

1 день. (26.03.2020) «Техника безопасности»

ОЗНАКОМЛЕНИЕ С ПРАВИЛАМИ РАБОТЫ КДЛ

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.

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».

2 день. (27.03.2020) «Определение гемоглобина. Определение СОЭ»

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

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.

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.
- Прокальвают 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 день. (28.03.2020)

Методический день. Работа с дневником.

4 день. (30.03.2020) «Определение количества лейкоцитов и эритроцитов»

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

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 10⁹.

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. 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).

Чтобы перевести содержание эритроцитов в единицы СИ (1л крови), следует количество эритроцитов в миллионах умножить на 10^{12} . 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^{12} .

5 день. (31.03.2020) «Приготовление мазка крови. Окрашивание мазков крови»

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 1,5-2см 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.

Рассмотрим окрашивание мазков крови на примере окраски по Романовскому-Гимзе.

ОКРАСКА ПО РОМАНОВСКОМУ – ГИМЗЕ

Реактивы:

Готовая краска Романовского. В её состав входит азур-II (смесь равных частей азур-1 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.

6 день. (01.04.2020) «Подсчет лейкоцитарной формулы»

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.

7 день. (02.04.2020) «Подсчет и суправитальная окраска ретикулоцитов в мазке крови»

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.

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.

Хорошо вымытые и обезжиренные стекла слегка подогревают над спиртовкой. Стеклой палочкой наносят 1 каплю одного из красителей, делают мазок из краски шлифованным стеклом и высушивают его. В таком виде мазки можно готовить впрок и хранить в закрытой посуде в темном месте. На мазок краски наносят 1 каплю крови и готовят из нее тонкий мазок.

Тотчас же, не давая высохнуть крови, помещают мазок во влажную камеру (чашку Петри с уложенной по бортикам фильтровальной бумагой) на 3-4 минуты. Высушивают на воздухе и микрофотографируют.

Подсчет количества ретикулоцитов

Окрашенный одним из описанных методом мазок микрофотографируют 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.

8 день. (03.04.2020) «Определение гематокрита»

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 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 10 см, 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.

9 день. (04.04.2020)

Методический день. Работа с дневником.

10 день. (06.04.2020) «Определение длительности кровотечения по Дукке и время свертывания капиллярной крови»

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КРОВОТЕЧЕНИЯ ПО ДУККЕ

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

Ход работы.

- Определение может проводиться при проколе пальца или мочки уха. Глубина прокола должна быть не менее 3мм – только при этом условии кровь из ранки выделяется самопроизвольно, без нажима.
- Сразу после прокола 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» (25-30 делений) 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.

11 день. (07.04.2020) «Определение количества тромбоцитов в мазке крови по Фонио»

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.

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 Фонио. 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).

12 день. (08.04.2020) «Определение осмотической стойкости эритроцитов»

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.

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 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.

13 день. (09.04.2020) «Определение гематологических показателей на гематологическом анализаторе»

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 = 1мкм³. 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 ¹² /л М: 5,4±0,8·10 ¹² /л
HCT	Гематокрит	Ж: 42±5% М: 47±5%
MCV	Средний объем эритроцита	87 ±5 фл
MCH	Среднее содержание Нв в эритроците	29±2 пг
MCHC	Средняя концентрация Нв в эритроцитах	34±2 г/дл
RDW	Коэффициент анизотропии эритроцитов	11,5 – 14,5%
WBC	Количество лейкоцитов	4,0 – 9,0 ·10 ⁹ /л
GRAN	Количество гранулоцитов	
NEUT	Количество нейтрофилов	48-78%
		2,04-5,8·10 ⁹ /л
EO	Количество эозинофилов	0,5-5% 0,02-0,30·10 ⁹ /л

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

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.

14 день. (10.04.2020) «Определение групп крови».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУПП КРОВИ СИСТЕМЫ АВ0 ПРИ ПОМОЩИ СТАНДАРТНЫХ ИЗОГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩИХ СЫВОРОТОК

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

Реагенты:

1. Стандартные изогемагглютинирующие сыворотки 0(I) $\alpha\beta$, A(II) β и B(III) α групп двух разных серий каждой группы;
2. Стандартная изогемагглютинирующая сыворотка АВ(IV)0 группы;
3. Изотонический раствор хлорида натрия.

Специальное оснащение:

- белая пластинка со смачиваемой поверхностью;
- глазные пипетки;
- химические стаканчики;
- стеклянная палочка;
- вата, спирт, скарификаторы.

Подготовительная работа

- Определение групп крови должно производиться при хорошем освещении и при температуре 15-25°C.
- Флаконы со стандартными сыворотками ставят в специальный штатив в следующем порядке: слева – стандартные сыворотки 0(I) $\alpha\beta$ группы (одна сзади другой), в середине – стандартные сыворотки A(II) β группы и справа – стандартные сыворотки B(III) α группы. Отдельно ставят стандартную сыворотку IV группы крови, употребляемую в качестве дополнительного контроля.
- В каждый флакон со стандартной сывороткой опускают сухую чистую глазную пипетку.
- Для промывания стеклянных палочек в химический стаканчик наливают воду.
- В стаканчик с физраствором опускают глазную пипетку.
- Техника определения группы крови при помощи стандартных сывороток
- На верхнем крае пластинки пишут фамилию и инициалы человека, у которого определяют группу крови.
- Делят стеклогграфом пластинку на 6 частей: по 3 в 2 ряда.
- В левом столбце сверху подписывают анти-A+B (0 $\alpha\beta$); в среднем столбце – анти-B (A β); в правом столбце – анти-A (B α).
- Под соответствующими обозначениями на пластинку с помощью глазной пипетки наносят по одной большой капле (0,1мл) изогемагглютинирующей сыворотки 1-3 групп двух разных серий – всего 6 капель. Каждую пипетку сразу же опускают в тот же флакон с сывороткой, из которого она была взята.
- Кровь для исследования берут из пальца. Помещают одну каплю крови в лунку предметного стекла или на нижнюю часть пластинки.
- Наносят чистой сухой стеклянной палочкой маленькие капли крови рядом с каждой каплей стандартной сыворотки. При этом капли крови должны быть примерно в 10 раз меньше капель сывороток.
- Перемешивают капли стандартных сывороток с находящимися рядом каплями крови стеклянной палочкой. После размешивания каждой капли стеклянную палочку промывают в стаканчике с водой и насухо вытирают ватой или фильтровальной бумагой.
- Замечают время.
- В течение 3 минут периодически покачивают пластинку.
- Через 3 минуты в те капли, где наступила агглютинация, добавляют по 1 капле изотонического раствора NaCl и периодически покачивают пластинку еще в течение 2 минут.

- Через 5 минут после перемешивания капле оценивают результаты реакции.

Трактовка результатов реакции

Реакция агглютинация в каждой капле может быть положительной или отрицательной.

При положительной реакции, то есть при наличии агглютинации, в смеси появляются видимые на глаз красные зерна склеенных эритроцитов. Сыворотка при этом полностью или частично обесцвечивается. При отрицательной реакции, то есть отсутствии агглютинации, жидкость остается равномерно окрашенной в красный цвет. Результаты реакций в каплях с сывороткой одной и той же группы должны совпадать.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУПП КРОВИ СИСТЕМЫ АВ0 С ПОМОЩЬЮ ЦОЛИКЛОНОВ АНТИ-А и АНТИ-В

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

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

Реагенты:

1. Цоликлон анти-А (розового цвета);
2. Цоликлон анти-В (голубого цвета).

Техника определения

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

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

Трактовка результатов

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

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУППЫ КРОВИ СИСТЕМЫ АВ0 ПЕРЕКРЕСТНЫМ МЕТОДОМ

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

Реагенты:

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

Специальное оснащение:

- белая пластинка со смачиваемой поверхностью;
- глазные пипетки;
- химические стаканчики;
- стеклянная палочка;

- вата, спирт, скарификаторы.

Подготовительная работа

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

Техника определения

- Кровь для исследования берут из вены или пальца в сухую пробирку. Кровь центрифугируют или оставляют стоять на 20-30 минут для отделения сыворотки. Для лучшего отделения сыворотки следует через 3-5 минут отделить сверток от стенок пробирки, обведя его стеклянной палочкой.
- Делают на пластинке обозначения стеклографом
- В верхней части пластинки у соответствующих обозначений наносят по одной большой капле (0,1мл) стандартных изогемагглютинирующих сывороток I-III групп двух разных серий.
- В нижней части пластинки у соответствующих обозначений наносят по одной маленькой капле (0,01мл) стандартных эритроцитов I-III групп крови.
- Из пробирки с исследуемой кровью осторожно, чтобы не взболтать эритроциты, пипеткой отсасывают сыворотку и наносят её по одной большой капле (0,1мл) на капли стандартных эритроцитов.
- Со дна пробирки этой же пипеткой набирают эритроциты и наносят их по одной маленькой капле (0,01мл) рядом с каждой их 6 капель стандартных сывороток.
- Перемешивают стеклянной палочкой во всех 9 каплях сыворотку с эритроцитами. После перемешивания каждой капли палочку промывают в воде и насухо вытирают.
- Замечают время.
- В течение 3 минут периодически покачивают пластинку.

- Через 3 минуты в те капли, где наступила агглютинация, добавляют по 1 капле изотонического раствора NaCl и периодически покачивают пластинку еще в течение 2 минут.
- Через 5 минут после перемешивания капель оценивают результаты реакции.

Трактовка результатов

Реакция агглютинация в каждой капле может быть положительной или отрицательной.

При положительной реакции, то есть при наличии агглютинации, в смеси появляются видимые на глаз красные зернышки склеенных эритроцитов. Сыворотка при этом полностью или частично обесцвечивается.

При отрицательной реакции, то есть отсутствии агглютинации, жидкость остается равномерно окрашенной в красный цвет.

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

15 день (11.04.2020)

Методический день. Работа с дневником.

16 день. (13.04.2020) «Определение резус принадлежности крови».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ ПРИ ПОМОЩИ ЦОЛИКЛОНА АНТИ-D СУПЕР

(анти-D IgM моноклонального реагента)

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

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

Реагенты.

1. Цоликлон анти-D супер;
2. Стандартные Rh(+) и rh(-) эритроциты – для контроля специфичности реакции.

Техника исследования

- Определение антигена D с помощью Цоликлонов анти-D супер можно производить в консервированной крови, в крови, взятой без консерванта, а также в крови из пальца.
- На пластину со смачиваемой поверхностью наносят большую каплю (около 0,1мл) Цоликлона анти-D супер, а рядом - маленькую каплю (0,01-0,05мл) крови.
- Смешивают кровь с реагентом стеклянной палочкой.
- Ждут 20-30 секунд, а затем периодически покачивают пластинку.
- Через 3 минуты оценивают результаты реакции.

Трактовка результатов

При наличии агглютинации кровь оценивается как резус-положительная, а при отсутствии агглютинации – как резус-отрицательная.

Для контроля специфичности при каждом исследовании необходимо ставить реакцию со стандартными D-положительными и D-отрицательными эритроцитами. Результаты определения резус-принадлежности исследуемой крови учитывают как истинные только в том случае, если со стандартными резус-положительными эритроцитами реагент дал реакцию агглютинации, а со стандартными резус-отрицательными эритроцитами агглютинации нет.

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

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ ПРИ ПОМОЩИ ЦОЛИКЛОНА АНТИ-D

(анти-D IgG моноклонального реагента)

Принцип: Антиген D исследуемых эритроцитов выявляют реакцией агглютинации в коллоидной среде с моноклональными антителами анти-D, содержащимися в Цоликлоне анти-D.

Цоликлон анти-D продуцируются лимфобластоидной линией клеток человека, гипериммунного против антигена D. Реагент содержит моноклональные неполные антитела анти-D класса IgG и не содержит антител иной специфичности. Может использоваться для выявления антигена D в крови любой группы.

Реагенты.

1. Цоликлон анти-D;
2. 10% раствор желатина;
3. Изотонический раствор хлорида натрия;
4. Стандартные Rh(+) и rh(-) эритроциты для контроля специфичности реакции.

Техника исследования

- Определение антигена D с помощью Цоликлона анти-D можно производить в консервированной крови, в крови, взятой без консерванта, а также в крови из пальца.
- В агглютинационную пробирку вносят одну каплю (0,05-0,1мл) крови или свободных эритроцитов из сгустка крови.
- Добавляют две капли (0,1-0,2 мл) 10% раствора желатина, предварительно прогретого до при 45°C до разжижения, и одну каплю Цоликлона анти-D.
- Суспензию тщательно перемешивают и инкубируют при 48°C 10-15 минут в водяной бане или 30 минут в термостате.
- Прибавляют 5-6мл изотонического раствора хлорида натрия и осторожно переворачивают пробирку и визуалью определяют наличие агглютинатов.

Трактовка результатов

Агглютинация эритроцитов свидетельствует о присутствии на них антигена D.

Результаты исследования учитывают как истинные только в том случае, если со стандартными резус-положительными эритроцитами реагент дал реакцию агглютинации, а со стандартными резус-отрицательными эритроцитами агглютинации нет.

17 день. (14.04.2020) «Утилизация отработанного материала»

КЛАССИФИКАЦИЯ МЕДИЦИНСКИХ ОТХОДОВ

Класс А - Это неопасные отходы, которые не имели контакта с биологическими жидкостями больных, с инфекционными больными. Это нетоксичные отходы, которые не представляют опасности окружающим. К данному классу относятся пищевые отходы всех подразделений медицинских учреждений, кроме инфекционных.

Класс Б - К данному классу относятся опасные, или рискованные отходы. Одним словом, класс Б составляют отходы, которые потенциально могли бы быть инфицированными. К данному типу отходов относятся материалы и инструменты, которые были в процессе использования загрязнены выделениями пациентов, в том числе кровью. Сюда же относятся и выделения пациентов и патолого-анатомические отходы. Кроме этого, к отходам класса Б относятся и органические операционные отходы (человеческие органы, ткани и т.п.). В эту же группу попадают и абсолютно все отходы из инфекционных отделений учреждений здравоохранения (в том числе и пищевые). Сюда же относятся и отходы из микробиологических лабораторий, которые работают с микроорганизмами 3-4 групп патогенности.

Класс В - Чрезвычайно опасные отходы. Сюда относятся все материалы и инструменты, которые имели контакт с пациентами, болеющими особо опасными инфекциями. Все отходы от больных с карантинными инфекциями также попадают в данную группу. Кроме этого, в данный класс относятся и отходы фтизиатрических, микологических больниц и Отходы от пациентов с анаэробными инфекциями (например, такой как туберкулез). Сюда же попадают отходы из медицинских лабораторий, которые работают с микроорганизмами 1-2 группы патогенности. Как понятно из самого названия, отходы данного типа являются наиболее опасными, поэтому их транспортировка за пределы медицинского учреждения без предварительного обеззараживания жесточайше запрещена.

Класс Г - Сюда попадают отходы, которые по своему химическому составу близки к промышленным отходам (просроченные лекарственные средства различные отходы от лекарственных препаратов, дезсредства с истекшим сроком годности, различные химические препараты, предметы, приборы и оборудование, содержащие в своем составе ртуть.)

Класс Д - К данному классу отходов относятся радиоактивные отходы, или все виды медицинских отходов, содержащие радиоактивные компоненты.

18 день. (15.04.2020)

Методический день. Сдача дневников.

