ДЕНЬ 1

Знакомство с лабораторией и руководящими документами по организации деятельности клинических лабораторных исследований

Клинико-диагностическая лаборатория КГБУЗ "Красноярская межрайонная клиническая больница № 7" располагается по адресу г. Красноярск, ул. Павлова 4 и работает согласно: СанПиН 2.1.3.2630 -10 ''Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность''" Постановление №58 от 18.05.2010.   
  
**Инструктаж по технике безопасности:**

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

**Требования безопасности перед началом работы:**

1. Перед началом работы персонал лаборатории должен надеть санитарно—гигиеническую одежду, приготовить средства индивидуальной защиты.

2. Персонал лаборатории обязан подготовить свое рабочее место к безопасной работе, привести его в надлежащее санитарное состояние, при необходимости подвергнуть влажной уборке.

3. Перед началом работы персонал должен проверить исправность работы электрооборудования, местного освещения, вытяжного шкафа, средств малой механизации, других приспособлений, посуды, вспомогательных материалов и иных предметов оснащения рабочего места, уточнить наличие и достаточность реактивов.

**Требования безопасности во время работы:**

1. Персонал лаборатории во время работы не должен допускать спешки.

2. С целью предупреждения инфицирования медицинскому персоналу лаборатории следует избегать контакта кожи и слизистых оболочек с кровью и другими биологическими материалами.

3. Работать с исследуемым материалом необходимо в резиновых перчатках, избегая уколов и порезов.

4. Запрещается употреблять пищу в КДЛ, курить.

**Штат КДЛ**1. Заведующий лаборатории – Рагзина Ирина Леонтьевна

2. Врач клинической лабораторной диагностики- Акирейкина Нина Федоровна

3. Фельдшер-лаборант – Павленко Екатерина Игоревна

4. Фельдшер-лаборант - Михайлова Ольга Николаевна

5. Фельдшер- лаборант- Казанцева Оксана Сергеевна

6. Фельдшер-лаборант- Шамова Наталья Михайловна

7. Старший медицинский лаборант- Кудашева Оксана Владимировна

**Основные должностные обязанности и функции работников КДЛ:**   
 ПОЛОЖЕНИЕ  
  
 О ЗАВЕДУЮЩЕМ КЛИНИКО - ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИЕЙ   
1 Общая часть.

1.1 На должность заведующего клинико - диагностической лабораторией лечебно - профилактического учреждения назначается врач клинической лабораторной диагностики, имеющий сертификат специалиста и стаж практической работы в лаборатории не менее 5 лет.

1.2 Заведующий лабораторией в своей работе руководствуется нормативными документами по выполняемому разделу работы и настоящим положением.  
  
2 В соответствии с задачами клинико - диагностической лаборатории заведующий лабораторией выполняет следующие обязанности:

2.1 Обеспечивает своевременное и качественное проведение клинических лабораторных исследований, непосредственно выполняет часть исследований

2.2 Осуществляет контроль за работой сотрудников лаборатории, в том числе за качеством проводимых исследований путем проведения   
  
внутрилабораторного контроля качества в КДЛ и регулярного участия в ФСВОК, достоверностью получаемых результатов, аналитической надежностью методов, правильностью ведения документации.

2.3 Руководит внедрением новых методов.

2.4 Отвечает за работу руководимого им персонала.

2.5 Организует и проводит мероприятия по повышению квалификации персонала лаборатории на рабочем месте и в образовательных учреждениях послевузовского и дополнительного профессионального образования.

2.6 Консультирует врачей других специальностей по вопросам диагностики заболеваниЯ.

2.7 Отвечает за санитарное состояние лаборатории и выполнение персоналом требований санэпидрежима при работе с кровью и другими биологическими материалами.

2.8 Обеспечивает условия по охране труда и технике безопасности сотрудников, контролирует соблюдение правил техники безопасности.

3 Заведующий клинико - диагностической лабораторией несет ответственность за уровень организации и качество работы подразделения.

ПОЛОЖЕНИЕ  
   
 О ВРАЧЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ  
  
1 Общая часть

1.1. На должность врача клинической лабораторной диагностики назначается специалист с высшим медицинским образованием, освоивший программу подготовки по клинической лабораторной диагностике и получивший сертификат специалиста.  
  
2 Обязанности врача клинической лабораторной диагностики:   
 2.1. Проводит лабораторные исследования в соответствии с возложенными на него обязанностями (согласно мощности и профиля ЛПУ).

2.2. Обеспечивает использование аналитически и диагностически надежных методов.

2.3. Составляет рекомендации для персонала лечебных отделений ЛПУ по правилам взятия и доставки биологического материала в КДЛ.

2.4. Контролирует работу специалистов со средним медицинским образованием.

2.5. Участвует в интерпретации результатов лабораторных исследований.

2.6. Осуществляет мероприятия по проведению внутрилабораторного и внешнего контроля качества исследований.

2.7. Проводит анализ своей работы и работы подчиненных ему специалистов со средним медицинским образованием.

2.8. Готовит ежемесячные отчеты о своей работе, участвует в составлении годового отчета лаборатории.

2.9. Проводит занятия для специалистов со средним медицинским образованием с целью повышения их квалификации.

3 Врач клинической лабораторной диагностики несет ответственность за невыполнение своих обязанностей, предусмотренных настоящим положением и правилами внутреннего трудового распорядке.  
   
 ПОЛОЖЕНИЕ

О БИОЛОГЕ КЛИНИКО - ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

1. Общая часть.

1.1. На должность биолога назначается специалист с высшим образованием, допущенный действующими нормативными документами к осуществлению деятельности в области клинической лабораторной диагностики и получивший сертификат специалиста.

2. Обязанности биолога:

2.1. Проводит лабораторные исследования по определенному разделу работ.

2.2. Участвует в освоении и внедрении новых методов.

2.3. Контролирует работу специалистов со средним медицинским образованием.

2.4. Осуществляет мероприятия по проведению внутрилабораторного контроля качества исследований.

2.5. Готовит ежемесячные отчеты о своей работе, участвует в составлении годового отчета лаборатории.

3. Биолог несет ответственность за невыполнение своих обязанностей, предусмотренных настоящим положением и правилами внутреннего трудового распорядка.

Перечень рабочих журналов КДЛ:

1. Журнал ежедневного контроля качества лабораторных исследований: гематологических, клинических, биохимических.

2. Журнал расходов реагентов- гемостаз

3. Анализы хозрасчет РАК+ОАМ

4. Журнал выполненных исследований (платные медицинские услуги)

5. Журналы контроля по соблюдению санитарного эпидемиологического режима в лаборатории.

5.1. Журнал учета генеральных уборок

5.2. Журнал температурного режима холодильников

5.3. Журнал регистрации и контроля ультрафиолетовой бактерицидной установки

5.4. Журнал учета операций, связанных с обращением лекарственных средств для медицинского применения

6. Журнал по технике безопасности

7. Журнал регистрации вводного инструктажа

ДЕНЬ 2-3

Работа с системой QМS

Основные функции ОМS:

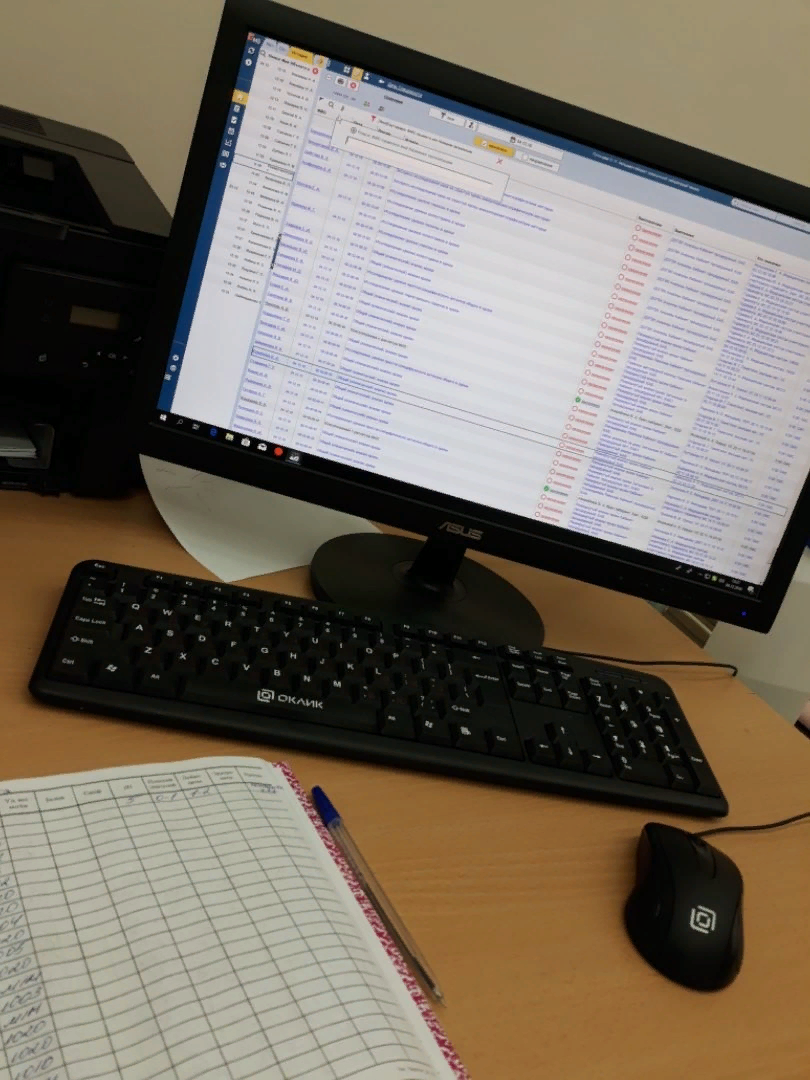
1. Управление потоком пациентов

2. Регистрация пациентов и информация о них

3. Создание и ведение электронной карты

4. Поиск ЭМК (электронной медицинской карты) по различным параметрам

5. Распределение первичного потока пациентов на этапе регистрации

  
Рис 1. Система QMS.

День 4-5

Выполнение мер санитарно- эпидемиологического режима в КДЛ: Проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. Утилизация отработанного материала.

**ДЕЗИНФЕКЦИЯ И СТЕРИЛИЗАЦИЯ**

Дезинфекция- комплекс мероприятий, направленных на уничтожение патогенных и условнопатогенных микроорганизмов в окружающей человека среде(идет уничтожение только вегетативных форм).

Основные виды дезинфекции:

1. Профилактическая- проводится с целью профилактики появления внутрибольничной инфекции;

2. Очаговая:

> текущая — осуществляется в очаге инфекции, у постели больного — многократно;

> заключительная — производится после после изоляции, перевода в инфекционное отделение, выписки или смерти больного — однократно.

Методы дезинфицирования:

1. Механические (влажная уборка помещений, покраска стен)

2. Физические (УФ, кипячение, воздействие пара, сухого жара и тд)

3. Химические (дезинфекция с помощью специальных дезинфицирующих средств-«Ника-Экстра-М», «Аква-Хлор» (таблетки, гранулы), «Абсолюцид-Энзим» для предстерилизационной очистки, дезинфекции и ДВУ.

Стерилизация-уничтожение всех вегетативных и споровых, патогенных и непатогенных микроорганизмов.

Осуществляется:

1. Воздушным методом (воздушный стерилизатор)

2. Паровым методом (автоклавирование)

3. Кипячение

**МЕДИЦИНСКИЕ ОТХОДЫ**

Сбор, хранение и транспортировка медицинских отходов осуществляется согласно: СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами"

В лаборатории образуются отходы классов:

* А- (эпидемиологические безопасные отходы, по составу приближенные к ТБО).

Отходы не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными. Канцелярские принадлежности, инвентарь, пищевые отходы.

Правила обращения: Отходы класса А собирают в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета (желательно белого), кроме желтого и красного. Одноразовые пакеты, помещают внутри многоразовых емкостей, промаркированных «Отходы. Класс А».

Многоразовую тару после сбора и опорожнения моют и дезинфицируют (2х кратным протиранием растворами дезинфицирующих средств, с интервалом 15 мин, ежедневно).

* Б (эпидемиологические опасные отходы)

Потенциально инфицированные отходы. Материалы и инструменты загрязненные кровью или другими биологическими жидкостями. Патологоанатомические отходы. Пищевые отходы из инфекционных отделений. Отходы с бактериологических, микробиологических и т.д. лабораториях.

Правила обращения: отходы класса Б собирают в одноразовую упаковку желтого цвета или имеющие желтую маркировку.

Острый инструментарий (иглы, скарификаторы) собирают отдельно в не прокалываемые контейнеры с иглосъемником и герметичной крышкой.

Отходы лабораторий дезинфицируют в соответствии с нормативным документом СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3-4

День 6-7

Определение активности ферментов (амилазы, ЩФ, КФ, ЛДГ, КФК, АлАТ, АсАТ) на биохимическом анализаторе RAL Clima MC-15.

Полуавтоматический биохимический анализатор Clima MC-15 применяется для проведения высокоточных анализов в области биохимии и иммунотурбидиметрии. Анализатор позволяет проводить до 15 различных измерений одновременно, выполнять 30 анализов в минуту по конечной точке и до 30 кинетических анализов за 3 минуты при минимальном объеме реактива всего 0,5 мл.

Методы измерений: абсорбция, фиксированное время, конечная точка, кинетика, дифференциальный, мультистандартный.

Аппарат имеет систему открытого типа, для удобства работы комплектуется точным механизированным дозатором с наконечниками для микрообъемов и штативом для мультикюветных треков, вставкой для светофильтров.



Рис 2. Анализатор RAL Clima MC-15

День 8

Определение содержания показателей углеводного обмена (глюкоза, лактат) в крови.

Анализатор глюкозы и лактата Super GL Ambulance

Автоматический анализатор глюкозы и лактата Super GL Ambulance предназначен для быстрого и точного определения концентрации глюкозы и лактата (одновременно) в цельной крови, сыворотке или плазме. Анализатор обеспечивает проведение до 100 анализов в час. Применяется в клинико-диагностических лабораториях различных медицинских учреждений, отделениях реанимации, исследовательских   
Рис 3.Анализатор Super GL Ambulance  
  
лабораториях. В основе работы прибора лежит амперметрический энзиматический принцип измерения с использованием сенсорной технологии. Анализатор имеет автоматическую калибровку, что значительно упрощает работу с прибором. Также имеется ротор на 9 позиций (8 позиций для образцов и 1 для калибратора). Результаты анализа, а также информация о режиме работы, статусе процессов и ряд служебных сообщений отображаются на дисплее разрешением 320х240 точек. Для связи с ПК и внешним принтером, подключения анализатора в лабораторную сеть имеется канал RS232. Встроенная программа контроля качества автоматически оценивает все результаты анализа. Имеется функция сохранения в памяти 500 последних измерений.

День 9-10   
  
Работа на современном биохимическом оборудовании.   
  
  
Клинико-диагностическая лабораторию основана современными высокотехническими оборудованием.  
  
 SYSMEX CS-2000j  
   
 Super GL Ambulance   
   
 RAL Clima MC-15 и другие.

Также лаборатория оснащена дистилляторами, центрифугами, термостатами, сушильными аппаратами,   
Рис 4. Анализатор SYSMEX  
  
автоматическими пипетками, автоматическими дозаторами, морозильными установками.

Показали и рассказали в диспетчерской как правильно принимать биоматериал (кровь), проверять пробирки с биоматериалом на сгустки, регистрировать материал в систему QMS, а также подготавливать пробирки с биоматериалом для проведения исследования на биохимических анализаторах.

(Пробирки с биоматериалом центрифугируются, открываются, расставляются по отделениям, а затем пробирки ставят в специальный штатив). Затем проводят исследования на анализаторе.

День 11-12

Работа на анализаторе показателей гемостаза АПГ 4-02-П

Определение фибриногена по Клауссу(в г/л)

Коагулометр АПГ4-02-П(Рис 7) – это полуавтоматический программируемый коагулометр с уменьшенным объемом пробы и реагентов, предназначенные для определения в лабораторных условиях параметров свертывающей   
системы крови механическим и оптическим методами.

Принцип: Клоттинговый

Особенности:

• Простота, надежность и удобство в эксплуатации

• Экономный расход реагентов

• Открытая система Доступность и методическое сопровождение

• Детальное исследование свертывающей системы

• Оптико-механический принцип измерения

Коагулометр имеет несколько запрограммированных методик:

СКРИНИНГОВЫЕ:

• Протромбиновый тест (ПВ, ПО, МНО % по Квику)

• АЧТВ/АПТВ (время, отношение)

• Тромбиновое время (время, отношение)

• Концентрация фибриногена по Клауссу(г/л)  
• Время свертывания (произвольный режим)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИБРИНОГЕНА

Фибриноген- гликопротеин плазмы крови синтезируемый в печени в количестве 2-5г в день.

Референтные значения:2,0-4,0 г/л

Чтобы результат анализов был правдивым, нужно соблюдать определенные правила:  
  
• не принимать медицинские препараты, влияющие на свертываемость крови;

• за 6-8 часов до исследования ничего не есть и не пить;

• исключить физические нагрузки.

Для определения используется Тех- Фибриноген-Тест

Набор предназначен для быстрого количественного определения содержания фибриногена в плазме крови (хронометрический метод по Clauss) на коагулометре.  
  
Принцип метода:

Заключается в определении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы избытком тромбина. Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

Состав набора:

1. Тромбин (лиофильно высушенный реагент, 150 ед. NIH) - 2 фл.

2. Растворитель для тромбина, 3,5 мл - 1 фл.

3. Стандарт-плазма с известным содержанием фибриногена (лиофильно высушенная) - 1 фл.

4. Буфер трис-НСI (концентрированный 20:1 раствор, 1 М), 5 мл - 1 фл.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-х замещенного (цитрата натрия), соотношение объемов 9:1. Кровь центрифугируют при 3000-4000 об/мин (1200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Перед проведением анализа плазма разводится буфером в 10 раз (0,2 мл плазмы + 1,8 мл трис-буфера).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ

А. Разведение концентрированного буфера

Содержимое одного флакона с концентрированным буфером трис-НСI перенести в мерный цилиндр и довести объем дистиллированной водой до 100 или 200 мл. В результате получают рабочий раствор буфера.  
  
Б. Разведение тромбина

В один флакон с тромбином внести (точно!) 1,5 или 5,0 мл растворителя для тромбина и растворить содержимое при комнатной температуре (+18...+25оС) и энергичном покачивании в течение 2 мин. В результате получают раствор тромбина.

В. Разведение стандарт-плазмы и приготовление калибровочных растворов

Во флакон со стандарт-плазмой внести (точно!) 1,0 мл дистиллированной воды и растворить содержимое при комнатной температуре (+18...+25оС) и слабом покачивании в течение 3 мин. В результате получают стандарт-плазму с концентрацией фибриногена 2,60 г/л.

Разведенную стандарт-плазму делят на две равные части, одну из которых замораживают при температуре -16...-20оС (для возможного повторного приготовления калибровочных растворов)

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. В кювету коагулометра внести 0,2 мл разведенной исследуемой плазмы.

2. Инкубировать при температуре +37оС 1 мин.

3. В ту же кювету добавить 0,1 мл рабочего раствора тромбина, имеющего комнатную температуру (+18...+25оС) и начать отсчет времени свертывания.

3. ЧТЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обычно время свертывания разведенной исследуемой плазмы составляет 4-40 с. По калибровочной кривой находят концентрацию фибриногена в исследуемом образце.

День 13-15  
  
Центрифугирование и отсоединение плазмы

 Распределение результатов  
  
 Особенности:  
  
 1 Таймер на 30 минут- возможность знать точное время до окончания рабочего процесса   
  
 2 Ротор на 12 пробирок   
  
3 Защита ротора от разбалансировки   
  
4 Автоматическое отключение двигателя и остановка вращения ротора в аварийных ситуациях   
  
5 Блокировка случайного открытия крышки при вращении ротора , блокировка запуска электродвигателя при незакрытой крышке   
  
Рис 6.Центрифуга armed 80-2s  
  
Центрифугирование-это воздействие на вещества путем сверхскоростного вращения в специализированном аппарате.

В клинических и санитарно-гигиенических лабораториях центрифугирование используют для отделения эритроцитов от плазмы крови, сгустков крови от сыворотки, плотных частиц от жидкой части мочи.

Плазма крови- жидкая часть крови в которой взвешены форменные элементы. Макроскопически представляет собой однородную мутную желтоватую жидкость, собирающаяся в верхней части сосуда с кровью после осаждения форменных элементов.

День 16-17   
  
Определение концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом

Клинико-диагностическое значение: СРБ – это альфа 2-глобулин и компонент неспецифического иммунного ответа на ранних стадиях проникновения антигена в организм. СРБ относится к белкам острой фазы. При тяжелых воспалениях синтез его в печени возрастает более, чем в тысячу раз. Уровень СРБ в крови увеличивается в течение 6-10 часов в реакциях острой фазы (разрушение тканей, воспаление).

Принцип метода: С-реактивный белок (СРБ) сыворотки взаимодействует с моноспецифическими антителами, присутствующими в избытке в реакционной смеси с образованием преципитата, усиленного ПЭГ.

Диапазон измерения метода: 8-150 мг/л.

Норма: до 10 мг/л (37°С);

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

1. Спектрофотометр с термостатированной кюветой, длина волны 340 нм, длина оптического пути 1 см; температура реакции 37°С;

2. Секундомер;

3. Автоматические пипетки на 75 мкл, 200 мкл и 1000 мкл;

4. Сыворотка крови негемолизированная / плазма;

5. СРБ-буфер (ТРИС-буфер 0,01 моль/л, содержащий 5% ПЭГ);

6. Антисыворотка против СРБ;

7. Калибровочные растворы №№ 1-5 с указанной на этикетках концентрацией СРБ;

8. Физиологический раствор (хлорид натрия 0,9%).  
Антисыворотка разводится в 3 раза (1:2) СРБ буфером с ПЭГ (полиэтиленгликолем).

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед проведением анализа реагенты следует прогреть до температуры измерения (37°С).

Перемешивать содержимое пробирок в течение 15 секунд. Измерить оптическую плотность проб при длине 340 нм ровно через 5 минут после добавления антисыворотки. РАСЧЕТ Расчет концентрации СРБ проводят по нелинейной калибровочной кривой.

День 18-20  
  
Определение АЧТВ на анализаторе показателей гемостаза АПГ 4-02-П  
  
АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время) – один из базовых показателей коагулограммы, оценивающий эффективность внутреннего пути свертывания крови.

Для определения используется АЧТВ(АПТВ)- тест

ПРИНЦИП МЕТОДА: Определяется время свёртывания плазмы крови в условиях стандартизированной активации контактной фазы (эллаговой кислотой) и фосфолипидами (кефалином) процесса коагуляции в присутствии ионов кальция.  
  
 РЕАКТИВЫ:

1. АПТВ-реагент – раствор, содержащий мозговые фосфолипиды, эллаговую кислоту, буфер и стабилизаторы.

2. Хлорид кальция, 0,277% раствор.

ОБОРУДОВАНИЕ:

1. Коагулометр

2. Пробирки центрифужные пластиковые

3. Автоматические дозаторы  
  
 ПОДГОТОВКА БИОМАТЕРИАЛА:

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-х замещённого (цитрата натрия), соотношение объёмов крови и цитрата натрия – 9:1. Кровь центрифугируют при 3000 – 4000 об/мин (1200g) в течение 15 минут. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в чистую пробирку и исследуют.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ К РАБОТЕ:  
  
1. Флакон с АПТВ-реагентом необходимо встряхнуть и оставить при комнатной температуре.

2. Часть раствора хлористого кальция надо отлить в пробирку и прогреть в течение 10 минут при 37о С.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА:

1. В кювету коагулометра внести 0,1 мл. исследуемой плазмы и прогреть её при 37о С в течение 1 минуты

2. В кювету добавить 0,1 мл. АПТВ-реагента, имеющего комнатную температуру

3. Через 3 минуты добавить 0,1мл раствора хлорида кальция (прогретого до 37о С), и зарегистрировать время свёртывания

Норма АЧТВ — от 28 до 40 секунд. Однако каждая лаборатория определяет свою норму, которая зависит от применяемых реактивов и лабораторного оборудования. В графе бланка лабораторного исследования показатель обозначается как норма или референсное значение.

Увеличение АЧТВ говорит о склонности к кровотечениям. В этом случае кровь сворачивается дольше положенного времени из-за недостатка в ней коагулянтов или наличия ингибиторов. Снижение АЧТВ показывает склонность организма к тромбообразованию.