

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

Фармацевтический колледж

**Теория и практика лабораторных  
гематологических  
исследований**

сборник методических указаний  
для обучающихся к практическим занятиям  
по специальности 31.02.03– Лабораторная диагностика  
(базовой подготовки)

Красноярск  
2016

УДК 616-074:616.15(07)

ББК 53.45

Т 33

Теория и практика лабораторных гематологических исследований : сб. метод. указаний для обучающихся к практ. занятиям по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика (базовой подготовки) / сост. М. Ф. Воронова ; Фармацевтический колледж. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2016. – 117 с.

**Составитель:** Воронова М.Ф.

Сборник методических указаний к практическим занятиям предназначен для аудиторной работы обучающихся. Составлен в соответствии с ФГОС СПО (2014 г.) по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика, рабочей программой дисциплины (2015 г.) и СТО СМК 4.2.01-11. Выпуск 3.

Рекомендован к изданию по решению методического совета Фармацевтического колледжа (Протокол № 4 от «12» декабря 2016).

© ФГБОУ ВО КрасГМУ  
им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого  
Минздрава России, Фармацев-  
тический колледж, 2016

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1 ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С КРОВЬЮ.....	5
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ ГЕМИГЛОБИНЦИАНИДНЫМ МЕТОДОМ.....	14
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ (СОЭ).....	17
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА И СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ.....	20
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5 ПОДСЧЁТ КОЛИЧЕСТВА ЛЕЙКОЦИТОВ В СЧЁТНОЙ КАМЕРЕ ГОРЯЕВА.....	23
К ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 6 ПОДСЧЁТ КОЛИЧЕСТВА ЭРИТРОЦИТОВ В СЧЁТНОЙ КАМЕРЕ ГОРЯЕВА.....	27
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 7 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ. ....	31
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦВЕТОВОГО ПОКАЗАТЕЛЯ КРОВИ (ЦПК) И СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В 1 ЭРИТРОЦИТЕ (СГЭ).....	35
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9 МОРФОЛОГИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ЛЕЙКОЦИТОВ. ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА В НОРМЕ.....	38
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 10 ТЕХНИКА ПОДСЧЁТА ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ.....	40
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 11 ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ОКРАСКА МАЗКОВ КРОВИ.....	44
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12 ТИТРОВАНИЕ КРАСКИ РОМАНОВСКОГО...50	
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 13 ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ АНОМАЛИИ ЛЕЙКОЦИТОВ.....	53
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 14 ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА ПРИ ПАТОЛОГИИ.....	57
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 15 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ.....	60
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 16 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ. ПОВТОРЕНИЕ ТЕМЫ «ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА».....	64

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 17	ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ « ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ».....	67
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 18	САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ, ПОДСЧЁТ ЦПК И СГЭ.....	68
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 19	ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПО ДУКЕ И ВРЕМЕНИ СВЁРТЫВАНИЯ КАПИЛЛЯРНОЙ КРОВИ.....	70
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 20	ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ТРОМБОЦИТОВ В КРОВИ ПО ФОНИО.....	73
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 21	ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АНЕМИЙ. ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ АНЕМИЯХ.....	77
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 22	ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМАТОКРИТА. КАРТИНА КРОВИ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ, ПОСТГЕМОРАГИЧЕСКИХ АНЕМИЯХ. .80	
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 23	ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА РЕТИКУЛОЦИТОВ. КАРТИНА КРОВИ ПРИ В-12 ДЕФИЦИТНЫХ АНЕМИЯХ, ГИПО-И АПЛАСТИЧЕСКИХ АНЕМИЯ. ....	84
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 24	ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ. КАРТИНА КРОВИ ПРИ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ АНЕМИЯХ.....	88
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 25	ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ. ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗАХ. ....	93
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 26	МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	100
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 27	ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	102
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 28	САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ.....	105
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 29	АВТОМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА КЛЕТОК КРОВИ (УРОК-ЭКСКУРСИЯ).....	106
ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 30	АТТЕСТАЦИЯ ПО ТЕМЕ «ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ».....	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		116

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1 ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С КРОВЬЮ.**

### **Значение темы**

Анализ крови является одним из самых распространенных лабораторных исследований. Наиболее широко применяется общий клинический анализ крови, который включает в себя:

- 1) определение концентрации гемоглобина в 1л крови;
- 2) подсчет количества лейкоцитов в 1л крови;
- 3) подсчет числа эритроцитов в 1л крови;
- 4) подсчет лейкоцитарной формулы;
- 5) определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ);
- 6) расчет цветового показателя крови (ЦПК).

Общий анализ крови проводится всем стационарным больным и по показаниям – амбулаторным. Очень распространен укороченный анализ крови, так называемая «тройка» – определение количества лейкоцитов, гемоглобина и СОЭ. Он проводится всем амбулаторным больным и при диспансеризации. В особо экстренных случаях исследуют только один показатель

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

#### **знать:**

- диагностическое значение исследования крови;
- состав и функции крови, правила санитарно-эпидемического режима и техники безопасности при работе с кровью;

#### **уметь:**

- подготовить рабочее место для забора крови из пальца,
- провести прокол кожи, дезинфекцию обработанного материала.

#### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях и нести за них ответственность.

ОК.5 Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

Ок 7. Ставить цели, мотивировать деятельность подчиненных, организовывать и контролировать их работу с принятием на себя ответственности за результат выполнения заданий.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

## **1. Контроль исходного уровня знаний:**

1. Назовите группы функций крови

- транспортная функция крови
- дыхательная
- питательная
- экскреторная
- регуляторная
- защитная функция;

-клеточный и гуморальный иммунитет

-гемокоагуляция

-терморегуляторная функция

-гомеостатическая функция крови

2. основные компонента крови

3. состав плазмы крови

- органические компоненты
- неорганические компоненты

4. классификация форменных элементов крови

- 5.показатели, входящие в общий анализ крови
- 6.укороченный анализ крови
- 7.основные функции гемоглобина
- 8.строение гемоглобина
- 9.содержание гемоглобина в норме
- 10.причины уменьшения содержания гемоглобина
- 11.причины увеличения содержания гемоглобина
- 12.типы гемоглобина
- 13.физиологические соединения гемоглобина
- 14.патологические соединения гемоглобина
- 15.методы определения содержания гемоглобина в крови
- 16.общие правила безопасной работы с биологическим материалом в КДЛ  
дезинфекция
- 17.предстерилизационная обработка
- 18.контроль предстерилизационной обработки
- 19.стерилизация
- 20.контроль стерилизации

## **2. Содержание темы:**

### **ВЗЯТИЕ КРОВИ ИЗ ПАЛЬЦА**

При работе с кровью необходимо руководствоваться документами:

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».

Так как с кровью могут передаваться ВИЧ и вирусные гепатиты, медицинские работники должны относиться к крови и другим биологическим жидкостям как к потенциально зараженным и соблюдать следующие правила при работе с ними:

- надевать резиновые перчатки при любом соприкосновении с кровью и другими биологическими жидкостями
- повреждения на коже рук дополнительно под перчатками закрывать напальчниками или лейкопластырем
- резиновые перчатки надевать поверх рукавов медицинского халата

- после каждого снятия перчаток - тщательно мыть руки
- не допускать насасывания крови или сыворотки ртом! Пользоваться для этого резиновыми грушами или автоматическими пипетками
- исключить из обращения пробирки с битыми краями
- поверхности столов в конце рабочего дня обеззараживать протиранием 3% раствором хлорамина или другим дез. средством. В случае загрязнения кровью - немедленно двукратно с интервалом в 15 минут протереть дез.раствором
- При попадании крови на незащищенную кожу - немедленно обработать кожу 70% спиртом, вымыть руки дважды с мылом под проточной водой, повторно обработать 70% спиртом
- При попадании крови в глаза - промыть струей воды и закапать 1% раствор борной кислоты или промыть 0,05% раствором марганцево-кислого калия
- При попадании крови в рот - прополоскать водой, а затем 1% раствором борной кислоты или 0,05% раствором марганцево-кислого калия или 70% спиртом
- При загрязнении кровью перчаток их протирают 3% хлорамином или 6% перекисью водорода
- Не принимать пищу, не курить, не пользоваться косметикой на рабочем месте,
- Кровь для проведения общего клинического анализа обычно берут из пальца, а у новорожденных - из пятки. Взятие крови рекомендуется проводить утром натощак или после легкого завтрака, до физической нагрузки, лечебных и диагностических процедур.
- Взятие крови из пальца проводится за столом, покрытым стеклом или пластиком. На рабочем месте лаборанта должно быть удобно расположено все необходимое для забора крови :
  - 70% спирт
  - стерильные ватные шарики
  - стерильные капилляры Панченкова, капилляры Сали, резиновые груши
  - стерильные (лучше одноразовые) скарификаторы
  - предметные и шлифованные стекла
  - штатив с пробирками, в которые предварительно разлиты реактивы для определения гемоглобина, количества эритроцитов, лейкоцитов, СОЭ
  - штатив Панченкова
  - емкости с дезинфицирующим раствором для сброса использованных скарификаторов, капилляров, ватных шариков, предметных стекол и т.д.

## ТЕХНИКА ПРОКОЛА КОЖИ



Обычно кровь берут из 4 пальца левой руки. Если это невозможно - из любого другого пальца или мочки уха.

Участок кожи, предназначенный для взятия крови, дезинфицируют и обезжиривают 70% спиртом. После обработки спиртом кожа должна высохнуть, иначе кровь будет растекаться.

Левой рукой лаборант сдавливает мякоть 4 пальца обследуемого. Иглу-скарификатор следует ставить строго перпендикулярно месту прокола, чтобы разрез пришелся поперек кожных линий. Это способствует большему зиянию ранки и более длительному кровотечению. Укол лучше проводить сбоку от средней линии, где более густая капиллярная сеть. Не следует делать прокол у самого ногтя, так как кровь тогда будет затекать под ноготь.

Делают укол скарификатором до упора. Первую выступившую каплю крови, содержащую примесь тканевой жидкости, для анализа не используют, а удаляют сухим ватным шариком.

Производят забор крови одним из нижеописанных способов.

### СПОСОБЫ ВЗЯТИЯ КРОВИ

После прокола кожи несколько капель (не менее 3-4) спускают на предметное стекло, перемешивают и используют для работы.

Кровь с поверхности пальца после приготовления мазков набирается индивидуальным стерильным капилляром и вносится в 5% цитрат натрия, для определения СОЭ, 1/4 капилляра - на предметное стекло для определения количества гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов)

Капилляром Панченкова набирают 5% цитрат натрия до метки «Р» (50 делений) в пробирку. Этим же капилляром берут два капилляра крови до метки «К» и вносят в пробирку с цитратом. Хорошо перемешивают. Этим же капилляром набирают цитратную кровь для определения СОЭ. Оставшуюся в пробирке кровь используют для исследования количества гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов. Поправка на разведение крови цитратом (4:1) вносится умножением полученных результатов на 1,25.

Мазки крови для подсчета лейкоформулы делают из цельной крови, выступающей после снятия первой капли.

После прокола кожи пальца 6-8 капель крови спускают в пластиковую пробирку с небольшим количеством трилона Б либо в специальные пластиковые пробирки одноразового пользования, обработанные ЭДТА.

На одного пациента при заборе крови из пальца расходуется 5 стерильных ватных шариков:

1. ватный шарик со спиртом для протирания перчаток лаборанта
2. ватный шарик со спиртом для протирания кожи пациента

3. сухой ватный шарик для снятия первой капли крови
4. ватный шарик со спиртом для прикладывания к ранке после окончания забора крови
5. ватный шарик со спиртом для протирания перчаток лаборанта после взятия крови.

## ОБРАБОТКА МЕДИЦИНСКОГО ИНСТРУМЕНТАРИЯ МНОГОКРАТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПОСЛЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Вся лабораторная посуда, соприкасавшаяся с кровью или другими биологическими жидкостями (пробирки, пипетки, предметные стекла, капилляры и т.д.) после работы должны быть подвергнуты специальной обработке, предусматривающей несколько этапов:

### **1 этап - дезинфекция**

1.1. Инструментарий, массивно загрязненный кровью, погружают в емкость

с 2% раствором синтетического моющего средства (СМС). Внутренние каналы капилляров промывают раствором СМС до исчезновения видимой крови. Затем пинцетом капилляры перекалывают в емкость с дез. раствором (см. п. 1.2).

Промывные воды с остатками крови засыпают сухой хлорной известью или сухим нейтральным гипохлоритом кальция (на 1л промывных вод - 200г сухой хлорной извести или 100г гипохлорита кальция) на 1 час, после чего выливаются в канализацию

1.2. Инструментарий без видимых загрязнений кровью подвергается

дезинфекции сразу после использования одним из способов:

- кипячением в дистиллированной воде 30 минут
- кипячением в 2% растворе пищевой соды 15 минут
- погружением на 60 минут в 3% раствор хлорамина
- погружением на 60 минут в 6% раствор перекиси водорода
- погружением на 60 минут в 6% раствора перекиси водорода + 0,5% СМС
- погружением на 60 минут в 4% раствор формалина
- погружением на 60 минут в 1% раствор хлорцина
- погружением на 60 минут в 2,5% раствор глутарового альдегида
- погружением на 30 минут в 2% раствор препарата «Виркон»
- погружением на 15 минут в рабочий раствор препарата Сайдекс

1.3. При замачивании следят за тем, чтобы все инструменты были полностью

погружены в дез. раствор и чтобы внутренние каналы были заполнены им.

Все дез. растворы (кроме Виркона и Сайдекс) для дезинфекции используются однократно.

1.4. После проведенной дезинфекции инструментарий тщательно прополаскивается под проточной водой до исчезновения запаха дезинфектанта и подвергается предстерилизационной обработке на рабочем месте или в ЦСО (централизованном стерилизационном отделении)

**2 этап - предстерилизационная обработка** - обязательный этап обработки инструментария многократного применения, проводится для удаления белковых и жировых загрязнений, химических реактивов, обеспечивает эффективность последующей стерилизации.

Инструментарий замачивают на 15 минут в горячем (50 градусов) моющем растворе (0,5% раствор перекиси водорода +0,5% СМС) или в 3% растворе питьевой соды.

Через 15 минут инструментарий тщательно моют в том же растворе ершом или ватно-марлевым тампоном (каждое изделие не менее 0,5 минуты)

После очистки в моющем растворе инструменты прополаскивают в проточной воде при полном погружении 10 минут, а затем в дистиллированной воде (каждое изделие не менее 0,5 минуты)

Сушат изделия до полного исчезновения влаги на открытом воздухе или в сухожаровом шкафу при температуре 85 градусов.

2.5. Проверка качества предстерилизационной очистки инструментов проводится путем постановки проб на наличие остатков крови (амидопириновая или азопирамовая проба) и полноту отмыва изделий от СМС (фенолфталеиновая проба). Ежедневному контролю подлежит 1% от каждого вида изделий, обработанных за сутки, но не менее 3-5 единиц. При положительной азопирамовой или амидопириновой пробе изделия подлежат повторной предстерилизационной обработке, при положительной фенолфталеиновой пробе - повторной отмывке водопроводной и дистиллированной водой.

**3 этап - стерилизация** - обеспечивает гибель на стерилизуемых изделиях всех видов микроорганизмов и вирусов. Стерилизации должны подвергаться все изделия медицинского назначения, соприкасающиеся с раневой поверхностью.

Стерилизация проводится тремя методами: воздушным, паровым и химическим.

3.1. Воздушный метод применяется для стерилизации изделий из стекла и металла. Метод не пригоден для изделий из текстиля (вата, перевязочный материал) из-за опасности самовозгорания. Стерилизация воздушным методом осуществляется при следующих режимах:

- при 180°C- 60 минут
- при 160°C- 150 минут.

3.2. Паровым методом стерилизуют в автоклавах изделия из стекла, металла, резины, перевязочный материал. Режимы стерилизации паровым методом:

падающий режим для изделий из резины - при 120°C - 1,1 атм. - 45 минут  
для изделий из стекла, металла, текстиля - при 132°C - 2 атм. - 20 минут.

При каждой загрузке сухожарового шкафа и автоклава осуществляется оперативный контроль физическими средствами (максимальные термометры, манометры) и химическими тестами - это вещества, имеющие определенную температуру плавления (левомицетин - 160°, тиомочевина - 180°, мочевины - 132°, манноза - 120° и т.д.). Когда в стерилизационной камере достигается соответствующая температура, химическое соединение расплавляется. Для контроля за стерилизацией используют также термовременные индикаторы «Винар» (Винар-120, 132, 160, 180), которые позволяют контролировать одновременно температуру и режим стерилизации. При соблюдении режима стерилизации термовременной индикатор меняет свой цвет до цвета эталона. При нерасплавленном химическом тесте или цвете индикатора «Винар» светлее эталона стерилизацию повторяют.

3.3. Химическая (холодная) стерилизация рекомендуется для изделий из полимерных материалов, не выдерживающих тепловой обработки. Для стерилизации химическим методом используют 6% раствор перекиси водорода, дезоксон-1, Сайдекс и др.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ МЕТОДОМ САЛИ

**Принцип:** Гемоглобин крови под влиянием соляной кислоты превращается в солянокислый гематин бурого цвета, интенсивность окраски которого сравнивают со стандартом.

**Реактивы:**

- 0,1N раствор соляной кислоты
- дистиллированная вода

**Оборудование:** гемометр Сали, глазная пипетка, стеклянная палочка

**Ход определения.**

В градуированную пробирку гемометра Сали наливают 0,1N раствор соляной кислоты до нижней круговой метки.

Капилляром Сали набирают кровь чуть больше метки (0,02мл). Вытирают кончик капилляра сухим ватным шариком, одновременно доводя уровень крови точно до метки.

Опускают кончик капилляра на дно градуированной пробирки гемометра Сали с раствором соляной кислоты. Осторожно, без пузырей выдувают кровь в раствор. Приподняв немного капилляр, промывают его 2-3 раза прозрачным раствором соляной кислоты.

Извлекают капилляр из пробирки, предварительно выдув на ее стенку остаток жидкости.

Встряхивают смесь крови с соляной кислотой и оставляют стоять точно на 5 минут.

Через 5 минут в градуированную пробирку вносят глазной пипеткой воду, каждый раз тщательно перемешивая жидкость стеклянной палочкой. Разведение продолжают до полного совпадения цвета жидкости в градуированной пробирке со стандартным раствором.

Снимают показания, держа пробирку на уровне глаз. Стеклянная палочка при этом должна быть вытащена. Полученная цифра указывает концентрацию гемоглобина в процентах. Чтобы выразить его содержание в единицах СИ, то есть в г/л, нужно количество гемоглобина в процентах умножить на 10.

#### **Источники ошибок при определении гемоглобина по Сали**

1. Главная ошибка метода - гематиновая зависит от характера и количества белков крови, которые могут исказить цвет солянокислого гематина. Гематиновая ошибка не зависит от работы лаборанта.
2. Неточное соблюдение 5-ти минутной экспозиции
3. Выцветание стандартных растворов (на свету). Гемометр следует хранить в темном месте в закрытой коробке.
4. Неточное приготовление 0,1N раствора соляной кислоты
5. Использование старых гемометров. Разрешается пользоваться только ГС-3 и ГС-4.

Суммарная ошибка метода Сали может достигать 30%, поэтому этот метод не является унифицированным. Им можно пользоваться только в качестве ориентировочного.

### **3. Самостоятельная работа студентов:**

1. оборудовать рабочее место для исследования
2. провести забор крови в соответствии с методикой
3. провести определение содержания гемоглобина в крови методом Сали
4. оформить результат исследования в виде таблицы

дата	ФИО обследуемого	Гемоглобин

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5. Подведение итогов.**

#### **6.Домашнее задание: лекция № 1**

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ ГЕМИГЛОБИНЦИАНИДНЫМ МЕТОДОМ**

### **Значение темы:**

Общий анализ крови проводится всем стационарным больным и по показаниям – амбулаторным. Очень распространен укороченный анализ крови, так называемая «тройка» – определение количества лейкоцитов, гемоглобина и СОЭ. Он проводится всем амбулаторным больным и при диспансеризации. В особо экстренных случаях исследуют только один показатель.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение гемоглобина крови;
- строение и функции гемоглобина,
- содержание гемоглобина в крови в норме и при патологии,
- методика определения гемоглобина крови методом Сали;
- методика определения гемоглобина гемиглобинцианидным методом

### **уметь:**

- проводить определение содержания гемоглобина крови по Сали и гемиглобинцианидным методом.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. диагностическое значение гемоглобина крови
2. содержание гемоглобина в норме
3. методы определения количества гемоглобина в крови
4. принцип гемиглобинцианидного метода
5. реактивы
6. ход работы
7. источники ошибок

### **2. Содержание темы:**

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ 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:

- ацетонциангидрин – 0,5 мг;
- калий железосинеродистый – 0,2 г;
- натрия гидрокарбонат – 1,0 г;
- дистиллированная вода - до 1 л.

Раствор стабилен при комнатной температуре в течение нескольких месяцев при хранении в посуде из темного стекла. При обесцвечивании и появлении осадка непригоден.

- Калибровочный раствор гемиглобинцианида – для построения калибровочного графика (при использовании ФЭКа).

В настоящее время для определения гемоглобина крови в большинстве клиничко-диагностических лабораторий пользуются готовыми наборами реактивов, выпускаемыми рядом фирм.

**Специальное оборудование:** ФЭК или МИНИГЕМ-540

**Ход определения.**

В пробирку с помощью градуированной пипетки или автоматического дозатора наливают точно 5мл трансформирующего раствора.

В трансформирующий раствор вносят 0,02мл (капилляр Сали) крови.

Промывают капилляр 2-3 раза трансформирующим раствором.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки. При этом получается разведение крови в 251 раз.

Оставляют стоять на 20 минут.

Колориметрируют на МИНИГЕМе-540 или на ФЭКе при условиях:

- светофильтр зеленый (длина волны 520-560 нм);
- кювета 10мм;
- против трансформирующего раствора.

При использовании ФЭКа содержание гемоглобина определяют по калибровочному графику.

**3.Самостоятельная работа студентов:**

1. законспектировать методику
2. оборудовать рабочее место для исследования
3. провести определение содержания гемоглобина в крови методом Сали и гемиглобинцианидным методом
4. оформить результат исследования в виде таблицы

дата	ФИО обследуемого	гемоглобин
		По Сали – На ФЭКе -

5.оценить полученные результаты

**4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.



## 5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание: лекция № 2

### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ (СОЭ)

#### Значение темы:

Плазма и форменные элементы крови имеют разный удельный вес, поэтому при отстаивании в присутствии антикоагулянтов кровь разделяется на слои. Эритроциты как наиболее тяжелые клетки оседают на дно; над ними располагается очень тонкий, почти не заметный слой лейкоцитов и тромбоцитов, а еще выше – прозрачная плазма, по высоте отстаивания которой и судят о величине скорости оседания эритроцитов - СОЭ.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

#### знать:

- диагностическое значение СОЭ;
- факторы, влияющие на величину СОЭ;

#### уметь:

- проводить определение СОЭ.

#### овладеть ОК и ПК

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Что такое СОЭ?
2. Основной фактор, влияющий на величину СОЭ
3. Влияние крупнодисперсных белков на СОЭ
4. Влияние на СОЭ альбуминов
5. Влияние физико-химических свойств эритроцитов на СОЭ
6. Влияние количества эритроцитов на СОЭ
7. Влияние желчных пигментов и рН на СОЭ
8. СОЭ у мужчин и женщин в норме
9. Методы определения гемоглобина кров
10. Унифицированный гемиглобинцианидный метод определения гемоглобина:
11. принцип
12. реактивы
13. ход определения
14. расчет

### **2.Содержание темы:**

#### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОЭ УНИФИЦИРОВАННЫМ МИКРОМЕТОДОМ ПАНЧЕНКОВА**

**Принцип:** Смесь крови с цитратом при стоянии разделяется на два слоя: нижний - эритроциты, верхний - плазма.

**Реактивы:** - 5% раствор цитрата натрия (натрия лимоннокислого трехзамещенного)

**Специальное оборудование:** штатив Панченкова, капилляры Панченкова

**Ход определения.**

Капилляр Панченкова промывают раствором цитрата натрия и набирают цитрат в капилляр до метки 75 (1/4 часть капилляра Панченкова,

или 25 делений капилляра). Выдувают цитрат натрия в агглютинационную пробирку или в лунку предметного стекла.

Прокалывают палец и набирают кровь в тот же капилляр Панченкова без пузырьков воздуха до метки «0» («К»). Выдувают кровь в пробирку или лунку предметного стекла с цитратом.

Перемешивают кровь с цитратом. При этом получается соотношение крови и цитрата 4:1.

Набирают смесь крови с цитратом в тот же капилляр Панченкова до метки «0» без пузырьков воздуха и ставят в штатив Панченкова строго вертикально на 1 час.

Точно через 1 час отмечают скорость оседания эритроцитов по высоте отстоявшегося слоя плазмы в миллиметрах.

#### **Источники ошибок при определении СОЭ:**

1. Несоблюдение соотношения крови с цитратом
2. Недостаточное перемешивание крови и цитрата, вследствие чего кровь может свернуться
3. Косое положение капилляра
4. Температурные условия: при температуре выше 22°C СОЭ увеличивается, при температуре ниже 16°C - замедляется.

#### **3.Самостоятельная работа студентов:**

1. оборудовать рабочее место для исследования
2. провести забор крови в соответствии с методикой
3. провести определение СОЭ
4. оформить результат исследования в виде таблицы

дата	ФИО обследуемого	СОЭ
		Время

5. оценить полученные результаты

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5.Подведение итогов.**

#### **6.Домашнее задание: лекция № 3**

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 4 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА И СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ**

### **Значение темы:**

Общий анализ крови проводится всем стационарным больным и по показаниям – амбулаторным. Очень распространен укороченный анализ крови, так называемая «тройка» – определение количества лейкоцитов, гемоглобина и СОЭ. Он проводится всем амбулаторным больным и при диспансеризации. В особо экстренных случаях исследуют только один показатель.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение СОЭ
- содержания гемоглобина в крови,
- схема кроветворения;
- СОЭ и содержание гемоглобина в крови в норме и при патологии,
- методики определения СОЭ и содержания гемоглобина в крови;

### **уметь:**

- проводить определение содержания гемоглобина и СОЭ.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях и нести за них ответственность.

ОК 4. Осуществлять поиск и использование информации, необходимой для эффективного выполнения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 7. Ставить цели, мотивировать деятельность подчиненных, организовывать и контролировать их работу с принятием на себя ответственности за результат выполнения заданий.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

## **2.Содержание темы:**

### **АЛГОРИТМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОЭ И СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА**

Подготовка рабочего места для исследования:

На двоих студентов для забора крови должны быть подготовлены

Реактивы:

- спирт 70%;
- 5% раствор цитрата натрия;
- трансформирующий раствор.

**Оборудование:** вата, стерильные скарификаторы, стерильные капилляры Панченкова, капилляры Сали, предметные стекла с лункой, штатив с пробирками, штатив Панченкова, градуированные пипетки, резиновые груши, емкости с дезраствором для использованной ваты, капилляров, скарификаторов.

### **Подготовительная работа**

Промывают капилляр Панченкова 5% раствором цитрата натрия; набирают цитрат натрия в капилляр Панченкова до метки «75» и выдувают его в лунку предметного стекла (или в пробирку);

5мл трансформирующего раствора наливают в пробирку.

1. Делают прокол кожи.

После удаления первой капли набирают кровь в капилляр Панченкова выше

метки «0» («К») – почти полный капилляр.

Спускают кровь из капилляра Панченкова до метки О «К» на предметное стекло – она будет использована для определения содержания гемоглобина.

Остальную кровь из капилляра Панченкова (100 делений) спускают в цитрат натрия и тщательно перемешивают кровь с цитратом.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в трансформирующий раствор. 2-3 раза промывают капилляр Сали трансформирующим раствором. Тщательно перемешивают содержимое пробирки и замечают время – 20 минут.

2. Набирают смесь крови с цитратом в капилляр Панченкова без пузырьков воздуха до метки «0» и ставят капилляр в штатив Панченкова на 1 час.

3. Проведение исследований

Через 20 минут колориметрируют смесь крови с трансформирующим раствором на ФЭКе или МИНИГЕМе.

При использовании ФЭКа концентрацию гемоглобина определяют по калибровочному графику. Через 1 час снимают показания СОЭ.

### **3. Самостоятельная работа студентов:**

1. Законспектировать алгоритм определения СОЭ и гемоглобина.
2. Оборудовать рабочее место для исследования.
3. Провести определение СОЭ и концентрации гемоглобина.
4. Оформить результаты исследования в виде таблицы:

дата	ФИО обследуемого	Гемоглобин, г/л	СОЭ, мм/час
			Время постановки

5. Оценить результаты исследования.

### **4. Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

### **5. Подведение итогов.**

### **6. Домашнее задание: лекция № 4**

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 5 ПОДСЧЁТ КОЛИЧЕСТВА ЛЕЙКОЦИТОВ В СЧЁТНОЙ КАМЕРЕ ГОРЯЕВА**

### **Значение темы:**

Исследование лейкоцитов – одно из самых распространенных в лабораторной практике. Подсчет количества лейкоцитов входит в общий анализ крови, проводится всем стационарным и амбулаторным больным и при диспансеризации.

Лейкоциты являются высокоорганизованными клетками, которые выполняют защитные функции благодаря фагоцитарной активности, участию в клеточном и гуморальном иммунитете, обмене гистамина и гепарина

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать:**

- диагностическое значение количества лейкоцитов в крови;
- количество лейкоцитов крови в норме и при патологии,
- причины и виды лейкоцитозов и лейкопений;

### **уметь:**

- проводить подсчет количества лейкоцитов в счетной камере.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Содержание лейкоцитов в крови в норме
2. Виды лейкоцитозов
3. Причины перераспределительных лейкоцитозов
4. Причины реактивных лейкоцитозов
5. Причины стойких лейкоцитозов
6. Виды лейкопений
7. Причины функциональных лейкопений
8. Причины органических лейкопений

### **2.Содержание темы:**

#### **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 несколькими каплями раствора метиленового синего для окраски ядер лейкоцитов. Раствор голубого цвета, длительно годен к употреблению.

**Специальное оборудование:** микроскоп, счетная камера Горяева.

##### **Ход определения.**

В агглютинационную пробирку с 0,4мл 3-5% раствора уксусной кислоты вносят 0,02мл (капилляр Сали) крови, 2-3 раза промывают капилляр раствором кислоты. Перемешивают содержимое пробирки. При этом получается разведение крови в 20 раз.

Оставляют до момента счета, но не более 2-4 часов после взятия крови.

Подготавливают и заполняют смесью крови с уксусной кислотой камеру Горяева, предварительно тщательно еще раз перемешав ее.

Оставляют заполненную счетную камеру в горизонтальном положении на 1-2 минуты для оседания лейкоцитов.

Подсчитывают лейкоциты в 100 больших (не разделенных на малые квадраты и полосы) квадратах камеры Горяева при условиях:



- увеличение малое (объектив 8X)
- окуляр 10X или 15X
- конденсор опущен.

	1	4		5	8		9	12		13	16		17	20
	2	3		6	7		10	11		14	15		18	19
	40	37		36	33		32	29		28	25		24	21
	39	38		35	34		31	30		27	26		23	22
	41	44		45	48		49	52		53	56		57	60
	42	43		46	47		50	51		54	55		58	59
	80	77		76	73		72	69		68	65		64	61
	79	78		75	74		71	70		67	66		63	62
	81	84		85	88		89	92		93	96		97	100
	82	83		86	87		90	91		94	95		98	99

### Расчет.

При расчете количества лейкоцитов в 1мкл крови используют формулу

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

, где

X - количество лейкоцитов в 1мкл крови;

a- количество лейкоцитов, подсчитанное в 100 больших квадратах;

4000 – коэффициент перевода объема на 1мкл, 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 1л крови) полученную цифру умножают на 10<sup>6</sup>.

Практически для определения содержания лейкоцитов в 1л 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<sup>9</sup>.

**Пример:** В 100 квадратах камеры Горяева подсчитано 90 лейкоцитов.

$$90 \cdot 50 = 4500$$

$$4500 : 1000 = 4,5$$

Содержание лейкоцитов в 1л крови составляет  $4,5 \cdot 10^9/л$ .

### 3. Самостоятельная работа студентов:

1. Законспектировать методику определения количества лейкоцитов крови в счетной камере.
2. Оборудовать рабочее место для исследования.
3. Провести забор крови для определения количества лейкоцитов.
4. Подсчитать количество лейкоцитов в счетной камере Горяева, фиксируя результаты подсчета в тетради в виде схемы:
5. Рассчитать количество лейкоцитов в 1л крови.
6. Оформить результаты исследования в виде таблицы, оценить их.

ФИО обследуемого	Дата	Количество лейкоцитов

### 4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

### 5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание: лекция № 5

## **К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 6 ПОДСЧЁТ КОЛИЧЕСТВА ЭРИТРОЦИТОВ В СЧЁТНОЙ КАМЕРЕ ГОРЯЕВА.**

### **Значение темы:**

Эритроциты – самый многочисленный вид форменных элементов крови. Основным компонентом красных кровяных телец является гемоглобин, который составляет 95% сухого вещества эритроцитов

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение количества эритроцитов в крови;
- морфология и функции эритроцитов,
- количество эритроцитов в крови в норме и при патологии;

### **уметь:**

- проводить определение количества эритроцитов в крови.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1.Морфология эритроцитов в норме

2.Функции эритроцитов крови

- 3.Количество эритроцитов в крови в норме
- 4.Диагностическое значение уменьшения количества эритроцитов в крови
- 5.Виды эритроцитозов
- 6.Причины и виды относительных эритроцитозов
- 7.Причины и виды абсолютных эритроцитозов

## 2. Содержание темы:

### ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА, ВЛИЯЮЩИЕ НА КОЛИЧЕСТВО ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВИ

Количество эритроцитов в крови снижается при положении обследуемого лежа, после еды (на 10%), при беременности, в пожилом возрасте, при употреблении в пищу бобовых, алкоголя, лечении антибиотиками, сульфаниламидами, анальгетиками.

Физиологическое повышение количества эритроцитов в крови отмечается у женщин после 60 лет (на 8-9%), с 7.00 до 17.00 (на 5%), у курящих.

### 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 мерной пипетки или автоматического дозатора наливают точно 4мл физиологического раствора.

Вносят 0,02мл (капилляр Сали) крови в физраствор, промывают им капилляр 2-3 раза.

Перемешивают содержимое пробирки. При этом получается разведение крови в 200 раз.

Оставляют 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.

Подготавливают к работе камеру Горяева.

Ещё раз тщательно перемешивают содержимое пробирки и заполняют этой смесью камеру Горяева с помощью пастеровской пипетки или стеклянной палочки с оплавленным концом.

Оставляют заполненную счетную камеру на 1 минуту в горизонтальном положении для оседания эритроцитов.

Подсчитывают эритроциты в 5 больших квадратах, разграфленных каждый на 16 малых квадратов и расположенных по диагонали сетки Горяева (см. рис. 3). Таким образом, считают эритроциты в 80 малых квадратах. Счет начинают 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) – см. рис. 2.

#### **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 1мкл крови;

a- количество эритроцитов, подсчитанных в 80 малых квадратах

4000 – коэффициент перевода объема на 1мкл (объем одного малого

квадрата равен  $\frac{1}{4000}$  мкл);

200 – разведение крови;

80 – количество сосчитанных малых квадратов.

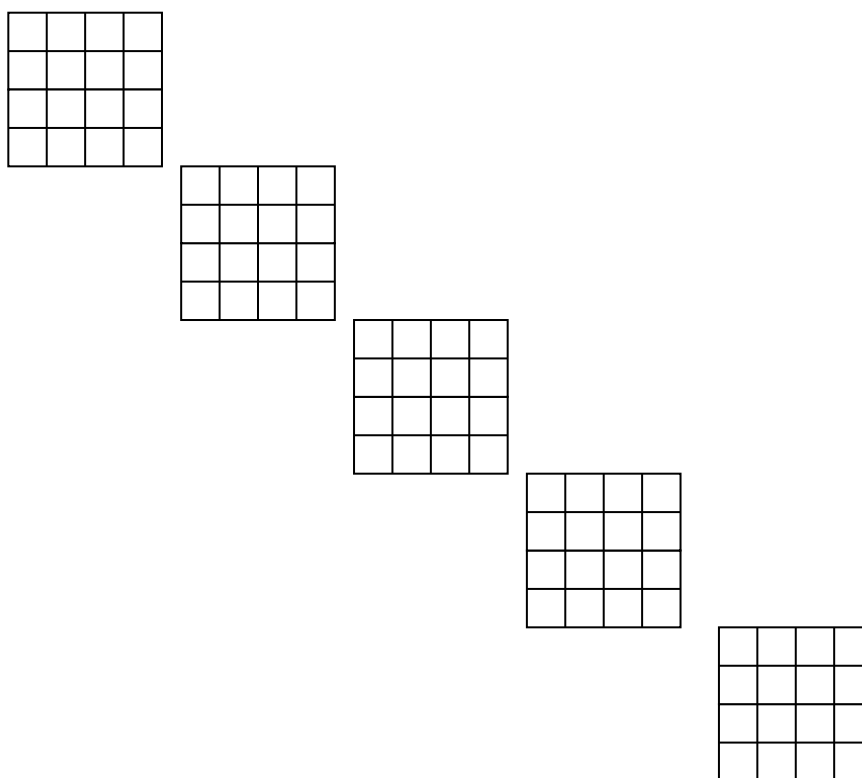
Чтобы перевести содержание эритроцитов в единицы СИ (1л крови), следует количество эритроцитов в миллионах умножить на 10<sup>12</sup>.

Практически для определения содержания эритроцитов в 1л крови необходимо количество эритроцитов, подсчитанное в 5 больших квадратах, разделить на 100 (то есть перенести запятую на 2 знака влево) и умножить на 10<sup>12</sup>.

**Пример:** В пяти больших квадратах камеры Горяева подсчитано 440 эритроцитов.

$$440 : 100 = 4,4$$

Содержание эритроцитов в 1л крови равно  $4,4 \cdot 10^{12}/л$ .



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 физраствором, любое отклонение от правил подготовки счетной камеры, её заполнения и подсчета клеток, а также недоброкачественность физраствора и мокрая или грязная посуда (пробирки, пипетки, капилляры).

### **3. Самостоятельная работа студентов:**

1. Изучить морфологию эритроцитов с помощью обучающей компьютерной программы РВТи1о
2. Законспектировать методику определения количества эритроцитов крови в счетной камере.
3. Оборудовать рабочее место для исследования.
4. Провести забор крови для определения количества эритроцитов.
5. Подсчитать количество эритроцитов в счетной камере Горяева, фиксируя результаты подсчета в тетради в виде схемы
6. Рассчитать количество эритроцитов в 1л крови.
7. Оформить результат исследования в виде таблицы, оценить его.

Дата	ФИО обследуемого	Количество эритроцитов в 1 л крови

ФИО	Дата	показатели			
		СОЭ, мм/час	Нв г/л	Кол-во лейкоцитов	Кол-во эритроцито

8. Оценить полученные результаты

#### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

#### 5.Подведение итогов.

6.Домашнее задание: лекция № 6

### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 7 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ.

#### Значение темы:

Очень распространен укороченный анализ крови, так называемая «тройка» – определение количества лейкоцитов, гемоглобина и СОЭ. Он проводится всем амбулаторным больным и при диспансеризации. В особо экстренных случаях исследуют только один показатель.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

#### знать:

- диагностическое значение СОЭ,
- количества гемоглобина и лейкоцитов в крови;
- показатели укороченного анализа крови в крови в норме и при патологии;

#### уметь:

- проводить анализ крови.
- работать с микроскопом
- соблюдать правила ТБ

## **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Показатели, входящие в ОАК
2. Унифицированный метод определения концентрации гемоглобина в крови: принцип, реактивы, ход работы
3. Источники ошибок при определении концентрации гемоглобина в крови гемиглобинцианидным методом
4. Микрометод Панченкова для определения СОЭ: принцип, реактивы, ход работы
5. Источники ошибок при определении СОЭ
6. Подсчет количества эритроцитов в крови: принцип, реактивы, ход работы, расчет
7. Источники ошибок при определении количества эритроцитов
8. Подсчет количества лейкоцитов в крови: принцип, реактивы, ход работы, расчет
9. Источники ошибок при определении количества лейкоцитов



## 2.Содержание темы:

### АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ

1. Подготовка рабочего места для исследования.

На двоих студентов для забора крови должны быть подготовлены:

#### **Реактивы:**

- спирт этиловый 70%;
- 5% раствор цитрата натрия;
- физраствор,
- трансформирующий раствор;
- 5% раствор уксусной кислоты.

#### **Оборудование:**

Вата; стерильные скарификаторы; стерильные капилляры Панченкова; капилляры Сали; предметные стекла с лункой; предметные стекла; шлифованное стекло; штатив с пробирками; штатив Панченкова; градуированные пипетки; резиновые груши; емкости с дезраствором для использованной ваты, капилляров, скарификаторов.

## 2. Подготовительная работа

Промывают капилляр Панченкова 5% раствором цитрата натрия.

Набирают цитрат натрия в капилляр Панченкова до метки «75» и выдувают его в лунку предметного стекла (или в пробирку).

Разливают реактивы по пробиркам: в одну пробирку вносят 4мл физраствора; в другую - 5мл трансформирующего раствора; в третью - 0,4 мл 5% раствора уксусной кислоты.

## 3. Забор крови из пальца

Делают прокол кожи.

После удаления первой капли делают 2 мазка.

Набирают из пальца кровь в капилляр Панченкова выше метки «0» («К») - почти полный капилляр. Спускают кровь из капилляра Панченкова до метки О «К» на предметное стекло - она будет использована для определения содержания гемоглобина, подсчета количества эритроцитов и лейкоцитов.

Остальную кровь из капилляра Панченкова спускают в цитрат натрия и тщательно перемешивают кровь с цитратом.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в физраствор - для подсчета эритроцитов. 2-3 раза промывают капилляр Сали физраствором.

Перемешивают кровь с физраствором.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её\* в трансформирующий раствор - для определения концентрации

гемоглобина.

2-3 промывают капилляр Сали трансформирующим раствором.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки и замечают время - 20 минут.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в раствор уксусной кислоты - для подсчета количества лейкоцитов.

2-3 промывают капилляр Сали раствором уксусной кислоты. Тщательно перемешивают содержимое пробирки.

Набирают смесь крови с цитратом в капилляр Панченкова без пузырьков воздуха до метки «0» и ставят капилляр в штатив Панченкова на 1 час.

### **Проведение исследований**

Через 20 минут колориметрируют смесь крови с трансформирующим раствором наФЭЖе или МИНИГЕМе.

При использовании ФЭЖа концентрацию гемоглобина определяют по калибровочному графику.

Готовят к работе счетную камеру - притирают к камере Горяева покровное стекло так, чтобы появились радужные кольца.

Тщательно встряхивают пробирки с кровью, разведенной физраствором и уксусной кислотой.

Заполняют одну сетку камеры Горяева смесью крови и физраствора (для подсчета эритроцитов), а другую - кровью с уксусной кислотой (для подсчета лейкоцитов).

Оставляют камеру в горизонтальном положении на 1 минуту для оседания клеток крови.

Готовят микроскоп к работе: настраивают свет, конденсор опускают. Подсчитывают под микроскопом (окуляр 10х или 15, объектив 8х) в одной сетке камеры Горяева эритроциты в пяти больших разграфленных квадратах по диагонали сетки, а затем, в другой сетке счетной камеры - лейкоциты в 100 больших не разграфленных квадратах

### **3. Самостоятельная работа студентов**

1. Подготовить рабочее место для проведения общего анализа крови
2. Провести забор крови на общий анализ
3. Определить показатели общего анализа крови
4. Подсчитать лейкоцитарную формулу в готовом окрашенном мазке крови
5. Результаты исследования оформить в виде таблицы

дата	ФИО	Гемоглобин, г/л	Кол-во эритроцито	ЦПК	СГЭ	Кол-во лейкоцитов	СОЭ

- Оценить полученные результаты.

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5. Подведение итогов.**

#### **6. Домашнее задание: лекция №5.**

### **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦВЕТОВОГО ПОКАЗАТЕЛЯ КРОВИ (ЦПК) И СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В 1 ЭРИТРОЦИТЕ (СГЭ)**

#### **Значение темы:**

В клинической практике часто используются различные индексы эритроцитов, отражающие их физико-химические свойства: цветовой показатель крови, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, средний объем эритроцитов и др. Наиболее широко применяют расчет цветовой показателя крови. Эти индексы могут быть определены расчетным путем или по номограмме. Определение многих индексов включено в программу современных гематологических анализаторов

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

#### **знать:**

- ЦПК и СГЭ в норме и при патологии;

#### **уметь:**

- проводить расчет эритроцитарных индексов – ЦПК и СГЭ,
- определение гемоглобина, количества эритроцитов.

#### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

## 1.Контроль исходного уровня

1. Для чего служат эритроцитарные индексы?
2. Что такое ЦПК?
3. Расчет ЦПК
4. Нормальные величины ЦПК
5. Клиническое значение ЦПК
6. Что такое СГЭ?
7. В чем выражают СГЭ?
8. Расчет СГЭ
9. Нормальные величины СГЭ
10. Клиническое значение СГЭ

## 2.Содержание темы:

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

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

где Hb – концентрация гемоглобина в крови в г/л,  
er - первые 3 цифры количества эритроцитов в крови.

**Пример.** Нв = 150 г/л, количество эритроцитов –  $4,5 \cdot 10^{12}/л$ . ЦПК =  $(150 \cdot 3) : 450 = 1,0$ .

**Норма 0,86 – 1,05.**

Диагностическое значение По величине ЦПК принято делить анемию на гипохромные (ЦПК меньше 0,86), нормохромные (ЦПК=0,86-1,05) и гиперхромные (ЦПК более 1,05). К гипохромным анемиям относятся железодефицитные, к гиперхромным – В12-дефицитные; все остальные анемию являются нормохромными.

Среднее содержание гемоглобина в эритроците (СГЭ) отражает абсолютное содержание гемоглобина в одном эритроците, выраженное в пикограммах.  $1пг = 10^{-12}г$ . СГЭ определяют путем деления концентрации гемоглобина на количество эритроцитов, выраженное в миллионах.

**Пример.** Нв = 120г/л, количество эритроцитов  $4,0 \cdot 10^{12}/л$ . СГЭ= $120:4=30пг$ .

**Норма 27-35пг.**

СГЭ изменяется параллельно цветовому показателю крови.

### 3.Самостоятельная работа студентов:

1. Подготовить рабочее место для забора крови и определения гемоглобина, СОЭ, количества лейкоцитов и эритроцитов
2. Определить в крови содержание гемоглобина, СОЭ, количество лейкоцитов и эритроцитов
3. Рассчитать ЦПК, СГЭ
4. Оформить результаты в виде таблицы:

ФИО пациента	Дата исследования	Показатели					
		СОЭ мм/час	Нв, г/л	кол-во лейкоцито	кол-во эритроцито	ЦПК	СГЭ, пг

5. Оценить полученные результаты

### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

### 5. Подведение итогов.

### 6.Домашнее задание: лекция № 6

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 9 МОРФОЛОГИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ЛЕЙКОЦИТОВ. ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА В НОРМЕ**

### **Значение темы:**

В настоящее время подсчёт лейкоцитарной формулы проводится в каждом общем анализе крови.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- функции лейкоцитов;
- морфология отдельных видов лейкоцитов,
- лейкоцитарная формула в норме;

### **уметь:**

- дифференцировать различные виды лейкоцитов в готовых окрашенных препаратах крови.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Основная функция лейкоцитов
2. Классификация лейкоцитов
3. Пути осуществления защитной функции лейкоцитами
4. Схема описания морфологии лейкоцитов
5. Морфология палочкоядерных нейтрофилов
6. Морфология сегментоядерных нейтрофилов
7. Функции нейтрофилов
8. Морфология эозинофилов

9. Функции эозинофилов
10. Морфология базофилов
11. Функции базофилов
12. Морфология лимфоцитов
13. Функции лимфоцитов
14. Морфология моноцитов
15. Функции моноцитов
16. Лейкоцитарная формула в норме

## 2. Содержание темы:

Морфология клеток крови описывается по определенной схеме.

1. Размер и форма клетки.
2. Ядерно-цитоплазматическое соотношение.
3. Характеристика ядра: его размер, форма, расположение в клетке (центральное, эксцентричное), цвет, структура, наличие ядрышек и вакуолей.
4. Характеристика цитоплазмы: ширина, цвет, наличие специфической зернистости (цвет зерен, их количество и размер), наличие неспецифической азурофильной зернистости, вакуолей, фагоцитированных элементов, перинуклеарной зоны.

### 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	Округлое или	Компактная	Темно-	Голубой	Редко

	(редко до 15)	бобовидное	крупноглыбчатая	фиолетовый		единичные фиолетовые гранулы
Мон	12-20	Полиморфное	Равномерная нежносетчатая	Светло-фиолетовый	Серо-голубой	Иногда мелкая бледно-фиолетовая

### 3. Самостоятельная работа студентов

1. Ознакомиться с морфологией отдельных видов лейкоцитов с помощью обучающей компьютерной программы РВТдйог
2. Промикроскопировать готовые окрашенные препараты крови, дифференцируя различные виды лейкоцитов
3. Зарисовать различные виды лейкоцитов

### 4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

### 5. Подведение итогов.

6. Домашнее задание: лекция № 6.

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 10 ТЕХНИКА ПОДСЧЁТА ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ.

### Значение темы:

Закрепить представления о диагностическом значении лейкоцитарной формулы, абсолютного содержания отдельных видов лейкоцитов, индексе ядерного сдвига нейтрофилов

систематизировать знания об абсолютном и относительном содержании отдельных видов лейкоцитов, индексе ядерного сдвига нейтрофилов научиться подсчитывать лейкоцитарную формулу.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение лейкоцитарной формулы,
- абсолютного содержания отдельных видов лейкоцитов,
- индекса ядерного сдвига нейтрофилов;
- морфология отдельных видов лейкоцитов,
- лейкоцитарная формула в норме,
- абсолютное и относительное содержание отдельных видов лейкоцитов;



**уметь:**

- проводить подсчет лейкоцитарной формулы в норме.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности.

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

## **1. Контроль исходного уровня:**

1. Содержание лейкоцитов в крови в норме
2. Виды лейкоцитозов
3. Причины перераспределительных лейкоцитозов
4. Причины реактивных лейкоцитозов
5. Причины стойких лейкоцитозов
6. Виды лейкопений
7. Причины функциональных лейкопений
8. Причины органических лейкопений
9. Лейкоформула в норме
10. Что такое абсолютное количество отдельных видов лейкоцитов?
11. Как оно рассчитывается?
12. Расчет индекса ядерного сдвига нейтрофилов
13. Индекс сдвига в норме
14. Диагностическое значение индекса ядерного сдвига нейтрофилов
15. Сравнительная характеристика размеров различных видов лейкоцитов
16. Характеристика ядер гранулоцитов: форма, цвет, структура

17. Характеристика различных видов специфической зернистости
18. Сходство и различие ядер моноцитов и лимфоцитов
19. Сходство и различие цитоплазмы моноцитов и лимфоцитов

## 2. Содержание темы:

### ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ КРОВИ

Лечение гормонами надпочечников и АКТГ способствует увеличению количества эозинофилов.

Прием эстрогенных гормонов и препаратов для лечения тиреотоксикоза вызывает повышение количества базофилов.

Повышение нейтрофилов возникает после еды, при переохлаждении, укусе насекомых, приеме гепарина, гистамина и др. лекарственных препаратов.

Прием наркотических анальгетиков сопровождается увеличением относительного содержания лимфоцитов и моноцитов в периферической крови.

### ТЕХНИКА ПОДСЧЕТА ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ

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 у обследуемого 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 (например, увеличение количества палочкоядерных форм, эозинофилов или появление лейкоцитов, в норме в периферической крови не обнаруживаемых), необходим подсчет 200

лейкоцитов. При лейкоцитозах всегда следует подсчитывать 200 лейкоцитов. Для расчета лейкоцитарной формулы в этом случае полученные результаты нужно разделить на 2.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЛЕЙКОКОНЦЕНТРАТА

Приготовление лейкоконцентрата проводят в случаях выраженной лейкопении, когда подсчет лейкоформулы затруднен, а также для обнаружения патологических элементов, не выявляемых в обычных препаратах (бластных клеток при лейкопенических формах лейкозов и т.п.).

**Принцип.** В связи с разным удельным весом эритроцитов и лейкоцитов и добавлением трилона Б, ускоряющего осаждение эритроцитов, получают плазму, содержащую большое количество лейкоцитов

#### **Реактивы:**

- 3% раствор трилона Б.

#### **Ход определения.**

В пробирку с 1мл 3% раствора трилона Б вносят 4мл венозной крови.

Осторожно перемешивают.

Оставляют стоять 30-45 минут при комнатной температуре или в термостате при 37°C. При этом образуется 2-3 мл прозрачной плазмы.

Пастеровской пипеткой отсасывают надосадочную жидкость в центрифужную пробирку, стараясь не захватывать эритроциты.

Центрифугируют 10 минут при 1000 об/мин.

Надосадочную жидкость удаляют пипеткой, а из осадка готовят мазки крови, помещая 1 каплю осадка на предметное стекло.

Мазки высушивают на воздухе, фиксируют и окрашивают гематологическими красителями.

### **3. Самостоятельная работа студентов**

1. Законспектировать факторы преаналитического этапа, влияющие на показатели лейкоцитарной формулы крови.
2. Ознакомиться с морфологией различных видов лейкоцитов с помощью обучающей компьютерной программы РВТutor.
3. Найти в окрашенных мазках крови все виды лейкоцитов.
4. Зарисовать морфологию различных видов лейкоцитов в норме
5. Ознакомиться с методикой подсчета лейкоцитарной формулы с помощью обучающей компьютерной программы РВТutor.
6. Законспектировать методики подсчета лейкоцитарной формулы и приготовления лейкоконцентрата.

7. Подсчитать лейкоцитарную формулу в готовом окрашенном мазке крови.
8. Рассчитать по полученным данным абсолютное содержание отдельных видов лейкоцитов, индекс ядерного сдвига нейтрофилов.
9. Оформить результаты подсчета в виде таблицы:

ФИО	Кол-во L		Н п/я	Н с/я	Э	Б	Л	Мон	И С
	5·10 <sup>9</sup> /л	%							
		Абсол.сод-е							

10. Оценить полученные результаты, сравнивая их с нормой

#### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

#### 5.Подведение итогов.

6.Домашнее задание: лекция № 1

### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 11 ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ОКРАСКА МАЗКОВ КРОВИ.

#### Значение темы:

Важным исследованием, входящим в общий анализ крови, является подсчёт лейкоцитарной формулы, включающий в себя приготовление и окраску мазков крови.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение лейкоцитарной формулы;
- лейкоцитарная формула в норме,
- морфология различных видов лейкоцитов;

#### умения:

- проводить приготовление,
- фиксация и окраска мазков крови,
- подсчет количества лейкоцитов в крови.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Цвет ядер гранулоцитов
2. Цвет ядер агранулоцитов
3. Цвет цитоплазмы гранулоцитов
4. Цвет цитоплазмы агранулоцитов
5. Характеристика нейтрофильной зернистости
6. Характеристика эозинофильной зернистости
7. Характеристика базофильной зернистости
8. Функции нейтрофилов
9. Функции эозинофилов
10. Функции базофилов
11. Функции лимфоцитов
12. Функции моноцитов
13. Техника приготовления мазков крови
14. Требования к мазкам крови
15. Для чего делается фиксация мазков?
16. Реактивы, используемые для фиксации
17. Способы фиксации
18. Принцип всех методов окраски клеток крови
19. Окраска по Романовскому-Гимзе: реактивы

20. Титрование краски Романовского: цели, ход проведения
21. Ход окраски мазков крови по Романовскому-Гимзе
22. Окраска по Нохту: реактивы
23. Ход окраски по Нохту
24. Окраска по Паппегейму: реактивы, особенности окраски
25. Ход окраски по Паппенгейму
26. Критерии оценки качества окраски мазков крови

## **2. Содержание темы:**

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

### **ПОДГОТОВКА ПРЕДМЕТНЫХ 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 в проточной воде.

Насухо вытирают.

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.

### **ТЕХНИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ 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.

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 2-3 мм.

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:

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

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.

**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).

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

Фиксированные мазки высушивают на воздухе и окрашивают.

### ОКРАСКА МАЗКОВ КРОВИ

Проводится в специальных кюветах или на «мостике».

В качестве унифицированных приняты 3 метода окраски мазков крови:

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

**Принцип.**

Основу современных методов окраски клеток крови заложил петербургский врач Д.Л. Романовский, который в конце 19 века предложил окрашивать препараты одновременно двумя красителями – щелочной и кислой реакции. И по настоящее время все используемые методы окраски клеток крови имеют единый принцип: использование щелочного и кислого красителей.

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

#### **Реактивы:**

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.

#### **Ход окраски.**

В специальную кювету для окрашивания наливают рабочий 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:**

- Основной раствор азура II (1г на 1л дистиллированной воды);
- Основной раствор эозина К (1г на 1л дистиллированной воды). Красители нуждаются в вызревании в течение 2 недель в темном месте при периодическом помешивании;
- Фосфатный буфер с рН 7,4-7,5;
- Рабочий раствор азур-эозина готовят перед употреблением путем смешивания:



- 25 мл основного раствора азура II;
- 20 мл основного раствора эозина К;
- 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:**

Готовый краситель-фиксатор Май-Грюнвальда (растворяют 1г эозинметиленового синего в 1л метилового спирта);

Свежеприготовленный раствор краски Романовского или рабочий раствор азур-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.

мазки рабочим раствором азур-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.

Критериями правильности окраски при использовании любого метода окрашивания является цвет клеток и их структур: эритроциты должны быть светло-розового цвета, нейтрофильная зернистость – фиолетового, эозинофильная зернистость – розово-оранжевого цвета.

### **3.Самостоятельная работа студентов**

1. Законспектировать методику приготовления окрашенных мазков крови.
2. Подготовить рабочее место для забора крови из пальца, приготовления, фиксации и окраски мазков крови методом Романовского, подсчета количества лейкоцитов.

3. Приготовить каждому студенту не менее пяти мазков.
4. Провести забор крови для подсчета количества лейкоцитов.
5. Выбрать среди приготовленных мазков один, отвечающий предъявляемым требованиям.
6. Промаркировать выбранный мазок.
7. Зафиксировать мазки, окрасить их по Романовскому. Лейкоцитарная формула студентов в этих окрашенных мазках будет подсчитываться на следующем занятии.
8. Подсчитать количество лейкоцитов в крови, результаты исследования зафиксировать в тетради. Эти данные потребуются для определения абсолютного содержания отдельных видов лейкоцитов у обследуемых студентов на следующем занятии.
9. Подсчитать лейкоцитарную формулу в предложенном препарате крови.
10. Оформить результаты подсчета в виде таблицы:

ФИО	дата	Лейкоцитарная формула. %					
		Н п/я	Н с/я	Э	Б	Л	Мон

11. Оценить полученные результаты.

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5. Подведение итогов.**

**6.Домашнее задание:** лекция № 7

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 12 ТИТРОВАНИЕ КРАСКИ РОМАНОВСКОГО**

### **Значение темы:**

От правильно подобранного титра краски зависит качество окраски мазков и соответственно точность подсчёта лейкоцитарной формулы, которая отражает состояние пациента.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение лейкоцитарной формулы;
- лейкоцитарная формула в норме,
- морфология различных видов лейкоцитов, методы окраски мазков крови;

**уметь**:

- проводить фиксацию и окраску мазков крови,
- титрование краски Романовского, оценка качества мазков крови,
- подсчет лейкоцитарной формулы и абсолютного содержания отдельных видов лейкоцитов.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**2.Контроль исходного уровня знаний:**

1. Назовите группы функций крови
2. 2 основные компонента крови
3. состав плазмы крови
4. органические компоненты
5. неорганические компоненты
6. классификация форменных элементов крови
7. показатели, входящие в общий анализ крови
8. укороченный анализ крови
9. строение гемоглобина
10. основные функции гемоглобина

## 2.Содержание темы:

Титрование краски Романовского

Готовят три разведения краски из расчета:

- 1 капля красителя на 1мл дистиллированной воды;
- 2 капли красителя на 1мл дистиллированной воды;
- 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.

## 3.Самостоятельная работа студентов

Отобрать лучшие 15 мазков и промаркировать их:

- |            |            |            |
|------------|------------|------------|
| 1 кап. 20' | 2 кап. 20' | 3 кап. 20' |
| 1 кап. 25' | 2 кап. 25' | 3 кап. 25' |
| 1 кап. 30' | 2 кап. 30' | 3 кап. 30' |
| 1 кап. 35' | 2 кап. 35' | 3 кап. 35' |
| 1 кап. 40' | 2 кап. 40' | 3 кап. 40' |

Зафиксировать мазки, высушить их на воздухе.Приготовить 3 разведения краски Романовского из расчета:

- 1 капля краски на 1мл дистиллированной воды;
- 2 капли краски на 1 мл дистиллированной воды;
- 3 капли краски на 1 мл дистиллированной воды.

1. Окрасить мазки крови в соответствии с маркировкой - в течение разного времени, разным разведением краски.
2. Промыть окрашенные мазки под проточной водой, высушить их на воздухе.
3. Промикроскопировать окрашенные препараты крови, определив, при каких условиях получается наилучшее окрашивание – то есть определить титр краски и экспозицию.
4. Подсчитать лейкоцитарную формулу и индекс ядерного сдвига нейтрофилов в мазках крови студентов, приготовленных и окрашенных на предыдущем занятии.

5. Рассчитать абсолютное содержание отдельных видов лейкоцитов, исходя из подсчитанной лейкоформулы и определенного на предыдущем занятии общего количества лейкоцитов.
6. Результаты исследования оформить в виде таблицы.

ФИО, дата	Кол- во L		Н п/я	Н с/я	Э	Б	Л	Мон	И С
		%							
		Абсол. сод-е							

#### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

#### 5. Подведение итогов.

6.Домашнее задание: лекция № 7

### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 13 ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ АНОМАЛИИ ЛЕЙКОЦИТОВ

#### Значение темы:

Знание показателей общего анализа крови в норме и при патологии; возрастных особенности общего анализа крови; и наследственных аномалии морфологии лейкоцитов позволяет правильно интерпретировать результаты исследований и определять норму и патологию.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение общего анализа крови;
- возрастные изменения крови,
- наследственные аномалии лейкоцитов;

#### уметь:

- провести общий анализ крови.

#### овладеть ОК и ПК

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях и нести за них ответственность.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 11. Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Особенности общего анализа крови у новорожденных
2. Лейкоцитарная формула у детей до 4-х лет
3. Особенности показателей ОАК в пожилом возрасте
4. Изменения ОАК при беременности
5. Наследственные аномалии морфологии лейкоцитов
6. Аномалия Пельгера
7. Другие наследственные аномалии
8. Клиническое значение наследственных аномалий морфологии лейкоцитов

### **2.Содержание темы:**

#### **АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ**

1. Подготовка рабочего места для исследования.

На двоих студентов для забора крови должны быть подготовлены:

**Реактивы:**

- спирт этиловый 70%;
- 5% раствор цитрата натрия;
- физраствор,
- трансформирующий раствор;
- 5% раствор уксусной кислоты.

**Оборудование:** вата; стерильные скарификаторы; стерильные капилляры Панченкова; капилляры Сали; предметные стекла с лункой; предметные стекла; шлифованное стекло, штатив с пробирками; штатив Панченкова; градуированные пипетки; резиновые груши; емкости с дезраствором для использованной ваты, капилляров, скарификаторов.

**2. Подготовительная работа**

Промывают капилляр Панченкова 5% раствором цитрата натрия.

Набирают цитрат натрия в капилляр Панченкова до метки «75» и выдувают его в лунку предметного стекла (или в пробирку).

Разливают реактивы по пробиркам: в одну пробирку вносят 4мл физраствора; в другую - 5мл трансформирующего раствора; в третью - 0,4 мл 5% раствора уксусной кислоты.

**3. Забор крови из пальца**

Делают прокол кожи.

После удаления первой капли делают 2 мазка.

Набирают из пальца кровь в капилляр Панченкова выше метки «0» («К») - почти полный капилляр. Спускают кровь из капилляра Панченкова до метки О «К» на предметное стекло - она будет использована для определения содержания гемоглобина, подсчета количества эритроцитов и лейкоцитов.

Остальную кровь из капилляра Панченкова спускают в цитрат натрия и тщательно перемешивают кровь с цитратом.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в физраствор - для подсчета эритроцитов.

2-3 промывают капилляр Сали физраствором.

Перемешивают кровь с физраствором.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в трансформирующий раствор - для определения концентрации гемоглобина.

2-3 промывают капилляр Сали трансформирующим раствором.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки и замечают время - 20 минут.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и

вносят её в раствор уксусной кислоты - для подсчета количества лейкоцитов.  
2-3 промывают капилляр Сали раствором уксусной кислоты.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки.

Набирают смесь крови с цитратом в капилляр Панченкова без пузырьков воздуха

до метки «0» и ставят капилляр в штатив Панченкова на 1 час.

### **Проведение исследований**

Через 20 минут колориметрируют смесь крови с трансформирующим раствором наФЭКе или МИНИГЕМе.

При использовании ФЭКа концентрацию гемоглобина определяют по калибровочному графику.

Готовят к работе счетную камеру - притирают к камере Горяева покровное стекло так, чтобы появились радужные кольца.

Тщательно встряхивают пробирки с кровью, разведенной физраствором и уксусной кислотой.

Заполняют одну сетку камеры Горяева смесью крови и физраствора (для подсчета эритроцитов), а другую - кровью с уксусной кислотой (для подсчета лейкоцитов).

Оставляют камеру в горизонтальном положении на 1 минуту для оседания клеток крови.

Готовят микроскоп к работе: настраивают свет, конденсор опускают.

Подсчитывают под микроскопом (окуляр 10x или 15, объектив 8x) в одной сетке камеры Горяева эритроциты в пяти больших разграфленных квадратах по диагонали сетки, а затем, в другой сетке счетной камеры - лейкоциты в 100 больших не разграфленных квадратах.

По формулам рассчитывают количество эритроцитов и лейкоцитов в 1л крови

Через 1 час снимают показания СОЭ

### **3. Самостоятельная работа студентов**

1. Ознакомиться с вариантами морфологии лейкоцитов при наследственных аномалиях с помощью обучающей компьютерной программы RBTutor.
2. Зарисовать наследственные аномалии морфологии лейкоцитов типа Пельгера, Альдера, Чедиака, Май-Хегглина
3. Провести общий анализ крови.

Результаты исследования оформить в виде таблицы:



ФИО	дата	гемоглобин	СОЭ	лейкоциты	эритро	ЦПК
			Время постановк			

4. Подсчитать лейкоцитарную формулу в предложенном мазке крови. Результаты подсчета лейкоформулы оформить в виде таблицы:

ФИО	Лейкоцитарная формула, %						Изменение
	Нп/я	Нс/я	Э	Б	Л	Мон	

5. Оценить полученные результаты

#### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

#### 5.Подведение итогов.

6.Домашнее задание: лекция № 8

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 14 ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА ПРИ ПАТОЛОГИИ

### Значение темы:

Знания о причинах и видах изменения морфологии и количества различных видов лейкоцитов, картине крови при гнойно-септических, вирусных, инфекционных заболеваниях помогает научиться выявлять патологические изменения морфологии лейкоцитов в мазках крови.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение лейкоцитарной формулы;
- лейкоцитарная формула в норме,
- причины и виды изменения морфологии и количества отдельных видов лейкоцитов,
- картину крови при гнойно-воспалительных, вирусных, инфекционных заболеваниях;

### уметь:

подсчитать лейкоцитарную формулу, выявить патологические изменения морфологии лейкоцитов.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 4. Осуществлять поиск и использование информации, необходимой для эффективного выполнения профессиональных задач, профессионального и личностного развития

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Виды изменения морфологии лейкоцитов
2. Причины нейтрофилеза
3. Причины нейтропении
4. Изменение количества эозинофилов при патологии
5. Виды лимфоцитоза и лимфоцитопений
6. Причины абсолютного лимфоцитоза
7. Причины относительного лимфоцитоза
8. Причины лимфоцитопений
9. Изменение количества моноцитов в крови при патологии
10. Картина крови при гнойно-септических заболеваниях
11. Изменения крови при вирусных заболеваниях
12. Изменения крови при инфекционных (бактериальных) заболеваниях

### **2.Содержание темы:**

## ОЦЕНКА ВЫРАЖЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИИ ЛЕЙКОЦИТОВ

Наличие дегенеративных признаков изменения морфологии лейкоцитов обязательно фиксируется в результате анализа. Выраженность тех или иных изменений морфологии лейкоцитов оценивают в процентах или обозначают цифрами от 1 до 4.

Если какой-то вид изменений, например, токсическая зернистость, при подсчете лейкоцитарной формулы имеется во всех встретившихся нейтрофилах, то в бланке результата исследования указывается «Токсическая зернистость 100% (4)».

При меньшей выраженности патологических изменений морфологии она может оцениваться как:

- токсическая зернистость 75% (3);
- токсическая зернистость 50% (2);
- токсическая зернистость 25% (1).

### АРТЕФАКТЫ

Артефакт – это процесс или образование, не свойственное изучаемому объекту и возникающее в ходе его исследования под воздействием самих условий исследования.

К артефактам при исследовании морфологии клеток крови относятся: преципитация (выпадение в осадок) краски, которая под микроскопом имеет вид темно-синих гранул или нитей, расположенных между клетками и на них, мешая исследованию;

водный артефакт может наблюдаться при медленном высыхании мазка в условиях высокой влажности воздуха. В эритроцитах в этом случае появляются зоны, резко преломляющие свет;

при использовании в качестве антикоагулянта ЭДТА может наблюдаться сателлитизм (от лат. *satellit* – спутник) тромбоцитов, когда 4 и более тромбоцита окружают нейтрофил.

### 3. Самостоятельная работа студентов

1. Ознакомиться с видами изменения морфологии лейкоцитов с помощью обучающей компьютерной программы RVTutor
2. Подсчитать лейкоцитарную формулу в готовом окрашенном препарате крови (200 клеток), обращая особое внимание на изменение морфологии лейкоцитов.
3. Оформить результат подсчета в виде таблицы:

ФИО	Лейкоцитарная формула, %						Изменение морфологии лейкоцитов
	Н п/я	Н с/я	Э	Б	Л	Мон	

4. Оценить полученные результаты.

5. Зарисовать изменение морфологии лейкоцитов при патологии, артефакты

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5.Подведение итогов.**

#### **6.Домашнее задание лекция № 8**

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 15 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ**

### **Значение темы:**

Общий анализ крови проводится всем стационарным больным и по показаниям – амбулаторным.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение общего анализа крови;
- возрастные изменения крови,
- наследственные аномалии лейкоцитов;

### **уметь:**

- провести общий анализ крови.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

ОК 11. Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня знаний:**

1. Назовите группы функций крови
2. транспортная функция крови
3. 2 основных компонента крови
4. состав плазмы крови
5. органические компоненты
6. неорганические компоненты
7. классификация форменных элементов крови
8. показатели, входящие в общий анализ крови
9. укороченный анализ крови
10. основные функции гемоглобина
11. строение гемоглобина
12. содержание гемоглобина в норме
13. причины уменьшения содержания гемоглобина
14. причины увеличения содержания гемоглобина
15. типы гемоглобина
16. физиологические соединения гемоглобина
17. патологические соединения гемоглобина
18. методы определения содержания гемоглобина в крови
19. общие правила безопасной работы с биологическим материалом в КДЛ
20. дезинфекция
21. предстерилизационная обработка
22. контроль предстерилизационной обработки
23. стерилизация

24. контроль стерилизации
25. Основные функции эритроцитов.
26. Методы подсчета количества эритроцитов крови.
27. Реактив для определения количества эритроцитов в крови.
28. Возрастные особенности содержания эритроцитов в крови.
29. Причина первичного эритроцитоза.
30. В каких случаях развиваются симптоматические эритроцитозы?
31. Что такое расчетные эритроцитарные индексы?
32. Какие гематологические показатели нужны для расчета ЦПК?
33. В каких единицах выражается значение СГЭ?
34. Величина ЦПК и СГЭ при железодефицитных и В12-дефицитных анемиях

## 2. Содержание темы:

### АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ

1. Подготовка рабочего места для исследования.

На двоих студентов для забора крови должны быть подготовлены:

#### **Реактивы:**

1. спирт этиловый 70%;
2. 5% раствор цитрата натрия;
3. физраствор,
4. трансформирующий раствор;
5. 5% раствор уксусной кислоты.

**Оборудование:** вата; стерильные скарификаторы; стерильные капилляры Панченкова; капилляры Сали; предметные стекла с лункой; предметные стекла; шлифованное стекло; штатив с пробирками; штатив Панченкова; градуированные пипетки; резиновые груши; емкости с дезраствором для использованной ваты, капилляров, скарификаторов.

#### **2. Подготовительная работа**

Промывают капилляр Панченкова 5% раствором цитрата натрия.

Набирают цитрат натрия в капилляр Панченкова до метки «75» и выдувают его в лунку предметного стекла (или в пробирку).

Разливают реактивы по пробиркам: в одну пробирку вносят 4мл физраствора; в другую - 5мл трансформирующего раствора; в третью - 0,4 мл 5% раствора уксусной кислоты.

#### **3. Забор крови из пальца**

Делают прокол кожи.

После удаления первой капли делают 2 мазка.

Набирают из пальца кровь в капилляр Панченкова выше метки «0» («К») - почти полный капилляр.

Спускают кровь из капилляра Панченкова до метки О «К» на предметное стекло - она будет использована для определения содержания гемоглобина, подсчета количества эритроцитов и лейкоцитов.

Остальную кровь из капилляра Панченкова спускают в цитрат натрия и тщательно перемешивают кровь с цитратом.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в физраствор - для подсчета эритроцитов. 2-3 промывают капилляр Сали физраствором. Перемешивают кровь с физраствором.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её\* в трансформирующий раствор - для определения концентрации гемоглобина. 2-3 промывают капилляр Сали трансформирующим раствором. Тщательно перемешивают содержимое пробирки и замечают время - 20 минут.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в раствор уксусной кислоты - для подсчета количества лейкоцитов. 2-3 промывают капилляр Сали раствором уксусной кислоты.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки.

Набирают смесь крови с цитратом в капилляр Панченкова без пузырьков воздуха до метки «0» и ставят капилляр в штатив Панченкова на 1 час.

### **Проведение исследований**

Через 20 минут колориметрируют смесь крови с трансформирующим раствором наФЭКе или МИНИГЕМе.

При использовании ФЭКа концентрацию гемоглобина определяют по калибровочному графику.

Готовят к работе счетную камеру - притирают к камере Горяева покровное стекло так, чтобы появились радужные кольца.

Тщательно встряхивают пробирки с кровью, разведенной физраствором и уксусной кислотой.

Заполняют одну сетку камеры Горяева смесью крови и физраствора (для подсчета эритроцитов), а другую - кровью с уксусной кислотой (для подсчета лейкоцитов).

Оставляют камеру в горизонтальном положении на 1 минуту для оседания клеток крови.

Готовят микроскоп к работе: настраивают свет, конденсор опускают. Подсчитывают под микроскопом (окуляр 10х или 15, объектив 8х) в одной сетке камеры Горяева эритроциты в пяти больших разграфленных

квадратах по диагонали сетки, а затем, в другой сетке счетной камеры - лейкоциты в 100 больших не разграфленных квадратах.

### **3. Самостоятельная работа студентов**

1. Подготовить рабочее место
2. Провести исследование
3. Результаты исследования оформляют в виде таблицы.
4. Оценить полученные данные

### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

### **5. Подведение итогов.**

### **6. Домашнее задание:** лекция № 1-8

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 16 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ. ПОВТОРЕНИЕ ТЕМЫ «ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА»**

### **Значение темы:**

Общий анализ крови проводится всем стационарным больным и по показаниям – амбулаторным

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение общего анализа крови;
- возрастные изменения крови, наследственные аномалии лейкоцитов;
- диагностическое значение лейкоцитарной формулы;
- лейкоцитарная формула в норме,
- причины и виды изменения морфологии и количества отдельных видов лейкоцитов,
- картину крови при гнойно-воспалительных, вирусных, инфекционных заболеваниях;

### **уметь:**

- провести общий анализ крови.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.



ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня знаний:**

1. Основные функции эритроцитов.
2. Методы подсчета количества эритроцитов крови.
3. Реактив для определения количества эритроцитов в крови.
4. Возрастные особенности содержания эритроцитов в крови.
5. Причина первичного эритроцитоза.
6. В каких случаях развиваются симптоматические эритроцитозы?
7. Что такое расчетные эритроцитарные индексы?
8. Какие гематологические показатели нужны для расчета ЦПК?
9. В каких единицах выражается значение СГЭ?
10. Величина ЦПК и СГЭ при железодефицитных и В12-дефицитных анемиях

### **2.Содержание темы:**

Подсчет лейкоцитарной формулы проводят при микроскопии окрашенного мазка крови с иммерсионной системой (объектив 90X, окуляр 7X или 10X, 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

Самостоятельная работа студентов:

### 3. Самостоятельная работа студентов

1. Подготовить рабочее место для проведения общего анализа крови
2. Провести забор крови на общий анализ
3. Определить показатели общего анализа крови
4. Подсчитать лейкоцитарную формулу в готовом окрашенном мазке крови
5. Результаты исследования оформить в виде таблицы

дата	ФИО	Гемоглобин		Кол-во эритроцитов	ЦПК	СГЭ	Кол-во лейкоцит	СОЭ
Лейкоцитарная формула- относительное Абсолютное		п\Я	с\я	эозинофилы	базофилы		моноциты	лимфоциты

6. Оценить полученные результаты.

### 4. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

### 5. Подведение итогов.

**6. Домашнее задание:** лекция № 8

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 17 ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ « ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ»**

### **Значение темы:**

Контроль знаний и умений студентов

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение общего анализа крови;
- возрастные изменения крови, наследственные аномалии лейкоцитов;

### **уметь:**

- провести общий анализ крови.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Исследования, входящие в УАК
2. Гемоглобин крови: строение, функции, типы, соединения, диагностическое значение
3. Методы определения концентрации гемоглобина в крови
4. Факторы, влияющие на СОЭ

5. СОЭ в норме, причины физиологического и патологического увеличения СОЭ
6. Методика определения СОЭ
7. Количество лейкоцитов в крови в норме, причины и виды лейкоцитозов и лейкопений
8. Методы определения количества лейкоцитов в крови

## 2. Самостоятельная работа студентов

1. Подготовить рабочее место для проведения общего анализа крови
2. Провести забор крови на общий анализ
3. Определить показатели общего анализа крови
4. Подсчитать лейкоцитарную формулу в готовом окрашенном мазке крови
5. Результаты исследования оформить в виде таблицы

дата	ФИО	Гемоглобин, г/л	Кол-во эритроцитов	ЦПК	СГЭ	Кол-во лейкоцитов	СОЭ

6. Оценить полученные

## 3. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

## 4. Подведение итогов.

5. Домашнее задание: лекция № 1-8

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 18 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ, ПОДСЧЁТ ЦПК И СГЭ

### Значение темы:

Контроль знаний и умений студентов

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение общего анализа крови;
- возрастные изменения крови, наследственные аномалии лейкоцитов;

**уметь**:

- проводить общий анализ крови.

## **овладеть ОК и ПК**

Студент должен овладеть общими компетенциями:

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Исследования, входящие в УАК
2. Гемоглобин крови: строение, функции, типы, соединения, диагностическое значение
3. Методы определения концентрации гемоглобина в крови
4. Факторы, влияющие на СОЭ
5. СОЭ в норме, причины физиологического и патологического увеличения СОЭ
6. Методика определения СОЭ
7. Количество лейкоцитов в крови в норме, причины и виды лейкоцитозов и лейкопений
8. Методы определения количества лейкоцитов в крови

### **2.Самостоятельная работа студентов**

1. Подготовить рабочее место для проведения общего анализа крови

2. Провести забор крови на общий анализ
3. Определить показатели общего анализа крови
4. Подсчитать лейкоцитарную формулу в готовом окрашенном мазке крови
5. Результаты исследования оформить в виде таблицы

дата	ФИО	Гемоглобин, г/л	Кол-во эритроцитов	ЦПК	СГЭ	Кол-во лейкоцитов	СОЭ

6. Оценить полученные

### **3.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

### **4. Подведение итогов.**

**5.Домашнее задание:** лекция № 1-8

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 19 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПО ДУКЕ И ВРЕМЕНИ СВЁРТЫВАНИЯ КАПИЛЛЯРНОЙ КРОВИ**

### **Значение темы:**

Исследование длительности кровотечения, время свёртывания и количества тромбоцитов часто используются в клинической практике при подозрениях на геморрагические диатезы.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

#### **знать:**

- диагностическое значение длительности кровотечения и времени свертывания крови;
- причины, виды и лабораторная диагностика геморрагических диатезов;

#### **уметь:**

- проводить определение длительности кровотечения по Дукке и времени свертывания капиллярной крови.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Классификация форменных элементов крови
2. Морфология тромбоцитов
3. Функции тромбоцитов
4. Содержание тромбоцитов в норме
5. Причины тромбоцитопений
6. Виды тромбоцитопений
7. Тромбоцитопатии
8. Причины тромбоцитозов
9. Понятие «Геморрагические диатезы»
10. Классификация геморрагических диатезов
11. Причины и виды коагулопатий
12. Диагностика коагулопатий.
13. Причины вазопатий.

### **2. Содержание темы:**

**ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА,  
ВЛИЯЮЩИЕ НА ПОКАЗАТЕЛИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ**

Увеличению времени кровотечения способствует прием некоторых лекарственных препаратов (ацетилсалициловой кислоты, нестероидных противовоспалительных средств, пенициллина и др.). Антикоагулянты (гепарин и др.) увеличивают время свертывания крови, пероральные контрацептивы – снижают его.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПО ДУКЕ

### **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 включают секундомер.

Первую каплю крови не удаляют ватой, как обычно, а прикасаются к ней фильтровальной бумагой, которая впитывает кровь. Далее снимают фильтровальной бумагой выступающие капли крови через каждые 30 секунд. Постепенно капли крови становятся все меньше.

Когда следы крови перестанут оставаться, секундомер выключают.

### **Источники ошибок:**

1. недостаточно глубокий прокол;
2. поспешное снятие капель крови;
3. 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, гиповитаминозе С, злокачественных опухолях и др. При гемофилии этот тест остается в пределах нормы.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВРЕМЕНИ СВЕРТЫВАНИЯ КАПИЛЛЯРНОЙ КРОВИ ПО СУХАРЕВУ

### **Принцип.**

Определяется время образования сгустка крови в капилляре Панченкова.

### **Ход работы.**

Прокалывают кожу, удаляют первую каплю крови.



Набирают самотеком кровь в чистый сухой капилляр Панченкова до метки «70-75» (25-30делений) без пузырьков воздуха.

Включают секундомер.

Наклоном капилляра перемещают кровь на середину трубки.

Через каждые 30 секунд наклоняют 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.

### **3. Самостоятельная работа студентов**

1. Законспектировать методики.
2. Приготовить рабочее место для исследования, определить время свертывания капиллярной крови и длительность кровотечения по Дукке.
3. Оценить полученные результаты.
4. Записать результат определения длительности кровотечения.

### **4. Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

### **5. Подведение итогов.**

### **6. Домашнее задание: лекция № 9**

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ТРОМБОЦИТОВ В КРОВИ ПО ФОНИО.**

**Значение темы:**

Исследование длительности кровотечения, время свёртывания и количества тромбоцитов часто используются в клинической практике при подозрениях на геморрагические диатезы.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение количества тромбоцитов в крови;
- морфология и функции тромбоцитов, количество тромбоцитов в норме и при различных видах геморрагических диатезов;

**уметь**:

- проводить подсчет количества тромбоцитов в крови методом Фонио.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**1. Контроль исходного уровня:**

1. Классификация форменных элементов крови
2. Морфология тромбоцитов
3. Функции тромбоцитов
4. Содержание тромбоцитов в норме
5. Причины тромбоцитопений
6. Виды тромбоцитопений
7. Тромбоцитопатии
8. Причины тромбоцитозов
9. Понятие «Геморрагические диатезы»

- 10.Классификация геморрагических диатезов
- 11.Причины и виды коагулопатий
- 12.Диагностика коагулопатий.
- 13.Причины вазопатий.

## **2.Содержание темы:**

### **ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА, ВЛИЯЮЩИЕ НА КОЛИЧЕСТВО ТРОМБОЦИТОВ В КРОВИ**

Снижение количества тромбоцитов в крови отмечается при беременности, менструации, приеме алкоголя и некоторых лекарственных препаратов (нитроглицерин, преднизолон, эстрогены).

Вследствие оседания и прилипания тромбоцитов к пробирке возможно снижение их истинного числа. Для устранения этого фактора рекомендуется использование пробирок, покрытых изнутри слоем силикона (силиконированных).

### **УНИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ПОДСЧЕТА КОЛИЧЕСТВА ТРОМБОЦИТОВ В МАЗКАХ КРОВИ ПО ФОНИО**

#### **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 слипание тромбоцитов, способствуя их равномерному распределению в мазке.

#### **Ход работы.**

В капилляр Панченкова набирают один из реактивов до метки «75», выдувают в серологическую пробирку.

Этим же капилляром берут кровь из пальца до метки «0» (К), выдувают ее пробирку с реактивом, перемешивают.

Готовят из смеси тонкие мазки, высушивают их, фиксируют и окрашивают 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 Фолио. 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 1л крови, производят расчет содержания тромбоцитов в 1л крови по формуле:

$$X = \frac{A \cdot B}{1000}, \text{ где } X \text{ – количество тромбоцитов в 1л}$$

A – количество тромбоцитов на 1000 эритроцитов  
B – количество эритроцитов в 1л крови.

Пример. При подсчете 1000 эритроцитов встретилось 65 тромбоцитов.  
Количество эритроцитов в 1л крови составляет  $4,5 \cdot 10^{12}/л$ .

$$X = \frac{65 \cdot 4,5 \cdot 10^{12}}{1000} = 292 \cdot 10^9/л.$$

### 3. Самостоятельная работа студентов

1. Законспектировать методику подсчета тромбоцитов в крови методом Фолио.
2. Используя ограничитель поля зрения, подсчитать в готовых окрашенных мазках крови количество тромбоцитов, встречающихся при подсчете 1000 эритроцитов.
3. При подсчете вести запись по образцу:

Эритроциты	Тромбоциты
------------	------------

47	5
51	1
52	-
50	3
...	...
...	...
$\Sigma 1000$	$\Sigma$

4. Рассчитать количество тромбоцитов в 1л крови при количестве эритроцитов  $4,5 \cdot 10^{12}/л$ .
5. Зарисовать морфологию тромбоцитов

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5.Подведение итогов.**

#### **6.Домашнее задание:** лекция № 10

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 21 ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АНЕМИЙ. ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ АНЕМИЯХ**

### **Значение темы:**

Описание морфологии эритроцитов входит в общий анализ крови, являясь его обязательным компонентом. Особенно необходимо тщательное исследование морфологии эритроцитов при анемиях.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- значение гематологических исследований в диагностике анемий;
- причины и виды анемий,
- лабораторные признаки анемий,
- морфология эритроцитов в норме и при различных видах анемий;

### **уметь:**

- выявлять отклонения от нормальной морфологии эритроцитов.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Что такое «анемия»?
2. Классификация анемий по причине возникновения
3. Деление анемий по величине ЦПК
4. Деление анемий по регенеративным способностям костного мозга
5. Лабораторные признаки анемий
6. Перечислите изменения морфологии эритроцитов при анемиях
7. Причины и виды анизоцитоза
8. Виды пойкилоцитоза
9. Анизохромия эритроцитов
10. Ядерные дериваты эритроцитов

### **2. Содержание темы**

#### **ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА И АРТЕФАКТЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА МОРФОЛОГИЮ ЭРИТРОЦИТОВ**

Патологическая зернистость в эритроцитах может появиться при приеме сульфаниламидов, отравлении анилиновыми красителями, свинцом.

При длительном контакте эритроцитов с ЭДТА (антикоагулянт) они могут приобретать зубчатую форму, которая характеризуется появлением на поверхности эритроцитов множества правильно расположенных объёмных выступов.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ

Морфологию эритроцитов исследуют в мазках крови, окрашенных обычными гематологическими методами (по Романовскому, Нохту, Паппенгейму).

Микроскопируют окрашенные мазки с иммерсионной системой: объектив 90х, окуляр 7х или 10х, конденсор поднят.

Для получения полного представления о морфологии эритроцитов необходимо просмотреть несколько полей зрения. Оценивать морфологию эритроцитов следует только в тонких местах мазка, где эритроциты расположены одиночно и не образуют «монетных столбиков».

При обнаружении какого-либо изменения морфологии эритроцитов в препарате это обязательно указывается в бланке результата анализа.

Выраженность анизоцитоза, пойкилоцитоза, анизохромии оценивают либо цифрами, либо словами, либо по системе плюсов. Например:

- 1 - незначительный анизоцитоз (+) - около 25% эритроцитов отличается размером от нормальных эритроцитов;
- 2 - умеренный анизоцитоз (++) - примерно 50% эритроцитов отличается размером от нормоцитов;
- 3 - выраженный анизоцитоз (+++) - 70-75% и больше эритроцитов отличается от размеров нормальных эритроцитов;
- 4 - резко выраженный анизоцитоз (++++) - почти все эритроциты отличаются размером от нормоцитов.

Отмечая наличие того или иного изменения морфологии эритроцитов, следует указать также конкретный вид этого изменения. Например:

- Анизоцитоз (++) – микроцитоз;
- Анизоцитоз (+) смешанный;
- Пойкилоцитоз (+++) – овалоцитоз;
- Пойкилоцитоз (++) – стоматоцитоз;
- Анизохромия (+++) - гипохромия.

При наличии в эритроцитах включений обычно указывают их вид и количество в поле зрения (препарате). Например:  
Базофильная пунктация эритроцитов 0-1 в поле зрения;

Тельца Жолли - единичные в препарате.

В некоторых случаях врачам требуется более точная информация о выраженности базофильной пунктации. Тогда по специальному направлению сосчитывают 10 000 эритроцитов, отмечая среди них количество эритроцитов с базофильной пунктацией. В норме на 10 000 эритроцитов приходится от 0 до 3-4 эритроцитов, содержащих базофильную пунктацию.

### **3. Самостоятельная работа студентов:**

1. Изучить морфологию эритроцитов в норме и при анемиях с помощью обучающей компьютерной программы RBTutor.
2. Промикроскопировать готовые окрашенные препараты крови больных анемией, оценивая морфологию эритроцитов.
3. Результаты исследования оформить в виде таблицы:

Изменение морфологии эритроцитов		
	выраженность	вид
Анизоцитоз		
Пойкилоцитоз		
Анизохромия		
Включения в эритроцитах		

4. Зарисовать морфологию эритроцитов в норме, виды анизоцитоза, пойкилоцитоза, анизохромии, включения в эритроциты .

### **4. Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

### **5. Подведение итогов.**

### **6. Домашнее задание: лекция № 10**

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 22 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМАТОКРИТА. КАРТИНА КРОВИ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ, ПОСТГЕМОРАГИЧЕСКИХ АНЕМИЯХ.**

### **Значение темы:**

Железодефицитные анемии относятся к наиболее часто встречающимся в клинической практике



На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение гематокрита;
- этиология постгеморрагических и железодефицитных анемий, картина крови при них;

**уметь**:

- проводить определение гематокрита,
- Выявлять характерные для железодефицитных анемий изменения морфологии эритроцитов.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**1. Контроль исходного уровня:**

1. Причины развития острой постгеморрагической анемии
2. Стадии острой постгеморрагической анемии: первая фаза
3. Гидремическая фаза острой постгеморрагической анемии
4. Стадия костномозговой компенсации острой постгеморрагической анемии
5. Причины хронической постгеморрагической анемии

6. Критерии диагностики хронической постгеморрагической анемии
7. Сущность железодефицитной анемии
8. Причины железодефицитной анемии: кровопотери
9. Другие причины железодефицитных анемий
10. Критерии диагностики железодефицитных анемий
11. Причины железонасыщенных анемий
12. Сущность сидероахрестических анемий
13. Критерии диагностики сидероахрестических анемий

## 2. Содержание темы

### ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА, ВЛИЯЮЩИЕ НА ГЕМАТОКРИТНУЮ ВЕЛИЧИНУ

Показатель гематокрита снижается при положении больного лежа (на 5,7%), после еды (на 10%), а также в промежутке между 07.00 и 17.00.

Расчетная величина гематокрита, определяемая на гематологических автоматах, ниже на 2%, чем определяемая методом центрифугирования.

Нельзя использовать в качестве антикоагулянта оксалат натрия, так как его применение значительно занижает результаты по сравнению с гепаринизированной кровью.

### УНИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕМАТОКРИТА С ПОМОЩЬЮ МИКРОЦЕНТРИФУГИ

Гематокрит отражает соотношение объема плазмы и форменных элементов крови. За гематокритную величину принято считать объем эритроцитов.

#### **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 (готовый раствор содержит 5000 ЕД/мл, его разводят 1:5) или 2. Раствор трилона Б (ЭДТА) – 4%.

**Ход определения.**

В предварительно обработанный антикоагулянтом и высушенный капилляр набирают кровь из пальца на  $\frac{7}{8}$  длины капилляра.

Укупоривают капилляры с одного конца специальной пастой (или пластилином) и помещают их в ротор центрифуги так, чтобы укупоренные концы упирались в резиновую прокладку.

Центрифугируют 5 минут при 8000 об/мин.

По специальной шкале, приложенной к центрифуге, определяют гематокритную величину.

Гематокрит также можно определить:

Унифицированным микрометодом в модификации Й. Тодорова, при котором ход анализа аналогичен описанному выше, но вместо специальной центрифуги и капилляров используются капилляры Панченкова, обрезанные с верхнего конца до длины 10см, и подходящая центрифуга.

С помощью гематологических автоматов.

### **Нормальные величины**

мужчины - 40-48%;

женщины – 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.

### **3.Самостоятельная работа студентов:**

1. Изучить морфологию эритроцитов при железодефицитной анемии с помощью обучающей компьютерной программы РВТutor.
2. Промикроскопировать готовые мазки крови больных железодефицитной анемией, обращая особое внимание на морфологию эритроцитов.
3. Подсчитать лейкоцитарную формулу в предложенных мазках.
4. Результаты исследования оформить в виде таблицы:

Микроскопия окрашенного мазка крови		
Морфология эритроцитов	Лейкоформула, %	
Анизоцитоз	Н п/я	Б
Пойкилоцитоз	Н с/я	Л
Анизохромия	Э	Мон
Включения	Признаки дегенерации L	

5. Зарисовать картину крови при железодефицитной анемии
6. Законспектировать методику определения гематокрита.
7. Подготовить рабочее место для исследования, определить гематокрит.
8. Оценить полученные результаты.

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5. Подведение итогов.**

#### **6. Домашнее задание:** лекция № 11

### **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 23 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА РЕТИКУЛОЦИТОВ. КАРТИНА КРОВИ ПРИ В-12 ДЕФИЦИТНЫХ АНЕМИЯХ, ГИПО-И АПЛАСТИЧЕСКИХ АНЕМИЯ.**

#### **Значение темы:**

При дефиците витамина В<sub>12</sub> нарушается деление и созревание клеток костного мозга, особенно красного ряда. Причиной резкой анемизации при В<sub>12</sub>- дефицитной анемии является также расстройство митотических процессов: один мегалобласт продуцирует всего 2 мегалоцита, в то время как один эритробласт - 8 эритроцитов.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- Повторить знания о гематокрите.
- Закрепить и систематизировать теоретические знания о ретикулоцитах, В-12 дефицитных и гипо(а)пластических анемиях.

#### **уметь:**

- подсчитывать количество ретикулоцитов в мазках крови
- выявлять характерные для железодефицитных анемий изменения морфологии эритроцитов.

#### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Что такое гематокрит?
2. Как его определяют?
3. Значения гематокрита в норме
4. Причины В-12 дефицитных анемий
5. Изменение гемопоэза при В-12 дефицитных анемиях
6. Морфология мегалоцитов
7. Картина крови при В-12 дефицитных анемиях
8. Причины гипо(а)пластических анемий
9. Картина крови при гипо(а)пластических анемиях
10. Морфология ретикулоцитов
11. Количество ретикулоцитов в норме
12. Клиническое значение количества ретикулоцитов
13. Б. Работа на компьютере по обучающей программе «Blood Tutor»  
Демонстрация рисунков и фильма:
14. Erythrocyte maturation Sequence - демонстрация процесса созревания эритроцитов в норме
15. Vitamin B-12 Deficiency - картина крови при В-12 дефицитных анемиях

### **2. Содержание темы**

#### **ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА, ВЛИЯЮЩИЕ НА КОЛИЧЕСТВО РЕТИКУЛОЦИТОВ**

Повышенный уровень глюкозы крови может привести к ложно заниженным результатам уровня ретикулоцитов.

Накануне исследования не рекомендуется прием антибиотиков, сульфаниламидов, анальгетиков.

Подсчет количества ретикулоцитов в окрашенном мазке крови следует проводить не позднее, чем через 1-2 часа после его приготовления.

## УНИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ПОДСЧЕТА КОЛИЧЕСТВА РЕТИКУЛОЦИТОВ

### **Принцип.**

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

### **Реактивы.**

Можно использовать один из следующих реактивов:

- Насыщенный раствор бриллиантового крезилового синего в абсолютном спирте;
- Раствор азура I - 1%;
- 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 дав 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 + 1 каплю 1% оксалата калия; вносят туда 2 капилляра Сали (0,04 мл) 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 методом мазок микроскопируют с иммерсионной системой: окуляр 7 X, объектив 90 X, 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 выражают на 1000 эритроцитов, в процентах или в промилле. 1 промилле (‰) = 1/1000.

### 3. Самостоятельная работа студентов:

1. Законспектировать методику определения количества ретикулоцитов.
2. Приготовить мазок крови для подсчета ретикулоцитов.
3. Подсчитать количество ретикулоцитов, используя при подсчете следующую форму записи:

эритроциты	ретикулоциты
47	-
51	1
52	-
50	2
...	
...	...
	...
$\Sigma 1000$	$\Sigma$

5. Оценить полученные результаты.
6. Зарисовать морфологию ретикулоцитов.
7. Промикроскопировать готовые препараты крови больных В-12 дефицитной анемией, оформить результаты исследования в виде таблицы:

Микроскопия окрашенного мазка крови		
Морфология эритроцитов	Лейкоформула, %	
Анизоцитоз	Н п/я	Б
Пойкилоцитоз	Н с/я	Л
Анизохромия	Э	Мон
Включения	Признаки дегенерации L	

8. Зарисовать картину крови при В-12 дефицитной анемии .

#### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

#### 5.Подведение итогов.

6.Домашнее задание: лекция № 11

### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 24 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ. КАРТИНА КРОВИ ПРИ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ АНЕМИЯХ.

#### Значение темы:

Изменение осмотической резистентности эритроцитов является основным лабораторным показателем гемолитических анемий.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- диагностическое значение определения осмотической резистентности эритроцитов;
- причины и виды гемолитических анемий, картина крови при них;

#### уметь:

- проводить определение осмотической резистентности эритроцитов.

#### овладеть ОК и ПК

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.



ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1. Контроль исходного уровня:**

1. Какие анемии называются гемолитическими?
2. Классификация гемолитических анемий
3. Наследственные гемолитические анемии
4. Приобретенные гемолитические анемии
5. Картина крови при гемолитических анемиях

### **2. Содержание темы:**

#### **ФАКТОРЫ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА, ВЛИЯЮЩИЕ НА ОСМОТИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ**

Нельзя использовать в качестве антикоагулянта оксалат или цитрат натрия. Свежая кровь с антикоагулянтом сохраняется в течение 2 часов при комнатной температуре.

#### **УНИФИЦИРОВАННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ**

Под резистентностью (стойкостью) клеток понимают их способность противостоять разрушительным воздействиям: осмотическим, механическим, тепловым, химическим и др. В клинической практике наибольшее распространение получило определение осмотической резистентности эритроцитов.

В растворе с осмотическим давлением, равным осмотическому давлению крови, эритроциты не изменяются. Солевой раствор, имеющий осмотическое давление, одинаковое с осмотическим давлением крови, называется изотоническим. Изотоническим солевым раствором для эритроцитов является 0,85% раствор хлорида натрия. Часто 0,85% раствор NaCl называют ещё физиологическим (физраствор).

В гипертонических солевых растворах эритроциты сморщиваются, а в гипотонических – набухают и разрушаются (гемолизируются).

Осмотическую резистентность эритроцитов исследуют по отношению к гипотоническим растворам хлорида натрия разной концентрации. Концентрацию хлорида натрия, при которой начинают гемолизироваться первые, наиболее слабые эритроциты, принимают за начало гемолиза, а при которой разрушаются все эритроциты – за полный гемолиз.

### **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.

3. Гепарин.

**Оборудование:** 14 центрифужных пробирок;

- пипетки на 5 мл, капилляры Сали;
- оборудование для прокола кожи;
- центрифуга, ФЭК.

### **Ход определения.**

В две стерильные пробирки, содержащие по 2 капли гепарина, вносят по 1,5мл крови, хорошо перемешивают.

Кровь из одной пробирки используют сразу для исследования, а вторую ставят на сутки в термостат при 37°C.

В 14 центрифужных пробирках готовят ряд разведений из рабочего раствора хлорида натрия в соответствии с таблицей:

№ пробирок	Количество 1% NaCl, мл	Дистил. вода, мл	Концентрация 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 каждую пробирку вносят по 1 капилляру Сали гепаринизированной крови.

Перемешивают содержимое всех 14 пробирок, начиная с первой, и оставляют стоять 30 минут при комнатной температуре.

Центрифугируют содержимое пробирок в течение 5 минут при 2000 об/мин.

Колориметрируют надосадочные жидкости пробирок №№ 2-14 при условиях: светофильтр – зеленый (длина волны 500-560нм);

кювета 10 мм;

против холостой пробы.

Холостая проба - надосадочная жидкость в пробирке, содержащей 1% раствор NaCl (пробирка № 1).

На следующий день повторяют 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  $X = \frac{E_x \cdot 100}{E_{14}}$ , 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.

Пример.

Экстинция надосадочной жидкости в пробирке № 10 составляет 0,66; экстинция надосадочной жидкости в пробирке № 14 - 0,88.

Гемолиз эритроцитов при концентрации хлорида натрия 0,4% (в пробирке

№ 10) равен

$$X = \frac{0,66 \cdot 100}{0,88} = 75\%$$

### 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.

### 3. Самостоятельная работа студентов:

1. Законспектировать методику.
2. Определить осмотическую резистентность эритроцитов, заполнить свободные столбцы таблицы.
3. Оформить результаты исследования в следующей форме:

дата	ФИО обследуемого
Осмотическая резистентность эритроцитов	
	Концентрация NaCl, %

Начало гемолиза	
Конец гемолиза	

4. Оценить полученные результаты.

5. Зарисовать картину крови при различных видах гемолитических анемий (талассемии, наследственном микросфероцитозе, серповидноклеточной анемии, наследственном овалоцитозе)

#### **4.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

#### **5.Подведение итогов.**

**6.Домашнее задание:** лекция № 12

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 25 ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ. ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗАХ.**

### **Значение темы:**

Гематологические показатели играют важное значение в диагностике лейкозов

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать:**

- значение исследования крови в диагностике острых лейкозов;
- причины и виды лейкозов,
- классификация острых лейкозов,
- картина крови при острых лейкозах,
- морфология бластных клеток;
- диагностическое значение цитохимических исследований при острых лейкозах;
- результаты основных цитохимических реакций при острых лейкозах;

### **уметь:**

- выявлять бластные клетки.
- оценка результатов цитохимических реакций.

### **овладеть ОК и ПК**

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 11. Быть готовым брать на себя нравственные обязательства по отношению к природе, обществу и человеку.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

### **1.Контроль исходного уровня:**

1. Дайте определение понятию «Лейкозы»
2. Какое явление лежит в основе развития лейкозов?
3. Что такое клоновый характер роста лейкозов?
4. Причины развития лейкозов
5. Принцип деления лейкозов на острые и хронические
6. Что такое анаплазия?
7. Дайте определение понятию «Опухолевая прогрессия»
8. Материалы и методы для диагностики лейкозов
9. Виды лейкозов
10. Клинические проявления острых лейкозов
11. Картина крови при острых лейкозах
12. Морфология бластных клеток
13. Особенности лейкозных клеток
14. Миелодиспластический синдром: отличие от острых лейкозов.

## 2.Содержание темы

Цитохимические исследования основаны на определении различных веществ прямо в клетках путем проведения в них специфических химических реакций. Эти исследования позволяют изучить наличие и ориентировочно оценить количество определяемых веществ в клеточных элементах. Особенно большое значение в гематологической практике цитохимические методы имеют для определения цитоморфологического варианта острого лейкоза, что необходимо для назначения эффективной дифференцированной химиотерапии.

Цитохимические исследования при лейкозах проводят обычно в мазках крови, пунктатах костного мозга и лимфатических узлов.

При цитохимических исследованиях чаще пользуются полуколичественной оценкой результатов, основанной на выявлении различной степени интенсивности специфической окраски. Различают четыре типа реакций: отрицательную (-), слабopоложительную (+), положительную (++) и резко положительную (+++). При оценке PAS – реакции обязательно указывается также характер распределения гликогена (диффузный, диффузно-гранулярный, гранулярный).

В настоящее время предложен достаточно большой набор цитохимических маркёров. К обязательным при лейкозах цитохимическим реакциям относится определение:

миелопероксидазы и/или липидов;

гликогена;

активности неспецифических эстераз:  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы и/или  $\alpha$ -нафтилбутиратэстеразы с оценкой чувствительности реакции к ингибции фторидом натрия.

### МИЕЛОПЕРОКСИДАЗА (МПО)

Пероксидаза является ферментом, разрушающим перекись водорода, которая образуется в клетке в процессе жизнедеятельности. Токсичная для клеток перекись водорода обезвреживается путём расщепления её пероксидазой на воду и атомарный кислород.

Пероксидаза обнаруживается не во всех клетках крови. Этот фермент постоянен для всех элементов миелоидного ряда и не содержится в лимфоидных клетках. Ввиду его специфичности для нейтрофилов с ранних фаз созревания фермент получил название миелопероксидазы, или маркёра клеток миелоидного ряда.

Определение миелопероксидазы в практической медицине используется для дифференциации миелобластов (имеющих высокую активность МПО), от лимфобластов (в которых МПО отсутствует).

### ВЫЯВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ МПО МЕТОД ГРЕХЕМА-КНОЛЛЯ

#### **Принцип.**

Пероксидаза расщепляет перекись водорода на воду и атомарный кислород, который окисляет бензидин с образованием соединения коричневого цвета.

#### **Реактивы:**

4% раствор формалина: 10 частей 40% формалина + 90 частей 96% спирта  
Инкубационный раствор: небольшое количество бензидина (на кончике ножа) растворяют в 5мл 70% спирта и добавляют 1-2 капли 3% раствора H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Раствор готовят перед использованием  
Раствор гематоксилина.

#### **Ход определения.**

- Мазки фиксируют, заливая их на 1 минуту 4% формалино-спиртовым раствором. Промывают проточной водой и высушивают.
- Заливают на 30 минут инкубационным раствором
- Промывают проточной водой, высушивают
- Докрашивают гематоксилином в течение 10-15 минут
- Промывают в проточной воде 10-15 минут, высушивают.
- Оценка реакции. Пероксидаза выявляется в цитоплазме клеток в виде коричневых гранул.

### ЛИПИДЫ

Липиды входят в состав многих клеток крови. Выявляются при окрашивании красителями, растворимыми в жирах - суданом черным В, суданом III и др.

Обычно липиды выявляются в бластных клетках одновременно с миелопероксидазой, но могут обнаруживаться в миелобластах при отсутствии МПО, то есть являются более чувствительным маркером миелоидной дифференцировки.

### ВЫЯВЛЕНИЕ ЛИПИДОВ СУДАНОМ ЧЕРНЫМ В

#### **Принцип.**

Судан черный В растворяется в жирах клетки, окрашивая их в черный цвет.

#### **Реактивы:**

Раствор судана черного В (0,3г на 100 мл абсолютного этанола)



Буфер: 16г кристаллического фенола растворяют в 30мл абсолютного этанола + 100мл дистиллированной воды

Рабочий раствор: 40мл буфера + 60 мл раствора судана черного В.

#### **Ход определения.**

Мазки фиксируют в парах формалина 5-10 минут Промывают в проточной воде Помещают мазки на 1 час в рабочий раствор

Промывают 2-3 минуты 30% спиртом

Докрашивают мазки гематоксилином или метиловым зеленым

Промывают в проточной воде 10-15 минут, высушивают.

**Оценка результатов.** Липиды выявляются в клетках в виде гранул черного цвета.

### ГЛИКОГЕН

Гликоген (полисахариды) локализуется в цитоплазме клеток, играя важную роль в обеспечении их энергией. При цитохимическом исследовании гликогена используется чаще всего PAS- или ШИК-реакция (по названию реактива шифф-йодная кислота).

Для миелобластов характерна слабодиффузная или отрицательная PAS-реакция, тогда как в лимфобластах при острых лимфолейкозах PAS - реакция выявляется в виде крупных гранул.

#### **PAS - реакция метод Mc Manus**

##### **Принцип.**

Йодная кислота (HIO<sub>4</sub>) окисляет гликольские группы гликогена с образованием альдегидных соединений, которые с реактивом Шиффа дают красное окрашивание.

##### **Реактивы:**

Фиксатор – 9 частей метилового спирта и 1 часть 40% формалина

1% раствор йодной кислоты

1 N раствор соляной кислоты

Реактив Шиффа (фуксин-сернистая кислота)

Раствор гематоксилина.

##### **Ход определения.**

Фиксируют мазки в течение 10-12 минут

Промывают в проточной воде 2 минуты, слегка просушивают

Помещают в раствор йодной кислоты на 10 минут

Промывают в дистиллированной воде, высушивают

Помещают в реактив Шиффа на 30 минут

Промывают в проточной воде 5 минут

Докрашивают раствором гематоксилина 10-12 минут

Промывают в проточной воде 10-15 минут, высушивают.

**Оценка результатов.** Гликоген выявляется в виде гранул красного цвета.

Кроме гликогена, положительную реакцию могут давать также такие ШИК-положительные вещества, как кислые и нейтральные мукополисахариды, мукопротеиды, гликопротеиды и др. Гликоген дифференцируют от других веществ путем инкубации препаратов в растворе амилазы, которая расщепляет гликоген и он в инкубированных препаратах не обнаруживается. На другие PAS – положительные вещества амилаза не действует.

## ЭСТЕРАЗЫ

Термином «эстеразы» или «неспецифические эстеразы» обозначают группу ферментов, гидролизующих эфиры карбоновых кислот. Неспецифические эстеразы локализируются в цитоплазме клеток, главным образом в лизосомах. Наибольшая активность эстераз обнаруживается в моноцитах. Для определения активности ферментов используют различные субстраты:  $\alpha$ -нафтилацетат, нафтол-AS-ацетат,  $\beta$ -нафтилацетат и др. В качестве специфического маркера моноцитов обычно используется  $\alpha$ -нафтилацетатэстераза. Этот фермент содержится преимущественно в моноцитах и ингибируется фторидом натрия в отличие от других клеток крови (промиелоцитов, миелобластов и др.), в которых фторид натрия активность фермента не подавляет.

### **Выявление активности $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы методом Лёффлера**

#### **Принцип.**

Эстераза вызывает гидролиз  $\alpha$ -нафтилацетата с образованием свободного нафтола, который с солями диазония дает цветное окрашивание.

Реактивы:

Фиксатор – 40% формалин

Инкубационная смесь: 0,5мл 1% раствора  $\alpha$ -нафтилацетата добавляют к 2,5 мл 0,15М фосфатного буфера с рН 8,0 и 25 мл дистиллированной воды. В этой смеси растворяют 12,5 мг синего прочного ВВ.

Раствор гематоксилина

Фторид натрия

#### **Ход определения.**

Свежие сухие мазки фиксируют в парах формалина 10 минут

Промывают дистиллированной водой

Один мазок помещают в инкубационную смесь на 1 час в темное место

Другой мазок помещают в инкубационную смесь с добавлением 42мг фторида натрия на тот же срок Промывают мазки в проточной воде 2-3 минуты Докрашивают раствором гематоксилина в течение 10-15 минут

Промывают дистиллированной водой 10-15 минут, высушивают.  
Оценка результатов. Активность фермента выявляется в виде черно-коричневых гранул.

### Цитохимическая характеристика бластных клеток при острых лейкозах

Вариант острого лейкоза	МПО	липиды	PAS- реакция	Неспецифич. эстераза
Миело-бластный	++	++	В диффузной форме	Не подавляется NaF
Промиело-цитарный	+++	+++	В диффузной форме	Не подавляется NaF
Миело-моно-бластный	+	+	В диффузной или диффузно-гранулярной форме	Частично подавляется NaF
Моно-бластный	+/-	+/-	В диффузной или диффузно-гранулярной форме	Подавляется NaF
Эритро-миелоз	+/-	+/-	Бласты диффузно	Не подавляется NaF
Лимфо-бластный	-	-	гранулярно	-
М-0	-	-	-	-

### 3. Самостоятельная работа студентов:

1. Изучить морфологию бластных клеток и картину крови при острых лейкозах с помощью обучающей компьютерной программы PBTutor.
2. Промикроскопировать готовые препараты крови больных острым лейкозом, обращая особое внимание на морфологию бластных клеток.

3. Подсчитать лейкоцитарную формулу в мазках крови (200 клеток), оформить результат исследования в виде таблицы
4. Зарисовать картину крови при острых лейкозах –
5. Законспектировать методики проведения цитохимических реакций
6. Промикроскопировать готовые препараты крови, оценивая результат цитохимических реакций

дата	ФИО обследуемого	
Микроскопия окрашенного мазка крови		
Морфология эритроцитов	Лейкоформула, %	
Анизоцитоз	Н п/я	Б
Пойкилоцитоз	Н с/я	Л
Анизохромия	Э	Мон
Включения	Бластные клетки	
	Признаки дегенерации L	

#### 4.Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

#### 5. Подведение итогов.

6.Домашнее задание: лекция № 12

### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 26 МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ.

#### Значение темы:

Важное значение имеет исследования крови при хронических миелоидных формах лейкоза.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- значение исследования крови в диагностике хронических миелолейкозов;
- виды миелопролиферативных заболеваний,
- картина крови при хроническом миелолейкозе,
- эритремии,
- хроническом моноцитарном лейкозе;

**уметь:**

- выявлять отклонения от нормы в анализе крови.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**1. Контроль исходного уровня:**

1. Какие лейкозы относятся к хроническим?
2. Отличие хронических лейкозов от острых лейкозов
3. Виды хронических лейкозов
4. Виды миелопролиферативных заболеваний
5. Хронический миелолейкоз субстрат опухоли, картина крови, специфические маркёры
6. Эритремия: субстрат опухоли, картина крови
7. Хронический моноцитарный лейкоз: субстрат опухоли, картина крови, специфические маркеры

**2. Самостоятельная работа студентов:**

1. Изучить картину крови при миелопролиферативных заболеваниях с помощью обучающей компьютерной программы РВТutor.

2. Промикроскопировать готовые препараты крови больных хроническим миелолейкозом, обращая внимание на особенности морфологии лейкоцитарно измененных лейкоцитов.
3. Подсчитать лейкоцитарную формулу в мазках крови (200 клеток). При идентификации клеток нейтрофильного ряда разной степени зрелости использовать рисунок «Стадии созревания нейтрофилов».
4. Результаты исследования оформить в виде таблицы, оценить их.

Дата	ФИО обследуемого	
Микроскопия окрашенного мазка крови		
Морфология эритроцитов	Лейкоформула, %	
Анизоцитоз	Бласты	Нс/я
Пойкилоцитоз	Промиелоциты	Э
Анизохромия	Миелоциты	Б
Включения	Метамиелоциты	Л
	Нп/я	Мон
	Признаки дегенерации L	

5. Зарисовать картину крови при хроническом миелолейкозе

### 3. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.

### 4. Подведение итогов.

5. Домашнее задание: лекция № 13.

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 27 ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ.

### Значение темы:

Пик заболеваемости острыми лейкозами приходится на периоды становления иммунитета (3-5 лет) и его угасания (50-55 лет), причем острым лимфобластным лейкозом болеют в основном дети, а острым миелобластным – взрослые.

Клинические проявления острых лейкозов независимо от варианта острого лейкоза характеризуются триадой: анемией, инфекционными

осложнениями и геморрагическим синдромом. Анемия приводит к повышенной утомляемости, одышке, сердцебиению, бледности кожных покровов и слизистых оболочек. Гранулоцитопения способствует присоединению инфекций верхних дыхательных путей, ангины, пневмонии, септических осложнений. Геморрагический синдром проявляется кровотечениями, гематурией, кровоизлияниями в головной мозг, сетчатку глаза и любой другой орган.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- значение исследования крови в диагностике хронических лимфолейкозов и лейкомоидных реакций;
- виды лимфопролиферативных заболеваний,
- картина крови при хроническом лимфолейкозе и миеломной болезни;
- лейкомоидные реакции,
- картина крови при инфекционном мононуклеозе;

**уметь**:

- Выявлять отклонения от нормы в анализе крови.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

**1.Контроль исходного уровня:**

1. Какие лейкозы относятся к хроническим?

2. Отличие хронических лейкозов от острых лейкозов
3. Виды хронических лейкозов
4. Виды миелопролиферативных заболеваний
5. Хронический миелолейкоз: субстрат опухоли, картина крови, специфические маркёр
6. Эритремия: субстрат опухоли, картина крови
7. Хронический моноцитарный лейкоз: субстрат опухоли, картина крови, специфические маркеры
8. Картина крови при хроническом лимфолейкозе,
9. Картина крови при пролимфоцитарном лейкозе,
10. Картина крови при волосатоклеточном лейкозе,
11. Картина крови при миеломной болезни.

## 2. Самостоятельная работа студентов:

1. Изучить картину крови при лимфопрлиферативных заболеваниях с помощью обучающей компьютерной программы RBTutor.
2. Промикроскопировать готовые препараты крови больных хроническим лимфолейкозом, обращая внимание на морфологию лейкозно измененных лейкоцитов.
3. Подсчитать лейкоцитарную формулу в мазках крови (200 клеток).
4. Оформить результаты исследования в виде таблицы, оценить их.

Дата	ФИО обследуемого	
Микроскопия окрашенного мазка крови		
Морфология эритроцитов	Лейкоформула, %	
Анизоцитоз	Н п/я	Б
Пойкилоцитоз	Н с/я	Л
Анизохромия	Э	Мон
Включения	Клетки лейколиза	Пролимфоциты

5. Зарисовать картину крови при различных формах лимфопрлиферативных заболеваний (хроническом лимфолейкозе, пролимфоцитарном лейкозе, волосатоклеточном лейкозе, миеломной болезни)

## 3. Итоговый контроль знаний.

Тестирование.



#### **4. Подведение итогов.**

**5. Домашнее задание:** лекция № 14 .

### **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 28 САМОСТОЯТЕЛЬНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ.**

#### **Значение темы:**

Общий анализ крови наиболее распространённый вид исследования в лабораторной диагностике.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен

#### **знать:**

- Виды лейкозов

#### **уметь**

- выявление отклонений от нормы в анализе крови.

#### **овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Ориентироваться в условиях смены технологий в профессиональной деятельности.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ОК 13. Организовывать рабочее место с соблюдением требований охраны труда, производственной санитарии, инфекционной и противопожарной безопасности

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

#### **2. Самостоятельная работа студентов:**

1. Провести общий анализ крови.
2. Результаты исследования оформить в виде таблицы:

ФИО	дата	гемоглобин	СОЭ	лейкоциты	эритроциты	ЦПК

1. Подсчитать лейкоцитарную формулу в предложенном мазке крови.
2. Результаты подсчета лейкоформулы оформить в виде таблицы:

ФИО	Лейкоцитарная формула, %						Изменение морфологии лейкоцитов
	Н п/я	Н с/я	Э	Б	Л	Мон	

3. Оценить полученные результаты.

### **3.Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

### **4. Подведение итогов.**

**5.Домашнее задание:** лекция № 1-14

## **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 29 АВТОМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА КЛЕТОК КРОВИ (УРОК-ЭКСКУРСИЯ)**

### **Значение темы:**

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.

На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать**:

- Устройством современной автоматической лаборатории.
- Типами гематологических анализаторов.
- Принципами работы анализаторов.
- Показателями, определяемыми гематологическими анализаторами

**Уметь**

- Работать на гематологическом анализаторе
- соблюдать правила ТБ

**овладеть ОК и ПК**

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 3. Принимать решения в стандартных и нестандартных ситуациях и нести за них ответственность.

ОК 5. Использовать информационно-коммуникационные технологии для совершенствования профессиональной деятельности

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 9. Быть готовым к смене технологий в профессиональной деятельности.

ОК 10. Бережно относиться к историческому наследию и культурным традициям народа, уважать социальные, культурные и религиозные различия.

Студент должен овладеть профессиональными компетенциями

ПК 2.1 Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

**1.Контроль исходного уровня:**

1. принцип работы гематологических автоматов;
2. правила работы на гематологических автоматах;
3. параметры крови, определяемые на гематологических анализаторах.
4. классы гематологических анализаторов
5. параметры, определяемые с помощью анализаторов крови
6. определение концентрации гемоглобина на анализаторах
7. количества эритроцитов и лейкоцитов на гематологических автоматах
8. подсчет эритроцитарных коэффициентов
9. причины возможных ошибок при проведении исследований крови с помощью гематологических анализаторов.

## 10.Преимущества и недостатки гематологических анализаторов.

### 2.Содержание темы:

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.

**Концентрация гемоглобина (HGB)** в большинстве гематологических анализаторов определяется гемиглобинцианидным методом. Некоторые особенности крови при заболеваниях могут привести к завышению результатов определения гемоглобина: лейкоцитоз более  $30 \cdot 10^9/\text{л}$ , 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 фл = 1мкм<sup>3</sup>. 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.

#### 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 <sup>12</sup> /л М: 5,4±0,8·10 <sup>12</sup> /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 Нв в эритроцитах	34±2 г/дл
RDW	Коэффициент анизотропии эритроцитов	11,5 – 14,5%
WBC	Количество лейкоцитов	4,0 – 9,0 ·10 <sup>9</sup> /л
GRAN	Количество гранулоцитов	
NEUT	Количество нейтрофилов	48-78%

		2,04-5,8·10 <sup>9</sup> /л
EO	Количество эозинофилов	0,5-5% 0,02-0,30·10 <sup>9</sup> /л
BASO	Количество базофилов	0-1% 0-0,065·10 <sup>9</sup> /л
MONO	Количество моноцитов	3-11% 0,09-0,60·10 <sup>9</sup> /л
LYMPH	Количество лимфоцитов	19-37% 1,20-3,00·10 <sup>9</sup> /л
PLT	Количество тромбоцитов	180-320·10 <sup>9</sup> /л
PDW	Коэффициент анизотропии тромбоцитов	11,5-15,5%
MPV	Средний объем тромбоцита	8-12фл

**Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС)** 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 не имеет.

**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 при большом количестве микроцитов и шизоцитов.

**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.

## **2. Самостоятельная работа студентов:**

1. забор капиллярной крови в вакутейнер
2. Подготовка к работе гематологического анализатора
3. проведение исследования на гематологическом анализаторе
4. Оценить результаты исследования

## **4. Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

## **5. Подведение итогов.**

## **6. Домашнее задание: лекция № 15**

# **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 30 АТТЕСТАЦИЯ ПО ТЕМЕ «ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ»**

## **Значение темы:**

Контроль знаний и умений по дисциплине гематология  
На основе теоретических знаний и практических умений обучающийся должен **знать:**

- Теоретические аспекты гематологических исследований .

Контроль умений по дисциплине:

- Организация рабочего места
- подготовка растворов и реагентов,
- Взятие крови из пальца
- Проведение исследования общего анализа крови
- Оформление результатов исследования в виде таблицы.
- Оценка полученных результатов.
- Дезинфекция отработанного материала.

**овладеть ОК и ПК**

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, определять методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 6. Работать в коллективе и команде, эффективно общаться с коллегами, руководством, потребителями.

ОК 8. Самостоятельно определять задачи профессионального и личностного развития, заниматься самообразованием, осознанно планировать повышение квалификации.

ОК 12. Оказывать первую медицинскую помощь при неотложных состояниях.

ПК 2.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных гематологических исследований.

ПК 2.2. Проводить забор капиллярной крови.

ПК 2.3. Проводить общий анализ крови и дополнительные гематологические исследования; участвовать в контроле качества.

ПК 2.4. Регистрировать полученные результаты.

ПК 2.5. Проводить утилизацию капиллярной и венозной крови, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

## АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ

1. Подготовка рабочего места для исследования.

На двоих студентов для забора крови должны быть подготовлены:

**Реактивы:**

- спирт этиловый 70%;
- 5% раствор цитрата натрия;
- физраствор,
- трансформирующий раствор;



5% раствор уксусной кислоты.

**Оборудование:** вата; стерильные скарификаторы; стерильные капилляры Панченкова; капилляры Сали; предметные стекла с лункой; предметные стекла; шлифованное стекло; штатив с пробирками; штатив Панченкова; градуированные пипетки; резиновые груши; емкости с дезраствором для использованной ваты, капилляров, скарификаторов.

## **2. Подготовительная работа**

Промывают капилляр Панченкова 5% раствором цитрата натрия.

Набирают цитрат натрия в капилляр Панченкова до метки «75» и выдувают его в лунку предметного стекла (или в пробирку).

Разливают реактивы по пробиркам: в одну пробирку вносят 4мл физраствора; в другую - 5мл трансформирующего раствора; в третью - 0,4 мл 5% раствора уксусной кислоты.

## **3. Забор крови из пальца**

Делают прокол кожи.

После удаления первой капли делают 2 мазка.

Набирают из пальца кровь в капилляр Панченкова выше метки «0» («К») – почти полный капилляр.

Спускают кровь из капилляра Панченкова до метки 0 «К» на предметное стекло – она будет использована для определения содержания гемоглобина, подсчета количества эритроцитов и лейкоцитов.

Остальную кровь из капилляра Панченкова спускают в цитрат натрия и тщательно перемешивают кровь с цитратом.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в физраствор – для подсчета эритроцитов.

2-3 промывают капилляр Сали физраствором.

Перемешивают кровь с физраствором.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в трансформирующий раствор – для определения концентрации гемоглобина.

2-3 промывают капилляр Сали трансформирующим раствором.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки и замечают время – 20 минут.

Капилляром Сали с предметного стекла набирают 0,02 мл цельной крови и вносят её в раствор уксусной кислоты – для подсчета количества лейкоцитов.

2-3 промывают капилляр Сали раствором уксусной кислоты.

Тщательно перемешивают содержимое пробирки.

Набирают смесь крови с цитратом в капилляр Панченкова без пузырьков воздуха до метки «0» и ставят капилляр в штатив Панченкова на 1 час.

#### 4. Проведение исследований

Через 20 минут колориметрируют смесь крови с трансформирующим раствором на ФЭЖе или МИНИГЕМе.

При использовании ФЭЖа концентрацию гемоглобина определяют по калибровочному графику.

Готовят к работе счетную камеру – притирают к камере Горяева покровное стекло так, чтобы появились радужные кольца.

Тщательно встряхивают пробирки с кровью, разведенной физраствором и уксусной кислотой. Заполняют одну сетку камеры Горяева смесью крови и физраствора (для подсчета эритроцитов), а другую – кровью с уксусной кислотой (для подсчета лейкоцитов). Оставляют камеру в горизонтальном положении на 1 минуту для оседания клеток крови.

Готовят микроскоп к работе: настраивают свет, конденсор опускают.

Подсчитывают под микроскопом (окуляр 10х или 15, объектив 8х) в одной сетке камеры Горяева эритроциты в пяти больших разграфленных квадратах по диагонали сетки, а затем, в другой сетке счетной камеры - лейкоциты в 100 больших не разграфленных квадратах.

По формулам рассчитывают количество эритроцитов и лейкоцитов в 1л крови

Через 1 час снимают показания СОЭ.

#### 3. Самостоятельная работа студентов

1. Провести общий анализ крови.
2. Результаты исследования оформить в виде таблицы:

ФИО	дата	гемоглобин	СОЭ	лейкоциты	эритроциты	ЦПК
			Время постановки			

3. Подсчитать лейкоцитарную формулу в предложенном мазке крови.
4. Результаты подсчета лейкоформулы оформить в виде таблицы:

ФИО	Лейкоцитарная формула, %	Изменение
-----	--------------------------	-----------

	Н п/я	Н с/я	Э	Б	Л	Мон	морфологии лейкоцитов

5. Оценить полученные результаты.

**4. Итоговый контроль знаний.**

Тестирование.

**5. Подведение итогов.**

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

### Основная литература

				Кол-во экземпляров	
№ п/п	Наименование, вид издания	Автор(-ы), составитель(-и), редактор(-ы)	Место издания, издательство, год	В библиотеке	На кафедре
1	2	3	4	5	6
1	<a href="#">Клиническая лабораторная диагностика</a> [Электронный ресурс] : учеб. пособие для мед. сестер. - Режим доступа: <a href="http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970427620.html">http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970427620.html</a>	А. А. Кишкун	М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.	ЭБС Консультант студента (Фармколледж)	
2	<a href="#">Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы</a> : рук. для врачей	ред. А. И. Карпищенко	М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.	35	

### Дополнительная литература

				Кол-во экземпляров	
№ п/п	Наименование, вид издания	Автор(-ы), составитель(-и), редактор(-ы)	Место издания, издательство, год	В библиотеке	На кафедре
1	2	3	4	5	6
1	<a href="#">Гематология</a> [Электронный ресурс] : нац. рук.. - Режим доступа: <a href="http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970433270.html">http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970433270.html</a>	гл. ред. О. А. Рукавицын	М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015.	ЭМБ Консультант врача	
2	<a href="#">Руководство по лабораторным методам диагностики</a> [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <a href="http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970426593.html">http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970426593.html</a>	А. А. Кишкун	М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013.	ЭБС Консультант студента (Фармколледж)	
3	<a href="#">Теория и практика лабораторных гематологических исследований</a> [Электронный ресурс] : сб. тестовых заданий с эталонами ответов для студентов 3 и 4 курсов, обучающихся по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика. - Режим доступа: <a href="http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&amp;cat=&amp;res_id=51109">http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&amp;cat=&amp;res_id=51109</a>	сост. М. Ф. Воронова, Г. В. Перфильева, Н. В. Власова	Красноярск : КрасГМУ, 2015.	ЭБС КрасГМУ	

4	<p><a href="#">Теория и практика лабораторных гематологических исследований</a>  [Электронный ресурс] : сб. ситуац. задач с эталонами ответов для студентов 3 и 4 курсов, обучающихся по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика (очная форма обучения). - Режим доступа:  <a href="http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&amp;cat=&amp;res_id=55171">http://krasgmu.vmede.ru/index.php?page[common]=elib&amp;cat=&amp;res_id=55171</a></p>	сост. М. Ф. Воронова, Г. В. Перфильева	Красноярск : КрасГМУ, 2015.	ЭБС КрасГМУ	
---	--	--	-----------------------------	-------------	--

**Электронные ресурсы:**

ЭБС КрасГМУ «Colibris»  
ЭБС Консультант студента ВУЗ  
ЭБС Консультант студента Колледж  
ЭМБ Консультант врача  
ЭБС Айбукс  
ЭБС Букап  
ЭБС Лань  
ЭБС Юрайт  
СПС КонсультантПлюс  
НЭБ eLibrary