**Лекция 2 Организация лабораторной службы Российской Федерации**

**План лекции:**1. Понятие и цели Лабораторной диагностики
2. Нормативные документы ЛД
3. Химико-микроскопические методы исследования
4. Гематологические методы исследования
5. Биохимические методы исследования
6. Микробиологические методы исследования
7. Иммунологические методы исследования
8. Морфологические методы исследования
9. Молекулярно-биологические методы исследования

Одной из основных задач врача любой специальности является медицинская диагностика – распознавание состояния или установление факта наличия или отсутствия заболевания.

Диагностика основывается на всестороннем и систематическом обследовании больного, которое включает объективное исследование состояния организма. В современной практической медицине одно из ведущих мест в ряду объективных диагностических исследований занимает клиническая лабораторная диагностика.

**Клиническая лабораторная диагностика** – медицинская специальность, основной целью которой является получение объективной, точной и своевременной информации о структурном и функциональном состояниях различных клеток, тканей, органов и систем организма.

**Задачи КЛД:**

- установление диагноза болезни;

- характеристика тяжести, периода и срока заболевания;

- определения прогноза заболевания,

- Контроль за лечением заболевания.

**Объект лабораторного** исследования – живой человек

**Предмет исследования** – биологический материал, взятый у пациента с минимальной травматизацией, с целью лабораторного анализа. Образцом может быть и цельная кровь, и сыворотка, ликвор, выпотная жидкость, моча, мокрота, материал будет образцом до того момента, пока не начался анализ.

Нормативные документы, регламентирующие работу КДЛ:

* **Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.07.2010 N 541н**

"Об утверждении Единого квалификационного справочника должностей руководителей, специалистов и служащих, раздел "Квалификационные характеристики должностей работников в сфере здравоохранения«

* **Приказ Минтруда России от 31.07.2020 N 473н**

"Об утверждении профессионального стандарта "Специалист в области лабораторной диагностики со средним медицинским образованием"

Трудовая функция Медицинского лабораторного техника, согласно профессиональному стандарту:

**Выполнение клинических лабораторных исследований первой и второй категории сложности:**

* Взятие, прием, предварительная оценка и обработка биологических материалов, приготовление проб и препаратов
* Выполнение лабораторных исследований первой и второй категории сложности и отдельных этапов лабораторных исследований третьей категории сложности без оценки результатов или с первичной их оценкой, без формулирования заключения:

- химико-микроскопических;

- гематологических;

- биохимических;

- коагулологических;

- иммунологических;

- иммуногематологических;

- химико-токсикологических;

- цитологических;

- молекулярно-биологических;

- генетических;

- микробиологических, в том числе бактериологических, паразитологических и вирусологических

* Обеспечение санитарно-противоэпидемического режима медицинской лаборатории
* Ведение медицинской документации, организация деятельности находящегося в распоряжении медицинского персонала
* Оказание медицинской помощи в экстренной форме

В настоящее время лабораторная диагностика представляет собой комплекс многих субдисциплин, каждая из которых исследует определенные компоненты биологического материала, используя собственные специфические методы.

**Лабораторные химико-микроскопические исследования**

Химико-микроскопические лабораторные исследования относятся к числу самых распространенных методов диагностики заболеваний человека. Они относятся к рутинным, обзорным, часто скрининговым исследованиям. На их результатах строится дальнейший план обследования пациента, включая дополнительные лабораторные и инструментальные методы

Химико-микроскопические исследования включают в себя:

* общеклинические исследования мочи;
* общеклинические исследования кала (в том числе паразитологические);
* общеклинические исследования мокроты;
* общеклинические исследования спинномозговой жидкости;
* общеклинические исследования выпотных жидкостей (экссудатов и транссудатов);
* общеклинические исследования эякулята;
* общеклинические исследования секрета простаты;
* отделяемого мочеполовых органов;
* общеклинические исследования соскобов на клещей;
* общеклинические исследования на патогенные грибы;
* исследование желудочного содержимого и дуоденального содержимого;
* обнаружение в крови возбудителя малярии.

**Предметом исследования** может быть: моча, кал, дуоденальное содержимое (желчь), спиномозговая жидкость, эякулят, влагалищное отдедяемое, мокрота, желудочное содержимое.

**Методы исследования**: физические (определение цвета, обьема, запаха, относительной плотности, прозрачности, реакции рН), химические (наличие белка, глюкозы, кетоновые тела, желчные пигменты), микроскопия.

**Лабораторные гематологические исследования** - это комплексный анализ крови, в результате которого получают полную информацию о количественном и качественном составе клеточных элементов кровеносной системы пациента.

Клинический анализ крови включает определение:

* концентрации гемоглобина
* количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов
* цветового показателя
* лейкоцитарной формулы (процентное соотношение различных форм лейкоцитов
* форм лейкоцитов) и подсчет скорости
* скорости оседания эритроцитов СОЭ

**Предмет исследования** может быть: капиллярная или венозная кровь с 5% цитратом натрия. У взрослых берут из пальца или вены, у новорожденных – из пятки

**Методы исследования**: фотоколорометрический гемоглобинцианидный метод для определения гемоглобина; подсчет клеток крови ручным методом в счетной камере, с последующей микроскопией; автоматизированный - на гематологическом анализаторе; лейкоцитарную формулу подсчитывают в окрашенных мазках крови, микроскопия.

Кровь состоит из клеток (форменных элементов) и жидкой части – плазмы. Эти клетки – эритроциты, лейкоциты и тромбоциты – образуются и созревают в костном мозге и должны попадать в системный кровоток по мере необходимости. При изучении мазка крови под микроскопом капля крови помещается на стекло, размазывается шпателем, а затем окрашивается специальным красителем и высушивается. После этого врач лаборатории может детально рассмотреть ее под микроскопом. Расшифровка общего анализа крови предполагает подсчёт форменных элементов и расчёт некоторых косвенных показателей.

Лейкоцитарная формула - это процентное соотношение различных форм лейкоцитов в сыворотке крови и подсчет их числа в единице объема. При наличии атипичных форм клеток проводится исследование крови под микроскопом. В отличие от эритроцитов, популяция которых является однородной, лейкоциты делятся на 5 типов, отличающихся по внешнему виду и выполняемым функциям: нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, эозинофилы, базофилы. Лейкоциты, как и другие клетки крови, образуются в костном мозге. Основная их функция – борьба с инфекцией, а также ответ на повреждение тканей.

**Лабораторные биохимические исследования –** обширный раздел лабораторных исследований, включающий определение содержания различных органических и неорганических веществ, образующихся в результате биохимических реакций, а также измерение активности ферментов в сыворотке, плазме, крови, моче, ликворе и других биологических жидкостях. Биохимические анализы отражают функциональное состояние различных органов и систем, дают представление о состоянии обмена веществ.

**Биохимические лабораторные исследования** широко используются в клинической практике в тех случаях, когда в основе заболевания лежат метаболические нарушения (например, сахарный диабет), повреждения тканей (например, инфаркт миокарда), воспалительные процессы (например, ревматические заболевания) или нарушения функций органов и тканей (например, почечная недостаточность).

**Предмет исследования:** является сыворотка или плазма венозной крови

**Методы исследования:** фотоэлектроколориметрический количественный метод, электрофорез.

**Микробиологические лабораторные исследования** – это лабораторные исследования проб для определения их соответствия действующим нормативам и стандартам по содержанию условно-патогенных, патогенных, санитарно-показательных микроорганизмов и их количеству.

**Материалом** для микробиологических исследований служат чаще всего выделения человека (испражнения, моча, рвотные массы, мокрота, отделяемое ран), а также кровь, желчь, спинномозговая жидкость, промывные воды желудка, бронхов, трупный (секционный) материал и др.

**Предметом** изучения микробиологии является морфология, физиология, генетика, систематика, экология микроорганизмов и их взаимоотношения с другими формами жизни. Микробиология рассматривает широкий круг вопросов и подразделяется на ряд дисциплин:

- **Общая микробиология** изучает строение и жизнедеятельность микроорганизмов, их распространение в природе, наследственность и изменчивость.

- **Медицинская микробиология** изучает микроорганизмы, вызывающие заболевания человека, и процессы, происходящие в организме при внедрении болезнетворных микроорганизмов.

- **Санитарная микробиология** - занимается изучением микроорганизмов и процессов, вызываемых ими в окружающей среде (воде, воздухе, почве, пищевых продуктах и т.д.).

**Задачи медицинской микробиологии:**

1. Установление этиологической (причинной) роли микроорганизмов в норме и патологии.

2. Разработка методов диагностики, специфической профилактики и лечения инфекционных заболеваний, индикации (выявления) и идентификации (определения) возбудителей.

3. Бактериологический и вирусологический контроль окружающей среды, продуктов питания, соблюдения режима стерилизации и надзор за источниками инфекции в лечебных и детских учреждениях.

4. Контроль за чувствительностью микроорганизмов к антибиотикам и другим лечебным препаратам, состоянием микробоценозов (микрофлоры) поверхностей и полостей тела человека.

**Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций:**

**Микроскопический метод** (бактериоскопический) используется для изучения окрашенных мазков и мазков из нативного материала в микроскопе и позволяет характеризовать морфологию (форму) возбудителя, его отношение к различным красителям, подвижность. С помощью этого метода можно подтвердить клинический диагноз гонореи, дифтерии, возвратного тифа, сифилиса и некоторых других болезней.

**Бактериологический (культуральный)** - применяют для выделения и изучения чистой культуры возбудителя, т. е. для установления этиологии заболевания. Лабораторная диагностика большинства инфекционных болезней (брюшной тиф, дизентерия, холера, коклюш и др.) основана на применении этого метода.

**Серологический метод** (иммунологический) (от лат. serum - сыворотка) выявляет в сыворотке крови вещества, образующиеся в ответ на внедрение возбудителя в организм человека (антитела). С его помощью подтверждают диагноз бруцеллеза, туляремии, брюшного тифа и др.

**Биологический (экспериментальный) метод** - введение подопытным животным чистой культуры микроорганизмов, ядов ими выделяемых (токсинов) или исследуемого материала с целью получения характерных для данной инфекции изменений. Этот метод дает возможность воспроизвести инфекционное заболевание. Его применяют с целью постановки диагноза ботулизма, столбняка, токсико-инфекций и др.

**Иммунологические лабораторные исследования** — это ряд диагностических лабораторных методов, которые базируются на оценке взаимодействия антител и антигенов. Они позволяют оценить общее состояние иммунитета пациента, а также определить количество и функцию иммунных клеток крови и присутствующих в ней антител. Эти анализы играют решающую роль в определении групп крови, выявлении инфекционных заболеваний (гепатит и ВИЧ), аутоиммунных расстройств, аллергий, при пересадке органов и тканей иммунологический метод позволяет определять совместимость тканей и тестировать методы подавления несовместимости, также при онкологии и других патологий, связанных с иммунной системой.

Выделяют 3 основные группы нарушений в иммунной системе:

1. Количественная или функциональная недостаточность того или иного звена

иммунитета, что ведет к развитию иммунодефицитного состояния;

1. Нарушение в распознавании антигена иммунной системой, что ведет к развитию аутоиммунных процессов;
2. Гиперреактивность или извращенный иммунный ответ, проявляющийся в развитии аллергических заболеваний.

**Предмет исследования**: является сыворотка или плазма венозной крови

**Методы исследования:** гемагглютинация, иммунопреципитация, иммуноблотинг, иммуноферментный метод анализа – используется для определения уровня антител (антигенов) в биологических жидкостях – в основе всех методов лежит реакция «антиген-антитело».

**Морфологические методы исследования (цитологические и гистологические)** -  это изучение клеток и тканей, жидкостей организма под микроскопом с целью определения их природы, структуры для дальнейшей постановки точного диагноза. Часто назначают для установления диагноза и скрининга злокачественных новообразований.

**Предмет исследования**: в зависимости от цели на изучение могут взять небольшое количество биоматериала или более крупные фрагменты тканей. Взятие материала называют биопсией. При цитологии исследуют отдельные клетки или их скопление. При морфологии, в отличие от цитологии, анализируют не отдельное скопление клеток, а более крупные фрагменты тканей. Гистология позволяет визуализировать структуру и характерные изменения, которые происходят в организме во время заболевания.

Диагностическая биопсия предполагает прижизненное взятие части тканей или взвеси клеток определенного органа с целью дальнейшего изучения под микроскопом.

Изъятый биоматериал помещают в специальный контейнер и отправляют его в лабораторию. Далее специалисты проводят специальную подготовку к его изучению: биоптат фиксируют в формалине, заливают парафином. Потом полученный парафиновый блок нарезают на тонкие слайсы, окрашивают специальными реагентами и помещают под микроскоп. Окрашивание позволяет патологоанатомам определить не только наличие определенных клеток, но и их степень мутации, злокачественности и то, к какому опухолевому процессу они принадлежат.

**Молекулярно-биологические лабораторные методы** - это группа методов лабораторной диагностики, которые изучают генетические свойства материала, взятого у пациента, предназначенных для детекции в биологическом материале нуклеиновой кислоты (РНК, ДНК). В основе молекулярно-биологических исследований лежит воспроизведение механизма дублирования наследственной информации в геноме.

Молекулярно-биологическая диагностика особенно эффективна при выявлении инфекционных заболеваний (уреаплазмы, микобактерии, вирусы, хламидии) форм микроорганизмов, с которыми часто приходится сталкиваться при скрытых и хронических инфекциях. Выявлении риска развития генетических заболеваний, онкологии.

**Предмет исследования** - для проведения ПЦР необходимо выбрать биологический материал, с наибольшей вероятностью содержащий искомую ДНК (РНК), для ПЦР-анализа пригоден любой клинический материал, потенциально содержащий возбудителей инфекций (соскоб эпителиальных клеток, мазок, плазма крови, сыворотка, лейкоцитарная масса, осадок мочи, слюна, спинномозговая жидкость, биоптаты).

* Взятие материала производить из предполагаемого места обитания микробов.
* Взятие биологического материала производить, по-возможности, в период обострения инфекции.
* Для взятия биопроб необходимо пользоваться только одноразовым инструментом и одноразовыми пластиковыми контейнерами

**Метод исследования** - молекулярно-биологические исследования проводятся с применением метода ПЦР- полимеразная цепная реакция - это метод, рассчитанный на выявление нуклеиновых кислот возбудителя.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — экспериментальный метод молекулярной биологии, способ значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе). В основе метода ПЦР лежит многократное удвоение определённого участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (in vitro). В результате нарабатываются количества ДНК, достаточные для визуальной детекции.