**День 1**

Изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ:

- Приказ МЗ России № 380 от 25.12.1997 г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»;

- Приказ МЗ России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях Российской Федерации»;

- Приказ МЗ России № 220 от 26.05.2003 г. «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»;

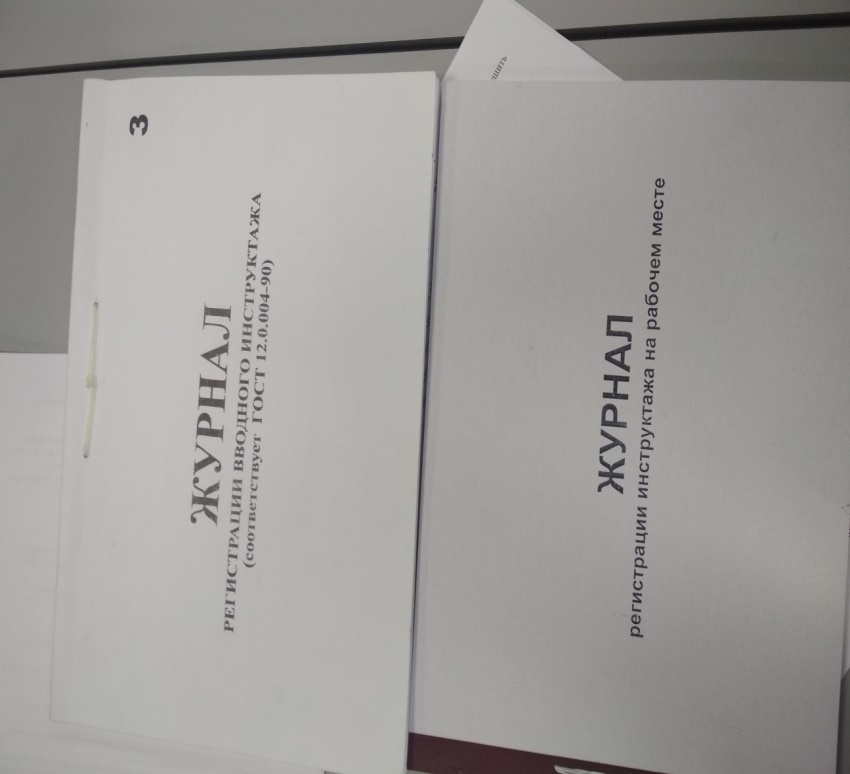
- СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами";

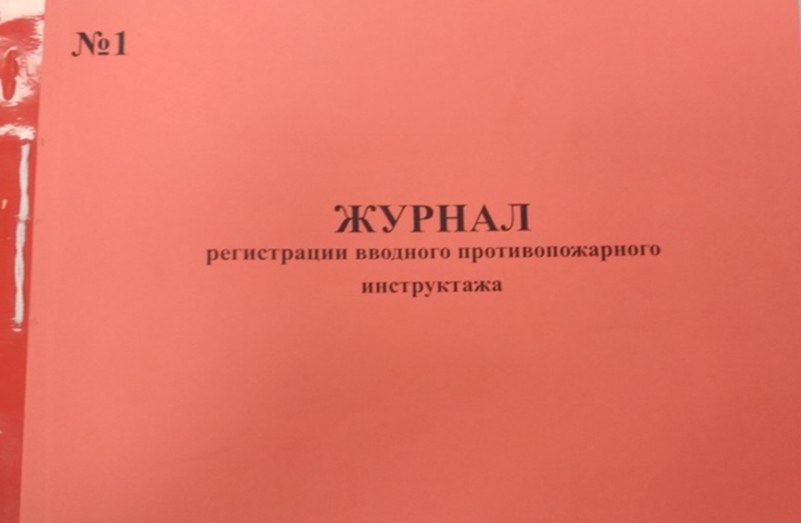
- СП 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»;

- ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности. утв. Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27.12.2007 №531 -ст. Охрана труда в медицинских лабораториях;

- ГОСТ Р ИСО 15193—2007 in vitro. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Описание референтных методик выполнения измерений.

**День 2**

Проходили вводный инструктаж и инструктаж на рабочем месте по технике безопасности, вводный противопожарный инструктаж.



Ознакомились с устройством лаборатории. **«ЦЛТ АБВ» представляет собой лабораторию полного цикла, оснащенную современным высокотехнологичным оборудованием. Лаборатория «ЦЛТ АБВ» размещается на двух этажах здания, в специально оборудованных помещениях, полностью соответствующих требованиям правил по устройству, эксплуатации, требованиям санитарно-эпидемиологического режима и технике безопасности.**

Биохимическая лаборатория расположена на первом этаже. Она оснащена современным оборудованием:

-Beckman coulter AU 5800

-Beckman coulter AutoMate 2500

-Beckman coulter AU 680

-Центрифуга Z 513

-Центрифуга Z 366

-Центрифуга MiniSpin Eppendorf

-Холодильник ХШФ «Енисей-1000R»

-Автоматический коагулометр ACLelite PRO

-Анализатор агрегации АЛАТ-2 biola

**День 3**

Ознакомились с порядком приема, первичная сортировка и регистрация биоматериала:

*Прием биоматериала*

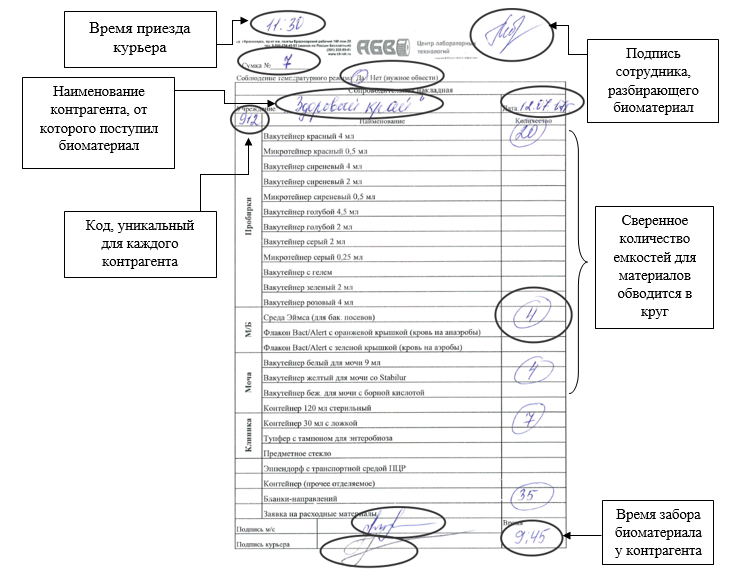
-курьер доставляет сумку с биоматериалом в «ЦЛТ АБВ» через входную дверь в помещение № 12 первого этажа (тамбур). Извещает о доставке биоматериала звонком, который находится на перегородке.

-сотрудник отдела разбора должен принять термоконтейнер с биоматериалом у курьера через окно для передачи биоматериала и начать разбор.

-содержимое термоконтейнера: хладоэлементы, термометр, в штатив установлены вакутейнеры с кровью и мочой, в пакете находятся контейнеры с калом и пробирки на энтеробиоз, в другом пакете находятся контейнеры с мочой, в контейнерах для транспортировки урогенитальных препаратов, маркированных кодом и наименованием контрагента, находятся предметные стекла, в контейнерах, маркированных кодом и наименованием контрагента, находятся эппендорфы с транспортной средой для молекулярно-биологических (ПЦР) исследований. В отдельных папках, маркированных кодом и наименованием контрагента, находятся направления на исследования, сопроводительная накладная, требование на расходные материалы (при необходимости).

-в сопроводительной накладной контрагент указывает количество отправляемых наименований емкостей с биоматериалом и количество бланков направлений (см. рисунок ниже). На сопроводительной накладной промаркирован трех- или четырехзначный код, уникальный для каждого контрагента, который соответствует первым цифрам штрих-кода, наклеенного на каждую емкость с биоматериалом и направление. Соотнесение биоматериала и принадлежности к отправившему его контрагенту основано на сопоставлении этого кода.

Образец правильно заполненной сопроводительной накладной Центра представлен на рисунке.



Сотрудник отдела разбора должен достать из термоконтейнера термометр и записать температуру в «Журнале контроля температурного режима термоконтейнеров», согласно номеру термоконтейнера.

*Первичная сортировка биоматериала*

Все емкости с биоматериалами, штативы с пробирками из термоконтейнера сотрудник отдела разбора должен поместить на стол для разбора биоматериала.

Открыть папку одного из контрагентов и достать из нее сопроводительную накладную, на которой поставить подпись для идентификации сотрудника, осуществившего прием и сортировку биоматериала, отметить время приезда курьера, как это показано на рисунке.

Пересчитать бланки направлений, просмотреть правильность их оформления (отмечены исследования, присутствуют штрих-кода и т.д.) и сверить с количеством, обозначенным в сопроводительной накладной, при совпадении обвести число вокруг; при несовпадении зачеркнуть и поставить фактически полученное число.

Пересчитать количество пробирок, транспортных сред Эймса, зондов, контейнеров с калом/мочой, транспортных сред ПЦР, предметных стекол, отправленных данным контрагентом. Сверить с количеством, обозначенным в сопроводительной накладной.

Рассортировать полученный биоматериал по отделам. При сортировке емкостей по лоткам отделов можно ориентироваться на исследования, отмеченные в направлениях.



**День 4**

Ознакомились с регистрацией биоматериала.

Регистрация бланков направлений в «ЦЛТ АБВ» проходит в помещении №13 первого этажа для регистрации.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS, а в дальнейшем задание автоматически попадает на анализатор. Использование ЛИС минимизирует количество ошибок преаналитического этапа и нивелирует «человеческий фактор».

**

*Подготовка материала к биохимическим исследованиям*



Получение плазмы и сыворотки из венозной крови путем центрифугирования.

Режимы центрифугирования:

- для получения сыворотки центрифугируем при 3000 об/мин в течение 5 минут на центрифуге Z 513;

- для получения бедной тромбоцитами плазмы центрифугируем при 3400 об/мин в течение 15 минут на центрифуге Z 366.

- для получения богатой тромбоцитами плазмы центрифугируем при 990 об/мин в течение 7 минут на центрифуге Z 366.

В «ЦЛТ АБВ» для взятия и доставки крови используются современные расходные материалы. Для взятия венозной крови используются вакутейнеры. Для получения необходимого материала для исследования применяются пробирки с разными наполнителями, что видно по цвету крышки вакутейнера (цветовое кодирование).

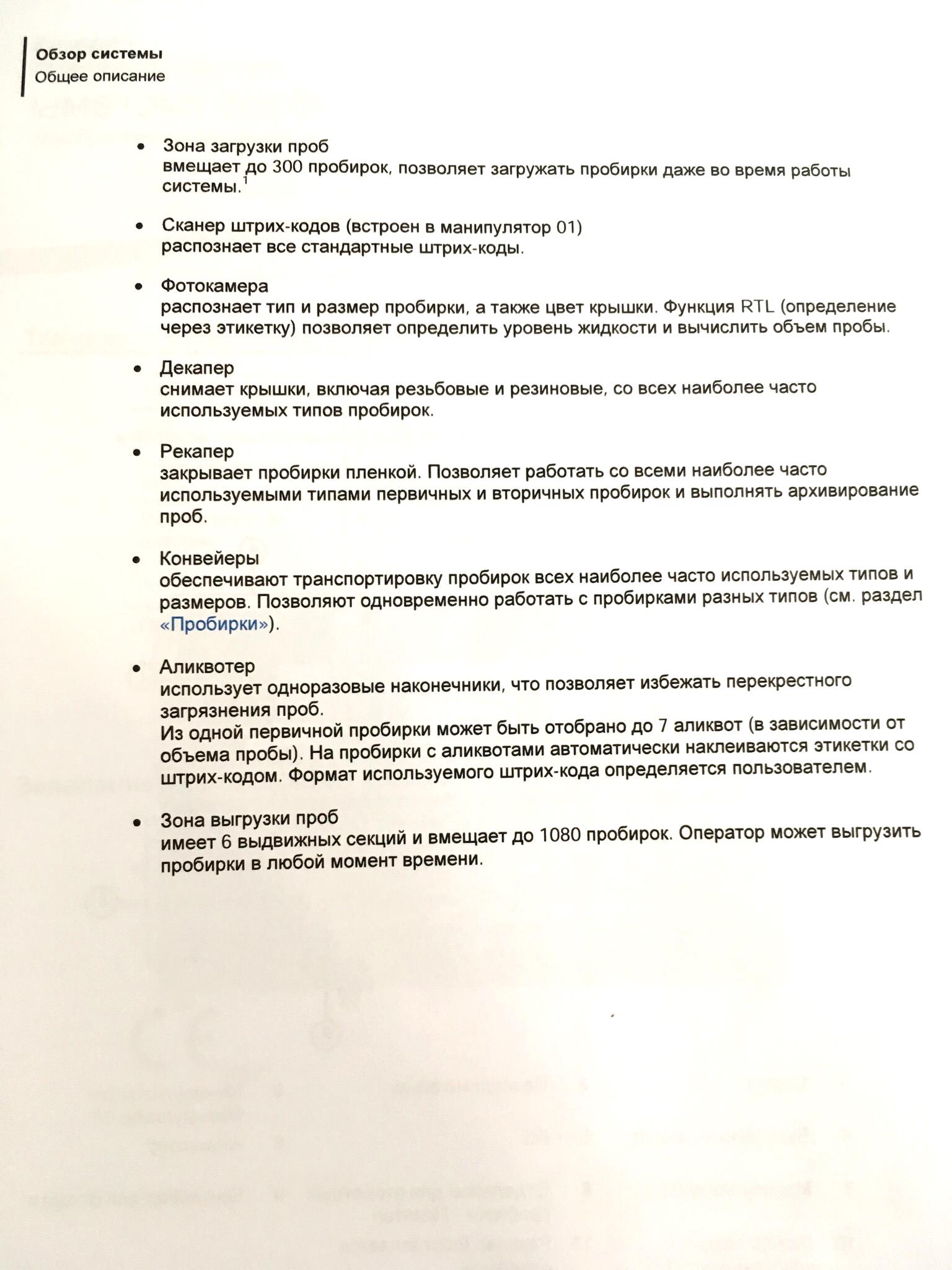
|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Цвет | Наполнитель | Назначение |
| Красный | Активатор свертывания-кремнезем | Получение сыворотки |
| Сиреневый | К2ЭДТА | Получение плазмы |
| Серый | Фторид натрия/оксалат калия | Получение глюкозы |
| Желтый | Гель, активатор свертывания | Получение сыворотки |
| Зеленый | Гепарин | Получение плазмы |

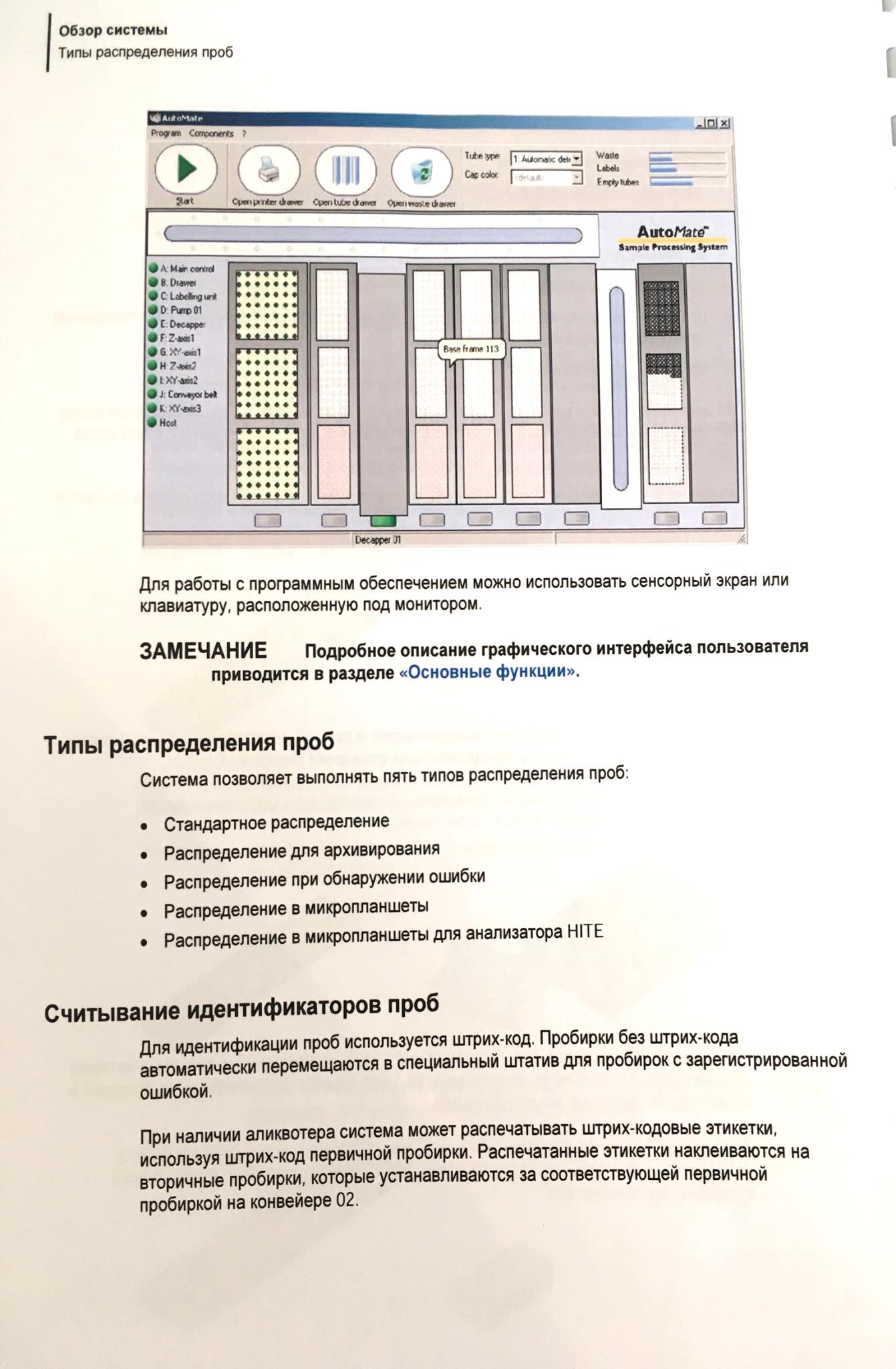
**День 5**

Подготовка материала к биохимическим исследованиям. Получение плазмы и сыворотки из венозной крови путем центрифугирования. Все пробирки включая те, которые отцентрифугировались отправляются на систему Beckman Coulter Auto Mate 2500 для пре- и постаналитической обработки проб.



Компоненты системы позволяют выполнять следующие стандартные операции:





**День 6**

Определение активности ферментов на анализаторе Beckman Coulter AU 5800



*Определение активности альфа-амилазы*

**Назначение**: кинетическое колориметрическое количественное определение альфа-амилазы в сыворотке, плазме и моче человека.

**Клиническое** **значение**: к заболеваниям, сопровождающимся повышением уровня амилазы в плазме, относятся: острый панкреатит, паротит, алкоголизм, почечная недостаточность, а также заболевания, как вирусный гепатит, СПИД, брюшной тиф, саркозоид и травмы верхнего отдела брюшной полости. Значительное увеличение уровня амилазы наблюдается после процедуры эндоскопической ретроградной панкреатохолангиографии. Гипоамилаземия наблюдается при выраженном кистозном фиброзе, тяжелых заболеваниях печени и после панкреатеэктомии. У лиц, страдающих ожирением, выявляется гипоамилаземия в результате уменьшения концентрации слюнной фракции.

**Принцип** **определения**: цветная реакция на альфа-амилазу основана на использовании в качестве субстрата 2-хлоро-4-нитрофенил-альфа-D-мальтотриазида. Альфа-амилаза непосредственно взаимодействует с этим субстратом, не требуя наличия вспомогательных ферментов. Увеличение адсорбции 2-хлоро-4-нитрофенола, образующего в результате реакции, при 410 нм. прямо пропорциональна активности альфа-амилазы в пробе.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (гепарин). Не использовать гемолизированные или очень иктеричные пробы, клеточные элементы следует отделять как можно скорее. В сыворотке и плазме альфа-амилаза стабильна в течение 7 дней при температуре хранения 2-250С. Для исследования не следует использовать плазму, полученную с использованием ЭДТА, оксалата и цитрата.

**Референсные** **значения**: сыворотка, плазма-22-80 Е/л (0,36-1,33 мккат/л)

*Определение активности щелочной фосфотазы*

**Назначение**: кинетическое колориметрическое количественное определение щелочной фосфотазы в сыворотке и плазме человека.

**Клиническое** **значение**: увеличение общей ЩФ происходит по физиологическим причинам или вызывается заболеваниями печени или костей. Физиологическое увеличение активности ЩФ выявляется у беременных, растущих детей, после приема пищи лиц с группой крови В и 0. Наиболее частой причиной повышения уровня ЩФ является заболевание гепатобилиарной системы с патологическим повышением уровня ЩФ 60% пациентов с заболеваниями печени и желчевыводящих путей. Уровень ЩФ может также повышаться при первичных заболеваниях костей, таких как остеомаляция, несовершенный остеогенез, недостаточность витамина Д и первичные опухоли костей. Снижение уровня ЩФ выявляется при наследственной гипофосфатазии, гипопаратиреодизиме, ахондроплазии, при заболеваниях, сопровождающихся адинамией, например при диализе, гипофизарной карликовости, при хроническом облучении и нарушениях питания.

**Принцип** **определения**: метод основан на рекомендациях Немецкого общества клинической химии. Активность ЩФ определяется путем измерения скорости преобразования р-нитро-фенил-фосфат и р-нитрофенол в присутствии ионов магния и диэтаноламина в качестве акцептора фосфата при pH 9,8. Скорость увеличения значений абсорбции в результате образования р-НФ измеряется при 410/480 нм. и прямо пропорциональна активности ЩФ в пробе.

**Исследуемый** **материал**: сыворотка и плазма (гепарин). В качестве антикоагулянта не следует использовать цитрат, оксалат и ЭДТА. Не рекомендуется проводить измерение ЩФ в пробах с гемолизом. В сыворотке и плазме ЩФ стабильна в течение 7 дней при температуре хранения 2-250 С.

**Референсные значения:**

Женщины – 64-300 Е/л (1,0-5,0 мккат/л)

Мужчины – 80-300 Е/л (1,3-5,0 мккат/л)

Дети до 15 лет – до 640 Е/л (10,6 мккат/л)

Подростки 15-17 лет – до 480 Е/л (8,0 мккат/л)

**День 7**

Заполнение дневника преддипломной практики.

**День 8**

*Определение активности кислой фосфотазы*

**Назначение**: кинетическое колориметрическое определение КФ в сыворотке человека.

**Клиническое** **значение**: повышение активности простатической КФ и, в связи с этим, активности общей КФ наблюдается у мужчин, страдающих раком предстательной железы с метастазами. К другим заболеваниям, которые могут быть связаны с увеличением ингибированной тартратом КФ относятся: лейкозы, истинная полицитемия, первичная тромбоцитемия и мегалобластная анемия. Нормальный низкий уровень активности КФ в сыворотке обусловлен в основном тартрат-резистентной КФ остеокластов. Активность этой фракции физиологически увеличивается у растущих детей и патологически увеличивается при прогрессирующем остеолизисе и деформациях костной ткани, таких как болезнь Педжета, гиперпаратиреоидозе, множественная миелома, остеосаркома, несовершенный остеогенез и почечная остеодистрофия. К другим заболеваниям, сопровождающимся увеличением тартрат-резистентной Кф относится болезнь Гоше и болезнь Неймана-Пика.

**Принцип** **определения:**

Реакция Хиллмана

КФ

1-нафтилфосфат + Н2О фосфат + 1-нафтол

1-нафтол + Соль Fast Red TR азокраситель

**Исследуемый** **материал**: сыворотка. Плазму не используют. Сыворотку следует отделить как можно быстрее и добавить стабилизатор из расчета 1 капля КФ-стабилизатора (АСР-St) на 1 мл сыворотки. Отделенная сыворотка, без стабилизатора, стабильна в течение 15 минут при температуре 15-250 С и 3-4 часа при температуре 2-80 С. Не использовать липемичные, гемолизные и иктеричные пробы.

*Определение активности лактатдегидрогеназы*

**Назначение**: УФ кинетическое определение ЛДГ в сыворотке и плазме человека.

**Клиническое** **значение**: инфаркт миокарда сопровождается 3-4 кратным повышением общей активности ЛДГ: подобное повышение ЛДГ при миокардите, нарушениях ритма сердца, электрической кардиоверсии и протезировании клапанов. Повышение активности ЛДГ отмечается при повреждении печени, но оно не так велико, как увеличение активности аминотрансфераз. Подъем особо велик (в 10 раз выше верхней границы нормы) при токсическом гепатите, сопровождающемся желтухой; небольшое снижение уровня отмечается при вирусном гепатите и инфекционном мононуклеозе. При мышечной дистрофии Дюшена увеличение активности ЛДГ выявляется за несколько лет до обнаружения клинических симптомов, в процессе заболевания может отмечаться 5-кратное увеличение активности. Повышение активности ЛДГ может выявляться при атрофии спинальной мускулатуры Аран-Дюшена и Кугельберга-Веландера, дерматомиозите, полимиозите и при высокой физической нагрузке. Дургие заболевания, при которых отмечается увеличение активности ЛДГ являются: инфаркт почек, корейская геморрагическая лихорадка, хронические заболевания клубочков почек, шок, эмболия легочной артерии, инфаркт легких и гемолитическая мегалобластная анемия.

**Принцип** **определения:** метод основан на рекомендациях Скандинавского комитет по ферментам. ЛДГ катализирует обратимое восстановление пирувата до лактата при нейтральной pH. При этом происходит окисление NADH до NAD+. Снижение абсорбции за счет использования НАДН прямо пропорционально активности фермента в пробе.

**Исследуемый** **материал**: сыворотка и плазма (гепарин). Отделять сыворотку от сгустка как можно быстрее. Не проводить определение в пробах с гемолизом, т.к. активность фермента в эритроцитах в 150 раз выше, чем в плазме.

**Референсные значения:**

Взрослые – 208-378 Е\л (3,47-6,30 мккат/л)

Дети:

1-ый день – меньше 1327 Е/л (22,1 мккат/л)

2-5 дней – меньше 1732 Е/л (28,9 мккат/л)

6 дней – 6 месяцев - меньше 615 Е/л (10,3 мккат/л)

**День 9**

*Определение активности креатинкиназы*

**Назначение**: УФ кинетическое определение КК в сыворотке и плазме человека.

**Клиническое** **значение**: активность КК увеличивается при некрозе и регенерации мышц, поэтому ее уровень повышен при большинстве миопатий, таких как мышечная дистрофия Дюшена, и при состояниях, связанных с мышечным некрозом, таких как острый некроз скелетной мускулатуры. Уровень общей КК может увеличиваться при заболеваниях ЦНС, таких как синдром Райса, при котором 70-кратное увеличение активности КК указывает на тяжесть энцефалопатии. Активность КК повышается в результате повреждения миокарда со значительным увеличением фракций КК-ММ и КК-МВ.

**Принцип** **определения:** метод основан на рекомендациях Международной федерации по клинической химии. КК обратимо катализирует перенос фосфатной группы от креатинфосфата к АДФ, образуя креатин и АТФ. Образовавшийся АТФ используется для образования глюкозо-6-фосфата и АДФ из глюкозы. Эта реакция катализируется гексокиназой, для максимальной активности которой необходимы ионы магния. Глюкозо-6-фосфат окисляется под воздействием глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы с одновременным восстановлением ко-энзима никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат с образованием НАДФН и 6-фосфоглюконата. Скорость увеличения абсорбции, измеряемая при 340/660 нм, в результате образования НАДФН прямо пропорциональна активности КК.

**Исследуемый** **материал**: рекомендуется использовать сыворотку. Не используйте гемолизированные пробы. После взятия крови следует дождаться образования сгустка и отделить сыворотку от сгустка с целью минимизации гемолиза и загрязнения пробы аденилактиназой из эритроцитов. Не рекомендуется использовать плазму с ЭДТА, оксалатом и цитратом.

**Референсные значения:**

Мужчины – ≤ 171 Е/л (2,85 мккат/л)

Женщины - ≤ 145 Е/л (2,42 мккат/л)

*Определение активности аланинаминотрансфераз*

**Назначение**: УФ кинетическое определение АЛТ в сыворотке и плазме человека.

**Клиническое** **значение**: повышение активности АЛТ в сыворотке рассматривается как индикатор поражения паренхимы печени. Повышенный ее уровень в сыворотке указывает на нарушение целостности мембран гепатоцитов. Значение активности, превышающие в 50 раз верхний предел нормальных значений, в основном обусловлены вирусным гепатитом, острым нарушением печеночной перфузии и острым некрозом печени, вызванным экзотоксинами, в том числе парацетамолом и тетрахлоридом углерода. Заметное повышение уровня АЛТ в сыворотке наблюдается при различных заболеваниях печени, включая гепатит, мононуклеоз и цирроз. Повышенный уровень АЛТ можно наблюдать при вирусном гепатите и других заболеваниях печени еще до проявления других клинических симптомов, таких как желтушность. Уровень, превышающий более чем в 15 раз верхнюю границу нормы, всегда является показателем острого гепатоцеллюлярного некроза вирусного, токсического или циркуляторного происхождения. Увеличение уровня АЛТ также наблюдается при циррозе и внепеченочном холестазе. Незначительное увеличение АЛТ также отмечается после приема алкоголя или некоторых ЛП, таких как пенициллин, салициллаты и опиаты.

**Принцип** **определения:** метод основан на рекомендациях Международной Федерации Клинической Химии. АЛТ переносит аминогруппу с аланина на 2-оксоглютарат с образованием пирувата и глутамата. Добавление к реакционной смеси пиридоксаль-фосфата обеспечивает максимальную каталитическую активность АЛТ. Пируват вступает в реакцию NADH, катализированную ЛДГ, продуцируя лактат и NAD+. Уменьшение значений абсорбции вследствие потребления NADH измеряется при 340 нм и прямо пропорционально активности АЛТ в пробе. Эндогенный пируват удаляется во время инкубационного периода.

**Исследуемый** **материал**: сыворотка и плазма (ЭДТА или гепарин). В сыворотке и плазме АЛТ стабильная 7 дней при температуре хранения 2-80С и в течение 3 дней при температуре хранения 2-25о С.

**Референсные значения:**

Мужчины – менее 50 Е/л (0,85 мккат/л)

Женщины – менее 35 Е/л (0,60 мккат/л)

Новорожденные/младенцы – 13-45 Е/л (0,22-0,75 мккат/л)

*Определение активности аспартатаминотрансферазы*

**Назначение**: УФ кинетическое определение АСТ в сыворотке и плзаме человека.

**Клиническое** **значение**: уровень АСТ часто повышается в 20-50 раз при вирусном гепатите и заболеваниях печени, сопровождающихся некрозом ткани печени. Важным показателем повреждения печени является оценка активности АСТ относительно активности АЛТ (Коэффициент де Ритиса; АСТ/АЛТ). Коэффициент меньше 1,0 является показателем небольшого повреждения печени и встречается при заболеваниях воспалительного характера. Коэффициент больше 1,0 является показателем тяжелого заболевания печени, обычно сопровождаемого некрозом. Увеличение уровня АСТ может выявляться при циррозе, внепеченочном холестазе, прогрессирующей дистрофии мышц, дерматомиозите, остром панкреатите, гемолизе, гангрене, синдроме сдавливания и эмболии легочной артерии. Небольшое увеличение уровня АСТ может также наблюдаться после приема алкоголя или употребления таких ЛП как пенициллин, салициллаты и опиаты.

**Принцип** **определения:** метод основан на рекомендациях Международной Федерации Клинической Химии. В этом методе АСТ катализирует трансаминирование аспартата и 2-оксоглюторат, при этом образуется L-глютамат и оксалоацетат. Добавление к реакционной смеси пиридоксаль-фосфата обеспечивает максимальную каталитическую активность АСТ. Оксалоацетат восстанавливается до L-малата в присутствии малатдегидрогеназы, в то же время NADH превращаетяс в NAD+. Пируват вступает в реакцию с NADH, катализированную ЛДГ с образованием лактата и NAD+. Снижение значений абсорбции, вследствие потребления NADH, измеряется при 340 нм и прямо пропорциональна активности АСТ в пробе. Эндогенный пируват удаляется во время инкубационного периода.

**Исследуемый** **материал**: сыворотка и плазма (гепарин). В сыворотке АСТ стабильна в течение 7 дней при температуре хранения 2-80С и в течение 4 дней при температуре хранения 2-250С. Пробы с гемолизом не следует использовать в исследованиях, так как активность АСТ в эритроцитах приблизительно в 15 раз выше, чем в плазме здорового человека.

**Референсные значения:**

Мужчины (взрослые) – менее 50 Е/л (0,85 мккат/л)

Женщина (взрослые) – менее 35 Е/л (0,60 мккат/л)

Новорожденные – 25-75 Е/л (0,42-1,25 мккат/л)

Младенцы – 15-60 Е/л (0,25-1 мккат/л)

**День 10**

Заполнение дневника преддипломной практики.

**День 11**

Заполнение дневника преддипломной практики

Определение содержания показателей белкового обмена на анализаторе Beckman Coulter AU 5800

*Определение содержания общего белка*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения общего белка в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** отклонение содержания общего белка от границы нормы указывает на наличие диспротеинемий или нарушение водного баланса.

**Принцип определения:** ионы меди в щелочной среде реагируют с белками и полипептидами, имеющими как минимум 2 пептидные связи, с образованием фиолетового комплекса.

**Исследуемый материал:** сыворотка, плазма (ЭДТА или гепарин)

**Референсные значения:**

Сыворотка/плазма:

Взрослые – 66-83 г/л (6,6-8,3 г/дл)

Дети (1-18 лет) – 57-80 г/л (5,7-8,0 г/дл)

Новорожденные (1-30 дней) – 41-63 г/л (4,1-6,3 г/дл)

*Определение содержания мочевины*

**Назначение:** УФ кинетическое определение мочевины в сыворотке, плазме и моче человека.

**Клиническое значение:** преренальное увеличение уровня мочевины встречается при декомпенсации заболеваний сердца, повышенном метаболизме белка и недостаточном поступлении воды. Также повышение может быть вызвано почечной патологией, такой как острый гломерулонефрит, хронический нефрит, поликистоз почек, некроз канальцев и нефросклероз. Постренальное повышение мочевины в крови может быть вызвано обструкцией мочевыводящих путей.

**Принцип определения:** мочевина гидролизируется в присутствии воды до аммиака и углекислого газа. Аммиак, образующийся в первой реакции, реагирует с 2-оксоглутаратом и NADH в присутствии ГДГ с образованием глутамата и NAD.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (ЭДТА или Li-гепарин)

**Референсные значения:**

Сыворотка/плазма взрослых (в целом) – 2,8-7,2 ммоль/л (17-43 мг/дл)

Новорожденные – 1,4-4,3 ммоль/л (8,4-25,8 мг/дл)

Младенцы/дети – 1,8-6,4 ммоль/л (10,8-38,4 мг/дл)

**День 12**

*Определение содержания креатинина*

**Назначение:** кинетический колориметрический тест для количественного определения креатинина в сыворотке, плазме.

**Клиническое значение:** повышение уровня мочевины в сыворотке без сопуствующего увеличения креатинина в сыворотке является ключевым в диагностике преренальной азотемии. В случае постренальной азотемии, когда имеет место обструкция, например, при опухолях, нефротилитиазе и аденоме простаты, будет увеличен как уровень сывороточного креатинина, так и его уровень в моче. Иногда низкий уровень креатинина встречается у лиц с относительно малой мышечной массой, у больных с кахексией, у больных с ампутированными конечностями и пожилых людей.

**Принцип определения:** в щелочной среде креатинин образует с пикриновой кислотой окрашенные в желто-оранжевый цвет соединения.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (ЭДТА или гепарин).

**Референсные значения:** Метод (некомпенсированный Яффе)

Сыворотка/плазма:

Мужчины ≤ 50 – 74-110 мкмоль/л (0,84-1,25 мг/дл)

Мужчины ≥ 50 – 72-127 мкмоль/л (0,81-1,44 мг/дл)

Женщины – 58-96 мкмоль/л (0,66-1,09 мг/дл)

Новорожденные – 45-105 мкмоль/л (0,5-1,2 мг\дл)

Младнецы – 35-62 мкмоль/л (0,4-0,7 мг/дл)

Дети – 45-105 мкмоль/л (0,5-1,2 мг/дл)

*Определение содержания билирубина*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения общего билирубина в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** в зависимости от заболевания связанный или несвязанный билирубин, или они оба, в основном и приводят к гипербилирубинемии. Гипербилирубинемию классифицируют: предпеченочная желтуха – заболевания внепочечного происхождения, при которых преобладает повышение содержания несвязанного билирубина, включая корпускулярные гемолитические анемии, например, талассемия, серповидноклеточная анемия, экстракорпускулярные гемолитические анемии, желтуха новорожденных и гемолитических заболеваний новорожденных. Печеночная желтуха – заболевание печени с преимущественным повышением связанного билирубина, включая острый и хронический вирусный гепатит, цирроз печени и гепатоцеллярная карцинома. Постепеченочная желтуха – заболевание с преимущественным повышением содержания связанного билирубина, включая внепочечный холестаз и отторжение после пересадки печени. Хронические врожденные гипербилирубинемии: повышение содержания несвязанного билирубина при синдроме Криглера-Нажара и синдроме Гильберта.

**Принцип определения:** стабилизированная диазоновая соль, 3,5-дихлорофенилдиазон тетраборат, реагирует напрямую с билирубином, как в свободном состоянии, так и в конъюгированном, в присутствии акцелератора с образованием азобилирубина.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (ЭДТА или гепарин).

**Референсные значения:**

Сыворотка (взрослые) – 5-21 мкмоль/л (0,3-1,2 мг/дл)

Сыворотка (дети)

0-1 день – 24-149 мкмоль/л (1,4-8,7 мг/дл)

1-2 день – 58-197 мкмоль/л (3,4-11,5 мг/дл)

3-5 день – 26-205 мкмоль/л (1,5-12,0 мг/дл)

*Определение содержания мочевой кислоты*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения мочевой кислоты в сыворотке, плазме.

**Клиническое значение:** гиперурикемия подразделяется на первичную и вторичную, при которых имеет место повышенная продукция или снижения выведения мочевой кислоты. Первичная гиперурикемия связана с подагрой и с синдромом Леша-Нигана, синдромом Келли Сигмиллера и увеличчением синтеза фосфорибосилпирофосфата. Вторичная гиперурикемия связана с различными состояниями, включая почечную недостаточность, миеолопролиферативными заболеваниями, гемолитическими заболеваниями, псориазом, истинной полицитемией, заболеваниями хранения гликогена первого типа, избыточное потребление алкоголя, отравления свинцом, голодание. Гипоурикемия может возникать в результате лечения препаратами, понижающими содержание мочевой кислоты, а также при применении рентгеноконтрастных средств.

**Принцип определения:** мочевая кислота под действием уриказы разлагается на алантин и перекись водорода. Последняя реагирует с 3,5-дихлоро-2-гидроксибененсульфоновой кислотой и 4-аминофеназоном в присутсвии пероксидазы, с образованием красно-фиолетового хинонимина, накопление которого определяется бихромотически при 660/800 нм.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (ЭДТА или гепарин).

**Референсные значения:**

Сыворотка мужчины – 208,3-428,4 мкмоль/л (3,5-7,2 мг/дл)

Сыворотка женщины – 154,7-357, 0 мкмоль/л (2,6-6,0 мг/дл)

**День 13**

Заполнение дневника преддипломной практики.

**День 14**

Определение содержания показателей липидного обмена на анализаторе Beckman Coulter AU 5800

*Определение содержания холестерина*

**Назначение:** колориметрический ферментативный тест для количественного определения холестерина в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** прогностическое значение определения общего холестерина в выявлении риска ИБС невелико. Холестерин транспортируется двумя классами липопротеидов (ЛПВП, ЛНПН), каждый из которых играет противоположную роль в патогенезе нарушений липидного обмена.

**Принцип определения:** при определении холестерина используется ферментативный метод. Эфиры холестерина пробы гидролизуются холестеринэстеразой. Образовавшийся свободный холестерин окисляется холестериноксидазой до холестен-3-один с одновременным образование перекиси водорода, которая, окисляясь, соединяется с 4-аминантипивином и фенолом в присутствии пероксидазы, в результате чего образуется хромофор. Интенсивность окраски реакционной смеси, измеряется при 540/600 нм прямо пропорциональна концентрации общего холестерина в крови.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (ЭДТА или гепарин). Не следует проводить измерение в иктеричных пробах. В качестве антикоагулянта не использовать флюорид, цитрат и оксалат. В сыворотке и плазме ТГ стабильны в течение 5-7 дней при t 2-80С.

**Референсные значения:**

Менее 5,2 ммоль/л (200 мг/дл) – нормальные

5,2-6,2 ммоль/л (200-239 мг/дл) – пограничные

Более или равно 6,2 ммоль/л ( 240 мг/дл) - высокие

*Определение содержания триглицеридов*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения ТГ в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** определение ТГ используется в диагностике и лечении больных с острыми и хроническими панкреатитами, СД, нефрозом внепеченочной билиарной обструкции и другими заболеваниями, затрагивающими метаболизм липидов, а также различными эндокринными заболеваниями.

**Принцип определения:** определение ТГ при использовании реактивов Олимпус основано на ряде сопряженных ферментативных реакций. ТГ пробы гидролизуются смесью микробных липаз с образованием глицерина и ВЖК. Глицерин в свою очередь фофсфорелируется глицеролкиназой в присутствии АТФ с образованием глицерин-3-фосфата. Глицерин-3-фосфат окисляется молекулярным кислородом в присутствии глицеринфосфатоксидазы, что приводит к образованию перекиси водорода и дигидроксиацетонфосфата. Перекись водорода используется в реакции окислительного расщепления п-хлорофенола и 4-аминоантипирина, катализируемого пероксидазой и приводящего образованию хромофора, который измеряется 660/800 нм. значение абсорбции при 660/800 нм прямо пропорционально концентрации ТГ в пробе.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (ЭДТА или гепарин). Не следует проводить измерение в иктеричных пробах. В качестве антикоагулянта не использовать флюорид, цитрат и оксалат. В сыворотке и плазме ТГ стабильны в течение 5-7 дней при t 2-80С. Не использовать вакуумные системы для взятия крови с ограничителем, покрытым глицерином.

**Референсные значения:**

Нормальные – менее 1,7 ммоль/л (150 мг/дл)

Пограничные – 1,7-2,25 ммоль/л (150-199 мг/дл)

Повышенные – 2,26-5,64 ммоль/л (200-499 мг/дл)

Очень высокие – более или равно 5,65 ммоль/л (500 мг/дл)

*Определение содержания Хс-ЛПВП*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения Хс-ЛПВП в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** низкий Хс-ЛПВП – показатель высокого фактора риска, вне зависимости от концентрации общего холестерина и серьезный предиктивный признак для риска ИБС. Измерение Хс-ЛПВП используется для раннего выявления риска атеросклероза, а также применяется для оценки эффективности терапии, направленного на снижения содержания липидов в крови.

**Принцип определения:** антитела к человеческому бетта-липопротеину, содержащиеся в реактиве R1, связываются с липопротеидами, отличными от фракции ЛПВП (ЛПНП, ЛПОНП и хиломикроны). Комплексы антиген-антитело блокируют ферментативную реакцию, инициируемую добавоением реактива R2. Хс-ЛПВП определяется количественно в ферментативно-хромогенной смеси.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (гепарин) (натощак и ненатощак): Хс-ЛПВП стабилен в течение 7 дней при t хранения 2-80С и в течение 2 дней при 15-250С.

**Референсные значения:**

Менее 1,03 ммоль/л (менее 40 мг/дл) низкий Хс-ЛПВП – значительный риск сердечно-сосудистых заболеваний.

Более или равно 1,55 ммоль/л (более или равно 60 мг/дл) выскоий Хс-ЛПВП – «отрицательный» фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний.

*Определение содержания Хс-ЛПНП*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения Хс-ЛПНП в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** повышенный уровень Хс-ЛПНП в сочетании с повышенным уровнем ТГ указывает рост риска атеросклероза. Повышенный уровень Хс-ЛПНП указывает на высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний и наследственную гиперлипидемию. Пониженный уровень Хс-ЛПНП может быть вызван нарушением всасывания и недоеданием.

**Принцип определения:** предохраняющий компонент реактива R1 защищает ЛПНП от ферментативной реакции. Липопротеины, не относящиеся к этой группе, расщепляются холестеринэстеразой и холестериноксидазой. Перекись водорода, образующаяся, расщепляется каталазой реактива R1. Добавление реактива R2 приводит к освобождению ЛПНП от предохраняющего соединения и инактивации каталазы азидом натрия. После этого содержание ЛПНП количественно определяется в присутствии холетсериноксидазы и пероксидазы.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (гепарин). Хс-ЛПНП стабилен в течение 7 дней при t хранения 2-80С и в течение 1 дня при 15-250С.

**Референсные значения:**

Менее 2,6 ммоль/л (100 мг/дл) – оптимальный уровень

2,6-3,3 ммоль/л (100-129 мг/дл) – вблизи оптимального уровня/выше оптимального уровня

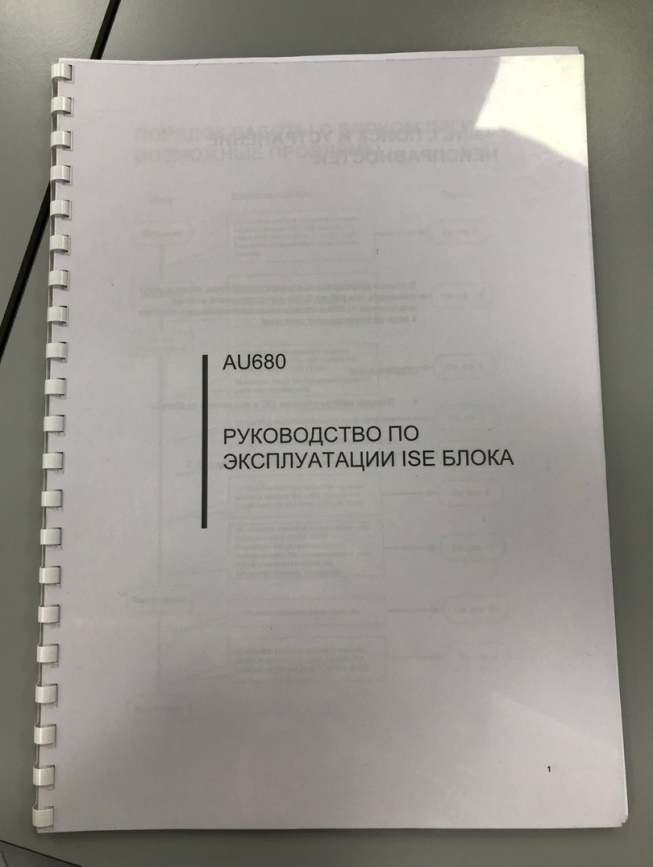
3,4-4,1 ммоль/л (130-159 мг/дл) – пограничный уровень (вблизи верхней границы)

4,1-4,9 ммоль/л (160-189 мг/дл) – высокий уровень

Более или равно 4,9 ммоль/л (190 мг/дл) – очень высокий уровень

**День 15**

Определение содержания показателей минерального обмена на анализаторе Beckman Coulter AU 5800



*Определение содержания кальция*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения общего кальция в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** значительное снижение концентрации ионов кальция приводит к тетании мышц. Концентрация ионов Са выше нормы снижает нейромышечную возбудимость и приводит к мышечной слабости вместе с другими более сложными симптомами.

**Принцип определения:** ионы Са в щелочной среде реагируют с комплексом О-крезолфталеина с образованием комплекса пурпурного цвета. Изменение абсорбции реакционной смеси регистрируется бихроматически при 570-660 нм. Увеличение абсорбции прямо пропорционально концентрации Са в пробе.

**Исследуемый материал:** сыворотка или плазма (гепарин). Сыворотку или плазму надо аккуратно отделить от клеточных элементов крови во избежание поглощения Са эритроцитами. В качестве антикоагулянта не использовать ЭДТА, цитрат натрия, фторид натрия и оксалат.

**Референсные значения:**

Сыворотка, плазма – взрослые – 2,20-2,65 ммоль/л или 8,8-10,6 мг/дл

Сыворотка – дети (0-10 дней) – 1,90-2,60 ммоль/л или 7,6-10,4 мг/дл

Сыворотка – дети (2-12 лет) – 2,20-2,70 ммоль/л или 8,8-10,8 мг/дл

*Определение содержания магния*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения магния в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** самыми известными проявлениями дефицита магния дефицита магния является уху3дшение нейромышечной функции. Гипомагнезиемия наблюдается при диабете, хроническом алкоголизме, форсированном диурезе, гипертиреоидизме, гипопаратиреоидизме, гипокальциемии, мальабсорбции и остром панкреатите. Повышение уровня магния в сыворотке наблюдается при нарушении функции почек, обезвоживании, тяжелом диабетическом ацидозе и болезни Аддисона.

**Принцип определения:** использование данного набора реагентов основано на прямом методе определения концентрации ионов Mg, образующих цветные комплексы в резко кислой среде. Концентрация окрашенного продукта измеряется бихроматически при 520/800 нм, интенсивность окраски реакционной среды прямо пропорциональна концентрации магния в образце. Влияние ионов кальция на результат исключается гликольэтердиамин-N,N,N,N-тетраацетиловой кислотой.

**Исследуемый материал:** сыворотка, плазма (гепарин). Не использовать в качестве антикоагулянтов ЭДТА, оксалат и цитрат. Отделять сыворотку от эритроцитов немедленно. Не использовать пробу с гемолизом, так как концентрация магния в эритроцитах значительно выше, чем в сыворотке. Магний стабилен в сыворотке в течение 7 дней при t хранения 15-250 С.

**Референсные значения:**

Сыворотка мужчины – 0,73-1,06 ммоль/л (1,8-2,6 мг/дл)

Женщины – 0,77-1,03 ммоль/л (1,9-2,5 мг/дл)

**День 16**

*Определение содержания железа*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения железа в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** низкий уровень железа наблюдается у большинства пациентов с ЖДА, в случаях острых или хронических воспалительных заболеваниях, таких как острая инфекция, иммунизация или инфаркт миокарда, острых кровотечениях, злокачественных образованиях, гидрокахексии, поздней беременности, менструальном кровотечении и нефрозе. Снижается у пациентов в ответ на специфическую терапию анемии, обусловленную другими причинами, например, лечение пернициозной анемии витамином В12.

**Принцип определения:** данный метод основан на использовании в качестве хромогена ТПТЗ. В кислой среде железо, связанная с трансферрином, диссоциирует на апо-трансферрин и свободные ионы железа. Соляна кислота и аскорбат натрия восстанавливает Fe +3 до Fe +2.

**Исследуемый материал:** сыворотка, плазма (гепарин).

**Референсные значения:**

Сыворотка (взрослые) мужчины – 12,5-32,2 мкмоль/л (70-180 мкг/дл)

Женщины - 10,7-32,2 мкмоль/л (60-180 мкг/дл)

Сыворотка (дети) новорожденные – 17,90-44,8 мкмоль/л (100-250 мкг/дл)

Младенцы – 7,2-17,9 мкмоль/л (40-100 мкг/дл)

Дети – 9,0-21,5 мкмоль/л (50-120 мкг/дл)

*Определение содержания ЖСС*

**Назначение:** колориметрический фотометрический тест для количественного определения ЖСС в сыворотке или плазме человека.

**Клиническое значение:** ОЖСС снижается при хронических инфекциях, злокачественных новообразованиях, при отравлении железом, заболеваниях почек, нефрозе, квашиоркоре и талассемии. Обычными причинами повышения ОЖСС являются ЖДА, поздние сроки беременности, прием оральных контрацептивов, вирусные гепатиты.

**Принцип определения:** ионы Fe +2 из реактива 1 реагируют с нитрозо-ПСАП и реактива 2 с образованием ярко-зеленого комплекса. В щелочной среде ионы Fe, добавленные к сыворотке, специфически связываются с трансферрином в свободных местах для присоединения Fe. Таким образом, неспособны реагировать с нитрозо-ПСАП.

**Исследуемый материал:** сыворотка и плазма (гепарин).

**Референсные значения:**

Взрослые – 27,8-63,6 мкмоль/л (155-355 мкг/дл)

**День 17**

Заполнение дневника преддипломной практики.

**День 18**

Проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции

Сбор, временное хранение, обеззараживание, обезвреживание, транспортирование отходов в «ЦЛТ АБВ» проводится в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

Организованная система сбора, временного хранения и удаления отходов состоит из следующих этапов:

- сбор, дезинфекция и хранение на отделах;



Норматив заполнения пакетов: не более ¾ объема, максимальная вместимость до 10 кг.

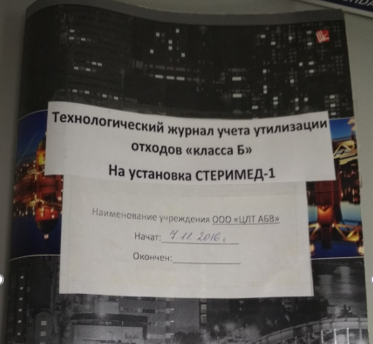
- транспортировка в помещение №37 первого этажа для утилизации;

- обеззараживание, сбор и загрузка в специальные контейнеры за пределы здания.

Обеззараживание биологического материала проводится в установке для обеззараживания и утилизации медицинских отходов «Стеримед», а также в установке микроволновой для обеззараживания медицинских отходов.



Циклы утилизации отходов обязательно фиксируются в Журнале.



**День 19**

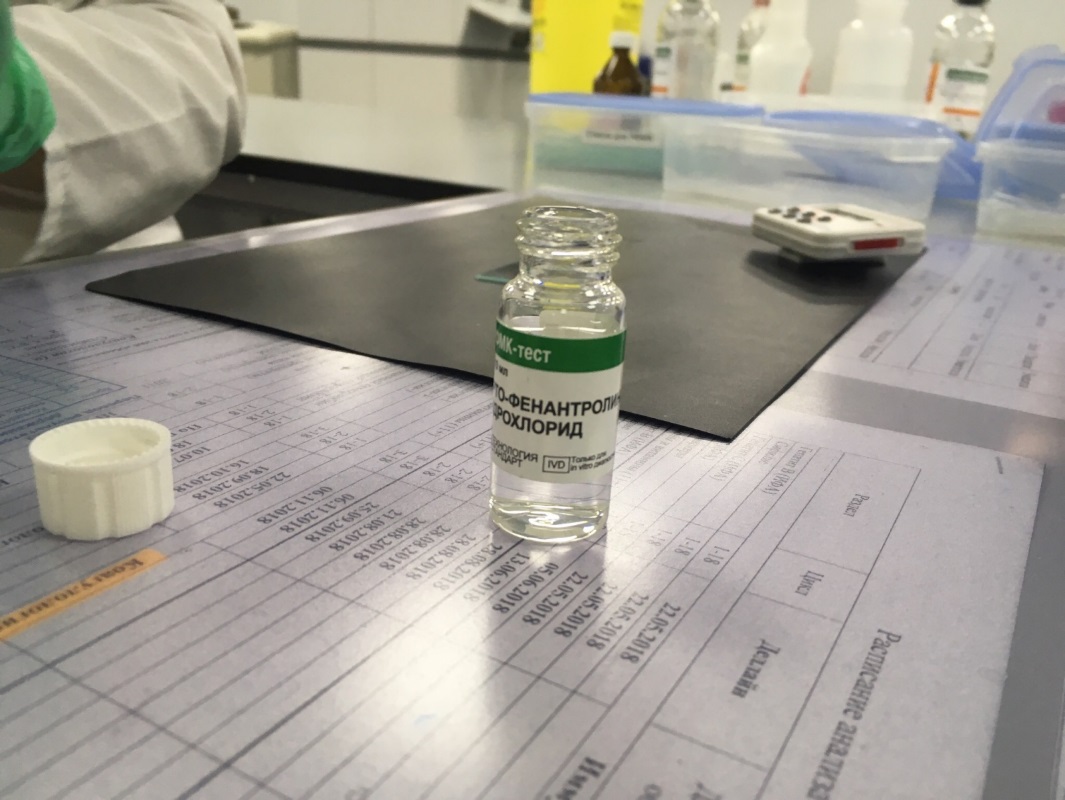
Работа с дневником производственной практики

**День 20**

Продолжили прием и первичную сортировку биоматериала, как описано в «День 3».

Проводили подготовку материала к биохимическим исследованиям, как описано в «День 4,5».

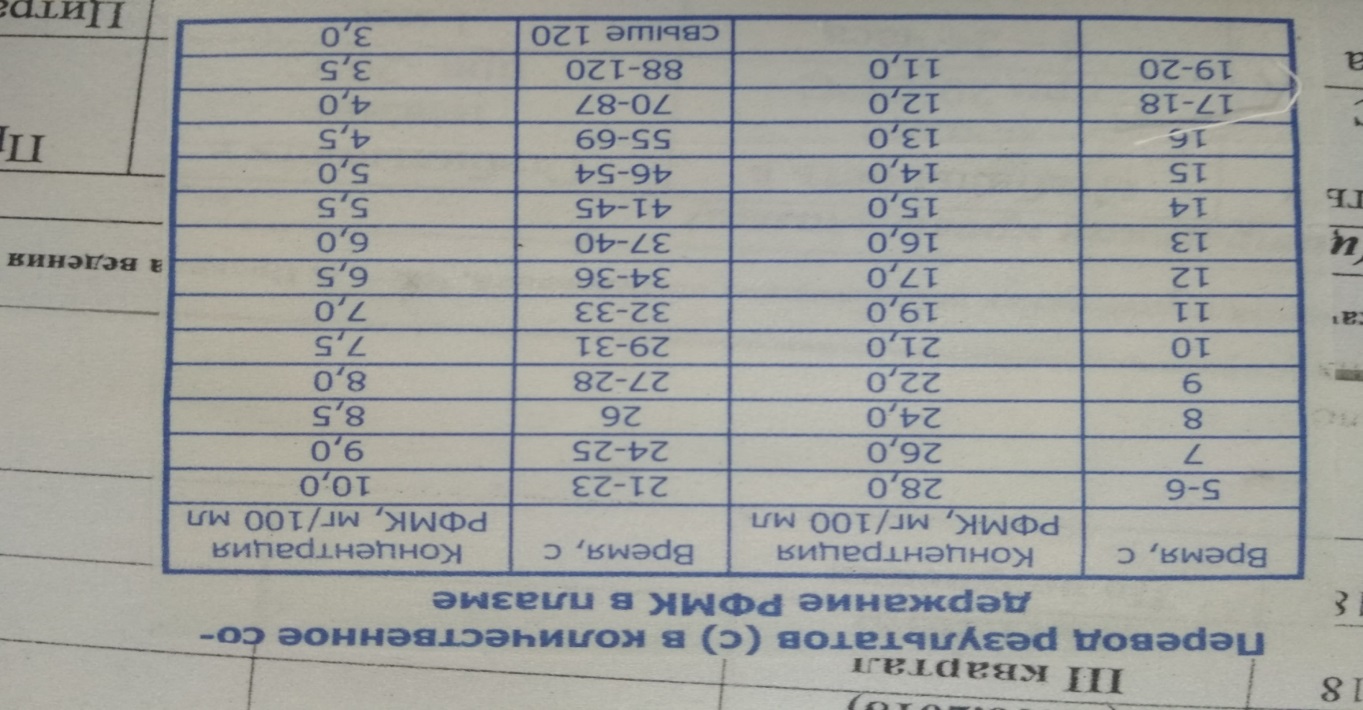
*Определение показателей гемостаза (РФМК)*

Данную реакцию проводят на стекле.

Берем чистое стекло, наливаем 50 мкл реагента для РМФК орто-фенантролина гидрохлорид. Затем вносим в ту же каплю 50 мкл плазмы и перемешиваем.

Засекаем время на секундомере до появления белых хлопьев. Результат оцениваем на черном фоне.

Концентрация РФМК определяем по таблице расчета.



**Референсные значения:**

В норме 0-4,5 мг/100 мл.

Беременные: выше до 10 мг/100 мл.

**День 21**

Продолжили прием и первичную сортировку биоматериала, как описано в «День 3».

Проводили подготовку материала к биохимическим исследованиям, как описано в «День 4,5».

Контроль качества

В «ЦЛТ АБВ» контроль качества лабораторных исследований проводится ежедневно.

Для проведения контроля качества биохимических исследований на анализаторе Beckman Coulter AU 5800 необходима контрольная сыворотка (Control Serum 1, 2), которая представляет собой лиофилизированную сыворотку человека.

Подготовка контроля: перед вскрытием флакона с лиофилизатом, прогреть флакон до комнатной t, для предотвращения образования конденсата во флаконе. Перед вскрытием флакона слегка постучать по крышке для того, чтобы высвободить лиофилизат, застрявший в пробке. Аккуратно снять крышку с флакона, избегая потерь лиофилизата. Добавить во флакон точно 5 мл свежей деионизированной воды комнатной t (около 200 С). Осторожно закрыть крышку и несколько раз перевернуть флакон, избегая образования пены. Оставить его при комнатной температуре на 30 минут для полного растворения лиофилизата. Продолжать перемешивать до полной гомогенизации раствора и полного растворения лифоилизата. На этикетке флакона написать дату приготовления. Разведенный контрольный материал хранить при t 2…80.

**День 22**

Продолжили прием и первичную сортировку биоматериала, как описано в «День 3».

Проводили подготовку материала к биохимическим исследованиям, как описано в «День 4,5».

Определяли показатели гемостаза (РФМК),как описано в «День 20».

**День 23**

Продолжили прием и первичную сортировку биоматериала, как описано в «День 3».

Проводили подготовку материала к биохимическим исследованиям, как описано в «День 4,5».

Определяли показатели гемостаза (агрегация с АДФ),как описано в «День 17».

**День 24**

Продолжили прием и первичную сортировку биоматериала, как описано в «День 3».

Проводили подготовку материала к биохимическим исследованиям, как описано в «День 4,5».