

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

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной
диагностики ИПО

Зав.кафедрой: профессор, д.м.н.
Матюшин Г.В. Проверил: доцент, к.м.н.
Анисимова Е.Н.

РЕФЕРАТ

**Тема: Стандартизованная аналитическая технология. Исследование
ЦСЖ. (микроскопическое исследование ликвора в окрашенном
препарате).**

Выполнил: врач-ординатор Егоров А.А.

Специальность: Клинико-лабораторная
диагностика

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

КАФЕДРА

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Рецензия <доц. КМН Кафедры кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО Анисимова Елена Николаевна > на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика Егорова Алексея Андреевича> по теме: < Стандартизованная аналитическая технология Исследование ЦСЖ. (микроскопическое исследование ликвора в окрашенном препарате) >.

Рецензия на реферат – это отзыв преподавателя о проведенной самостоятельной работе ординатора, который включает критическое мнение, при оценке учитываются навыки ординатора, такие как: работа с литературой, по выбранной специальности обучения, анализ степени раскрытия выбранной тематики, умение находить и интерпретировать полученную информацию, умение аргументировать основные положения и выводы и так далее. Затем преподавателю необходимо перечислить всевозможные недочеты и дать рекомендации по оценке.

Ознакомившись с рефератом, преподаватель убеждается в том, что ординатор владеет описанным материалом, умеет его анализировать и способен аргументированно защищать свою точку зрения.

Основные оценочные критерии рецензии на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика :

Оценочный критерий	Положительный/ отрицательный
1. Структурированность	+
2. Наличие орфографических ошибок	-
3. Соответствие текста реферата его теме	+
4. Владение терминологией	+
5. Полнота и глубина раскрытия основных понятий темы	+
6. Логичность доказательной базы	+
7. Умение аргументировать основные положения и выводы	+
8. Круг использования известных научных источников	+
9. Умение сделать общий вывод	+

Итоговая оценка: положительная/отрицательная

Комментарии рецензента:

Дата:

Подпись рецензента:

Подпись ординатора:




1. Цель исследования

Технология «Исследование ЦСЖ(микроскопическое исследование в окрашенном препарате.» выполняется с целью диагностики болезней, при профилактических обследованиях, для мониторинга течения болезни и эффективности лечения.

Ликвор (спинномозговая жидкость, СМЖ) — своеобразная биологическая жидкость, отличающаяся от всех остальных жидкостей организма, необходимая для правильного функционирования мозговой ткани. Она образуется в сосудистых сплетениях желудочков головного мозга, поступает в субарахноидальные пространства головного и спинного мозга в результате ультрафильтрации плазмы крови через стенки сосудов.

Изучение клеточного состава СМЖ является важной частью ликворологического исследования. Оно имеет важное значение при диагностике ряда воспалительных заболеваний нервной системы, инсультов, опухолей ЦНС и других патологических процессов.

Настоящая стандартизованная технология, в соответствии с положениями системы менеджмента качества в медицинской лаборатории (ГОСТ Р ИСО 15189-2009) состоит в установлении единых правил доставки материала в лабораторию; требований к качеству образцов; порядка выполнения исследования; контроля качества; регистрации и оценки результатов количественного определения физических свойств ЦСЖ в клиничко-диагностических лабораториях и научно-исследовательских учреждениях.

2. Требования к обеспечению выполнения технологии

2.1.Требования к специалистам и вспомогательному персоналу.

Врачи клинической лабораторной диагностики или биологи должны иметь последипломное образование и периодически проходить повышение квалификации в установленном порядке. Врачи должны иметь сертификат специалиста. Врачи или биологи выполняют микроскопическое исследование ликвора.

Специалисты со средним образованием (медицинский технолог, медицинский лабораторный техник, фельдшер-лаборант, лаборант) должны иметь соответствующую квалификацию по диплому, сертификат специалиста и проходить в установленном порядке повышение квалификации. Они проводят макроскопическое исследование, физические измерения, химические исследования, подготовку препарата ликвора для микроскопического исследования.

Требования к знаниям и умениям специалистов, выполняющих данное исследование, соответствуют требованиям образовательных стандартов.

2.2. Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала

Лица, отвечающие за сбор, доставку и анализ образцов ликвора, должны быть обучены правилам биологической безопасности. Все образцы биологического материала считаются потенциально инфицированными, так как нельзя знать заранее, инфицирован ли образец.

Персонал должен соблюдать общие правила техники безопасности, принятые для работы в клиничко-диагностических лабораториях. Рекомендуются строго соблюдать общие предосторожности при ручной обработке образцов мочи пациентов и работе с другими материалами, используемыми при выполнении анализа. Это касается не только биологической опасности, но и работы с химическими реактивами и электроприборами.

Для обеспечения безопасности работы в лаборатории необходимо следовать правилам стандарта ГОСТ Р 52905 —2007 (ИСО 15190:2003) Требования безопасности. [1].

Потенциально опасные отходы, загрязненные остатками биологического материала, образующиеся в процессе выполнения технологии, дезинфицируют. После дезинфекции собирают в одноразовую твердую герметическую упаковку, маркируют надписью с указанием класса отходов, (например, «Опасные отходы, класс Б), кода подразделения, фамилии ответственного за сбор отходов лица, затем помещают в специальные контейнеры, установленные в определенных местах на территории лечебного учреждения [2, 3].

Все сотрудники должны выполнять инструкции и правила техники безопасности, изложенные в технических паспортах к электрическим приборам, используемым в технологии (фотометры, микроскопы, центрифуги); персонал, работающий с реактивами, должен быть обучен обращению с ними, использовать средства персональной защиты, соблюдать правила личной гигиены.

Для предупреждения пожаров необходимо соблюдать правила пожарной безопасности в соответствии с действующими нормативными документами.

2.3 Условия выполнения технологии клинического лабораторного анализа мочи и функциональное назначение.

Комплекс исследований «Исследование ЦСЖ (микроскопия в окрашенном препарате)» выполняется в клинико-диагностических лабораториях амбулаторно-поликлинических и стационарных учреждений здравоохранения (любой формы собственности).

Функциональное назначение услуги: проводится с целью диагностики болезней, наблюдения за течением и прогрессированием болезни и эффективностью лечения.

2.4. Материальные ресурсы, необходимые для выполнения технологии:

- Световой микроскоп с иммерсионным объективом; микроскоп ультрафиолетовый МУФ-ЗМ, или люминесцентный;
- Реактивы :
 1. Азур II (1 г на 1 л дистиллированной воды)
 2. Эозин (1 г на 1 л дистиллированной воды)
 3. Буферная смесь рН 7,0-7,2 (3,2г Na_2HPO_4 и 1,63 г KH_2PO_4 на 1 л дистиллированной воды)
 4. Метиловый спирт
- Термостат на 40-50С
- Лабораторная центрифуга.
- Масло иммерсионное.
- Расходный материал:
 - Пластиковые одноразовые пробирки с крышками для ликвора(без ЭДТА и фторидов.
 - Устройство для перемешивания образцов ликвора;
 - пробирки;
 - Штативы для пробирок;
 - предметные стекла;
 - Резиновые перчатки
- Халат медицинский
- Дезинфицирующий раствор
- Емкость для дезинфицирующего раствора

3. Характеристика выполнения метода исследования ЦСЖ микроскопия в окрашенном препарате.

Технология исследования ЦСЖ(микроскопия в окрашенном препарате) включает следующие последовательные этапы:

- а) взятие, доставка, прием и регистрация биологического материала;
- б) приготовление аналитических проб из доставленных образцов (если этого требует технология исследования);
- в) микроскопия окрашенных препаратов
- г) регистрация заключений.

3.1. Правила взятия о образцов ЦСЖ, условия хранения, доставки и регистрации (преаналитический этап).

Преаналитический этап проводится в лечебном отделении и после доставки биоматериала в лабораторию— в самой лаборатории. Врачами-клиницистами составляются заявки на исследования. В заявке должны быть указаны ФИО пациента, пол, возраст или год рождения, отмечен способ получения биоматериала, время сбора ЦСЖ, обязательно должен быть указан клинический диагноз, хотя бы на уровне диагностического предположения и влияющие на анализ лекарственные препараты. Отсутствие в заказе диагноза или принимаемых пациентом лекарств, влияющих на результаты, может привести к неправильной трактовке полученных результатов и ошибке в постановке диагноза. Средний медицинский персонал отделения отвечает за подготовку пациента, хранение образца в течение строго определенного времени после сбора и доставку образца ЦСЖ в лабораторию. В лаборатории для медицинского персонала клинических отделений должны быть составлены письменные инструкции по сбору, условиям хранения и транспортировки образцов ЦСЖ.

Для получения ликвора чаще всего используют люмбальную, субокципитальную и вентрикулярную пункцию.

Для получения спинно- мозговой жидкости производится люмбальная пункция. Прежде чем начать собирать жидкость для лабораторных исследований, измеряют ее давление. Оно должно быть в пределах 90-180 мм.вод.ст. Задержка дыхания, давление на живот, пороки сердца, воспаления оболочек мозга, закупорка внутричерепных венозных синусов, повреждение мозга, его отек могут вызвать повышение внутричерепного давления до уровня свыше 180 мм.вод.ст. Сначала берут 1-2 мл СМЖ. Заметное снижение

давления в этом случае говорит о наличии мозжечковых грыж или компрессии спинного мозга. В таких случаях сбор жидкости прекращают.

Больные с частичным или полным блоком спинномозгового канала могут иметь низкое ликворное давление (менее 80 мм.вод.ст.), которое может упасть до нуля при взятии только 1 мл СМЖ. В этом случае ее сбор также прекращают. Если давление нормальное или заметно не меняется при взятии 1-2 мл жидкости, то ее можно брать еще.

Необходимо первые 2-3 капли ликвора удалить, что позволяет освободиться от примеси "путевой" крови, попадающей в первую порцию ликвора в результате повреждения иглой кровеносных сосудов, расположенных в области эпидурального пространства или конского хвоста.

Обычно жидкость собирать в три отдельные стерильные пластиковые пробирки с пробками: для клинического анализа, для биохимических и серологических исследований, для бактериологического анализа. Для клинического и биохимического анализа собирают первые 1-2 мл СМЖ. Для бактериологического посева используют следующую порцию жидкости в количестве 2-5 мл. При подозрении на туберкулезную или грибковую этиологию менингита следует брать не менее 10 мл СМЖ.

Пробирки снабжают этикетками с данными о больном (ФИО, отделение указать номер, номер истории болезни, время пункции, диагноз и необходимые исследования). Обычно после взятия 10-20 мл СМЖ давление составляет 40-90 мм.вод.ст. Полученные пробы немедленно доставляют в лабораторию. Хранение и транспортировка: из-за быстрой деструкции клеток ликвор должен быть доставлен в лабораторию как можно быстрее. Если предстоит длительная транспортировка на расстояние до 200 км на автомобиле (примерно в течение 3 часов) –перевозить стоит на льду, не замораживать, не добавлять консервантов, не фиксировать. Длительное хранение клеточного материала осуществляется при -70°C . Для цитологических исследований самым оптимальным считается приготовление препаратов непосредственно сразу после получения ликвора с помощью цитоцентрифуги. Такие препараты стабильны в течение 4-6 дней при комнатной температуре, а при фиксации в ацетоне –до 3-12 месяцев при -0°C (при определении антигенов иммуноцитологическими методами). Для определения ряда биохимических показателей возможно хранение образцов в замороженном состоянии при низких температурах.

С помощью люмбальной пункции у взрослого человека можно без осложнений получить 8-10 мл ликвора, у детей, включая детей младшего возраста, 5-7 мл, у грудных детей 2-3 мл.

3.2 Идентификация образца

В направлении на исследование должна быть включена следующая информация: фамилия и инициалы пациента, возраст или дата рождения, пол, отделение медицинского учреждения и палата (в стационаре), номер медицинской карты (идентификационный номер), диагноз, дата и время сбора образца ликвора (с указанием порции – утренняя, случайная и т.д.), время доставки образца в лабораторию. При необходимости указать принимаемые пациентом лекарства.

3.3. Приемлемость образца

Так как точность результатов исследования ликвора во многом зависит от качества доставленного образца ликвора, необходимо неукоснительно следовать правилам взятия и транспортировки ликвора.

После доставки образца ликвора в лабораторию сотрудник лаборатории, принимающий материал, должен проверить правильность оформления направления на анализ, маркировку посуды (код или фамилия больного и другие данные должны быть идентичны данным, указанным в бланке-направлении) и зарегистрировать поступивший материал. Образец не должен содержать примесей и чужеродных материалов.

Пр и м е ч а н и е — Критериями для отказа в приеме образца ЦСЖ на исследование могут быть:

- немаркированные или неправильно маркированные образцы,
- недостаточное количество ЦСЖ (менее 50 – 100 мл) для проведения всех исследований,
- доставка ликвора в грязной или не соответствующей требованиям посуде,

3.4 Исследование ЦСЖ(микроскопия в окрашенном препарате).

Клетки ликвора имеют совершенно другое сродство к красящим веществам, чем клетки крови, поэтому и подбор красителей должен быть иным. Хорошие результаты дает окраска препаратов по Розиной, Возной, Алексееву.

Окраска по Розиной. СМЖ центрифугируют 7–10 минут при 1000об/мин. Надосадочную жидкость сливают, осадок помещают на обезжиренное стекло, легким покачиванием распределяют его на поверхности стекла и через 1–2 минуты жидкость сливают. Стекло ставят в вертикальное положение и высушивают в сушильном шкафу при температуре 40–50 °С и фиксируют 1–2 минуты метанолом и красят по Романовскому: препараты окрашивают 6–12 мин, в зависимости от толщины мазка. Препарат промывают дистиллированной водой и высушивают. Если ядра имеют бледно голубой цвет, мазок докрашивают еще 2–3 минуты.

Окраска по Возной. Осадок, полученный при центрифугировании, выливают на стекло, слегка покачивая его, равномерно распределяют на поверхности. Высушивают при комнатной температуре в течение суток, фиксируют 5 минут метиловым спиртом. Затем окрашивают раствором азур эозина (таким же, как для окраски крови, но разведенным в 5 раз) в течение 1 ч. Если клетки бледно окрашены, докрашивает неразведенной краской под контролем микроскопа от 2 до 10 минут. Чем больше форменных элементов в ликворе, особенно при наличии крови, тем продолжительнее окраска.

Окраска по Алексееву. На высохший, но не фиксированный препарат наносят 6–10 капель красителя Романовского–Гимзы, той же пипеткой осторожно распределяют её на весь препарат и оставляют на 30 секунд. Затем добавляют, не сливая краски, 12–20 капель дистиллированной воды, предварительно нагретой до температуры 50–60 °С, в соотношении 1 : 2. Покачиванием препарата перемешивают краску с водой и оставляют на 3 минуты. Смывают краску струёй дистиллированной воды, сушат препарат фильтровальной бумагой и микроскопируют. Метод пригоден для проведения срочного цитологического исследования.

Интерпретация результатов:

Содержание клеточных элементов в ликворе здоровых взрослых и новорожденных в % (по Н.У.Тиц, 1997)

Клетки	Взрослые	Новорожденные
Лимфоциты	60±20	20±15
Моноциты	30±15	70±20
Нейтрофилы	2±4	4±4
Эозинофилы	Редко	Редко
Клетки эпителия, эпэндимоциты	Редко	Редко
Эритроциты	Отсутствуют	Отсутствуют

Лимфоциты в количестве 2–4 клеток/мкл входят в состав нормального цитоза СМЖ, по величине чаще сходны с эритроцитами. При подсчете цитоза в счетной камере в окрашенных фуксином лимфоцитах хорошо видно круглое ядро и узкий неокрашенный ободок цитоплазмы.

В окрашенных препаратах лимфоциты СМЖ выглядят в виде клеток округлой формы с круглым гиперхромным ядром, занимающим почти всю цитоплазму. Цитоплазма базофильная, без включений, иногда имеет вид узкого ободка, поэтому клетки выглядят голаядерными. Количество их незначительно увеличивается при опухолях центральной нервной системы. В случаях лимфоидного плеоцитоза наряду с малыми лимфоцитами обнаруживаются средние и большие с менее компактным расположением хроматина в ядре, изредка могут быть выявлены лимфоциты с ядром в состоянии прямого деления. Часто при лимфоидном плеоцитозе встречаются мелкие лимфоциты с гиперхромными пикнотичными ядрами. Значительно или резко выраженный лимфоидный плеоцитоз ($> 85\%$ всех лейкоцитов) наблюдается при туберкулезном менингите, цистицеркозном арахноидите. В нейрохирургической практике преобладание лимфоцитов в клеточном составе ликвора отмечается обычно в послеоперационном периоде, когда нейтрофильный плеоцитоз, отмечающийся в первые дни после операции, постепенно приобретает лимфоидный характер.

Плазматические клетки встречаются в ликворе только при патологических процессах. Образуются они из В-лимфоцитов в фолликулах корковой зоны лимфатических узлов и краевой зоны белой пульпы селезенки, где при встрече с антигеном проходят этап антигензависимой дифференцировки. Дифференцировка В-лимфоцитов в плазмобласты продолжается 6–12 часов, затем после нескольких делений плазмобласт превращается в проплазмоцит, из которого и образуется зрелая плазматическая клетка. Основная их функция — синтез и секреция антител, во время этих процессов в клетках активируется синтез белков, что сказывается на морфологии их цитоплазмы, которая становится на цитоплазму секретирующих клеток.

Ядро и цитоплазма хорошо окрашиваются фуксином. В окрашенных препаратах плазматические клетки по размерам крупнее лимфоцитов, имеют округлую форму, иногда могут быть овальной или неправильной формы, и круглые, гиперхромные, глыбчатые ядра, которые часто расположены эксцентрично, иногда просматривается зона просветления цитоплазмы вокруг ядра. Размеры клеток колеблются от 6 до 12 мкм. Встречаются двухъядерные формы. Цитоплазма базофильна, иногда просматриваются

единичные вакуоли. В ликворе плазматические клетки обнаруживаются при длительно текущих воспалительных процессах в головном, спинном мозге и в мозговых оболочках, так же характерно присутствие плазматических клеток в ликворе у больных рассеянным склерозом, гиперкинетическим прогрессирующим панэнцефалитом. При хронических формах нейросифилиса плазмоцитоз сочетается с нормоцитозом или незначительным плеоцитозом. Так же могут обнаруживаться при опухлях мозга, туберкулезном менингите, саркоидозе, коллагенозах с вовлечением в процесс ЦНС, после кровоизлияния. В отдельных случаях их количество достигает 26%. Появление плазматических клеток в СМЖ в послеоперационном периоде свидетельствует о вялом течении процессов заживления.

Нейтрофильные гранулоциты в СМЖ здорового человека практически не встречаются, по виду идентичны таким же клеткам периферической крови. Вследствие цитолитических свойств СМЖ, находящиеся в ней нейтрофильные гранулоциты претерпевают различные изменения, при хранении ликвора начинает нарушаться их морфологическое строение. Ядра нейтрофильных гранулоцитов подвергаются лизису либо уплотняются, округляются, теряют перемычки и иногда похожи на лимфоциты. Контуров клеток становятся нечеткими, иногда они теряют свои очертания. В окрашенных препаратах можно выявить все стадии распада нейтрофильных гранулоцитов, начиная с набухания ядра и кончая полным разрушением клетки. Гранулоциты привлекаются в очаг воспаления бактериальными токсинами. В очаге воспаления они фагоцитируют бактерии, некротические ткани, при кровотоке — эритроциты. Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов ограничена их старением — в цитоплазме появляются капли жира, возрастает количество сегментов ядра (5 и более), цитоплазма вакуолизируется, клетка теряет четкие границы. Наличие или преобладание в СМЖ нейтрофильных гранулоцитов наблюдается при попадании в нее крови, а также при воспалительных заболеваниях и после операций на центральной нервной системе. Обнаружение в СМЖ, не содержащей крови, нейтрофильных гранулоцитов, даже в небольшом количестве, указывает на имевшую место или текущую воспалительную реакцию со стороны мозговых оболочек. Наличие или преобладание в СМЖ неизмененных нейтрофильных гранулоцитов свидетельствует об остром воспалительном процессе. Внезапное проявление резко выраженного плеоцитоза нейтрофильного характера наблюдается при прорывах абсцесса в ликворные пространства, в то время как абсцессы с локализацией в глубине мозговой ткани сопровождаются нерезко выраженным плеоцитозом с преобладанием лимфоцитов. Присутствие в ликворе измененных

нейтрофилов указывает на затухание воспалительного процесса. Обнаружение наряду с измененными нейтрофильными гранулоцитами неизмененных, свидетельствует о продолжении процесса воспаления. Наличие неизмененных нейтрофильных гранулоцитов указывает на примесь свежей крови.

Эозинофильные гранулоциты в СМЖ здоровых людей не встречаются. Их появление расценивается как реакция сосудов соединительной ткани субарахноидального пространства на чужеродные белки.

При комнатной температуре в СМЖ разрушаются в течение 2–3 часов. В камере можно обнаружить по характерной равномерной блестящей

зернистости, но окончательно убедиться в их наличии можно только при исследовании окрашенных препаратов. В этих же случаях эозинофильные гранулоциты по своим морфологическим особенностям не отличаются от таких же клеток периферической крови, имеют ту же величину и оранжево-красную, четкую, довольно крупную и равномерную зернистость в цитоплазме. Часто эозинофильные гранулоциты СМЖ подвергаются разрушению, при этом их можно обнаружить по островкам оранжевой зернистости, лежащей внеклеточно.

Эозинофилы в ликворе выполняют функцию фагоцитоза. Они фагоцитируют бактерии, споры грибов, и комплексы антиген-антитело. При фагоцитозе эозинофилы дегранулируются. Эозинофильные гранулоциты обнаруживаются в ликворе при кровоизлияниях в подпаутинно пространство, токсическом реактивном, туберкулезном, сифилитическом, эпидемическом менингите, опухолях мозга, цистицеркозе головного мозга. При цистицеркозном арахноидите, осложненном менингитом, появляется плеоцитоз (в мазках преобладают нейтрофильные гранулоциты), количество эозинофильных гранулоцитов в СМЖ уменьшается до единичных в препарате.

В ряде случаев большое количество эозинофильных гранулоцитов обнаруживается в содержимом кист опухолей мозга, например, при раке. Активно протекающее заживление послеоперационной раны после удаления опухоли мозга часто сопровождается появлением в СМЖ эозинофильных гранулоцитов. Наличие в ликворе эозинофильных гранулоцитов при примеси к ней свежей крови диагностического значения не имеет.

Моноциты — это вторая основная популяция клеток в нормальном ликворе, составляет 1–3 клетки/мкл. В окрашенных препаратах ничем не отличаются от моноцитов периферической крови. Это крупные клетки размером 10–15

мкм. Ядра имеют вид почки или подковы, иногда овальной или неправильной формы. Структура ядер рыхлая, окрашивается азур-эозином в красновато-фиолетовый цвет, более светлое, чем у лимфоцитов и нейтрофилов, иногда в ядрах видны следы нуклеол. Цитоплазма окрашивается в дымчатый или серовато-синий, а иногда в бледно-голубой цвет и может содержать азурофильные микрогранулы, располагающиеся вокруг ядра. Окраска цитоплазмы зависит от «возраста» клетки: чем клетка моложе, тем синее цитоплазма. Цитоплазма может быть мелковакуолизирована. Моноциты в ликворе быстрее подвергаются дистрофии, чем лимфоциты.

Крупные моноциты диаметром 16–30 мкм называют активированными моноцитами или незрелыми макрофагами. От макрофагов они отличаются отсутствием в вакуолях фагоцитированных частичек. Они могут быть обнаружены в ликворе при воспалительном процессе, после энцефалографии (как неспецифический показатель) или интратектального введения лекарственных препаратов.

Увеличение количества моноцитов отмечается при хронических вялотекущих процессах в ЦНС: туберкулезном менингите, цистецеркозе, нейросифилисе, вирусном менингите, рассеянном склерозе, гиперкинетическом прогрессирующем панэнцефалите, ишемических заболеваниях и опухолях мозга. Обнаружение моноцитов в ликворе после оперативного вмешательства на ЦНС в сочетании с плазматическими клетками и полным отсутствием макрофагов свидетельствует о вялотекущем заживлении послеоперационной раны.

Моноцитарная реакция неспецифична и обнаруживается как часть «смешанной клеточной реакции», включающей увеличение количества нейтрофилов, лимфоцитов и плазматических клеток.

Макрофаги крупные клетки округлой формы величиной от 7 до 17 мкм, иногда 20–30 мкм, могут иметь ядра различной формы, чаще расположенные на периферии клеток, цитоплазма содержит включения и вакуоли (клетки, бактерии, вирусы, кристаллы, капли жира и др.).

Если в цитоплазме расположена крупная вакуоль, ядро оттесняется ею к периферии и принимает форму т.н. перстневидных клеток. Функцией макрофагов является активное поглощение и переваривание клеточных и других элементов, взвешенных в СМЖ, т. е. ее очищение. У здорового человека макрофаги в ликворе не встречаются. Наличие их в ликворограмме при нормальном цитозе говорит об имевшем место кровотечении или

воспалительном процессе в центральной нервной системе. Макрофаги всегда обнаруживаются в ликворе больных с опухолями мозга, растущими в просвет желудочков. Наличие большого количества макрофагов в послеоперационном периоде имеет хорошее прогностическое значение. Полное отсутствие макрофагов при плеоцитозе или наличие их в количестве 1–2% является плохим прогностическим признаком.

Среди макрофагов выделяют бактериофаги, эритрофаги, лейкофаги, макрофаги с кристаллами гемосидерина, гематоидина, липофаги (так называемые, зернистые шары).

Липофаги («зернистые шары», клетки в состоянии жировой дистрофии) — это макрофаги, содержащие в цитоплазме капли жира.

В счетной камере эти клетки различной величины, чаще округлой формы, окрашены в темно-коричневый цвет, ядра их не видны. В окрашенных препаратах липофаги имеют небольшое, периферически-расположенное ядро и крупную ячеистую цитоплазму. Величина ячеек различна и зависит от величины включенных капель жира. Перекладины ячеек могут иметь вид тонких нитей или более грубой базофильной сети. Липофаги обнаруживаются в СМЖ лишь в патологических случаях, обычно в жидкости из мозговых кист различного происхождения, из желудочков мозга при некоторых опухолях (краниофарингиоме, эпендимоме) в послеоперационном периоде. Иногда вид зернистых шаров имеют клетки опухолей центральной нервной системы, попадающие в СМЖ.

Клетки эпителия (мезотелия, эндотелия паутинной мозговой оболочки) в ликворе встречаются редко. Это довольно крупные диаметром 25–40 мкм, чаще круглые клетки с небольшими круглыми или овальными ядрами. При окраске реактивом Самсона ядра клеток окрашены в вишневый цвет, а цитоплазма — в розовый. При окраске азур-эозином ядро округлой формы располагается центрально или эксцентрично, имеют сетчатую структуру, окрашиваются в фиолетовый цвет, цитоплазма базофильна.

Клетки эпителия, ограничивающего подпаутинное пространство, обнаруживаются в СМЖ при опухолях мозговых оболочек (в области задней черепной ямки, основания мозга) и воспалительных процессах, черепно-мозговых травмах.

Атипичические клетки — чаще являются клетками опухолей ЦНС или её оболочек. Так же могут встречаться при хроническом воспалительном процессе (туберкулезный менингит, менингоэнцефалит, рассеянный склероз, энцефаломиелит) это клетки эпендимы желудочков, паутинной оболочки, а

так же лимфоциты, моноциты и плазмоциты с изменениями ядра и цитоплазмы. Измененные клетки и тени клеток обнаруживаются при длительном их нахождении в СМЖ. Чаще всего подвергаются аутолизу нейтрофильные гранулоциты, клетки паутинной оболочки, эпэндимы желудочков. Диагностического значения измененные клетки и тени клеток не имеют.

Кристаллы в ликворе обнаруживаются редко. На 4–5 день после субарахноидального кровоизлияния, черепно-мозговой травмы обнаруживаются кристаллы гемосидерина, в случае распада опухоли в содержимом кисты можно обнаружить кристаллы гематоидина, холестерина, билирубина, так же кристаллы холестерина образуются в очагах жировой дистрофии, некроза ткани мозга и в кистах мозга. Для выявления кристаллов в СМЖ используют реакции, представленные в таблице

Реакции, используемые для выявления кристаллов в СМЖ

Кристаллы	Реакция
гематоидина	В азотной кислоте дают быстро исчезающее синее окрашивание.
гемосидерина	Выявляются реакцией на берлинскую лазурь, клетки окрашиваются в синий и голубой цвет
холестерина	Растворяются в спирте, эфире, расплавляются в концентрированной серной кислоте с образованием конденсационных соединений красного цвета
билирубина	Растворимы в хлороформе и щелочах

Регистрация результатов

В бланке ответа должно быть указано:

- название лаборатории и медицинской организации;
- информация о пациенте – ФИО, пол, возраст;
- название биологического материала и всех исследуемых показателей;
- дата получения пробы и, если это возможно, время получения;
- результаты исследования с указанием единиц, в которых должны быть выражены результаты ; референтные интервалы;
- фамилия и подпись сотрудника, выполнившего исследование.

Порядок выдачи результатов должен быть определен инструкцией, утвержденной руководителем медицинской организации. Все отказы выполнения исследования мочи также должны регистрироваться (с указанием причины отказа).

4. Контроль качества исследования на биохимических анализаторах

4.1. Порядок проведения контроля качества

Комплексная система контроля качества клинических лабораторных исследований осуществляется путем:

- установления единых требований к аналитическому качеству количественных методов;
- ежесерийного выполнения процедур внутрилабораторного контроля качества с использованием контрольных материалов (оперативный контроль качества);
- регулярного участия в программах внешней оценки качества (ГОСТ Р 53133.1—2008) [4].

Внутрилабораторный контроль качества представляет собой систему повседневного слежения за точностью получаемых на колориметре результатов для поддержания стабильности аналитической системы, выявления и устранения недопустимых случайных и систематических погрешностей и заключается в сопоставлении результатов исследования проб с результатами исследования контрольного материала и измерении величины отклонения.

Проводится в соответствии с инструкцией к прибору и инструкцией к используемым контрольным материалам и требованиями стандарта ГОСТ Р 53133.2—2008 [5].

Внутрилабораторный контроль качества должен быть:

- систематическим, повседневным, проводиться по единым правилам, т.е. анализ контрольных проб должен включаться в обычный ход работы лаборатории;
- охватывать все области измерений (норма, высокие и низкие патологические значения);

- производиться в реальных условиях работы лаборатории (так же, как обычные пробы пациентов, т.е. тем же персоналом и в тех же условиях);
- объективным (желательно "шифровать" контрольный материал, чтобы исполнитель не знал, где опыт, а где контроль).

Принцип проведения внутреннего контроля достаточно прост: периодически (в каждой серии) нужно проводить измерение одного и того же контрольного материала, а результаты этих измерений заносить на контрольную карту.

Хорошо организованная система внутреннего контроля качества позволяет достаточно эффективно выявлять ошибки, связанные с:

- внешними варьирующими факторами (реактивы, калибраторы, расходные материалы);
- внутренними варьирующими факторами (организация в лаборатории "домашних реактивов", обучение персонала, обслуживание приборов, ведение документации, реакция персонала на возникающие проблемы).

4.2. Внешняя оценка качества

Внешняя оценка качества необходима для оценки правильности результатов лабораторных исследований и сопоставимости результатов, полученных в разных лабораториях. Каждая лаборатория должна обязательно участвовать во внешней оценке качества. Специальными организациями, имеющими лицензию на проведение межлабораторной оценки качества выполнения лабораторных исследований, в том числе общего белка ликвора, между лабораториями периодически (несколько раз в год) распределяются контрольные образцы с установленным содержанием химических компонентов для контроля правильности. Полученные лабораториями результаты регистрируются и заключения рассылаются участвующим лабораториям для сравнительной оценки правильности выполнения исследования. В случае неудовлетворительной оценки результатов лаборатория должна принимать соответствующие меры для исправления своих ошибок.

Непрерывное образование специалистов

Для обеспечения качества анализа квалификация персонала должна соответствовать сложности выполняемого исследования. Весь персонал

лаборатории должен периодически (раз в пять лет) проходить обучение на циклах усовершенствования, которые проводятся медицинскими образовательными учреждениями, имеющими соответствующую лицензию. Каждый специалист должен заниматься самообразованием. Лаборатория должна иметь доступную для пользования современную литературу, включая периодические издания по лабораторной диагностике и атласы. Специалистам лаборатории необходимо участвовать в конференциях и семинарах.

5.Трудозатраты на выполнение технологии

Трудозатраты рассчитаны в условных единицах трудозатрат (УЕТ) на биохимическое исследование образца крови.

Код Услуги	Вид исследования	Трудозатраты в УЕТ.	
		Специалиста со средним образованием	Врача клинической лабораторной диагностики
08.05.001.	Регистрация	0,5	
	Микроскопия окрашенного препарата	0,6	
	Оценка результата и подготовка заключения		0.1

Примечание: УЕТ – условные единицы трудозатрат, 1 УЕТ равна 10 мин.

Библиография

1. ГОСТ Р ИСО 15189 □ 2009 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности.
2. ГОСТ Р 52905 □ 2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.
3. «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений». СанПиН 2.1.1.728-99., Москва, 1999 г.
4. ГОСТ Р 53133.1—2008 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 1. Пределы допускаемых погрешностей результатов измерения аналитов в клиничко-диагностических лабораториях.
5. ГОСТ Р 53133.2—2008 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов.
6. ГОСТ Р 53079.4—2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. 4 Правила ведения преаналитического этапа.
7. Приказ №380 от 25 декабря 1997 года. О состояниях и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации.
8. «Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Москва, 1991.
9. Клиническая лабораторная диагностика. Учебное пособие 2010 г. А.А. Кишкун.
10. Лабораторные методы исследования в клинике. Под редакцией профессора В.В. Меньшикова. Москва «Медицина», 1987 год.

Список литературы

1. ГОСТ Р ИСО 15189 □ 2009 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности.
2. ГОСТ Р 52905 □ 2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.
3. «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений». СанПиН 2.1.1.728-99., Москва, 2017 г.
4. ГОСТ Р 53133.1—2008 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть Г Пределы допускаемых погрешностей результатов измерения аналитов в клиничко-диагностических лабораториях.
5. ГОСТ Р 53133.2—2015 Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 2. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов.
6. ГОСТ Р 53079.4—2016 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. 4 Правила ведения преаналитического этапа.
7. Приказ №380 от 25 декабря 1997 года. О состояниях и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации.
8. «Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Москва, 1991.
9. Клиническая лабораторная диагностика. Учебное пособие 2015 г. А.А. Кишкун.
10. Лабораторные методы исследования в клинике. Под редакцией профессора В.В. Меншикова. Москва «Медицина», 2018 год.