# День 1

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

Клинико-диагностическая лаборатория ФГБУЗ « Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава России г. Красноярск располагается по адресу г. Красноярск, ул. Караульная, 45 и работает согласно : СанПиН 2.1.3.2630 -10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»» Постановление №58 от 18.05.2010.

## Инструктаж по технике безопасности.

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

Требования безопасности перед началом работы:

1. Перед началом работы персонал лаборатории должен надеть санитарно—гигиеническую одежду, приготовить средства индивидуальной защиты.
2. Персонал лаборатории обязан подготовить свое рабочее место к безопасной работе, привести его в надлежащее санитарное состояние, при необходимости подвергнуть влажной уборке.
3. Перед началом работы персонал должен проверить исправность работы электрооборудования, местного освещения, вытяжного шкафа, средств малой механизации, других приспособлений, посуды, вспомогательных материалов и иных предметов оснащения рабочего места, уточнить наличие и достаточность реактивов.

Требования безопасности во время работы:

1. Персонал лаборатории во время работы не должен допускать спешки.
2. С целью предупреждения инфицирования медицинскому персоналу лаборатории следует избегать контакта кожи и слизистых оболочек с кровью и другими биологическими материалами.
3. Работать с исследуемым материалом необходимо в резиновых перчатках, избегая уколов и порезов.
4. Запрещается употреблять пищу в КДЛ, курить.

Состав помещений КДЛ

День 2-3

Определение СОЭ ручным и автоматическим методами

Автоматический анализатор определения СОЭ венозной и капиллярной крови Roller 20 PN компании Alifax- это автоматический анализатор, позволяющий определить СОЭ за 20секунд.

Преимущества:

* Минимальный обьем крови
* Минимальное время анализа образца
* Максимальная производительность
* Не требует реагентов
* Связь с ЛИС

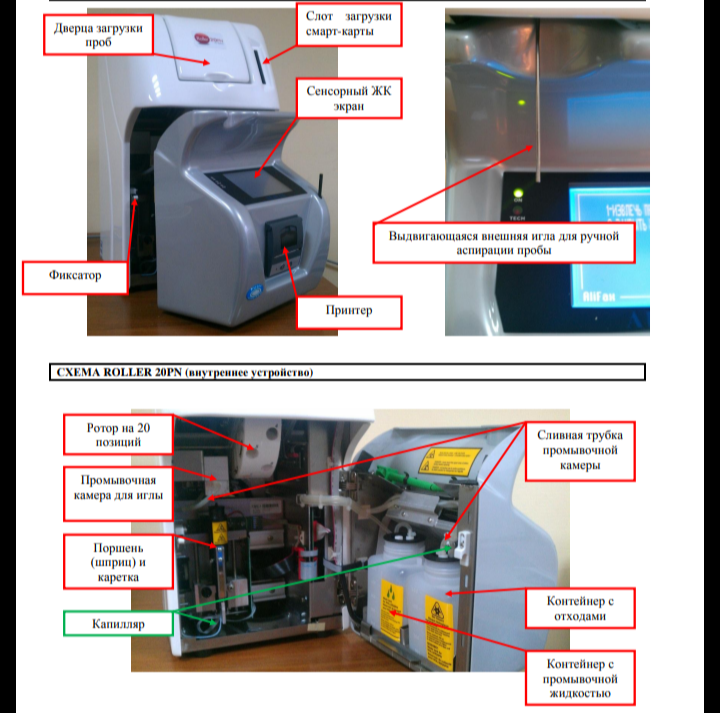
 

Рис. 1 Roller 20 PN Рис 2. Схема Roller 20 PN

Принцип работы с анализатором:

1. Ставим пробирки в штатив по порядку номера.
2. Открываем крышку анализатора.
3. Ставим пробирки в ячейки.
4. Нажимаем кнопку измерить.
5. Ждем результаты.
6. Результаты записываем в журнал, направление и подтверждаем в компьютере.

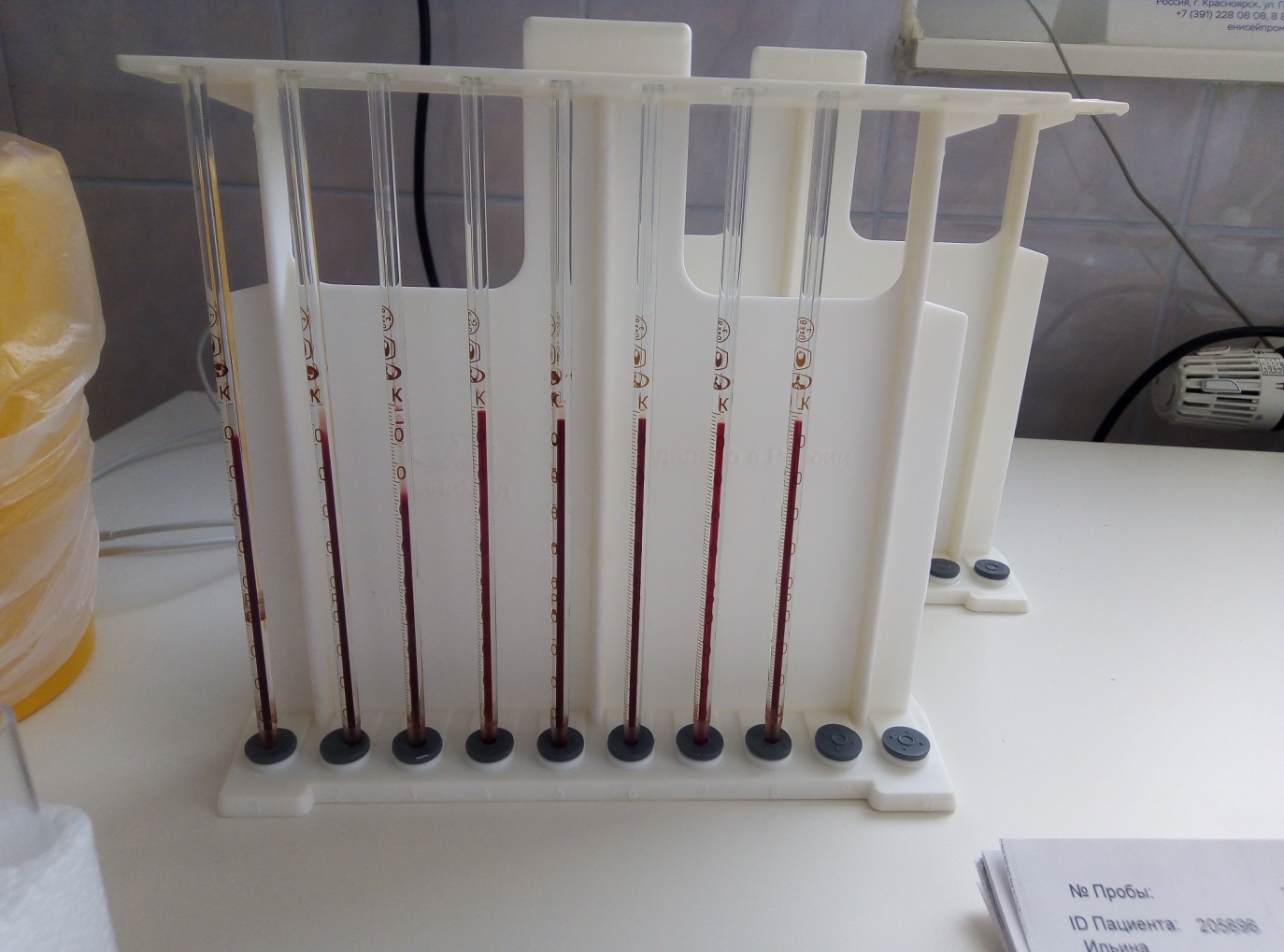


Рис.3 Штатив с капиллярными стеклянными трубками для определения СОЭ. Метод Панченкова.

Проба основывается на способности эритроцитов оседать под действием гравитации. В норме величина СОЭ у женщин в пределах 2-15 мм/ч, а у мужчин 1-10мм/час

День 4-6

Приготовление и окрашивание мазков. Подсчет лейкоцитарной формулы.

Мазки крови готовят на предметных стеклах, которые предварительно моют и обезжиривают.

Приготовление мазков:

Мазок крови делается с помощью шлифованного стекла с ровным краем. Каплю крови наносят на 2 см от края стекла. Шлифованное стекло ставят под углом 45 на 1-2мм перед каплей и двигают его назад к капле так, чтобы вся кровь растеклась по краю шлифованного стекла. Быстрым движением делается мазок. Высушивают на воздухе. Маркируют карандашом, обозначая фамилию и инициалы пациента и его регистрационный номер. Делают 2 мазка.

Требования к мазку:

* Полупрозрачный, желтоватого цвета.
* Занимать ½ длины предметного стекла.
* Оканчиваться «метелочкой»

Окраска мазков.

Готовые мазки крови фиксируют, а затем окрашивают. В неокрашенном виде хранятся 3 дня.

Фиксация мазков предохраняет элементы крови от воздействия в содержащихся красках воды, под влиянием которых в нефиксированных мазках происходит разрушение эритроцитов и изменяется морфология лейкоцитов. Фиксацию проводят в специальной кювете и банке с плотно закрывающейся крышкой.

В данной лаборатории используют раствор эозинметиленового синего по Май-Грюнвальду(3 минуты).

Окраска мазков проводится в специальных кюветах. Используются 3 метода окраски:

1. По Нохту
2. По Романовскому-Гимзе
3. По Паппенгейму.

Принцип окраски мазков : Ядра клеток окрашиваются в сине-фиолетовый цвет. Цитоплазма гранулоцитов, зернистость эозинофилов, эритроциты в розовый цвет.

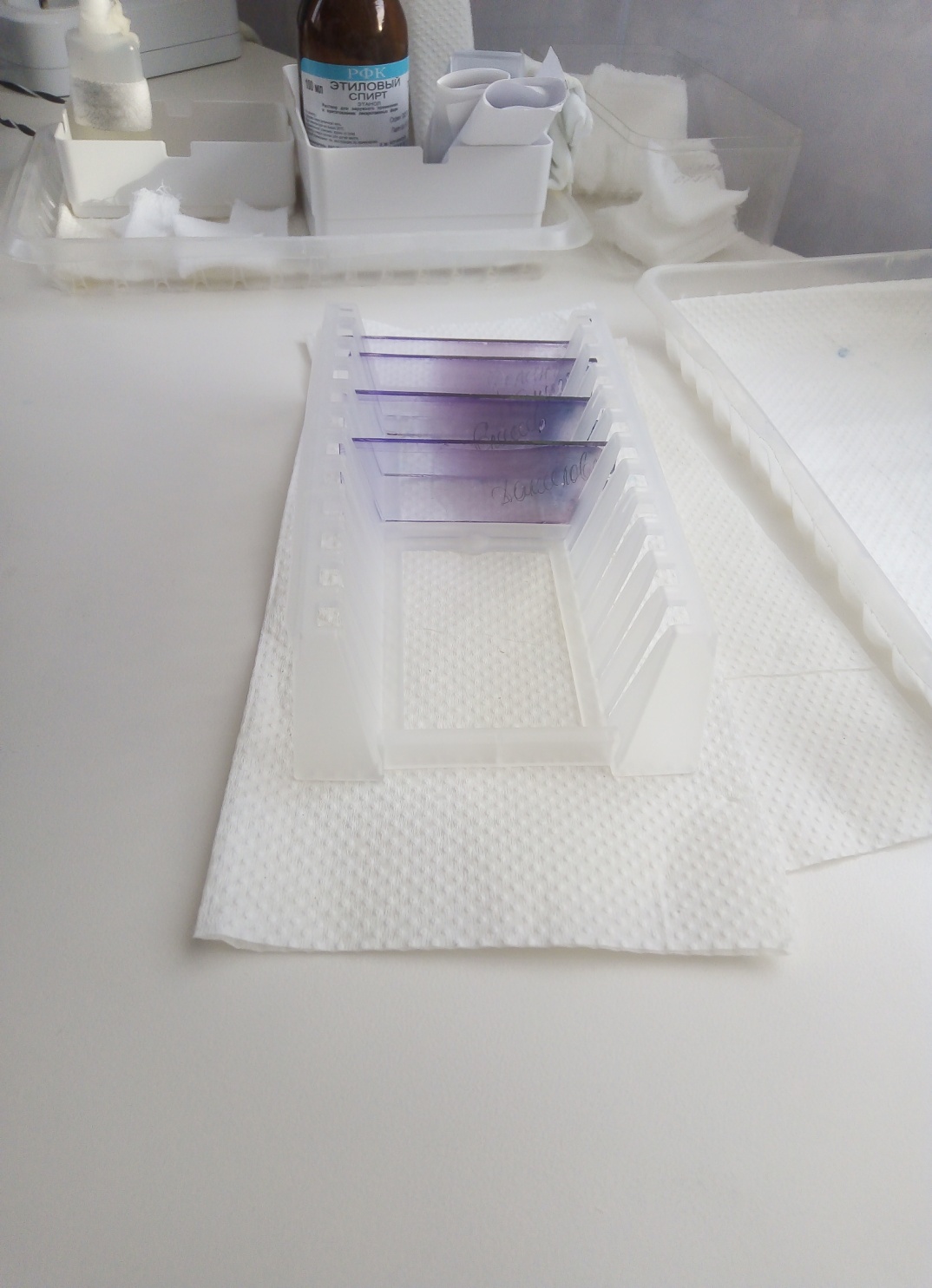


Рис. 4 Фиксатор и краска Рис.5 Окрашенные мазки.

Подсчет лейкоцитарной формулы

Для подсчета используют счетчик форменных элементов крови СФК «Минилаб». Подсчет проводят в тонкой части мазка.

Лейкоцитарная формула в норме:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Виды лейкоцитов | Содержание |  |
| Нейтрофилы палочкоядерные | 1-6% |
| Нейтрофилы сегментоядерные | 47-72% |
| Эозинофилы | 0-5% |
| Базофилы | 0-1% |
| Лимфоциты | 19-37% |
| Моноциты | 3-11% |

ТЕХНИКА МИКРОСКОПИРОВАНИЯ

Правила работы с микроскопом:

1. Работать следует сидя
2. Микроскоп осмотреть, вытереть от пыли мягкой салфеткой объективы, окуляр, зеркало.
3. Микроскоп установить пред собой, немного слева на 2-3 см от края стола. Во время работы не следует сдвигать
4. Открыть полностью диафрагму, поднять конденсор в крайнее верхнее положение
5. Опустить объектив в рабочее положение
6. Положить препарат на предметный столик так, чтобы изучаемый объект находился под объективом. Глядя сбоку, опускать объектив при помощи макровинта до тех пор пока расстояние между нижней линзой не станет 4-5мм
7. Смотреть одним глазом в окуляр и вращать винт на себя, плавно настраивая его до тех пор пока не будет видно хорошее отображение объекта
8. По окончании работы установить малое увеличение, поднять объектив, снять с рабочего столика препарат, протереть чисто салфеткой все части микроскопа и накрыть его полиэтиленовым пакетом.

День 7-8

Регистрация биоматериала

Прием биоматериала производится в приемной лаборатории. В контейнере для транспортировки биоматериал доставляют в лабораторию. Лаборант извлекает из контейнера штатив с вакутейнерами, в которых находится кровь. Данные о пациенте заносятся в журнал для регистрации. После исследования данные вносят в базу данных в компьютере, подтверждается и отдают врачу.



Рис.6 Поступивший материал Рис.7 Регистрация в журнал

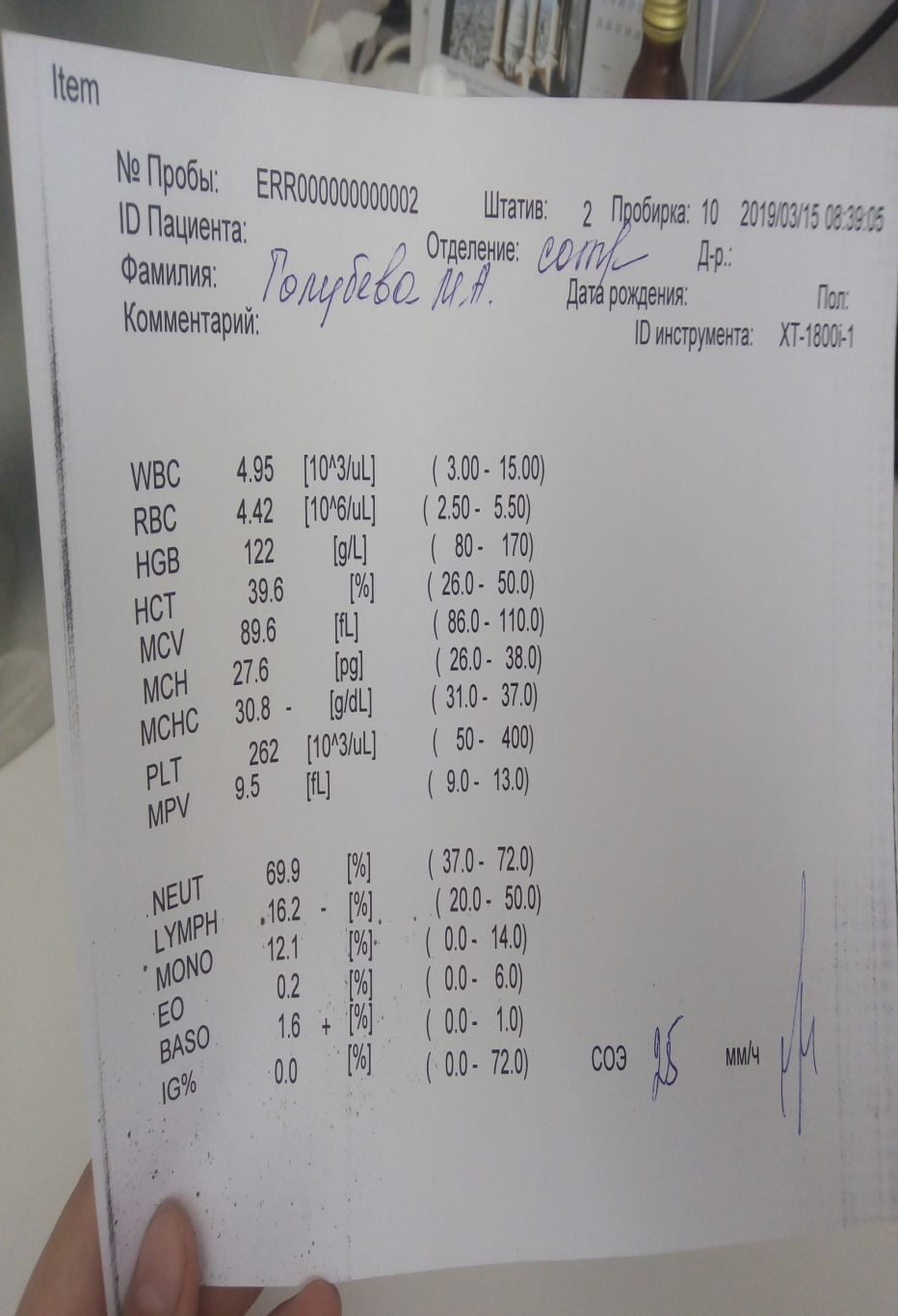


Рис.8 Результаты Рис 9. Регистрация в базу данных

День 9-11

Работа на гематологическом анализаторе XT1800i

Автоматический гематологический анализатор SYSMEX XT 1800i .

Принцип работы основан на революционной технологии проточной цитофлоуриметрии. При помощи анализатора можно получить точные результаты и создать возможность для четкого разделения нормальных и патологических образцов. Полностью анализатор на 30 параметров, выводящий полную лейкоцитарную формулу и обеспечивающий подсчет ретикулоцитов.

Основные определяемые показатели:

Концентрация гемоглобина, гематокрит, количество эритроцитов, средний объем эритроцита, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, средняя плотность гемоглобина в эритроците, количество тромбоцитов, средний объем тромбоцитов, количество лейкоцитов, дифференциация по 5 фракциям(нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, лимфоциты и моноциты) с выражением их количества на бланке результатов в абсолютных и относительных значениях, подсчет количества атипичных лимфоцитов, ретикулоцитов(% и абсолютное количество) и бластных клеток.

Преимущества:

1. Надежные результаты для диагностики
2. Удобство и легкость в работе
3. Гибкость (блок обработки информации с настраиваемым дисплеем)
4. Рентабельность(возможность подключения к общей лабораторной компьютерной сети для повышения продуктивности работы)

Принцип работы с анализатором Sysmex XT-1800i:

1. Поставить пробирки в штатив строго по указанному номеру так что бы было видно штрих код.
2. Настраиваем анализатор, нажимаем кнопку запуск автозагрузчика.
3. Полученные результаты записываем в журнал и подтверждаем на компьютере.

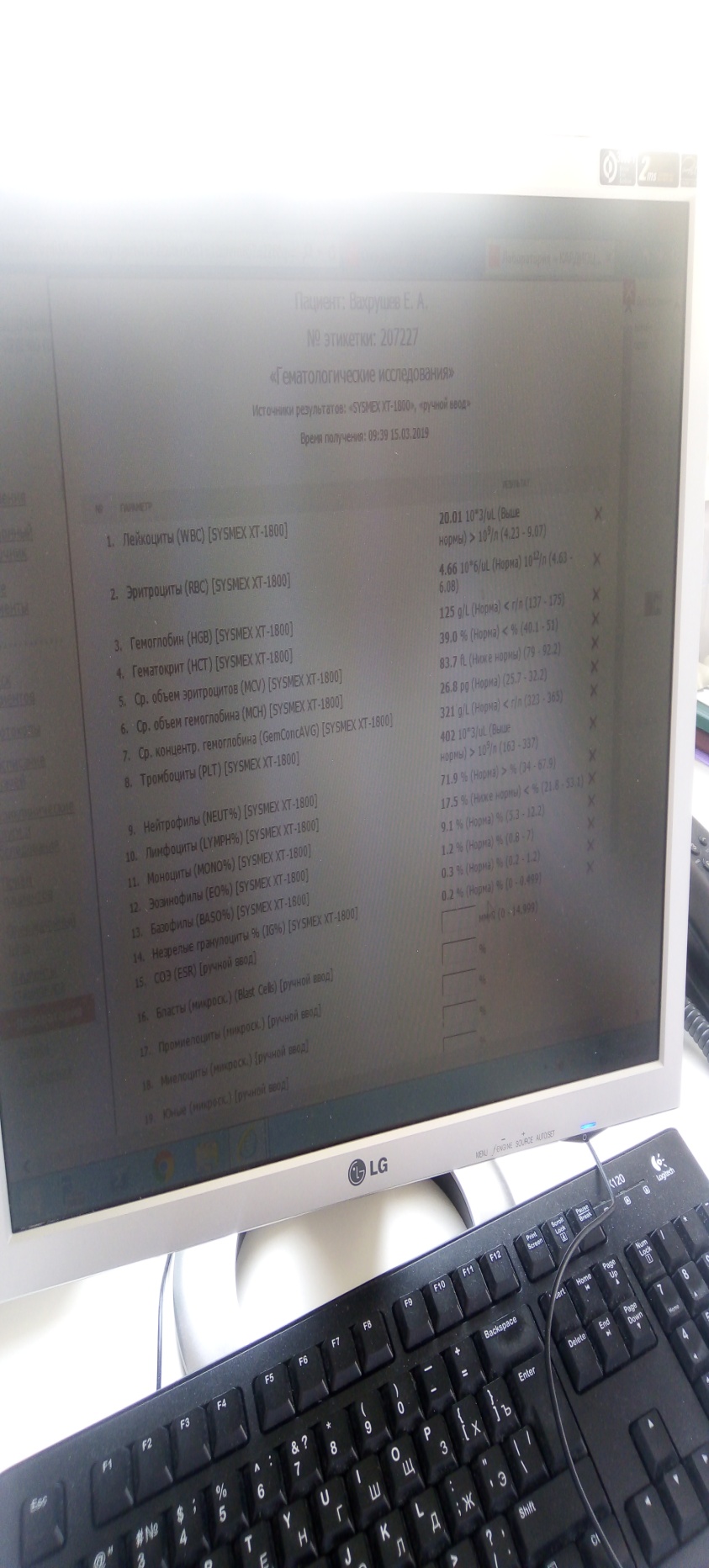


Рис.10 Выдаваемые результаты Рис.11 Регистрация в базу данных

День 12-13

Определение групп крови и резус принадлежности.

Определение групп крови системы АВ0 с помощью цоликлонов АНТИ А и АНТИ В. резус

Техника определения:

1. Берут пластинку, разделяют на 3 части и подписывают: Анти А, Анти В и Анти D.
2. Наносят по одной большой капле цоликлонов в соответствии с назнаениями.

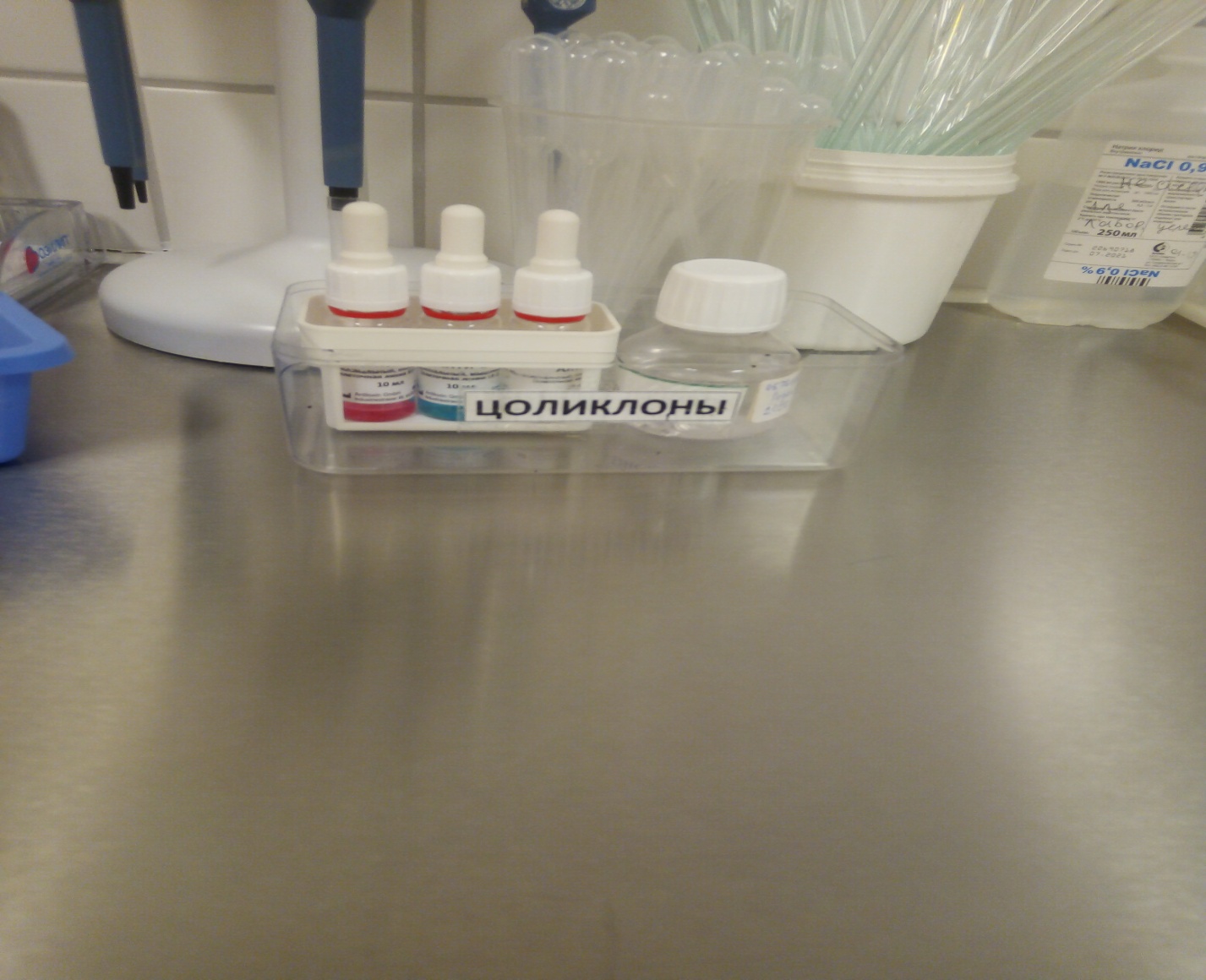
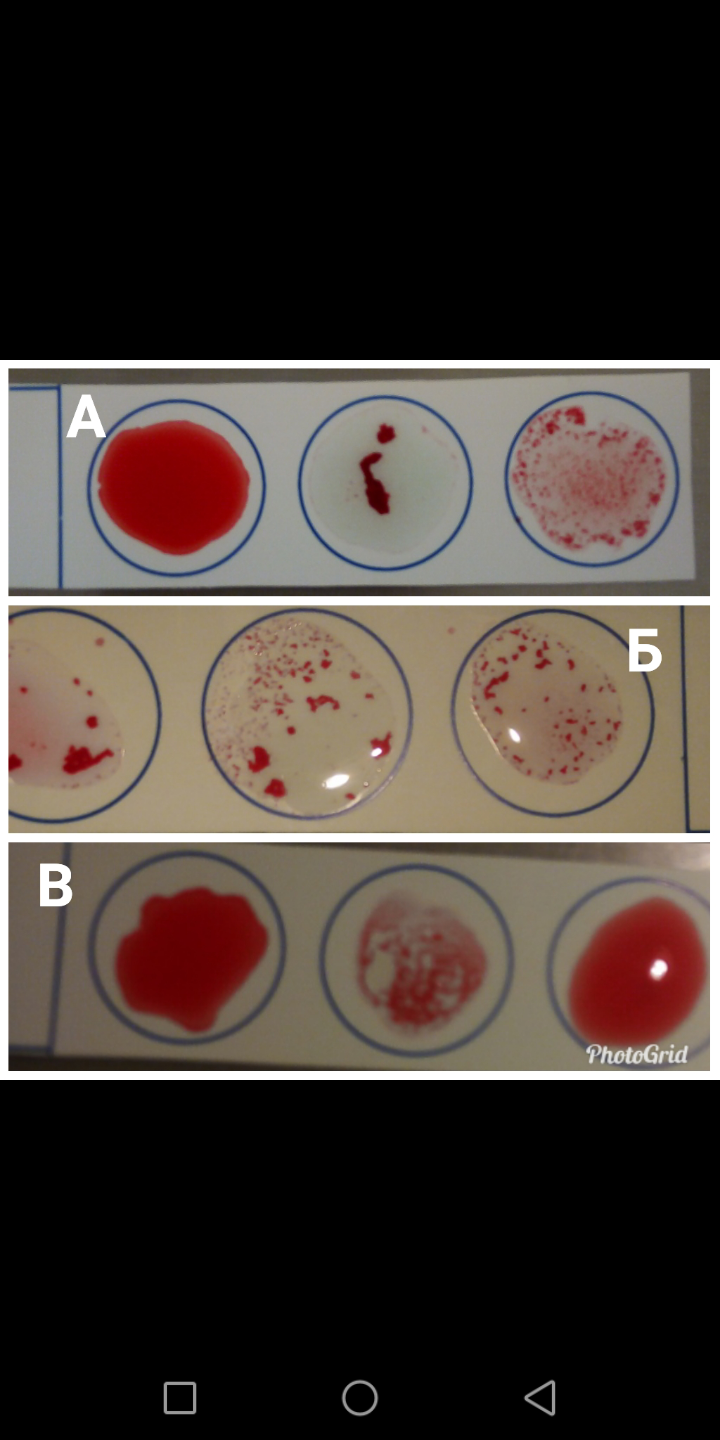


Рис 12. Цоликлоны

1. Вносят по одной маленькой капле крови рядом с каплей цоликлона
2. Перемешивают капли с реагентом стеклянной палочкой .
3. Замечают время
4. Периодически покачивают пластинку. Агглютинация эритроцитов с цоликлонами обычно наступает в первые 3-6 секунд, но оценку результатов производят минуты через 3, чтобы не пропустить позднюю агглютинацию.

Трактовка результатов(Рис 13)

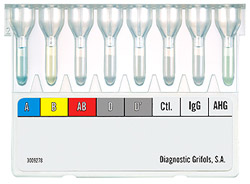
Результат реакции может быть положительным и отрицательным.

Положительный результат выражается в агглютинации эритроцитов, видной невооруженным глазом в виде мелких красных агрегатов.

Отрицательный результат- капля остается равномерно окрашенной в Рис13.А-ІІІ(+),Б-IV(+),В-ІІІ(-). красный цвет, агглютинации нет .

* Отсутствие какой-либо реакции склеивания во всех образцах означает, что в клетках эритроцитов пациента нет агглютиногена исследуемого типа. Образец крови причисляется к I группе (тип 0).
* Если эритроцитарные клетки пациента вступили в реакцию с реагентами типа «Анти-а», то у пациента II группа крови (тип А).
* Заметная агглютинация образца исследуемой крови с цоликлонами тип «Анти-В» означает, что пациент обладает III группой крови (тип В).
* Если кровь пациента вступила в реакцию со всеми химическими реагентами, то исследуемый образец принадлежит к IV группе (тип АВ).

Наиболее точным является гелевый метод определения групп крови и резус-фактора.

Система представляет собой пластиковые карты, содержащие микропробирки, заполненные гелем.

Гелевая технология предусматривает разделение эритроцитов при центрифугировании, при этом неагглютинированные эритроциты проходят через гель и оседают на дне пробирок (отрицательный результат), в то время как агглютинированные задерживаются на поверхности или в толще геля (положительный результат).

Определение группы крови АВО и резус-принадлежности проводят путем идентификации специфических антигенов и антител (перекрестная реакция) Рис14. Микропробирки

Интерпретация результатов:  В бланке результата исследования обычно используется следующая расшифровка группы крови пациента: первая группа – 0 (І); вторая группа – А (ІІ); третья группа – В (ІІІ); четвертая группа – АВ (IV). Кроме того, указывается резус-фактор – положительный (Rh +) или отрицательный(Rh -)

День 14-15

Санитарно- эпидемический режим в КДЛ

1. Санитарная обработка помещений КДЛ.

* Влажная уборка: Влажная уборка помещений (мытье полов, протирка мебели, оборудования, подоконников, дверей и т. д.) должна осуществляться не менее 2 раз в сутки, а при необходимости чаще, с применением моющих (мыльно-содовых растворов и других, разрешенных органами и учреждениями санэпидслужбы) и дезинфицирующих средств (в соответствии с инструкцией по дез.режиму, утвержденной Минздравом СССР). Протирка оконных стекол должна проводиться не реже 1 раза в месяц изнутри и по мере загрязнения, но не реже 1 раза в 4—6 месяцев, снаружи.

Использование для влажной уборки помещений порошкообразных синтетических моющих средств не допускается.

* Генеральная уборка: Генеральная уборка помещений палатных отделений и других функциональных помещений и кабинетов должна проводиться по утвержденному графику не реже 1 раза в месяц с тщательным мытьем стен, полов, всего оборудования, а также протиранием мебели, светильников, защитных жалюзей и т. п. от пыли..

2.Санитарно-гигиенические требования к персоналу КДЛ

* Персонал должен проходить предварительные при поступлении на работу и периодические медицинские осмотры и профилактические прививки в соответствии с законодательством Российской Федерации.
* Медицинский персонал лаборатории должен быть обеспечен комплектами сменной одежды: халатами, шапочками или косынками, масками, сменной обувью (тапочками) в количестве, обеспечивающем ежедневную смену одежда. Хранение ее надлежит осуществлять в индивидуальных шкафчиках, обеспечивающих раздельное хранение личной (домашней) и рабочей (санитарной) одежды, обуви и головных уборов. В наличии постоянно должен быть комплект санитарной одежды для экстренной ее замены в случае загрязнения.
* Врачи, фельдшера, медицинские сестры, акушерки должны быть обеспечены средствами индивидуальной защиты (перчатки, маски и др.). Все манипуляции, связанные с контактом с кровью и другими биологическими жидкостями, проводить в перчатках.

3.Правила обработки рук персонала КДЛ

Гигиеническая обработка рук проводится двумя способами:

1. гигиеническое мытье рук мылом и водой для удаления загрязнений и снижения количества микроорганизмов;
2. обработка рук кожным антисептиком для снижения количества микроорганизмов до безопасного уровня.

Для мытья рук применяют жидкое мыло с помощью дозатора (диспенсера). Вытирают руки индивидуальным полотенцем (салфеткой), предпочтительно одноразовым.

Гигиеническую обработку рук спиртсодержащим или другим, разрешенным к применению антисептиком (без их предварительного мытья) проводят путем втирания его в кожу кистей рук в количестве, рекомендуемом инструкцией по применению, обращая особое внимание на обработку кончиков пальцев, кожи вокруг ногтей, между пальцами. Непременным условием эффективного обеззараживания рук является поддержание их во влажном состоянии в течение рекомендуемого времени обработки.

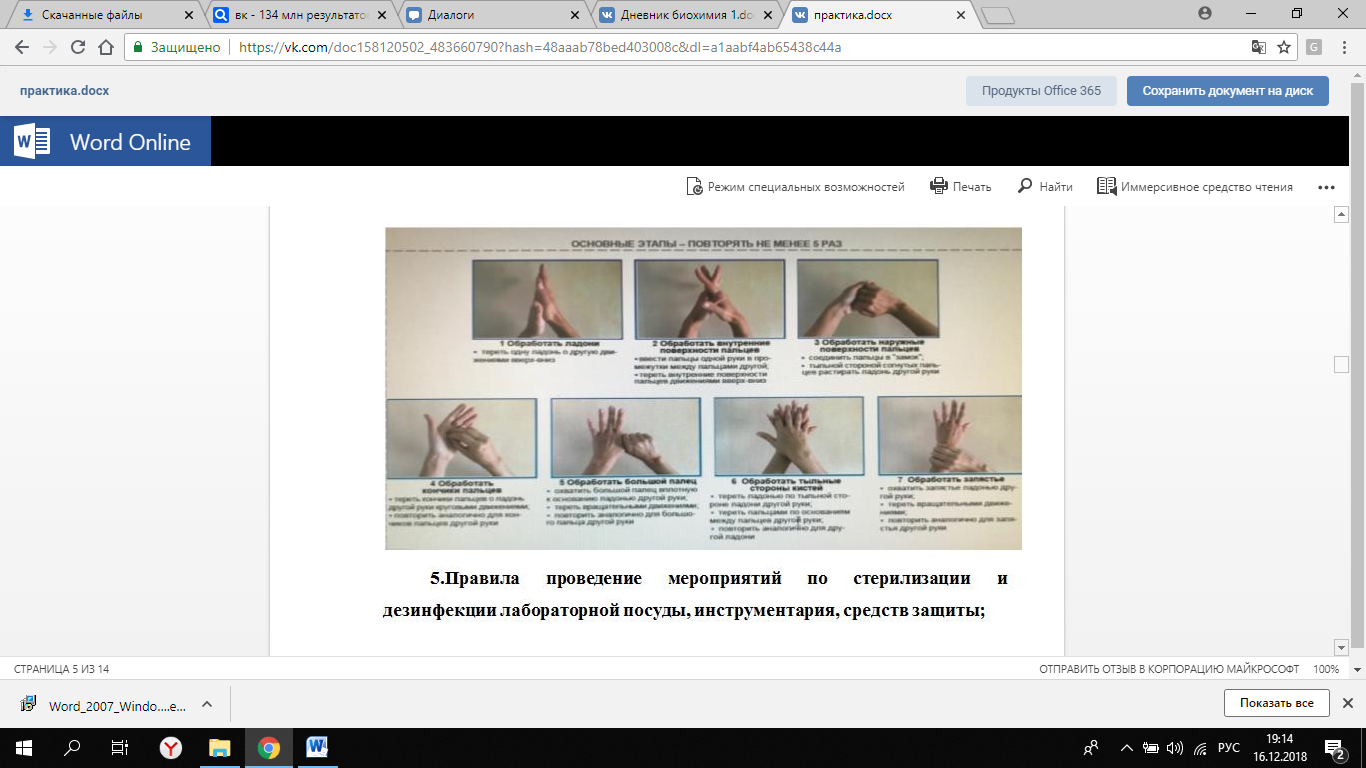


Рис 15. Правила обработки рук

4.Правила утилизации отработанного материала

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

Медицинские отходы в зависимости от степени их эпидемиологической, токсикологической и радиационной опасности, а также негативного воздействия на среду обитания подразделяются на пять классов опасности:

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

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

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

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

* Класс Б(эпидемиологические опасные отходы)

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

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

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

Отходы лабораторий дезинфицируют в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней» Обеззараженные отходы временно хранят с отходами класса А. Пакет заполняют на ¾ обьема, сотрудник отвечающий за сбор отходов, в маске и резиновых перчатках удаляет воздух, плотно завязывает и маркирует с указанием наименования больницы, даты и фамилии лица, ответственного за сбор отходов

* класс В (чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы)

Материалы, контактировавшие с больными инфекционными болезнями, которые могут привести к возникновению чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения и требуют проведения мероприятий по санитарной охране территории. Отходы лабораторий, фармацевтических и иммунобиологических производств, работающих с микроорганизмами 1-2 групп патогенности.

Отходы лечебно-диагностических подразделений фтизиатрических стационаров (диспансеров), загрязненные мокротой пациентов, отходы микробиологических лабораторий, осуществляющих работы с возбудителями туберкулеза

* Класс Г(токсикологические опасные отходы).

Ртутьсодержащие предметы, приборы и оборудования.

Правила обращения: сбор отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости( Отходы, класс Г) кроме желтого и красного цвета. Использованные люминесцентные лампы, ртутьсодержащие приборы, в т.ч. термометры собирают в закрытые контейнеры и хранят в спец помещениях. Разбавленные дез средства сливают в канализацию.

* класс Д ( радиоактивные отходы)

Все виды отходов в любом агрегатном состоянии, в которых содержание радионуклидов превышает допустимые уровни, установленные нормами радиационной безопасности