менее двух мазков.

Требования к мазку. Правильно приготовленный мазок должен быть:

- равномерной толщины, полупрозрачным, желтоватого цвета;
- достаточной величины – занимать $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ длины предметного стекла, отступив от края на 1-1,5см;
- оканчиваться «метелочкой».

Толстые мазки для исследования не пригодны, так как клетки в них располагаются в несколько слоев и деформируются. В правильно приготовленных тонких мазках клетки располагаются в один слой.

Готовые высушенные мазки крови фиксируют, а затем окрашивают. В неокрашенном виде мазки сохраняются при комнатной температуре в течение 3 дней.

Фиксация мазков предохраняет элементы крови от воздействия содержащейся в красках воды, под влиянием которой в нефиксированных мазках происходит разрушение эритроцитов и изменяется морфология лейкоцитов. Фиксация также вызывает коагуляцию белков и закрепляет

мазок на стекле. Фиксацию проводят либо в специальной кювете, либо в широкогорлой банке с хорошо закрывающейся крышкой.

Для фиксации используют следующие реактивы:

- метиловый спирт – время фиксации 3-5 минут;
- раствор эозинметиленового синего по Май-Грюнвальду (фиксация 3 минуты);
- этиловый спирт (фиксация 20-25 минут);
- смесь Никифорова (фиксация 30 минут).

Фиксированные мазки высушивают на воздухе и окрашивают.

Окраска мазков. Проводится в специальных кюветах или на «мостике».

В качестве унифицированных приняты 3 метода окраски мазков крови:

- по Романовскому-Гимзе;
- по Нохту;
- по Паппенгейму.

Принцип окраски мазков крови. Основу современных методов окраски клеток крови заложил русский врач Д.Л. Романовский, который в конце 19 века предложил окрашивать препараты одновременно двумя красителями – щелочной и кислой реакции. Различные клеточные структуры имеют разную рН и связываются с красителем противоположной реакции. Ядра клеток богаты нуклеиновыми кислотами, имеют кислую реакцию и окрашиваются красителями щелочной реакции (метиленовым синим, азуром I и II) в сине-фиолетовый цвет. Цитоплазма гранулоцитов, зернистость эозинофилов, эритроциты содержат щелочные белки, поэтому окрашиваются красителем кислой реакции (эозином) в розовый цвет.

Окраска по Романовскому-Гимзе

Реактив: готовая краска Романовского. В её состав входит азур-II (смесь равных частей азура-I и метиленового синего) и эозин. Заводская краска очень концентрированная и перед употреблением её нужно разводить. Степень разведения и время окраски определяется опытным путем и называется титрование краски Романовского.

Титрование краски Романовского. Готовят три разведения краски из расчета: 1, 2 и 3 капли красителя на 1мл дистиллированной воды. Каждым из разведений окрашивают 5 зафиксированных мазков в течение 20, 25, 30, 35 и 40 минут. На каждом мазке отмечают время окраски и разведение красителя. После окрашивания микроскопируют мазки и определяют разведение и время, при которых получена наилучшая окраска. Эти условия, соответствующие лучшему окрашиванию, указывают на этикетке бутылки с краской. Например, титр краски – 1капля/мл; экспозиция – 30 минут. Титрование краски Романовского проводят один раз перед использованием каждой новой партии красителя.

Ход окраски. В специальную кювету для окрашивания наливают раствор краски Романовского, приготовленный непосредственно перед использованием в соответствии с установленным титром. В рабочий раствор красителя опускают штатив с сухими фиксированными мазками. Красят мазки в соответствии с выбранной экспозицией. Промывают мазки проточной водой и высушивают на воздухе.

Окраска по Нохту

Реактивы:

1. Основной раствор азура II (1г на 1л дистиллированной воды).
2. Основной раствор эозина калия (1г на 1л дистиллированной воды). Красители нуждаются в вызревании в течение 2 недель в темном месте при периодическом помешивании.
3. Фосфатный буфер с рН 7,4-7,5.
4. Рабочий раствор азур-эозина готовят перед употреблением путем смешивания 25 мл основного раствора азура II, 20 мл основного раствора эозина К и 55 мл буферного раствора.

Ход окраски. Окраску производят так же, как методом Романовского – в кюветах с помощью свежеприготовленного рабочего раствора азур-эозина в течение 20-45 минут. Пропорции красителей и время окраски устанавливаются опытным путем для каждой партии красителя.

Окраска по Паппенгейму

Реактивы.

1. Готовый краситель-фиксатор Май-Грюнвальда (1 г эозинметиленового синего растворяют в 1 л метилового спирта).
2. Свежеприготовленный раствор краски Романовского или рабочий раствор аzur-эозина по Нохту.

Ход окраски. Мазки не нуждаются в предварительной фиксации, так как краска Май-Грюнвальда, приготовленная на метиловом спирте, одновременно и фиксирует, и красит мазок. На нефиксированный мазок наносят 2 мл красителя-фиксатора Май-Грюнвальда на 3 минуты. Доливают столько же (2 мл) дистиллированной воды и выдерживают 1 минуту. Краску сливают, промывают мазки водопроводной водой. Докрашивают мазки рабочим раствором аzur-эозина по Нохту или разведенной краской Романовского в течение 8-15 минут. Время окрашивания устанавливают опытным путем для каждой новой партии красителя. Промывают мазки водой и высушивают на воздухе.

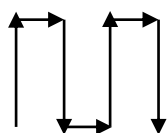
Изучила методику подсчета лейкоцитарной формулы.

Таблица 1 - Характеристика различных видов лейкоцитов в норме

	Размер клетки, мкм	Ядро			Цитоплазма	
		форма	структура	цвет	цвет	Зернистость
Нп/я	10-15	Узкое, в виде палочки	Неравномерная крупноглыбчатая	Темно-фиолетовый	Розовый	Обильная розово-фиолетовая пылевидная
Нс/я	10-15	Узкое, состоит из 3-5 сегментов	Неравномерная крупноглыбчатая	Темно-фиолетовый	Розовый	Обильная розово-фиолетовая пылевидная
Э	12-15	Состоит из 2-3 сегментов	Неравномерная крупноглыбчатая	Фиолетовый	Розовый	Обильная розово-красная крупная
Б	8-12	Неопределенная	Неравномерная крупноглыбчатая	Фиолетовый	Розовый	Необильная темно-фиолетовая

						разного размера
Л	7-10 (редко до 15)	Округлое или бобовидное	Компактная крупноглыбчатая	Фемно-фиолетовый	Голубой	Редко единичные фиолетовые гранулы
Мон	12-20	Полиморфное	Равномерная нежносетчатая	Светло-фиолетовый	Серо-голубой	Иногда мелкая бледно-фиолетовая

Подсчет лейкоцитарной формулы проводят при микроскопии окрашенного мазка крови с иммерсионной системой (объектив 90х, окуляр 7х или 10х, конденсор поднят). Для регистрации клеток используют лабораторные счетчики СЛ-1 (счетчик лабораторный-1) или более современные его модификации. Подсчет лейкоцитов проводят в тонкой части мазка, где эритроциты лежат одиночно, а не сложены в «монетные столбики». Считают все встречающиеся целые, не разрушенные клетки, дифференцируя их по видам. Лейкоциты располагаются в мазке неравномерно: более крупные клетки (моноциты, эозинофилы, нейтрофилы) встречаются чаще по краю мазка, а более мелкие (лимфоциты) – в его середине, поэтому подсчет лейкоцитарной формулы следует проводить как по краю, так и по середине мазка, передвигая его по зигзагообразной линии – «линии меандра».



Если количество лейкоцитов в крови в пределах нормы и при подсчете первых 100 лейкоцитов не обнаружено никаких отклонений ни в составе лейкоцитарной формулы, ни в морфологии клеток, то ограничиваются подсчетом 100 лейкоцитов. Если же были выявлены какие-либо отклонения от нормы, необходим подсчет 200 лейкоцитов. При лейкоцитозах всегда следует подсчитывать 200 лейкоцитов. Для расчета лейкоцитарной формулы в этом случае полученные результаты нужно разделить на 2.

Лейкоцитарная формула характеризует лишь относительное (процентное) содержание отдельных видов лейкоцитов. Зная общее

количество лейкоцитов в 1л крови и процентное содержание каждого вида лейкоцитов, можно вычислить их абсолютное содержание, то есть количество клеток в 1л. Оно дает более точное представление о содержании различных видов лейкоцитов и высчитывается по формуле:

$$\text{абсолютное содержание отдельного вида лейкоцитов} = \frac{A \cdot B}{100}, \text{ где}$$

A – общее количество лейкоцитов в 1л крови,

B – относительное (%) содержание отдельного вида лейкоцитов.

На основе лейкоцитарной формулы можно высчитать также индекс ядерного сдвига нейтрофилов. Он характеризует активность костного мозга и высчитывается по формуле:

$$\text{Индекс сдвига} = \frac{\text{миелоциты} + \text{метамиелоциты} + \text{палочкоядерные}}{\text{сегментоядерные}}$$

В норме индекс ядерного сдвига нейтрофилов равен 0,05 – 0,08.

Повышение его бывает при увеличении содержания в крови незрелых клеток и называется сдвигом влево. Сдвиг влево свидетельствует об активации костного мозга, встречается при гнойно-воспалительных заболеваниях, хроническом миелолейкозе, некоторых видах анемий. Уменьшение количества молодых форм нейтрофилов называется сдвигом вправо. Он встречается при апластических анемиях и свидетельствует об угнетении функции костного мозга.

Таблица 2 - Содержание различных видов лейкоцитов в крови у здоровых взрослых людей

Виды лейкоцитов	Содержание	
	%	в 1л
Нейтрофилы палочкоядерные	1 - 6	$0,04-0,3 \cdot 10^9$
Нейтрофилы сегментоядерные	47 – 72	$2,0-5,5 \cdot 10^9$
Эозинофилы	0,5 – 5	$0,02-0,3 \cdot 10^9$
Базофилы	0 – 1	$0-0,065 \cdot 10^9$
Лимфоциты	19 – 37	$1,2-3,0 \cdot 10^9$
Моноциты	3 - 11	$0,09-0,6 \cdot 10^9$

8 день производственной практики (03.04.2020)

Изучила методику окраски и унифицированный метод подсчета количества ретикулоцитов.

Принцип. Суправитальная (прижизненная) окраска красителями, выявляющими зернисто-нитчатую субстанцию.

Реактивы. Можно использовать один из следующих реактивов:

- 1) насыщенный раствор бриллиантового крезилового синего в абсолютном спирте;
- 2) раствор азура I - 1%;
- 3) раствор азура II - 2%.

Окраска ретикулоцитов может проводиться как на предметном стекле, так и в пробирке.

Окраска на стекле. Хорошо вымытые и обезжиренные стекла слегка подогревают над спиртовкой. Стеклой палочкой наносят 1 каплю одного из красителей, делают мазок из краски шлифованным стеклом и высушивают его. В таком виде мазки можно готовить впрок и хранить в закрытой посуде в темном месте. На мазок краски наносят 1 каплю крови и готовят из нее тонкий мазок. Тотчас же, не давая высохнуть крови, помещают мазок во влажную камеру (чашку Петри с уложенной по бортикам фильтровальной бумагой) на 3-4 минуты. Высушивают на воздухе и микроскопируют.

Окраска в пробирке.

Метод 1. В пробирку помещают: 4 капли краски 1 и 1 каплю 1% оксалата калия; вносят туда 2 капилляра Сали (0,04мл) крови; закрывают влажной ваткой, перемешивают и оставляют на 30 минут; снова перемешивают и готовят тонкие мазки.

Метод 2. В пробирку помещают 0,05 мл краски 3 и 0,2 мл крови; смесь закрывают влажной ваткой, тщательно перемешивают и оставляют на 20-30 минут; перемешивают и готовят тонкие мазки.

Метод 3. В пробирку помещают 0,3-0,5 мл краски 2 и 5-6 капель крови капилляром Панченкова; закрывают пробирку резиновой пробкой, тщательно

перемешивают и оставляют на 1-1,5 часа; перемешивают и готовят тонкие мазки.

Подсчет количества ретикулоцитов. Окрашенный одним из описанных методов мазок микроскопируют с иммерсионной системой: окуляр 7х, объектив 90х, конденсор поднят. В мазках эритроциты окрашены в желтовато-зеленоватый цвет, зернисто-нитчатая субстанция – в синий цвет. Подсчитывают не менее 1000 эритроцитов, отмечая среди них количество эритроцитов, содержащих зернисто-нитчатую субстанцию. Ретикулоциты как молодые эритроциты входят в счет 1000 эритроцитов. Для облегчения подсчета используют ограничитель поля зрения, готовя его таким образом, чтобы одновременно в поле зрения находилось около 50 эритроцитов. Затем просчитывают 20 таких полей зрения.

Количество ретикулоцитов может быть выражено тремя способами: их числом на 1000 эритроцитов, в процентах или в промилле. 1 промилле (‰) = 1/1000.

Нормальное количество ретикулоцитов: 2-12 на 1000 эритроцитов, или 0,2-1,2%, или 2-12 ‰.

9 день производственной практики (04.04.2020)

Методический день. Заполнение дневника.

10 день производственной практики (06.04.2020)

Изучила унифицированный метод определения гематокритной величины с помощью микроцентрифуги.

Принцип. Центрифугирование крови в присутствии антикоагулянтов в течение определенного времени при постоянном числе оборотов центрифуги.

Специальное оборудование: микроцентрифуга для определения гематокрита в комплекте со специальными капиллярами.

Реактивы: один из антикоагулянтов: раствор гепарина 1000 ЕД/мл или 4% раствор трилона Б (ЭДТА).

Ход определения. В предварительно обработанный антикоагулянтом и высушенный капилляр набрать кровь из пальца на 7/8 длины капилляра.

Укупоривать капилляры с одного конца специальной пастой (или пластилином) и поместить их в ротор центрифуги так, чтобы укупоренные концы упирались в резиновую прокладку. Центрифугировать 5 минут при 8000 об/мин. По специальной шкале, приложенной к центрифуге, определить гематокритную величину.

Нормальные величины гематокрита. У мужчин гематокритная величина составляет 40-48%; женщин – 36-42%.

Клиническое значение. Снижение гематокритной величины характерно для анемии. Этот показатель широко используется в практической медицине для оценки степени анемии: чем ниже гематокрит, тем тяжелее анемия. Повышение гематокритной величины наблюдается при эритроцитозах.

11 день производственной практики (07.04.2020)

Изучила метод определения длительности кровотечения (по Дукке)

Принцип. Определяется длительность кровотечения из капилляров после прокола кожи скарификатором.

Ход работы. Определение может проводиться при проколе пальца или мочки уха. Глубина прокола должна быть не менее 3мм – только при этом условии кровь из ранки выделяется самопроизвольно, без нажима. Сразу после прокола включить секундомер. Первую каплю крови не удалять ватой, как обычно, а прикоснуться к ней фильтровальной бумагой, которая впитывает кровь. Далее снимать фильтровальной бумагой выступающие капли крови через каждые 30 секунд. Постепенно капли крови становятся все меньше. Когда следы крови перестанут оставаться, секундомер выключить.

Источники ошибок: недостаточно глубокий прокол, поспешное снятие капель крови, прикосновение фильтровальной бумагой к коже, что способствует остановке кровотечения.

Нормальные величины. Длительность кровотечения по Дукке составляет 2-4 минуты.

Диагностическое значение. Практическое значение имеет удлинение времени кровотечения, что наблюдается при тромбоцитопениях, заболеваниях печени, недостаточности витамина С, злокачественных опухолях и др. При гемофилии этот тест остается в пределах нормы.

12 день производственной практики (08.04.2020)

Изучила метод определения времени свертывания капиллярной крови (по Сухареву)

Принцип. Определяется время образования сгустка крови в капилляре Панченкова.

Ход работы. Проколоть кожу, удалить первую каплю крови. Набрать самотеком кровь в чистый сухой капилляр Панченкова до метки «70-75» (25-30 делений) без пузырьков воздуха и включить секундомер. Наклоном капилляра переместить кровь на середину трубки. Через каждые 30 секунд наклонять капилляр поочередно вправо и влево под углом 45 градусов. При этом капилляр необходимо плотно держать в руке, чтобы сохранить более высокую и постоянную температуру свертывающейся крови. В начале исследования кровь свободно перемещается внутри капилляра, а затем ее движение замедляется и появляется «хвостик» из нитей фибрина – это говорит о начале свертывания крови. При полном свертывании кровь перестает двигаться. Моменты начала и конца свертывания крови засекают по секундомеру.

Нормальные величины. Начало свертывания: 30 секунд – 2 минуты; конец свертывания: 3-5 минут.

Диагностическое значение. Удлинение времени свертывания крови наблюдается при тяжелой недостаточности факторов, участвующих во внутреннем пути образования протромбиназы, дефиците протромбина и фибриногена, а также при передозировке гепарина.

13 день производственной практики (09.04.2020)

Изучила унифицированный метод подсчета количества тромбоцитов в мазках крови (по Фолио)

Принцип. В окрашенных мазках крови подсчитывают количество тромбоцитов, встречающихся при подсчете 1000 эритроцитов. Одновременно в счетной камере Горяева определяют количество эритроцитов в 1л крови, а затем делают пересчет количества тромбоцитов на 1л крови.

Реактивы: 14% раствор магния сернокислого или 6% раствор ЭДТА (этилендиаминтетраацетат). Эти реактивы предотвращают агрегацию тромбоцитов, способствуя их равномерному распределению в мазке.

Ход работы. В капилляр Панченкова набрать один из реактивов до метки «75», выдуть кровь грушей в серологическую пробирку. Этим же капилляром взять кровь из пальца до метки «0» (К), кровь выдуть грушей в пробирку с реактивом и перемешать. Приготовить из смеси тонкие мазки, высушить их, фиксировать и окрасить по Романовскому в течение 2-3 часов, если использовался сульфат магния и в течение 30-40 минут, если использовали ЭДТА. Тромбоциты при этом окрашиваются в фиолетовый цвет. Одновременно берут кровь для подсчета количества эритроцитов.

Техника подсчета тромбоцитов. Окрашенные мазки микроскопируют при условиях: окуляр 7X или 10X, объектив 90x, конденсор поднят. Подсчет количества тромбоцитов ведут в тонких местах препарата следующим образом: в каждом поле зрения считают число эритроцитов и тромбоцитов, передвигая мазок до тех пор, пока не будут посчитаны 1000 эритроцитов. Для удобства счета и большей точности пользуются окуляром с ограничителем поля зрения по Фонию. Для ограничения поля зрения в окуляр вкладывают кружок из бумаги с небольшим отверстием по центру в форме ромба. В ограниченном поле зрения должно быть видно около 50 эритроцитов. Сосчитав 1000 эритроцитов, суммируют количество встретившихся при этом тромбоцитов (всего примерно 20 полей зрения).

Расчет. Зная количество тромбоцитов, встретившихся при подсчете 1000 эритроцитов, и количество эритроцитов в 1 л крови, производят расчет содержания тромбоцитов в 1л крови по формуле:

$$X = \frac{A \cdot B}{1000}, \text{ где}$$

X – количество тромбоцитов в 1л;

A – количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов;

B – количество эритроцитов в 1л крови.

Нормальное количество тромбоцитов: $180-320 \cdot 10^9/\text{л}$.

14 день производственной практики (10.04.2020)

Изучила унифицированный метод определения осмотической резистентности эритроцитов

Принцип. Осмотическая резистентность эритроцитов определяется по степени их гемолиза в гипотонических растворах хлорида натрия.

Реактивы.

1. Основной раствор по осмотической концентрации соответствующий 10% хлориду натрия: двузамещенный фосфат натрия 27,31г; однозамещенный фосфат натрия 4,86г; хлорид натрия 180г; дистиллированная вода до 2л. рН основного раствора составляет 7,4.

2. Рабочий раствор – готовится из основного путем разведения в 10 раз. По осмотической концентрации он соответствует 1% раствору хлорида натрия.

2. Гепарин.

Ход определения. В две стерильные пробирки, содержащие по 2 капли гепарина, внести по 1,5 мл крови, хорошо перемешать. Кровь из одной пробирки исследовать сразу же, а вторую – на следующий день, после инкубации в термостате при 37°C в течение 24 часов.

Таблица 3 - Ряд разведений из рабочего раствора хлорида натрия

№ пробирок	Кол-во 1% NaCl, мл	Дист. вода, мл	Конц. NaCl	Экстинция E	Гемолиз, %	
					Исслед. крови	В норме
1	5,0	-	1%	контроль	0%	0
2	4,25	0,75	0,85%			0

3	3,75	1,25	0,75%			0
4	3,5	1,5	0,7%			0
5	3,25	1,75	0,65%			0
6	3,0	2,0	0,6%			0
7	2,75	2,25	0,55%			0
8	2,5	2,5	0,5%			0-6%
9	2,25	2,75	0,45%			5-45%
10	2,0	3,0	0,4%			50-100
11	1,75	3,25	0,35%			90-100
12	1,5	3,5	0,3%			97-100
13	1,0	4,0	0,2%			98-100
14	0,5	4,5	0,1%		100%	100%

В 14 центрифужных пробирках приготовить ряд разведений из рабочего раствора хлорида натрия в соответствии с таблицей – 3. В каждую пробирку внести по 1 капилляру Сали гепаринизированной крови. Перемешать содержимое всех 14 пробирок, начиная с первой, и оставить стоять 30 минут при комнатной температуре. Центрифугировать содержимое пробирок в течение 5 минут при 2000 об/мин. Отколориметрировать надосадочные жидкости пробирок №№ 2-14 при условиях: светофильтр – зеленый (длина волны 500-560 нм); кювета 10 мм; против холостой пробы. Холостая проба - надосадочная жидкость в пробирке, содержащей 1% раствор NaCl (пробирка № 1). На следующий день повторить исследование с инкубированной кровью, так как при некоторых видах гемолитических анемий понижение осмотической резистентности эритроцитов выявляется только после инкубации.

Расчет.

Процент гемолиза рассчитывают для пробирок № 2-13 (пробирка № 1 – холостая проба, гемолиз в пробирке № 14 принимается за 100%). Расчет

ведут по формуле:

$$X = \frac{E_x \cdot 100}{E_{14}}, \text{ где}$$

X – процент гемолиза исследуемой пробы;

E_x – экстинция исследуемой пробы;

E_{14} – экстинция надосадочной жидкости в пробирке с 0,1% NaCl (пробирка № 14);

100 – процент гемолиза в пробирке № 14.

Нормальные величины. В свежей крови начало гемолиза отмечается при концентрации хлорида натрия 0,5-0,45%, а полный гемолиз – при 0,4-0,35%.

Клинико-диагностическое значение. Исследование осмотической резистентности эритроцитов проводят при подозрении на гемолитическую анемию. Понижение осмотической резистентности эритроцитов, то есть появление гемолиза при более высокой, чем в норме, концентрации хлорида натрия (0,7-0,75%) характерно для наследственного микросфероцитоза. Повышение осмотической резистентности эритроцитов наблюдается при талассемии и гемоглобинопатиях.

15 день производственной практики (11.04.2020)

Методический день. Заполнение дневника.

16 день производственной практики (13.04.2020)

В настоящее время для исследования крови в КДЛ широко используются различные гематологические анализаторы, что позволяет повысить производительность труда в лаборатории, увеличить точность результатов, получить дополнительные параметры, дающие новую диагностическую информацию. Но, вместе с тем, они не исключают традиционных методов микроскопического исследования крови.

Все многообразие гематологических приборов можно условно разделить на 3 класса:

Первый класс – полуавтоматические счетчики клеток крови, определяющие обычно от 4-х до 10 параметров (количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, расчетные эритроцитарные индексы). В анализаторах первого класса используется кондуктометрический метод, основанный на измерении разницы электропроводности клеток крови и разбавляющей жидкости.

Второй класс - автоматические анализаторы, проводящие анализ цельной крови и определяющие до 20 параметров. Они дополнительно определяют расчетные показатели тромбоцитов, строят гистограммы (графические изображения) распределения лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов по объему, а также проводят частичную дифференцировку лейкоцитов на гранулоциты, лимфоциты и «средние клетки», состоящие преимущественно из эозинофилов и базофилов.

Третий класс – высокотехнологичные гематологические анализаторы, позволяющие проводить развернутый анализ крови, включая полный подсчет лейкоцитарной формулы. В основе работы приборов этого класса лежит комбинация нескольких методов: кондуктометрического, лазерного, цитохимического и др.

Работа с гематологическими анализаторами требует предельной аккуратности и точности, строгого соблюдения требований соответствующих инструкций к прибору. Большинство ошибок при работе с гематологическими анализаторами связано с техническими погрешностями: низкое качество разводящих жидкостей, погрешности при заборе крови, грязная посуда, удлинение интервала времени между забором крови и подсчетом клеток и т.д. Однако существуют ошибки, связанные с особенностями патологических образцов крови.

Таблица 4 - Параметры, определяемые гематологическими анализаторами

Параметр		Нормальные величины
HGB	Концентрация гемоглобина	Ж: 140±20г/л М: 160±20 г/л
RBC	Количество эритроцитов	Ж: 4,8±0,6·10 ¹² /л М: 5,4±0,8·10 ¹² /л
HCT	Гематокрит	Ж: 42±5% М: 47±5%
MCV	Средний объем эритроцита	87 ±5 фл
MCH	Среднее содержание Нв в эритроците	29±2 пг

MCHC	Средняя концентрация Hb в эритроцитах	34±2 г/дл
RDW	Коэффициент анизотропии эритроцитов	11,5 – 14,5%
WBC	Количество лейкоцитов	4,0 – 9,0 · 10 ⁹ /л
GRAN	Количество гранулоцитов	
NEUT	Количество нейтрофилов	48-78% 2,04-5,8 · 10 ⁹ /л
EO	Количество эозинофилов	0,5-5% 0,02-0,30 · 10 ⁹ /л
BASO	Количество базофилов	0-1% 0-0,065 · 10 ⁹ /л
MONO	Количество моноцитов	3-11% 0,09-0,60 · 10 ⁹ /л
LYMPH	Количество лимфоцитов	19-37% 1,20-3,00 · 10 ⁹ /л
PLT	Количество тромбоцитов	180-320 · 10 ⁹ /л
PDW	Коэффициент анизотропии тромбоцитов	11,5-15,5%
MPV	Средний объем тромбоцита	8-12 фл

Концентрация гемоглобина (HGB) в большинстве гематологических анализаторов определяется гемиглобинцианидным методом. Некоторые особенности крови при заболеваниях могут привести к завышению результатов определения гемоглобина: лейкоцитоз более 30 · 10⁹/л, парапротеинемия, гипербилирубинемия, внутрисосудистый гемолиз эритроцитов и др.

Количество эритроцитов в единице объема крови (RBC) гематологическими анализаторами определяется кондуктометрическим методом. Ошибки при подсчете количества эритроцитов, связанные с особенностями исследуемой крови, могут привести как к занижению результатов (гемолиз и агглютинация эритроцитов, наличие большого количества микроцитов и шизоцитов), так и к завышению результатов исследования (наличие патологически крупных тромбоцитов или их агрегатов, высокого лимфоцитоза с преобладанием малых лимфоцитов).

Средний объем эритроцита (MCV). Величина MCV выражается в фемтолитрах (фл). $1 \text{ фл} = 1 \text{ мкм}^3$. Раньше для характеристики размеров эритроцитов крови проводили прямое измерение их диаметра с помощью окуляр-микрометра и затем строили график распределения эритроцитов по размерам (кривую Прайс-Джонса). Такое исследование является чрезвычайно трудоемким, требует измерения диаметра 500 эритроцитов с последующим расчетом процентного содержания эритроцитов определенного диаметра, но не позволяет точно характеризовать истинные размеры эритроцитов, так не учитывает формы клеток. В настоящее время точную характеристику объема эритроцитов получают на гематологических автоматах по величине MCV.

Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) отражает количество граммов гемоглобина в 100мл эритроцитов, то есть отношение веса к объему эритроцитов. Это наиболее стабильный показатель, так как максимально возможная загрузка эритроцитов гемоглобином составляет 36г/100мл. Показатель используется как индикатор ошибки при подготовке пробы или в процессе работы прибора. Увеличение его более 36 г/дл свидетельствует о технических погрешностях. Диагностического значения он

Коэффициент анизотропии эритроцитов (RDW) отражает различия в объеме эритроцитов, то есть степень анизоцитоза. Этот показатель дает количественную оценку разброса эритроцитов по объему. Нормальные величины коэффициента свидетельствуют о наличии в пробе крови однородной по объему популяции эритроцитов (нормо-, микро- или макроцитов). Увеличение коэффициента указывает на присутствие в крови разных по объему эритроцитов. В связи с этим коэффициент анизотропии следует оценивать только параллельно с анализом гистограммы эритроцитов и морфологическим исследованием мазка крови.

Эритроцитарная гистограмма – это графическое распределение эритроцитов по объему в результате анализа нескольких тысяч частиц

объемом от 40фл до 240фл. Эритроцитарные гистограммы четко показывают наличие микроцитов, макроцитов или смешанной популяции эритроцитов.

Количество тромбоцитов (PLT) в автоматических счетчиках определяется прямым кондуктометрическим методом. Просчитываются частицы объемом 2-30фл. При этом возможно занижение результатов из-за агрегации тромбоцитов, наличия макроформ тромбоцитов, прилипания тромбоцитов к лейкоцитам. Завышение количества тромбоцитов отмечается

Количество лейкоцитов (WBC) гематологическим анализатором может быть заниженным при наличии агглютинатов лейкоцитов и завышенным – при наличии патологических макроформ тромбоцитов, агрегатов тромбоцитов, парапротеинемии и др.

Большинство гематологических анализаторов дифференцирует лейкоциты в зависимости от их объема на два, три, пять и более видов лейкоцитов. Результаты исследования отражаются в лейкоцитарных гистограммах и в цифровом выражении относительного и абсолютного количества различных видов лейкоцитов. Точная дифференцировка лейкоцитов на отдельные популяции, выявление тонких морфологических изменений возможны только с помощью микроскопического исследования окрашенного мазка крови. Дифференцированный подсчет лейкоцитов гематологическим анализатором – это скрининг, при котором все патологические результаты подлежат последующему микроскопическому исследованию.

17 день производственной практики (14.04.2020)

Изучила методику определения группы крови системы АВ0 при помощи стандартных изогемагглютинирующих сывороток

Принцип. Выявляют агглютиногены эритроцитов с помощью реакции агглютинации со стандартными сыворотками, содержащими агглютенины. По наличию или отсутствию агглютиногенов в исследуемых эритроцитах судят о групповой принадлежности крови.

Реагенты.

1. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки 0(I), A(II) и B(III) групп двух разных серий каждой группы.
2. Стандартная изогемагглютинирующая сыворотка AB(IV) группы.
3. Изотонический раствор хлорида натрия - 0,9% раствор NaCl.

Специальное оснащение: белая пластинка со смачиваемой поверхностью, глазные пипетки, химические стаканчики, стеклянная палочка, вата, спирт, скарификаторы.

Подготовительная работа. Определение групп крови должно производиться при хорошем освещении и при температуре 15-25°C. Флаконы со стандартными сыворотками ставят в специальный штатив в следующем порядке: слева – стандартные сыворотки 0(I) группы (одна сзади другой), в середине – стандартные сыворотки A(II) группы и справа – стандартные сыворотки B(III) группы. Отдельно ставят стандартную сыворотку AB(IV) группы крови, употребляемую в качестве дополнительного контроля. В каждый флакон со стандартной сывороткой опускают сухую чистую глазную пипетку. Для промывания стеклянных палочек в химический стаканчик наливают воду. В стаканчик с изотоническим раствором опускают глазную пипетку.

Техника определения группы крови при помощи стандартных сывороток. На верхней части пластинки пишут фамилию и инициалы человека, у которого определяют группу крови. Делят стеклогором пластинку на 6 частей: по 3 в 2 ряда. В левом столбце сверху подписывают анти-A+B; в среднем столбце – анти-B; в правом столбце – анти-A. Под соответствующими обозначениями на пластинку с помощью глазной пипетки наносят по одной большой капле (0,1мл) изогемагглютинирующей сыворотки 1-3 групп двух разных серий – всего 6 капель. Каждую пипетку сразу же опускают в тот же флакон с сывороткой, из которого она была взята. Кровь для исследования берут из пальца. Помещают одну каплю крови в лунку предметного стекла или на нижнюю часть пластинки. Наносят чистой сухой стеклянной палочкой маленькие капли крови рядом с каждой

капель стандартной сыворотки. При этом капли крови должны быть примерно в 10 раз меньше капель сывороток. Перемешивают капли стандартных сывороток с находящимися рядом каплями крови стеклянной палочкой. После размешивания каждой капли стеклянную палочку промывают в стаканчике с водой и насухо вытирают ватой или фильтровальной бумагой. Замечают время. В течение 3 минут периодически покачивают пластинку. Через 3 минуты в те капли, где наступила агглютинация, добавляют по 1 капле изотонического раствора NaCl и периодически покачивают пластинку еще в течение 2 минут. Через 5 минут после перемешивания капель оценивают результаты реакции.

Тракровка результатов реакции. Реакция агглютинация в каждой капле может быть положительной или отрицательной. При положительной реакции, то есть при наличии агглютинации, в смеси появляются видимые на глаз красные зерна склеенных эритроцитов. Сыворотка при этом полностью или частично обесцвечивается. При отрицательной реакции, то есть отсутствии агглютинации, жидкость остается равномерно окрашенной в красный цвет. Результаты реакций в каплях с сывороткой одной и той же группы должны совпадать. Если агглютинация наступила во всех каплях, то есть исследуемая кровь относится к АВ(IV) группе, то для исключения неспецифической агглютинации дополнительно проводят контрольное исследование со стандартной сывороткой АВ(IV) группы. Для этого на пластинку наносят 1 большую каплю стандартной сыворотки АВ(IV) группы и рядом с ней – маленькую каплю исследуемой крови. Сыворотку и кровь перемешивают и наблюдают за ходом реакции в течение 5 минут, периодически покачивая пластинку. Отсутствие агглютинации в этой капле подтверждает АВ(IV) группу исследуемой крови. Появление агглютинации с сывороткой АВ(IV) группы говорит о неспецифическом характере наблюдающейся агглютинации.

Таблица 5 - Оценка результатов определения группы крови при помощи стандартных изогемагглютинирующих сывороток

Изогемагглютинирующие сыворотки			Группа исследуемой крови
Анти-А+В	Анти-В	Анти-А	
- -	- -	- -	0 (I)
+ +	- -	+ +	A (II)
+ +	+ +	- -	B (III)
+ +	+ + Контроль с сывороткой АВ(IV) -	+ +	AB (IV)

(-) – отсутствие агглютинации

(+) – наличие агглютинации.

Изучила метод определения группы крови системы АВ0 с помощью цоликлонов анти-А и анти-В

Принцип. Такой же, как при определении групп крови со стандартными сыворотками – то есть выявление агглютиногенов в исследуемых эритроцитах с помощью агглютининов, содержащихся в цоликлонах анти-А и анти-В.

Реагенты: цоликлон анти-А (розового цвета) и цоликлон анти-В (голубого цвета).

Цоликлоны анти-А и анти-В содержат моноклональные антитела анти-А и анти-В (иммуноглобулины класса М) и не содержат антитела иной специфичности. Цоликлоны представляют собой разведенную асцитную жидкость мышей – носителей гибридом анти-А и анти-В.

Техника определения. Определение групп крови должно производиться при хорошем освещении и при температуре 15-25°C. Определение может производиться в нативной крови с консервантом или в крови без консерванта, в том числе взятой из пальца. Размечают пластинку на 2 части. Левую часть пластинки подписывают «анти – А», правую – «анти – В». Наносят по одной большой (0,1мл) капле цоликлонов анти-А и анти-В под соответствующими обозначениями. Наносят по одной маленькой капле

крови (в 10 раз меньшей, чем капли реагентов) рядом с каждой каплей цоликлона. Перемешивают капли крови с реагентом стеклянной палочкой, промывая после перемешивания палочку в воде и вытирая её насухо. Замечают время. Периодически покачивая пластинку, ждут 3 минуты. Агглютинация эритроцитов с цоликлонами обычно наступает в первые 3-6 секунд, но оценку результатов реакции ведут через 3 минуты, чтобы не пропустить позднюю агглютинацию со слабыми разновидностями антигена А или В.

Трактовка результатов. Результат реакции может быть положительным или отрицательным. Положительный результат выражается в агглютинации эритроцитов, видной невооруженным глазом в виде мелких красных агрегатов, быстро сливающихся в крупные хлопья. При отрицательной реакции капля остается равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинаты не обнаруживаются.

Таблица 6 - Оценка результатов определения группы крови системы АВ0 при помощи цоликлонов анти-А и анти-В

Результаты реакции с цоликлонами		Группа исследуемой крови
анти-А	анти-В	
-	-	0 (I)
+	-	А (II)
-	+	В (III)
+	+	АВ(IV)

(-) – отсутствие агглютинации

(+) – наличие агглютинации.

Изучила метод определения группы крови системы АВ0 перекрестным методом

Принцип. Одновременное определение агглютиногенов эритроцитов исследуемой крови с помощью стандартных сывороток и агглютининов исследуемой сыворотки с помощью стандартных эритроцитов.

Реагенты.

1. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки 0(I) $\alpha\beta$, A(II) β и B(III) α групп двух разных серий каждой группы.
2. Стандартные эритроциты групп 0(I), A(II) и B(III).
3. Изотонический раствор хлорида натрия - 0,9% NaCl.

Специальное оснащение: белая пластинка со смачиваемой поверхностью, глазные пипетки, химические стаканчики, стеклянная палочка, вата, спирт, скарификаторы.

Подготовительная работа. Определение групп крови должно производиться при хорошем освещении и при температуре 15-25°C. Флаконы со стандартными сыворотками ставят в специальный штатив в следующем порядке: слева – стандартные сыворотки 0(I) группы (одна сзади другой), в середине – стандартные сыворотки A(II) группы и справа – стандартные сыворотки B(III) группы. В каждый флакон со стандартной сывороткой опускают сухую чистую глазную пипетку. В штатив устанавливают пробирки или флаконы со стандартными эритроцитами в следующем порядке: слева группы 0(I), в середине – группы A(II) и справа – группы B(III). Для промывания стеклянных палочек в химический стаканчик наливают воду. В стаканчик с изотоническим раствором NaCl опускают глазную пипетку.

Техника определения. Кровь для исследования берут из вены или пальца в сухую пробирку. Кровь центрифугируют или оставляют стоять на 20-30 минут для отделения сыворотки. Для лучшего отделения сыворотки следует через 3-5 минут отделить сверток от стенок пробирки, обведя его стеклянной палочкой. Делают на пластинке обозначения стеклоглафом в соответствии с таблицей. В верхней части пластинки у соответствующих обозначений наносят по одной большой капле (0,1мл) стандартных изогемагглютинирующих сывороток I-III групп двух разных серий. В нижней части пластинки у соответствующих обозначений наносят по одной маленькой капле (0,01мл) стандартных эритроцитов I-III групп крови. Из пробирки с исследуемой кровью осторожно, чтобы не взболтать эритроциты,

пипеткой отсасывают сыворотку и наносят её по одной большой капле (0,1мл) на капли стандартных эритроцитов. Со дна пробирки этой же пипеткой набирают эритроциты и наносят их по одной маленькой капле (0,01мл) рядом с каждой их 6 капель стандартных сывороток. Перемешивают стеклянной палочкой во всех 9 каплях сыворотку с эритроцитами. После перемешивания каждой капли палочку промывают в воде и насухо вытирают. Замечают время. В течение 3 минут периодически покачивают пластинку. Через 3 минуты в те капли, где наступила агглютинация, добавляют по 1 капле изотонического раствора NaCl и периодически покачивают пластинку еще в течение 2 минут. Через 5 минут после перемешивания капель оценивают результаты реакции.

Таблица 7- Оценка результатов определения групп крови перекрестным методом

Изогемагглютинирующие сыворотки		
анти А+В	анти-В	анти-А
-	-	-
-	-	-
Стандартные эритроциты		
0	А	В
-	+	+
Исследуемая кровь относится к 0(I) группе		

Изогемагглютинирующие сыворотки		
анти А+В	анти-В	анти-А
+	-	+
+	-	+
Стандартные эритроциты		
0	А	В
-	-	+
Исследуемая кровь относится к А(II) группе		

Изогемагглютинирующие сыворотки		
анти А+В	анти-В	анти-А
+	+	-
+	+	-
Стандартные эритроциты		
0	А	В
-	+	-
Исследуемая кровь относится к В(III) группе		

Изогемагглютинирующие сыворотки		
анти А+В	анти-В	анти-А
+	+	+
+	+	+
Стандартные эритроциты		
0	А	В
-	-	-
Исследуемая кровь относится к АВ(IV) группе		

Трактовка результатов. Реакция агглютинация в каждой капле может быть положительной или отрицательной. При положительной реакции, то есть при наличии агглютинации, в смеси появляются видимые на глаз красные зернышки склеенных эритроцитов. Сыворотка при этом полностью или частично обесцвечивается. При отрицательной реакции, то есть в отсутствии агглютинации, жидкость остается равномерно окрашенной в красный цвет.

Результаты реакций, полученных при помощи стандартных сывороток и стандартных эритроцитов, должны совпадать, то есть указывать на содержание агглютиногенов и агглютининов, соответствующих одной и той же группе крови.

18 день производственной практики (15.04.2020)

Изучила метод определения резус-принадлежности крови при помощи цоликлона анти-D супер (анти-D IgM моноклонального реагента)

Принцип. Антиген D исследуемых эритроцитов выявляют реакцией агглютинации в солевой среде с моноклональными антителами анти-D, содержащимися в цоликлоне анти-D супер.

Цоликлон анти-D супер изготовлен на основе культуральной жидкости клеточной гетерогридомы, полученной в результате слияния человеческой лимфобластоидной линии и миеломной клеточной линией мыши. Реагент содержит моноклональные полные антитела анти-D класса IgM и не содержит антител иной специфичности, поэтому может быть использован для выявления антигена D в эритроцитах любой группы крови.

Реагенты: цоликлон анти-D супер; стандартные Rh(+) и rh(-) эритроциты – для контроля специфичности реакции.

Техника исследования. Определение антигена D с помощью цоликлона анти-D супер можно производить в консервированной крови, в крови, взятой без консерванта, а также в крови из пальца.

На пластину со смачиваемой поверхностью наносят большую каплю (около 0,1мл) цоликлона анти-D супер, а рядом - маленькую каплю (0,01-

0,05мл) крови и смешивают кровь с реагентом стеклянной палочкой. Ждут 20-30 секунд, а затем периодически покачивают пластинку. Через 3 минуты оценивают результаты реакции.

Трактовка результатов. При наличии агглютинации кровь оценивается как резус-положительная, а при отсутствии агглютинации – как резус-отрицательная. Для контроля специфичности при каждом исследовании необходимо ставить реакцию со стандартными D-положительными и D-отрицательными эритроцитами. Результаты определения резус-принадлежности исследуемой крови учитывают как истинные только в том случае, если со стандартными резус-положительными эритроцитами реагент дал реакцию агглютинации, а со стандартными резус-отрицательными эритроцитами агглютинации нет.

Образцы крови, которые при исследовании цоликлоном анти-D супер дали отрицательный результат, необходимо дополнительно тестировать с помощью реагентов, содержащих неполные антитела IgG для выявления антигена D^u (поликлональной сывороткой или моноклональным анти-D реагентом).

ретикулоцитов																				
1определение г1ематокрита									1											1
определение длительности кровотечения										1										1
определение время свёртывания крови											1									1
определение количества тромбоцитов												1								1
определение осмотической стойкости эритроцитов													1							1
Определение групп крови															1					1
Определение резус принадлежности крови																1				1
определение гематологических показателей на гематологическом анализаторе																		1		1

ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ

Ф.И.О. обучающегося Саксоновой Валерии Игоревны

Группы 405 специальности «Лабораторной диагностики»

Проходившей производственную практику с 26.03 по 15.04 2020 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

№	Виды работ	Количество
1.	- изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ:	5
2.	- прием, маркировка, регистрация биоматериала. - получение плазмы и сыворотки из венозной крови.	
3.	- приготовление реактивов, - подготовка оборудования, посуды для исследования	
4.	<i>Определение гематологических показателей</i> -определение гемоглобина -определение СОЭ -определение количества лейкоцитов -определение количества эритроцитов -приготовление мазка крови -окрашивание мазков крови -подсчёт лейкоцитарной формулы - супровитальная окраска ретикулоцитов -подсчет ретикулоцитов в мазке крови -определение гематокрита -определение длительности кровотечения - определение время свёртывания крови -определение количества тромбоцитов -определение осмотической стойкости эритроцитов - определение групп крови - определение резус принадлежности крови -определение гематологических показателей на гематологическом анализаторе	18
5	- Регистрация результатов исследования.	
6	- проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; - утилизация отработанного материала.	

3. ТЕКСТОВОЙ ОТЧЕТ

1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики:

2. Самостоятельная работа:

Теоретически изучила гематологические методы исследований и методики окрасок.

3. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей:

В полном объёме.

4. Замечания и предложения по прохождению практики:

Не имеются.

Общий руководитель практики _____

(подпись)

(ФИО)

М.П.организации

ХАРАКТЕРИСТИКА
Саксоновой Валерии Игоревны
ФИО

обучающаяся на 4 курсе по специальности СПО

31.02.03. Лабораторная диагностика

успешно прошла производственную практику по профессиональному модулю: **Проведение лабораторных гематологических исследований**
наименование профессионального модуля

в объеме 108 часов с «26» марта 2020 г. по «15» апреля 2020 г.

в организации

КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Партизана Железняка, За
наименование организации, юридический адрес

За время прохождения практики:

№ ОК/ПК	Критерии оценки	Оценка (да/нет)
ПК2.1, ОК13	В процессе подготовки к исследованию правильно выбирает и готовит посуду, реактивы и приборы в соответствии с методикой	
ПК2.2	Правильно проводит забор капиллярной крови.	
ПК 2.3 ОК 2	Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.	
ПК2.4, ОК 11	Соблюдает форму заполнения учетно-отчетной документации (журнал, бланки).	
ПК 2.5	Проводит мероприятия по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. Утилизирует отработанный материал в соответствии с инструкциями и СанПин.	
ОК 1	Демонстрирует интерес к профессии. Внешний вид опрятный, аккуратный.	
ОК 6	Относится к медицинскому персоналу и пациентам уважительно, отзывчиво, внимательно. Отношение к окружающим бесконфликтное.	
ОК 7	Проявляет самостоятельность в работе, целеустремленность, организаторские способности.	
ОК 9	Способен освоить новое оборудование или методику (при ее замене).	
ОК 10	Демонстрирует толерантное отношение к представителям иных культур, народов, религий.	
ОК 12	Способен оказать первую медицинскую помощь при неотложных ситуациях	
ОК14	Соблюдает санитарно-гигиенический режим, правила ОТ и противопожарной безопасности. Отсутствие вредных привычек. Участвует в мероприятиях по профилактике профессиональных заболеваний	

« ____ » _____ 20__ г.

Подпись непосредственного руководителя практики

_____ /ФИО, должность

Подпись общего руководителя практики

_____ /ФИО, должность

М.П.