

**ІНСТРУКТИВНО-МЕТОДИЧНІ МАТЕРІАЛИ
ДО ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ
з навчальної дисципліни
«КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА»**

для підготовки фахівців
першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
галузі знань: 09 Біологія
спеціальності: 091 Біологія
за освітньо-професійною програмою: Біологія

Житомир – 2020

*Рекомендовано до друку вченою радою Житомирського державного
університету імені Івана Франка
(протокол № 15 від 27 листопада 2020 року)*

Рецензенти:

Н.Л. Куценко – кандидат медичних наук, лікар вищої категорії, завідувач лабораторії медичного центру «Асклепій»;

С.М. Грищук – кандидат медичних наук, заступник виконавчого директора благодійної організації «Лікарняна каса Житомирської області»;

М.К. Пацюк – кандидат біологічних наук, доцент кафедри ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття Житомирського державного університету імені Івана Франка

- I-78** Інструктивно-методичні матеріали до лабораторних занять з навчальної дисципліни «Клініко-лабораторна діагностика» / Укладачі: Константиненко Л.А., Нехрещенюк В.П., Ковальчук Л.П.– Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2020. – 128 с.

Запропоновані інструктивно-методичні матеріали до лабораторних занять містять основні вказівки, щодо вивчення теоретичного матеріалу та виконання лабораторних робіт з метою комплексного засвоєння навчальної дисципліни «Клініко-лабораторна діагностика» та складені відповідно до навчальної програми. Призначені для студентів спеціальності 091 Біологія.

© Константиненко Л.А., уклад., 2020

© Нехрещенюк В.П., уклад., 2020

© Ковальчук Л.П., уклад., 2020

© Житомирський державний університет
імені Івана Франка, 2020

УДК 57.088.5(076.5)

I-78

Зміст	
Вступ	4
Лабораторне заняття №1. Тема: «Вступ. Клініко-діагностична лабораторія, її відділи. Лабораторний посуд»	5
Лабораторне заняття № 2. Тема: «Миття лабораторного посуду. Підготовка до стерилізації. Стерилізація. Дезінфекція»	16
Лабораторне заняття № 3. Тема: «Способи вираження концентрації розчинів»	25
Лабораторне заняття №4. Тема: «Основні прийоми та операції в лабораторних дослідженнях»	30
Лабораторне заняття №5. Тема: «Приготування, фіксація та фарбування мазків крові»	35
Лабораторне заняття №6-7. Тема: «Загальний клінічний аналіз крові. Визначення кількості формених елементів в 1 л крові»	40
Лабораторне заняття №8. Тема: «Загальний клінічний аналіз крові. Визначення швидкості осідання еритроцитів, концентрації гемоглобіну»	46
Лабораторне заняття №9. Тема: «Імунологічні дослідження»	52
Лабораторне заняття №10. Тема: «Анемії»	57
Лабораторне заняття №11. Тема: «Лейкози»	63
Лабораторне заняття №12. Тема: «Геморагічні діатези. Лабораторна діагностика»	70
Лабораторне заняття №13. Тема: «Модульна контрольна робота № 1»	71
Лабораторне заняття №14. Тема: «Загальний клінічний аналіз сечі»	73
Лабораторне заняття №15. Тема: «Виявлення кетонових тіл та кров'яних пігментів у сечі»	77
Лабораторне заняття №16. Тема: «Мікроскопічне дослідження осаду сечі»	81
Лабораторне заняття №17. Тема: «Модульна контрольна робота № 2»	90
Лабораторне заняття №18. Тема: «Дослідження функції органів травлення. дослідження шлункового вмісту»	91
Лабораторне заняття №19. Тема: «Дослідження дуоденального вмісту та калу»	100
Лабораторне заняття №20. Тема: «Дослідження рідин із серозних порожнин та спинномозкової рідини»	108
Лабораторне заняття №21. Тема: «Дослідження мокротиння»	115
Лабораторне заняття №22. Тема: «Модульна контрольна робота № 3»	121

Вступ

Інструктивно-методичні матеріали до лабораторних занять з навчальної дисципліни «Клініко-лабораторна діагностика» містять основні вказівки, щодо вивчення теоретичного матеріалу та проведення лабораторних досліджень з метою комплексного засвоєння матеріалу та складені відповідно до навчальної програми. Призначені для студентів спеціальності 091 Біологія.

Метою навчальної дисципліни «Клініко-лабораторна діагностика» є: ознайомлення студентів із сучасними методами діагностики функціональних станів організму людини та різних патологічних станів, оволодіння техніками проведення досліджень, на основі яких оцінюється фізіологічний і патологічний стан людини, клітинний і хімічний склад, біологічні особливості тканин, рідин людського організму.

Завдання курсу:

- ознайомити студентів із сучасними функціональними методами дослідження фізіологічних функцій та морфологічних особливостей органів та їх систем та навчити застосовувати їх на практиці;
- обґрунтувати значення клініко-лабораторних, біохімічних, мікробіологічних, імунологічних досліджень тощо для діагностики, перебігу, ефективності лікування, передбачення прогнозу хвороб;
- оволодіти навичками проведення досліджень функціонального стану та різних патологічних станів організму людини;
- встановлення нормальних меж коливань кожного досліджуваного параметра складу біологічного матеріалу;
- сформулювати вміння інтерпретувати результати клініко-лабораторних, біохімічних, мікробіологічних досліджень тощо, які є складовими діагностичного процесу;
- узагальнити основні відомості про будову й функції систем органів людини та їх взаємозв'язок;
- встановити причинно-наслідковий зв'язок між патологічними процесами організму людини та результатами клініко-лабораторних досліджень;
- з'ясувати фізичні властивості, хімічний та мікробіологічний склад біологічних рідин в нормі та при патологічних станах.

Предметом вивчення навчальної дисципліни навчальної дисципліни виступає біологічний субстрат людського організму, в основному це біологічні рідини, їхній клітинний і хімічний склад; взаємозв'язки між фізіологічними й патологічними станами людського організму з одного боку і клітинним та хімічним складом біологічних рідин – з іншого; методи об'єктивного дослідження клітинного та хімічного складу біологічних рідин людського організму.

Студенти в результаті мають досконало знати фізичні властивості, хімічний та мікробіологічний склад біологічних рідин в нормі та при патологічних станах. Оволодіти навичками проведення досліджень функціонального стану та різних патологічних станів організму людини, вміти інтерпретувати результати клініко-лабораторних, біохімічних, мікробіологічних досліджень тощо, які є складовими діагностичного процесу. Необхідним є дотримання вимог чинного законодавства, діяти з урахуванням загальнолюдських цінностей, суспільних, державних та виробничих інтересів.

Навчальний матеріал «Клініко-лабораторної діагностики» закладає студентам фундамент для подальшого засвоєння ними знань і вмінь з циклу дисциплін професійної та практичної підготовки.

Лабораторне заняття №1

Тема: Вступ. Клініко-діагностична лабораторія, її відділи. Лабораторний посуд

Мета: ознайомитись з організацією клініко-діагностичної лабораторії, її відділами, особливостями організації робочого місця лаборанта, навчитися працювати з мірним посудом, відміряти певні об'єми рідини за допомогою різних видів мірного посуду та заповнювати мірну колбу рідиною.

Обладнання: вата, пінцет (з шт), дезінфекційний розчин, пробірки, градуйовані, центрифужні конічні пробірки, лійки, ділильні лійки, крапельні лійки, стакани (3 шт), колби конічні, плоскодонні, колби Бунзена, промивалки, кристалізатори, прямі холодильники (Лібиха), кулькові холодильники, ексикатори, крапельниці, бутель Вульфа, склянки Дрекселя, бюкси, Штатив (з шт.), тримачі для пробірок, тигельні щипці, Мірні циліндри, мензурки, мірні колби, піпетки, піпетки Мора, бюретка (3 шт), ступка з товкачиком, випарювальна чашка, тигель, фарфоровий стакан, фарфорові шпателі, лійка Бюхнера.

Теоретичні питання:

1. Клініко-діагностична лабораторія, її відділи.
2. Організація робочого місця лаборанта.
3. Дезінфекція рук і робочого місця.
4. Перспективи розвитку лабораторної служби.
5. Обов'язки та права лаборанта.
6. Лабораторний посуд та приладдя.

Теоретичне обґрунтування теми:

Клініко-діагностична лабораторія, її відділи

Клініко-діагностична лабораторія (далі КДЛ) є структурним підрозділом лікувально-діагностичних закладів (лікарень, поліклінік, диспансерів різного профілю: протитуберкульозного, онкологічного, ендокринологічного, шкірно-венерологічного, пологових будинків, науково-дослідних інститутів, медико-санітарних частин, шпиталів, санаторіїв. В структурі КДЛ виділяють 5 відділів: клініко-гематологічний, біохімічний, цитологічний, імуно-серологічний, бактеріологічний. За вказаними напрямками працюють підготовлені лікарі, біологи та лаборанти.

За напрямками роботи в КДЛ виконуються наступні дослідження:

в клініко-гематологічному відділі:

- мікроскопічні дослідження сечі, рідин з серозних порожнин, спинномозкової рідини, мокротиння, жовчі, випорожнень та іншого біологічного матеріалу;
- гематологічні дослідження периферичної крові виконуються на гематологічних аналізаторах;
- мікроскопічні дослідження мазків периферичної крові, пунктатів кісткового мозку з метою діагностики захворювань системи крові та виявлення метастазів;
- мікроскопічне дослідження урогенітальних мазків;
- дослідження крові на малярію, LE клітини;
- копрограма.

в біохімічному відділі:

- показники згортаючої системи крові (визначення фібриногену, протромбінового часу, тромбінового часу, активованого часткового тромбoplastинового часу, XII-а залежного фібринолізу, РФМК-тесту з орто-фенантроліном, визначення протромбінового часу з тромбoplastином за міжнародним індексом чутливості (МНВ);
- активність ферментів (аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, амілази, гамаглутамілтранспептидази, креатинфосфокінази, креатинфосфокінази-МБ, лактатдегідрогенази);
- білковий обмін (визначення загального білку, альбуміну, тимолової проби, С-реактивного білку);
- вуглеводний обмін (визначення глюкози, глікованого гемоглобіну на стандартизованій автоматизованій системі, проведення глікемічного профілю та тесту толерантності до глюкози);

- ліпідний обмін (визначення холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ);
- водно-мінеральний обмін (визначення калію, натрію, хлоридів, фосфору, магнію, заліза, загального кальцію);
- пігментний обмін (визначення білірубіну).

в імуно-серологічному відділі:

- показники імунограми з визначенням факторів клітинного та гуморального імунітету з застосуванням CD-маркерів (кількість лімфоцитів, кількість В-лімфоцитів, кількість Т-лімфоцитів, Т-хелпери, Т-супресори), імуноглобуліни А, М, G та інше;
- визначенням імуноглобуліну Е;
- визначення маркерів гепатитів В і С;
- трепонемні та нетрепонемні тести на сифіліс;
- визначення титру антитіл до хламідій;
- визначення груп крові системи АВО та резус;
- визначення ревматоїдного фактору та антистрептолізину-О.

в бактеріологічному відділі:

- визначення збудників інфекційних процесів в будь-якому біологічному матеріалі (кишкових бактерій (в тому числі умовнопатогенних (клебсіел, протеїв, ентеробактеру), стафілококи, стрептококи, дифтерія та інше);
- визначення кількості мікроорганізмів в біологічному матеріалі (мікробне число);
- визначення антибіотикочутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів;
- обстеження на дисбактеріоз кишківника;
- санітарно-бактеріологічні дослідження на об'єктах зовнішнього середовища в операційних, маніпуляційних та інших.

в цитологічному відділі:

- цитологічні дослідження різних тканин та органів, отриманих під час діагностичних пункцій та операцій для визначення змін в клітинах, характерних для онкологічних, запальних та інших процесів;
- цитологічні скринінгові дослідження ексfolіативного клітинного матеріалу, отриманого при профілактичних гінекологічних, проктологічних, урологічних та ін. оглядах населення (секрети, виділення, зіскріби з поверхонь ерозій, виразок, ран, відбитки тканин/органів, промивні води, ексудати, трансудати та інші);
- дослідження ендоскопічного матеріалу отриманого при катетеризації бронхів, езофаго-, гастро-, дуодено-, лапаро-, ректо-, романо-, колоно-, цистоскопії та інших видів ендоскопічного обстеження при будь-якій локалізації патологічного процесу.

В кожній лабораторії повинна бути добра вентиляція, обов'язкова *витяжна шафа*, в якій проводяться всі роботи з використанням неприємних на запах і отруйних сполук, спалювання в тиглях органічних речовин. В спеціальній витяжній шафі, де не проводяться роботи з нагріванням, зберігаються леткі, шкідливі, з неприємним запахом речовини, легкозаймисті речовини. В лабораторіях необхідний *водопровід, каналізація, проводка струму*, природного газу і водонагрівальні прилади.

Організація робочого місця лаборанта



Робочі місця в лабораторії мають бути постійно оснащені всім необхідним для повсякденної роботи.

Для роботи лаборанта в бактеріологічному відділі потрібні:

- мікроскоп,
- спиртівки, сухий спирт,
- бактеріологічні петлі,
- предметні та покривні скельця,
- лабораторний посуд (чашки Петрі, пробірки)
- банка з ватою,
- пінцет, піпетки,
- ножиці,
- скальпель,
- склянка з дезінфекційними розчинами для піпеток і для відпрацьованих

предметних скелець,

- невелика склянка з притертою кришкою для покривних скелець,
- фіксатори для мазків,
- фільтрувальний папір,
- сірники,
- олівці для скла (маркер),
- гумові груші,
- 70% етиловий спирт, стериліум для оброблення рук,
- пробірки з ізотонічним розчином натрію хлориду,
- імерсійне масло.

Перед початком роботи предмети на столі потрібно розмістити так, щоб середина столу була вільною. Дезінфекційні розчини для оброблення рук, посудина для піпеток, банка для відходів мають бути розміщені справа від працівника на відстані, що дає змогу, не встаючи з робочого місця, обробляти руки, занурювати в дезінфекційний розчин піпетки й інший відпрацьований матеріал. Спиртівка повинна знаходитися у центрі столу на відстані 30 см від його краю. Об'єкти з посівами, незасіяні поживні середовища розміщують зліва на однаковому рівні зі спиртівкою.

Для фарбування мазків обладнують спеціальне місце, на якому потрібно мати:

- барвники,
- спирт, пісочні годинники, пінцет,
- промивалку з дистильованою водою,
- лоток із місточком, фільтрувальний папір.

Окрім робочих столів, повинні бути письмовий стіл, де зберігаються робочі зошити, при необхідності - титрувальний стіл. Біля робочих столів повинні бути стільці.

Аналітичні терези і прилади, що вимагають стаціонарної установки, поміщають в окремому приміщенні (вагова кімната), з вікнами на північ.

В лабораторіях потрібно мати найнеобхідніші довідкові книги, посібники і підручники.

Дезінфекція робочого місця, рук

Алгоритм «Дезінфекція рук»:

- зробіть із вати дві кульки діаметром 1 -2 см;
- візьміть пінцетом одну кульку, змочіть її у розчині дезінфектанту;
- протріть нею руки у такій послідовності: ліва рука - тильна сторона, долонна сторона, між пальцями, нігтьова пластинка, під нігтями; права рука - у такій самій послідовності;
- кульку опустіть у посудину з дезінфекційним розчином;
- візьміть пінцетом другу кульку і все повторіть;
- вимийте руки з милом;
- висушіть руки, змастіть кремом для рук.

ГІГІЄНІЧНА АНТИСЕПТИКА РУК

Стандартні методи втирання антисептика



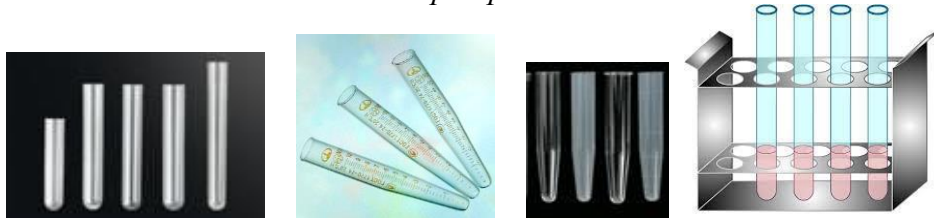
Антисептик в кількості не менше 3 мл, вливають в заглиблення сухої долоні і втирають в шкіру рук та зап'ястя протягом 30 секунд.

Лабораторний посуд

За призначенням **скляний** посуд поділяють на посуд *загального, спеціального* призначення і *мірний*. За матеріалом – з простого скла, спеціального скла, кварцу.

До групи загального призначення відноситься посуд, який завжди повинен бути в лабораторії і без якого не можна провести більшість робіт: пробірки, лійки, стакани, колби, кристалізатори, холодильники, реторти і т.п.

Пробірки



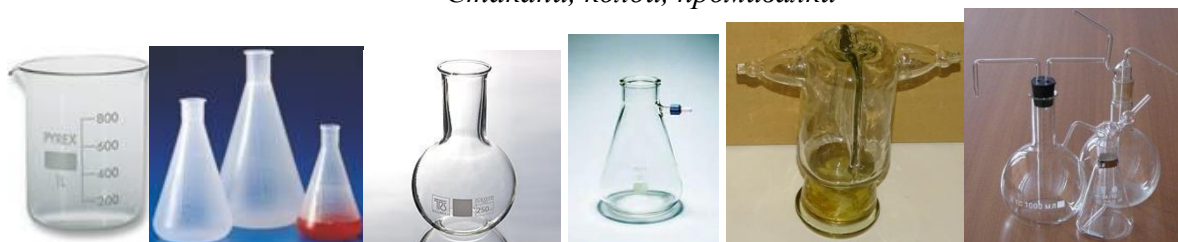
Пробірки - вузькі циліндрової форми судини із круглим дном, вони бувають різної величини і з різного скла (легко-, тугоплавкого, кварцу). Окрім простих, застосовують градуйовані і центрифужні конічні пробірки. Для зберігання пробірок служать спеціальні штативи. Для перемішування реактивів косим ударом пальцем ударяють по низу пробірки. Якщо пробірка заповнена більше, ніж на половину, перемішують скляною паличкою. Нагрівати пробірку необхідно обережно, спочатку прогріти по всій довжині, а потім тримати похило убік від працюючих. Якщо не вимагається сильного нагріву, пробірку опускають в гарячу воду. Також працюють з маленькими пробірками (для напівмікроаналізу).

Лійки



Лійки застосовують для переливання рідин та для фільтрування. Ділильні лійки використовують для розподілу рідин, що не змішуються. Крапельні лійки з більш довгим носиком використовують для додавання рідин по краплях.

Стакани, колби, промивалки



Стакани - тонкостінні циліндри різної місткості, з носиком і без. Нагрівати стакани із звичайного скла на відкритому полум'ї не можна - вони лопаються, нагрів ведуть через

азбестову сітку або на водяній бані. Товстостінні (батареїні) стакани призначені для робіт без нагрівання.

Колби конічні (Ерленмейєра) та плоскодонні різних об'ємів. Використовують при титруванні та для зберігання рідин.

Колби Бунзена використовують для фільтрування із застосуванням вакуум-насоса. Колба для відсмоктування має тубус, який міститься в її верхній частині, він з'єднується гумовою трубкою із запобіжною склянкою, а потім вакуум-насосом. У горло колби вставляють лійку, закріплену в гумовій пробці. Колби для відсмоктування бувають різної форми. Найчастіше в лабораторіях зустрічаються колби конічної форми як найбільш стійкі і зручні.

Колба Тищенко використовують для промивання і висушування газів.

Промивалки - для промивання осаду, для змивання осаду з фільтрів і стінок, для зберігання невеликих кількостей дистильованої води.

Кристалізатори, холодильники



Кристалізатори - тонкостінні скляні плоскодонні судини різних діаметрів і місткостей, їх застосовують при перекристалізації речовин, іноді проводять випаровування. Нагрівати їх можна тільки на водяній бані.

Холодильники - прилади, що використовуються для охолодження і конденсації пари. Холодильники, призначені для збирання конденсату, називаються, прямими. Холодильники, з яких конденсат повертається в процес, називаються зворотними. Прямі холодильники (Лібиха) приєднують за правилом: вода повинна поступати в холодильник завжди з нижнього опущеного кінця і виходити з верхнього підведеного. Холодильна сорочка (муфта) повинна бути завжди заповнена водою, інакше при перегріві холодильна трубка трісне на межі з рівнем води. Переганяти рідину, застосовуючи холодильник Лібиха можна тільки, коли температура пари не перевищує 150°C. Зворотні холодильники можуть бути кулькові (холодильники Алліна), змійовикові і інших форм. Кульковий холодильник встановлюють тільки у вертикальному положенні, але не в похилому, оскільки в останньому випадку в кульках збиратиметься сконденсована рідина, що заважає правильному відбору фракцій. Холодильники можуть нормально працювати тільки при постійному тиску води.

До групи спеціального призначення відносять посуд, що використовується для однієї мети: *ексикатори, крапельниці, бутель Вульфа, склянки Дрекслея, бюкси* тощо.



Ексикатори — прилади, що використовуються для повільного висушування і для збереження речовин, які легко поглинають вологу з повітря. Ексикатори закривають скляними кришками, краї яких притерті до верхньої частини циліндра. Розрізняють звичайні і вакуумні ексикатори. Усередині ексикатора на дно циліндра кладуть фарфорову вкладку. При роботі необхідно, щоб притерті частини ексикатора завжди були злегка змазані вазеліном. При перенесенні ексикатора обов'язково потрібно притримувати кришку великими пальцями обох рук. Помістивши гарячий тигель в ексикатор і накривши його кришкою, її якийсь час притирають, щоб кришка не піднімалася нагрітим повітрям. Щоб відкрити ексикатор, потрібно зсунути кришку вбік, після чого вона легко знімається. Як

осушувач застосовують поглиначі вологи (CaCl_2 , CuSO_4 безводний, P_2O_5 , H_2SO_4 концентрована).

Крапельниці - судини для рідин, що витрачаються по краплях. Використовуються крапельниці, забезпечені скляною пробкою з жолобком, через який рідина може витікати краплями; крапельниці, в пробку яких вставляють маленьку піпетку, забезпечену гумовим балоном; крапельниці, в пробку яких вставляють оплавлену скляну паличку.

Бутель Вульфа використовують для зберігання і дозування рідини, *склянки Дрекеля* (14) та *Тищенка* - для осушування газів.

Бюкси (15) використовують для зважування та зберігання маленьких кількостей речовини.

Чашки Петрі (16) застосовують в мікробіологічних аналізах.

ДОПОМІЖНЕ ПРИЛАДДЯ

Для забезпечення роботи в лабораторії використовують металеве устаткування.



Штатив - сталевий стрижень, укріплений на важкій сталевій підставці у формі чотирикутника. Штативи служать для закріплення на них приладів. Штативи мають набір утримувачів (лапок), кілець і муфт різної величини.

Лапки служать для закріплення бюреток, колб, холодильників і т.д.

Кільця - служать для закріплення на потрібній висоті колб, стаканів і т.д.

Муфта служить для закріплення лапок і кілець. Застосовуються гвинтові *затискачі* Гофмана та пружинні затискачі Мора. Затискачі Гофмана застосовують, коли необхідно значна герметичність і немає потреби часто їх відкривати. При частому використуванні застосовують затискачі Мора, але вони не дають можливості досягти рівномірного затискання.



Пінцети служать для взяття невеликих предметів. Наприклад, при роботі з металевим натрієм, при роботі з різновагами, щоб не торкатися їх руками.

Тримачі для пробірок металеві і дерев'яні - ними користуються для нагрівання пробірок. До іншого устаткування відносяться: *триноги* як підставки, *рогачики* для тиглів, *тигельні щипці* для захоплення кришок тиглів і т.д.

Основні вимоги, що висуваються до лабораторного посуду та виробів зі скла – це термічна та хімічна стійкість.

Термічна стійкість – це здатність скла витримувати без руйнування різкі коливання температури. Максимальна різниця температур, яку витримує скло, не руйнуючись, є величиною його термічної стійкості. Термічна стійкість скляних посудин залежить, зокрема, від товщини стінок. Наприклад, термічна стійкість виробів із чеського скла «сімакс» при товщині стінки посудини 1 мм складає 312°C , при 3 мм – 180°C , при 10 мм – 100°C .

По термостійкості скло розділяють на групи відповідно до їх коефіцієнтів лінійного теплового розширення в інтервалі температур $20\ldots 300^{\circ}\text{C}$.

Перша група – це скло з коефіцієнтом теплового розширення $(70\ldots 90) \cdot 10^{-7} \text{ K}^{-1}$, до якого відносяться скло ХС1 марки № 23, тюрінгське (НДР). Скло цієї групи порівняно

легкоплавке та схильне до розшарування, при тривалому нагріванні в полум'ї газового пальника скло втрачає прозорість, стає тьмяним, а після охолодження – шорсткувате на дотик.

Друга група – скло з підвищеною термостійкістю, коефіцієнт теплового розширення якого знаходиться в межах $(50...65) \cdot 10^{-7} \text{ К}^{-1}$. Сюди відносяться молібденове скло, ДГ-2, «сіал», «ієнатерм». Молібденове скло (ЗС-5 та ін.) одержало назву завдяки здатності утворювати вакуумно-щільний спай з металевим молібденом. Хімічно воно менш стійке, ніж інше лабораторне скло, проте легке в складувній обробці.

Третя група – скло з високою термостійкістю та коефіцієнтом теплового розширення $(38...49) \cdot 10^{-7} \text{ К}^{-1}$. До них відноситься малолужне боросилікатне скло з високим вмістом оксиду силіцію «пірекс», ТС, «сімакс», «разотерм».

Четверта група – особливо високо термостійке скло типу кварцового з коефіцієнтом теплового розширення $(5...7) \cdot 10^{-7} \text{ К}^{-1}$.

Хімічна стійкість – це здатність скла протистояти руйнівному впливу води, кислот, лугів та інших хімічних реагентів. Хімічну стійкість скла визначають по ГОСТ 21400–75, який встановлює класи гідролітичної стійкості (водостійкості), кислотостійкості та лугостійкості скла по втраті маси зразка скла після витримки протягом певного часу у відповідному середовищі.

Згідно із ГОСТ 21400–75, в залежності від хімічної та термічної стійкості в нашій країні для виготовлення лабораторного посуду використовується скло наступних груп:

ХС1 – хімічно стійке 1 класу

ХС2 – хімічно стійке 2 класу

ХС3 – хімічно стійке 3 класу

ТХС1 – термічно і хімічно стійке 1 класу

ТХС2 – термічно і хімічно стійке 2 класу

ТС – термічно стійке (боросилікатне скло)

Скляний хімічний посуд може раптово розтріскуватися без видимої причини. Часто це відбувається через появу на його поверхні незначних подряпин, що утворюються при механічному очищенні посуду піском, вугіллям, металевою щіткою та іншими твердими предметами. Подряпини можуть з'явитися і тоді, коли посуд ставлять на цеглу, керамічні плитки з нерівною поверхнею. Тому не слід використовувати для нагрівання скляних посудин піскові бані, як це рекомендують у деяких застарілих посібниках. При закріпленні скляних виробів у штативах часто недооцінюють тиск різних лапок і тримачів при затягуванні гвинта. Скляні предмети необхідно закріплювати в затисках, які обладнані прокладками з еластичних матеріалів.

Вимірювання об'єму рідин виконують за допомогою мірних посудин з мітками, що вказують на їх місткість. До мірного посуду відносять бюретки, мірні колби, піпетки, мірні циліндри, мензурки та градуйовані пробірки.

На кожній посудині повинні бути такі написи:

а) число, яке вказує номінальну ємність (за винятком виробів з лініями градуювання, де вказана ємність);

б) символ «см³» або символ «мл», що показує одиницю об'єму, в яких градуйована посудина;

в) напис «20 °С», що показує температуру, при якій посудина відкалібрована;

г) літери «In» або Н, що показують, що посудина калібрована на наливання, або літери «Ex» або О, що показують, що посудина калібрована на відливання;

д) цифра, що показує клас точності посудини;

е) ім'я або знак виробника та / або продавця.

Бюретки, колби і піпетки, які використовуються для точних вимірювань, калібрують по зразковим мірам місткості 1 або 2 розряду зазвичай при температурі 20 °С. У відповідності із цим бюретки, мірні колби і піпетки виготовляють 1 та 2 класів точності. Припустиме відхилення для бюреток і градуйованих піпеток 1 класу точності дорівнює половині ціни найменшої поділки шкали, а 2-го класу – ціни найменшої поділки шкали.

Зміна об'єму мірного посуду внаслідок стиснення чи розширення скла при зміні температури незначна, що робить можливою роботу з ним при температурі, що відрізняється від 20 °С на декілька градусів, не вводячи виправлень.

Види мірного посуду



Мірні циліндри – циліндричні посудини різної місткості з нанесеними на зовнішній стінці поділками, що вказують об'єм у мілілітрах. Щоб відміряти необхідний об'єм рідини, її наливають у мірний циліндр доти, поки нижній меніск не досягне рівня потрібної поділки. Мірні циліндри калібрують зазвичай на наливання. Циліндри виготовляють зі скла і прозорих поліетилену або поліпропілену. Скляні циліндри можуть мати пластмасову підставку.

Об'єми летких кислот, органічних розчинників або рідких розчинів газів звичайно вимірюють за допомогою мірних циліндрів із притертою скляною пробкою, пробкою із фторопласту або поліетилену. Такі циліндри зручні і для оцінки об'єму рідких гетерофазних систем. Похибка при визначенні об'єму рідин за допомогою мірних циліндрів знаходиться у межах 0,1...1 %.

Мензурки (від лат. mensura – міра) – посудини конічної форми, у яких, як і у мірних циліндрів, на зовнішній поверхні нанесені поділки для вимірювання об'єму рідини в мілілітрах. Мензурки застосовують для вимірювання об'єму осадів, що утворюються при відстоюванні суспензій. Осад збирається в нижній частині мензурки. Їх використовують також для визначення об'ємів двох рідких фаз, що не змішуються, одна з яких, більшої густини, присутня у меншій кількості. Мензурки калібрують на відливання. У технологічній практиці при дозуванні малолетких рідин застосовують скляні мірні кружки.



Мірні колби використовують для приготування розчинів певної концентрації. Вони мають вузьке горло з однієї або декількома мітками, що означають границю відмірюваного об'єму. Місткість мірних колб коливається від 5 мл до 2 л. На кожній колбі зазначена місткість (у мілілітрах) і температура, при якій проводилося її калібрування, звичайно це 20 °С. Мірні колби є вимірювальними посудинами, розрахованими на вливання, тобто об'єм рідини до мітки відповідає місткості колби. Змочування стінок і розтікання рідини по внутрішній поверхні колби не грають ніякої ролі. Мірні колби можуть мати пришліфовані скляні пробки, а також гумові, фторопластові або поліетиленові пробки.

Піпетки - градуйовані скляні трубки, призначені для точного вимірювання об'єму рідини (об'єм піпетки від 0,1 до 200 мл) або її частини.

Піпетки Мора - скляні трубки невеликого діаметру з розширенням посередині. Нижній кінець злегка відтягнутий і діаметром біля 1мм. У верхній частині є мітка, до якої набирають рідини.

Правила роботи з піпетками: - піпетка при відборі рідини завжди повинна знаходитися в строго вертикальному положенні; - правильне положення нижнього меніска: при положенні мітки на рівні очей спостерігача меніск повинен бути розташований в одній площині з міткою (мітки на передній і задній стінках повинні при цьому зливатися в одну). Піпетку заповнюють за допомогою гумової груші, приєднавши її до верхнього кінця піпетки.

Засмоктувати рідину в піпетку ротом не рекомендується! Це небезпечно для здоров'я (рідина і її пари можуть потрапити в рот і легені) і, крім того, призводить до забруднення жиром і слиною внутрішніх стінок піпетки.

Піпетки завжди відкалібровані на витікання, тобто зазначений на піпетці об'єм відповідає об'єму рідини, що витікає, коли піпетку наповнюють до відмітки на верхній трубці, а потім дають рідині самостійно витікати. В об'єм витікаючої рідини не входить рідина, яка залишається в носіку нижньої трубки, і рідина, яка змочує стінки піпетки. Нижній отвір піпетки не повинен бути широким, щоб швидкість витікання рідини не була великою, але і не занадто вузьким, щоб наприкінці витікання рідини в місці з'єднання нижньої трубки з балоном піпетки не утворилася крапля.

Вважають, що тривалість вільного витікання води з піпеток місткістю 5, 10, 25, 50 і 100 мл повинна бути рівною відповідно 15, 20, 25, 30 та 40 с.

Піпетки поділяються на такі, що призначені на виливання всього об'єму рідини (піпетки Мора) та для часткового зливу необхідного об'єму рідини відповідно до градування. Об'єм отруйних рідин, кислот і сильних основ відмірюють піпетками із запобіжним розширенням у верхній трубці піпетки.

Піпетки звичайно калібрують по чистій воді, тому ними не можна відмірювати рідини, в'язкість яких помітно відрізняється від в'язкості води. Об'єм відібраної рідини в цьому випадку не буде відповідати зазначеному на піпетці, тому для в'язких рідин піпетку треба перекалібрувати.

Якщо деякі розчини залишають на стінках піпетки прилиплі краплі навіть при ретельному знежиренні скла, то рекомендують піпетки піддавати силіконуванню – покриттю внутрішніх стінок найтоншою силіконовою плівкою, що не змочується водою. Силіконовану піпетку калібрують по чистій воді при температурі 20 °С. У силіконованих піпеток меніск рідини опуклий. Утворена при силіконуванні гідрофобна плівка не змивається водою і не руйнується кислотами, її можна видалити лише при кип'ятінні піпетки в 10 %-вому водному розчині КОН або NaOH.



Бюретка – циліндрична скляна трубка з поділками, краном або затиском, проградуєвана в мілілітрах. Бюретки застосовують для точного вимірювання невеликого об'єму і при титруванні. Об'ємні бюретки із ціною поділки в 0,1 мл дозволяють вести відлік з точністю до 0,02 мл. Безкранові бюретки Мора мають у нижній частині гумову трубку з капіляром. Гумова трубка пережимається або затиском Мора, або усередину її закладають скляну кульку чи паличку з кулястим потовщенням. Рідина з такої бюретки витікає при натисканні пальцями на верхню частину кульки. Бюретки з гумовою трубкою застосовують для слаболужних розчинів, що зазвичай заїдають притерті скляні крани. Недолік таких бюреток у тому, що гумова трубка на початку і наприкінці виливання розчину розтягується в різному ступені внаслідок різниці гідростатичних тисків і різного ступеня обтиснення кульки пальцями. Похибка буде менше, якщо використовувати порівняно товстостінний і короткий еластичний шматок гумової трубки, а затиск надягати на неї завжди на тому самому місці. При цьому необхідно також уникати розчинів, що окиснюють каучук, зокрема, розчинів йоду у водному розчині KI. Заповнюють бюретку розчином через лійку з коротким кінцем,

що не доходить до нульової поділки. Потім розчин спускають так, щоб він заповнив усю частину бюретки нижче крана або затиску до нижнього кінця капіляра. Тільки після цього розчин в бюретці встановлюють на нульову поділку, при цьому в нижній частині бюретки не повинно залишатися бульбашок повітря.

Якщо бюретка має двоходовий кран, то її заповнюють знизу, для чого до вигнутої трубки приєднують гумовий шланг від бутля з розчином. В бюретці з автоматичним нулем нульової позначкою є верхній зріз відростку 0–0. При подачі розчину через нижню бічну трубку він піднімається до позначки 0–0, а надлишок стікає через верхню бічну трубку. Після припинення подачі розчину його рівень автоматично встановлюється на верхньому зрізі відростку 0–0.

Місцем відліку рівня розчину в бюретці завжди вибирають нижній край меніска. По цьому краю і калібрують бюретку. Тільки у випадку непрозорих розчинів (водний розчин KMnO_4 , розчин I_2 у водному розчині KI та ін.) необхідно робити відлік по верхньому краю меніска.

Верхній кінець бюретки закривають від потрапляння пилу і випаровування розчину маленькою склянкою або широкою, але короткою пробіркою.

Для деяких робіт застосовують хімічний **пластмасовий** посуд з поліетилену, метилметакрилових смол, фторопластів і інших видів пластмас, що мають хімічну стійкість.

Поліетиленовий посуд використовується для зберігання розчинів лугів, особливо концентрованих, розчинів з температурою до 200–220°C. Недолік – можливість сорбції деяких речовин (HNO_3 , HCl).

Більш міцним, ніж скляний, є **фарфоровий** посуд. Його можна сильно нагрівати, наливати гарячі рідини. В фарфорових тиглях прожарюють і спалюють зразки речовин. Зразки найбільш поширеного фарфорового посуду наведені на наступних малюнках:



Ступка з товчачиком



Випарювальна чашка



Тигель



Фарфоровий стакан



Фарфорові шпателі



Лійка Бюхнера

Хід роботи:

- Завдання 1.** Ознайомитись зі структурою клініко-діагностичної лабораторії.
- Завдання 2.** Ознайомитись з організацією робочого місця лаборанта.
- Завдання 3.** Проведіть дезінфекцію робочого місця, рук.
- Завдання 4.** Ознайомитись з лабораторним хімічним посудом, приладдям та правилами роботи з ним.

Студенти мають ознайомитись із запропонованими зразками мірного посуду, ретельно вимити його і висушити.

Увага! Для точного вимірювання об'ємів рідини необхідно використовувати тільки чистий посуд, бо забруднення на внутрішніх стінках посуду викривлюють результат вимірювання!

Увага! Всі вимірювання проводять за нижнім меніском!

Робота з мірним циліндром

1. Відібрати в стакан за допомогою мірного циліндра 10 мл та 20 мл рідини.

Робота з піпеткою

1. Відібрати за допомогою піпетки Мора 10 мл або 25 мл рідини і перенести її в колбу.

2. Відібрати за допомогою градуйованої піпетки 8,4 мл рідини і перенести її в стакан.

Робота з бюреткою

1. Заповнити бюретку через малу лійку дистильованою водою, довести над стаканом рівень рідини до нуля (видаливши повітря з носика) та відміряти в стакан 3,6 мл, 5,1 мл, 8,8 мл та 10,0 мл води.

Робота з мірною колбою

1. Приготувати розчин натрій хлориду:

В горло колби вставити лійку та через неї насипати в колбу кристали натрій хлориду на кінчику шпателью.

Змити залишки солі з поверхні лійки за допомогою промивалки в колбу, розчинити сіль у воді, обережно обертаючи колбу круговими рухами навколо своєї вісі (тримати її в руці за горло біля розширення!).

Прилити воду в колбу через лійку, поки її рівень не досягне початку горла та вийняти лійку з колби.

За допомогою промивалки або піпетки обережно довести рівень води до мітки.

Перемішати вміст колби, затискуючи її пальцем або долонею та перегортаючи вниз-вгору 10 разів.

Прибрати за собою робоче місце: вилити рідину з посуду в мийку, злити воду з бюретки, сполоснути колбу водою з-під крану, а потім - дистильованою.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
10. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
11. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
12. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття № 2

Тема: Миття лабораторного посуду. Підготовка до стерилізації. Стерилізація. Дезінфекція

Мета: ознайомитись з особливостями миття нового посуду та того, що був у використанні; правила підготовки та умови стерилізації посуду і матеріалу; сформулювати поняття про види стерилізації; вивчити правила роботи з апаратурою для стерилізації; навчитись використовувати тести для перевірки якості стерилізації; властивості основних дезінфекційних засобів.

Обладнання: новий посуд – чашки Петрі, пробірки; незаражений забруднений посуд – чашки Петрі, пробірки, піпетки, предметні скельця; мийні засоби, йоржі; вимитий і висušений посуд, пробки, пакувальний папір, паперові серветки, марля, гумові кільця, шпагат, вата, ножиці, пінцети, скальпелі, спиртівка, сірники.

Теоретичні питання:

1. Миття лабораторного посуду.
2. Підготовка посуду, паперу, вати, марлі, інструментів до стерилізації.
3. Ознайомлення зі способами термічної та хімічної стерилізації.
4. Ознайомлення з правилами роботи апаратури для термічної стерилізації.
5. Ознайомлення з методикою та принципами механічної стерилізації
6. Ознайомлення з властивостями основних дезінфекційних засобів. Виготовлення насичених і робочих дезінфекційних розчинів.
7. Проведення дезінфекції піпеток, інфікованого матеріалу, робочого місця, рук.

ХІД РОБОТИ:

МИТТЯ ЛАБОРАТОРНОГО ПОСУДУ

Посуд, що використовується для лабораторних досліджень, повинен бути чистим, а для більшості робіт – стерильним. Використання погано вимитого посуду, а також нестерильного, може призвести до неправильних результатів дослідження. Лабораторний посуд мють у спеціальному приміщенні, де є все необхідне: холодна й гаряча вода, мийні засоби, йоржики для механічного очищення посуду, дошки, столи, шафи для висušування й зберігання посуду.

Завдання 1. Вимийте новий лабораторний посуд

Алгоритм «Миття нового лабораторного посуду»:

- налейте в емальований таз теплої води;
- додайте невелику кількість мийного засобу, перемішайте (утвориться піна);
- занурте в цей розчин посуд (чашки Петрі або пробірки); поставте таз на слабкий вогонь, доведіть розчин до кипіння, витримайте 15 хв після закипання;

Увага! Мийні засоби видаляють бруд і знежирюють скло.

- зніміть таз з вогню, дайте йому охолонути, змийте мильний розчин, промийте посуд чистою водопровідною водою;

- занурте посуд в 1-2 % теплий розчин хлоридної кислоти;
- поставте таз на вогонь, доведіть розчин до кипіння, витримайте 10-15 хв після закипання;

Увага! Хлоридна кислота нейтралізує основу, що залишається після виготовлення скла.

Увага! Не можна вживати кислоти під час миття посуду, який використовується для імунологічних реакцій. Це може призвести до хибних результатів!

- зніміть таз з вогню, дайте йому охолонути;
- змийте розчин кислоти, промийте один раз водопровідною водою й двічі — дистильованою;

Увага! Із знежиреного скла вода стікає рівномірно й не утворює крапель на його поверхні.

- висушіть чистий посуд (вимитий посуд не витирають!).

Увага! Для висушування чашки Петрі розміщують на столі; пробірки ставлять догори дном, а піпетки — в ємність, дно якої вистилають чистою серветкою; флакони розміщують на сушильній дошці й висушують за кімнатної температури. Посуд можна висушувати в сушильній шафі за температури 100-105 °С.

Завдання 2. Вимийте лабораторний посуд, що був у використанні

Посуд (чашки Петрі, пробірки, піпетки, предметні скельця), що використовувався, повинен бути спочатку надійно знезаражений. Скляний посуд стерилізують (умови стерилізації залежать від виду культури, якою він був забруднений), предметні скельця обробляють дезінфекційним розчином і кип'ятять.

Алгоритм «Миття лабораторного посуду, що був у використанні»:

- очистіть посуд від залишків поживного середовища (рідке — зливають, агарове видаляють шпателем);

- занурте посуд у теплу воду з мийним засобом, вимийте йоржиком;

Увага! Посуд, забруднений жиром, спочатку заливають хромовою сумішшю на 30-40 хв.

- промийте посуд один раз водопровідною водою й двічі — дистильованою;
- покладіть посуд для висушування.

Спеціальні миючі суміші

Хромовою суміш складається з калію дихромату і концентрованої сульфатної кислоти (5...9 г $K_2Cr_2O_7$ або $Na_2Cr_2O_7$ на 100 см³ концентрованої H_2SO_4). Ця суміш у результаті реакції $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4 = 2CrO_3 + K_2SO_4 + H_2O$ містить деяку кількість хрому (IV) оксиду — більш сильного окисника, ніж дихромат калію і концентрована сульфатна кислота. Суміш руйнує більшість органічних речовин і перетворює плівки та плями оксидів і інших сполук металів у добре розчинні у воді гідросульфати і гідрохромати.

Обробку посуду проводять у витяжній шафі, тому що суміш виділяє отруйний і леткий оксид CrO_3 . Суміш стає непридатною, як тільки вона набуває зеленого забарвлення в результаті відновлення Cr^{6+} в Cr^{3+} . Зберігають суміш у товстостінній порцеляновій склянці, закритій товстою скляною пластинкою. Хромовою суміш непридатна для очищення скляних пористих фільтрів та інших пористих мас через сильну адсорбцію іонів хромату порами (фільтри набувають зеленого забарвлення). Іони хрому не вилучаються з пор навіть при багаторазовому кип'ятінні скляних фільтрів у чистій воді.

Перманганатна суміш складається з 3...4 %-вого водного розчину калію перманганату, що містить 1...5 см³ концентрованої H_2SO_4 на 100 см³ розчину. Якщо після обробки такою сумішшю на стінках посуду з'являється бурий наліт MnO_2 , то його видаляють, обполіскуючи посудину концентрованою хлоридною кислотою або 5 %-вим водним розчином гідросульфату натрію $NaHSO_3$. Після обробки посуду одним з перерахованих реагентів його ретельно обполіскують чистою водою. Не рекомендується застосовувати лужну перманганатну суміш для очищення скляних і кварцових посудин. Ознакою відпрацьованості суміші є зникнення її фіолетового забарвлення.

Суміш Комаровського складається з рівних об'ємів 5-6 %-вого водного розчину гідроген пероксиду і 6 М розчину хлоридної кислоти. Її застосовують для видалення поверхневих забруднень зі скла, кварцу та полімерних матеріалів. Ця суміш залишає поверхню більше чистою, чим хромовою або перманганатною. Перед використанням суміш Комаровського підігрівають до 30-40 °С, а після ополіскування посудин чистою водою перевіряють на відсутність у воді іонів Cl^- (проба з $AgNO_3$).

Завдання 3. Вимийте градуйовані піпетки

Піпетки та інший градуйований посуд повинен бути абсолютно чистим і знежиреним. На стінках погано знежиреного посуду залишаються крапельки води, тому об'єм зливої рідини буде менший за той об'єм, що вказаний на шкалі поділу посуду.

Алгоритм «Миття градуйованих піпеток нових»:

– налейте в емальоване відро (посуд повинен бути глибокий, на довжину піпеток) теплу воду, додайте небагато мийного засобу, розмішуйте до повного розчинення мийного засобу;

- заповніть кожну піпетку теплою мильною водою, користуючись гумовою грушею;
- залиште піпетки у цій воді в стоячому положенні; витримайте 20-30 хв;

Увага! Рівень води у відрі повинен бути трохи вищим за довжину піпеток.

- промийте піпетки водопровідною водою;
- перенесіть їх в інший посуд з 1-2 % розчином HCl; поставте посуд на слабкий вогонь, прокип'ятіть 10-15 хв, дайте охолонути;

– промийте один раз водопровідною водою, двічі – дистильованою;

– поставте для висушування.

Алгоритм «Миття градуйованих піпеток, що були у використанні»:

– намотайте жмутки вати чи марлі у вигляді сливи на кінчик сталевий тоненької проволочки, довжина якої більша за довжину піпетки;

- опустіть піпетку в теплу мильну воду й промийте її зробленим тампончиком;
- прочистіть канал піпетки мандреном від тонких голок шприців;
- складіть промиті піпетки в емальоване відро, залийте їх теплою мильною водою;
- поставте відро на вогонь, прокип'ятіть 20-30 хв, дайте йому охолонути;
- промийте один раз водопровідною водою й двічі — дистильованою;
- поставте для висушування.

Увага! Чистий і висушений посуд оглядають проти світла. Скло повинно бути прозоре, без матових плям.

Зберігають посуд у місцях, захищених від пилу, найкраще – у щільно зачиненій шафі.

Завдання 4. Вимийте предметні скельця

Предметні скельця повинні мати абсолютно чисту поверхню, тобто повинні бути прозорими й знежиреними. На погано знежирених скельцях не можна виготовити якісні мазки, тому що не можна рівномірно розподілити патологічний матеріал у межах мазка. Предметні скельця слід мити в гумових рукавичках, щоб на них не залишалися жирні плями.

Алгоритм «Миття нових предметних скельць»:

- вимийте скельця в теплій мильній воді;
- промийте один раз водопровідною водою, двічі – дистильованою;
- висушіть скельця;
- помістіть сухі скельця в склянку з широким горлом, залийте їх сумішшю Нікіфорова, закрийте кришкою (суміш легко випаровується!).

Алгоритм «Миття предметних скельць, що були у використанні»:

Увага! Предметні скельця, що були використані, забруднені барвниками та імерсійним маслом, спочатку знежирюють, а потім миють.

- опустіть незаражені предметні скельця в хромову суміш, витримайте 2 год;
- злийте хромову суміш (суміш концентрованої сульфатної кислоти та дихромату калію) в іншу ємність;
- промийте скельця водопровідною водою;
- залийте скельця 5% розчином натрію гідрокарбонату;
- поставте ємність зі скельцями на вогонь, прокип'ятіть 30-40 хв, дайте охолонути;
- залийте скельця 5-10 % розчином хлоридної кислоти, витримайте 10-15 хв;
- промийте один раз водопровідною водою, двічі – дистильованою;
- висушіть скельця;
- помістіть сухі скельця в склянку з широким горлом, залийте їх сумішшю Нікіфорова, закрийте кришкою.

ПІДГОТОВКА ПОСУДУ, ПАПЕРУ, ВАТИ, МАРЛІ, ІНСТРУМЕНТІВ ДО СТЕРИЛІЗАЦІЇ

Лабораторний посуд, інструменти перед стерилізацією миють і висушують. Матеріали після стерилізації повинні залишатися стерильними, тому перед стерилізацією посуд закривають пробками, кришками, інший матеріал, а також посуд загортають у папір або кладуть у пакети, пенали.

Завдання 5. Підготуйте до стерилізації лабораторний посуд: чашки Петрі, піпетки, пробірки, флакони

Алгоритм «Підготовка чашок Петрі до стерилізації»:

- розстеліть на столі аркуш щільного паперу (розміром приблизно 40 x 40 см);
- складіть чашки Петрі стовпчиком в одному напрямі (дном догори) – 10 шт.;
- покладіть на аркуш паперу цей стовпчик чашок набік і щільно загорніть папером (подібно до бандеролі);
- перев'яжіть шпагатом; підпишіть на папері дату стерилізації.

Алгоритм «Підготовка піпеток до стерилізації»:

- наріжте смужки паперу розміром 2-2,5x50-70 см;
- розсортуйте піпетки за об'ємом;
- вставте у верхню частину піпеток шматочки вати, ворсинки вати спаліть у полум'ї спиртівки;
- загорніть щільно кожен піпетку в смужку паперу, починаючи з тупого кінця;
- підготуйте аркуш щільного паперу розміром приблизно 20 x 40 см;
- складіть загорнуті піпетки на цей аркуш в одному напрямку;
- загорніть усі піпетки в цей аркуш паперу; закріпіть кінці гумовими кільцями;
- підпишіть на папері об'єм піпеток, кількість їх, дату стерилізації.

Алгоритм «Підготовка пробірок до стерилізації»:

- розсортуйте пробірки за об'ємом; підготуйте ватно-марлеві пробки;
- закрийте щільно пробками отвори пробірок;

Увага! Пробки підбирайте так, щоб 2/3 пробки знаходились у пробірці, а 1/3 – поза пробіркою. Пробка повинна щільно прилягати до стінок пробірки. Якщо не дотримуватися цих правил, пробки легко випадають із пробірок. Це призводить до того, що пробірки втрачають стерильність.

- зв'яжіть шпагатом по декілька пробірок (5,10,15);
- напишіть на листочку паперу (3x3 см) дату стерилізації;
- підведіть цей папірець під шпагат на пробірках.

Увага! Скляний посуд стерилізують у сухожаровій печі за температури 180°C протягом 60хв або за температури 160°C – 150 хв; у паровому стерилізаторі за температури 120°C – 20-30 хв.

Завдання 6. Підготуйте до стерилізації папір, марлю, вату, інструменти

Алгоритм «Підготовка до стерилізації паперу, марлі, вати»:

- наріжте фільтрувальний папір на серветки розміром 15 x 15 см, марлю – 5 x 5 см;
- зробіть з вати кульки розміром 1 x 1 см;
- загорніть у щільний пакувальний папір паперові серветки по 10 штук, шматочки марлі й кульки вати — по 1 шт.;
- загорніть у загальний пакувальний папір пакети з марлею, в інший – пакети з ватою;
- напишіть на пакувальному папері вид матеріалу, кількість, дату стерилізації.

Увага! Папір, вату, марлю стерилізують у сухожаровій шафі за температури 160°C 150 хв або в паровому стерилізаторі за температури 120 °C – 30 хв.

Алгоритм «Підготовка до стерилізації інструментів»:

Увага! Металеві інструменти (ножиці, скальпелі, пінцети) готують до стерилізації однаково.

- загорніть у щільний пакувальний папір одну одиницю інструментів;
- напишіть на пакувальному папері дату стерилізації.

Увага! Металеві інструменти стерилізують у сухожаровій шафі за температури 160°C 150хв, 180°C – 60 хв або в паровому стерилізаторі за температури 120°C – 20-30 хв, 132°C – 30-60 хв залежно від того, якою культурою (аспорогенною чи спорогенною) вони були забруднені. Посуд, інструменти й інші матеріали, загорнуті в щільний папір, мають термін зберігання 30 діб після стерилізації, не загорнутий посуд і інструменти можуть бути використані протягом поточного робочого дня.

ОЗНАЙОМЛЕННЯ ЗІ СПОСОБАМИ ТЕРМІЧНОЇ ТА ХІМІЧНОЇ СТЕРИЛІЗАЦІЇ

Завдання 7. Заповніть таблиці:

Термічні способи стерилізації

<i>Спосіб, апаратура</i>	<i>Режим стерилізації</i>	<i>Застосування способу, недоліки, особливості</i>

Хімічні способи стерилізації

<i>Хімічні речовини</i>	<i>Режим стерилізації</i>	<i>Призначення стерилізації</i>

ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ПРАВИЛАМИ РОБОТИ АПАРАТУРИ ДЛЯ ТЕРМІЧНОЇ СТЕРИЛІЗАЦІЇ

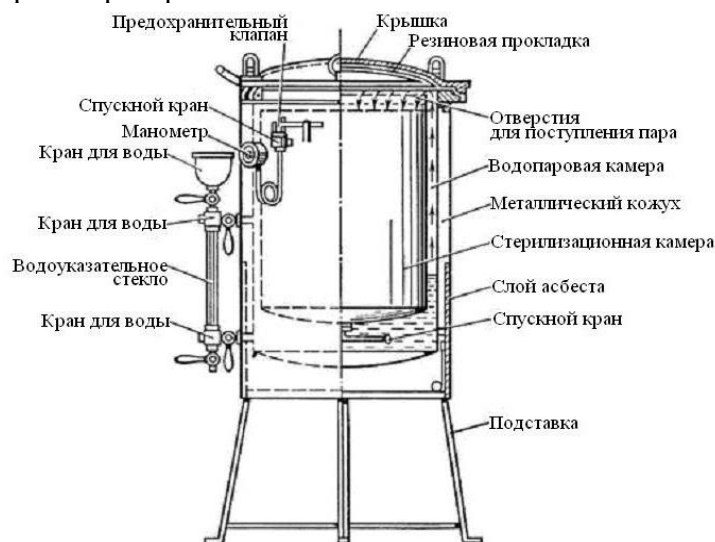
Для проведення стерилізації використовують різну апаратуру залежно від того, який режим стерилізації вона забезпечує.

Завдання 8. Ознайомтеся з призначенням і будовою парового стерилізатора (автоклава)

Стерилізацію паром під тиском проводять в апараті, який нагрівається *стерилізатором паровим (автоклавом).*

Основними частинами стерилізатора є: стерилізаційна камера, кришка стерилізаційної камери, крани управління, манометр.

Стерилізаційна камера являє собою металевий циліндр, до передньої частини якого прикріплена кришка. У середній частині циліндр має подвійну стінку. Простір між стінками називається паровою сорочкою. Цей простір через отвір сполучається із стерилізаційною камерою й трубою – з парогенератором.



На кришці є гумова прокладка для герметизації й гвинт, за допомогою якого щільно закривають кришку. У стерилізаційній камері розміщують матеріал.

Подавання води й пари регулюється кранами. За допомогою **манометра** визначають тиск у стерилізаційній камері в атмосферах. Нормальний атмосферний тиск (1 атм, або 760 мм рт. ст.) приймається за нуль. Червона риска на шкалі манометра вказує на максимальний робочий тиск, що допускається в автоклаві. Між показаннями манометра й температурою є

прямо пропорційна залежність. Так, 0 атм відповідає температура 100 °С, 0,5 атм – 112 °С, 1 атм – 120 °С, 1,5 атм – 126 °С, 2 атм – 132 °С. Температура й термін стерилізації визначаються якістю матеріалу й властивостями мікроорганізмів, якими він забруднений.

У паровому стерилізаторі можна стерилізувати при нормальному атмосферному тиску (1 атм) і температурі 100°С. У такому разі використовують багаторазову стерилізацію.

Увага! До роботи зі стерилізатором допускаються особи, які пройшли спеціальне навчання та перевірку знань і мають посвідчення на право обслуговування стерилізатора.

Завдання 9. Ознайомтеся з будовою та правилами роботи із сушильною шафою



Сушильна (сухожарова) шафа використовується для **висушування** лабораторного посуду, а також для **стерилізації** лабораторного посуду, медичних інструментів. Вона складається з корпусу з підставкою, робочої камери, дверцят, блока управління, терморегулятора.

Корпус і підставка зроблені з тонколистового металу. У верхній частині корпусу встановлено контрольний термометр, захищений оправою. На передній стінці підставки розміщені індикатор (сигналізує про включення апарата), тумблер (для включення апарата), запобіжники, блок управління: ручка для встановлення потрібної температури й шкала для орієнтування при встановленні потрібної температури (позначка "0" відповідає 40°С, "1" – 70°С, "2" – 105°С, "3" – 140°С, "4" – 175°С, "5" – 200°С).

Робоча камера – це металевий циліндр з плоским дном. У середині робочої камери є полиці або коробки з отворами для розміщення матеріалу, який висушується або стерилізується. У сухожаровій шафі висушують лабораторний посуд за температури 100–105 °С або стерилізують за температури 160°С протягом 150 хв, або за 180°С – 60 хв.

Алгоритм «Правила роботи із сушильною шафою»:

- перевірте, чи заземлена сушильна шафа;
- підключіть її до електромережі;
- увімкніть сушильну шафу за допомогою тумблера;
- установіть потрібну температуру за допомогою ручки;
- покладіть у робочу камеру матеріал;
- спостерігайте за показаннями термометра;
- зазначте час, коли показання термометра досягли потрібної температури, витримайте потрібний термін для стерилізації;
- вимкніть тумблер, відключіть апарат від електромережі, дайте йому охолонути;
- відкрийте дверцята, вийміть простерилізований матеріал.

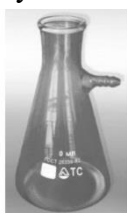
ОЗНАЙОМЛЕННЯ З МЕТОДИКОЮ ТА ПРИНЦИПАМИ МЕХАНІЧНОЇ СТЕРИЛІЗАЦІЇ

Завдання 10. Ознайомтеся з методикою та принципами механічної стерилізації

Механічну стерилізацію проводять у тому разі, коли розчини, рідкі середовища або компоненти їх при нагріванні змінюють свої властивості. Цим методом стерилізують поживні середовища, які містять розчинений білок, сироватку крові, антибіотик, а також відокремлюють від бактерій віруси, у тому числі й фаги, екзотоксини.

Механічну стерилізацію проводять методом фільтрації. Для цього використовують азбестові, фарфорові, глиняні, мембранні фільтри та свічки.

У мікробіологічній практиці найчастіше використовують фільтри Зейтца. Ці фільтри являють собою диски (діаметром 35-140 мм), зроблені з азбесту й целюлози. Фільтри марки "Ф" мають порівняно великі пори й використовуються для фільтрування суспензій, фільтри марки "СФ" (стерилізувальні) мають менші пори, вони затримують бактерії, але пропускають віруси.



Коли монтують прилад, то фільтри закладають між верхньою й нижньою частинами тримача й міцно стискають їх гвинтами. Потім загортають у щільний папір і стерилізують. Окремо стерилізують колбу Бунзена з гумовою пробкою. Перед використанням фільтр-прилад вставляють у колбу Бунзена через гумову пробку. Рідину, яку треба

простерилізувати, наливають у верхню частину тримача. Колбу Бунзена сполучають із розріджуваним насосом. З колби видаляють повітря, тоді рідина проходить у колбу через пори фільтра.

Мембранний фільтр роблять із нітроцелюлози. Це мембранні фільтри ацетатні (МФА) та ультрафільтраційні ацетатні мембрани (УАМ). Вони являють собою диски діаметром 35 мм. Залежно від діаметра пор мембранні фільтри розрізняють за номерами (№ 1, 2, 3, 4, 5). Чим менший номер, тим менший діаметр пор у фільтрі. Перед використанням їх кип'ятять у дистильованій воді протягом 30 хв, змінюючи 2-3 рази воду.

Фільтри (свічки) Шамберлана виготовляють з білої глини (каоліну) й кварцового піску. Залежно від діаметра пор їх розрізняють за номерами: L₁, L₂ ... L₁₃. Для повної стерилізації від бактерій застосовують фільтри від L₅ до L₁₃.

ОЗНАЙОМЛЕННЯ З ВЛАСТИВОСТЯМИ ОСНОВНИХ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАСОБІВ. ВИГОТОВЛЕННЯ НАСИЧЕНИХ І РОБОЧИХ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ РОЗЧИНІВ

Для дезінфікування використовують багато (близько 250) різних хімічних речовин. Більшість дезінфекційних засобів випускають готовими для використання (у вигляді концентрованої рідини, розчинів, таблеток, емульсій, суспензій, аерозолів). Найчастіше в мікробіологічній практиці використовують хлорне вапно та хлорамін.

Завдання 11. Ознайомтеся з властивостями й формою випуску хлорного вапна

Хлорне вапно – це білий грудкуватий порошок з різким запахом хлору, розчиняється у воді не повністю. Він являє собою суміш солей кальцію. Діючою сполукою його є гіпохлорит кальцію Ca(OCl)₂. Бактерицидний ефект хлорного вапна залежить від вмісту в ньому активного хлору. Активним хлором називають кількість хлору, яка витісняється при дії на хлорне вапно розведеної хлоридної або сульфатної кислоти. Кількість його визначається у відсотках. Хлорне вапно випускають у поліетиленових мішках місткістю по 20 кг, а також у пакетах з полімерних матеріалів по 0,5-2,0 кг.

Хлорне вапно, залежно від марки, містить 27-35 % активного хлору. Воно чутливе до світла, вологи, підвищеної температури, які спричиняють розпад діючої сполуки й втрату активного хлору. Тому зберігати його треба в щільно закритій тарі, темному, сухому й прохолодному місці. Якщо хлорне вапно зберігається тривалий час за невідповідних умов, активний хлор втрачається, і коли його буде менше 15 %, то хлорне вапно стає непридатним для виготовлення дезінфекційних розчинів.

Використовують хлорне вапно для дезінфікування предметів догляду за хворим, виділень, посуду, іграшок, поверхонь приміщень, санітарно-технічного обладнання, у разі кишкових та крапельних інфекцій бактеріальної, вірусної етіології, дерматомікозів; дезінфікування питної води, водопровідної й каналізаційної мереж. Сухе хлорне вапно використовують для знезараження випорожнень людей і тварин, а також для дезінфікування туалетів, вигрібних ям. Частіше хлорне вапно використовують у вигляді розчинів: концентрованих, що містять 10-20% активного хлору (основний насичений), і робочих, що містять 0,2-5 % активного хлору. Оскільки вміст активного хлору в сухому хлорному вапні під час зберігання поступово зменшується, то треба не менше як один раз на 3 міс, визначати вміст у ньому активного хлору.

Завдання 12. Виготовте 10л основного насиченого відстояного розчину хлорного вапна

Зважаючи на складність процесу виготовлення дезінфекційних розчинів із сухого хлорного вапна, спочатку завжди готують основний насичений розчин, а з основного — робочі дезінфекційні розчини. Кількість сухого вапна, що береться для виготовлення 10 л основного 10% насиченого розчину, залежить від вмісту активного хлору. Розрахунки проводять за формулою:

$$x = 25 : a,$$

де x – маса сухого хлорного вапна, кг; a – вміст активного хлору, %.

Так, якщо вміст активного хлору становить 25%, то для виготовлення 10 л 10% основного насиченого розчину треба взяти 1 кг сухого хлорного вапна; якщо вміст активного хлору 30 %, то беруть $(25 : 30 = 0,833 \text{ кг})$ 833 г сухого хлорного вапна, а при вмісті активного хлору 20 % беруть $(25 : 20 = 1,25 \text{ кг})$ 1 кг 250 г сухого хлорного вапна.

Алгоритм «Виготовлення основного насиченого розчину хлорного вапна»:

- розрахуйте, яку кількість хлорного вапна треба взяти для виготовлення розчину;
- зважте на терезах потрібну кількість сухого хлорного вапна;
- висипте зважене хлорне вапно в емальоване відро;
- відміряйте 10 л холодної водопровідної води;
- додайте в емальоване відро близько 1 л відміряної води;
- розмішуйте дерев'яною лопаткою до однорідної маси;
- вливайте в емальоване відро при постійному перемішуванні всю відміряну воду;
- закрийте емальоване відро кришкою, поставте в темне прохолодне місце на 1 добу;
- злийте обережно (через добу) відстояний розчин у бутель з темного скла, щільно закрийте дерев'яною пробкою;
- підпишіть назву дезінфекційного засобу, концентрацію, призначення, дату виготовлення.

Увага! Основний 10% насичений розчин хлорного вапна придатний для використання протягом 10 діб.

Завдання 13. Виготовте 3 л 1% розчину хлорного вапна

Робочі розчини необхідної концентрації готують із основного насиченого розчину перед їх використанням. Для виготовлення робочих розчинів можна скористатися схемою (табл.).

Таблиця. Схема виготовлення робочих розчинів хлорного вапна

Концентрація робочих розчинів, %	Об'єм основного 10% розчину для виготовлення 10 л робочого розчину, мл	Примітка
0,2	200	Відсоток робочого розчину визначають за ваговою масою хлорного вапна, взятого для виготовлення основного насиченого розчину
0,5	500	
1,0	1000	
3,0	3000	
5,0	5000	
10,0	Основний розчин	

У схемі зазначено, яку кількість основного 10% насиченого розчину хлорного вапна слід взяти для виготовлення 10 л робочого розчину. Якщо треба виготовити менший об'єм розчину, роблять відповідні розрахунки.

Наприклад, потрібно виготовити 2 л 0,5 % розчину хлорного вапна. Робимо розрахунки. Для виготовлення 10 л 0,5% робочого розчину треба взяти 500 мл основного розчину, для 2 л 0,5% робочого розчину треба взяти x мл основного розчину. Тоді

$$x = 2 \text{ л} \times 500 \text{ мл} / 10 \text{ л}$$

$$x = 100 \text{ мл.}$$

Отже, для виготовлення 2 л 0,5 % робочого розчину треба взяти 100 мл (0,1 л) основного 10% розчину і (2 л - 0,1 л = 1,9 л) 1,9 л холодної водопровідної води.

Алгоритм «Виготовлення робочих розчинів хлорного вапна»:

- зробіть відповідні розрахунки;
- налейте в емальоване відро потрібну кількість основного 10% насиченого розчину хлорного вапна;
- додайте потрібну кількість холодної водопровідної води, перемішайте;
- розлийте виготовлений розчин у банки для дезінфікування предметних скелець, піпеток, шпатель.

Завдання 14. Ознайомтеся з властивостями хлораміну

Найчастіше використовують хлорамін Б (його виробляють із хлорбензолу). Це кристалічний порошок білого або жовтуватого кольору зі слабким запахом хлору. Містить 26% активного хлору. Хлорамін – стійка сполука, тому в разі правильного зберігання не втрачає активного хлору протягом кількох років. Випускають його в поліетиленових пакетах по 100-500 г або в мішках місткістю до 30 кг.

Хлорамін згубно діє на вегетативні форми бактерій та їх спори, віруси.

Для дезінфікування широко використовують активований хлорамін, при цьому витрата препарату зменшується в 2-10 разів. Як активатори використовують солі амонію (хлорид, нітрат, сульфат) 1:1 або 1:2; іноді використовують 10% розчин аміаку (нашатирного спирту) 1:8. Активатора беруть таку саму кількість або менше у 2-8 разів від кількості хлораміну. Під впливом активатора відбувається швидше вивільнення активного хлору, що посилює бактерицидні властивості хлораміну.

Хлорамін добре розчинюється у воді. Із сухого хлораміну можна готувати розчини будь-якої концентрації. Розчини хлораміну можна готувати наперед, термін їх придатності для використання – 15 діб. Активовані розчини готують безпосередньо перед використанням, причому спочатку розчиняють хлорамін, а потім додають активатор.

Хлорамін використовують для дезінфікування поверхонь у приміщеннях, білизни, посуду, іграшок, предметів догляду за хворими, виробів медичного призначення, прибирального інвентарю тощо. Активований хлорамін використовують для дезінфікування предметів і патологічного матеріалу, зараженого збудником туберкульозу, споровою культурою (збудник сибірки).

Завдання 15. Виготовте 500 мл 1 % розчину хлораміну

Алгоритм «Виготовлення розчину хлораміну»:

- зробіть відповідні розрахунки;
- зважте потрібну масу хлораміну, висипте його в скляну чи фарфорову ємність;
- відміряйте холодну водопровідну воду, вилийте її в ту саму ємність;
- розмішуйте до повного розчинення хлораміну;
- закрийте щільно ємність;
- підпишіть назву дезінфекційного засобу, концентрацію його, призначення (для дезінфікування поверхонь робочих столів), дату виготовлення.

ПРОВЕДЕННЯ ДЕЗІНФЕКЦІЇ ПІПЕТОК, ІНФІКОВАНОГО МАТЕРІАЛУ, РОБОЧОГО МІСЦЯ, РУК

Завдання 16. Ознайомтеся з технікою проведення дезінфекції піпеток, інфікованого матеріалу, робочого місця, рук

Градуйовані, пастерівські піпетки, шпателі, металеві інструменти відразу після використання опускають в ємність з дезінфекційним розчином, яка стоїть на кожному робочому місці.

Відпрацьований патологічний матеріал (кал, сечу, мокротиння, кров, спинномозкову рідину) обробляють сухим дезінфекційним засобом або його розчинами. Вибір дезінфекційного засобу, концентрація, термін дії залежать від виду матеріалу та властивостей збудника. Так, кал, блювотні маси, заражені збудниками кишкових інфекцій, засипають сухим хлорним вапном з розрахунку 200г дезінфекційного засобу на 1 кг виділень, перемішують, витримують 1 год, а посуд опускають в 1% розчин хлораміну на 30 хв. Мокротиння, заражене збудниками туберкульозу, знезаражують 5% розчином хлораміну протягом 6 год, а посуд занурюють в 1% розчин активованого хлораміну на 1 год.

Алгоритм «Дезінфікування робочого місця»:

- зробіть з вати кульку діаметром 2 см;
- візьміть кульку пінцетом, змочіть її в 3% розчині хлораміну;
- потріть цією кулькою поверхню свого стола;
- опустіть кульку в посуд з дезінфекційним розчином;
- витріть стіл вологою ганчіркою.

Алгоритм «Дезінфікування рук»:

- зробіть з вати дві кульки діаметром 1-2 см;
- візьміть пінцетом одну кульку, змочіть її в 0,2% розчині хлораміну;
- протріть нею руки в такій послідовності: ліва рука – тильна сторона, долонна сторона, між пальцями, нігтьова пластинка, під нігтями; права рука – у такій самій послідовності;
- опустіть кульку в посуд з дезінфекційним розчином;
- візьміть пінцетом другу кульку і все повторіть;
- вимийте руки водою з милом;

– висушіть руки, змастіть їх кремом для рук.

Завдання 17. Зробіть висновки. Оформіть щоденник. Приберіть робоче місце.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
10. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
11. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
12. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття № 3

Тема: Способи вираження концентрації розчинів

Мета: оволодіти навичками виражати різними способами концентрації розчинів; навчитися перераховувати різні способи вираження концентрації один в інший.

Теоретичні відомості:

Розчином називають термодиманічно стійку однофазну гомогенну систему, що містить два або більше компонентів, що зберігає свої фізичні та хімічні властивості незалежно від кількості розчину. Речовину, яка присутня у розчині в більшій кількості, звичайно називають *розчинником*, а інші речовини – *розчиненими речовинами*. Якщо одна з речовин розчину є рідиною, а інші – твердими або газоподібними, то розчинником прийнято називати рідку фазу навіть тоді, коли інші речовини присутні в розчині в більшій кількості. Розчинником також вважають ту речовину, агрегатний стан якої не змінюється при утворенні розчину.

Стан розчину визначається трьома основними параметрами: температурою, тиском і концентрацією розчинених речовин, які, в свою чергу, визначають густину розчину.

При розчиненні твердої, рідкої або газоподібної речовини в обраному розчиннику при $(p, T) = \text{const}$ концентрація розчину збільшується не безмежно. Рано або пізно речовина, якщо вона не має необмеженої розчинності, перестає розчинятися, і досягається певна її концентрація, яка навіть при самому тривалому контакті речовини, що розчиняється, і розчинника в умовах інтенсивного перемішування більше не змінюється, залишаючись постійною. Це є ознакою настання фазової рівноваги між речовиною, яка розчиняється, в твердому стані та в розчиненому стані.

Гранично можлива концентрація розчиненої речовини, що відповідає фазовій рівновазі, називається *розчинністю* цієї речовини в даному розчиннику при даних температурі й тиску. Розчин, що перебуває у фазовій рівновазі з розчиненою речовиною, називають *насиченим*. Насичений розчин може існувати тільки в контакті (через поверхню поділу фаз) з розчиненою речовиною. Насичені розчини можуть бути як концентрованими, так і розведеними залежно від значення розчинності речовин. Наприклад, насичений розчин AgNO_3 містить при 20°C 216 г солі в 100 г води, а насичений розчин AgBr при тій же температурі всього $1,2 \cdot 10^{-5}$ г у тій же кількості води.

Речовини будь-якого агрегатного стану можуть утворювати в певних умовах *пересичені* розчини, тобто такі, у яких вміст розчиненої речовини більше, ніж у насичених розчинах тих же речовин при однакових температурі й тиску. Такі розчини вкрай нестійкі й при контакті з розчиненою речовиною переходять у насичені, виділяючи надлишок розчиненої речовини. Існують *ненасичені* розчини – розчини, у яких при даних температурі й тиску можливо подальше розчинення речовини. Такі розчини завжди являють собою однофазну систему.

Способи вираження концентрації розчинів

Кількісний вміст компонента розчину, віднесений до певної маси або до певного об'єму розчину або розчинника, називається *концентрацією* цього компонента. При цьому вміст розчиненої речовини звичайно виражають в одиницях маси, у моль або в грам-еквівалентах.

Моль – одиниця кількості речовини. *Моль* — це кількість речовини системи, що містить стільки молекул, атомів, іонів, електронів або інших структурних одиниць, скільки міститься атомів в 0,012 кг ізотопу вуглецю ^{12}C ($6,022 \cdot 10^{23}$ моль $^{-1}$).

Маса речовини, яка міститься в 1 моль даної простої або складної речовини, називається *молярною масою*. Молярна маса речовини, виражена в грамах на моль, має те ж чисельне значення, що і його відносна молекулярна маса.

Еквівалентом речовини називається така його кількість, яка у даній реакції рівноцінна (еквівалентна) 1 моль атомів Гідрогену (1,0079 г). Маса 1 еквівалента називається *еквівалентною масою*.

Масова частка W, % – це число одиниць маси розчиненої речовини, що міститься в 100 одиницях маси розчину і виражене у відсотках.

$$W = \frac{m_2}{m_1 + m_2}, \text{ де } m_1 - \text{маса розчинника, г; } m_2 - \text{маса розчиненої речовини, г;}$$

Молярна концентрація (молярність) C_M , моль/л (моль/дм 3 , М), виражається числом моль розчиненої речовини в 1 л (1 дм 3) розчину.

Існують загальноприйняті назви розчинів різної молярної концентрації:

- 1 моль/л – 1 М – одномолярний;
- 2 моль/л – 2 М – двомолярний;
- 0,1 моль/л – 0,1 М – децимолярний;
- 0,02 моль/л – 0,02 М – двосантимольний;
- 0,003 моль/л – 0,003 М – тримілімолярний.

Молярність (молярна вагова концентрація) m , моль/кг розчинника (m) – число моль речовини, що міститься в 1 кг розчинника.

$$C_m = \frac{m_2 \cdot 1000}{m_1 \cdot M_2}, \text{ де } m_1 \text{ і } m_2 - \text{маса розчинника і розчиненої речовини відповідно, } M_2 - \text{молярна маса розчиненої речовини}$$

Еквівалентна концентрація (нормальність, молярна концентрація еквіваленту) C_N , моль-екв/л (моль-екв/дм³, н), виражається числом еквівалентів розчиненої речовини в 1 л (1 дм³) розчину.

$C_N = \frac{m}{m_e \cdot V}$, де m_e – еквівалентна маса, г/(мольекв); m – маса розчиненої речовини (г) в 1 л розчину; V – об'єм розчину в літрах

$C_N^B = \frac{V_B^{\text{екв}}}{V}$, де $V_B^{\text{екв}}$ – кількість еквівалента речовини, V – об'єм розчину в літрах.

Інші назви розчинів різної нормальності:

1н. – 1 моль-екв./л – однонормальний розчин;

0,1н. – 0,1 моль-екв./л – децинормальний розчин;

0,02 н. – 0,02 моль-екв./л – двосантинормальний розчин.

Еквівалентна маса елемента дорівнює його молярній масі, поділеній на валентність (г/моль-екв).

Еквівалентна маса оксиду дорівнює його молекулярній масі, поділеній на кількість атомів кисню, помножених на 2, або сумі еквівалентних мас кисню та елемента. Наприклад, еквівалентна маса оксиду алюмінію дорівнює:

$$E_{Al_2O_3} = \frac{102}{3 \times 2} = 17 \quad \text{або} \quad E_{Al_2O_3} = 9 + 8 = 17$$

Еквівалентна маса кислоти дорівнює її молекулярній масі, поділеній на основність кислоти в цій реакції, або сумі еквівалентних мас кислотного залишку і водню. Наприклад, еквівалентна маса сірчаної кислоти дорівнює:

$$E_{H_2SO_4} = \frac{98}{2} = 49 \quad \text{або} \quad E_{H_2SO_4} = 48 + 1 = 49$$

Еквівалентна маса основи дорівнює її молекулярній масі, поділеній на кількість гідроксильних груп, що беруть участь у цій реакції. Наприклад, еквівалентна маса $Al(OH)_3$ дорівнює:

$$E_{Al(OH)_3} = \frac{78}{3} = 26 \quad \text{або} \quad E_{Al(OH)_3} = 9 + 17 = 26$$

Еквівалентна маса іона дорівнює його молярній масі, поділеній на величину його заряду без урахування знака заряду. Наприклад, еквівалентні маси іона алюмінію і сульфат-іона дорівнюють:

$$E_{Al^{3+}} = \frac{27}{3} = 9 \quad \text{або} \quad E_{SO_4^{2-}} = \frac{96}{2} = 48$$

Еквівалентна маса солі дорівнює її молярній масі, поділеній на добуток кількості атомів металу в молекулі на його валентність у цій солі, або сумі еквівалентних мас катіона та аніона. Наприклад, еквівалентна маса сульфату алюмінію дорівнює:

$$E_{Al_2(SO_4)_3} = \frac{342}{2 \times 3} = 57 \quad \text{або} \quad E_{Al_2(SO_4)_3} = 9 + 48 = 57$$

Хід роботи:

Завдання 1. Обрахувати масову частку речовини у розчині.

У 450 г води розчинили 50 г $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Обчислити масову частку кристалогідрату та безводної солі у розчині.

Розв'язування: Масова частка $W = m_{\text{речовини}}/m_{\text{розчину}}$

$$W_1 = \frac{m_{\text{кристалогідр}}}{m_{\text{розчину}}}; \quad W_2 = \frac{m_{CuSO_4}}{m_{\text{розчину}}} \\ m_{\text{розчину}} = 450 + 50 = 500 \text{ г}; \quad W_1 = 50/500 = 0,1$$

$$W_2 = \frac{m_{(\text{кристалог.})} \cdot W_3}{m_{(\text{розчину})}} \quad \text{де } W_3 = \frac{M_{\text{CuSO}_4}}{M_{\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}}} = \frac{160}{250} = 0,64$$

$$W_2 = \frac{50 \cdot 0,64}{500} = 0,064$$

Звідки $W_2 = 0,064$ або у відсотках: $W_1 = 0,1 \cdot 100\% = 10\%$;
 $W_2 = 0,064 \cdot 100\% = 6,4\%$.

Завдання 2. Обчислити: а) відсоткову, б) C_M , C_N , C_m концентрації розчину H_3PO_4 , одержаного при розчиненні 18 г кислоти у 282 мл води, якщо густина розчину $1,031 \text{ г/см}^3$.

$$\text{Розв'язування: } W = \frac{m_{(\text{H}_3\text{PO}_4)}}{m_{(\text{р-ну})}} \cdot 100\% \quad ; \quad m_{(\text{р-ну})} = 18 + 282 = 300 \text{ г}$$

$$W = \frac{18}{300} \cdot 100\% = 6\%$$

$$C_M = v/V, \text{ моль/л; } V_{(\text{р-ну})} = 300/1,031 = 291 \text{ мл або } 0,291 \text{ л}$$

$$v = \frac{m_{(\text{H}_3\text{PO}_4)}}{M_{(\text{H}_3\text{PO}_4)}} = 18/98 = 0,184 \text{ моль}$$

$$C_M = 0,184/0,291 = 0,63; \quad C_N = 0,552/0,291 = 1,90;$$

$$C_N = v_{\text{екв}}/V, \text{ моль/л;}$$

$$v_e = \frac{m_{(\text{H}_3\text{PO}_4)}}{m_{e_{(\text{H}_3\text{PO}_4)}}} = 18/32,6 = 0,552 \text{ моль} \cdot \text{екв.}$$

$$C_N = 0,552/0,291 = 1,90$$

$$C_m = \frac{m_2 \cdot 1000}{m_1 \cdot M_2} = \frac{18 \cdot 1000}{282 \cdot 98} = 0,65$$

Завдання 3. Скільки грамів 32%-ного розчину нітратної кислоти необхідно додати до 600 г 80%-ного розчину тієї самої кислоти, щоб одержати 64%-ний розчин?

Розв'язування: Для розв'язання такого типу задач можна застосувати метод змішування ("правило хреста"). Записують концентрації вихідних розчинів і розчину, який потрібно одержати, як це показано на схемі:

80	32	2 частини
	64	
32	16	1 частина

2ч – 600 г
1ч – x г
x = 600/2 = 300 г

Завдання 4. Скільки грамів сульфатної кислоти міститься в $23,5 \text{ см}^3$ розчину з $C_N = 0,542$, враховуючи, що еквівалент сульфатної кислоти взято відносно до реакції повного заміщення водню в кислоті?

Розв'язування:

$$m_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \frac{C_N \cdot m_{e_{(\text{H}_2\text{SO}_4)}} \cdot V}{1000} = \frac{0,542 \cdot 49 \cdot 23,5}{1000} = 0,624 \text{ г}$$

Завдання 5. Розрахувати об'єм азотної кислоти ($\text{HNO}_3 \rho = 1,3$; 50%), що необхідний для приготування 700 мл 0,5М розчину?

По довіднику визначаємо, що концентрація HNO_3 при $\rho = 1,3 \text{ г/мл}$ відповідає 50%.

Розраховуємо молекулярну масу азотної кислоти

$$M.m_{HNO_3} = 1 + 14 + 16 \times 3 = 63$$

Розраховуємо масу безводневої кислоти, яка потрібна для приготування розчину:

$$m = M \times V \times M.m. = 0,5 \times 0,7 \times 63 = 22,05 \text{ г}$$

(М – це молярна концентрація так позначена)

Перераховуємо, в якій наважці 50% розчину азотної кислоти міститься 22,05 г безводневої HNO_3 :

100 г розчину містить 50 г кислоти

x г розчину містить 22,05 г кислоти

$$x = \frac{100 \times 22,05}{50} = 44,1 \text{ г}$$

Розраховуємо об'єм, який займає 44,1 г кислоти:

$$V_{HNO_3} = \frac{m}{\rho} = \frac{44,1}{1,3} = 33,9 \text{ мл}$$

Розрахунок розчинника проводимо так: $700 - 33,9 = 666,1 \text{ мл}$

Відповідь: для приготування 700 мл 0,5М азотної кислоти потрібно в 666,1 мл води влити 33,9 мл азотної кислоти.

Контрольні завдання:

- Скільки грамів калій хлориду потрібно додати до 450 г 8%-ного розчину тієї самої солі, щоб одержати 12%-ний розчин? Відповідь: 20,45 г.
- Із 10 кг 20%-ного розчину при охолодженні виділилося 400 г солі. Чому дорівнює відсоткова концентрація охолодженого розчину? Відповідь: 16,7%.
- У якій масі води необхідно розчинити 40 г калій броміду для одержання 4%-ного розчину? Відповідь: 960 г.
- Із 400 г 50%-ного розчину сульфатної кислоти випарували 100 г води. Чому дорівнює відсоткова концентрація цього розчину? Відповідь: 66,7%.
- До 3 л 10%-ного розчину HNO_3 (густиною $1,054 \text{ г/см}^3$) додали 5 л 2%-ного розчину тієї самої кислоти (густиною $1,009 \text{ г/см}^3$). Обчислити відсоткову і молярну концентрації одержаного розчину, об'єм якого дорівнює 8 л. Відповідь: 5%; $C_m = 0,82$.
- У якій масі води потрібно розчинити 67,2 л гідроген хлориду (н.у.), щоб одержати 9%-ний розчин хлоридної (соляної) кислоти? Відповідь: 1107 г.
- Змішали 300 г 20%-ного розчину і 500 г 40%-ного розчину натрій хлориду. Чому дорівнює відсоткова концентрація одержаного розчину? Відповідь: 32,5%.
- Який об'єм води необхідно додати до 100 мл 20%-ного розчину сульфатної кислоти (густина $1,14 \text{ г/см}^3$), щоб одержати 5%-ний розчин? Відповідь: 342 мл.
- Яку масу натрій нітрату необхідно розчинити у 400 г води, щоб приготувати 20%-ний розчин? Відповідь: 100 г.
- До 950 г води додали 50 мл 48%-ного розчину сульфатної кислоти (густина $1,38 \text{ г/см}^3$). Обчислити відсотковий вміст сульфатної кислоти в одержаному розчині. Відповідь: 3,25%.
- Скільки грамів $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ необхідно розчинити у 250 г води, щоб одержати розчин, який містить 5%-тів безводної солі? Відповідь: 32 г.
- Визначити відсоткову концентрацію розчину, одержаного змішуванням 300 г 25%-ного і 400 г 40%-ного розчинів. Відповідь: 33,6%.
- Обчислити відсотковий вміст кристалогідрату і безводної солі у розчині, який містить 100 г $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ у 900 г води. Відповідь: 10,0%; 5,47%.
- Для приготування 5%-ного розчину магній сульфату взято 400 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Знайти масу одержаного розчину. Відповідь: 3,9 кг.
- Скільки молів води необхідно додати до 1,6 кг 25%-ного розчину натрій гідроксиду для одержання 16%-ного розчину? Відповідь: 50 моль.
- Із 750 кг 48%-ного розчину сульфатної кислоти випарували 300 кг води. Визначити відсотковий вміст сульфатної кислоти в одержаному розчині. Відповідь: 80%.

17. Скільки грамів $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ необхідно для реакції обміну із 75 мл 2,3%-ного розчину сульфатної кислоти (густиною $1,015 \text{ г/см}^3$)? Відповідь: 4,36 г.
18. У якій масі води необхідно розчинити 50 г сульфатної кислоти, щоб одержати 10%-ний розчин? Відповідь: 25 моль.
19. У якій масі води необхідно розчинити 25 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, щоб одержати 8%-ний розчин CuSO_4 ? Відповідь: 175 г.
20. Змішали 247 г 62%-ного і 145 г 18%-ного розчинів сульфатної кислоти. Яка відсоткова концентрація одержаного розчину? Відповідь: 45,72%
21. Визначте маси розчинів хлоридної кислоти з масовою часткою 10% та 90%, необхідні для приготування 160 г розчину з масовою часткою кислоти 30%. Відповідь: 40 г і 120 г.

Лабораторне заняття №4

Тема: Основні прийоми та операції в лабораторних дослідженнях

Мета: ознайомити з принципом роботи різних видів терезів, засвоїти правила роботи на них, закріпити основні навички виготовляти розчини із зазначеними параметрами та визначати їх концентрації, набути навичок роботи на центрифугі та спектрофотометрі.

Обладнання: ФЕК, колба на 100 мл, пробірки на 20 мл, піпетки на 5 мл, центрифуга для пробірок, технохімічні, аналітичні та торсійні терези.

Теоретичні питання:

1. Класифікація ваг.
2. Технохімічні ваги, принцип роботи на них, різноважки, правила роботи.
3. Електронні ваги, принцип та правила роботи на них.
4. Аналітичні ваги, принцип та правила роботи на них.
5. Торсійні ваги, принцип та правила роботи на них.
6. Центрифугування.
7. Спектрофотометрія.

Теоретичне обґрунтування:

Лабораторні терези традиційно ділять на *технохімічні* (звичайно більш грубі), *аналітичні* (мікроаналітичні, ультрамікроаналітичні – більш чутливі) і *спеціальні* (для особливих цілей). Для визначення маси з точністю до $\pm 0,01$ г використовуються технохімічні терези (рис.1.), а з точністю до $\pm 0,0001$ г аналітичні терези (рис.2.).

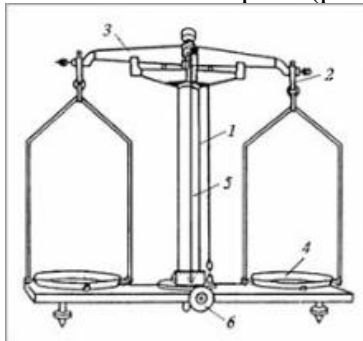


Рис.1. Будова технохімічних терезів:

1 – основа; 2 – сидла; 3 – коромисло; 4 – чашка; 5 – стрілка; 6 – аретир

Аналітичні терези – це точний прилад, який потребує обережного поводження та регулярного техобслуговування.

Терези (рис.2) вміщені у металеву вітрину з бічними висувними скляними дверцями. Вітрина закріплена на металевій основі. На основі (1) прикріплена колонка (2). На колонці закріплюються два кронштейни з повітряними заспокоювачами-демпферами (3).

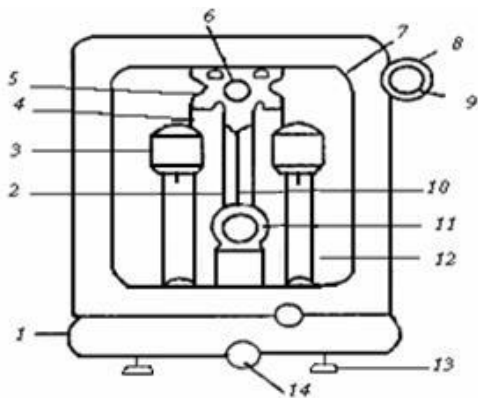


Рис.2. Терези лабораторні аналітичні.

На колонці розміщена опорна подушка, на яку опирається середня призма коромисла (6).

На кінцях коромисла закріплені вантажно-приймальні призми, на яких навішуються серги (4) із вантажно-приймальними подушками. На верхні гачки сергів підвішуються шальки (12) з дужками, на нижні – стакани демпферів, що входять в корпуси, закріплені на колонці. Терези забезпечені міліграмовими різноважками, які навішуються на планку, з'єднану з правою сергою. Керування різноважками здійснюється за допомогою обертання лімбів (8, 9), розташованих праворуч від вітрини терезів. При обертанні малого лімба (9) відбувається накладання або зняття десятків міліграм, при обертанні великого лімба (8) – сотень міліграм. На коромислі закріплена стрілка (10), на нижньому кінці якої встановлена мікрошкала з відліком від 0 до 10 мг в обидві сторони. Мікрошкала за допомогою оптичного пристрою проектується на екран (11). Під основою терезів змонтований аретир, який приводиться в дію за допомогою маховичка (14). Терези мають задню і дві бічні ніжки (13), за допомогою яких вони встановлюються за рівнем, закріпленням всередині терезів.

ПОРЯДОК РОБОТИ

1. Встановити терези за рівнем за допомогою ніжок гвинтів (13).
2. Встановити вилку освітлювального пристрою в розетку електромережі.
3. Розаретирувати терези поворотом маховичка (14) проти годинникової стрілки.
4. Зробити відлік за мікрошкалою приладу початкового показу не навантажених терезів.
5. Зааретирувати терези поворотом маховичка (14) за годинниковою стрілкою.
6. Покласти зважуване тіло на ліву шальку терезів.
7. На праву покласти різноважки.
8. Розаретирувати терези. При цьому відмітити, в який бік відхилилась стрілка.
9. Зааретирувати терези.
10. В залежності від напрямку відхилення стрілки терезів зменшити або збільшити масу різноважок, користуючись при цьому лімбами (8 і 9).
11. Повторювати пункти 8-10, поки зображення мікрошкали не опиниться в межах екрана (11).
12. Зробити відлік за мікрошкалою приладу.
13. Зааретирувати терези.
14. Зняти з лівої шальки зважуване тіло.
15. Зняти з правої шальки різноважки.
16. Зробити відлік показу приладу сумуванням маси різноважок, показів лімбів і відліку за мікрошкалою.
17. Маса зважуваного тіла дорівнює різниці показів приладу, знятих при зважуванні тіла, і ненавантажених терезів.
18. Вийняти вилку живлення з електромережі.

ТЕРЕЗИ ТОРСІЙНІ

Терези торсійні призначені для зважування малих мас (до 500 мг) різного роду речовин в медичних установах.

На осі (5) терезів (рис.3) закріплені кінець спіральної моментної пружини (11), коромисло (4) з чашечкою (7) на кінці, контрольна стрілка (10) і ручка (12) для закручування пружини. Зовнішній кінець моментної пружини жорстко зв'язаний з відліковою стрілкою (3), яка переміщується вздовж шкали циферблату (2).

Для встановлення коромисла в нульове положення використовується додаткова (тарировочна) спіральна пружина (9), закріплена внутрішнім кінцем на осі терезів, а зовнішнім – на фіксаторі (6), жорстко зв'язаному з тарировочною рукояткою (8).

Механізм терезів закріплений в корпусі (рис.7), який закритий спереду склом. Через отвір у склі проходить стержень, на якому (із зовнішнього боку скла) закріплена ручка (6) для закручування пружини. Кінець коромисла (8) з підвішеним гачком (9) і чашечкою (10) закритий відкидною кришкою (7) з скляними стінками.

Триногий корпус має два гвинти (1) і сферичний рівень (2) для забезпечення горизонтального положення основи терезів. Терези обладнані аретиром, який приводиться в дію важелем (3).

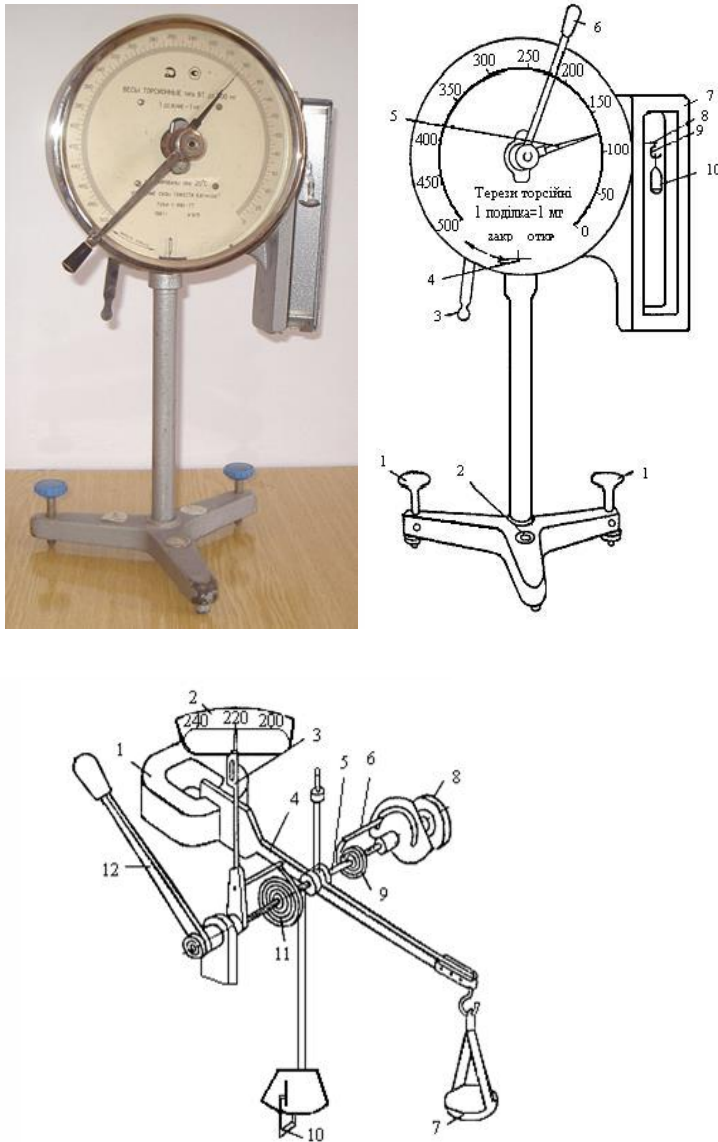


Рис. 3. Торсійні ваги

ПОРЯДОК РОБОТИ

1. Обертанням гвинтів (1) встановити терези за рівнем 2.
2. Звільнити коромисло пересуванням праворуч важеля аретира (3).
3. Пересуванням ручки (12) встановити відлікову стрілку на нульову поділку шкали циферблату.

4. Обертанням тарировочної рукоятки, розташованої на задній стороні корпусу, сумістити контрольну стрілку з контрольним штрихом циферблата.
5. Зааретирувати коромисло пересуванням ліворуч важеля аретира.
6. Відкрити кришку (7).
7. Помістити тіло, що підлягає зважуванню, на чашечку (10).
8. Закрити кришку.
9. Пересуванням праворуч важеля аретиру звільнити коромисло терезів.
10. Повільно повертаючи проти годинникової стрілки ручку (12), співставити контрольну стрілку з контрольним штрихом циферблата.
11. Записати показ відлікової стрілки.
12. Зааретирувати коромисло.
13. Відкрити кришку.
14. Зняти з чашки тіло.
15. Закрити кришку.
16. Встановити відлікову стрілку на нульову поділку шкали циферблата.

Хід роботи:

Завдання 1. Ознайомитись з конструкцією технохімічних ваг. Замалювати їх, зробити відповідні підписи.

Завдання 2. Ознайомитись з конструкцією аналітичних ваг. Замалювати їх, зробити відповідні підписи.

Завдання 3. Зважити на технохімічних та електронних вагах хімічний стакан, колбу, мірний циліндр. Дані порівняти та занести у таблицю.

Назва предмета	Маса на технохімічних вагах	Маса на електронних вагах

Завдання 4. Зважити на технохімічних та електронних вагах 1,5 г порошкоподібної речовини. Дані порівняти та занести у таблицю.

Речовина	Маса на технохімічних вагах	Маса на електронних вагах

Завдання 5. Зважити на торсійних вагах наважку натрій хлориду.

Завдання 6. Приготування розчину із заданою масовою часткою розчиненої речовини
Приготуйте 100 г 10% (14%, 20%) розчину натрій хлориду із наважки твердої речовини.

1. Обчисліть необхідну масу речовини та об'єм води для виготовлення розчину із заданою масовою часткою.
2. Зважте на електронних вагах наважку солі з точністю до 0,01 г.
3. За допомогою мірного циліндра виміряйте відповідний об'єм дистильованої води.
4. У приготовлений хімічний стакан перенесіть наважку речовини та долийте відміряний об'єм води. Суміш перемішайте.
5. Визначте молярну, моляльну та молярну еквіваленту концентрації. Значення густини визначте за допомогою довідника. Занесіть дані до таблиці

Масова частка NaCl у розчині, W%	Маса розчину, m (г)	Маса речовини, m (г)	Об'єм води, V (мл)	Густина, ρ (г/см ³)	Молярна концентрація, C _m (моль/л)	Моляльна концентрація, C _m (моль/кг)	Молярна концентрація еквівалента, C _n (моль-екв/л)

Завдання 7. Провести визначення креатиніну у сечі

Приготування робочих розчинів

1. Розчин креатиніну. До флакону з ліофілізованим креатиніном вносять піпеткою 8мл дистильованої води, одержують розчин з концентрацією креатиніну 442,5 мкмоль/л (50мг/л).
2. Розчин альбуміну. До флакону із ліофілізованим альбуміном вносять піпеткою 8 мл дистильованої води, одержують розчин з концентрацією 20г/л.
3. Розчин гідроксиду натрію. Вміст флакона з гідроксидом натрію переносять у колбу на 100 мл. Доливають до мітки дистильованої води і ретельно перемішують. Одержують розчин з масовою часткою 4,6%.
4. Розчин пікринової кислоти. Стійкий і готовий до використання.
5. Розчин три хлороцтової кислоти (ТХО). Стійкий і готовий до використання.

Аналіз сечі на креатинін проводять відповідно до таблиці:

Відміряємий розчин, мл	Досл.проба	Калібр. проба	Холоста проба
Дистильована вода	-	2,0	-
Калібрувальний розчин	-	1,0	-
Розчин ТХО кислоти	-	1,0	-
Перемішати, центрифугувати 5 хв при 3000об/хв.. перед аналізом розвести сечу в 100 разів (1мл сечі і 99мл води)			
Надосадова рідина	-	2,0	-
Розведена сеча	1,0	-	-
Розчин ТХО кислоти	0,5	-	0,5
Дистильована вода	0,5	-	1,5
Розчин гідроксиду натрію	1,0	1,0	1,0
Розчин пікринової кислоти	1,0	1,0	1,0
Перемішати, витримати 20 хв при кімнатній температурі, фотометризувати проти холостої проби. Отриманий результат помножити на коефіцієнт розведення (50)			

Розрахунок концентрації креатиніну у пробі проводять згідно з калібрувальним графіком, чи за формулою:

$$C = E_{\text{досл}} \cdot 2,0(177) / E_{\text{кал}}, \text{ де}$$

C – концентрація креатиніну в пробі, мг% (мкмоль/л)

E_{досл} – оптична щільність дослідної проби,

E_{кал} – оптична щільність калібрувальної проби.

Кількість креатиніну у добовій сечі визначають за формулою:

$$KK = CA / B1000, \text{ де}$$

KK – кількість креатиніну у добовій сечі, мг,

C – концентрація креатиніну у сечі, мг%,

A – добова кількість сечі,

B – кількість сечі, взятої для аналізу, мл.

Оформіть робочі зошити, приберіть робоче місце

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження /Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.

5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
10. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
11. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
12. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №5

Тема: Приготування, фіксація та фарбування мазків крові

Мета: ознайомитись з правилами підготовки скелець до виготовлення мазка крові, засвоїти та відпрацювати методику виготовлення мазків крові, їх фіксації та фарбування.

Обладнання: кров, предметні скельця, пінцети, стакани, 0,3% розчин метиленового синього, фільтрувальний папір, предметні та шліфовані скельця, рукавички.

Теоретичні питання:

1. Склад крові.
2. Плазма крові, її склад.
3. Функції крові.
4. Загальні уявлення про кровотворення.
5. Сучасна схема кровотворення.
6. Принципи морфологічної диференціації клітин крові в забарвлених препаратах.
7. Правила та техніка виготовлення мазків крові.
8. Правила та техніка фіксації та фарбування виготовлених мазків крові

Хід роботи:

Завдання 1. Ознайомитись із правилами підготовки скла до виготовлення мазків крові

Мазки крові роблять на предметних стеклах за допомогою більш вузького шліфованого предметного скла.

1. Скло кип'ятять без мила і соди протягом 15-20 хв., промивають чистою водою і занурюють на 1 год. в насичений розчин двохромовокислого калію в сірчаній кислоті. Оброблено таким чином скло промивають під струменем водопровідної води і насухо витирають чистим рушником.

2. За відсутності двохромовокислого калію та сірчаної кислоти скло кладуть у мильний розчин і витримують в ньому 8-10 год., а потім в тому ж розчині кип'ятять їх 5-10 хв. Після кип'ятіння скла виймають і ретельно промивають під струменем водопровідної води, а потім насухо витирають.

3. Скло, що не використовувалося раніше, промивають в гарячій воді і насухо витирають. Зберігають у скляній банці з кришкою.

Завдання 2. Вивчити та відпрацювати техніку виготовлення мазків крові

Виготовте мазок крові на предметному склі відповідно до вказаної методики

Техніка виготовлення мазків крові

Мазки крові виготовляють для вивчення морфологічних особливостей клітин крові та підрахунку лейкоцитарної формули.

Для мазків використовуємо кров після проколу шкіри пальця, знявши її першу краплю сухим стерильним тампоном.

Для дослідження виготовляємо не менше двох мазків.

Вимоги до виготовлених мазків крові:

- для виготовлення мазка повинна бути використана вся крапля крові;
- мазок повинен займати приблизно 3/4 предметного скла та закінчуватися "щіточкою"; мазок повинен бути рівним і чітким, напівпрозорим і мати жовтуватий відтінок;
- товстий мазок непридатний для дослідження, тому що формені елементи крові в ньому розташовуються в кілька шарів і деформуються;
- у тонкому мазку важко порахувати потрібну кількість лейкоцитів.

Виготовлення мазків:

- після проколу шкіри пальця першу краплю крові стираємо сухим стерильним ватним тампоном;
- до купола наступної краплі доторкаємося предметним склом на відстані 1,5-2 см від краю;
- шліфоване скло ставимо перед краплею крові під кутом 45° так, щоб вона рівномірно розтеклася по ребру шліфованого скла;
- рівномірним швидким рухом ведемо шліфоване скло справа наліво, не натискаючи і не піднімаючи скла від предметного.

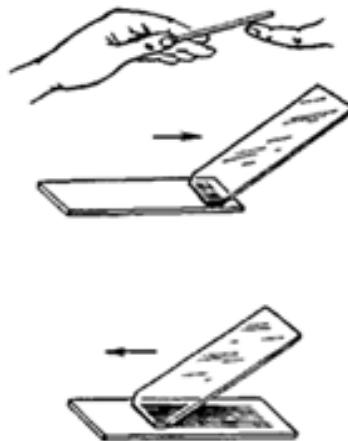
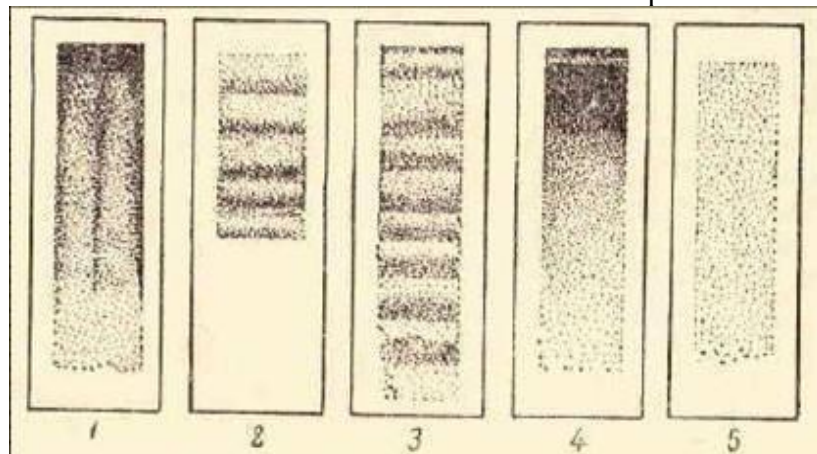


Рис. 1. Техніка виготовлення мазків крові



Правильно і неправильно виготовлені мазки

1. мазок на погано знежиреному склі;
2. дуже короткий мазок;

3. нерівномірний хвилястий мазок;
4. занадто товстий і нерівномірний мазок;
5. правильний мазок, тонкий, рівномірний і достатньо довгий.

Після висихання мазка на повітрі підписуємо посередині олівцем прізвище й ініціали пацієнта або його реєстраційний номер.

Завдання 3. Вивчення способів фіксації мазків

Зафіксуйте виготовлений і висушений мазок крові фізичним способом.

Принцип

Для закріплення матеріалу на склі висушений мазок піддають фіксації, яка заснована на згортанні білкових речовин. Фіксація, викликаючи коагуляцію білка, прикріплює препарат до скла. Крім того, при фіксуванні мазок закріплюється на поверхні предметного скла, і тому при подальшій забарвленні препарату мікробні клітини не змиваються. Крім того, убиті мікробні клітини фарбуються краще, ніж живі. Мазки слід піддавати фіксації відразу після висушування.

Розрізняють фізичний спосіб фіксації, в основу якого покладено вплив високої температури на мікробну клітину, і хімічні способи, що передбачають застосування хімічних засобів, що викликають коагуляцію білків цитоплазми.

Фізичний спосіб фіксації

1-й метод. Предметне скло з препаратом беруть пінцетом або I і II пальцями правої руки за ребра мазком догори і плавним рухом проводять 2-3 рази над верхньою частиною полум'я пальника. Весь процес фіксації повинен займати не більше 2с. Надійність фіксації перевіряють наступним прийомом: вільну від мазка поверхню предметного скла прикладають до тильної поверхні лівої кисті. При правильному фіксуванні мазка скло повинне бути гарячим, але не викликати відчуття опіку.

2-й метод. Залишають мазки на електричному фіксаторі (65-75 ° C) не менше ніж на 2 години.

Хімічний спосіб фіксації

Для фіксації застосовують:

- метиловим спиртом протягом 3—5 хв (найкращий із фіксаторів);
- сумішшю Нікіфорова 10-15 хв;
- етиловим спиртом 96 % 20-25 хв;
- хлороформом кілька секунд;
- формаліном 1 хв;
- фіксатором-барвником Мая - Грюнваль-да 3-5 хв.

Фіксацію мазка крові проводимо для закріплення його на склі та запобігання гемолізові еритроцитів.

Методика

Висохлі на повітрі мазки крові, складені попарно (мазками назовні), опускають пінцетом в спеціальний посуд для фіксації або у звичайні скляні стакани, обрізані до 6-6,5 см і наповнені до певної висоти фіксуючою рідиною. В останньому випадку для забезпечення вільного дотику намазали сторін препаратів з фіксатором зверху, між попарно складеними мазками, прокладають предметні скла, що спираються своїми ребрами на верхню частину склянки.

По закінченні терміну фіксації препарати виймають пінцетом, сушать на повітрі на штативі, або фільтрувальному папері, або обполіскують в банці з нейтралізованої дистильованою водою і укладають мазками догори на скляний місток для фарбування.

Завдання 5. Ознайомлення з методами забарвлення мазків крові

При забарвленні мазків дотримуємося правил приготування розчинів барвників і часу для забарвлення. Обов'язково враховуємо рН води, яка має бути нейтральною, або готуємо фосфатний буферний розчин.

Барвники, що використовуються в медицині, можна класифікувати за наступними критеріям:

1. За джерелами отримання.
2. За хімічним складом.

3. Щодо використання або здатності забарвлювати певні структури.

Розрізняють 3 джерела отримання барвників: хімічний синтез, витяжки з рослин і екстракти тваринного походження.

Існує чимало робочих класифікацій барвників, що використовуються в біології. При викладі матеріалу автори рідко дотримуються чіткого поділу. Зазвичай розрізняють чотири великі групи барвників:

А. Основні (або ядерні) барвники. Вони вибірково забарвлюють ядра клітин і базифільні структури. До речі, сам термін «базифільний» з'явився за назвою цієї групи барвників (в перекладі з латинської *basis* – основний).

Б. Кислі (або цитоплазматичні) барвники. Забарвлюють цитоплазму, рідше клітинні стінки.

В. Нейтральні барвники. До цієї групи можуть бути віднесені й такі барвники, які вибірково забарвлюють компоненти цитоплазми, наприклад, судан III або нільський синій, що забарвлює крапельки жиру.

Г. Флюорохроми. Група барвників, здатних флюоресциувати при тісній чи іншій довжині хвилі збуджуючого світла. Незважаючи на те, що ці барвники виділяють у самостійну групу, більшість з них слід було б віднести до цитоплазматичних або до ядерних барвників.

Всі запропоновані методи фарбування мазків ґрунтуються головним чином на хімічну спорідненість основних частин клітин до певних анілінових фарб і меншою мірою на їх фізичні властивості. Цитоплазма одних клітин, будучи лужною, має спорідненість до кислих фарб, виявляючи оксифільні елементи крові. Цитоплазма інших клітин, що містять базифільні і нейтрофільні субстанції, поглинає і кислі, і основні фарби. Ядра, що містять в значній кількості нуклеїнову кислоту, зв'язують головним чином основні фарби.

Для забарвлення препаратів використовують основні (лужні), кислі та нейтральні барвники.

До основних (лужних) гематологічних фарб відносяться метиленовий синій і його похідні - азур I (метиленазур) і азур II (суміш рівних частин азура I і метиленового синього) та інші.

До кислих - водорозчинний жовтий еозин, кислий фуксин, конго червоний та інші.

Азур-еозінові суміші фарб мають високу чутливість до реакції води і тому вживана для приготування барвників і для змивання їх дистильована вода повинна мати нейтральну реакцію, тобто pH 7,0. При кислій реакції води клітини довго не зафарбовуються і мають червоний відтінок. При лужній реакції еритроцити фарбуються в сірувато-синій колір, а ядра і цитоплазма клітин - в дуже темні кольори.

Найменш токсичні барвники використовуються для прижиттєвої забарвлення клітин. Ці барвники зазвичай застосовують у вигляді водних розчинів, наприклад: метиленовий синій (концентрація від 1: 1000 до 1: 10000), трипановий синій (0,5% розчин), нейтральний червоний (від 1: 50 000 до 1: 200 000).

Барвники для фіксованих клітин можуть використовуватися в чистому вигляді (водні або спиртові розчини, концентрація від 0,1% до 1%), наприклад: еозин, фуксин.

Часто використовують суміші барвників, наприклад, суміш Романовського-Гімза (містить метилен-азур, метиленовий фіолетовий, метиленовий синій і еозин).

Досить рідко застосовуються хімічні номенклатурні назви барвників, наприклад: диметиламінобензальдегідом, 8-аміно-1-нафтол-5-сульфо кислота.

Для забарвлення використовують методи забарвлення: Романовського, азур-еозин, Крюкова-Паппенгейма, Нохта і т. п.

Забарвлення мазків за Романовським

Спочатку готуємо робочий розчин фарби. Готуємо кілька різних розведень барвника (1 крапля барвника на 1 мл дистильованої води, 2 краплі на 1 мл води та 3 краплі на 1 мл води). Щоб забарвити мазок, необхідно 3-4 мл робочого розчину, який готуємо перед самим використанням.

Забарвлення мазків проводимо різними титрами, використовуючи різні розведення барвника і три мазки. Після мікроскопії вибираємо найкраще забарвлений мазок. Для

виготовлення досліджуваних мазків використовуємо те розведення барвника, яке дало найкраще забарвлений мазок.

Мазки для забарвлення розташовуємо на мостику так, щоб вони не доторкались один до одного, і наливаємо попередньо розведеної фарби Романовського 3-4 мл на один мазок. Залишаємо на 30-40 хв. залежно від експериментальне визначеного часу, а потім змиваємо проточною водою, висушуємо та мікроскопуємо.

Забарвлення мазків за методом Крюкова-Паппенгейма:

- мазки фіксуємо у фарбі-фіксаторі Мая - Грюнвальда: на нефіксований мазок наносимо фарбу-фіксатор 2 мл на 3 хв, доливаємо стільки ж дистильованої води і забарвлюємо ще 1 хв;

- фарбу зливаємо і змиваємо проточною водою;
- заливаємо мазки на 15-20 хв. фарбою Романовського;
- змиваємо мазки водопровідною водою і висушуємо їх на повітрі.

Забарвлення мазків за методом Нохта.

Окремо готуємо два барвники: розчин жовтого водного еозину (1 г на 1 л дистильованої води), розчин фарби азури II (1 г на 1 л дистильованої води). Барвники ставимо в темному місці на два тижні для дозрівання, їх необхідно часто помішувати, щоб фарба не осідала. Фарбники змішуємо в циліндрі безпосередньо перед забарвленням мазків. Для розведення краще користуватися буферним розчином. Свіжовиготовлену фарбу наливаємо на зафіксований мазок на 20-30 хв.

Перевірка якості забарвлення. Методи, що використовуються для забарвлення мазків крові, є поліхромними. Структурні частини клітини забарвлюються різними барвниками залежно від реакції: лужні частини забарвлюються кислою фарбою (еозином) у червоний колір, а кислі – метиленовим синім у синій колір.

При забарвленні за методом Романовського якісно забарвлюється ядро, тому цей метод широко вживається.

Метод Крюкова - Паппенгейма вважається найкращим, особливо для забарвлення кістково-мозкових пунктатів і крові при патології.

При забарвленні за методом Нохта клітинні елементи виглядають так само, як при забарвленні за методом Романовського.

Завдання 6. Провести фарбування виготовленого мазка крові розчином метиленового синього, розглянути під мікроскопом та замальовати у робочі зошити.

Прибрати робоче місце. Оформити робочі зошити.

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
5. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття 6-7

Тема: Загальний клінічний аналіз крові. Визначення кількості формених елементів в 1 л крові

Мета: вивчити методики підрахунку кількості еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів в 1 л крові, навчитись визначати лейкоцитарну формулу

Теоретичні питання:

1. Функції еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів.
2. Морфологія клітин еритроцитарного та мегакаріоцитарного рядів.
3. Морфологія клітин гранулоцитарного та агранулоцитарного рядів.
4. Лейкоцитна формула. Абсолютна та відносна кількість лейкоцитів.
5. Зсув лейкоцитної формули. Діагностичне значення.
6. Кількісні зміни лейкоцитів: лейкоцитоз і лейкопенія.
7. Нормальні показники периферійної крові дорослої людини.

У поняття **загального клінічного аналізу крові** входять такі компоненти:

- виготовлення мазків крові;
- визначення ШОЕ;
- визначення вмісту гемоглобіну;
- визначення кількості еритроцитів;
- визначення кількості лейкоцитів;
- вираховування кольорового показника та середнього гемоглобіну в еритроциті;
- підрахунок лейкоцитарної формули.

ЗАГАЛЬНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ

Еритроцити чол. – $4-5,1 \times 10^{12}/\text{л}$, жін. $3,7-4,7 \times 10^{12}/\text{л}$

Гемоглобін чол. – 130-160 г/л, жін. – 120-140 г/л

Гематокрит чол. – 40-48 %, жін. – 36-42 %

Ретикулоцити – 0,5-1 %

Колірний показник – 0,85-1,05

Лейкоцити – $4-9 \times 10^9/\text{л}$

Тромбоцити – $180-320 \times 10^9/\text{л}$

ШОЕ - чол. - 1-10 мм/год, жін. 2-15 мм/год

Завдання 1. Вивчити методику визначення кількості еритроцитів

Визначення кількості еритроцитів в 1 л крові

Еритроцити становлять основну масу клітинних елементів крові. Це без'ядерні клітини діаметром 7-8 мкм, які мають форму двояковвігнутого диска.

У периферійній крові еритроцит функціонує в середньому 90-120 днів. Кількість еритроцитів в 1л крові становить у нормі для жінок $3,7-4,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$, або Тера на літ] (Т/л), для чоловіків $4,0-5,0 \cdot 10^{12}/\text{л}$ (Т/л).

Обладнання:: вата, спирт 70°, скарифікатори, штатив з пробірками, 3 % хлорид натрію, камера Горяєва, автоматичні лічильники, покривні скельця, скляні палички, мікроскопи, піпетки, груші, дозатори, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Камера Горяєва являє собою товсте предметне скло, яке має чотири поперечні борозни (рис. 1). Борозни поділяють скло на пластинки – дві бокові та середню. Середня пластинка на 0,1 мм нижча від бокових. Вона поділена поперечною борозною на дві рівні частини. На кожній половині середньої пластинки нанесена сітка Горяєва (рис. 2). Складовою частиною камери є шліфоване покривне скло. Його необхідно накласти так, щоб воно покрило обидві бокові та середню пластинки. Натискаючи великими пальцями на краї скла, його притирають до бокових пластинок, поки не утворяться райдужні кільця (кільця Ньютона). Бокові пластинки вищі від середньої, між нею і покривним склом залишається щілина. Це і є камера, в яку заливають розведену кров.

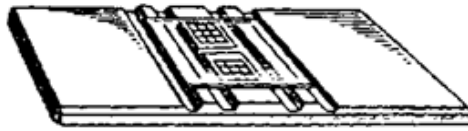


Рис. 1. Камера Горяєва

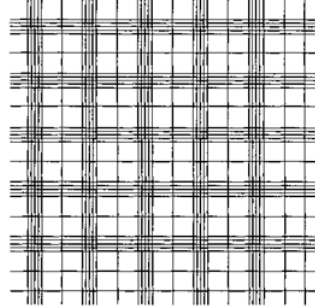


Рис. 2. Сітка камери Горяєва

Нанесена на дно камери сітка Горяєва квадратна, розграфлена на 225 великих квадратів – 15 по горизонталі та 15 по вертикалі. Частина великих квадратів (через два на третій) розділена на 16 малих квадратів.

У пробірку наливаємо 4 мл 3 % розчину хлориду натрію. З луночки набираємо 0,02 мл крові, кінчик піпетки витираємо і кров опускаємо на дно пробірки з розчином хлориду натрію.

Рідиною з верхнього шару старанно 2-3 рази прополіскуємо піпетку. Вміст пробірки перемішуємо та заповнюємо камеру Горяєва, яка заздалегідь підготовлена (притираємо сухе покривне скло так, щоб утворилися кільця Ньютона).

Вміст пробірки старанно перемішуємо, нахилиємо пробірку, занурюємо скляну паличку так, щоб на ній звисала крапля розведення, і підносимо її до щілини між камерою та покривним склом. Кров повинна рівномірно заповнити камеру, без пухирців повітря, не затікаючи в борозни. Можна заповнювати камеру також за допомогою пастерівської піпетки.

Заповнену камеру залишають у горизонтальному положенні на 1 хв. для осідання еритроцитів. Підраховують еритроцити під мікроскопом при малому збільшенні (об'єктив 8х, окуляр 10х або 15х) в затемненому полі зору (діафрагма прикрита, конденсор опущений), у 5-ти великих розграфлених (на 16 малих) квадратах, розташованих по діагоналі. Щоб результат був достовірним, треба дотримуватися відповідно правил підрахунку: в кожному квадраті необхідно враховувати ті еритроцити які розташовані всередині квадрата, і також ті, які розташовані на лівій і верхній стороні квадрата (рис. 3).

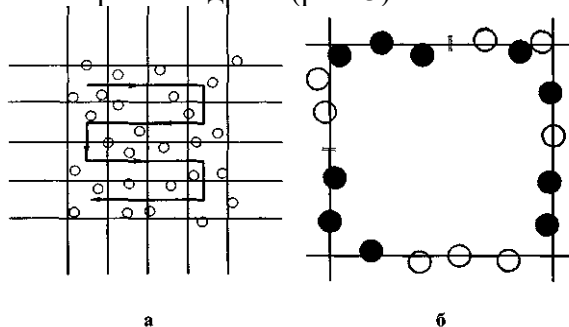


Рис. 3. Правила підрахунку еритроцитів у сітці Горяєва:
а – порядок підрахунку еритроцитів; б – в кожному маленькому квадраті враховуються еритроцити, що лежать у його межах (забарвлені)

Розрахунок еритроцитів в 1 л крові

Розрахунок кількості еритроцитів проводять за

$$x = \frac{a \cdot b \cdot 4000}{v} \cdot 10^6 / \text{л},$$

формулою:

де x – кількість еритроцитів в 1 л;

a – сума еритроцитів, підрахованих у 5 великих квадратах;

b – розведення крові у 200 разів;

v – кількість підрахованих еритроцитів у 5 великих розграфлених на 16 малих квадратів ($5 \cdot 16=80$);

4000 - об'єм малого квадрата $1/4000$ мкл; 10^6 – перерахунок із мікролітрів у літри.
Скорочена формула:

$$x = \frac{a \cdot 200 \cdot 4000}{80} \cdot 10^6 / \text{л.}$$

Кінцевий результат

$x = a \cdot 10000 \cdot 10^6 = a \cdot 10^{12} / \text{л.}$ Отже, підраховану кількість еритроцитів множать на $10^{12} / \text{л.}$

Наприклад: у 5 великих квадратах камери Горяєва підраховано 435 еритроцитів. В 1 л крові кількість еритроцитів буде $435 \cdot 10^{10} = 4,35 \cdot 10^{12} / \text{л.}$

Контроль якості здійснюють контрольною суспензією (Е - контроль еритроцитів), яку досліджують так, як кров.

Зменшення кількості еритроцитів – еритроцитопенія – є одним із найважливіших показників анемій, її ступінь різний залежно від виду та важкості.

Збільшення кількості еритроцитів – еритроцитоз – характерний для еритремії, гострих інтоксикацій, ацидозів, зневоднення організму (при блювоті, проносі), у новонароджених тощо.

Завдання 2. Вивчити методику визначення кількості лейкоцитів

Визначення кількості лейкоцитів в 1 л крові

Кількість лейкоцитів в 1 л крові – один з показників загального клінічного аналізу. В нормі кількість лейкоцитів у дорослих коливається, за даними різних авторів, від $4,0$ до $9,0 \times 10^9 / \text{л}$ або Гіга на літр (Г/л). У новонароджених дітей кількість лейкоцитів становить $9,0$ - $13,0$ Г/л, а в перші години може досягати $30,0$ - $38,0$ Г/л. Кількість лейкоцитів у крові менше $4,0$ Г/л розцінюється як лейкопенія (хоч у деяких людей така кількість може бути фізіологічною нормою), а більше $9,0$ Г/л – як лейкоцитоз.

Обладнання: спирт 70° , вата, штатив з пробірками, піпетки, дозатори, гумові груші, скарифікатори, 3 % ацетатна кислота, камера Горяєва, мікроскоп, покривні скельця, скляні палички, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Взяття та розведення крові. У серологічну пробірку вносимо $0,4$ мл 3% ацетатної кислоти і піпеткою $0,02$ мл крові випускаємо на її дно. Піпетку 2-3 рази промиваємо розчином. Ацетатна кислота руйнує еритроцити, а лейкоцити залишаються.

Перед заповненням камери Горяєва розведену кров у пробірці старанно перемішуємо. Камеру заповнюємо так, як і для підрахунку еритроцитів.

Після заповнення камеру залишаємо на 1-2 хв.

Підрахунок лейкоцитів проводимо при малому збільшенні мікроскопа (об'єктив $8x$, окуляр $10x$ або $15x$), у затемненому полі зору при опущеному конденсорі у 100 великих нерозграфлених квадратах (рис. 5).

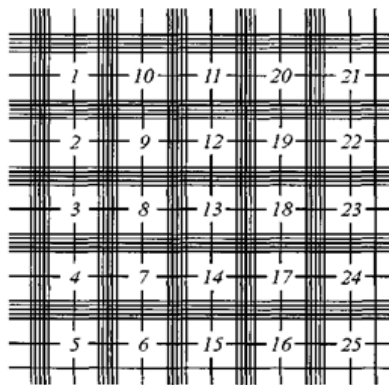


Рис. 5. Порядок підрахунку лейкоцитів у всій сітці камери Горяєва

Підрахунок проводимо в кожному великому квадраті, дотримуючись тих самих правил, які описані для еритроцитів (рис. 6).

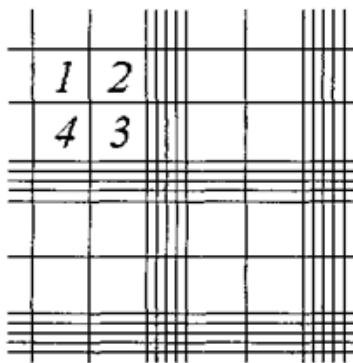


Рис. 6. Порядок підрахунку лейкоцитів у чотирьох квадратах сітки

Розрахунок проводимо за формулою:
Кількість лейкоцитів в 1 л крові

$$x = \frac{v \cdot 4000 \cdot 20}{1600} \cdot 10^6;$$

$$x = v \cdot 50 \cdot 10^6;$$

де v – кількість лейкоцитів, підрахованих у 100 великих квадратах;
4000 – об'єм малого квадрата (1/4000 мкл)
20 – розведення крові;
1600 – кількість малих квадратів (у 100 великих).

Наприклад: якщо у 100 великих квадратах сітки Горяєва підраховано 120 лейкоцитів, то розрахунок проводиться так:

$$\begin{aligned} \text{кількість лейкоцитів в 1 л крові} &= \frac{120 \cdot 4000 \cdot 20}{1600} \cdot 10^6 = \\ &= 120 \cdot 50 \cdot 10^6 = 6000 \cdot 10^6 = 6,0 \cdot 10^9/\text{л}. \end{aligned}$$

Тоді кількість лейкоцитів в 1 л крові буде $6,0 \cdot 10^9/\text{л}$. Щоденний контроль якості здійснюють контрольною суспензією лейкоцитів, яку досліджують так, як і еритроцити крові.

Найчастіше лейкоцитоз буває результатом гострих інфекцій, особливо якщо їх збудниками є коки (стафілококи, стрептококи, пневмококи, гонококи). Крім цього, лейкоцитоз спостерігається у пацієнтів з великими опіками, після початку гострих крововтрат у новонароджених, вагітних, після оперативних втручань тощо.

Лейкопенія може виникнути внаслідок дії іонізуючої радіації, деяких токсичних речовин, вживанні медикаментів (антибіотики, сульфаніламідні препарати, цитостатики), при вірусних та деяких бактеріальних інфекціях (черевний тиф, бруцельоз), при заміщенні кровотворної тканини жировою або пухлинною.

Завдання 3. Вивчити методику підрахунку лейкоцитарної формули

Підрахунок лейкоцитарної формули

Обладнання: готові мазки крові, імерсійне масло, мікроскопи, лічильники для підрахунку лейкоцитів, рукавички.

Підготовка мікроскопа для дослідження. Протираємо оптичну частину мікроскопа, готуємо окуляр 7х, та об'єктив 90х, ввігнуте дзеркало, конденсор відкриваємо, діафрагму піднімаємо максимально.

Розглядаємо мазок крові у найтоншій його частині – біля "щіточки". На мазок наносимо краплю імерсійного масла і занурюємо в нього об'єктив. Під контролем ока повільним рухом макрогвинта піднімаємо або опускаємо тубус до отримання зображення. Різкість наводимо за допомогою макрогвинта.

Вивчаємо морфологію клітин у мазку крові, диференціюємо їх за морфологічними ознаками.

Підрахунок лейкоформули проводимо з урахуванням нерівномірного розташування лейкоцитів у мазку. При цьому посуваємо мазок по лінії меандра (рис. 7), заглиблюючись на

3-5 полів зору в його середину і на 2-3 поля зору до периферії мазка. Важчі лейкоцити (еозинофіли, моноцити) зустрічаються частіше по краю мазка, а легші (лімфоцити) – в середині. Підрахунок ведемо як по середині, так і по краю мазка в тонкій його частині, де добре видно будову клітини.

Облік кількості клітин ведемо за допомогою лічильника (рис. 8), в крайньому разі - на папері.

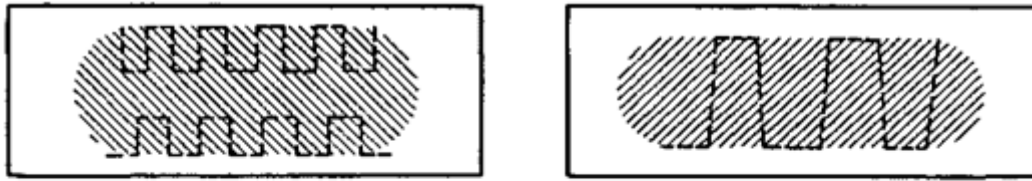


Рис. 7. Техніка підрахунку лейкоцитарної формули

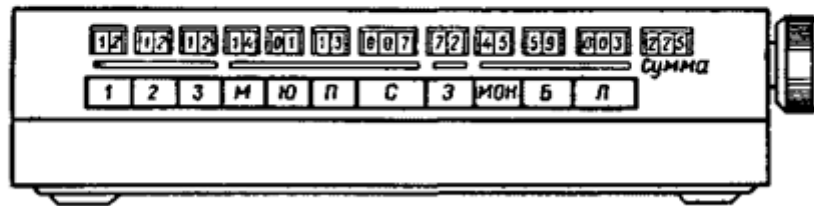


Рис. 8. Лабораторний лічильник ЛЛ-1 для підрахунку лейкоцитарної формули

Підраховуємо 100-200 клітин, (якщо 200 клітин, то відповідно ділимо результат на два) і знаходимо процентний вміст кожного виду лейкоцитів. Це відносні числа. Абсолютні числа лейкоцитів – це вміст окремих видів лейкоцитів в 1 л крові.

$$X = \frac{A \cdot B}{100},$$

де А - кількість лейкоцитів в 1 л крові, В - відносне число даного виду лейкоцитів, 100 - підраховані клітини крові.

Наприклад, число лейкоцитів в 1 л крові $6,0 \cdot 10^9 / \text{л}$, сегментоядерних нейтрофілів 55 %.

Абсолютну кількість нейтрофілів в 1 л крові вираховуємо за формулою:

$$X = \frac{6,0 \cdot 10^9 / \text{л} \cdot 55}{100} = 3,3.$$

Результати досліджень записуємо у відповідну графу бланка аналізу, попередньо перевіривши, чи сума всіх показників лейкоформули становить 100 %. Порівнюємо результати з нормальними показниками.

В нормі показники лейкоформули становлять:

паличкоядерні	1,0-6,0%,
сегментоядерні	47,0-72,0 %
еозинофіли	0,5-5,0 %
базофіли	0-1,0%
лімфоцити	19,0-37,0%
моноцити	3,0-11,0%
плазматичні клітини у дітей	1-2 %

Завдання 4. Вивчити методику визначення кількості тромбоцитів

Визначення кількості тромбоцитів

Підрахунок тромбоцитів проводиться різними методами: визначення кількості тромбоцитів за допомогою камери Горяєва, з використанням фазово-контрастного обладнання (ХФК). Фазовий ефект одержують відповідно до інструкції, яка додається до ФК, методом Фоніо.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, піпетка, гумові груші, 14 % сульфат магнію (MgSO_4), 3 % хлорид натрію, 1 % розчин оксалату амонію, суміш Нікіфорова, фарба Романовського, імерсійне масло, волога камера (чашка Петрі з вологою ватою), штатив з

пробірки, скарифікатори, обмежувач поля зору (віконечко Фоніо), дезінфекційний розчин, дозатори, рукавички.

Підрахунок тромбоцитів у камері Горяєва

Метод оснований на підрахунку тромбоцитів в 1 мкл крові при постійному розведенні крові і визначеному об'ємі лічильної камери з використанням фазово-контрастного обладнання (ФК).

Хід визначення:

В хімічну пробірку наливаємо 4 мл оксалату амонію додаємо 0,02 мл крові піпеткою Салі, добре перемішуємо (розведення в 200 раз). Пробірку залишаємо на 20-30 хв. для гемолізу еритроцитів. Знову перемішуємо і заповнюємо камеру Горяєва, яку поміщаємо у вологу камеру (чашка Петрі зі змоченою ватою). Через 5 хв. підраховуємо кількість тромбоцитів у 25 великих квадратах ($25 \cdot 16 = 400$ малих квадратів).

Кількість тромбоцитів в 1 л крові визначаємо за формулою:

$$x = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200}{400} \cdot 10^6,$$

де x - кількість тромбоцитів в 1 л,

a - кількість тромбоцитів у 400 малих квадратах;

200 - розведення крові;

1/4000 - об'єм малого квадрата;

400 - малі квадрати.

Скорочена формула $x = a \cdot 2 \cdot 10^9/\text{л}$.

Для кращого виявлення тромбоцитів у камері можна використати фазово-контрастне обладнання, яке дає якісніше зображення. Фазово-контрастний пристрій (ФК) складається з фазових об'єктів (Ф), конденсатора з кільцевими діафрагмами (К) і допоміжного мікроскопа.

Визначення кількості тромбоцитів за методом Фоніо

Хід визначення:

Для підрахунку за вказаним методом необхідно виготовити та забарвити мазок. Капіляр Панченкова промиваємо 14 % сульфатом магнію. Набираємо реактив до мітки 75 і виливаємо в серологічну пробірку. Тим самим капіляром набираємо крові з пальця до мітки О ("К") і перемішуємо з реактивом. Одночасно проводимо взяття крові для підрахунку еритроцитів. Із суміші крові з сульфатом магнію готуємо тонкі мазки, висушуємо їх на повітрі, підписуємо, фіксуємо і забарвлюємо фарбою Романовського протягом 1-2 годин, змиваємо водопровідною водою, мазки висушуємо на повітрі.

Розглядаємо забарвлений мазок з імерсійною системою (окуляр 7х, об'єктив 90х) і мікроскопуємо як мазки крові. Для підрахунку необхідно обмежити поле зору. В окуляр вкладаємо кружок із чорного паперу з вирізаним посередині ромбічним отвором (віконечко Фоніо, рис. 9). В обмеженому полі зору рахуємо окремо еритроцити і серед них - двояковипуклі тромбоцити, які мають вигляд невеликих утворів 3-4 мкм рожево-фіолетового кольору (рис. 10) (вони зустрічаються не в кожному полі зору). Рахуємо 1000 еритроцитів, серед них загальне число тромбоцитів. Визначаємо кількість еритроцитів в 1 л крові.

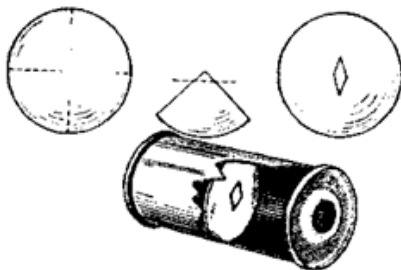


Рис. 9. Віконечко для підрахунку тромбоцитів за методом Фоніо



Рис. 10. Тромбоцити в сітчастій камері при фазово-контрастному зображенні

Кількість тромбоцитів розраховуємо за формулою:

$$X = \frac{A \times B}{1000}, \text{ де}$$

X – кількість тромбоцитів в 1 л крові;

А – кількість тромбоцитів на 1000 еритроцитів;

В – кількість еритроцитів в 1 л крові.

Наприклад, кількість тромбоцитів 75, кількість еритроцитів $4,2 \cdot 10^{12}/л$.

Кількість тромбоцитів в 1 л крові:

$$\frac{75 \cdot 4,2 \cdot 10^{12} / л}{1000} = 75 \cdot 4,2 \cdot 10^9 / л = 315 \cdot 10^9 / л \text{ (Г/л)}.$$

Збільшення кількості тромбоцитів – тромбоцитоз – спостерігається при хронічному мієлолейкозі, сублейкемічному мієлозі, мієлофіброзі, еритремії, опіках, гемолітичних кризах, після кровотеч.

Зменшення кількості тромбоцитів – тромбоцитопенія – спостерігається при гострому лейкозі, системному червоному вовчаку, інфекційно-токсичних станах і автоімунних захворюваннях, геморагічних діатезах.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
10. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
11. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
12. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №8.

Тема: Загальний клінічний аналіз крові. Визначення швидкості осідання еритроцитів, концентрації гемоглобіну

Мета: засвоїти методики визначення швидкості осідання еритроцитів, концентрації гемоглобіну, кольорового показника, гематокриту.

Теоретичні питання:

1. Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ). Клініко-діагностичне значення.
2. Методи визначення концентрації гемоглобіну. Клініко-діагностичне значення.
3. Кольоровий показник (КП). Клініко-діагностичне значення.
4. Гематокрит. Клініко-діагностичне значення.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити методику визначення швидкості осідання еритроцитів

Кров, змішана з розчином цитрату натрію, не зсідается при стоянні, а розділяється на два шари: верхній – плазма, нижній – формені елементи крові. Залежно від зміни хімічних і фізичних властивостей крові осідання еритроцитів і розділення на шари відбувається з різною швидкістю.

У нормі ШОЕ для різних категорій обстежуваних людей різне:

- Жінки – 2-15мм/год;
- Чоловіки – 1-10мм/год;
- Новонароджені – 1-2 мм/год;
- грудні діти – 9 і більше мм/год;
- люди похилого віку – до 20 мм/год.

Матеріальне забезпечення: вата, спирт 70°, кров, 5 % цитрат натрію, скло з луночкою, аглютинаційні пробірки, штативи та капіляри Панченкова, годинник, дезрозчин, гумові рукавички.

Правила визначення ШОЕ

При постановці ШОЕ потрібно дотримуватися таких правил:

- брати кров натще;
- перевіряти придатність реактивів, використовувати стерильні капіляри;
- дотримуватися правильного співвідношення реактиву і крові (1 : 4);
- старанно перемішувати реактив з кров'ю;
- заповнювати капіляри без пухирців повітря;
- ставити капіляри у штатив Панченкова строго вертикально;
- проводити визначення при температурі 18-22 °С;
- не переміщати штатив із кров'ю протягом визначення (рис. 1).

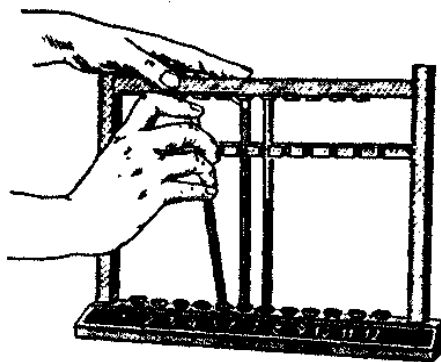


Рис. 1. Апарат Панченкова
для визначення ШОЕ

Відразу після встановлення капіляра в штатив лаборант повинен відмічати час постановки, записувати номер і прізвище хворого, а також час, коли знімають показник.

Хід визначення:

Беремо кров натще. Використовуємо свіжий реактив, чисті і сухі капіляри. Проколюємо шкіру пальця, першу краплю знімаємо. Промиваємо капіляр Панченкова 5 % цитратом натрію і набираємо його в пробірку: якщо 25 поділок – 1 капіляр крові, а якщо до 50 поділок – 2 капіляри крові до мітки "К". Вносимо кров у пробірку з цитратом натрію, розмішуємо і набираємо в капіляр до мітки "К". Ставимо в штатив Панченкова на 1 год.

Визначення проводимо за висотою стовпчика плазми крові, що міститься над осілими еритроцитами (в мм/год). Записуємо результат і пересвідчуємося, що кров не згорнулася. Для цього виймаємо капіляр зі штатива: якщо кров витікає з нього вільно, це значить, що визначення проведене правильно.

Прискорення ШОЕ вказує на наявність патологічного процесу (інфекційно-запального, гнійного, септичного, гемобластозу та ін.) і є показником його важкості, однак нормальні показники ШОЕ не завжди свідчать про відсутність патологічного процесу.

Прискоренню ШОЕ сприяють також збільшення в крові глобулінів, фібриногену, холестерину і зменшення в'язкості крові (зокрема при анеміях, гломерулонефриті, уремії).

Сповільнення ШОЕ характерне для станів, які супроводжуються згущенням крові, збільшенням в'язкості крові, маси еритроцитів, при еритроцитозах, еритремії, а також при збільшенні вмісту в крові альбумінів і жовчних кислот, при серпоподібно-клітинній анемії, опіках, холері, вроджених вадах серця, серцево-судинній недостатності, набряках, опіках тощо.

Завдання 2. Вивчити методику визначення концентрації гемоглобіну

Гемоглобін – дихальний пігмент, який забезпечує фіксацію кисню і постачання його тканинам. За будовою це хромопротеїд, простетичною частиною якого є гем, а білковою – глобін. Біосинтез гемоглобіну відбувається в кістковому мозку в нормоцитах.

Концентрацію гемоглобіну визначають для діагностики ряду патологічних процесів: анемій, еритремії, вторинних еритроцитозів, оцінки ступеня крововтрати, згущення крові при дегідратації організму, функцій кісткового мозку, ефективності гемотрансфузій, впливу медикаментів, іонізуючого випромінювання та ін.

Нормальна концентрація гемоглобіну у жінок становить 120-140 г/л, у чоловіків 130-160 (до 180 г/л).

У крові дітей в перший тиждень після народження міститься 170-190 г/л гемоглобіну, у віці 3-6 місяців 95-135 г/л, у подальшому концентрація гемоглобіну стає як у дорослих.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, кров, капіляр та гемометр Салі, ФЕК, 0,1 нормальний розчин хлоридної кислоти, піпетки, скляні палички, трансформуючий розчин, стандарт гемоглобіну для контролю, гумові груші, дистильована вода, дозатори, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Визначення гемоглобіну за методом Салі

Принцип методу: гемоглобін при додаванні хлоридної кислоти перетворюється у хлорид гематину коричневого кольору.

Гемометр Салі являє собою простий колориметр (рис. 2). Прилад має пластмасовий корпус, задня стінка якого зроблена з матового скла. В корпус вмонтовані три невеликі скляні пробірки. Дві бокові, запаяні з двох кінців містять стандартний розчин хлорид гематину в гліцерині. Колір рідини в стандартних пробірках відповідає кольорові 2 % розчину хлориду гематину.

Між двома стандартами вставлена градуйована пробірка. На всіх трьох пробірках нанесено по дві кругові мітки: нижня відповідає вмістові 0,2 мл верхня - 2 мл.

Середня пробірка гемометра має шкалу, градуйовану в грам-процентах (г%). Ця шкала виражає кількість гемоглобіну в грамах, які містяться в 100 мл крові (рис. 2).

Для дослідження в градуйовану пробірку гемометра Салі до кругової мітки за допомогою піпетки набирають 0,1 нормального розчину хлоридної кислоти;

- набирають кров з луночки піпеткою

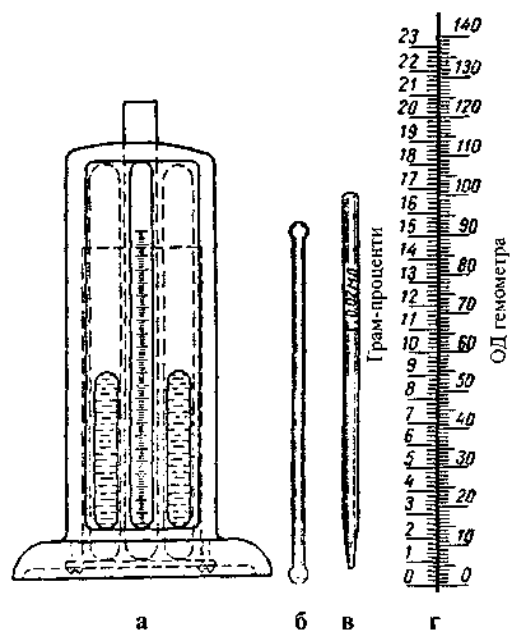


Рис. 2. Гемометр Салі та його деякі складові частини: а – гемометр Салі; б – паличка; в – капіляр; г – градуйована шкала гемометра

Салі (0,02 мл), вносять на дно пробірки з хлоридною кислотою, надосадовою рідиною старанно промивають піпетку, щоб не утворилися пухирці повітря, перемішують і залишають на 5 хв.;

- додають дистильованої води у вміст пробірки до кольору стандартів;
- показник гемоглобіну відповідає нижньому меніскові поділки градуйованої пробірки. У зв'язку з тим, що поділки відповідають грам-процентам, а гемоглобін виражається в г/л, відповідно одержане число множимо на 10 ($13 \text{ г\%} \cdot 10 = 130 \text{ г/л}$).

Гемометр Салі має термін придатності, який не можна порушувати. Зберігати гемометр слід у темному місці.

Визначення НЬ геміглобінціанідним методом на фотоелектроколориметрі (ФЕК).

Цей метод ґрунтується на тому, що під впливом заліzosинеродистого калію гемоглобін окислюється в геміглобін, який утворює з ацетонціангідрином забарвлену речовину – *геміглобінціанід* – речовину стійку, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмістові гемоглобіну.

- для дослідження піпеткою Салі 0,02 мл крові вносять у пробірку з 5 мл трансформуючого розчину, промивають 2-3 рази верхнім шаром розчину, перемішують і залишають на 10 хв;

- паралельно кожного дня ставлять одну стандартну пробу на всю серію аналізів з концентрацією 150 г/л – для внутрішньолабораторного контролю та перевірки метрологічної відповідності вимірювань;

- фотометрують при довжині хвилі 500-560 нм (зелений світлофільтр) у кюветі шириною 10 мм проти контролю – трансформуючого розчину чи дистильованої води;

- вміст гемоглобіну визначають за калібрувальним графіком, який готують заздалегідь, використовуючи як стандарт розчин геміглобінціаніду, що додається до набору реактивів фірмою.

Визначення концентрації гемоглобіну на автоматичних гемоаналізаторах

Проводиться згідно з інструкцією до приладу. Цей метод швидкісний і точний. Збільшення концентрації гемоглобіну спостерігається при симптоматичних еритроцитозах у гірських жителів, льотчиків, при згущенні крові на ґрунті голодування, сильного потовиділення і втрати води через кишечник (ентероколіти, неспецифічний виразковий коліт, дизентерія, холера); також має місце при безперервному блюванні вагітних, хронічному затрудненому диханні, при вроджених вадах серця.

Виражене підвищення гемоглобіну – до 240 г/л – спостерігається при еритремії, а також при ряді інших патологічних процесів: гіпернефрома, полікістоз нирок, гідронефроз, при деяких пухлинах головного мозку та ендокринних залоз.

Зменшення концентрації гемоглобіну, як і зменшення кількості еритроцитів і зниження кольорового показника, – найважливіша ознака анемії. Про гемолітичну анемію, як правило, свідчить також зміна гематокриту.

Завдання 3. Вивчити методику розрахунку кольорового показника крові

Кольоровий показник – це співвідношення між кількістю гемоглобіну та еритроцитів. Він показує ступінь насиченості еритроцитів гемоглобіном. Кольоровий показник (КП) вираховують за формулою:

$$КП = \frac{Нб \cdot 3}{\text{Перші три цифри еритроцитів}}$$

Норма 0,85-1,05.

За цим показником роблять висновок про те, який вміст гемоглобіну в еритроцитах: нормальний (нормохромний), знижений (гіпохромний) – до 0,85 чи підвищений (гіперхромний), тобто вищий за 1,05.

Визначення КП має велике значення для диференціальної діагностики анемії за кольоровим показником. Розрізняємо:

- гіпохромні анемії – КП нижче 0,85 (залізодефіцитна анемія);
- нормохромні анемії – КП 0,85-1,05 (гемолітична анемія);

- гіперхромні анемії – КП вище 1,4-1,8 (В₁₂ фолієводефіцитна анемія).

Визначення середнього гемоглобіну в одному еритроциті

Вміст гемоглобіну в одному еритроциті – це абсолютна кількість гемоглобіну в одному еритроциті, виражена в пікограмах (пг). **Примітка:** 1 г = 1 • 10¹²/пг. Вміст гемоглобіну в одному еритроциті розраховують за формулою:

$$C_{ГЕ} = \frac{\text{Гемоглобін у г/л}}{\text{Кількість еритроцитів у літрах}}$$

Приклад розрахунку:

$$C_{ГЕ} = \frac{150 \cdot 10^{12} \text{ пг/л}}{5 \cdot 10^{12} / \text{л}} = \frac{150}{5} = 30 \text{ пг.}$$

Норма 27–33 пг.

Примітка: КПК та СГЕ можна визначити за допомогою спеціального графіка – номограми.

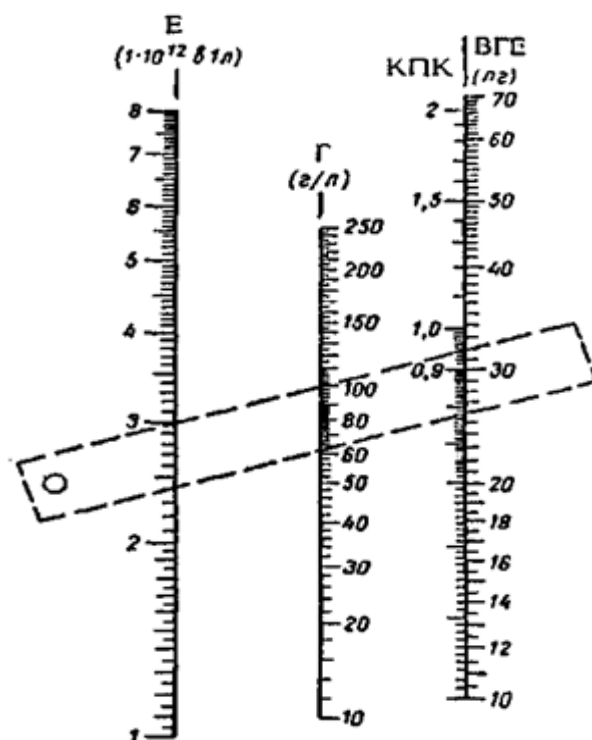


Рис. 3. Номограма для визначення кольорового показника крові (КПК) та вмісту гемоглобіну в одному еритроциті (СГЕ)

Номограма для визначення КПК і СГЕ має чотири шкали (рис. 3). На лівій шкалі нанесена кількість еритроцитів (Е) в 1 л крові, на середній – концентрація гемоглобіну (Г) в грамах на літр, на правій КПК і СГЕ в пікограмах. Для визначення користуємося лінійкою, яку розташовуємо на номограмі таким чином, щоб її ребро проходило через цифру кількості гемоглобіну й еритроцитів. Точка перетину ребра лінійки з правою шкалою показує цифри кольорового показника зліва від осі шкали і вміст гемоглобіну в одному еритроциті справа від осі шкали.

Завдання 4. Ознайомитись з гематокритом та його клініко-діагностичним значенням

Гематокрит – відношення об'єму формених елементів крові (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити) до об'єму крові. Гематокрит (Ht) виражають у відсотках до загального об'єму крові (тоді його позначають %), або в літрах на літр (л/л) — тоді його позначають десятковим дробом (з точністю до сотих), що відповідає частці формених елементів в 1 літрі крові (450 мл клітин в 1 літрі крові = 0,45 л/л = 45 %). Також *гематокритом* називають той прилад, за допомогою якого визначають гематокритне число.



Рис. 4

У нормі гематокрит у чоловіків дорівнює 0,41-0,53, а в жінок – 0,36-0,46. У новонароджених гематокрит приблизно на 20 % вищий, а у маленьких дітей – приблизно на 10 % нижчий, ніж у дорослого.

Визначення гематокриту проводять за допомогою спеціальної скляної градуйованої трубочки — гематокриту, яку заповнюють кров'ю і центрифугують. Після чого вимірюють, яку її частину займають формені елементи крові (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити). На сьогоднішній день все частіше використовують визначення гематокритного числа в напівавтоматичних або автоматичних аналізаторах.

Отже, гематокрит є об'ємною фракцією еритроцитів в цільній крові і залежить від їх кількості і об'єму. В здорової людини ця величина може змінюватися лише при адаптації до висоти.

Гематокрит чол. – 40-48 %, жін. – 36-42 %

Клініко-діагностичне значення:

Підвищення гематокритної величини – еритроцитози:

1. Первинні (еритремія)
2. Викликані гіпоксією різного походження
3. Новоутвори нирок, що супроводжуються посиленням утворенням еритропоєтину
4. Полікістоз і гідронефроз нирок
5. Зменшення об'єму циркулюючої крові
6. Дегідратація

Зниження гематокритної величини – анемії:

1. Стани збільшеного об'єму циркулюючої крові
2. Вагітність (особливо друга половина)
3. Гіперпротейнемії
4. Гіпергідратація

Рекомендована література

1. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
3. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
4. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
5. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.

6. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
8. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
9. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №9

Тема: Імунологічні дослідження

Мета: з'ясувати імунні властивості еритроцитів та антиеритроцитарних антитіл, вивчити методики визначення групи крові за допомогою стандартних сироваток або моноклональних антитіл (тест-реагентів "Цоліклон")

Теоретичні питання:

1. Історія відкриття груп крові.
2. Імунні властивості еритроцитів.
3. Властивості антиеритроцитарних антитіл.
4. Клінічне значення визначення груп крові та резус-належності.

Теоретичне обґрунтування:

Визначення групи крові

Залежно від наявності в крові аглютиногенів "А" і "В", аглютинінів "α" і "β" і від їх комбінацій усе людство поділяється на чотири групи.

I група – в еритроцитах аглютиногени відсутні, у сироватці містяться аглютиніни "α" і "β". Група крові О (I).

II група – в еритроцитах аглютиноген "А", в сироватці – аглютинін "β". Група крові А(II).

III група – в еритроцитах аглютиноген "В", в сироватці – аглютинін "α". Група крові В(III).

IV група – в еритроцитах аглютиногени "А" і "В", в сироватці аглютиніни відсутні. Група крові АВ(IV).

Групу крові визначають на основі реакції *ізогемоглютинації*.

В основі методів визначення групи крові лежить взаємодія антигенів еритроцитів з відповідними антитілами.

Для визначення групи крові зі стандартними сироватками або за допомогою моноклональних антитіл (тест-реагентів "Цоліклон") використовують венозну кров.

Для дослідження венозну кров центрифугують для відокремлення сироватки. Отриману сироватку крові відбирають в окрему пробірку.

Резус-фактор

У 1940 р. вчені Ландштейнер і Вінер відкрили ще один антиген – (Rh) резус. Він був названий *резус-антигеном*. Дістав назву від мавп, на яких проводилися досліди, – макакус-резус. Еритроцитами цих мавп імунізували кроликів, після чого сироватка крові цих кроликів набувала здатності аглютинувати еритроцити мавп-макак. Далі виявилось, що ця сироватка викликає склеювання еритроцитів не тільки мавп, але й більшості людей. Таким чином був виявлений новий антиген, який називається резус-антигеном і міститься у 85% людей (Rh⁺)

резус-плюс. Кров у 15 % людей цього антигену не має. Така кров позначається (Rh⁻) – резус-від'ємний.

Резус-антиген неоднорідний. Найчастіше зустрічається В-антиген. Існують також С, Е та інші антигени системи резус.

Антигенні властивості передаються по спадковості.

Завдання 1. Визначення груп крові (системи АВ0) стандартними сироватками

Обладнання: спирт 70°, вата, кров, стандартні сироватки двох різних серій кожної групи, ізотонічний розчин хлориду натрію, скляні палички, білі пластинки, секундомір, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

В основі реакції лежить взаємодія антигену з антитілом.

На білу пластинку з позначками наносимо з ампул по одній великій краплі сироватки груп О (I), А (II), В (III) двох різних серій. Поряд з ними наносимо по одній краплі досліджуваної крові. Скляною паличкою перемішуємо кров із сироваткою (для кожної краплі окремо, або після кожного перемішування промиваємо паличку в ізотонічному розчині хлориду натрію та витираємо насухо). Пластинку легко похитуємо, спостерігаючи за аглютинацією, протягом 5 хв. Якщо аглютинація з'явилася через 3 хв. від початку дослідження, додаємо по краплі ізотонічного розчину хлориду натрію для виявлення чіткішої аглютинації.

При відсутності аглютинації рідина залишається однорідною.

Якщо аглютинацію спостерігаємо в усіх краплях, то проводимо контроль. Якщо всі три сироватки дали аглютинацію, значить, група крові АВ(IV). Щоб виключити неспецифічну аглютинацію, дослідження обов'язково проводимо з сироваткою групи АВ(IV). Відсутність аглютинації підтверджує дану групу крові.

Оцінка результатів:

- якщо у всіх трьох краплях аглютинація відсутня, то досліджувана кров 0(I) групи;
- якщо аглютинація спостерігається у краплях з сироватками 0(I) і В(III) груп, то досліджувана кров А(II) групи.
- якщо аглютинація спостерігається у краплях з сироватками 0(I) і А(II), то досліджувана кров В(III) групи.
- якщо аглютинація спостерігається у всіх трьох краплях, то досліджувана кров АВ(IV) групи.



Оцінка результатів, визначення груп крові стандартними сироватками

Завдання 2. Визначення групи крові (системи АВ0) за допомогою стандартних еритроцитів

За допомогою стандартних еритроцитів встановлюємо наявність або відсутність групових аглютининів і, виходячи з цього, робимо висновок про групову належність даної крові.

Обладнання: досліджувана сироватка, стандартні еритроцити 0(I), А(II), В(III), штатив із хімічними пробірками, біла пластинка, секундомір, скляні палички, ізотонічний розчин хлориду натрію, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

На білу пластинку наносимо три краплі досліджуваної сироватки, до них додаємо по одній краплі стандартних еритроцитів: до першої краплі 0(I) групи крові; до другої краплі – А(II) групи крові; до третьої краплі – В(III) групи крові.

Якщо аглютинація відбулася через 5 хв. від початку дослідження, додаємо ізотонічний розчин натрію хлориду і перемішуємо скляною паличкою.

Оцінка результатів:

- якщо аглютинація відбулась у другій і третій краплях – досліджувана кров 0(I) групи;

- якщо аглютинація відбулась у третій краплі – досліджувана кров А(II) групи;

- якщо аглютинація відбулась у другій краплі – досліджувана кров В(III) групи;

- якщо аглютинація не відбулась у трьох краплях – досліджувана кров АВ(IV) групи.

Якщо не дотримуватися правил визначення груп крові, можуть бути допущені помилки.



Завдання 3. Визначення групи крові за допомогою тест-реагентів "Цоліклон"

За допомогою тест-реагентів "Цоліклон" виявляють аглютиногени А і В в еритроцитах стандартними моноклональними груповими антитілами за допомогою цоліклонів анти-А, анти-В.

Обладнання: тест-реагент "Цоліклон", білі пластинки, досліджувані еритроцити, скляні палички, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

На білу пластинку з позначками анти-А та анти-В наносимо по краплі тест-реагенту, додаємо по краплі досліджуваної крові, перемішуємо скляною паличкою. Похитуючи пластинкою, спостерігаємо за аглютинацією до 3 хв.

Оцінка результатів визначення групи крові

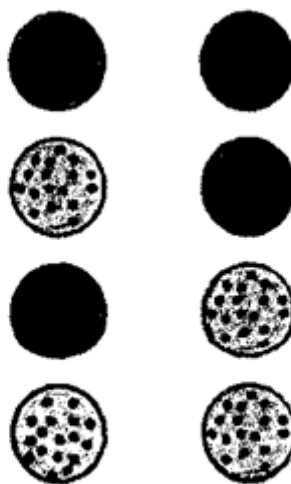
№ з/п	Реакція досліджуваних еритроцитів з цоліклоном		
	анти-А	анти-В	Групи крові
1	–	–	0(I)
2	+	–	A(II)
3	–	+	B(III)
4	+	+	AB(IV)

1. Аглютинації немає (–) з цоліклоном анти-А і анти-В. Відповідно, досліджувані еритроцити не мають антигенів А і В і кров належить до групи 0(I).

2. Аглютинація (+) спостерігається з цоліклоном анти-А. Відповідно, досліджувані еритроцити мають тільки антиген А і кров належить до групи А (II).

3. Аглютинація (+) спостерігається тільки з цоліклоном анти-В. Відповідно, досліджувані еритроцити мають тільки антиген В і кров належить до групи В (III).

4. Аглютинація спостерігається з цоліклоном анти-А та з анти-В. Відповідно, досліджувані еритроцити мають обидва антигени (А і В) і кров належить до групи АВ (IV).



Визначення групи крові за допомогою тест-реагентів "Цоліклон"

Завдання 4. Визначення резус-фактора методом конглоїтинації із застосуванням желатину

За допомогою цього методу досліджувані еритроцити інкубуємо зі стандартною антирезус-сироваткою, яка містить неповні Rh -антитіла в колоїдному середовищі (желатиновому розчині). Якщо досліджуємо еритроцити резус-позитивні, відбувається їх склеювання, якщо резус-негативні – еритроцити не склеюються. Це виявляється після додавання ізотонічного розчину (реакція конглоїтинації).

Обладнання: досліджувані еритроцити, штатив із серологічними пробірками 3 ряди, сироватка антирезус, 10 % розчин желатину, водяна баня, стандартні еритроцити, ізотонічний розчин хлориду натрію, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

У штатив ставимо 3 ряди серологічних пробірок, на кожних трьох пробірках з кров'ю підписуємо прізвище й ініціали пацієнта.

В однаково позначені три пробірки кожного ряду вносимо по 0,05 мл (1 крапля) досліджуваних еритроцитів. У три контрольні пробірки поміщаємо по 0,05 мл (1 крапля) стандартних резус-позитивних еритроцитів групи 0(I) однойменної з досліджуваною кров'ю. В інші три контрольні пробірки – по 0,05 мл (1 крапля) стандартних резус-негативних еритроцитів тієї ж групи, що і в досліджуваній крові.

Пізніше у всі пробірки додаємо по 0,1 мл (2 краплі) 10 % розчину желатину, підігрітого до температури 48 °C (до розчинення). У всі пробірки першого ряду додаємо по 0,1 мл (2 краплі) сироватки антирезус однієї серії, у пробірки другого ряду – по 0,1 мл (2 краплі)

сироватки антирезус другої серії. У пробірки третього ряду не вводимо сироватки антирезус, ці пробірки служать контролем на відсутність неспецифічної аглютинації досліджуваних еритроцитів у присутності желатину. Вміст пробірок перемішуємо і поміщаємо на водяну баню при 48 °С на 5 хв. або в термостат при тій же температурі на 30 хв. Після підігрівання доливаємо по 8-10 мл підігрітого ізотонічного розчину хлориду натрію, вміст пробірок перемішуємо і тоді розглядаємо їх на світлі або через лупу.

Результат оцінюємо: він може бути негативним або позитивним. Якщо кров резус-позитивна, в пробірці спостерігаються ледь помітні червоні зернятка або пластівці, які складаються зі склеєних еритроцитів. Якщо кров резус-негативна, в пробірці буде видно рідину, рівномірно забарвлену в рожевий колір.

Результати вважаємо достовірними при співпадинні в обох серіях стандартної сироватки антирезус.

У контрольних пробірках стандартні резус-позитивні еритроцити одноіменної групи, або групи 0(I) з сироваткою антирезус повинні дати позитивний результат, а стандартні резус-негативні еритроцити однойменної групи – негативний. Крім цього, негативний результат повинен бути також у всіх пробірках третього ряду, тобто у пробірках без сироватки антирезус.

Завдання 5. Визначення крові на біологічну сумісність

Обладнання: біла пластинка, сироватка реципієнта, еритроцити донора, скляна паличка, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

На білу пластинку наносимо одну краплю сироватки реципієнта, до неї додаємо краплю еритроцитів донора (співвідношення сироватка-еритроцити становить 10:1). Перемішуємо сироватку з еритроцитами скляною паличкою. Спостерігаємо протягом 5 хв. При наявності ознак аглютинації додаємо краплю ізотонічного розчину хлориду натрію і знову перемішуємо. Якщо відбулася аглютинація, то кров донора та реципієнта несумісна, отже, гемотрансфузію проводити не можна.

Примітка. Це дослідження обов'язково проводить перед гемотрансфузією лікар, відповідальний за переливання крові.

Визначення групи крові та резус-фактора обов'язкове для хворих, яким проводиться гемотрансфузія, а також для вагітних жінок і немовлят.

Щоб запобігти помилкам, які трапляються під час визначення групи крові та резус-фактора, необхідно:

- перевіряти терміни реактивів, сироваток, а також вказані на етикетці титри антитіл;
- користуватися стерильним матеріалом під час проколу шкіри пальця;
- користуватися для досліджень чистою та сухою пластинкою;
- дотримуватися правил співвідношення еритроцитів і сироватки;
- враховувати час спостереження за ходом аглютинації;
- скляні палички після змішування крапель обов'язково промивати і витирати насухо;
- перевіряти справність водяної бані;
- досліджувати свіжу кров або кров, яка зберігалася в холодильнику не більше трьох діб (гемоліз – сироватка рожевого кольору – свідчить про те, що кров не можна досліджувати);
- проводити дослідження з сироваткою АВ(IV), якщо за результатами прямої реакції зі стандартними сироватками I, II, III груп спостерігається аглютинація в усіх краплях;
- обов'язково проводити контроль із сироватками двох серій.

Зробіть висновки.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. I. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.

3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. П. Загально-клінічні та цитологічні дослідження /Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття № 10

Тема: Анемії

Мета: вивчити інформацію щодо анемії, з'ясувати особливості картини крові при різних формах анемії.

Обладнання: мікроскопи, імерсійне масло, мазки крові, лічильники, кольорові олівці.

Теоретичні питання:

1. Коротка характеристика анемії як хвороби.
2. Класифікація анемії та причини їх виникнення.
3. Зміни морфології еритроцитів у разі анемії.
4. Картина крові при різних видах анемії.

Теоретичне обґрунтування:

Анемії – це хвороби системи крові, при яких спостерігається зниження вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів чи хоча б одного з цих показників.

У відповідності до механізму, який безпосередньо призводить до недоокрів'я (анемії), ці хвороби поділяються на три групи:

1. Анемії внаслідок крововтрат (постгеморагічні анемії).
2. Анемії, пов'язані з порушеним кровоутворенням.
3. Анемії, пов'язані з посиленням кроворуйнуванням.

У мазках крові при анеміях під час підрахунку лейкоцитарної формули можна виявити патологічні форми еритроцитів:

- *пойкілоцити* – еритроцити різної форми (овальні, грушоподібні, серпоподібні, мішенеподібні, краплеподібні, зірчасті та ін.);

- *анізоцити* – еритроцити різних розмірів (мегалоцити – розміром 10-12 мкм і більше, овальної форми, гіперхромні; макроцити – розміром більше 9-10 мкм; мікроцити – розміром менше ніж 6 мкм; шизоцити – розміром 2-3 мкм);

- *анізохромні еритроцити* – еритроцити різного забарвлення (гіперхромні – інтенсивніше забарвлені, майже немає просвітлення в еритроциті, гіпохромні - забарвлені світліше від норми, а інколи всередині еритроцита добре помітно просвітлення);

- *поліхроматофільні еритроцити* – еритроцити різних відтінків фіолетового кольору (молоді незрілі форми еритроцитів, які надходять з кісткового мозку в периферійну кров при посиленій регенерації).

Можуть зустрічатися еритроцити з дегенеративними змінами, а саме: тільки Жоллі (округлі рожево-червоні утворення, це залишки ядра нормоцитів), тільки Кабо (утворення рожево-червоного кольору у вигляді еліпсів або вісімок – це залишки оболонки ядра нормоцитів).

Базофільні гранули – округлі дрібні утворення синього кольору в цитоплазмі еритроцита.

При анеміях у периферійній крові можуть зустрічатися молоді форми еритроцитів – нормоцити.

Нормоцити – це клітини різних розмірів від 18 мкм (базофільні) до 7 мкм (оксифільні), поліхроматофільні з округлим ексцентрично розташованим ядром, яке ущільнюється з дозріванням клітини. Колір цитоплазми у базофільного нормоцита – синій, у поліхроматофільного – сірувато-рожевий, у оксифільного – рожевий.

При анемії у периферійній крові може бути велика кількість нормоцитів, що є ознакою регенерації еритропоезу.

Анемії внаслідок крововтрат (постгеморагічні анемії)

Анемії внаслідок крововтрат бувають гострі та хронічні.

Гостра постгеморагічна анемія настає внаслідок швидкої втрати великої кількості крові. Може виникнути при розриві великих судин, при травмах, а також при маткових, легневих, ниркових, шлункових кровотечах.

Хронічна постгеморагічна анемія розвивається в результаті невеликих крововтрат, які часто повторюються. Це буває при геморої, виразці шлунка та дванадцятипалої кишки, при пухлинах шлунково-кишкового тракту, носових кровотечах та ін. При цьому в крові знижується кількість заліза, тоді може розвинути залізодефіцитна анемія.

Картина крові. Зміни в периферійній крові настають на 4-5-й день після кровотечі. Еритроцити і гемоглобін спочатку в нормі, на 2-3-й день починають знижуватись. Кольоровий показник у межах норми – нормохромна анемія. У мазку незначний пойкилоцитоз, анізоцитоз, макроцитоз, поліхроматофіли, зсув лейкоформули вліво до метамієлоцитів. Лейкоцитоз від 12 до $20 \cdot 10^9/\text{л}$. Спочатку тромбоцитопенія, пізніше тромбоцитоз. Залежно від кровотечі кількість ретикулоцитів збільшується до 10 %, ШОЕ підвищене.

Оскільки лабораторна діагностика складна і поставити діагноз постгеморагічної анемії важко, допомагає анамнез лікаря.

Залізодефіцитна анемія

Залізодефіцитна анемія належить до групи анемій, що виникають, як правило, через порушення кровотворення. Причинами виникнення залізодефіцитної анемії можуть бути:

- недостатнє надходження заліза в організм;
- підвищена втрата заліза;
- підвищена потреба у залізі в періоди росту, вагітності та лактації;
- недостатність засвоєння заліза при хронічних ентеритах, резекції тонкого кишечника та шлунку.

Картина крові. Різко знижується рівень гемоглобіну – від 20-30 до 110 г/л , еритроцити в нормі або знижені до $1,5\text{-}2,0 \cdot 10^{12}/\text{л}$, знижений кольоровий показник до 0,5-0,6 (норма 0,85-1,05), гіпохромія еритроцитів, мікроанізоцитоз, пойкилоцитоз, у тяжких випадках з'являються нормоцити. Лейкопенія зі зсувом вліво, відносний лімфоцитоз. Кількість лейкоцитів у межах норми, може спостерігатися лейкопенія, ретикулоцити в нормі або трохи підвищені, число тромбоцитів підвищене, ШОЕ незначно збільшена.

В₁₂(фолієво)-дефіцитна анемія

В₁₂(фолієво)-дефіцитна анемія належить до захворювань, які виникають внаслідок порушення кровоутворення.

Основною причиною цієї анемії є дефіцит вітаміну В₁₂ в організмі людини, зумовлений порушенням його засвоєння.

Картина крові. Вміст еритроцитів різко знижується до $1,0 \text{ Т/л}$, гемоглобіну – до 20 г/л . Еритроцити падають швидше, ніж гемоглобін: кольоровий показник становить 1,4-1,8. Анемія гіперхромного характеру, еритроцити великі гіперхромні – макроцити і мегалоцити, в них можна знайти тільки Жоллі, тільки Кабо, інколи мегалобласти, еритроцити з базофільною пунктацією, анізоцитоз, пойкилоцитоз. Характерна поява в периферійній крові пронормоцитів. Кількість ретикулоцитів низька, тромбоцитопенія, нейтропенія зі зсувом

вліво до мієлоцитів. Може бути також зсув вправо. Отже, зміни в крові характеризуються ураженням усіх трьох ростків кровотворення.

Таласемії

Таласемії – це анемії, пов'язані з порушенням кровотворення.

Таласемії зумовлені порушенням синтезу глобіну. Це група захворювань, при яких порушений синтез одного з ланцюгів глобіну. В результаті у хворих спостерігається виражена або незначна гіпохромна анемія.

Таласемія, при якій порушений синтез β -ланцюга глобіну, називається β -таласемією. Цей вид таласемії трапляється найчастіше.

При α -таласемії пригнічується синтез α -ланцюгів глобіну.

Картина крові. При таласемії еритроцити гіпохромні, значний анізоцитоз, мішенеподібні, овалоцити, шизоцити, еритроцити з базофільною пунктацією, можуть мати включення округлої форми. Гемоглобін у нормі або знижений до 90 г/л, рідко до 70 г/л, кольоровий показник 0,7-0,8, рідко знижується до 0,5-0,6. Ретикулоцити підвищені до 2-5 %. Осмотична резистентність еритроцитів підвищена. Лейкопенія з відносним лімфоцитозом, у період кризи – лейкоцитоз зі зсувом вліво.

Гемоглобінопатії

Гемоглобінопатії зумовлені порушенням синтезу глобіну і порушенням здатності гемоглобіну зв'язувати кисень. Ця група захворювань спричинена заміною однієї або кількох амінокислот у ланцюгу глобіну, або продовженням ланцюга. Дана анемія може не давати жодних змін у крові, або можуть підвищуватися гемоглобін і еритроцити.

Картина крові. Для даних анемій діагностичне значення має виявлення нестабільного гемоглобіну, тілець Гейнша-Ерліха, базофільної зернистості в еритроцитах, мішенеподібних, серповидних еритроцитів та ін.

Апластичні анемії

Апластичні анемії виникають у результаті порушення кровотворення. Характеризуються зниженням кількості кровотворних елементів у кістковому мозку і різкою панцитопенією (зменшення всіх ростків кровотворення) без гемобластозу. В кістковому мозку відбувається розростання жирової тканини, що призводить до пригнічення кровотворення. Захворювання починається з анемії. Пізніше до неї приєднуються тромбоцитопенія, еритроцитопенія, лейкопенія, які свідчать про ураження трьох ростків кровотворення.

Вважається, що причиною апластичної анемії є зменшення кількості стовбурових клітин.

Картина крові. Спостерігається різке, але рівномірне зменшення кількості еритроцитів до $1,0 \cdot 10^{12}/л$, гемоглобіну до 20-30 г/л і нижче. Анемія нормохромного характеру. Анізоцитоз, пойкилоцитоз виражені незначно. Лейкопенія до $1,0 \cdot 10^9/л$, абсолютна нейтропенія і відносний лімфоцитоз, еозинопенія. Спостерігається тромбоцитопенія, ШОЕ збільшується до 30-50 мм/год. Зменшуються всі ростки кровотворення: еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів.

Гемолітичні анемії

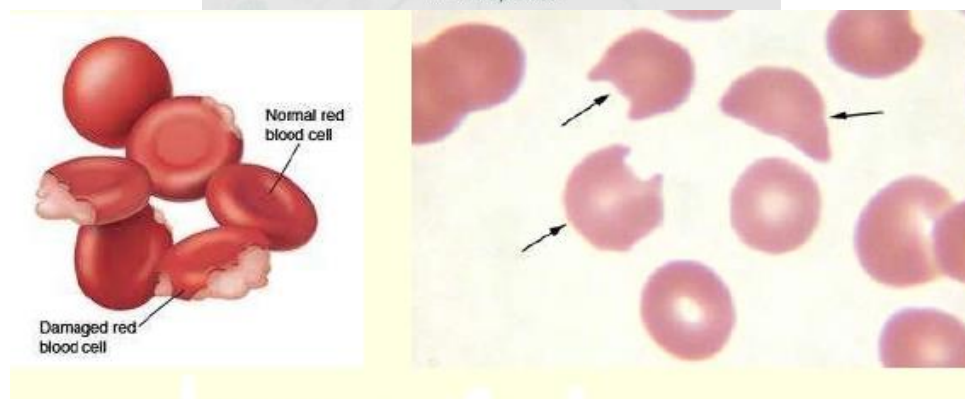
Гемолітичні анемії можуть бути різного походження – спадкові та набуті. Основною ознакою цих анемій є підвищене кроворуйнування – гемоліз. Під час гемолізу тривалість життя еритроцитів скорочується, і процеси кроворуйнування починають переважати над процесами кровотворення. Руйнування еритроцитів відбувається внутрішньоклітинно внаслідок фагоцитозу, який здійснюється клітинами фагоцитуючих мононуклеарів. При внутрішньоклітинному розпаді еритроцитів звільняється гемоглобін. Він поступово перетворюється в білірубін, який надходить у кров.

Картина крові. Мікросфероцитоз, який протікає з загостренням і ремісіями, різкий ретикулоцитоз. Під час кризи еритроцити і гемоглобін значно падають, а пізніше дуже швидко відновлюються, нормохромна анемія, кольоровий показник 1,0. Анізоцитоз, пойкилоцитоз, еритроцити сферичної форми, їх товщина збільшена, діаметр зменшений, вони рівномірно забарвлені без центрального просвітлення. Вміст ретикулоцитів 60 % і більше,

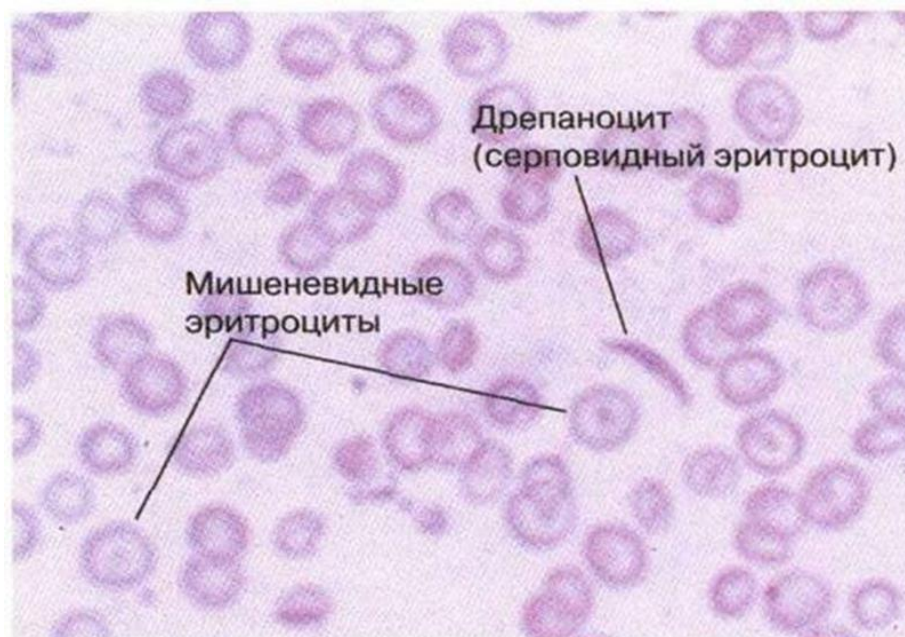
з'являються нормоцити, поліхроматофіли. Лейкоцити в нормі, під час кризи лейкоцитоз із нейтрофіліозом, тромбоцити в нормі. Знижена осмотична резистентність у період ремісії, характерне підвищення осмотичної резистентності при гемолітичному кризі, білірубін у крові.

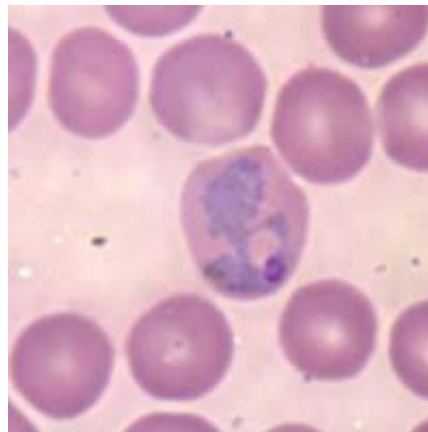
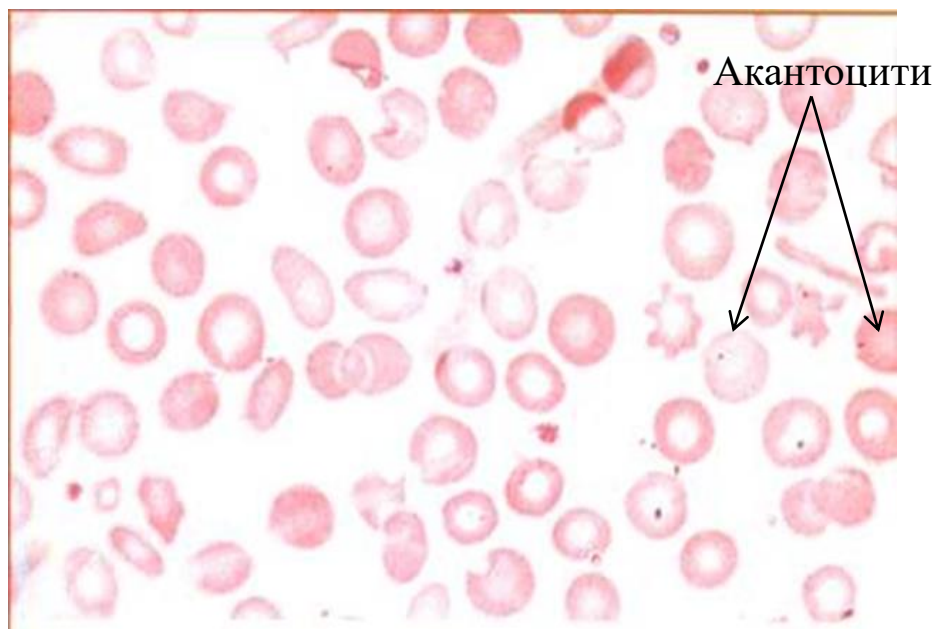
Хід роботи:

Завдання 1. Розглянути мазки крові, виявити патологічні зміни еритроцитів і замалювати їх до робочого зошита



фрагменти зруйнованих еритроцитів

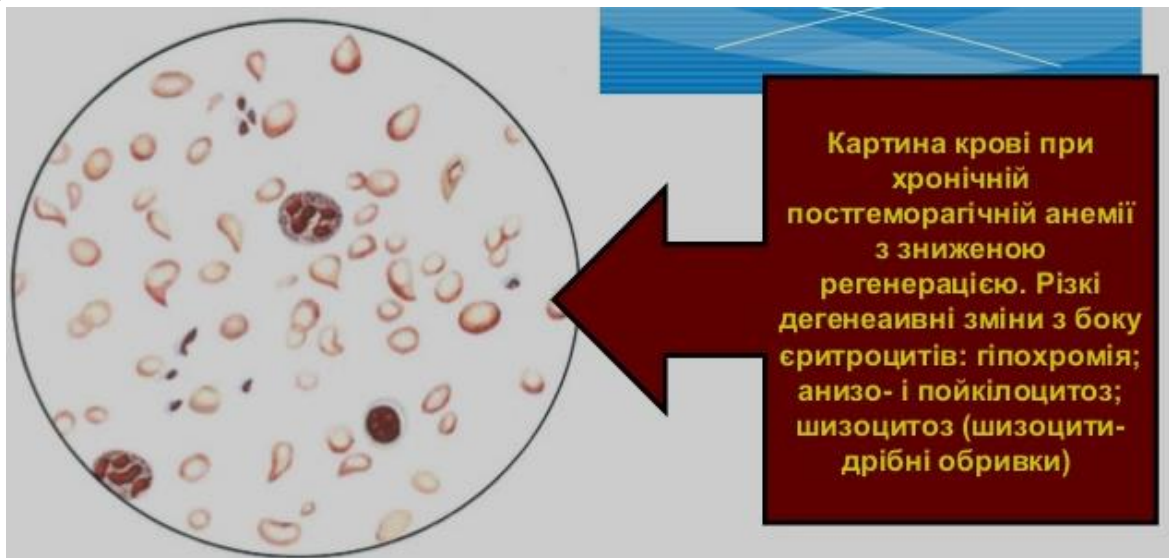




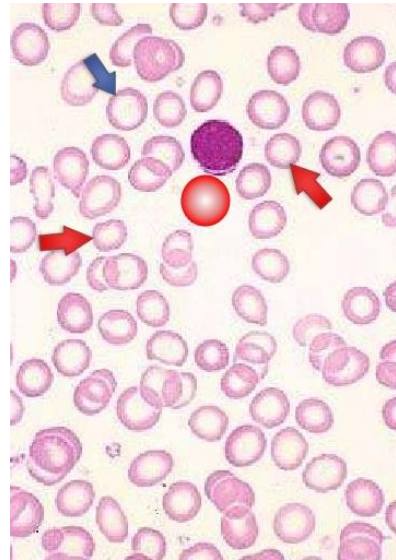
Плямистість Мауера

Для визначення виду анемії необхідно провести клінічний аналіз, додаткові дослідження крові та підрахувати лейкоцитарну формулу.

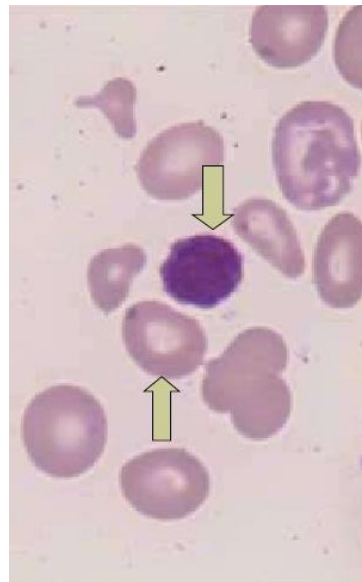
Завдання 2. Розгляньте і замалюйте мазки крові з ознаками хронічної постгеморагічної анемії



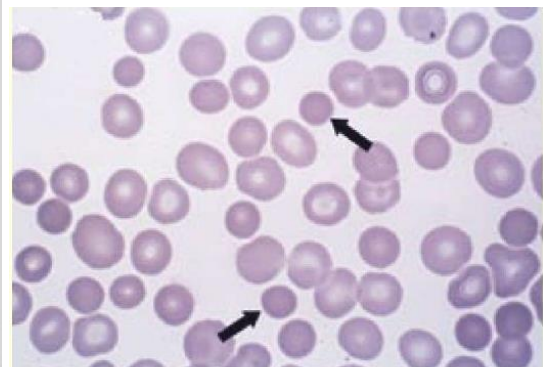
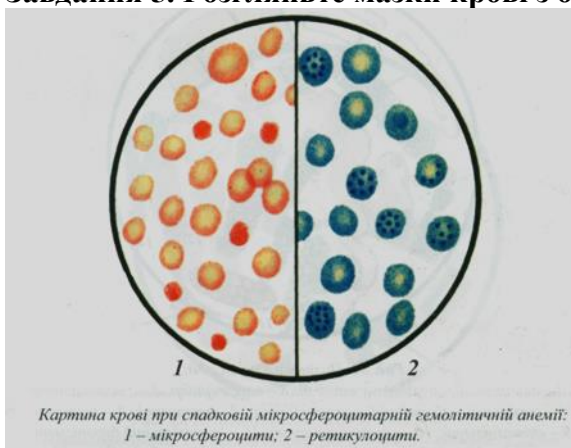
Завдання 3. Розгляньте і замалюйте мазки крові з ознаками залізодефіцитної анемії



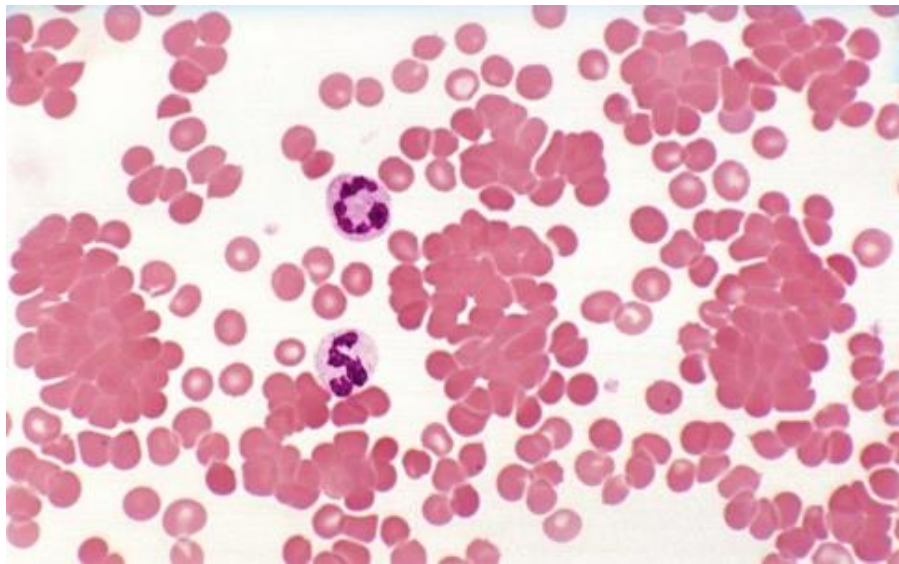
Завдання 4. Розгляньте і замалюйте мазки крові з ознаками B_{12} (фолієво)-дефіцитної анемії



Завдання 5. Розгляньте мазки крові з ознаками гемолітичної анемії

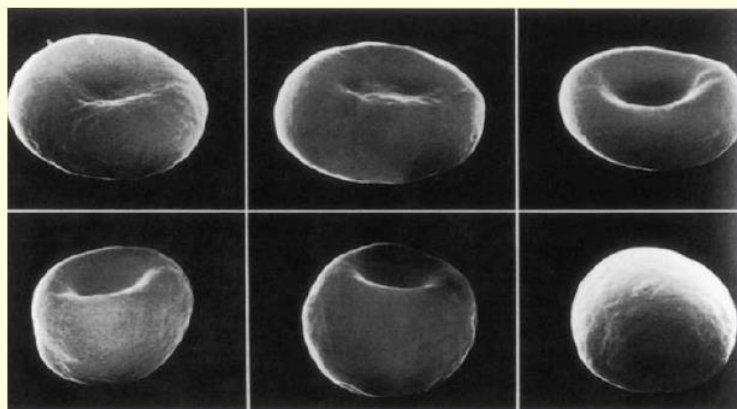


Мікросфероцитоз



Завдання 6. Розгляньте різні етапи трансформації еритроцитів у мікросфероцити

**Спадкова мікросфероцитарна анемія
(анемія Мінковського-Шоффара)**



Трансформація еритроцита в мікросфероцит

Лабораторне заняття №11

Тема: Лейкози

Мета: вивчити інформацію та сформувати чітке поняття про лейкози, набути знання про причини, механізми розвитку різних видів лейкозів, диференціювати форми гострих лейкозів, мати уявлення про діагностичне значення цитохімічного дослідження крові при гострих лейкозах.

Обладнання: готові мазки крові, імерсійне масло, мікроскопи, лічильники.

Теоретичні питання:

1. Лейкози, їх етіологія та патогенез.
2. Характеристика лейкозних клітин.
3. Клінічна характеристика лейкозів.
4. Класифікація лейкозів.
5. Гострий лейкоз: характеристика та лабораторна діагностика.
6. Хронічний лейкоз: характеристика та лабораторна діагностика.

ГОСТРІ ЛЕЙКОЗИ

Лейкози – це група пухлинних захворювань системи крові, які виникають внаслідок розростання патологічних клітин кровотворної тканини, при яких перш за все уражується кістковий мозок. Є пухлини, які розвиваються також із кровотворної тканини, але характеризуються дифузним чи вогнищевим типом росту, не вражаючи кістковий мозок. Вони називаються *гематосаркома*ми. Лейкози та гематосаркоми – це пухлини кровотворної та лімфоїдної тканин, які об'єднуються під загальною назвою "**гемобластози**".

Для усіх форм лейкозу характерна зміна кровотворення: нормальна кровотворна тканина замінюється патологічною – пухлинною.

За клітинним складом пухлин всі лейкози поділяються на дві групи:

- гострі,
- хронічні.

Гострі лейкози мають спільну ознаку: субстрат пухлини становлять найбільш молоді клітини – попередники кровотворення. У периферійній крові зустрічаються клітини другого, третього і четвертого класу (бластні клітини). Дозріваючі клітини відсутні, або присутні поодинокі дозріваючі клітини на перших стадіях захворювання.

Форми лейкозів (за гістохімічною характеристикою):

- лімфобластний,
- мієлобластний,
- монобластний,
- мієломонобластний,
- промієлоцитарний,
- еритромієлоз,
- недиференційований лейкоз.

Форми лейкозів (за морфологічним критерієм і за клінічною картиною):

- плазмобластний,
- мегакаріобластний,
- малопроцентний.

Картина крові. У периферійній крові переважають бластні клітини, їх може бути від 50 до 95 %, зрілих клітин 1-5 %. Клітини морфологічно змінені, тому їх важко диференціювати.

Вид гострого лейкозу визначають імунологічними та цитохімічними методами. Цитохімічне дослідження полягає у проведенні мікрохімічного аналізу клітинних структур, біохімічних досліджень на рівні клітини. У клітинах визначаємо наявність ліпідів, глікогену, мукополісахаридів і активність ряду ферментів: пероксидази, кислої і лужної фосфатази, неспецифічних естераз.

ХРОНІЧНІ ЛЕЙКОЗИ

У групу хронічних лейкозів входять пухлини системи крові, основним субстратом яких є дозріваючі та зрілі клітини.

Хронічні лейкози поділяються на:

- мієлопроліферативні,
- лімфопроліферативні.

Мієлопроліферативні лейкози:

- а) мієлолейкоз;
- б) сублейкемічний мієлоз;
- в) еритремія;
- г) мегакаріоцитарний;
- д) еритромієлоз;
- е) моноцитарний;
- є) макрофагальний;
- ж) опастоклітинний.

Лімфопроліферативні лейкози:

- а) хронічний лімфолейкоз і його варіанти;

б) парaprотейнемічні гемобластози:

- хвороба Вальденстрема,
- мієломна хвороба,
- хвороба важких ланцюгів.

Мієлопроліферативні лейкози

Хронічний мієлолейкоз. Захворювання розвивається внаслідок переродження клітини-попередниці, яка здатна диференціюватися до зрілих клітин. Субстрат клітини складається із гранулоцитів. Перебіг захворювання поділяється на три стадії: початкову, розгорнуту і термінальну.

На початку захворювання – незначне збільшення нейтрофільних лейкоцитів зі зсувом вліво до мієлоцитів, промієлоцитів та мієлобластів, із поступовим наростанням їх кількості. Характерна гематологічна ознака хвороби – збільшення кількості еозинофільних і базофільних гранулоцитів (базофільно-еозинофільний комплекс). З'являються нормоцити, характерний тромбоцитоз, ШОЕ нормальна або незначно підвищена.

У розгорнутій стадії: анемія, тромбоцитопенія, лейкоцитоз 150-400 г/л, може бути і до 800 г/л. Внаслідок цього утворюються лейкоцитарні тромби в судинах головного мозку, селезінці, легенях, які можуть призвести до смерті.

Термінальна стадія розвивається гостро: анемія, лейкопенія, наростають бласти, швидко збільшується кількість базофільних та еозинофільних гранулоцитів, які є попередниками "бластової кризи".

Картина крові. Рівномірне збільшення базофілів і еозинофілів (але не у всіх хворих), нейтрофільний лейкоцитоз зі зсувом вліво до мієлоцитів і промієлоцитів, інколи і до мієлобластів; можлива поява нормоцитів, тромбоцитоз, ШОЕ нормальна або підвищена, лейкоцитоз до 20-30 г/л, може бути до 400 г/л, а інколи до 600-800 г/л і більше, в результаті чого утворюються лейкоцитарні тромби в судинах головного мозку, селезінці, легенях; анемія, пойкилоцитоз, анізоцитоз еритроцитів виражені незначно.

Сублейкемічний мієлоз – розвивається з клітини-попередниці мієлопоезу. Розрізняють дві стадії захворювання – розгорнуту (довгу) і термінальну (коротку). Залежно від ураження елементів кісткового мозку, субстратом пухлини можуть бути клітини грануло-, еритро-, тромбоцитопоезу. В міру розвитку хвороби мієлоїдна гіперплазія кісткового мозку змінюється розростанням сполучної тканини. В термінальній стадії захворювання гіперплазія зникає, вся тканина кісткового мозку має вигляд суцільного рубця.

Спочатку зміни в крові відсутні. У розгорнутій стадії кількість лейкоцитів до 20-30 г/л, анемія нормохромна з низькою кількістю ретикулоцитів, гіпертромбоцитоз до 500-800·10⁹/л, зсув вліво до мієлоцитів і промієлоцитів. Гіпертромбоцитоз тримається довго, з роками може розвиватися тромбоцитопенія. Тромбоцитоз може проявлятися тромбозами, синдром ДВЗ (дисеміноване внутрішньосудинне згортання), ШОЕ 20-30 мм/год, незрілі форми нейтрофілів до бластів.

У термінальній стадії спостерігається різке пригнічення кровотворення, картина крові подібна до хронічного мієлолейкозу – бластова криза.

Картина крові. Лейкоцитоз 20-30 г/л, анемія нормохромна з низькою кількістю ретикулоцитів, гіпертромбоцитоз до 500-800·10⁹/л, зсув вліво до мієлоцитів і промієлоцитів. Тромбоцитоз може проявлятися тромбозами, синдром ДВЗ, ШОЕ 20-30 мм/год.

Еритремія – субстрат пухлини становлять зрілі еритроцити, частково гранулоцити, тромбоцити. Характеризується еритремія розростанням клітин спочатку еритроцитарного ростка кровотворення, а пізніше і гранулоцитарного і мегакаріоцитарного ростків.

Захворювання характеризується наростанням маси крові в кров'яному руслі і депо. Початкова стадія – це збільшення кількості еритроцитів. Захворювання розвивається поступово. У розгорнутій стадії йде розростання трьох ростків кровотворення (*панцитоз*), тобто збільшення вмісту всіх видів формених елементів крові. Еритроцити до 10·10¹²/л; Нв – 180-220 г/л, тромбоцитоз 500-1000·10⁹/л, лейкоцитоз 15-20 Г/л і більше зі зсувом до мієлоцитів. Підвищена в'язкість крові, тромбози.

Картина крові. Еритроцити $6-8 \cdot 10^{12}/л$, Нв – 180-220 г/л, анізоцитоз, пойкилоцитоз, поліхроматозія, базофільна пунктація еритроцитів, поодинокі нормоцити. Лейкоцитоз $15-20 \cdot 10^9/л$ і більше, зсув до мієлоцитів, тромбоцитоз $500-1000 \cdot 10^9/л$.

Хронічний еритромієлоз – субстрат пухлини, представлений еритроцитами. Від гострого еритромієлозу цей процес відрізняється незначним процентом еритробластів і мієлобластів.

Клінічне захворювання проявляється нормо- або гіперхромною макроцитарною анемією. Ретикулоцити крові в нормі або незначно підвищені (до 2 %). Високий нормоцитоз. В кістковому мозку різко виражена гіперплазія червоного ростка, деколи мегалобластного характеру.

Всі вказані зміни: анемія без високого ретикулоцитозу, гіперплазія червоного ростка в кістковому мозку – є показниками неефективного еритропоезу і обумовлені внутрішньокістковомозковим гемолізом еритрокаріоцитів, у цьому випадку йде пухлинне ураження червоного ростка.

В пунктаті селезінки мієлоїдна метаплазія з великою кількістю еритрокаріоцитів.

У термінальній стадії процес характеризується бластозом у кістковому мозку і в периферійній крові, саркоматозним ростом в лімфатичних вузлах, селезінці та інших органах.

Хронічний моноцитарний лейкоз – субстрат клітин представлений моноцитами і моноцитоподібними клітинами. Захворювання розвивається поступово. Характерним є збільшення в кістковому мозку та в периферійній крові моноцитів і моноцитоподібних клітин, підвищення кількості лейкоцитів до 15-20 г/л. Морфологічно і цитохімічно лейкозні моноцити майже не відрізняються від нормальних. Розміри пухлинних клітин відносно великі, ядро неправильної форми, часто лапчасте з нерівним окресленням. Цитоплазма голуба, може бути дрібно-рожева зернистість.

Хронічний моноцитарний лейкоз у хворих протягом кількох років протікає з моноцитозом у крові.

Картина крові. Моноцитів 30-40 %, моноцитоподібні клітини, нормоцити, лейкоцити в нормі або підвищені до 15-20 г/л, еритроцити і тромбоцити в нормі, може виникати анемія. ШОЕ значно збільшено. Характерним для хронічного моноцитарного лейкозу є підвищення в крові та виділення з сечею ферменту лізоциму.

Макрофагальний хронічний лейкоз. Це рідкісна форма гемобластозів. Вони дають різні клінічні картини з гострим або тривалим перебігом хвороби, в цей процес втягуються органи кровотворення з ураженням окремих органів і систем.

Пухлинні елементи знаходимо в різних органах кровотворення.

У крові спостерігається нейтрофільний лейкоцитоз, може бути лейкопенія, зсув вліво, моноцитоз.

Діагностику проводять, вивчаючи картину крові, органів кровотворення (не тільки кісткового мозку, але й селезінки, лімфатичних вузлів, що втягнуті в патологічний процес).

Опасистоклітинний (тучноклітинний) лейкоз (мастоцитом). Тканинні базофіли (тучні, або опасисті клітини) зустрічаються майже всюди. Доведено, що вони мають гематогенне походження. Зернистість їх цитоплазми подібна до зернистості базофілів.

Пухлини із тканинних базофілів – мастоцитози – зустрічаються рідко. Серед них найбільш поширений плямистий мастоцитоз (пігментна кропивниця). Він характерний дрібними папулами і дифузними рожевуватими висипаннями. Процес може прогресувати і захоплювати внутрішні органи: кістковий мозок, печінку, селезінку, лімфатичні вузли. Кісткове ураження проявляється дифузним остеолізісом або остеосклерозом. Рентгенологічно в першому випадку спостерігається розсмоктування кісткової тканини до утворення великих деструктивних зон, в другому – картина нагадує остеосклероз.

Ураження кісткового мозку і органів кровотворення говорить про опасистоклітинний лейкоз, який відноситься до хронічних форм, оскільки його субстрат представлений в основному зрілими, хоча й атиповими, тканинними базофілами.

Лімфопроліферативні лейкози

Хронічний лімфолейкоз. Субстрат пухлини становлять морфологічно зрілі і лізовані лімфоцити (тіні Гумпрехта). Розрізняють початкову, розгорнуту і термінальну стадії хвороби.

Початкова стадія триває довго з незначним збільшенням шийних лімфатичних вузлів і помірним лімфоцитозом у крові.

У розгорнутій стадії скарги на загальну слабкість, швидку втомлюваність, пітливість. Збільшуються шийні та лімфатичні вузли, з'являються значні конгломерати лімфатичних вузлів у середостінні, в черевній і пахових ділянках. Лімфоцитоз (40-50 %), тіні Гумпрехта, тромбоцитопенія.

У термінальній стадії автоімунна анемія, важкі інфекційні ускладнення.

Картина крові. Лімфоцитів 40-60 %, лізовані лімфоцити (тіні Гумпрехта), лейкоцитоз до 100 г/л, зустрічаються пролімфоцити, поодинокі лімфобласти, поступово розвивається анемія, тромбоцитопенія.

Примітка. Картини крові при хронічних лейкозах можуть бути дещо змінені залежно від виду лейкозу та перебігу захворювання.

ПАРАПРОТЕЇНЕМІЧНІ ГЕМОБЛАСТОЗИ

Парапротеїнемічні гемобластози (хвороба важких ланцюгів, хвороба Вальденстрема, мієломна хвороба).

Парапротеїнемічні гемобластози - це пухлини, які розвиваються з клітин, що забезпечують гуморальний імунітет.

Хвороба Вальденстрема – парапротеїнемічний гемобластоз, характеризується пухлинною проліферацією лімфоїдних і плазматичних клітин, які продукують IgM (імуноглобулін), відомий як хвороба Вальденстрема.

Часто спостерігається кровоточивість із слизових оболонок. Збільшення печінки, селезінки і лімфатичних вузлів, обумовлене пухлинним розростанням лімфоїдних клітин; уражується кістковий мозок та інші органи і тканини.

В периферійній крові анемія, лейкопенія з відносним лімфоцитозом. Кількість лейкоцитів у нормі або підвищена.

В лейкограмі переважають лімфоцити і лімфоїдні клітини.

Часто буває збільшена кількість моноцитів. В міру прогресування захворювання наростає тромбоцитопенія, ШОЕ підвищена. В пунктаті кісткового мозку лімфоцитів – 60-98 %, кількість плазматичних клітин досягає 15-20 %.

Основним синдромом захворювання є гіперпротеїнемія з різким підвищенням в'язкості крові, тромбоз і розрив дрібних судин. Тромбоцити оточені білковими масами, стають неповноцінними, порушується тромбопластиноутворення. Збільшення макроглобулінів порушує процеси згортання крові та підвищує її в'язкість.

Мієломна хвороба (плазмцитома) характеризується злоякісним розростанням плазматичних клітин. Клінічні симптоми пов'язані зі змінами в різних системах і органах, а також з порушенням білкового та мінерального обміну. При мієломній хворобі можуть переважати плазматичні клітини типу плазмобластів, проплазмоцитів або плазмоцитів. Виникає патологія кісткової системи, біль у кістках і переломи. Мієломна хвороба найчастіше вражає плоскі та короткі кістки. Відбувається розростання плазматичних клітин, які беруть участь у гуморальному імунітеті й утворенні імуноглобулінів. Патологічне змінений клон плазматичних клітин при мієломній хворобі посилено виробляє однорідний білок парапротеїн. На початку захворювання змін у крові немає, може бути нейтропенія з відносним лімфоцитозом, зсув вліво до мієлоцитів. У термінальній стадії – гіперкальціємія.

Картина крові. Лейкопенія, плазматичні клітини типу плазмобластів, проплазмоцити, плазмоцити, нормохромна анемія, інколи з'являються нормоцити, ШОЕ 50-90 мм/год, кількість тромбоцитів у нормі, інколи на початку захворювання спостерігається гіпертромбоцитоз, ретикулоцити в нормі.

ЛІМФОГРАНУЛОМАТОЗ

Лімфогранулематоз – це пухлинне захворювання з групи гематосарком. Провідним симптомом є збільшення лімфатичних вузлів в одній ділянці. Для цього системного пухлинного процесу характерний розвиток лімфогранульоми з наявністю специфічних

клітин Березовського-Штернберга або їх попередників – клітин Ходжкіна. Ці клітини великі, 40-80 мкм, округлої форми, ядра можуть бути круглі, бобовидні або лапчасті, розташовані ексцентрично. В ядрах видно нуклеоли, часто дуже великі (1-2), рідше менші (5-6). Зрілі клітини Штернберга мають декілька ядер. Дуже характерні клітини з двома однаковими за розміром і формою ядрами. Цитоплазма таких клітин базофільна.

Клітини Ходжкіна одноядерні, менших розмірів. Ядро округле, розташоване центральнї, має 2-3 нуклеоли світло-голубого кольору. Цитоплазма неширока, базофільна, інтенсивно забарвлена.

Картина крові. Лейкопенія, еозинофілія, нейтрофіліоз зі зсувом вліво, інколи в нейтрофілах токсична зернистість. У пізніх стадіях захворювання лімфоцитопенія, моноцитопенія. Збільшення кількості тромбоцитів до $400 \cdot 10^9/\text{л}$, ШОЕ до 80 мм/год.

Діагностичним критерієм лімфогранулематозу є поява в пунктаті лімфовузла клітин Березовського-Штернберга на фоні еозинофілії.

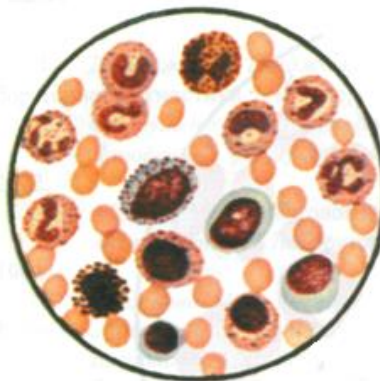
Хід роботи:

Завдання 1. Розгляньте і замалюйте мазки крові з ознаками гострого лейкозу



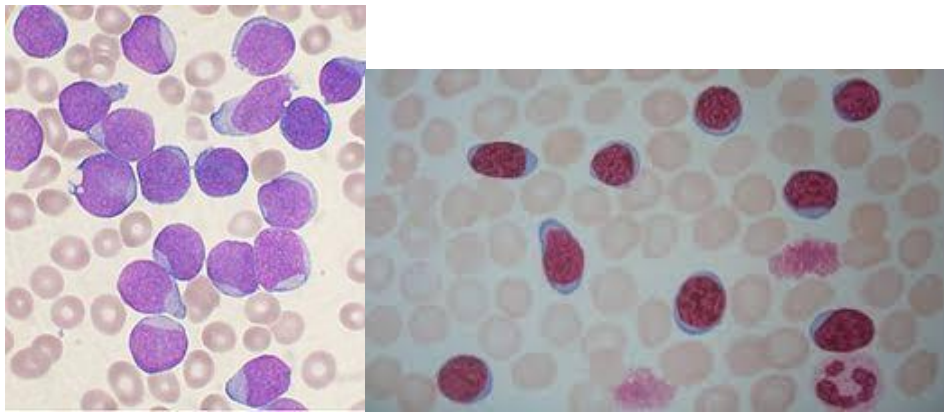
Картина крові при гострому лейкозі

Завдання 2. Розгляньте і замалюйте мазки крові з ознаками хронічного мієлолейкозу

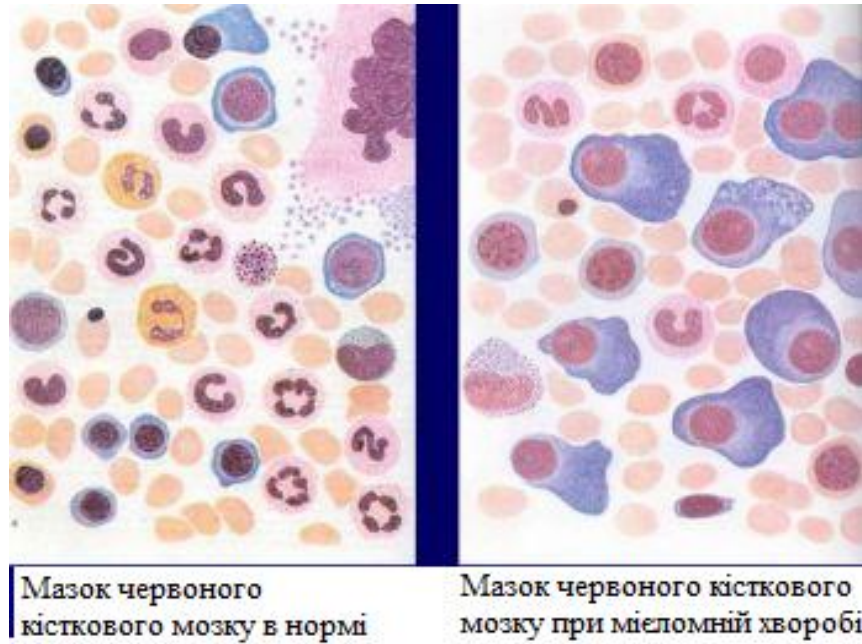


Картина крові при хронічному мієлолейкозі

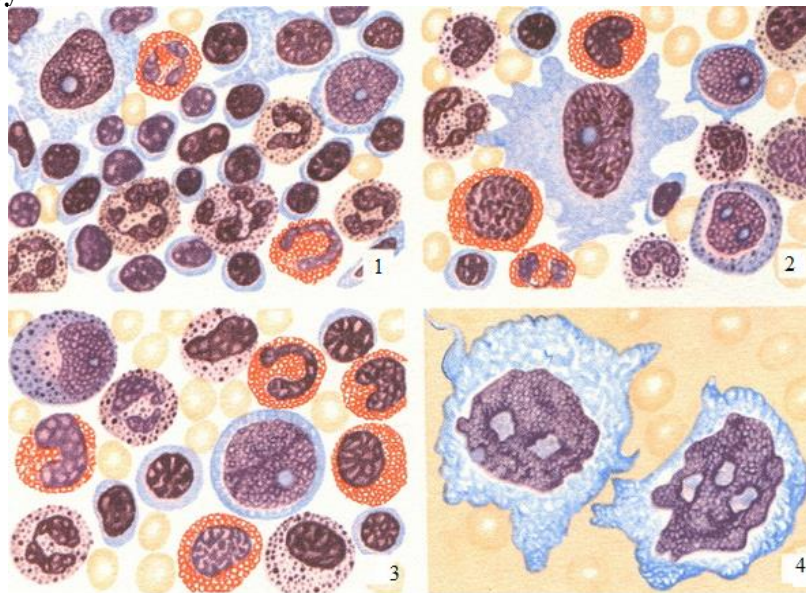
Завдання 3. Розгляньте і замалюйте мазки крові з ознаками хронічного лімфолейкозу. Знайдіть і замалюйте тіні Гумпрехта



Завдання 4. Розгляньте мазки червоного кісткового мозку в нормі та при мієломній хворобі і замалюйте останній



Завдання 5. Розгляньте і замалюйте мазки пунктату з ознаками лімфогранулематозу



Пунктат лімфатичного вузла.

Рис. 1. Клітинний поліморфізм: зліва вгорі – гігантська клітина Березовського-Штернберга.

Рис. 2. Кістковий мозок міелоцитарний - метаміелоцитарний. У центрі – ретикулярна клітка (пунктат).

Рис. 3. Пунктат кісткового мозку хворого лімфогранулематозом. Велика кількість еозинофільних клітин.

Рис. 4. Гігантські клітини Березовського-Штернберга з витягнутою у вигляді відростків протоплазмою.

Зробіть висновки.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
7. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
8. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
9. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
10. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
11. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

Лабораторне заняття № 12

Тема: Геморагічні діатези. Лабораторна діагностика

Мета: сформулювати поняття про гемостаз, геморагічні діатези, їх типи, механізми розвитку та принципи лабораторної діагностики.

Обладнання: вата, спирт 70°, штатив із пробірками, секундомір, смужки фільтрувального паперу, капіляри Панченкова, кров, дезрозчин, рукавички.

Теоретичні питання:

1. Поняття про гемостаз.
2. Геморагічні діатези.
3. Типи кровоточивості.
4. Тромбоцитопенії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
5. Тромбоцитопатії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
6. Коагулопатії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
7. Вазопатії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.

Хід роботи:

ВИЗНАЧЕННЯ ЧАСУ ЗСІДАННЯ КРОВІ

Завдання 1. Визначення тривалості кровотечі за методом Дукє

Хід визначення:

Скарифікатором робимо прокол шкіри пальця або мочки вуха, глибиною не менше 3-4 мм. Кров повинна виходити самовільно без натиску. Після проколу включаємо секундомір. Коли виступить крапля крові, доторкаємося до неї фільтрувальною смужкою паперу, і так через кожні 30 сек. Поступово краплі стають менші. Продовжуємо цю маніпуляцію до зникнення слідів крові на фільтрувальному папері. Секундомір зупиняємо і підраховуємо результат.

У нормі тривалість кровотечі за Дукє становить 2-4 хв.

Збільшення часу кровотечі спостерігається при тромбоцитопатії, тромбоцитопенії та зменшенні резистентності судинної стінки.

Завдання 2. Визначення часу зсідання капілярної крові за методом Сухарєва

Хід визначення:

Взяття крові проводимо з пальця в стерильний і сухий капіляр Панченкова. Першу краплю знімаємо. У капіляр набираємо стовпчик крові висотою 25-30 мм і переводимо її на середину. Включаємо секундомір і через кожних 30 сек. Нахиляємо капіляр вправо і вліво під кутом 30-45°. Кров вільно пересувається всередині капіляра. З початком зсідання крові рух її сповільнюється. Припинення руху крові свідчить про її повне зсідання.

Початок згортання в нормі настає у період від 30 сек. до 2 хв., а закінчення – у період від 3 до 5 хв.

Завдання 3. Визначення часу зсідання венозної крові за методом Лі-Уайта

Хід визначення:

Взяття крові проводять із вени сухою голкою без шприца. Перші краплі випускають на ватний тампон. Пізніше у дві сухі градуйовані пробірки набираємо по 1 мл венозної крові. Включаємо секундомір відразу після дотику крові з пробіркою. Пробірки з кров'ю ставимо на водяну баню при температурі 37 °С. Через 2 хв. після взяття крові, а потім через кожних 30 сек. пробірки нахиляємо на 45-60°. Якщо зсідання крові не відбувається, то вона розтікається по стінці пробірки. Зсідання вважається закінченим, коли утворився згусток.

У нормі згортання венозної крові триває 5-10 хв.

Прискорене зсідання крові спостерігається при крововтратах у післяпологовий і післяопераційний періоди, при сильних больових подразненнях.

Сповільнення зсідання крові спостерігається при коагулопатіях.

Зробіть висновок.

Лабораторне заняття №13

Тема: Модульна контрольна робота № 1

Питання до контрольної роботи:

1. Клініко – діагностична лабораторія, її відділи, організація роботи в ній мета досліджень, значення клінічних лабораторних досліджень. Зміст виробничої діяльності, обов'язки медичного лаборанта. Правила техніки безпеки при роботі в лабораторії.
2. Стислий історичний нарис розвитку лабораторної діагностики. Перспективи вдосконалення лабораторної служби в Україні.
3. Лабораторний посуд, класифікація. Дезінфекція, миття та стерилізація лабораторного посуду й матеріалів.
4. Склад і функції крові. Принципи морфологічної диференціації клітин крові в забарвлених препаратах.
5. Вчення про кровотворення. Сучасна схема кровотворення. Морфологія клітин гранулоцитарного, агранулоцитарного, еритроцитарного та мегакаріоцитарного рядів.
6. Фізіологічна роль формених елементів. Гематологічна норма. Функції еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів. Нормальні показники периферійної крові дорослої людини. Вікові зміни складу крові.

7. Лейкоцитарна формула. Абсолютна та відносна кількість лейкоцитів. Зсув лейкоцитарної формули. Діагностичне значення. Кількісні зміни лейкоцитів: лейкоцитоз і лейкопенія.
8. Патологічні зміни складу крові. Лейкоцитарна формула при патології: збільшення та зменшення окремих видів лейкоцитів. Діагностичне значення.
9. Лейкемоїдні реакції. Дегенеративні зміни лейкоцитів. Діагностичне значення. Аномалія лейкоцитів Пельгера.
10. Анемії – захворювання систем крові. Анемії. Класифікація. Зміни морфології еритроцитів у разі анемії.
11. Постгеморагічна анемія. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
12. Залізодефіцитна анемія. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
13. В₁₂ фолієво-дефіцитна анемія. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
14. Апластична анемія. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
15. Гемолітична анемія. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
16. Агранулоцитоз. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
17. Променева хвороба. Види. Лабораторна діагностика.
18. Лейкози – захворювання систем крові. Гемобластози. Лейкози. Етіологія, патогенез, характеристика лейкозних клітин. Клінічна характеристика. Класифікація лейкозів.
19. Гострий лейкоз. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
20. Хронічний мієлолейкоз. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
21. Доброякісний сублейкемічний мієлоз. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
22. Хронічний моноцитний лейкоз. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
23. Еритремія. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
24. Хронічний лімфолейкоз, його варіанти. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
25. Мієломна хвороба. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
26. Лімфогрануломатоз. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
27. Геморагічні діатези. Лабораторна діагностика. Поняття про гемостаз. Механізми гемостазу.
28. Геморагічні діатези. Класифікація. Типи кровоточивості.
29. Тромбоцитопенії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
30. Тромбоцитопатії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
31. Коагулопатії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
32. Вазопатії. Стисла характеристика. Лабораторна діагностика.
33. Гематологічні дослідження. Загальний клінічний аналіз крові. Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ). Визначення концентрації гемоглобіну.
34. Визначення кількості еритроцитів в 1л крові. Розрахунок еритроцитів в 1 л крові кольорового показника і середнього гемоглобіну в еритроциті.
35. Визначення кількості лейкоцитів в 1 л крові. Визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів за допомогою автоматичних лічильників. Техніка виготовлення мазків крові. Підрахунок лейкоцитарної формули.
36. Визначення кількості тромбоцитів. Визначення часу зсідання крові. Визначення тривалості кровотечі за методами Дуке, Сухарева, Лі-Уайта.
37. Ретикулоцити. Визначення кількості ретикулоцитів. Визначення гематокритної величини. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів.
38. Імунні властивості еритроцитів. Групи крові та резус-фактор. Антигени еритроцитів. Властивості А,В і Rh- (резус) антигенів еритроцитів. Антиеритроцитарні антитіла. Властивості. Групи крові. Діагностичне значення. Резус-фактор. Значення в медицині.
39. Імунологічні дослідження. Визначення групи крові (системи АВ0) стандартними сироватками. Визначення групи системами АВ0 за допомогою стандартних еритроцитів. Визначення групи крові за допомогою тест-реагентів «Цоліклон».
40. Імунологічні дослідження. Визначення резус-фактора методом конглютинації з застосуванням желатину. Визначення крові на біологічну сумісність.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзись Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзись, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Лея Ю. Я. Оцінки клінічних результатів крові та сечі / Ю. Я.Лея. – К.: Медпрес-інформ, 2002. – 156 с.
9. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник / В.С.Камышников. – Минск, 2003. – 495с.
10. Камышников В. С. Справочное пособие по лабораторным методам исследования / В.С.Камышников. – М.: Медицина, 2001. – 912 с.
11. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
12. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
13. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
14. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
15. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 168с.
16. Руководство по клинической лабораторной диагностике: Учеб. пособие. – Ч. 1-2. / Под ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища шк., 1991. – 615 с.

Допоміжна:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В.Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №14

Тема: Загальний клінічний аналіз сечі

Мета: з'ясувати сутність понять протеїнурія та глюкозурія, їх різновиди, встановити причинно-наслідковий зв'язок між функціональним станом нирок, печінки, серця та фізико-хімічним складом сечі, засвоїти методики якісного та кількісного визначення білка й глюкози у сечі

Теоретичні питання:

1. Анатомо-гістологічна будова нирок. Функції нирок.
2. Фільтраційно-реабсорбційно-секреторна теорія сечоутворення.

3. Поняття про порогові та непорогові речовини. Кліренс.
 4. Вимоги до збирання сечі на дослідження.
 5. Фізичні властивості сечі в нормі та їх зміни при патології.
 6. Методи дослідження функціонального стану нирок: проба Зимницького.
- Діагностична цінність дослідження.
7. Поняття про патологічні складові сечі.
 8. Протеїнурія, причини та види.
 9. Регуляція вуглеводного обміну.
 10. Зв'язок гіперглікемії та глюкозурії.
 11. Глюкозурія, причини та види.

Хід заняття:

Завдання 1. Визначення фізичних властивостей сечі

Обладнання: сеча для дослідження, штатив із пробірками, піпетки, урометр, циліндри, лійки, фільтри, універсальний індикаторний папір, центрифуга, чорний фон, дезрозчин, рукавички.

Опишіть фізичні властивості сечі за алгоритмом:

- кількість;
- колір;
- прозорість;
- запах;
- відносну густину;
- реакцію.

Завдання 2. Якісне визначення білка в сечі

Обладнання: сеча для дослідження, штатив із пробірками, піпетки, чорний фон, секундомір, ФЕК, 20% сульфосаліцилова кислота, 50% азотна кислота, реактив Ларіонової, 3% сульфосаліцилова кислота, 10% ацетатна кислота, насичений хлорид натрію, експрес-тести, калібрувальний графік, дезрозчин, рукавички.

Проба з 20 % розчином сульфосаліцилової кислоти

Ця проба найбільш якісна і чутлива на білок (чутливість 0,015 г/л). Дослідження проводимо у двох пробірках – дослідній і контрольній. Сеча повинна бути прозорою і мати кислу реакцію. Мутну сечу фільтруємо або центрифугуємо, лужну – підкислюємо ацетатною кислотою. У дослідну пробірку з 3-4 мл сечі додаємо 4-5 крапель 20% сульфосаліцилової кислоти. Друга пробірка – контроль. Розглядаємо на чорному фоні. При наявності білка в сечі виникає помутніння.

Експрес-метод

У клініко-діагностичній лабораторії використовуємо різні набори експрес-тестів: "Біофам", "Альбуфам", "Асфам" та ін. Для визначення беремо смужку тесту, намочуємо індикаторну зону досліджуваною сечею, порівнюємо із кольором шкали. Якщо колір змінюється згідно зі стандартною шкалою, то це вказує на наявність білка. Визначення білка в сечі експрес-тестами проводимо згідно з інструкцією до тестів.

Проба Геллера

В аглютинаційну пробірку наливаємо 0,5-1,0 мл 50% азотної кислоти або реактиву Ларіонової, піпеткою набираємо стільки ж досліджуваної сечі. У лівій руці тримаємо аглютинаційну пробірку, правою рукою піпеткою по стінці нашаровуємо сечу (на реактив). Пробірку ставимо у вертикальне положення. Відчитуємо результат на чорному фоні. При наявності білка в сечі на межі двох рідин утворюється біле кільце. Воно буває ниткоподібне, компактне, широкіє.

Завдання 3. Кількісне визначення білка в сечі

При позитивній якісній пробі визначаємо кількість білка в сечі одним із методів:

- методом Брандберга-Робертса-Стольнікова;
- фотометричним методом.

Визначення кількості білка в сечі за методом Брандберга-Робертса-Стольнікова

В основі цього методу лежить кільцева проба Геллера з розведенням сечі.

Хід визначення:

В аглютинаційну пробірку наливаємо 0,5-1 мл 50 % азотної кислоти або реактиву Ларіонової, грушею у піпетку набираємо таку ж кількість досліджуваної сечі. Нашаровуємо сечу на реактив, включаємо секундомір. Результат відчитуємо в залежності від часу утворення кільця: ниткоподібне кільце може утворитися – відразу; протягом 1 хв; протягом 3 хв; воно може бути ниткоподібне широке, компактне. Залежно від того, на якій хвилині утворилося кільце, здійснюємо розведення. Якщо ниткоподібне кільце утворилося відразу, то сечу розводимо у два рази.

Розведення сечі

Якщо утворилося широке кільце, сечу необхідно розвести в 4 рази (1 мл сечі + 3 мл дистильованої води). Якщо кільце компактне, то сечу розводимо у 8 раз (1 мл сечі + 7 мл дистильованої води). Якщо ниткоподібне кільце утворилося відразу – розводимо сечу в 2 рази (1 мл сечі + 1 мл дистильованої води).

Розведення сечі з наступним нашаровуванням проводимо доти, поки не з'явиться ниткоподібне кільце в інтервалі від 1 до 3 хв. При підрахунку кількості білка ступені розведення перемножуємо і множимо на чутливість проби 0,033г/л. Слід пам'ятати про поправку, на якій хвилині утворилося ниткоподібне кільце, і подивитись у таблицю (табл.).

Наприклад: Якщо з'явилося широке кільце, сечу розводимо в 4 рази (1 мл сечі + 3 мл дистильованої води). При наступному нашаровуванні розведеної сечі може утворитися ниткоподібне кільце на першій хвилині, тоді вираховуємо кількість білка в сечі.
 $0,033 \text{ г / л} \times 4 \text{ (ступінь розведення сечі)} \cdot 1 \text{ (1,375) (поправка)} = 0,181 \text{ г/л білка.}$

Таблиця

Визначення кількості білка в сечі, г/л

Час утворення кільця	Поправка	Нерозведена сеча	Ступінь розведення											
			2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096
1-1 1/4	1 3/8	0,45	0,91	0,183	0,37	0,73	1,47	2,93	5,87	11,7	23,4	46,9	93,8	188
1 1/4-1 1/2	1 1/4	0,042	0,083	0,166	0,33	0,67	1,33	2,67	5,33	10,6	21,3	42,6	85,3	171
1 1/2-1 3/4	1 3/16	0,04	0,079	0,158	0,32	0,63	1,27	2,53	5,07	10,1	20,2	40,5	81	162
1 3/4-2	1 1/8	0,037	0,075	0,15	0,3	0,6	1,2	2,4	4,8	9,6	19,2	38,4	76,8	146
1 1/2-2 1/4	1 1/16	0,035	0,07	0,142	0,28	0,56	1,13	2,26	4,53	9,07	18,1	36,2	72,5	146
2 1/2-3	1	0,033	0,066	0,133	0,27	0,53	1,07	2,13	4,27	8,53	17	34,1	68,3	137
3-3 1/2	15/16	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
3 1/2-4	7/16	0,029	0,058	0,117	0,23	0,47	0,93	1,87	3,73	7,47	14,9	29,9	59,7	119

Фотометричний метод

Визначення кількості білка в сечі ґрунтується на тому, що білок із 3 % сульфосаліциловою кислотою дає помутніння, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості білка.

Дослідження проводимо у двох центрифужних пробірках: "Д" – дослід і "К" – контроль. Набираємо в кожну з них по 1,25 мл профільтрованої сечі. В дослідну пробірку додаємо 3,75 мл 3% сульфосаліцилової кислоти, в контрольну – стільки ж фізіологічного розчину. Перемішуємо і через 5 хв. фотометруємо на ФЕКу при оранжевому або червоному світлофільтрі в кюветі товщиною 5 мм проти контролю. Розрахунок ведемо по калібрувальному графіку.

При вмісті білка в сечі більше 1 г/л її слід розвести.

Виявлення білка в сечі має значення для діагностики протеїнуриї (органічних, функціональних, наднирникових, позаниркових), їх перебігу та лікування. Цінне діагностичне значення має визначення якісного складу білків у сечі – альбумінів і глобулінів.

Визначення білка в сечі необхідне при органічних протеїнуриях (гломерулонефриті, пієлонефриті, нирковій недостатності, амілоїдозі, туберкульозі, пухлинах нирок, інфекційних і токсичних ураженнях нирок); при позаниркових протеїнуриях: запальних процесах сечовивідних шляхів і статевих органів (кольпіті, простатиті, циститі, уретриті).

Виявлення білка Бенс-Джонса

Так звані білки Бенс-Джонса – це термолабільні низькомолекулярні білки, що виділяються з сечею при деяких формах мієломної хвороби та макроглобулінемії Вальденстрема. Їх виявляють за допомогою реакції термопреципітації, яка є малочутливою і повинна бути підтверджена методом електрофорезу.

Виявлення білка Бенс-Джонса пробою кип'ятіння (реакція термопреципітації)

Обладнання: насичений розчин хлориду натрію, 10% розчин ацетатної кислоти, водяна баня, термометр, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

У пробірку наливаємо 10 мл сечі, додаємо 3-4 краплі 10% розчину ацетатної кислоти (рН 5-6), насичений розчин хлориду натрію. Дану суміш нагріваємо на водяній бані, поступово підвищуючи температуру. Якщо в сечі присутній білок Бенс-Джонса, то при температурі 45-60°C виникає помутніння або випадає щільний білий осад. Побачивши випадіння осаду, додаємо 1-2 краплі ацетатної кислоти і нагріваємо до кип'ятіння. Осад при цьому розчиняється. Коли вміст пробірки охолоджується, тоді знову з'являється помутніння або осад.

Після виявлення білка визначаємо його кількість.

Завдання 4. Якісне визначення глюкози в сечі

Обладнання: досліджувана сеча, штатив із пробірками, 4% розчин глюкози, водяна баня, дистильована вода, піпетки, експрес-тести, ФЕК, калібрувальний графік, реактив Гайнеса-Акімова, реактив Лестраде, дезрозчин, рукавички.

Визначення глюкози за пробою Гайнеса-Акімова

Проба Гайнеса ґрунтується на здатності глюкози при нагріванні в лужному середовищі відновлювати дигідроксид міді у гідрат закису і закис міді. В хімічну пробірку набираємо 2 мл реактиву Гайнеса і додаємо 4-6 крапель досліджуваної сечі. Нагріваємо на водяній бані або над полум'ям пальника до кипіння. При наявності глюкози синій колір змінюється на жовтий або оранжевий.

При відсутності глюкози в сечі колір не змінюється.

Експрес-метод

Дослідження проводимо згідно з інструкцією. Виявлення глюкози в сечі за допомогою глюкотесту ґрунтоване на специфічному окисленні глюкози ферментом глюкозооксидазою. Гідроген пероксид, що утворюється при цьому, розщеплюється іншим ферментом – пероксидазою – і окислює барвник (ортотолуїдин, бензидин), при цьому утворюється зелене забарвлення. При наявності глюкози в сечі визначаємо її кількість.

Завдання 4. Кількісне визначення глюкози в сечі

Визначення глюкози в сечі колориметричним методом на ФЕКу

Колориметричний метод визначення глюкози в сечі на ФЕКу ґрунтується на тому, що при нагріванні сечі, яка містить глюкозу, з розчином їдкого натрію змінюється колір вмісту пробірки.

Досліджувану сечу (4 мл) змішуємо з 1 мл 10 % розчину NaOH і ставимо у киплячу водяну баню на 3 хв. Через 10 хв. колориметруємо на ФЕКу з зеленим світлофільтром у кюветі шириною 5 мм. Для контролю застосовуємо дистильовану воду. Кількість глюкози знаходимо по калібрувальній кривій, для побудови якої готуємо ряд стандартних розчинів глюкози. Слід пам'ятати, що сечу перед визначенням глюкози необхідно добре перемішати, а при високих концентраціях глюкози сечу потрібно розвести.

Виявлення глюкози в сечі має велике значення для діагностики хронічних нефритів, нефрозів, гострої ниркової недостатності, отруєння (флоридзином), глікогенової хвороби, цукрового діабету та інших захворювань.

Зробіть висновки.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
7. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
8. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
9. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
10. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

Лабораторне заняття №15

Тема: Виявлення кетонових тіл та кров'яних пігментів у сечі

Мета: встановити взаємозв'язок між кетонемією та кетонурією, з'ясувати фізіологію пігментного обміну, ознайомитись із методиками виявлення кетонових тіл та основних пігментів у сечі.

Теоретичні питання:

1. Зв'язок вуглеводного обміну з жировим. Кетонемія та кетонурія.
2. Пігменти сечі. Утворення жовчних пігментів.
3. Фізіологія пігментного обміну та його порушення.
4. Діагностичне значення визначення рівня жовчних пігментів для диференціації жовтяниць.

Теоретичне обґрунтування:

Кетонові тіла – це ацетон, ацетоацетатна кислота, β -оксимасляна кислота. У нормі білки, жири і вуглеводи розщеплюються через проміжні стадії до активної форми ацетату – ацетилкоензиму А, який розкладається згодом до кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O . Для його згоряння необхідний оксалацетат, який утворюється при розщепленні вуглеводів. При недостатньому засвоєнні вуглеводів або при надмірному засвоєнні жирів і білків порушується кількісне співвідношення між ацетилко-ензимом А і оксалацетатом. Виникає нестача оксалацетату. В крові накопичується ацетилкоензим А. Це веде до конденсації його молекул між собою і до утворення проміжних сполук кетонових тіл, спричиняючи кетонемію, а потім і кетонурію. Кетонурії бувають аліментарного й органічного походження. Органічні кетонурії найчастіше спостерігаються при цукровому діабеті (переважно спостерігається кетонурія разом з глюкозурією).

Кетонові тіла – переважно кислоти і ацетон. Отже, значна кетонемія веде до порушення кислотно-лужної рівноваги в кислотний бік, може розвинутися ацидоз, наслідком чого є ацидотична кома із судомами, блювотою, загальним важким станом. При кетонурії сеча набуває специфічного різкого запаху прілих плодів або ацетону. Визначення кетонових тіл не входить у загальний клінічний аналіз сечі.

Гематурія (еритроцитурія) – виділення крові із сечею.

Розрізняють ниркові та позаниркові гематурії.

Ниркова органічна гематурія виникає при всіх захворюваннях з ураженням судинного клубочка. При гострому нефриті в перші дні буває сильно виражена. При вогнищевому нефриті – поодинокі еритроцити. У фазі виздоровлення гематурія зникає раніше, ніж інші симптоми. Іноді гематурія є першим симптомом туберкульозу нирок. Зокрема, при гострій нирковій недостатності, тромбозі нирок, вен, колагенозах.

Функціональна ниркова гематурія спостерігається при інфекційних захворюваннях, дії сильних подразників.

Позаниркові гематурії – при геморагічних діатезах, запальних процесах у сечовивідних шляхах, травмах, сечокам'яній хворобі, гіповітамінозі С.

Гемоглобінурії – при внутрішньосудинному гемолізі еритроцитів. Поділяються на первинні та вторинні.

Первинні – холодова, маршова, при хворобі Маркіафави-Мікеллі.

Вторинні – при переливанні несумісної крові, отруєнні аніліновими фарбами, грибами, хлороформом, великих травмах, інфекціях, гострій жовтій атрофії печінки.

Міоглобінурія — при важких травмах з розтрощенням м'язів, електротравмі, отруєнні СО, тромбозах судин м'язів, м'язовій атрофії, інфаркті міокарда.

Гемосиденурія – при хронічних, гемолітичних анеміях, пароксизмальній нічній гемоглобінурії, гемолітичній хворобі новонароджених, гомозиготній β -таласемії та ін.

Меланіурія - нирки виділяють безбарвний меланоген, який при постійній перетворюється в меланін при захворюванні меланомою, отруєннях карболовою кислотою, лізолом.

Завдання 1. Виявлення кетонових тіл у сечі

Кетонові тіла виявляють у свіжій сечі на вимогу лікаря. При постійній сечі ацетенова кислота розщеплюється до ацетону, який швидко випаровується.

Проба Ланге

Обладнання: досліджувана сеча, штатив із пробірками, 10 % розчин натрію гідропрусиду, 25 % розчин аміаку, натрій карбонат, амоній сульфат, натрій нітропрусид, експрес-набір для визначення кетонових тіл, реактив Лестраде, концентрована ацетатна кислота, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

У пробірку наливаємо 8-10 мл сечі, додаємо 0,5 мл свіжого 10 % розчину нітропрусиду натрію і 0,5-1,0 мл концентрованої ацетатної кислоти, все перемішуємо. На цю суміш обережно нашаровуємо розчин аміаку. При наявності кетонових тіл на межі двох рідин виникає фіолетове кільце, інтенсивність якого визначається в плюсах, цифрами чи словами: слабо позитивна, позитивна, різко позитивна реакція.

Примітка. Кетонові тіла з натрієм нітропрусидом у лужному середовищі утворюють сполуку, яка має червоне або фіолетове забарвлення. Для приготування насиченого розчину нітропрусиду натрію необхідно до дрібки реактиву додати 3-4 мл дистильованої води і розмішати. В осаді повинні залишитися кристали.

Проба Лестраде

Примітка. Реактив готуємо так: 1 г нітропрусиду натрію, 20 г амонію сульфату та 20 г натрію карбонату розтираємо і перемішуємо.

На предметне скло, що лежить на білому фоні, наносимо дрібку порошку або таблетку реактиву Лестраде, а на нього – 2-3 краплі сечі. При наявності кетонових тіл реактив забарвлюється в рожевий, червоний або фіолетовий колір. Результат оцінюємо в плюсах або словами, як пробу Ланге.

Проба Лестраде може бути виконана за допомогою готового набору реактивів для експрес-методу визначення кетонових тіл в сечі.

Беремо смужку фільтрувального паперу, на нього кладемо таблетку реактиву і на неї наносимо 1-2 краплі досліджуваної сечі, спостерігаємо 3 хв, тоді порівнюємо зміну кольору з кольоровою шкалою, яка знаходиться в наборі. Якщо реакція позитивна, з'являється фіолетове забарвлення.

Дані про вміст кетонових тіл вносимо у бланк: "не виявлено", "слабо позитивна", "позитивна", "різко позитивна", або відповідні цифри (0, 1, 2, 3, 4), або відповідну кількість плюсів.

Кетонові тіла можуть бути в сечі при цукровому діабеті, нирковому діабеті, тривалому голодуванні, лихоманці, інфекційних захворюваннях та інших патологічних станах.

Завдання 2. Виявлення гемоглобіну у сечі

Гемоглобін має здатність відбирати кисень від гідрогену пероксиду та передавати його органічним сполукам (амідопірин), у результаті чого речовини забарвлюються.

Проба з амідопірином

Обладнання: досліджувана сеча, штатив із пробірками, 5 % спиртовий розчин амідопірину, 30 % ацетатна кислота, 3 % перекис водню, ефір, дезрозчин, рукавички.

Примітка. Для виготовлення ефірної витяжки беремо у пробірку 8-10 мл досліджуваної сечі, додаємо 2 мл 30 % ацетатної кислоти, 4-5 мл ефіру, перемішуємо.

Хід визначення:

У пробірку до 0,5-1,0 мл 5 % спиртового розчину амідопірину додаємо стільки ж 30% ацетатної кислоти і 3% перекису водню, а також 1-2 мл сечі. При наявності крові в сечі суміш набуває фіолетового кольору. Чутливість проби зростає при використанні ефірної витяжки, яку нашаровують на суміш реактивів.

Результат дослідження записуємо у відповідну графу: "не виявлено", "виявлено".

Завдання 3. Виявлення білірубіну в сечі

Обладнання: досліджувана сеча, штатив з пробірками, 1 % спиртовий розчин йоду, 15 % розчин барію хлориду, реактив Фуше, фільтрувальний папір, лійки, чашки Петрі, дезрозчин, рукавички.

При наявності білірубіну в сечі колір змінюється в насичено-жовтий із зеленуватим відтінком.

Проба Рازیна

Грунтується на окисненні білірубіну в білівердин під дією окисника – спиртового розчину йоду. В пробірку з 2-3 мл сечі обережно нашаровуємо 1 % спиртовий розчин йоду. При наявності білірубіну в сечі на межі рідин виникає зелене кільце. Проба може бути позитивною також при вживанні антипірину і при гематурії. Проба малочутлива, тому в сумнівних випадках необхідно поставити пробу Фуше (Гаррісона).

Проба Гаррісона-Фуше

Дана проба ґрунтується на окисненні білірубіну в білівердин під впливом окиснення (реактив Фуше) з утворенням забарвлених речовин. До 10 мл сечі додаємо 5 мл 15 % хлориду барію (BaCl_2), змішуємо, фільтруємо. Викладаємо на суху чашку Петрі та наносимо на нього 1-2 краплі реактиву Фуше. При наявності в сечі білірубіну виникають синьо-зелені чи голубуваті плями.

Експрес-методи

Виявлення білірубіну проводимо згідно з інструкцією до експрес-тестів.

Наявність білірубіну в сечі спостерігаємо при жовтяницях:

- паренхіматозних (токсичній, вірусній, травматичній);
- механічній (закупорці жовчних шляхів каменем, пухлиною).

Завдання 4. Виявлення уробіліну в сечі

Виявлення уробіліну ґрунтується на прискоренні окиснення уробіліногену під дією окисника.

Проба Флоранса

Обладнання: досліджувана сеча, штатив із пробірками, ефір, концентрована сірчана кислота, концентрована хлоридна кислота, реактив Ерліха, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

У пробірку наливаємо 10 мл, сечі підкислюємо кількома краплями концентрованої сірчаної кислоти і додаємо 2-3 мл ефіру. Пробірку щільно закриваємо корком і обережно прокочуємо по столі. У другу пробірку наливаємо 1-2 мл хлоридної кислоти і на неї нашаровуємо ефірну витяжку з першої пробірки. При наявності уробіліну на границі двох рідин утворюється рожеве кільце. Його інтенсивність відмічаємо за допомогою плюсів, цифр або слів. Проба Флоранса дуже чутлива і може застосовуватися для визначення відсутності уробілінових тіл у сечі.

Проба Нейбауера

Хід визначення:

До 3-4 мл свіжовиділеної сечі додаємо кілька крапель реактиву Ерліха. Забарвлення за перші 30 сек. рідини в червоний колір вказує на підвищений вміст уробіліну. В нормі спостерігаємо пізнішу появу забарвлення або його відсутність.

Примітка. Для виготовлення реактиву Ерліха беремо 2 г парадиметиламінобензальдегіду, розчиняємо у 100 мл 20 % розчину хлоридної кислоти і перемішуємо.

Експрес-метод

Виявлення уробіліну проводимо згідно з інструкцією.

Уробілінурія спостерігається при захворюваннях печінки, гемолітичній анемії та захворюваннях кишечника. Виявлення уробіліну в сечі має важливе діагностичне значення при інфекційному гепатиті, оскільки він з'являється в переджовтушній стадії. У період загострення, коли виражена жовтяниця, ахолічний кал, уробілінурія зникає і знову з'являється в період одужання.

Уробілінурію можна виявити при ентероколіті, тривалому голодуванні, тиреотоксикозі, інфекційних захворюваннях.

Зробити висновки і оформити робочі зошити.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
7. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
8. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

Лабораторне заняття №16

Тема: Мікроскопічне дослідження осаду сечі

Мета: ознайомитись із методиками виявлення елементів неорганізованого і організованого осадів, вивчити особливості їх морфології, встановити причинно-наслідкові зв'язки між виявленими елементами та можливими патологічними станами організму людини.

Теоретичні питання:

1. Кров та її пігменти. Причини та види гематурій.
2. Гемоглобінурія, гемосидеринурія, порфіринурія, міоглобінурія. Діагностичне значення показників.
3. . Вимоги до отримання осаду та мікроскопії сечі.
4. Елементи неорганізованого осаду сечі: морфологічні ознаки, діагностичне значення їх виявленн.
5. Елементи організованого осаду сечі: морфологічні ознаки, діагностичне значення їх виявленн.
6. Орієнтовний і кількісний методи дослідження осаду сечі.
7. Сеча при деяких захворюваннях нирок і сечових шляхів.

Теоретичне обґрунтування:

Елементи неорганізованого осаду сечі

Мікроскопія осадів сечі є одним із основних компонентів аналізу сечі, особливо при діагностиці захворювань нирок і сечовивідних шляхів.

Нормальна сеча виділяється прозорою, а після нетривалого стояння на дні утворюється хмаринка, в якій є гомогенний слиз, поодинокі лейкоцити, епітелій слизової сечового міхура, а у жінок – плоский епітелій зовнішніх статевих органів. При стоянні в сечі руйнується захисний колоїд і більшою чи меншою мірою випадають осад солей.

Якщо виділена сеча мутна, то причиною можуть бути слиз, кров, гній, фосфати, бактерії.

Осади сечі поділяються на організовані та неорганізовані.

Неорганізований осад сечі складається переважно із солей:

білуватий колір – фосфати;

рожевуватий – аморфні урати;

кристалічний цегляно-червоний – сечова кислота;

кристалічно-білуватий – трипельфосфати.

Більшу достовірність дає мікроскопічне дослідження, в сумнівних випадках – хімічне.

Осади кислій сечі

Сечова кислота – кристали різної форми і величини. Найчастіше це ромбічна табличка, з якої утворюються інші форми: точильні бруски, веретена, бочечки, голчасті та списоподібні, складені в снопи, пучки, шестигранні таблички, розетки і друзи. Насичуються урохромом і пігментуються в рубіново-червоний, цеглясто-червоний чи золотисто-жовтий колір. Зрідка білого кольору, особливо при лейкозі. Легко розчиняються в лугах, нерозчинні в кислотах і при нагріванні.

У здорових людей сечова кислота може бути виявлена після сильного потовиділення при незначному вживанні рідини. При патології – сильне блювання, проноси, гарячкові стани, застійні явища, пороки (вади) серця, посилений розпад клітин (лейкози), важка ниркова недостатність, різко кисла реакція сечі. Випадання сечової кислоти без наявності уратів протягом першої години стояння сечі або у свіжій сечі свідчить про наявність солей чи каменів у нирках.



Неорганізований осад кислої сечі:
1 – кристали оксалатів; 2 – кристали сечової кислоти

Аморфні урати – це сечокислий Ca (натрій), K (калій), Ca (кальцій), Mg (магній). Колір залежить від поглинання урохрому. Це аморфні коричневі довгуваті зерна, які часто вкривають усе поле зору і заважають розглядати інші елементи осаду сечі (їх можна розчинити нагріванням).

Осади лужної сечі

Аморфні фосфати – безбарвна маса з дрібних зернят і кульок, що групуються в купки неправильної форми. Розчиняються в кислотах і не розчиняються при нагріванні. У здорових людей – при вживанні рослинної їжі та після блювоти.



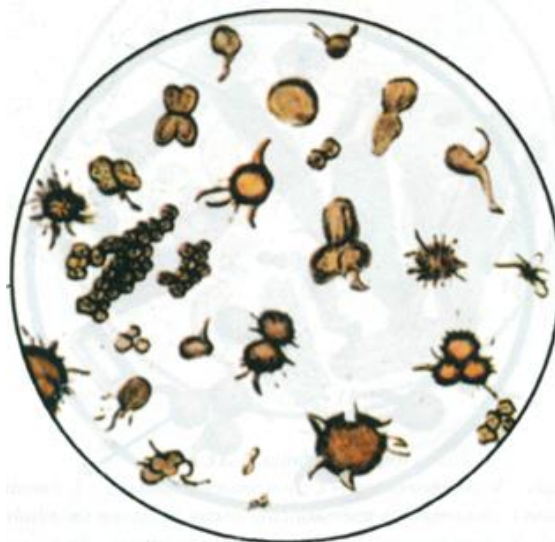
Неорганізований осад лужної сечі:
1 – трипельфосфати; 2 – кислий сечокислий амоній; 3 – вуглекисле вапно.

Трипельфосфати – безбарвні шестигранні призми (гробові кришки), рідше борозни пера, листя папороті. Випадають в осад при вживанні рослинної їжі, мінеральної води та при циститах.

Вуглекисле вапно ~ білуваті кульки у вигляді гімнастичних гір.

Осади кислої та лужної сечі

Кислий сечокислий амоній – частіше трапляється в лужній сечі. В нейтральній і кислій – у новонароджених. Кристали мають форму коричнево-жовтих куль. При нагріванні



Кристали кислого сечокислого амонію

розчиняються, а при охолодженні випадають в осад

Оксалати можуть бути в кислій і в лужній сечі у вигляді безбарвних табличок, що сильно заломлюють світло (поштові конверти). Рідше – у вигляді пісочного годинника, круглі чи овальні, іноді з ростками з радіальною посмугованістю. Розчиняються в хлоридній кислоті, нерозчинні в лугах і ацетатній кислоті, їх часто знаходять у здорових людей, після вживання їжі, багатой на щавелеву кислоту, а також у хворих на сечокислий діабет, сечокам'яну хворобу.

Нейтральні фосфати – в слабокислій і слаболужній сечі, кристалізуються у вигляді довгих блискучих клиноподібних утворень, інколи мають вигляд пластинок неправильної форми або утворюють голчасті кристали, зібрані в пучки. Легко розчинні в кислотах і нерозчинні в лугах.



Кристали нейтральних фосфатів

Карбонат кальцію – виявляють разом із фосфатами в аморфному та кристалічному вигляді. Кристали безбарвні, у вигляді концентричних куль різної величини, які складаються попарно і нагадують гімнастичні гіри або перехрещені барабанні палички. Розчиняються в кислотах з виділенням вуглекислого газу (CO_2).

Кристали патологічної сечі

Лейцин і тирозин – спостерігаються переважно разом при гострій жовтій атрофії печінки, отруєннях фосфатом, лейкозах.

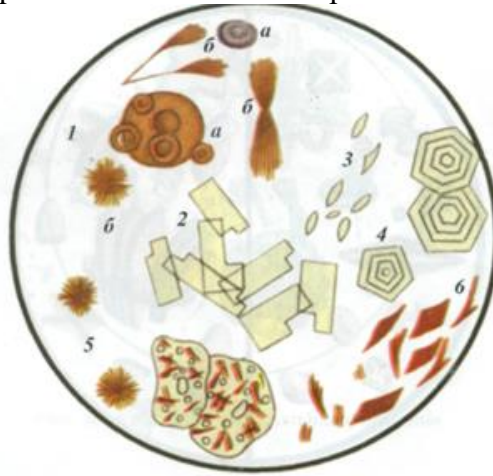
Кристали лейцину – жовтувато-бурі або зеленувато-жовті кулі різного розміру з променистою та концентричною посмугованістю, що нагадує поперечний зріз дерева.

Кристали тирозину – тонкі, блискучі жовтуваті голки, що нагадують пучки і зірки. Лейцин не розчиняється в ефірі, ацетоні та спирті. Тирозин розчинний у мінеральних кислотах і лугах.

Цистин – правильні шестигранні таблички, безбарвні. Нерозчинні у воді, алкоголі, ефірі, ацетоні, ацетатній кислоті. Розчиняються в мінеральних кислотах, аміаку, лугах. Виділяються при спадковій цистинурії.

Ксантин – безбарвні ромби, розчиняється в аміаку, лугах і хлоридній кислоті.

Холестерин – має вигляд безбарвних великих і малих табличок з обрізаними кутами і сходиноподібними виступами, які розташовуються окремо або нашаровуються одна на одну. В кислотах і лугах холестерин нерозчинний, легко розчиняється у хлороформі, ефірі та гарячому спирті, хлоридній кислоті. Зустрічається при амілоїдній і ліпоїдній дистрофії нирок, ехінококозі та новоутворах сечових і статевих органів.



Кристали солей, які зустрічаються в патологічній сечі:
1 – лейцин (а), тирозин (б); 2 – холестерин; 3 – ксантин;
4 – цистин; 5 – білірубін; 6 – гематойдин

Жир має вигляд сильно заломлюючих світлих крапельок і зернят з різко визначеними темними краями. Вони можуть бути в осаді окремо або нашаровуватися на елементи сечі. Розчиняється в хлороформі, ефірі.

Ліпіди – морфологічно ідентичні з жирами, але подвійно заломлюють світло. Виділяються з сечею при нефротичному синдромі та інших захворюваннях.

Гематойдин – похідне гемосидерину, має вигляд ромбічних кристалів або голок забарвлення від золотисто-жовтого до коричнево-оранжевого.

Гемосидерин – зустрічається в сечі у вигляді аморфних мас, які осаджуються на всіх елементах сечі, надаючи їм буруватого відтінку.

Білірубін – має вигляд голчастих кристалів жовтувато-коричневого кольору або аморфних пігментних зерен (рис. 32).

Елементи організованого осаду сечі

Основними елементами організованого осаду сечі є еритроцити, лейкоцити, епітелій, циліндри, уретральні нитки, фібрин.

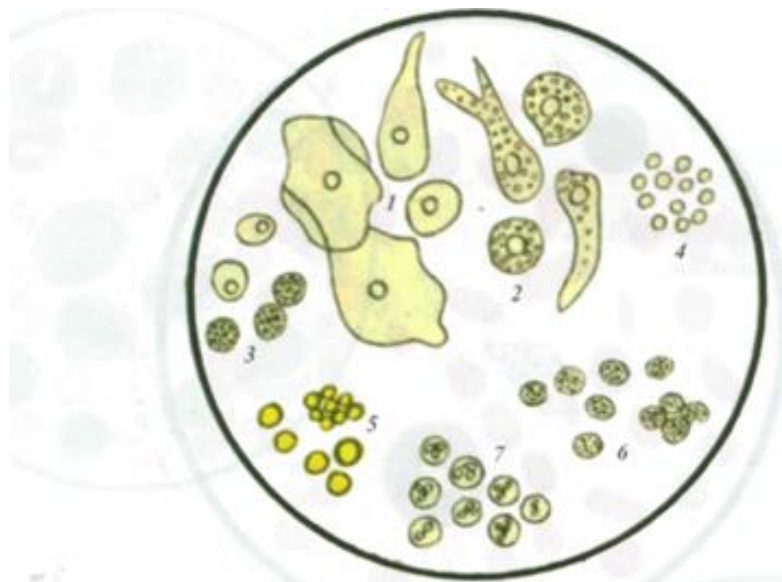
Еритроцити змінюють колір і форму залежно від реакції сечі, її концентрації та тривалості перебування еритроцитів. У слаболужній сечі вони досить довго залишаються незмінними і мають форму круглих дисків жовтувато-зеленуватого кольору.

У слаболужній розбавленій сечі – блідо-жовті або рожеві (більшого розміру). Довше перебування еритроцитів у сечі веде до їх вилущення. Вони набувають вигляду двоконтурних безбарвних кілець. Поява еритроцитів у сечі має важливе значення для діагностики захворювань нирок.

Поодинокі незмінні еритроцити виділяються із сечею при свербінні статевих органів, внаслідок травми сечовивідних шляхів кристалами солей, або у жінок із піхви – в післяменструальний період.

Наявність еритроцитів у сечі називається гематурією і свідчить про більшу чи меншу кровотечу. Мікрогематурія характеризується невеликою кількістю еритроцитів, що виявляються мікроскопічне (тоді колір сечі не змінений). При макрогематурії сеча червонувата або бура.

Еритроцити з'являються в сечі при гломерулонефритах, нирковій недостатності, сечокам'яній хворобі, туберкульозі, травмах, циститі, пухлинах.



Клітинні елементи в осаді сечі:

1 – плоский епітелій; 2 – перехідний епітелій; 3 – епітелій нирок;
4 – еритроцити змінені; 5 – еритроцити незмінені;
6 – лейкоцити в лужному середовищі; 7 – лейкоцити в кислому середовищі

1 – лейцин (а), тирозин (б); 2 – холестерин; 3 – ксантин;
4 – цистин; 5 – білірубін; 6 – гематойдин

Лейкоцити – це найчастіше нейтрофіли; вони круглі, дещо більші від еритроцитів. Залежно від реакції та кількості сечі мають різний вигляд: у слабокислій нейтрофіли зернисті, круглі, безбарвні, їх ядро посегментоване. В кислій сечі зморщуються і стають склоподібними, а при туберкульозі нирок можуть мати цвяхоподібну форму.

У лужній сечі нейтрофіли втрачають зернистість і контури, стають дещо більші. В різко лужній – руйнуються, утворюючи тягучий слизистий осад. При деяких патологічних станах можуть жироперероджуватись.

Окремі лейкоцити (0-1 у чоловіків, 2-4 в полі зору у жінок) зустрічаються в нормі. Збільшення їх кількості свідчить про запальні процеси в нирках та в сечовивідній системі. Розташовуються окремо, групами різного розміру (на все поле зору) і скупченнями.

Еозинофіли – зустрічаються в сечі при хронічних пієлонефритах різного характеру, а також при еозинофільних (алергічних) пієлонефритах і пієлоциститах. Їх зернистість значно крупніша і грубіша, ніж у нейтрофілів.

Лімфоцити – більші від еритроцитів, білуваті, їх можна виявити в сечі на пізніх стадіях хронічного лімфолейкозу внаслідок лейкозної інфільтрації нирок, а також при захворюваннях, пов'язаних з імунними факторами (гломерулонефритами).

Епітеліоцити – в осаді нормальної сечі трапляються поодинокі зі слизової сечового міхура і плоскі з епітелію вагіни. При патологічних станах їх злушення відбувається під дією різних факторів (дія токсинів, зміна рН), що приводить до зміни їх морфології, і вони рідко подібні на ті ж клітини в нормі. Практично епітелій можна диференціювати на основі їх форми та розміру з урахуванням різних дегенеративних змін, наявності інших формених елементів.

Плоский епітелій у жінок – зі слизової вагіни і зовнішніх статевих органів. Це широкі й округлі, іноді полігональні клітини, різко контуровані, світлі, прозорі або більш тьмяні з одним ядром, розміщеним центрально. Часто розташовані групами і пластами.

Епітелій сечовивідного каналу – у чоловіків – перехідний у передній частині сечовивідного каналу перед простатою, потім переходить у циліндричний. При хронічному уретриті у чоловіків епітеліоцити в сечі мають вигляд склоподібних округлої чи овальної форми клітин середнього розміру, світлих, часто непрозорих, незернистих, білуватих, їх ядра

розташовані в центрі, але погано проглядаються. Зустрічаються окремо, часто групами в слизу або уретральних нитках разом із лейкоцитами.

Епітелій сечового міхура, сечоводів і мисок – перехідний двошаровий з поверхневим і базальним шаром. Поверхневий шар – великі, злегка сплюснуті клітини, базальний – поліморфні клітини середнього розміру з дрібними ядрами округлої чи овальної форми. Ядро клітин перехідного епітелію пухирчасте, невеликих розмірів, а цитоплазма забарвлена сечовими пігментами в злегка жовтуватий колір і містить зерна.

Епітелій сечового міхура – великі полігональні клітини з одним або кількома ядрами та зернистою цитоплазмою, або поліморфні середнього розміру витягнутої, округлої чи овальної форми, або округлі з пухирчастим ядром і зернистою цитоплазмою, зустрічаються окремо, групами, скупченнями. Багато при гострому катаральному та хронічному циститах, при інфекційних захворюваннях або після прийому деяких лікарських препаратів.

Епітелій ниркової миски – веретеноподібні, грушоподібні, хвостаті клітини, часто розташовуються черепицеподібно – при катаральному пієліті. Інколи їх важко відрізнити від епітелію сечового міхура, тому їх записують у бланк разом.

Епітелій сечоводів – клітини вужчі й іноді значно подовжені.

Епітелій нирок – кубічний епітелій ниркових каналців. Клітини овальної, округлої форми, рідше полігональні, з ядром, що нагадує змінений еритроцит. Цитоплазма жовтувата з дрібними зернами. Клітини часто з жировою і білковою дистрофією (зерна або крапельки жиру). При цьому ядро маленьке або зовсім непомітне. При жировій дистрофії клітини збільшені, можлива вакуолізація. Можуть зустрічатися у вигляді окремих клітин, епітеліальних циліндрів. З'являються у сечі при гострих і хронічних захворюваннях нирок поряд із циліндрами та білком.

Епітелій простати приміщується до сечі (особливо в чоловіків у похилому віці). В нормі клітини – безбарвні або білуваті, циліндричні з великим круглим або овальним ядром, при патології – з ознаками жирової дистрофії. Разом з цими клітинами у чоловіків зустрічаються інші елементи соку простати – зерна ліпідів, амілоїдні тільця, сперматозоїди.

Епітелій слизової матки – циліндричні дрібні безбарвні клітини, часто в стані жирової дистрофії. У сечі зустрічаються в грудочках слизу або гною при запальних процесах, у період менструації та після неї.

Циліндри – зліпки каналців нефронів циліндричної форми, прямі та звивисті утвори різної ширини і довжини. На одному кінці заокруглені, інший обірваний. У кислій сечі досить довго зберігаються, у лужній швидко руйнуються.

Наявність циліндрів – перша ознака реакції нирок на загальну інфекцію, інтоксикацію чи зміни в самих нирках. Найкраще циліндри виявляються у ранній сечі.

Гіалінові циліндри – білкові зліпки ниркових каналців, однорідні, бліді, майже прозорі. Спостерігаються при всіх захворюваннях нирок, але їх кількість не залежить від важкості процесу. Гіалінові циліндри можуть бути вкриті аморфними уратами і фосфатами, клітинами епітелію нирок, еритроцитами і лейкоцитами.

Зернисті циліндри – утворюються із зернистих мас зруйнованих клітин. Ці циліндри короткі, з поперечними перехватами. Зустрічаються при всіх гострих і хронічних захворюваннях нирок.

Епітеліальні циліндри – з епітелію каналців нефронів. Іноді епітеліоцити відкладаються на поверхні гіалінових циліндрів. Зустрічаються при різних захворюваннях нирок.

Буро-пігментовані циліндри – зернисті й епітеліальні, пігментовані гемосидерином. Зустрічаються при гломерулонефритах.

Кров'яні циліндри – з еритроцитів чи кров'яних згустків, при гломерулонефритах.

Лейкоцитарні циліндри – складаються з лейкоцитів, утворюються при гнійному процесі в нирках – пієлонефриті.

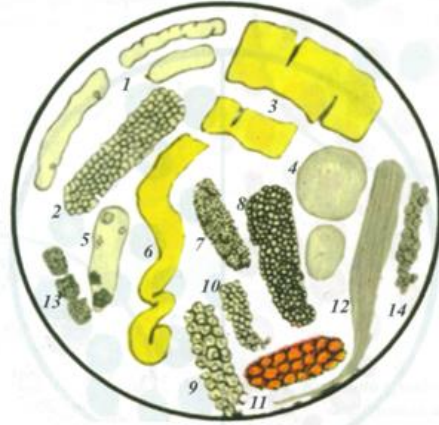
Жирно-зернисті циліндри – густо вкриті жировими краплями, зустрічаються при нефрозі, ліпоїдному нефрозі.

Воскоподібні циліндри – ширші від гіалінових, матові, блідо-жовті, однорідні, широкі, чітко контуровані, часто мають щілини та тріщини. Свідчать про важке ураження нирок (амілоїдоз).

Гіаліново-крапельні циліндри - складаються з матових білуватих крапель гіаліну (нагадують сірий каракуль), зустрічаються при глибоких процесах у нирках (хронічний гломерулонефрит, нефроз).

Вакуолізовані циліндри – епітеліальні циліндри в стадії вакуолізації – при важких ураженнях нирок (особливо при гематурійній формі хронічного гломерулонефриту).

Циліндроїди – довгі, ніжні, бліді стрічкоподібні утвори з поздовжньою посмугованістю, на кінцях розщеплені, складаються зі слизу (рис. 31).



Циліндри в осаді сечі:

- 1 – гіалінові; 2 – гіаліново-крапельні; 3 – воскоподібні; 4 – гіалінові шари;
5 – гіаліновий циліндр, на поверхні якого знаходяться еритроцит, лейкоцит і епітелій нирок;
6 – гіаліновий, забарвлений у жовтий колір; 7 – зернистий; 8 – жирозернистий;
9 – епітеліальний; 10 – еритроцитарний; 11 – епітеліальний буропігментований;
12 – циліндроїд; 13 – бактеріальний; 14 – лейкоцитарний.

Фібрин – з'являється у сечі на 2-3 день після макрогематурії. В осаді змінені фрагментовані еритроцити.

Еластичні волокна – разом із гноєм чи кров'ю при некротичних процесах у дрібних, тканинних фрагментах, при новоутвореннях, туберкульозі, абсцесах сечостатевих органів.

Елементи новоутворень – при раку сечового міхура, матки і шийки матки, статевого члена, при раку нирок, пухлині Вільямса зустрічаються разом з еластичними волокнами і кристалами гематоїдину.

Гігантські клітини Пирогова-Лангханса – округлі клітини з великою кількістю ядер еліпсоїдної форми, розташовані по периферії цитоплазми. Зустрічаються при туберкульозі нирок разом із сирнистим некрозом.

Уретральні нитки – білуваті нитки від кількох міліметрів до кількох сантиметрів, складаються зі слизу, лейкоцитів, епітелію сечовипускного каналу. Можуть бути слизистими чи слизисто-гнійними при хронічному уретриті. Елементи сперми і секрету простати в нормі та при захворюваннях статевих органів: амілоїдні тільця, зерна ліпідів, сперматозоїди, епітелій простати.

Завдання 1. Виявлення неорганізованого осаду

Обладнання: сеча для дослідження, штатив із пробірками, центрифуга, предметні та покривні скельця, мікроскопи, центрифужні пробірки, скляні трубки, пастерівські піпетки, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Після відстоювання сечі протягом 1-2 год. піпеткою збираємо осад із дна посудини і вносимо його в центрифужну пробірку, залишаючи від краю 1-2 см. Центрифужні пробірки заздалегідь нумеруємо, а піпетку, якою збирають осад, кожен раз промиваємо водою, щоб не перенести елементи одного осаду в інший. Пробірки з осадом зрівноважуємо, ставимо у центрифугу в протилежні гнізда і центрифугуємо 5-7 хв. при 1500 об/хв. Після зупинки центрифуги пробірки виймаємо і швидким рухом зливаємо надосадову сечу. Старанно перемішуємо і наносимо за допомогою пастерівської піпетки невелику краплю осаду на

предметне скло, зверху кладемо покривне скло. Крапля осаду не повинна виходити за межі покривного скла.

Якщо осад складається з кількох шарів, то спершу готуємо препарат як описано, а потім сечу ще раз центрифугуємо і виготовляємо препарати з різних шарів осаду. Якщо осаду на око не видно, то препарат готуємо як звичайно. При значному осаді з уратів, фосфатів і еритроцитів спершу готуємо нативний препарат, а потім осад розчиняємо, тому що згадані компоненти заважають детальному вивченню осаду сечі.

Розчинення уратів: до осаду доливаємо 10 мл селену (5 г бури і 5 г борної кислоти розчиняємо в 100 мл гарячої дистильованої води й охолоджуємо). Вміст пробірки перемішуємо. Осад розчиняється остаточно. Урати можна розчинити нагріванням, але вони випадають в осад при охолодженні. Фосфати розчиняємо в 10% розчині хлоридної кислоти, еритроцити – дистильованою водою. Після розчинення осадів знову центрифугуємо і виготовляємо ще один нативний препарат.

Нативний препарат поміщаємо через 3-5 хв. після його виготовлення на предметний столик мікроскопа. Розглядаємо при малому (окуляр 7х, об'єктив 8х), а потім при великому збільшенні (окуляр 7х, об'єктив 40х), при опущеному конденсорі. Щоб не проглядати одні й ті ж елементи, рекомендується мікроскопувати не менше 15-30 полів зору.

При малому збільшенні проводимо загальний перегляд препарату.

При великому збільшенні деталізуємо окремі елементи осаду, приблизно підраховуємо кількість лейкоцитів, еритроцитів, циліндрів, клітин ниркового та перехідного епітелію, елементів неорганізованого осаду сечі тощо в полі зору.

Результати дослідження записуємо – «у невеликій кількості», «багато».

Замалювати у робочі зошити елементи неорганізованого осаду та зробити відповідні підписи.

Завдання 2. Виявлення організованого осаду

Обладнання: сеча для дослідження, штатив із пробірками, центрифуга, предметні та покривні скельця, мікроскопи, центрифужні пробірки, скляні трубки, пастерівські піпетки, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Розглянути під мікроскопом препарати осаду сечі, виявити елементи організованого осаду, замалювати їх та зробити відповідні підписи.

Завдання 3. Кількісні методи дослідження сечі

Осади сечі досліджуються орієнтовними та кількісними методами.

Для діагностики стертих і прихованих форм нефриту, пієліту, пієлонефриту, особливо коли кількість формених елементів незначна (в межах 10-15 лейкоцитів), використовують кількісні методи дослідження осаду сечі. Для детальнішої діагностики застосовуються метод Аддіса-Каковського, яким визначають кількість елементів у сечі, виділених за добу, та метод Амбурже, яким визначають кількість елементів у сечі, виділених за 1 хв. Обидва методи незручні, бо вимагають точного збирання і врахування об'єму сечі.

Через це у клініко-діагностичній лабораторії використовують метод Нечипоренка.

При пієлонефритах і запаленнях сечовивідних шляхів зростає загальна кількість формених елементів, але з переважанням кількості лейкоцитів над еритроцитами кількість циліндрів не збільшується.

При гломерулонефритах еритроцити переважають над лейкоцитами, збільшується кількість циліндрів.

Обладнання: сеча для дослідження, центрифуга, мірні центрифужні пробірки, піпетки з грушами, камери Горяєва, мікроскопи, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Для дослідження беремо середню порцію ранішньої сечі.

У лабораторії визначаємо реакцію сечі (при лужній сечі елементи осаду можуть частково руйнуватися). Старанно перемішуємо сечу, набираємо в мірну центрифужну пробірку 10 мл і центрифугуємо 5 хв. при 1500 об/хв. Після центрифугування відбираємо піпеткою з грушею надосадову сечу, залишаючи 1мл/1000 мкл. Залишену сечу з осадом старанно перемішуємо і заповнюємо камеру Горяєва. Через 3-5 хв. проводимо підрахунок

лейкоцитів. Підрахунок лейкоцитів, еритроцитів і циліндрів проводимо з окуляром 7х, об'єктивом 40х при опущеному конденсорі у 100 великих нерозграфлених квадратах сітки.

Розрахунок проводимо за формулою:

$$x = \frac{A \cdot 4000 \cdot 10^6}{1600 \cdot 10} = \frac{A}{4} \cdot 10^6,$$

де x – число формених елементів в 1л сечі;

A – число формених елементів у 100 великих квадратах сітки камери Горяєва;

4000 – коефіцієнт переведення об'єму одного малого квадрата (1/4000 мкл) в об'єм, рівний 1 мкл;

1600 – число малих квадратів у 100 великих;

10 – відношення об'єму центрифугованої сечі до об'єму надосадової рідини разом з осадом;

10^6 – кількість мікролітрів в 1 літрі.

Якщо у сечі є велика кількість формених елементів, їх важко порахувати в камері, тоді осад розводимо у 2-4 рази. Це розведення враховуємо при остаточному розрахунку результатів дослідження.

У здорової людини (за методом Нечипоренка) в 1 л сечі може бути лейкоцитів не більше як $4 \cdot 10^6$, еритроцитів $1 \cdot 10^6$, циліндрів 0-1 на 4 камери підрахунку. При оцінці одержаних результатів слід враховувати таку тенденцію:

а) при пієлонефритах і запаленнях сечовивідних шляхів зростає загальна кількість формених елементів, але з переважанням лейкоцитів над еритроцитами кількість циліндрів не збільшується;

б) при гломерулонефритах еритроцити переважають над лейкоцитами, збільшується кількість циліндрів.

Зробіть висновки, оформіть робочі зошити.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
7. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
8. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
9. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
10. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
11. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.

Лабораторне заняття №17

Тема: Модульна контрольна робота № 2

Питання до контрольної роботи:

1. Основні поняття про будову нирки. Функції нирок.
2. Фільтраційно-реабсорційно-секреторна теорія сечоутворення.
3. Поняття про порогові та непорогові речовини. Кліренс.
4. Фізичні властивості сечі в нормі та їх зміни при патології.
5. Визначення фізичних властивостей та реакції сечі.
6. Методи дослідження функціонального стану нирок: проба Зимницького. Вимоги до збирання сечі на дослідження. Діагностична цінність дослідження.
7. Хімічне дослідження сечі: протеїнурія та глюкозурія. Поняття про патологічні складові сечі. Протеїнурія, причини та види.
8. Регуляція вуглеводного обміну. Зв'язок гіперглікемії та глюкозурії. Глюкозурія. Причини та види.
9. Якісне визначення білка в сечі
10. Кількісне визначення білка в сечі
11. Якісне визначення глюкози в сечі
12. Кількісне визначення глюкози в сечі
13. Зв'язок вуглеводного обміну з жировим. Кетонемія та кетонурія.
14. Хімічне дослідження сечі. Пігменти сечі. Утворення жовчних пігментів. Фізіологія пігментового обміну та його порушення. Діагностичне значення визначення рівня жовчних пігментів для диференціації жовтяниць.
15. Виявлення кетонів у сечі
16. Виявлення гемоглобіну у сечі
17. Виявлення білірубину у сечі. Виявлення уробіліну у сечі. ров та її пігменти.
18. Причини та види гематурій. Гемоглобінурія, гемосидеринурія, порфіринурія, міоглобінурія. Діагностичне значення показників.
19. Мікроскопічне дослідження сечі. Вимоги до отримання осаду та мікроскопії сечі. Елементи неорганізованого осаду сечі: морфологічні ознаки, діагностичне значення їх виявлення.
20. Мікроскопічне дослідження сечі. Елементи організованого осаду сечі: морфологічні ознаки, діагностичне значення їх виявлення. Орієнтовний і кількісний методи дослідження осаду сечі. Сеча при деяких захворюваннях нирок і сечових шляхів.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.

6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Лея Ю. Я. Оцінки клінічних результатів крові та сечі / Ю. Я. Лея. – К.: Медпрес-інформ, 2002. – 156 с.
9. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник / В.С. Камышников. – Минск, 2003. – 495 с.
10. Камышников В. С. Справочное пособие по лабораторным методам исследования / В.С. Камышников. – М.: Медицина, 2001. – 912 с.
11. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишникова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
12. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
13. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
14. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
15. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С. Манастирська. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 168 с.
16. Руководство по клинической лабораторной диагностике: Учеб. пособие. – Ч. 1-2. / Под ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища шк., 1991. – 615 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №18

Тема: Дослідження функції органів травлення. дослідження шлункового вмісту

Мета: з'ясувати особливості будови травного каналу, вивчити склад шлункового соку, методи дослідження секреції шлунка, фізичні властивості шлункового соку.

Теоретичні питання:

1. Основні відомості про будову та функції травного каналу.
2. Будова та функції шлунка. Склад шлункового соку в нормі.
3. Методи дослідження секреції шлунка. Зондові методи дослідження секреції шлунка. Поняття про базальну та стимульовану секрецію.
4. Фракційний метод отримання шлункового соку із застосуванням ентеральних, парентеральних (субмаксимальних і максимальних) подразників.
5. Фізичні властивості шлункового соку: об'єм, колір, запах, наявність слизу та домішок.
6. Хімічне дослідження шлункового соку.
7. Мікроскопічне дослідження шлункового соку натще: елементи слизової оболонки шлунка, залишки їжі та мікроорганізми.
8. Позашлункова рН-метрія.
9. Внутрішньошлункова рН-метрія.
10. Беззондові методи дослідження функціонального стану шлунка.

Теоретичне обґрунтування:

Всі методи дослідження секреторної функції шлунка діляться на зондові та беззондові. Дослідження за допомогою зонда є основним методом дослідження секреції шлунка в лабораторних умовах. Найбільш інформативним є метод інтрагастральної рН-

метрії та фракційний метод одержання шлункового вмісту із застосуванням субмаксимальних і максимальних подразників для визначення ахілії.

Лабораторному дослідженню підлягає 9 порцій шлункового вмісту: порція, одержана натще, згодом 4 порції, одержані протягом кожних 15 хвилин першої години зондування, базальна секреція і 4 порції, одержані протягом другої години зондування після введення стимулятора, стимульована або максимальна секреція.

Завдання 1. Визначення фізичних властивостей шлункового вмісту

Обладнання: шлунковий вміст для дослідження, мірний циліндр, штатив з бюреткою для титрування, 0,5 % спиртовий розчин диметиламідозобензолу, 1% розчин натрію алізаринсульфоновокислого, 0,1 нормальний NaOH, хімічні склянки, лійка, фільтри (марлеві), піпетки, 1 % розчин фенолу, 10% розчин хлоридної кислоти, термостат, нормограми, дезрозчин, 10% розчин хлориду заліза, рукавички.

Хід визначення:

У кожній порції шлункового вмісту визначаємо об'єм, колір, запах, домішки.

Об'єм визначаємо мірним циліндром, решту показників – органолептично.

На об'єм шлункового вмісту можуть впливати домішки залишків пробного сніданку, слини, жовчі, секрету підшлункової залози. При значному збільшенні об'єму порції натще в першу чергу можна думати про порушення евакуаторної функції шлунка. Слід відзначити, що об'єм шлункового вмісту збільшується також при додаванні у їжу спецій, при емоційно-психічному збудженні, після прийому неконцентрованих розчинів алкоголю.

Колір шлункового вмісту в нормі злегка сіруватий. При дуоденогастральному рефлюксі, що супроводжується ахілією чи зниженою кислотністю, колір жовтий, а при підвищеній кислотності – зелений. У разі внутрішньошлункової кровотечі та відсутності вільної хлоридної кислоти шлунковий вміст червоного кольору, а при наявності хлоридної кислоти – коричневого кольору, кольору кавової гущі – при раку шлунка.

Запах шлункового вмісту в нормі злегка кислуватий. При зниженні рівня хлоридної кислоти чи її відсутності й утворенні продуктів бродіння шлунковий вміст набуває запаху органічних кислот (масляної, молочної чи ацетатної). Гнилісний запах свідчить про розпад білка або пухлини.

Домішки – слиз знаходять у нормальному шлунковому вмісті в помірній кількості. Збільшення спостерігається при захворюваннях з пониженою кислотністю, ахілією чи гіпертрофією слизової оболонки. При атрофічному гастриті або при підвищеній кислотності кількість слизу знижена або відсутня. При патології можуть бути домішки крові, жовчі, їжі, тканинні грудки.

Завдання 2. Хімічне дослідження шлункового вмісту

При дослідженні кислотоутворюючої функції шлунка визначаємо загальну кислотність, вільну хлоридну кислоту, зв'язану хлоридну кислоту (ту, що вступила в реакцію з гастромукопротеїном) і кислотний залишок, який складається з органічних кислот (масляної, молочної, ацетатної) та кислореагуючих фосфатів.

Для кількісного визначення кислотності використовуємо титраційні методи Міхаеліса і Тепфера, внутрішньошлункову рН-метрію та ін.

Для титрування використовуємо індикатори, які змінюють свій колір залежно від рН. Для визначення загальної кислотності шлункового вмісту застосовуємо індикатор фенолфталеїн, який у кислому середовищі безбарвний, а в лужному (при рН 8,2-8,5) набирає малинового кольору. Індикатор диметилловий жовтий (диметиламідозобензол) у присутності вільної хлоридної кислоти при рН 2,4-4,0 стає червоним, а при її відсутності – жовтим. Індикатор алізариновий червоний (алізаринсульфоновокислий натрій) у кислому середовищі набуває жовтого кольору, а при рН 4,3-6,3 – фіолетового.

Якщо диметилловий жовтий при додаванні до шлункового вмісту набуває червоного чи оранжевого кольору, то титрують за методом Міхаеліса, а якщо жовтого кольору – то за методом Тепфера.

При титруванні цими методами зміну кольорів можна трактувати помилково, що позначається на результатах дослідження. Щоб запобігти помилкам, використовуємо контрольне дослідження рН шлункового вмісту. Таким чином, контрольна рН-метрія

включає об'єктивну оцінку зміни забарвлення шлункового вмісту і цим збільшує точність дослідження. Крім цього, за допомогою рН-метра можна визначити темп секреції Н-іонів. Темп стимульованої секреції у здорових людей коливається в межах від 5 до 20 ммоль/год, а для базальної секреції – менше (приблизно в 7,7 раза). При хронічному гастриті з атрофією залоз шлунка темп стимульованої секреції не перевищує 2 ммоль/год, а при кишковій метаплазії слизової оболонки шлунка він може бути не менше 0,01 ммоль/год.

Завдання 3. Визначення кислотності за методом Міхаеліса

Хід визначення:

Шлунковий вміст титруємо за методом Міхаеліса. Відмірюємо центрифужною пробіркою 5 або 10 мл фільтрату, виливаємо у хімічну склянку, додаємо 1-2 краплі фенолфталеїну і 1-2 краплі розчину диметилового жовтого. В бюретку титрувальної установки наливаємо розчин лугу і починаємо титрувати. При наявності у шлунковому вмісті вільної хлоридної кислоти рідина забарвлюється в червоний колір, тоді її титруємо за методом Міхаеліса. Відмічаємо початковий рівень NaOH і титруємо:

- а) до появи рожево-жовтого кольору (мітка 1);
- б) до появи лимонно-жовтого кольору (мітка 2);
- в) до появи стійкого малинового кольору (мітка 3).

Вираховуємо об'єм лугу, який витратили на титрування до кожної мітки.

За 1 міткою (індикатор диметиламідозобензол) визначаємо вільну хлоридну кислоту: об'єм лугу, який витратили, множимо на 20 (якщо для титрування брали 5 мл шлункового вмісту) або на 10 (якщо для титрування брали 10 мл шлункового вмісту), оскільки перерахунок проводимо на 100 мл шлункового вмісту.

За 3 міткою (індикатор фенолфталеїн) визначаємо загальну кислотність, перемноживши аналогічно.

Загальну хлоридну кислоту – визначаємо, додаючи другу мітку до третьої, ділимо на два і множимо на 10 або 20.

Зв'язану хлоридну кислоту визначаємо, віднявши від загальної хлоридної кислоти вільну хлоридну кислоту. Кислотний залишок знаходимо, віднявши від загальної кислотності загальну хлоридну кислоту.

Приклад розрахунків:

Для титрування беремо 10 мл шлункового соку. В бюретці 0,1н розчин лугу на поділці «0»:

- при появі рожево-жовтого кольору рівень лугу на поділці 2,5 (1 мітка);
- при появі лимонно-жовтого кольору на поділці 3,5 (2 мітка);
- при появі стійкого рожевого кольору на поділці 5,5 (3 мітка).

Для титрування беремо 10 мл шлункового вмісту. В бюретці 0,1 н розчин лугу на поділці "О":

Вільна хлоридна кислота: $2,5 \cdot 10 = 25 \text{ ммоль / л.}$

Загальна хлоридна кислота: $\frac{3,5+5,5}{2} \cdot 10 = 45 \text{ ммоль / л.}$

Зв'язана хлоридна кислота: $45 - 25 = 20 \text{ ммоль / л.}$

Загальна кислотність: $5,5 \cdot 10 = 55 \text{ ммоль / л.}$

Кислотний залишок: $55 - 45 = 10 \text{ ммоль / л.}$

Завдання 3. Визначення кислотності за методом Тепфера

Хід визначення:

Титрування шлункового вмісту за Тепфером проводимо послідовно у двох скляночках. Для цього в кожну з них відмірюємо по 5 або по 10 мл профільтрованого шлункового вмісту. До першої порції додаємо 1-2 краплі фенолфталеїну та 1-2 краплі диметиламідозобензолу, до другої – 1-2 краплі алізаринсульфоновокислого натрію.

У першій скляночці титруємо до появи рожево-жовтого кольору (1 мітка), далі, пропускаючи лимонно-жовтий колір, до стійкого малинового кольору (2 мітка).

У другій скляночці титруємо відразу до появи сіро-фіолетового кольору (3 мітка).

За даними титрування першої порції вираховуємо вільну хлоридну кислоту (па 1 мітці), загальну кислотність (по 2 мітці).

Різниця між 3 і 2 мітками, помножена відповідно на 20 або на 10, – це кислотореагуючі валентності, крім зв'язаної. Щоб вирахувати зв'язану хлоридну кислоту, треба від загальної кислотності відняти всі кислотореагуючі валентності. Якщо від загальної кислотності відняти вільну і зв'язану хлоридну кислоту, то залишиться кислотний залишок.

Приклад розрахунків:

Для титрування беремо по 5 мл шлункового вмісту в дві скляночки:

- при появі рожево-жовтого кольору рівень 0,1 н розчину луку на мітці 2,0 мл (1 мітка);
- при появі малинового кольору на мітці 3,0 мл (2 мітка);
- при появі сіро-фіолетового кольору в другій порції шлункового вмісту на мітці 5,2 (3 мітка).

Вільна хлоридна кислота: $2,0 \cdot 20 = 40$ ммоль/л

Загальна кислотність: $3,0 \cdot 20 = 60$ ммоль/л

Всі регулюючі валентності, крім зв'язаної: $(5,2 - 3,0) \cdot 20 = 44$ ммоль/л

Зв'язана хлоридна кислота: $60 - 44 = 16$ ммоль/л

Кислотний залишок: $60 - (40 + 16) = 4$ ммоль/л.

Таблиця

Нормальні показники секреторної діяльності шлунка

Показник	Натще	Базальна секреція	Послідовна секреція на подразник		
			харчовий	гістамін (субмакс.)	гістамін (макс.)
Об'єм, мл	до 50	50–100	50–100	110–140	150–200
Загальна кислотність, ммоль/л	до 40	40–50	40–60	90–100	100–200
Вільна хлоридна кислота, ммоль/л	до 20	20–40	80–40	65–85	80–100
Зв'язана хлоридна кислота, ммоль/л	до 10	10–15	10–15	15–20	14–16
Дебіт вільної хлоридної кислоти, мекв	–	1,0–4,0	1,0–4,5	5,6–12	16,24
Пепсин за Туголуковим, г/л	до 0,2	0,3–0,45	0,2–0,45	0,5–0,63	0,4–3,6

Завдання 4. Визначення дебіту хлоридної кислоти

Для об'єктивнішої оцінки кислотоутворюючої функції шлунка запроваджено поняття дебіту хлоридної кислоти, яке характеризує абсолютну її кількість, виділену за одиницю часу (1 год), і виражене в мілімолях. При вирахуванні дебіт-часу хлоридної кислоти користуємося такою формулою:

$$D_{\text{ч}} = V \cdot E \cdot 0,001 + V \cdot E \cdot 0,001 + V \cdot E \cdot 0,001 + V \cdot E \cdot 0,001,$$

де $D_{\text{ч}}$ – дебіт-час хлоридної кислоти, ммоль;

V – об'єм порції шлункового вмісту, мл;

E – концентрація хлоридної кислоти, титриметричних одиниць. 0,001 – кількість хлоридної кислоти в 1 мл шлункового вмісту при її концентрації, яка дорівнює 1 титриметричній одиниці.

Оскільки величина дебіт-часу залежить від годинного напруження секреції, то слід намагатися найповніше відбирати шлунковий вміст при зондуванні.

У лабораторній практиці для полегшення визначення дебіт-часу користуються номограмою.

У нормі дебіт-час вільної хлоридної кислоти ВАО (базальна секреція) становить 1-4 ммоль/год, SAO – 6,5-12 ммоль/год, MAO (максимальна секреція) – 16-24 ммоль/год.

Величина ВАО у осіб з анацидним і гіпоацидним гастритом, раком шлунка становить 0-1 ммоль/год, у здорових людей і осіб з нормацидним гастритом – 1-4 ммоль/год, з виразкою шлунка або дванадцятипалої кишки – 4-5 ммоль/год, для виразки дванадцятипалої кишки характерна ВАО більше 5 ммоль/год, при синдромі Золінгера-Еллісона – 10-20 ммоль/год.

MAO = 0 – істинна ахлоргідрія спостерігається при атрофічному гастриті, раку шлунка. Від 1 до 18 ммоль/год- вказує на недостатню кислотну продукцію при гастриті чи раку шлунка; 18-20 ммоль/год – у здорових людей або в осіб з нормоцидним гастритом; 20-26 – при підвищеній кислотній продукції.

У здорових людей ВАО: MAO становить 1:6.

Вираховування дебіт-часу за формулою. Це складний процес, тому користуємося номограмою Калініченка (рис.).

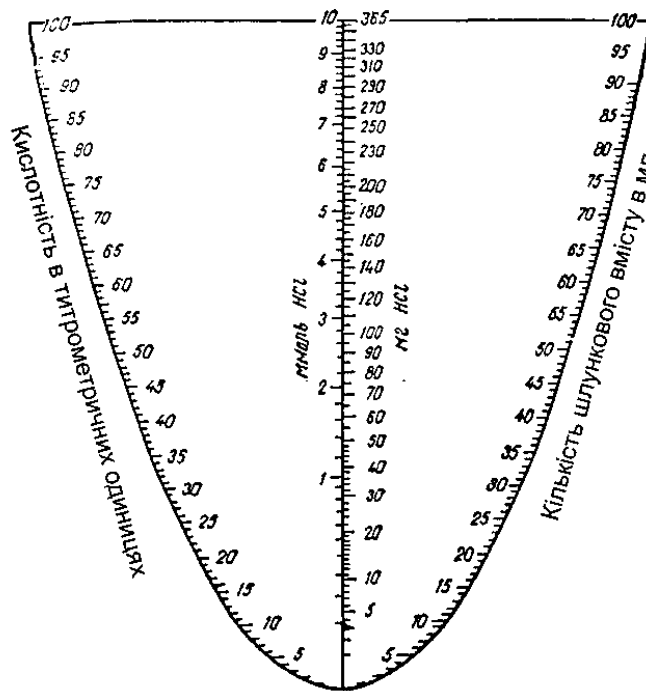


Рис. 20. Номограма для визначення дебіту хлоридної кислоти за показниками кількості та кислотності шлункового вмісту

З'єднуємо лінійкою цифри, що відповідають об'ємові та кислотності шлункового вмісту на протилежних гілках кривої. У місці перетину лінійки з вертикальною віссю знаходимо значення дебіту хлоридної кислоти.

Завдання 5. Визначення молочної кислоти за методом Уффельмана

Крім хлоридної кислоти, у шлунковому вмісті можуть бути інші кислоти, із яких найбільше значення має молочна. Вона з'являється в результаті порушення обміну речовин при раку шлунка або при застійних явищах у шлунку, якщо відсутня вільна хлоридна кислота і присутні палички молочнокислого бродіння.

Хід визначення:

На молочну кислоту досліджуємо порцію натще. В хімічну пробірку вносимо 2-3 мл розчину фенолу і додаємо 1-2 краплі розчину хлориду заліза. Одержаний темно-фіолетовий розчин розводимо водою до світло-фіолетового кольору. По краплі додаємо профільтрований шлунковий вміст. При наявності молочної кислоти суміш набуває лимонно-жовтого кольору.

Завдання 6. Визначення ферментативної активності за методом Туголукова

В основі методу визначення ферментативної активності шлункового вмісту лежить вивчення перетравленого білка плазми крові. За кількістю перетравленого білка робимо висновок про кількість пепсину та його активність.

Обладнання: шлунковий вміст, штатив із пробірками, розчин плазми, термостат, 10 % трихлорацетатна кислота, центрифуга, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Шлунковий вміст розводимо у 100 разів (до 0,1 мл відфільтрованого шлункового вмісту, додаємо 9,9 мл дистильованої води).

Частину розведеного у 100 разів шлункового вмісту кип'ятимо; беремо дві спеціальні пробірки (дослідну та контрольну). До дослідної пробірки додаємо 9,9 мл дистильованої води і 1 мл розведеного в 100 разів шлункового вмісту, до контрольної – 1 мл кип'яченого

шлункового вмісту. До обох пробірок додаємо по 2 мл 2 % розчину плазми, інкубуємо у термостаті при температурі 37 °С протягом 20 год. До обох пробірок додаємо по 2 мл 10 % розчину трихлорацетатної кислоти, змішуємо і залишаємо на 2-3 хв. до повного згортання білка. Центрифугуємо протягом 10 хв. при 1500 об/хв. і вимірюємо величину осаду в кожній пробірці. Розраховуємо показник перетравлення за формулою:

$$M = (A - B) \cdot \frac{40}{A},$$

де M – показник перетравлення;

A – величина осаду в контрольній пробірці;

B – величина осаду в дослідній пробірці;

40 – постійна величина, встановлена експериментально.

Кількість пепсину в 1 л шлункового вмісту визначаємо за спеціальною таблицею (табл.).

Таблиця

**Перерахунок показників перетравлення білкового субстрату
на вміст пепсину в шлунковому вмісті і пепсиногену в сечі**

Показник перетравлення, М	Вміст пепсину або уропепсину, г/л	Показник перетравлення, М	Вміст пепсину або уропепсину, г/л
1	0,005	20	0,08
2	0,008	21,5	0,09
3	0,01	22,5	0,1
4	0,015	23	0,12
5	0,017	24	0,16
6	0,02	25	0,2
7	0,025	26	0,27
8	0,027	27	0,34
9	0,03	28	0,42
10	0,035	29	0,50
11	0,037	30	0,59
12	0,040	31	0,68
13	0,045	32	0,77
14	0,047	33	0,86
15	0,05	34	0,96
16	0,055	35	1,06
17	0,062	36	1,2
18	0,067	37	1,5
19	0,075	-	-

Знаходимо відповідний показник перетравленого вмісту ферменту в досліджуваній біологічній рідині, виражений у грамах стандартного пепсину.

Наприклад: величина осаду в контрольній пробірці 2,5 мл, у дослідній – 1,0 мл. Показник перетравлення білка (М) буде:

$$M = (2,5 - 1,0) \cdot \frac{40}{2,5} = 24.$$

Знаходимо в табл. цю величину, вона відповідає 0,16 г пепсину в 1 л шлункового вмісту.

В нормі вміст пепсину в шлунковому вмісті після харчового подразника 0,21-0,45 г/л, після гістамінового – 0,5-0,65 г/л. Визначення активності пепсину можна проводити беззондовим методом за концентрацією уропепсиногену в сечі.

Завдання 6. Мікроскопічне дослідження шлункового вмісту

Мікроскопічному дослідженню підлягає порція натще, а також перша після застосування подразників. Дані мікроскопічного дослідження шлункового вмісту дають змогу судити про евакуаторну функцію шлунка, а також деякою мірою про стан його слизової оболонки. При цьому виявляємо елементи слизової оболонки (слиз, кров, епітеліоцити,

шматочки тканин), елементи їжі при застійних явищах (зерна крохмалю, дріжджі, ліпіди, м'язові волокна) та мікроорганізми (сарцини, палички молочнокислого бродіння).

Обладнання: шлунковий вміст, предметні та покривні скельця, розчин Люголя, розчин Судану III, мікроскопи, чашки Петрі, препарувальні голки, шпатель, центрифуга, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Для виготовлення нативних препаратів шлунковий вміст виливаємо в чашку Петрі, розглядаємо на чорному та білому фоні, шпателем і препарувальною голкою відбираємо на предметні скельця слизові, кров'янисті та щільні грудки. Із кожної досліджуваної порції виготовляємо три препарати: нативний, з розчином Люголя та з Суданом III.

Мікроскопуємо препарати спочатку під малим, а потім під великим збільшенням (об'єктив 40), ідентифікуємо елементи.

Досліджуємо згідно з загальними правилами дослідження нативного препарату.

Під час мікроскопічного дослідження можна виявити:

I. Елементи слизової оболонки:

Слиз – у нормі виявляють невелику кількість. Має вигляд волокон. При атрофічному гастриті його кількість зменшена або відсутня. При підвищеній секреції слизу відсутній. Багато слизу при гіпертрофічному гастриті й ахілії. Необхідно відрізнити шлунковий слиз від слизу порожнини рота та дихальних шляхів, який містить пухирці повітря та плоский чи навіть альвеолярний епітелій.

Клітини епітелію – епітелій слизової оболонки шлунка виявляють окремо і скупченнями у грудочках слизу разом з лейкоцитами. В кислому середовищі – у вигляді голих овальних чи круглих ядер, розташованих поряд. При зниженій секреції шлунка вони зберігають циліндричну форму клітин. Багато епітеліоцитів шлунка зустрічаються при гіпертрофічному гастриті, особливо в пілоричній частині шлунка. При поліпах шлунка трапляються пласти однотипного циліндричного епітелію з ознаками проліферації: двох-, триядерні клітини зі збільшеними ядрами, у деяких з них знаходять ядерця. При раку шлунка іноді виявляють у щільних грудках і в слизі атипові клітини, нерідко розташовані у вигляді груп та залозистих утворів, нерідко з жировою дистрофією.

Лейкоцити – (ядра Яворського). При ахілії структура їх зберігається. Дуже багато лейкоцитів знаходять при гнійному гастриті.

Еритроцити – незмінні виявляють у шлунковому вмісті, в якому знижена кислотність або відсутня хлоридна кислота.

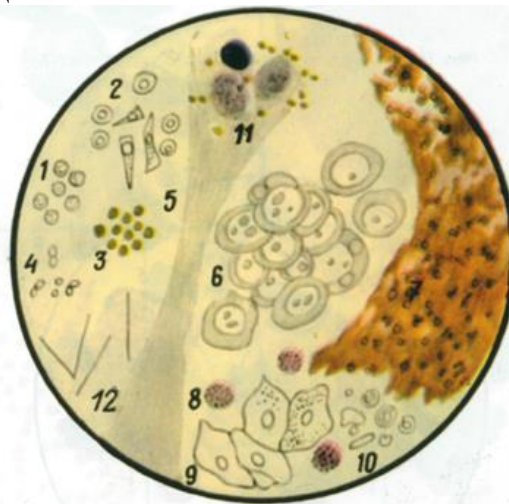


Рис. Мікроскопічне дослідження шлункового вмісту:

1 – лейкоцити; 2 – покривно-ямковий епітелій; 3 – еритроцити; 4 – дріжджові гриби;
5 – слиз; 6 – щільна група атипового епітелію; 7 – покривно-ямковий епітелій, лейкоцити;
8 – дифузний кров'яний пігмент у слизі; 9 – альвеолярний макрофаг; 10 – плоский епітелій;
11 – мієлін; 12 – дріжджові гриби і крохмальні зерна, забарвлені розчином Люголя;
12 – палички молочнокислого бродіння.

Клітини новоутворень – ці клітини виявляють у нативних і пофарбованих препаратах шлункового вмісту.

II. Елементи їжі:

- крохмальні зерна. Це утворення круглої або овальної форми, різних розмірів. Розчином Люголя забарвлюються у синій колір;

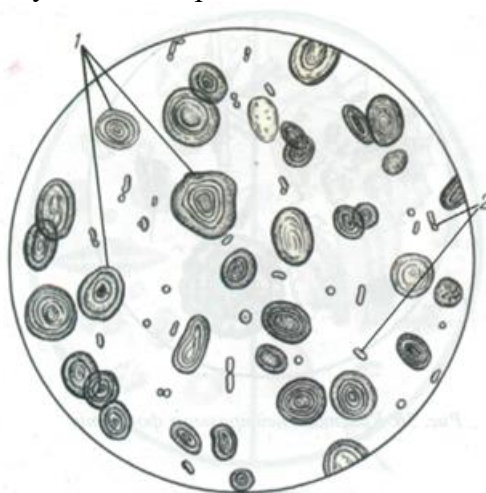


Рис. Крохмальні зерна (1) і дріжджові гриби (2) у шлунковому вмісті

- м'язові волокна – утворення циліндричної форми, жовто-коричневого кольору, які мають поздовжню або поперечну посмугованість, розташовуються окремо або групами;

- нейтральний жир зустрічається у вигляді крапель округлої форми різного розміру, Суданом III забарвлюється в оранжевий колір;

- рослинна клітковина – зустрічається перетравлена та неперетравлена. Це залишки їжі. Рослинну клітковину виявляють при порушенні евакуаторної функції шлунка. Перетравлена рослинна клітковина має вигляд круглих безбарвних клітин. Неперетравлена рослинна клітковина – це клітини різних розмірів та форм (це оболонки рослин і овочів).

III. Флора:

- палички молочнокислого бродіння – грубі, довгі, часто розташовані під кутом одна до одної, зустрічаються в шлунковому вмісті, якщо відсутня хлоридна кислота;

- сарцини – мають вигляд перев'язаних туюків; розчином Люголя забарвлюються в темно-бурий або червоно-фіолетовий колір;

- дріжджові гриби – мають овальну, рідше круглу форму, розташовуються поодинокі, парно або скупченнями. Розчином Люголя забарвлюються в жовтий колір.

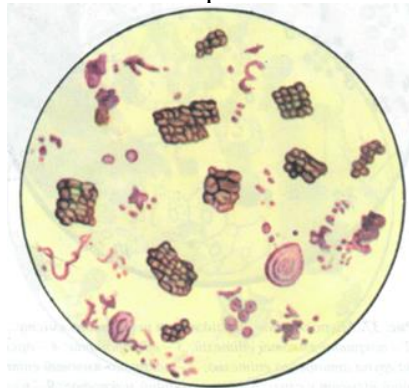


Рис. Сарцини у шлунковому вмісті

Завдання 7. Беззондові методи дослідження шлункового вмісту

При деяких захворюваннях протипоказане зондування шлункового вмісту. Існують беззондові методи:

- десмоїдна проба Салі;
- ацидотест;
- визначення рівня уропепсину.

Десмоїдна проба за Салі

Хід визначення:

Хворий натще ковтає гумовий мішечок із 0,1 г метиленового синього, зав'язаний кетгутом № 5, а потім снідає. У шлунку хлоридна кислота і пепсин перетравлюють кетгут, і мішечок відкривається. Метиленовий синій всмоктується в кров і виводиться з сечею. За час дослідження збираємо 3 порції сечі через 3,5 і 20 год.

Оцінка результатів:

- при нормальній секреторній функції шлунка перша порція сечі забарвлюється через 5 год у синій колір, друга – в блідо-зелений колір, третя – в синьо-зелений колір;
- при гіперацидному стані всі три порції мають синє забарвлення;
- при гіпоацидному стані синього забарвлення набуває сеча, зібрана через 20 год;
- при анацидному стані колір усіх трьох порцій сечі не змінений.

Ацидотест

Хворий натще вранці спорожнює сечовий міхур. Потім приймає 1-2 таблетки білого кольору (кофеїну), запиваючи 100 мл води, через годину збирає сечу в посуд з написом "контрольна сеча". Пізніше приймає 3 тест-драже жовтого кольору, не розжовуючи. Через 1,5 год збирає сечу в посуд з написом "1,5-годинна сеча". Сечу надсилають до лабораторії. Якщо зібрано сечі менше ніж 200 мл, то об'єм доводимо до цієї позначки водою. Беремо дві пробірки з діаметром 11-12 мм, в одну наливаємо 5 мл контрольної сечі, у другу – 5 мл 1,5-годинної сечі, до обох пробірок додаємо по 5 мл 25 % розчину хлоридної кислоти, вміст пробірок змішуємо. Порівнюємо забарвлення, яке утворилося в пробірці з 1,5-годинною сечею, із забарвленням кольорової стандартної шкали.

Оцінка результатів:

- при нормальній кислотності в пробірці з'являється яскраво-червоне забарвлення, яке відповідає позначці "А" стандартної кольорової шкали;
- при підвищеній кислотності з'являється найбільш виражене яскраво-червоне забарвлення;
- при зниженій кислотності з'являється забарвлення між позначками "А" і "В";
- при відсутності хлоридної кислоти забарвлення відповідає позначці "В".

Визначення рівня уропепсиногену за методом Туголукова

Вміст уропепсиногену визначаємо у сечі, зібраній за добу або натще. Дослідження проводимо за методом Туголукова, замість шлункового вмісту беремо сечу. Розрахунок вмісту уропепсиногену ведемо так: за таблицею знаходимо кількість уропепсиногену (в 1 мл сечі), множимо на об'єм добової сечі.

Завдання 8. Ознайомитись із рН-метрією

Визначення концентрації іонів шлункового вмісту можна проводити за допомогою спеціальних приладів, наприклад, "Гастротест".

Хворому натще вводимо зонд з двома або трьома електродами, які під'єднуємо до приладу, і визначаємо показники кислотності в тілі шлунка та в антральному відділі для базальної та стимулювальної секреції.

Результати реєструємо на спеціальному бланку аналізу - ацидограмі.

До стимуляції

"Корпус" норма	pH 1,5-2
Гіперацидний стан	pH > 1,5
Гіпоацидний стан	pH > 2 до 3
Поглиблений гіпоацидний стан	pH > 3
Анацидний стан	pH > 6
"Анtrum" норма	pH 6-8

Після стимуляції

"Корпус" норма	pH 1,2-2
Гіперацидний стан	pH < 1,2
Гіпоацидний стан	pH > 2
Анацидний стан	pH 6
"Анtrum" норма	pH 5,2-8

Недостатня функція нейтралізації

pH 5,2

ей метод найпоширеніший під час обстеження людей із захворюваннями шлунка.

Діагностику виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, запальних процесів слизової оболонки шлунка, спричинених бактеріями *Helicobacter pylori*, проводять із застосуванням спеціальних приладів або лабораторних методів.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
10. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
11. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
12. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №19

Тема: Дослідження дуоденального вмісту та калу

Мета: з'ясувати будову та функцію печінки і жовчовивідних шляхів, склад та функції жовчі, встановити особливості складу жовчі при патологічних процесах, ознайомитись із методами отримання дуоденального вмісту та макро-, мікроскопічного, хімічного й бактеріологічного дослідження калу, визначити показники копрограми в нормі та при патології травної системи.

Теоретичні питання:

1. Структура та функції жовчного міхура і жовчних шляхів.
2. Отримання жовчі. Уявлення про трифазний метод зондування.
3. Фракційний метод зондування: його переваги, методика, діагностична цінність.
4. Фізичні властивості жовчі: кількість (об'єм), колір, прозорість, консистенція, реакція, відносна густина.

5. Мікроскопічне дослідження жовчі: елементи запального походження, кристалічні утворення, паразити.
6. Діагностичне значення біохімічного дослідження жовчі.
7. Склад калу в нормі. Правила взяття матеріалу та доставки його в лабораторію.
8. Макроскопічне дослідження калу: кількість, колір, консистенція, форма, запах, залишки неперетравленої їжі, слиз, кров тощо.
9. Хімічне дослідження калу: реакція, кров, стеркобілін, білірубін, білок і муцин.
10. Мікроскопічне дослідження калу: залишки їжі, елементи кишкової стінки, кристали тощо.
11. Копрологічні синдроми.

Теоретичне обґрунтування:

Дослідження жовчі проводимо для діагностики захворювань жовчного міхура, жовчних протоків, печінки та дванадцятипалої кишки.

Дуоденальне зондування виконують за допомогою зонда з металевою оливою трифазним або фракційним методами.

Дослідження калу проводять з метою оцінки функціонального стану органів травного каналу. Воно має важливе діагностичне значення, особливо в гастроентерології.

Копрологічне дослідження включає макроскопічне, хімічне і мікроскопічне вивчення фекалій. Бактеріологічне та біохімічне дослідження проводиться за спеціальними вказівками.

Кал на копрологію досліджують після застосування хворим пробної дієти Шмідта чи Певзнера з дозованим вмістом білків, жирів, вуглеводів. При дослідженні калу на приховану кров призначають дієту, яка виключає з раціону хворого протягом 3-4 днів м'ясо, рибу, зелені овочі, помідори, яйця, лікарські препарати, що містять залізо, мідь, важкі метали.

Збирають кал при самотійній дефекації в чисту суху посудину, яка не пропускає вологи, і доставляють у лабораторію відразу або протягом 8-12 годин, зберігаючи його тим часом на холоді при температурі 3-4°C. Не можна досліджувати кал після клізми, прийому послаблюючих засобів, барвників, настою беладони, пілокарпіну, препаратів заліза, вісмуту, барію та ін. Кал не повинен містити сторонніх домішок (сеча, деззасоби та ін).

У клініко-діагностичній лабораторії проводять такі дослідження калу:

- загальноклінічний аналіз і копрограму;
- виявлення прихованої крові;
- гельмінтологічне.

Клінічний аналіз калу складається з макроскопічного, хімічного, мікроскопічного та бактеріологічного досліджень.

Копрологічна картина при деяких захворюваннях

Кал при нормальному травленні – коричневого кольору, слаболужної або нейтральної реакції, м'якої консистенції, циліндричної форми. Мікроскопічно виявляють трохи неперетравленої клітковини, поодинокі м'язові волокна, трохи мил.

Кал при недостатності травлення у шлунку (гастрит з ахілією) – темно-коричневого кольору, лужної реакції, щільної або кашкоподібної консистенції, сформований, може бути і несформований. Мікроскопічно – достатня кількість неперетравленої клітковини, крохмалю, незмінні м'язові волокна групами, незначна кількість мил, йодофільної флори.

Кал при недостатності підшлункової залози – кількість до 1 кг, колір сірувато-жовтий, реакція лужна, консистенція мазеподібна, несформований, запах – прогірклого жиру. Мікроскопічно – пластами неперетравлена і перетравлена клітковина, достатня кількість крохмалю, незмінні м'язові волокна, багато нейтрального жиру.

Кал при ненадходженні жовчі в кишечник – більше норми, сірувато-білий, кислої реакції, твердий або мазеподібний, оформлений або ні, негативна реакція на стеркобілін. Мікроскопічно – багато незмінених м'язових волокон, перетравлена клітковина і крохмаль (може і не бути), багато жирних кислот, нейтральний жир, трохи мил.

Кал при недостатності травлення в тонкому кишечнику – жовтого кольору, лужної реакції, рідкої або напіврідкої консистенції, позитивна реакція на білірубін. При мікроскопії

виявляють багато неперетравленої клітковини і крохмалю, помірну кількість змінених і незмінених м'язових волокон, нейтрального жиру, жирних кислот і мил, трохи йодофільної флори.

Кал при недостатності травлення у товстій кишці:

- бродильна диспепсія – кал жовтого або світло-коричневого кольору, різко кислої реакції, кашкоподібної консистенції, пінистий, має трохи слизу. Мікроскопічно – багато перетравленої клітковини і крохмалю, трохи мил і м'язових волокон, багато йодофільної флори;

- гнилісна диспепсія – колір темно-коричневий, реакція лужна, рідкий, слизу небагато. Мікроскопічне – незначна кількість перетравленої клітковини, зрідка – крохмаль, трохи змінених м'язових волокон, мил.

Кал при запальних процесах у товстій кишці:

- коліт із запором – колір темно-коричневий, реакція лужна, консистенція тверда, форма – овечий кал. Мікроскопічно – трохи слизу, змінених м'язових волокон, мил;

- дизентерія, виразковий коліт – кал із домішками слизу, крові, гною. Мікроскопічне – лейкоцити в слизі, еритроцити, циліндричний епітелій. Позитивна реакція Трибуле-Вишнякова.

Завдання 1. Визначення фізичних властивостей жовчі, одержаної під час трифазового та фракційного методів дуоденального зондування

Обладнання: дуоденальний вміст, чашки Петрі, предметні та покривні скельця, препарувальні голки та шпатель, білий та чорний фон, мікроскопи, очна піпетка, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

У всіх порціях жовчі визначають їх кількість, колір, прозорість, консистенцію, реакцію, відносну густину.

Дослідження необхідно проводити відразу, тому що при стоянні жовч змінюється. При трифазному класичному дуоденальному зондуванні одержують порції А, В, С.

Порція А – це дуоденальний вміст, що складається з жовчі загальної жовчної протоки, панкреатичного соку і секрету дванадцятипалої кишки. Порція В – це міхурова жовч. Порція С – жовч із печінкових ходів.

Фракційне зондування дає змогу точніше оцінити функціональний стан жовчних шляхів, жовчного міхура і таким чином встановити локалізацію патологічного процесу. При цьому враховують п'ять фаз зондування.

Переривчасте виділення порції "В" може свідчити про дискінезію жовчного міхура, холецистит, жовчнокам'яну хворобу, спазм сфінктера Люткенса.

Повільне, з паузами виділення жовчі порції "С" (V фаза) може бути при захворюваннях печінки.

Описати фізичні властивості різних порцій жовчі.

Завдання 2. Мікроскопічне дослідження жовчі

Мікроскопічне дослідження жовчі необхідно проводити відразу після визначення фізичних властивостей. Бажано, щоб жовч була ще теплою.

Для виготовлення нативного препарату жовч із пробірок виливають у чашку Петрі та розглядають на чорному і білому фоні. За допомогою препарувальної голки і шпателя відбирають підозрілі згустки, разом із жовчю переносимо на предметне скло і покривають покривним.

Розглядають під малим збільшенням мікроскопа (окуляр 7х, об'єктив 8х), а пізніше під великим (окуляр 7х, об'єктив 40х).

Нативні препарати необхідно виготовляти з кожної порції жовчі: "А", "В", "С".

Під час мікроскопії можна виявити клітинні елементи (лейкоцити, еритроцити, епітелій, лейкоцитоподібні), слиз, кристалічні утворення та паразитів.

Лейкоцити – мають діагностичне значення, якщо зустрічаються у грудочках слизу чи з вільчастим епітелієм.

Епітелій:

- високий призматичний довгий, вузький з довгим вузьким ядром – із загальної жовчної протоки;
- великий циліндричний з кутикулою і ворсинками, велике овальне ядро – з дванадцятипалої кишки;
- високий призматичний, з великим ядром – із жовчного міхура;
- високий циліндричний без кутикул – із жовчних проток печінки.

Лейкоцитоїди – це клітини круглої форми. Вважають, що це змінений епітелій дванадцятипалої кишки.

Кристалічні утворення:

- кристали холестерину мають вигляд безбарвних табличок різного розміру зі сходоподібним кутом;
- білірубін – кристали у вигляді голок або ромбів жовтого та коричневого кольору, можуть розташовуватися окремо або скупченнями;
- кальцій білірубінат – дрібні крупинки золотисто-жовтого та коричневого кольору; випадають в осад часто з кристалами холестерину і мікролітами;
- мікроліти – темні компактні округлі чи багатогранні утворення із солей кальцію, слизу і холестерину;
- жовчні кислоти – маленькі, блискучі, коричневі, жовті або сіруваті зернятка. У нормі під час мікроскопічного дослідження дуоденального вмісту можемо виявити невелику кількість слизу, епітелію та поодинокі кристали холестерину.

Виявлення великої кількості холестерину, кальцію білірубінату, мікролітів свідчать про можливість каменеутворення.

Паразити:

Під час мікроскопічного дослідження жовчі можемо виявити лямблії в теплій жовчі, при її охолодженні вони втрачають рухомість і морфологічно подібні до епітеліоцитів, яйця, іноді личинки гельмінтів – при гельмінтозах печінки, жовчного міхура, дванадцятипалої кишки (опісторхозі, фасціольозі, дикроцеліозі, стронгілоїдозі, трихостронгілоїдозі).

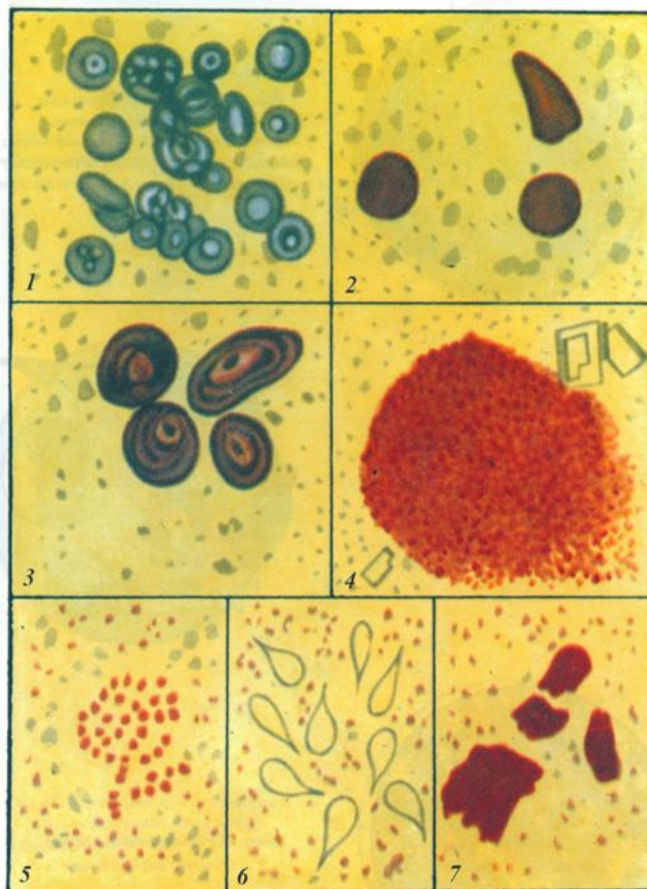


Рис. Мікроскопічне дослідження дуоденального вмісту:

- 1 – лейкоцити; 2 – мікроліти; 3 – сферомікроліти;
4 – білірубінат кальцію і кристали холестерину;
5 – жовчні кислоти; 6 – лямблії; 7 – коричневі півчасті утворення

Завдання 3. Макроскопічне дослідження калу

Обладнання: кал для дослідження, ступка, індикаторні папірці, чашки Петрі, шпатель та голки, чорний і білий фон, штатив із пробірками, предметні та покривні скельця, розчин Люголя, мікроскопи, 30% розчин ацетатної кислоти, 5% розчин метиленової синьки, дезрозчин, рукавички.

Дослідження калу проводять у витяжній шафі.

Макроскопічне дослідження калу включає визначення кількості, консистенції, форми, кольору, запаху, патологічних домішок, паразитів, залишків неперетравленої їжі.

Кількість – залежить від кількості спожитої їжі та функціонального стану слизової оболонки травного каналу. У здорової людини кількість калу за добу – 120-200 гр. При вживанні переважно рослинної їжі або порушення засвоєння їжі кількість калу збільшується, таке явище спостерігають при панкреатитах, ахіліях шлунка, ентериті.

Форма – при нормальній функції травного каналу ковбасоподібна. При пухлинах, геморої кал стрічкоподібний, при спастичних станах прямої та сигмоподібної кишок – олівцеподібний, при спастичних станах товстої кишки – "овечий" кал.

Консистенція – у нормі м'яка. При закрепах, голодуванні, атонії кишечника виділяється кал твердої консистенції. Рідкий неоформлений кал свідчить про запальний процес. Пінистий кал – при бродильних процесах у кишечнику. Мазеподібний в'язкий – при захворюванні підшлункової залози. Консистенція рисового відвару характерна для холерного проносу.

Колір – у нормі свіжовиділений кал коричневий, обумовлений наявністю в ньому стеркобіліну. Колір калу здорової людини залежить від характеру їжі. Якщо в раціоні харчування переважає м'ясо, то кал буде темніший, при рослинно-молочній дієті спостерігається світло-жовтий; при жовтяниці – сіруватий, мазеподібний (ахолічний) кал, при кровотечі в шлунку або дванадцятипалій кишці – чорний дьогтеподібний кал.

Запах калу характерний, але не різкий, зумовлений наявністю індоли і скатоли. При вживанні переважно м'ясної їжі запах калу різкіший, при рослинній дієті – кислуватий. При бродильних процесах – різко-кислий.

Домішки – можна розділити на дві великі групи: харчового та нехарчового походження. Розглядаючи кал неозброєним оком, можемо побачити *харчові домішки* – грубі частинки рослин (шкірки фруктів, ягід, кісточки і т. д.), кусочки хрящів.

Нехарчові домішки – це слиз, кров, гній. Слиз є нормальною складовою частиною калу. При запальних процесах кількість його збільшується. Кров може з'являтися при кровотечах із різних відділів травного каналу, гній – при дизентерії, туберкульозі, розпаді пухлин. Жовчні, панкреатичні і калові камені (копроліти) можуть бути різних розмірів.

Гельмінти. Можна виявити аскариди, волосоголовці, гострики, а також фрагменти гельмінтів (свинячого та бичачого ціп'яка, широкого стьожака).

Завдання 4. Хімічне дослідження калу

У клінічно-діагностичній лабораторії найчастіше визначають рН калу, білірубін, стеркобілін, приховану кров, білок та муцин. Результати хімічного дослідження калу дають змогу уточнити характер ураження слизової оболонки шлунка та кишечника, порушення виділення жовчі, бактеріальної флори товстого кишечника.

Обладнання: кал для дослідження, ступка, 5% спиртовий розчин амідопіріну, 30% ацетатна кислота, 3% перекис водню, 10% хлорид заліза, насичений розчин сулеми, 25% трихлорацетатна кислота, дистильована вода, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Реакція калу в нормі – нейтральна або слаболужна. Різколузну реакцію спостерігають при посиленому бродінні.

Визначають реакцію за допомогою індикаторного папірця, який змочують дистильованою водою і прикладають до калу. Відчитують, враховуючи зміну забарвлення, відповідно до шкали.

4 а. Виявлення крові в калі амідопіриновою пробою

Для визначення реакції на приховану кровотечу пацієнта потрібно спеціально підготувати. З його раціону на 3-4 дні виключають м'ясо, рибу, яйця, зелені овочі, помідори,

а також лікарські препарати, які містять залізо, мідь, важкі метали. При кровоточивості ясен хворому не рекомендують чистити в цей час зуби. Визначають найчастіше пробою з амідопірином та експрес-тестами. Позитивні проби на кров вказують на кровотечу в якійсь із ділянок травного каналу (з ясен, варикозних вен, виразок і злоякісних пухлин стравоходу, шлунка, кишок).

Для проведення амідопіринової проби готують калову емульсію у розведенні 1:10. В хімічну пробірку вносимо 2-3 мл калової емульсії, 2-3 мл 5% спиртового розчину амідопірину, 10-12 крапель 3% розчину перекису водню і 10-12 крапель 30% ацетатної кислоти. Суміш старанно перемішують скляною паличкою. При наявності в калових масах крові протягом 2-3 хвилин вміст пробірки стає синьо-фіолетовим. Зміну забарвлення, яка виникла після 3 хвилин, не враховують. Чутливість проби – не менше 1 % крові.

Реакція на приховану кров може бути позитивною при виразці шлунка і дванадцятипалої кишки, пухлинах шлунка, виразкових колітах, черевному тифі, варикозному розширенні вен стравоходу.

Експрес-методи

У клініко-діагностичній лабораторії використовують експрес-методи визначення крові в калі, застосовуючи порошок або паперові експрес-тести (ГЕМА-ФАН, ГЕМАСТІКС). Калову емульсію наносимо на порошок або на папірець, при позитивній реакції спостерігають появу синього чи синьо-зеленого кольору.

За допомогою експрес-методів у калі можна визначити кров'яний пігмент, білірубін, стеркобілін і білок.

4б. Виявлення жовчних пігментів пробою Шмідта

Щодо жовчних пігментів, то в калі здорової людини міститься тільки стеркобіліноген, який на повітрі окислюється у стеркобілін. Визначають стеркобілін при ахолічному калі пробою Шмідта, а білірубін – найчастіше реакцією Фуше. Відсутність стеркобіліну вказує на обтурацію жовчних шляхів (камінь, пухлина, спазм сфінктера печінково-підшлункової ампули, набряк слизової оболонки дванадцятипалої кишки). Білірубін можна виявити в калі при швидкій евакуації їжі по кишках, важкому дисбактеріозі, коли не відбувається відновлення білірубину. Одночасне виявлення білірубину і стеркобіліну вказує на часткове збереження нормальної бактеріальної флори в товстому кишечнику. Наявність чистого білірубину в калових масах грудних дітей у віці до 5-6 місяців є нормою.

Для виявлення стеркобіліну застосовують переважно реакцію Шмідта. Кусочок калу розміром з лісовий горіх розтирають у фарфоровій ступці з 3-4 мл насиченого розчину сулеми. Залишають при кімнатній температурі на 18-20 год. або в термостаті на 4-5 год. При наявності в калі стеркобіліну чи стеркобіліногену рідина забарвлюється в рожевий колір, інтенсивність якого залежить від вмісту пігменту. При наявності білірубину рідина забарвлюється в зелений колір.

4в. Визначення білка і муцину пробою Трибуле-Вишнякова

При додаванні до емульсії калу реактивів відбувається зсідання білка і муцину, утворюються пластівці, які адсорбують мікроорганізми та детрит. Пізніше пластівці осідають на дно і емульсія світлішає.

Обладнання: кал для дослідження, штатив із пробірками, насичений розчин сулеми, дистильована вода, 20% ацетатна кислота, 20% трихлорацетатна кислота, ступка, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Для проведення реакції Трибуле-Вишнякова готують 3% калову емульсію – 1г калу розтирають у ступці з 33 мл дистильованої води. Розливають по 7,5 мл в чотири пробірки: в першу пробірку додають 1 мл насиченого розчину сулеми, в другу – 1 мл 20% трихлорацетатної кислоти, в третю – 1 мл 20% ацетатної кислоти, а в четверту – 2 мл дистильованої води (це контроль). Вміст пробірок розмішують і залишають на 18-24 год, після цього відмічають просвітлення надосадової рідини в дослідних пробірках порівняно з контрольною. Просвітлення тільки в першій пробірці вказує на наявність у калі гниючого білка, в першій і другій – на наявність ексудату, в третій – на наявність слизу (муцину).

Ступінь просвітлення відмічають за допомогою плюсів (+, ++, +++), або слів: «слабопозитивна», «позитивна», «різко позитивна».

Проба Трибуле-Вишнякова використовується для діагностики прихованого запального процесу. Вона ґрунтується на виявленні в калі слизу, ексудату чи гниючого білка їжі. Наявність у калі ексудату і крові свідчить про запалення слизової оболонки кишечника, виразку, клітинний розпад; слизу (муцину) – про катаральне запалення слизової оболонки товстого кишечника. Виявлення гниючого травного білка вказує на порушення його протеолізу в шлунку і тонкому кишечнику внаслідок ферментопатії або прискореної евакуації хімуса. Від'ємні результати є відносними, оскільки навіть при вираженому запаленні шлунка і тонкого кишечника, але при тривалих закрепках білок ексудату повністю розщеплюється бактеріями (однак у цьому випадку реакція калу – лужна або різко лужна).

Завдання 5. Мікроскопічне дослідження калу

Мікроскопічне дослідження калу дає змогу діагностувати порушення ферментативної активності органів травного каналу, виявити прискорену евакуацію хімуса зі шлунка в кишечник, ураження слизової оболонки товстої та прямої кишок, наявність гельмінтів і найпростіших, йодофільної флори, кристалів та ін.

Обладнання: кал для дослідження, предметні і покривні скельця, скляні палички з оплавленим кінцем, чашки Петрі, розчин Люголя, метиленовий синій, ацетатна кислота, дистильована вода, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Для мікроскопічного дослідження відбирають видимі домішки: спочатку відшукують на поверхні калу за допомогою шпателя та голки, а потім відбирають кілька грудочок калу із різних його ділянок, розтирають їх разом у чашці Петрі, виготовляють водну емульсію і шукають домішки поперемінно на чорному та білому фонах.

Краплю емульсії набирають скляною паличкою з оплавленим кінцем, поміщають її на предметне скло, покривають покривним і злегка притискають.

З емульсії калу виготовляють 4-5 препаратів:

- нативний – для вивчення детриту, залишків неперетравленої або частково перетравленої рослинної та тваринної їжі;
- з розчином Люголя – для виявлення внутрішньоклітинного та позаклітинного крохмалю, йодофільної флори, дріжджів, цист;
- з метиленовим синім – для диференціації крапель нейтрального жиру та жирних кислот;
- з ацетатною кислотою – для діагностики мил;
- препарат зі слизу, слизисто-кров'яних, гнійних мас і тканинних грудочок.

I. Елементи кишкової стінки - слиз, лейкоцити (нейтрофіли і еозинофіли), еритроцити, епітелій плоский, циліндричний, клітини пухлин.

- *слиз* виявляють поряд із лейкоцитами, еритроцитами й епітелієм: прозорі гомогенні утворення у вигляді волокон;

- *лейкоцити* – частіше зустрічаються нейтрофіли, під впливом флори вони змінюють форму і розпадаються;

- *еозинофіли* зустрічаються у великій кількості при пухлинах, туберкульозі кишечника, шигельозі, мають однорідні гранули; якщо еозинофіли розташовані в слизі – це свідчить про спастичний коліт, неспецифічний виразковий коліт, анкілостомоз;

- *еритроцити* зустрічаються змінені та незмінені; незмінені – при кровотечі прямої кишки; якщо кровотеча з верхніх відділів травного каналу, то еритроцити руйнуються, змінюються, їх важко розпізнати; при виразкових процесах кишечника еритроцити разом із лейкоцитами виявляють у слизі;

- *епітелій* – плоский (у центрі з маленьким ядром) вистеляє задньопрохідний отвір, циліндричний вистеляє слизову оболонку кишечника (це клітини подовженої форми, з одного кінця розширені); іноді епітелій змінює свою форму і розміри, підлягає жировому переродженню і вакуолізації, має вигляд напівпрозорих брилок, у яких не видно ядер;

- *клітини пухлин* мають різні розміри та форму, великі ядра і ядерця, різну кількість цитоплазми, розташовуються окремо, грудочками або у вигляді щільних груп; зустрічаються при плоскоклітинному, залозистому раку, інших злоякісних новоутворах.

II. Залишки їжі (м'язові волокна, сполучна тканина, крохмаль, перетравлена і неперетравлена клітковина, нейтральний жир, мила, кристалічні утворення):

- *м'язові волокна* – у вигляді овальних та округлих утворень жовтого кольору; неперетравлені або слабонеретравлені м'язові волокна мають поперечну та поздовжню покресленість, вони можуть розташовуватися окремо або у вигляді груп, з'єднаних між собою; зустрічаються у хворих з ахілією, ферментативною недостатністю підшлункової залози, при прискореній перистальтиці кишечника;

- *сполучна тканина* має вигляд тонких волокон, які не перехрещуються, зустрічаються ізольовано або з групами м'язових волокон; це залишки неперетравлених судин, хрящів;

- *крохмаль* має вигляд зерен округлої або овальної форми, які заломлюють світло; залежно від ступеня перетравленості крохмалю концентрична покресленість може бути виражена по-різному; крохмальні зерна зустрічаються внутрішньоклітинно або окремо; розчином Люголя незмінні крохмальні зерна забарвлюються у синій колір, а частково перетравлені – в лілово-червоний; у нормі в калі виявляють тільки неперетравлену клітковину; при ахлоргідрії, недостатній активності ферментів підшлункової залози, прискореній евакуації хімусу зі шлунка та кишечника виявляють велику кількість клітковини та крохмальних зерен;

- *перетравлена рослинна клітковина* – це великі, прозорі, як правило, безбарвні утворення неправильної форми, розташовуються пластами або окремо; виявляють в калі при ахлоргідрії, ахілії шлунка;

- *неперетравлена рослинна клітковина* має широкі потовщені міжклітинні простори, непрозору двоконтурну оболонку, забарвлюється в коричневий або жовтий колір; виявляють в калі при постійному вживанні рослинної їжі;

- *нейтральний жир* має вигляд безбарвних, злегка жовтуватих крапель різного розміру, які Суданом III забарвлюються в червоний, оранжевий або жовтий колір;

- *мила* мають вигляд брилок або голкоподібних кристалів, коротших, ніж жирні кислоти; для диференціації крапель жирних кислот із краплями нейтрального жиру використовують забарвлення препарату метиленовим синім, при цьому краплі жирних кислот забарвлюються у темно-синій колір, детрит – у блідо-блакитний, краплі нейтрального жиру безбарвні або жовтого кольору; у нормі з калом виділяється близько 5 % спожитого жиру у вигляді мил; якщо з калом виділяється велика кількість жиру, це явище називається *стеатореєю*, яку спостерігають при порушенні жовчовиділення, секреторної функції підшлункової залози та при закупорці її вивідної протоки, а також при прискореній перистальтиці тонкого кишечника та при порушенні всмоктування;

- *кристалічні утворення* – трипельфосфати, білірубін, гематоїдин, оксалати, кристали Шарко-Лейдена – блискучі, безбарвні, мають форму ромба; їх виявляють при гельмінтозі та захворюваннях кишечника, спричинених кишковими найпростішими, а також при захворюваннях алергічного характеру.



III. Мікрофлора становить 1/3-1/4 частину калу. При патології у калі можна виявити йодофільну флору:

- *кlostридії* – грубі, веретеноподібні бацили, довжиною 2 мкм, шириною 1-1,2 мкм;
- *гриби роду Candida* – овальні або круглої форми, маленькі, псевдоміцелій у вигляді ниток; розчином Люголя забарвлюються у синій колір, спостерігаються при дисбактеріозі.

У калі можна виявити яйця та членики гельмінтів, личинки кишкових найпростіших, яйця опісторхозів, ціп'яка широкого, карликового ціп'яка, аскарид, гостриків та ін.

Завдання 6. Бактеріологічне дослідження калу

Це дослідження проводять для виявлення грампозитивної та грамнегативної флори – аеробної, анаеробної і мікобактерій туберкульозу. Для цього препарат забарвлюють за Грамом, Цілем-Нільсеном.

Виявлення йодофільної флори проводять шляхом забарвлення препаратів розчином Люголя. При цьому вона набуває синього, фіолетового та червоного кольору. Збільшену кількість йодофільної флори виявляють при бродильній диспепсії, дисбактеріозах.

Зробити висновки, оформити робочі зошити.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. I. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзись Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзись, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов – Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття № 20

Тема: Дослідження рідин із серозних порожнин та спинномозкової рідини

Мета: визначити походження, види і характер серозних рідин, з'ясувати правила забору і доставки серозних рідин у лабораторію та показники, які визначаються при дослідженні серозних рідин, ознайомитись з особливостями утворення, склад і функції цереброспінальної рідини, навчитись проводити визначення фізичних властивостей серозних рідин та цереброспінальної рідини та хімічне їх дослідження.

Теоретичні питання:

1. Характеристика серозних порожнин. Механізм утворення випоту.
2. Фізико-хімічні властивості та клітинний склад випітних рідин.
3. Загальна характеристика трансудату та різних видів ексудату.
4. Диференціальна діагностика трансудату та ексудату.
5. Склад та фізіологічне значення спинномозкової рідини.

6. Методи отримання спинномозкової рідини. Особливості дослідження.
7. Фізичні властивості спинномозкової рідини: кількість, колір, прозорість, реакція, відносна густина; виявлення фібринозної плівки.
8. Хімічне дослідження спинномозкової рідини.
9. Мікроскопічне дослідження: підрахунок цитозу, морфологічна характеристика елементів спинномозкової рідини.
10. Діагностичне значення дослідження спинномозкової рідини при захворюваннях ЦНС та оболонок мозку.

Теоретичне обґрунтування:

Внутрішні порожнини організму – грудна, черевна і порожнина перикарда – вкриті серозними оболонками. Ці оболонки складаються з двох листків (зовнішнього та внутрішнього). Завертаючись, він переходить на внутрішні органи (легені, кишечник, серце та ін.). Між серозними листками є невеликий простір, який називається серозною порожниною.

В нормі між серозними листками порожнина практично відсутня. Вона утворюється при різних патологічних станах, пов'язаних з накопиченням рідини.

Рідина, що з'являється в серозній порожнині в результаті запальних процесів, називається *ексудатом*. Ексудати наявні при перитоніті (запаленні очеревини), плевриті (запаленні плеври), перикардиті (запаленні перикарда).

Рідина, яка утворюється в результаті порушення загального та місцевого кровообігу, називається *транссудатом*. Транссудати зустрічаються при тяжких пороках серця, які супроводжуються порушенням кровообігу (рідина збирається в черевній порожнині), при цирозах печінки, серцево-судинній декомпенсації, нефротичному синдромі.

Матеріал для дослідження одержують шляхом проколу (пункції), який проводить лікар. Для попередження згортання додають у посудину антикоагулянт – 5 мл 5 % лимоннокислого Na на 100 мл пунктату. Збирають матеріал у чистий посуд і відразу направляють на дослідження, де визначають фізичні властивості, проводять хімічне, мікроскопічне і бактеріологічне дослідження.

Цереброспінальна рідина циркулює між оболонками мозку в його шлуночках, цистернах і спинномозковому каналі.

До внутрішньої поверхні кісток черепа прилягає тверда мозкова оболонка. Під нею лежить павутинна оболонка, яка покриває головний мозок. Донизу вона переходить у павутинну оболонку спинного мозку. Вся поверхня мозку вкрита розгалуженою сіткою судин. Ці судини лежать в м'якій мозковій оболонці, яка прикриває тканину мозку. В глибині павутинної оболонки лежать борозенки, щілини і ямки. Павутинна оболонка переходить із одного рівня в інший, утворюючи ємкості різної величини, павутинні вмістилища. Найбільші з них одержали назву цистерн.

Між павутинною і м'якою оболонками лежить так званий підпавутинний, або субарахноїдальний простір, який заповнюється цереброспінальною рідиною і є єдиним для головного та спинного мозку.

Цереброспінальна рідина утворюється в шлуночках мозку судинними сплетіннями, із шлуночків вона надходить у цистерни мозку і в субарахноїдальний простір, пізніше через кровоносні капіляри всмоктується у венозну і частково у лімфатичну систему.

За добу утворюється від 400 до 600 мл цереброспінальної рідини. Циркуляція її відбувається безперервно. В субарахноїдальному просторі міститься 100-150 мл цереброспінальної рідини.

Цереброспінальна рідина виконує дуже важливу роль у процесах життєдіяльності мозкової тканини: підтримує сольовий склад і осмотичний тиск, бере участь у живленні та процесі обміну речовин, оберігає мозок від механічного пошкодження.

Дослідження цереброспінальної рідини має діагностичне значення при захворюваннях центральної нервової системи та мозкових оболонок. До цих захворювань належать енцефаліти (запалення головного мозку), менінгіти (запалення твердої мозкової оболонки), арахноїдити (запалення павутинної оболонки), сифіліс мозку, пухлини, травми і та ін.

Завдання 1. Визначення фізичних властивостей серозних рідин

Обладнання: серозна рідина для дослідження, 3 % сульфосаліцилова кислота, дистильована вода, урометр, предметні та покривні скельця, штатив із пробірками, піпетки, циліндр, центрифуга, чорний фон, ацетатна кислота, реактив Ларіонової або 50% розчин азотної кислоти, 0,9% розчин хлориду натрію, фотоелектрокалориметр; мікроскопи, імерсійне масло, барвники для фарбування мазків за методом Романовського, Ціля-Нільсена, Грама, рукавички, дезрозчин.

Залежно від механізму утворення виділяють два види серозної рідини – ексудат і трансудат.

Характер – ексудат може бути серозним, серозно-фібринозним, серозно-гнійним, гнійним, гнилісним, геморагічним, хільозним, хілусоподібним.

Трансудат завжди має серозний характер.

Колір – серозний ексудат блідо- або золотисто-жовтий, гнійний – сірувато-жовтий або жовто-зелений, гнилісний – бурий, геморагічний – рожевий, темно-червоний або бурий, хільозний – нагадує колір розведеного молока.

Трансудати зазвичай мають блідо-жовтий колір.

Прозорість – серозний ексудат у нормі прозорий; серозно-гнійний, гнилісний, геморагічний ексудати мутні – мутність обумовлена великою кількістю лейкоцитів і еритроцитів. Хільозний і хілусоподібний ексудати мутні від наявності в них великої кількості жиру та детриту (розпад жироперероджених клітин).

Трансудат завжди прозорий, може бути з опалесценцією.

Запах – відсутній. Неприємний смердючий запах має тільки гнилісний ексудат.

Густина – в ексудатах коливається в межах 1,018-1,022, у трансудатах 1,006-1,012. Вимірюється урометром так само, як у сечі.

Консистенція – найчастіше рідка, гнійна та гнійно-гнилісна. Ексудати можуть бути напівв'язкі або в'язкі за рахунок великої кількості клітинних елементів і детриту.

Завдання 2. Хімічне дослідження серозної рідини

Хімічне дослідження у серозних рідинах передбачає визначення білка у постановці реакції Рівальта.

Кількісне визначення білка проводиться за методом Брандберга-Робертса-Стольнікова та фотометричним методом (так само, як для сечі).

У зв'язку з тим, що у серозній рідині міститься білок, ми розводять її у 64 рази (до 0,1 мл серозної рідини додають 6,3 мл води).

Кількість білка в трансудатах 5-25 г/л, в ексудатах 30-80 г/л.

Проведення реакції Рівальта

Для диференціації ексудатів і трансудатів проводять пробу Рівальта, визначаючи тим самим, чи це ексудат, чи трансудат. В ексудаті, окрім білка, наявний серомуцин – мукополісахаридний комплекс, який згортається під впливом ацетатної кислоти. Диференціюють також за густиною, рівнем білка, а також за клітинним складом.

Хід визначення:

Реакція Рівальта. У циліндр наливають 100 мл дистильованої води, підкислюють 2-3 краплями концентрованої ацетатної кислоти, тоді додають 1-2 краплі досліджуваної серозної рідини. Якщо крапля згортається і утворюється хмаринка, то це ексудат. Крапля трансудату не утворює помутніння.

Завдання 3. Мікроскопічне дослідження серозної порожнини

Техніка виготовлення нативних і забарвлених препаратів

Для виготовлення нативного препарату беруть предметне скло, дають на нього краплю відцентрованої осаду і кладуть зверху покривне скло. Розглядають препарат під мікроскопом, спочатку під малим, а пізніше під великим збільшенням.

Для виготовлення забарвлених препаратів осад рівномірно розподіляють по предметному склу, висушують на повітрі, фіксують метиловим або етиловим спиртом протягом 3-5 хв. Фарбують за методом Романовського, досліджують під мікроскопом з імерсійною системою.

Під час мікроскопії вивчають морфологію клітин. У трансудатах клітинних елементів мало, а в ексудатах значно більше.

Серед клітинних елементів розрізняють клітини крові та клітини тканин.

Клітини крові

Еритроцити виявляють в ексудатах і транссудатах. Вони потрапляють у рідину під час проколу. Багато еритроцитів у геморагічному ексудаті.

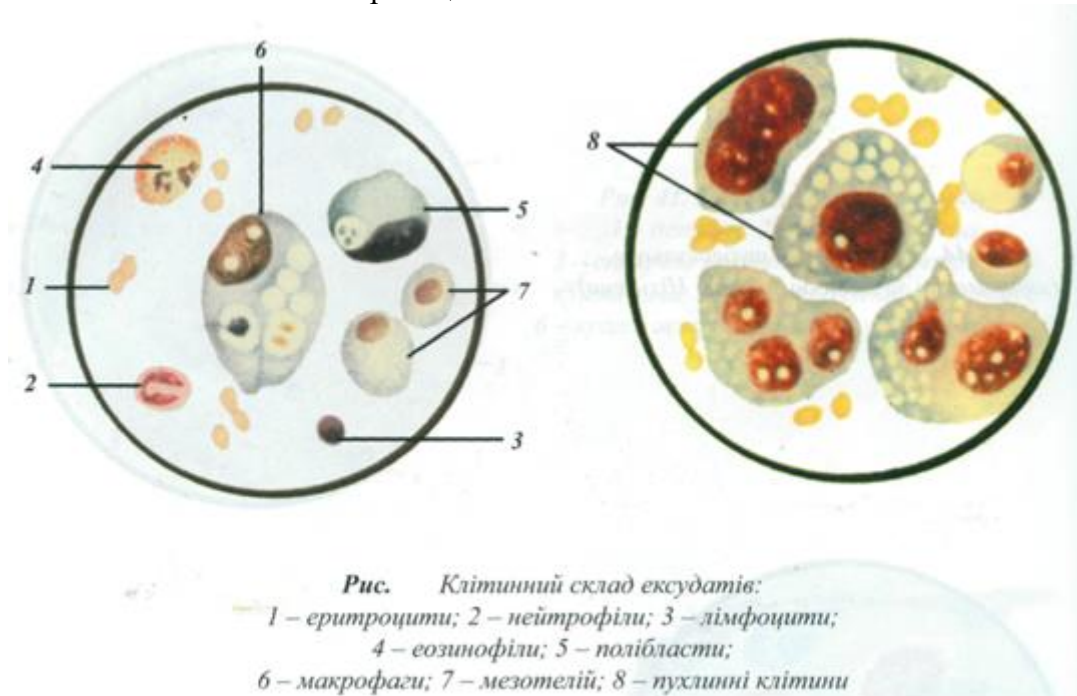
Лейкоцити в невеликій кількості (до 15-20 в полі зору) спостерігають в транссудатах. В ексудатах, особливо гнійних, вони покривають все поле зору.

Нейтрофіли виявляють у гнійному ексудаті, лімфоцити – в транссудаті та багато в серозному ексудаті, еозинофіли – в серозних і геморагічних ексудатах, вони з'являються при алергічних захворюваннях. Плазматичні клітини спостерігають при затяжних запальних процесах у серозному або гнійному ексудаті, а також у період розсмоктування геморагічного ексудату.

Клітини тканин

Мезотелій – це великі клітини (до 20-30 мкм в діаметрі), ядро розташоване в центрі, цитоплазма базофільна. Зустрічаються двох- і триядерні форми. Мезотелій виявляють в транссудатах при серцевих і ниркових захворюваннях. В ексудаті їх можна побачити в початковій стадії запального процесу і при пухлинах.

Клітини пухлин можуть бути різних розмірів. Цитоплазма вакуолізована, різко базофільна. Ядра великі, мають багато нуклеол. Характерна наявність комплексів, у яких окремі клітини не мають чітких границь.



Завдання 4. Визначення фізичних властивостей

Обладнання: цереброспінальна рідина для дослідження, штатив з пробірками, центрифужна пробірка, дистильована вода, чорний фон, індикаторний папір, урометр, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

Колір – нормі безбарвний, порівнюють з дистильованою водою.

При захворюваннях може бути червоний (домішки крові в результаті крововиливів або попадання її під час проколу). Якщо домішки крові незначні, колір цереброспінальної рідини сіро-жовтий, якщо значні – яскраво-червоний. Щоб відрізнити випадкову кров від крововиливів, необхідно цереброспінальну рідину процентрифугувати. Якщо еритроцити осядуть і надосадова рідина залишиться безбарвною, то це випадкова кров. Якщо залишиться червоною, це свідчить про крововилив – колір обумовлений наявністю пігменту гемоглобіну.

При давніх крововиливах гемоглобін розпадається з утворенням пігментів білірубіну та білівердину, які надають цереброспінальній рідині різних відтінків жовтого або зеленого кольору.

Жовтий – зустрічається при захворюваннях центральної нервової системи. Це явище називається ксантохромією.

Зеленувато-жовтий – при гнійному менінгіті, абсцесі головного або спинного мозку.

Осад – у нормі відсутній. Якщо наявна мутність, формені елементи можуть випадати в осад. Еритроцити дають осад червоного кольору, лейкоцити – зеленувато-жовтого. Мікроорганізми осаду не дають.

Густина – в нормі 1,006-1,007 г/см³, визначають малим урометром. Визначити важко через малу кількість цереброспінальної рідини. Збільшення відносної густини спостерігають при травмах, запаленні мозкових оболонок.

Реакцію визначають за допомогою індикаторного паперу. В нормі реакція слаболужна.

Фібринозна плівка – утворюється при стоянні, коли є велика кількість грубо дисперсних білків. Це буває при туберкульозному менінгіті. Для одержання фібринозної плівки цереброспінальну рідину беруть в окрему пробірку, яку оберігають від струшування. Відразу після забору пробірку обережно ставлять у холодильник на 18-24 год.

Фібринозна плівка є важливим матеріалом для бактеріологічного дослідження.

Завдання 5. Хімічне дослідження цереброспінальної рідини

Хімічний склад цереброспінальної рідини відображає основні зміни, які відбуваються в центральній нервовій системі. Хімічне дослідження цереброспінальної рідини включає в себе визначення білка, постановку реакції Панді та Нонне-Апельта для визначення глобулінів.

Обладнання: штатив із пробірками, градуйовані піпетки, годинникове скло, циліндри, скляні колби, центрифужні пробірки, центрифуга, фотоелектрокалориметр, дистильована вода, реактив Ларіонової, чорний фон, реактиви Панді, Нонне-Апельта, дезрозчин, рукавички.

Кількісне визначення білка

Визначення білка проводять так само як у сечі: методом Брандберга-Робертса-Стольнікова та фотометричним методом. Розрахунок результатів здійснюють, помноживши 0,033 г/л на ступінь розведення і на поправку.

Норма білка: 0,15-0,3 г/л, у новонароджених – 0,6-0,9 г/л.

У цереброспінальній рідині кількість білка зростає при травмах, менінгіті, енцефаліті, пухлинах мозку. Зменшується при гідроцефалії та гіпосекреції цереброспінальної рідини.

Реакція Панді

Хід визначення:

Реакція Панді основана на осадженні глобулінів цереброспінальної рідини насиченим розчином карболової кислоти.

На годинникове скло капають 1-2 краплі реактиву Панді та нашаровують по краю або в центрі краплю досліджуваної цереброспінальної рідини, результат знімають через 3 хв. Помутніння визначають, використовуючи цифрові позначення: значне помутніння 4 (++++); помірне 3 (+++); помітна опалесценція 2 (++); слабка опалесценція 1 (+); відсутнє помутніння 0.

Примітка: Реактив Панді виготовляють так: (80-100 г фенолу розчиняють в 1 л дистильованої води, витримують в термостаті 24 год, пізніше розчин витримують 5-6 діб при кімнатній температурі).

Реакція Нонне-Апельта

Реакція Нонне-Апельта ґрунтується на властивості деяких солей у насичених концентраціях осаджувати глобуліни із цереброспінальної рідини.

Хід визначення:

У пробірку вносять 0,5 мл цереброспінальної рідини і нашаровують рівний об'єм реактиву Нонне-Апельта. Добре перемішують. В контрольну пробірку наливають 1 мл дистильованої води. Результати знімають не пізніше 3 хв. на чорному фоні, використовуючи цифрові позначки: значне помутніння 4 (++++); помірне 3 (+++); помітна опалесценція 2 (++) (+); слабка опалесценція 1 (+); відсутнє помутніння 0.

У цереброспінальній рідині кількість глобулінів зростає при сифілітичному ураженні центральної нервової системи, запальних процесах головного та спинного мозку, пухлинах.

Примітка. Реактив Нонне-Апелята виговляють так: насичений розчин амонію сульфату розчиняють в 1л гарячої дистильованої води, доводять до кипіння і витримують кілька днів при кімнатній температурі, пізніше фільтрують. Розчин повинен мати нейтральну реакцію.

Завдання 6. Мікроскопічне дослідження цереброспінальної рідини

Підрахунок формених елементів у цереброспінальній рідині необхідно проводити відразу після її одержання, тому що при стоянні ці елементи швидко руйнуються. Перед підрахунком формених елементів цереброспінальну рідину перемішують упродовж 2-3 хв. В аглютинаційну пробірку дають 10 крапель цереброспінальної рідини і додють 1 краплю 10 % розчину ацетатної кислоти, підфарбованої метиленовим синім (або розчином Самсона). Перемішують і заправляють камеру Фукса-Розенталя.

Якщо в цереброспінальній рідині є клітинні елементи, це явище називається *цитозом*, збільшення кількості клітинних елементів називається *плеоцитозом*. У нормі з клітинних елементів повинні зустрічатися лише лімфоцити, але можуть зустрічатися всі клітини, які входять до складу периферійної крові.

Обладнання: цереброспінальна рідина для дослідження, штатив з пробірками, реактив Самсона, 10% розчин ацетатної кислоти, камера Фукса-Розенталя, предметні та покривні скельця, фарба Романовського, дезрозчин, рукавички.

Для підрахунку цитозу використовують камеру Фукса-Розенталя. Попередньо підфарбованою цереброспінальною рідиною заповнюють камеру, яка складається з 16 великих квадратів. Кожен із них розділений на 16 малих квадратів, сторони сітки дорівнюють 4 мм, площа 16 мм², об'єм камери 3,2 мм³.

Підрахунок формених елементів проводять при опущеному конденсорі, окуляр 7х, об'єктив 40х. Клітинні елементи підраховують по всій сітці та виводять за формулою:

$$X = \frac{A \times 11}{3,2 \times 10} \times 10^6 / л,$$

де х – кількість формених елементів в 1 мкл;

А – кількість клітин, порахованих у сітці;

3,2 – об'єм камери;

11/10 – розведення цереброспінальної рідини;

10⁶ – кількість мікролітрів в 1 л.

Скорочена формула:

$$X = \frac{A}{3} \cdot 10^6 / л,$$

де 3 – заокруглена цифра камери Фукса-Розенталя.

При відсутності камери Фукса-Розенталя можна використати камеру Горяєва, яка має менший об'єм. У зв'язку з цим підрахунок клітин необхідно провести не менше ніж у трьох камерах, вивести середнє арифметичне і помножити його на 1,2. Множник 1,2 одержують з формули:

$$X = \frac{A \cdot 11}{0,9 \cdot 10},$$

де 0,9 – об'єм камери;

11/10 – розведення цереброспінальної рідини.

Скорочена формула:

$$X = A \cdot 1,2 \cdot 10^6 / л.$$

Цитоз в нормі становить 0-6 · 10⁶/л лейкоцитів, які представлені лімфоцитами; у дітей 7-10 · 10⁶/л.

Плеоцитоз нейтрофільний спостерігається при гнійних менінгітах;

плеоцитоз лімфоцитарний – при серозному і туберкульозному менінгітах. Кількість еозинофілів збільшується при алергічних станах.

Техніка виготовлення препаратів

Для мікроскопічного дослідження виготовляють препарат із відцентрифугованого осаду. Забарвлення проводять методом Возної. Осад наносять на предметне скло і обережно його розподіляють. Мазок висушують під скляним ковпаком упродовж 20-24 год; фіксують і фарбують слабким розчином азур-еозину (1-2 краплі фарби на 5 мл дистильованої води) протягом години. Пізніше, не змиваючи фарби, наливають на мазок сильніший розчин азур-созину (2 краплі фарби на 1 мл дистильованої води). Дофарбовують 5 хв, фарбу змивають, мазок обережно промивають водою. Висушують на повітрі. Мікроскопіюють з імерсійною системою.

У забарвлених препаратах із цереброспінальної рідини можемо спостерігати клітини крові: еритроцити і лейкоцити. В нормі зустрічаються лімфоцити у великій кількості. Плеоцитоз лімфоцитарний спостерігається при туберкульозному та серозному менінгітах, нейтрофіли при гнійних менінгітах, еозинофіли – при алергічних станах, глистяних інвазіях мозку (ехінококоз). Крім цього можуть зустрічатися плазматичні клітини.

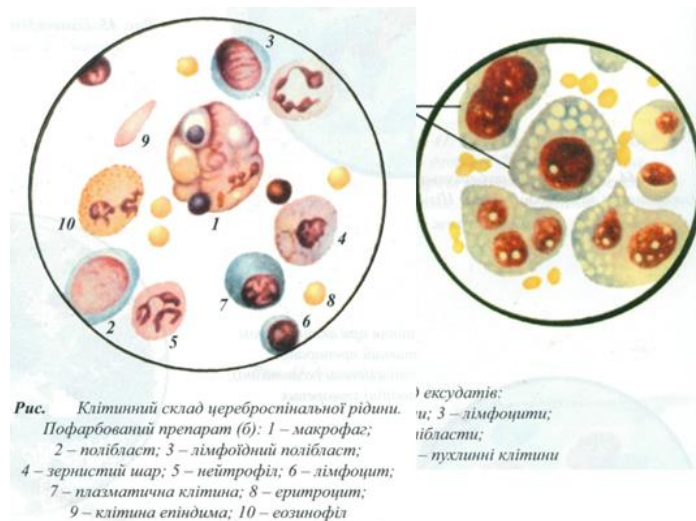
Клітини тканин:

– полібласти – фагоцитуючі клітини різного розміру, неправильної форми, з ексцентрично розташованим округлим або овальним темно-фіолетовим ядром, вакуолізованою цитоплазмою;

– макрофаги – великі клітини круглої або неправильної форми з великим ядром круглої форми, іноді з одним ядерцем, вакуолізованою цитоплазмою, яка може мати різні вclusions;

– арахноендотелій – клітини неправильної форми, велике овальне або кругле ядро, цитоплазма базофільна, частина клітин у вигляді голих ядер;

– клітини новоутворів – зустрічаються при пухлинах центральної нервової системи, а також при метастазах.



Зробити висновки та оформити робочі зошити.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.

4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №21

Тема: Дослідження мокротиння

Мета: вивчити анатомо-гістологічну характеристику дихальних шляхів і легень, з'ясувати походження харкотиння, правила його збирання і роботу з мокротинням та фізичні властивості його, ознайомитись із методами макроскопічного, мікроскопічного та бактеріологічного досліджень, встановити методи знезараження відпрацьованого матеріалу й обробки посуду.

Теоретичні питання:

1. Анатомо-гістологічна характеристика дихальних шляхів і легень.
2. Мокротиння – патологічний секрет. Правила відбору мокротиння.
3. Фізичне дослідження мокротиння: кількість, запах, колір, характер, консистенція, форма, патологічні домішки.
4. Мікроскопічне дослідження: морфологія елементів мокротиння та діагностичне значення їх виявлення.
5. Діагностична цінність дослідження мокротиння в разі захворювань легень і дихальних шляхів.

Теоретичне обґрунтування:

У клініко-діагностичній лабораторії дослідження мокротиння проводять для діагностики захворювань дихальних шляхів і легень.

Харкотиння збирають у сухий чистий скляний посуд, як правило, з темного скла, після відкашлювання. Для клінічного аналізу харкотиння збирають уранці після очищення зубів та прополіскування ротової порожнини і надсилають у лабораторію з направленням.

Клінічний аналіз харкотиння включає вивчення фізичних властивостей, мікроскопічне та бактеріологічне дослідження.

Харкотиння – це патологічний секрет, який виділяється із легень та дихальних шляхів при їх захворюваннях і при кашлі або відхаркуванні. Складається із секрету слизової дихальних шляхів, до якого приєднується секрет бронхів, іноді примішуються гній, набрякова рідина та інші патологічні рідини, які можуть потрапляти із ротової порожнини, а також слиз, слина. В нормі харкотиння не виділяється.

Хід заняття:

Завдання 1. Визначення фізичних властивостей

Оладнання: чашка Петрі, шпателі та голки, чорний і білий фон, предметні та покривні скельця, мікроскопи, імерсійне масло, харкотиння для дослідження, мірний циліндр, газовий пальник, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення:

До фізичних властивостей харкотиння належать: кількість, запах, колір, характер, консистенція, домішки.

Харкотиння, яке доставили в лабораторію, переносять у чашку Петрі, заповнюючи не більше 1/3 чашки, і поперемінно розглядають на білому та чорному фоні. Визначають колір, характер, консистенцію, форму і патологічні домішки.

Кількість харкотиння визначають мірним циліндром у тих випадках, коли його виділяється багато.

Кількість харкотиння – при запальних процесах за одне відкашлювання 2-3 мл, при бронхіті, трахеїті; при бронхіальній астмі – 10 мл і більше; при гангрені, абсцесі легень, кавернозному туберкульозі, бронхоектатичній хворобі – від 500 до 1000 мл.

Запах – свіжовиділене харкотиння запаху не має, гнилісний – при абсцесі, гангрені; смердючий – при розпаді легеневої тканини (раку).

Колір – залежить від кількості лейкоцитів, еритроцитів та від характеру харкотиння. Характер харкотиння повинен відповідати певному кольору (табл.). Характер харкотиння залежить від його складу і може бути: слизистим, слизисто-гнійним, гнійно-слизистим, серозним, серозно-гнійним і т. ін.

Таблиця

Узгодженість кольору харкотиння з його характером

Характер	Колір
Слизистий	Сіруватий
Гнійний	Жовтуватий
Слизисто-гнійний	Сірувато-жовтий
Гнійно-слизистий	Жовтувато-сірий
Кров'янистий	Червоний, бурий
Серозний	Відсутній
Астматичний	Жовтуватий

Серозне харкотиння рідке, пінисте, характерне для легеневого набряку.

Слизисте – склоподібне, прозоре, синьо-білясте, може бути тягучим або рідким залежно від кількості слизу. Зустрічається при початкових бронхітах, бронхіальній астмі.

Гнійне – жовтого або жовто-зеленого кольору – при гнійних плевритах, емпіємі легень, бронхоектазах, гангрені.

Кров'янисте – кров у вигляді прожилків – при бронхітах, у вигляді згустків – при туберкульозі, пухлинах, бронхоектазах.

Консистенцію визначають за допомогою препарувальної голки, піднімаючи нею харкотиння над чашкою Петрі. Якщо все харкотиння тягнеться за голкою, то консистенція вважається тягучою. При в'язкій консистенції харкотиння тягнеться у вигляді товстої нитки, при помірно в'язкій – у вигляді тонкої нитки, яка швидко обривається.

Харкотиння студенистої консистенції над чашкою Петрі не піднімається. Харкотиння може мати клейку, напіврідку і рідку консистенцію.

Патологічні домішки – це шматочки тканини, спіралі Куршмана, зерна актиноміцетів, пробки Дітріха, рисоподібні зерна, пливчасті утворення, друзи актиноміцетів, фібрин.

Завдання 2. Мікроскопічне дослідження

Техніка виготовлення нативних і забарвлених препаратів

Харкотиння виливають в чашку Петрі і розглядають на чорному та білому фоні, відбирають підозрілі грудочки за допомогою голки і лопаточок. Невеликі грудочки кладемо на предметне скло, покривають покривним і виготовляють нативний препарат (4-5 препаратів). При цьому пам'ятають, що харкотиння не повинно виходити за межі покривного скла. Для забарвлення за методом Ціля-Нільсена прикладають одне предметне скло на друге і розтягують. Після цього розглядають під мікроскопом для виявлення мікобактерій туберкульозу.

Таким чином можна досліджувати і матеріал, який одержує лабораторія внаслідок бронхоскопії та промивних вод бронхів.

Техніка мікроскопії

Нативний препарат мікроскопують при малому збільшенні мікроскопа (окуляр 7х, об'єктив 8х), а пізніше переводять на велике збільшення (окуляр 7х, об'єктив 40х).

Визначають кількість елементів у препараті або в полі зору мікроскопа. Крім цього, виготовляють препарати для забарвлення за методом Ціля-Нільсена.

Під час мікроскопії можемо виявити такі елементи:

Лейкоцити – круглі, сірі, зернисті клітини – при різних запальних процесах дихальної системи.

Еозинофіли – клітини круглої форми з однорідною зернистістю, що заломлюють світло і зустрічаються при бронхіальній астмі й інших алергічних реакціях (рис.).

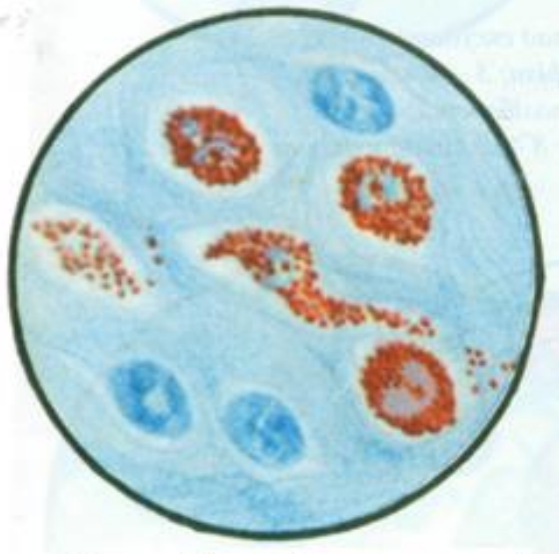


Рис. Еозинофіли в харкотинні

Еритроцити – круглі клітини зелено-жовтого кольору, які виявляються при легневих кровотечах, інфаркті легень, туберкульозі, раку. Під впливом гнилісних процесів вони руйнуються, і розрізнити їх неможливо. У таких випадках необхідно провести реакцію на приховану кров.

Епітелій плоский – це великі клітини з малим ядром, як правило, з ротової порожнини, який не має діагностичного значення.

Циліндричний епітелій – це епітелій бронхів, який має форму високого бокала з війками, ядро круглої форми розміщене ближче до звуженої частини, частіше зустрічається при бронхітах.

Альвеолярні клітини (макрофаги) – клітини круглої або овальної форми, 10-30 мкм, ядро бобовидне, округле або дископодібної форми з невеликою цитоплазмою, нагадують ікру жаб. Зустрічаються при застійних явищах, пороках серця. Пігментуються в золотисто-бурий колір від гемосидерину.

Спіралі Куршмана – слизисті утворення різної величини, мають вигляд закрученої спіралі з центральною ниткою, зустрічаються при бронхіальній астмі.

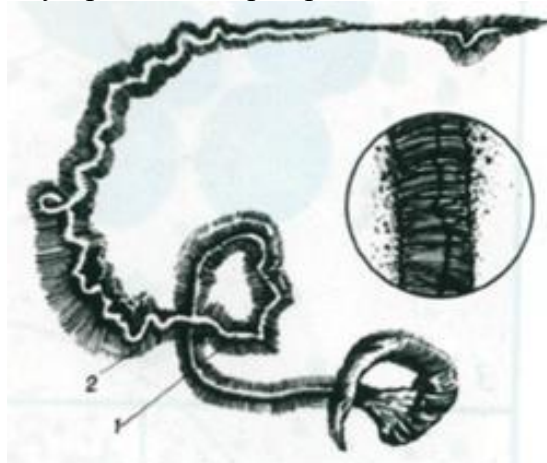


Рис. Спіралі Куршмана
1 – осьова нитка; 2 – мантія

Кристали Шарко-Лейдена мають вигляд витягнутих безбарвних ромбів різного розміру, виникають внаслідок розпаду еозинофілів. Зустрічаються при бронхіальній астмі.

Корки Дітріха – гнійні грудочки, які складаються з детриту, жирних кислот, бактерій. Розмір – як просяне зерно. Зустрічаються при абсцесі, гангрені легень, бронхоектазах.

Фібрин – тонкі волокна, розміщені паралельно. Зустрічаються при запальних процесах.

Рисоподібні зерна – сірувато-білуваті щільні утворення, які формуються в старих кавернах при туберкульозі легень. У них містяться коралоподібні волокна, детрит, мила і мікобактерії туберкульозу.

Кристали гематойдину – голчасті ромбічні кристали від золотисто-жовтого кольору до коричневого, утворюються при крововиливах в некротичній тканині, при розпаді легеневої тканини.

Кристали холестерину – безбарвні прямокутники або ромбічної форми таблички з одним обламаним східцеподібним кутом. Зустрічаються при новоутворах, абсцесі, ехінококозі, туберкульозі.

Коралоподібні волокна – еластичні волокна, вкриті милами, вони не блищать, великі, зустрічаються у вигляді уривків і різних скупчень, утворюються в старих кавернах.

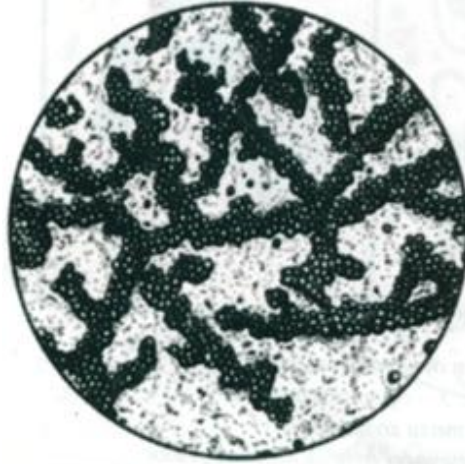


Рис. Коралоподібні волокна

Тетрада Ерліха – звапнілі волокна, аморфні вапна, кристали холестерину і мікобактерії туберкульозу. Зустрічаються при туберкульозі.

Друзи актиноміцетів – це гнійні грудочки жовтувато-сірого кольору, міцелій закінчується колбоподібним здуттям зеленуватого кольору.

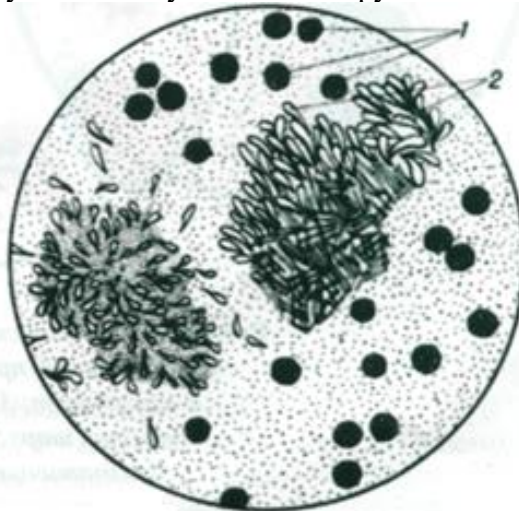
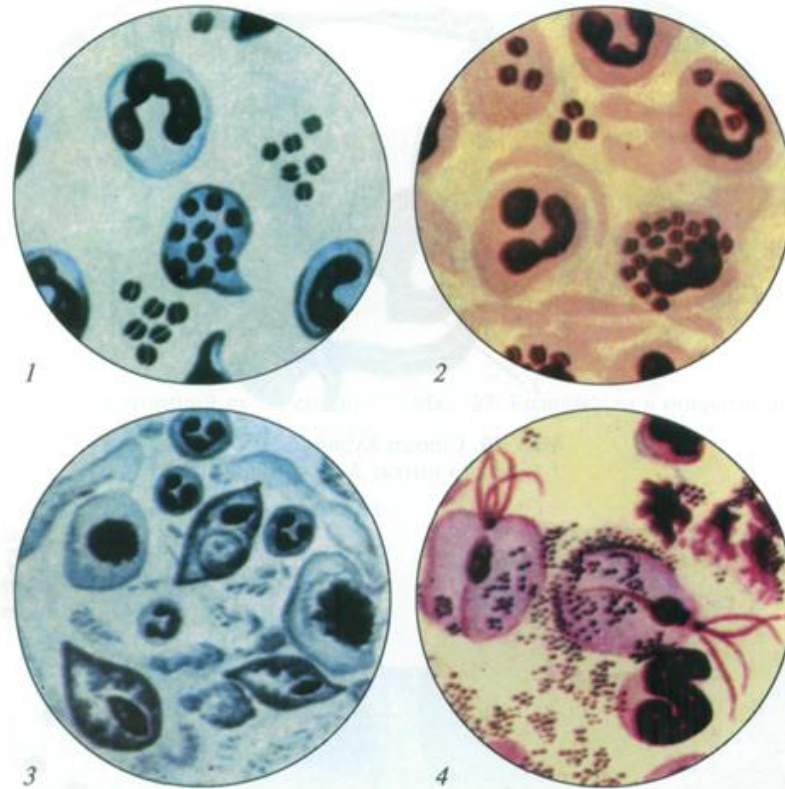


Рис. Харкотиння при актиномікозі легень (нативний препарат):
1 – жирно-зернисті клітини (ксантомні);
2 – колбоподібні утворення

Еластичні волокна – мають вигляд контурних ниток, які іноді складаються в пучки, зустрічаються при розпаді легеневої тканини, раку легень, туберкульозі, абсцесах.

Мікрофлора – у харкотинні можна виявити мікобактерії туберкульозу, різні коки, друзи актиноміцетів.



Мал. Деякі мікроорганізми і найпростіші:
1 – гонококи (забарвлення метиленовим синім); 2 – гонококи (забарвлення за Грамом); 3 – трихомонади (забарвлення метиленовим синім); 4 – трихомонади (забарвлення за Цогікяном)

Пухлинні клітини – характеризуються різними розмірами та формами з невеликими і малими ядрами, які дегенеративно змінені, найчастіше з жировою дистрофією, можуть бути розміщені поодинокі або групами. Окремі клітини нагадують плоский епітелій (при плоскоклітинному раку).

При аденокарциномі – клітинні комплекси залозистих структур, мають чіткі контури і утворюють круглі групи клітин, можуть бути овальні, конічні, грушоподібні у вигляді розеток, іноді гігантські багатоядерні клітини, ядра яких розміщуються ш периферії цитоплазми (залозистий рак).

Дрібноклітинний рак – клітини нагадують лейкоцити, але на відміну від них не мають зернистості, розміщені тісними групами або доріжками, а в забарвленому препараті нагадують лімфоцитоподібні клітини з великими ядрами, як грона винограду контури ядер нерівні.

Недиференційований рак – характеризується поліморфізмом клітин.

Для виявлення *гемосидерину* в харкотинні проводять реакцію на берлінську лазур (реакція Перлса).

Для проведення реакції на берлінську лазур (на присутність гемосидерину) кладемо на предметне скло підозрілі частинки харкотиння, розтягують шпателем і голкою та підсушують на повітрі. На підсушений препарат наливають суміш із рівних частин 5% розчину К-заліzosинеродистого і 3% розчин хлоридної кислоти. Обидва розчини змішують в пробірці, прополіскують дистильованою водою (суміш не повинна мати синього відтінку). Через 8-10 хв. реактив зливають і препарат накривають покривним склом. При позитивній реакції під час мікроскопії видно альвеолярний епітелій, у якому міститься гемосидерин. Він забарвлюється в синій колір, тобто відбувається утворення берлінської лазурі. Часто можна бачити і макроскопічно сині ділянки препарату під покривним склом – це великі скупчення альвеолярного епітелію з гемосидерином.

Завдання 3. Бактеріологічне дослідження харкотиння

Забарвлюють препарат за методом Ціля-Нільсена для виявлення мікобактерій туберкульозу.

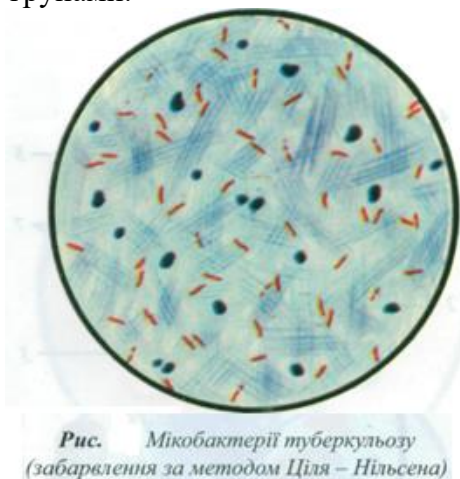
Для виявлення мікобактерій туберкульозу найефективніше поєднання бактеріоскопії, люмінесцентної мікроскопії та посіву.

Для виявлення інших мікроорганізмів (стафілококів, пневмококів, стрептококів та ін.), а також друз актиноміцетів використовують забарвлення мазків за Грамом.

Для виявлення мікобактерій туберкульозу виготовляють мазки з харкотиння, відбирають підозрілі грудочки, кладуть на предметне скло, другим покривають і розтирають. Мазок повинен зайняти не більше двох третіх поверхні скельця. Забарвлюють за Цілем-Нільсеном.

На препарат накладають смужку фільтрувального паперу. Наливають 2-3мл карболового фуксину Ціля. Тримавши препарат пінцетом, підігривають над полум'ям горілки до триразового відходження пари. Вистуджують, папір знімають, препарат промивають водою і повністю занурюють скло в 3% спиртовий розчин хлористоводневої кислоти. Внаслідок цього знебарвлюються всі частини харкотиння, крім кислото- і спиртостійких мікобактерій.

Промивають водою і забарвлюють протягом 30 секунд метиленовим синім. При цьому всі частини харкотиння забарвлюються в синій колір, крім мікобактерій туберкульозу. Заново промивають препарат водою і висушують на повітрі. Мікроскопіюють з імерсійною системою. На синьому фоні добре видно мікобактерії туберкульозу червоного кольору. Вони поліморфні, мають вигляд тонких, злегка зігнутих паличок різної довжини, можуть розташовуватися поодинокі або групами.



Сформулювати висновки та оформити робочі зошити.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. ІІ. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзись Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзись, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.

8. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камишнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.
10. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
11. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
12. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 168с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

Лабораторне заняття №22

Модульна контрольна робота № 3

Питання до контрольної роботи:

1. Дослідження функції органів травлення. Основні відомості про будову та функції травного каналу. Будова та функції шлунка. Склад шлункового соку в нормі.
2. Методи дослідження секреції шлунка. Поняття про базальну та стимульовану секрецію. Фракційний метод отримання шлункового соку із застосуванням ентральних, парентральних (субмаксимальних та максимальних) подразників.
3. Дослідження шлункового вмісту. Фізичні властивості шлункового соку: об'єм, колір, запах, наявність слизу та домішок. Визначення фізичних властивостей шлункового вмісту.
4. Хімічне дослідження шлункового вмісту. Визначення дебіту хлоридної кислоти. Визначення ферментативної активності за методом Туголукова.
5. Мікроскопічне дослідження шлункового вмісту. Беззондові методи дослідження шлункового вмісту. рН-метрія.
6. Дослідження дуоденального вмісту. Структура та функціонування жовчного міхура і жовчних шляхів. Фізичні властивості жовчі: кількість, об'єм, колір, прозорість, консистенція, реакція, відносна густина.
7. Отримання жовчі. Уявлення про трифазний метод зондування. Фракційний метод зондування: його переваги, методика, діагностична цінність. Визначення фізичних властивостей жовчі, одержаної під час трифазового та фракційного методів дуоденального зондування.
8. Мікроскопічне дослідження жовчі: елементи запального походження, кристалічні утворення, паразити. Діагностичне значення біохімічного дослідження жовчі.
9. Копрологічне дослідження. Склад калу в нормі. Правила взяття матеріалу та доставки його в лабораторію. Макроскопічне дослідження калу: кількість, колір, консистенція, форма, запах, залишки неперетравленої їжі, слиз, кров тощо.
10. Хімічне дослідження калу: реакція, кров, стеркобілін, білірубін, білок і муцин. Мікроскопічне дослідження калу: залишки їжі, елементи кишкової стінки, кристали тощо. Копрологічні синдроми.
11. Дослідження мокротиння. Анатомо-гістологічна характеристика дихальних шляхів та легень.
12. Мокротиння – патологічний секрет. Правила відбору мокротиння. Фізичне дослідження мокротиння: кількість, запах, колір, характер, консистенція, форма, патологічні домішки.

13. Мікроскопічне дослідження: морфологія елементів мокротиння та діагностичне значення їх виявлення. Діагностична цінність дослідження мокротиння в разі захворювання легень і дихальних шляхів. Бактеріологічне дослідження.
14. Дослідження рідин із серозних порожнин. Характеристика серозних порожнин. Механізм утворення випоту. Фізико-хімічні властивості та клітинний склад випітних рідин. Загальна характеристика трансудату та різних видів ексудату. Диференціальна діагностика трансудату та ексудату.
15. Визначення фізичних властивостей серозних рідин. Хімічне дослідження серозної рідини. Мікроскопічне дослідження серозної порожнини.
16. Дослідження цереброспінальної рідини. Склад та фізіологічне значення спинномозкової рідини. Методи отримання спинномозкової рідини. Особливості дослідження.
17. Фізичні властивості спинномозкової рідини: кількість, колір, прозорість, реакція, відносна густина; виявлення фібринозної плівки.
18. Хімічне дослідження спинномозкової рідини. Мікроскопічне дослідження: підрахунок цироу, морфологічна характеристика елементів спинномозкової рідини. Бактеріологічне дослідження. Діагностичне значення дослідження спинномозкової рідини при захворюваннях ЦНС та оболонки мозку.
19. Дослідження виділень із статевих органів. Цитологічне дослідження мазка з піхви. Дослідження виділень із піхви на ступінь чистоти.
20. Дослідження еякуляту. Фізичні властивості: колір, прозорість, в'язкість, реакція. Визначення фізичних властивостей.
21. Мікроскопічне дослідження. Морфологія елементів еякуляту.
22. Дослідження секрету передміхурової залози. Отримання, мікроскопічне дослідження, морфологія елементів. Діагностичне значення досліджень.
23. Дослідження виділень зі статевих органів на трихомонади, гонококи. Діагностичне значення дослідження.

Рекомендована література

1. Бойко Т.І. Клінічні лабораторні дослідження: підручник / Т.І.Бойко. – К.: Медицина, 2010. – 352 с.
2. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. І. Гематологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О., Порохнавець Л.Є. Кімова В.М., Залецький М.П. – Львів, 2011. – 203 с.
3. Вибрані лекції з лабораторної медицини. Ч. II. Загально-клінічні та цитологічні дослідження / Лаповець Л.Є., Порохнавець Л.Є., Андрушевська О.Ю., Бойків Н.Д., Лебедь Г.Б. та ін. – Львів: Ліга-Прес, 2011. – 278 с.
4. Гематологія: Посібник / А.Ф. Романова, Я.І. Виговська, В.Є. Логінський та ін.; за ред. А.Ф. Романової. – К.: Медицина, 2006. – 456 с.
5. Дзісь Є.І. Гематологія. Розлади та неоплазії клітин крові / Є.І.Дзісь, О.Я.Томашевська. – Львів: Кварт, 2007. – 220 с.
6. Діагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: МИРИОН, 2000. – 224 с.
7. Клінічна лабораторна діагностика: Практикум / Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д., Лебедь Г.Б., Порохнавець Л.Є. та ін. – Львів, 2011. – 252 с.
8. Лея Ю. Я. Оцінки клінічних результатів крові та сечі / Ю. Я.Лея. – К.: Медпрес-інформ, 2002. – 156 с.
9. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник / В.С.Камышников. – Минск, 2003. – 495с.
10. Камышников В. С. Справочное пособие по лабораторным методам исследования / В.С.Камышников. – М.: Медицина, 2001. – 912 с.
11. Клініко-лабораторні тести від А до Я та їх діагностичний профіль / Під ред. В. С. Камішнікова. – М. : Медицина, 2001. – 460 с.
12. Клінічна лабораторна діагностика: підручник/ Л.Є.Лаповець, Г.Б.Лебедь, О.О.Ястремська та ін.; за ред. Л.Є.Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.

13. Комаров Ф. І. Біохімічне дослідження у клініці / Ф.І. Комаров, Б.Ф. Коробкін. – К. : Медпрес-інформ, 2002. – 384 с.
14. Люта В.О. Мікробіологія з технікою мікробіологічних досліджень та основами імунології. Підручник / В.О. Люта, О.В. Кононов. – К.: Здоров'я, 2006. – 512 с.
15. Манастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С.Манастирська. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 168с.
16. Руководство по клинической лабораторной диагностике: Учеб. пособие. – Ч. 1-2. / Под ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища шк., 1991. – 615 с.

Додаткова:

1. Мошкин А.В. Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики «Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике» / А.В. Мошкин, В.В. Долгов –Москва, 2004. – 191 с.
2. Ситник І.О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: Підручник / І.О. Ситник, С.І Климнюк, М.С. Творко.- Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 392 с.
3. Практична мікробіологія: Посібник / С.І. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко, В.П. Ширококов. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.

ДЛЯ ПОДАТОК:

ДЛЯ ПОДАТОК:

ДЛЯ ПОДАТОК:

Укладачі:
Константиненко Людмила Анатоліївна,
Нехрещенко Віта Павлівна,
Ковальчук Людмила Петрівна

ІНСТРУКТИВНО-МЕТОДИЧНІ МАТЕРІАЛИ
ДО ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
"КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА"

