Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

### Дневник

производственной практики

по ПМ 03. «Проведение лабораторных биохимических исследований»

Содунам Сырга Буяновна

ФИО

Место прохождения практики

ГБУЗ РТ «Бай-Тайгинская ЦКБ»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(медицинская организация, отделение)

с «29» октября 2018 г. по «24» ноября 2018 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) Ооржак Ю.Б\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) Кужугет\_Ч.Г\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Методический – Ф.И.О. (его должность) Перфильева Г.В.\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Красноярск, 2018

## **Содержание**

## 1. Цели и задачи практики

## 2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики

## 3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Инструктаж по технике безопасности

6. Содержание и объем проведенной работы

7. Манипуляционный лист (Лист лабораторных / химических исследований)

8. Отчет (цифровой, текстовой)

## **Цели и задачи практики:**

1. Ознакомление со структурой клинико-диагностической лаборатории и организацией работы среднего медицинского персонала;
2. Формирование основ социально-личностной компетенции путем приобретения студентом навыков межличностного общения с медицинским персоналом и пациентами;
3. Осуществление учета и анализа основных клинико-диагностических показателей;
4. Обучение студентов оформлению медицинской документации;
5. Формирование навыков общения с больным с учетом этики и деонтологии.

**Программа практики.**

*В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:*

1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных исследований.
2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
6. Регистрировать проведенные исследования.
7. Вести учетно-отчетную документацию.
8. Пользоваться приборами в лаборатории.
9. Выполнять методики определения веществ согласно алгоритмам

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Характеристику, заверенную подписью руководителя практики и печатью ЛПУ.
3. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
4. Выполненную самостоятельную работу.

**В результате производственной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- определения показателей белкового, липидного, углеводного и минерального обменов, активности ферментов, белков острой фазы, показателей гемостаза

**Освоить умения:**

- готовить материал к биохимическим исследованиям;

- определять биохимические показатели крови, мочи, ликвора;

- работать на биохимических анализаторах;

- вести учетно-отчетную документацию;

- принимать, регистрировать, отбирать клинический материал;

**Знать:**

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в биохимической лаборатории;

- особенности подготовки пациента к биохимическим лабораторным исследованиям;

- основные методы и диагностическое значение биохимических исследований крови, мочи, ликвора и т.д.;

- основы гомеостаза; биохимические механизмы сохранения гомеостаза;

- нормальную физиологию обмена белков, углеводов, липидов, ферментов, гормонов, водно-минерального, кислотно-основного состояния; причины и виды патологии обменных процессов;

**Тематический план**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | | **Всего часов** |
|
|
| 1 | *Ознакомление с правилами работы в КДЛ:*  - изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ. | | 6 |
| 2 | *Подготовка материала к биохимическим исследованиям:*  - прием, маркировка, регистрация биоматериала.  - получение плазмы и сыворотки из венозной крови. | | 12 |
| 3 | *Организация рабочего места:*  - приготовление реактивов, подготовка оборудования, посуды для исследования | | 12 |
| 4 | *Определение биохимических показателей в биологических жидкостях:*  - определение активности ферментов (амилазы, ЩФ, КФ, ЛДГ,КФК, АлАТ, АсАТ) современными методами  - определение содержания показателей углеводного обмена (глюкоза, сиаловые кислоты, гликированный Нв, лактат) современными методами.  - определение содержания показателей белкового обмена (общий белок, белковые фракции, мочевина, креатинин, билирубин, мочевая кислота) современными методами.  - определение содержания показателей липидного обмена (холестерин, ТГ, Хс-ЛПНП, Хс-ЛПВП, ИА)  - работа на современном биохимическом оборудовании (ФЭК, фотометр, анализаторы)  - определение содержания показателей минерального обмена (кальций, натрий, калий, магний, железо ЖСС)  - определение показателей КОС организма  - определение показателей гемостаза современными методами.  - работа на современном биохимическом оборудовании (фотометр, анализаторы, коагулометр, анализатор газов крови)  - внутрилабораторный контроль качества лабораторных исследований | | 78 |
| 5 | *Регистрация результатов исследования.* | | 12 |
| 6 | *Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ:*  - проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;  - утилизация отработанного материала. | | 24 |
| **Итого** | | | **144** |
| **Вид промежуточной аттестации** | | Дифференцированный зачет |  |

**График прохождения практики.**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Дата** | **Часы** | **оценка** | **Подпись руководителя.** |
| 1 | 29.10.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 2 | 30.10.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 3 | 31.10.2018. | 8ºº-14ºº |  |  |
| 4 | 01.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 5 | 02.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 6 | 03.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 7 | 05.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 8 | 06.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 9 | 07.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 10 | 08.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 11 | 09.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 12 | 10.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 13 | 12.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 14 | 13.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 15 | 14.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 16 | 15.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 17 | 16.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 18 | 17.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 19 | 19.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 20 | 20.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 21 | 21.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 22 | 22.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 23 | 23.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |
| 24 | 24.11.2018 | 8ºº-14ºº |  |  |

**День 1.**Знакомство с лабораторией и руководящими документами по организации деятельности клинических лабораторных исследований:

**Виды работ:** ознакомление со структурой КДЛ ЛПУ. Прохождение инструктажа. Работа с нормативными документами, регулирующими работу КДЛ.

**Нормативные документы для изучения:**

1. 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».
2. Приказ МЗ России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях Российской Федерации».
3. 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».

Отчет о выполненной работе: Техника безопасности.

**ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ**

* Во время работы в лаборатории следует неукоснительно соблюдать правила техники безопасности. Каждый работающий должен быть полностью информирован о требованиях техники безопасности, принятых в лаборатории, и о местонахождении средств противопожарной безопасности и аптечки первой помощи. Для ознакомления с правилами безопасного проведения работ организуется регулярный инструктаж сотрудников. Результаты инструктажа заносятся в специальный журнал.
* Важным элементом обеспечения безопасных условий работы является правильная организация труда сотрудников лаборатории, рационализация работ.
* Во время работы необходимо соблюдать правила личной гигиены.
* Курить в лаборатории запрещается.
* Помещения лаборатории должны быть оборудованы специальными контейнерами для сбора мусора и производственных отходов.
* Утилизация отходов должна проводиться регулярно в соответствии со специальными требованиями по утилизации отходов.
* Помещения лаборатории должны быть оборудованы местами хранения повседневной и спецодежды, индивидуальных средств защиты, а также специально выделенными местами для переодевания.
* Все помещения лаборатории должны быть оборудованы аптечками для оказания первой (неотложной) помощи.
* В каждой лаборатории должны быть хорошая вентиляция, водопровод с горячей и холодной водой, система электропитания, канализация, установки для дистилляции воды.
* В качестве спецодежды в лаборатории используются лабораторные халаты и перчатки.
* Халаты должны быть достаточно длинными и застегиваться полностью, при этом быть закрытыми спереди. Рукава должны плотно охватывать запястья. Перчатки должны быть удобными и достаточно длинными.
* Защита глаз обеспечивается защитными очками с противоударными стеклами и защитными масками различной конструкции.
* В случае необходимости для защиты органов дыхания используют респираторы различного типа (в зависимости от степени опасности).
* Не допускается совместное хранение химических веществ (реактивов), способных к активному взаимодействию друг с другом.
* Ядовитые и сильнодействующие вещества (включая лекарственные препараты списков А и Б) следует хранить в сейфе или специальном шкафу под замком и пломбой.
* Вся посуда, содержащая реактивы и готовые реагенты, должна быть маркирована соответствующими этикетками.
* Хранить химические вещества (материалы) и готовые реагенты в таре без этикеток или с надписями, сделанными стеклографом на стекле, запрещается.

**Штат КДЛ:**

1. Заведующий лаборатории- Ооржак Юлиана Белек-ооловна

3. Биохим-Лаборант- Кужугет Чойгана Григорьевна

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Вид помещения (зоны) | Назначение | Оснащение |
| Биохимическая лаборатория | Для биохимических исследований | Микроскоп стандартный лабораторный, Бытовые холодильники, Биохимический анализатор, Центрифуга лабораторная, Набор пипеточных дозаторов, Лабораторная мебель, Компьютерное оборудование |

**Перечень рабочих журналов КДЛ**

|  |  |
| --- | --- |
| Название рабочего журнала | назначение |
| Журнал поликлиники | Для регистрации биохимических исследований |
| Журнал стационара | Для регистрации биохимических исследований |
| Журнал коагулометрических исследований | Для регистрации коагулометрических исследований |

****

****

**День 2.**

**Санитарно-эпидемический режим в КДЛ**

**Вид работ:** ознакомление с требованиями санитарного режима в КДЛ, правилами проведения санитарной обработки различных помещений лаборатории. Проведение влажной уборки в помещениях КДЛ. Проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; Утилизация отработанного материала. Заполнение журналов учета аварийных ситуаций, генеральных уборок, учета медицинских отходов, получения и расходования дезинфицирующих средств.

**Нормативные документы для изучения:**

1. СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".
2. СП 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»

Отчет о выполненной работе: Отсутствует месячный график санитарной уборки. Копия инструкции по применению дезинфицирующего раствора

**1. Санитарная обработка помещений КДЛ.**

Влажная уборка: Ежедневная текущая уборка помещений (протирание стен, подоконников, столов, мытье полов) проводится в конце рабочего дня с применением моющих растворов чистой зоне лаборатории, с обязательным применением дезинфицирующих средств и обеззараживанием воздуха - в помещениях заразной зоны лаборатории.

Генеральная уборка**:** Ежемесячно, по утвержденному графику, проводят генеральную уборку, путем протирания поверхностей мебели, приборов, аппаратов, а также стен, на высоту до 2 метров растворами дезинфицирующих средств. В помещениях "заразной" зоны, в т.ч. процедурной, генеральная уборка проводится еженедельно.

При проведении генеральных уборок подлежат обработке и :   
стеклянные поверхности бактерицидных ламп, протирают ветошью, смоченной 70% этиловым спиртом, не реже 1 раза в неделю;   
холодильники периодически, не реже 1 раза в месяц очищают от наледи с одновременным проведением их дезинфекции;   
термостаты один раз в месяц подвергают дезинфекционной обработке.

Помещения боксов не менее раза в неделю моют горячей водой с мылом, дезинфицирующими средствами и протирают досуха. Для "чистой" и "заразной" зон используется отдельный уборочный инвентарь с соответствующей маркировкой

**3. Правила обработки рук персонала КДЛ**



**4.Правила разведения, применения и хранения дезинфицирующих растворов, применяемых в КДЛ** (приложить инструкцию, применяемую в лаборатории).

**Алгоритм приготовления дезинфицирующих растворов**. Для очищения поверхностей используют растворы хлорной извести. Последовательность действий для разведения порошка следующая:

* Надеть халат, маску, очки и защитные перчатки.
* Килограмм сухой хлорной извести высыпать в десятилитровое ведро.
* Затем медленно выливать в эту емкость воду (10 л), плавно помешивая. Ведро закрыть крышкой и оставить на 24 часа.
* Процедить раствор, залить его в бутылку из темного стекла, плотно закупорить и написать этикетку с указанием даты и времени приготовления раствора.
* Срок годности такого дезинфектанта – неделя.

**Дезинфицирующие средства следует** **хранить** в неповрежденной таре в специальных помещениях - складах, оборудованных приточно-вытяжной вентиляцией.

Помещение склада должно быть сухим, светлым. Пол, стены и потолки должны иметь отделку, предотвращающую сорбцию вредных или агрессивных веществ и допускающую влажную уборку и мытье (керамическая плитка, масляная краска).

Температура 18-20ºС

**5**.**Правила** п**роведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;**

Лабораторную посуду стерилизуют:

1. сухим жаром при температуре 150, 160 и 180 ℃ соответственно 2 часа, 1 час и 30 минут.

2. в автоклаве при давлении 1 атм. В течение 20-30 минут.

Лабораторные инструменты могут быть обеззаражены погружением в дезинфицирующий раствор на 60 мин. В качестве дезинфицирующих используются следующие растворы: 3%-ный раствор хлорамина; 6%-ный раствор перекиси водорода 6%-ный раствор перекиси водорода с 0,5%-м моющим средством; 4%-ный раствор формалина; 0,5%-ный раствор нейтрального гипохлорита кальция; 0,5%-ный сульфохлорантин

При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3%-ным раствором хлорамина или 6%-ным раствором перекиси водорода

**6.Правила утилизации отработанного материала.**

В соответствии и Санитарными правилами и нормами 2.1.7.728-99 «Правила сбора и хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений» все отходы разделяются по степени их эпидемиологической , токсикологической и радиационной опасности **на пять классов опасности.**

**Класс** **А. Неопасные отходы лечебно-профилактических учреждений.**

Отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными, нетоксические отходы.

Сбор отходов класса А осуществляется в многоразовые емкости или одноразовые пакеты

**Класс Б. Опасные отходы лечебно-профилактических учреждений.**

Потенциально неинфицированные отходы. Материалы и инструменты, загрязненные выделениями, в т.ч кровью.

Отходы класса Б после обязательной дезинфекции собираются в одноразовую герметичную упаковку.

**Класс В. Чрезвычайно опасные отходы лечебно-профилактических учреждений.**

Материалы, контактирующие с больными особо опасными инфекциями. Отходы из лабораторий работающих с микроорганизмами 1-4 групп патогенности.

Сбор отходов В после обязательной дезинфекции осуществляется в одноразовую упаковку.

**Класс Г. Отходы лечебно-профилактических учреждений, по составу близкие к промышленным.**

Просроченные лекарственные средства, отходы от лекарственных и диагностических препаратов, дезсредства, не подлежащие использованию, с истекшими сроком годности. Цитостатики и другие химические препараты. Ртутьсодержащие предметы , приборы и оборудование.

Сбор класса Г собираются и упаковываются в твердую упаковку

**Класс Д. Радиоактивные отходы лечебно-профилактических учреждений.**

Все виды отходов, содержащие радиоактивные компоненты.

Сбор, хранение, удаление отходов класса Д осуществляется в соответствии с требованиями правил работы с радиоактивными веществами и другими источниками ионизирующих излучений, нормами радиационной безопасности, и других действующих нормативных документов, которые регламентирует обращение с радиоактивными веществами.

**День 3**

**Подготовка материала к биохимическим исследованиям:**

**прием, маркировка, регистрация биоматерила**  
Пробирки с образцами венозной крови доставляют в лабораторию в день взятия в в штативах в специальных сумках-саквояжах для доставки биологического материала, в которых пробирки должны находиться в вертикальном положении, а при транспортировке на удаленное расстояние - в специальных контейнерах.  
  
Сотрудник лаборатории, принимающий материал, должен проверить

- правильность оформления направления: в бланке–направлении указываются данные обследуемого (фамилия, имя и отчество, возраст, № истории болезни или амбулаторной карты, отделение, диагноз, проведенная терапия);  
  
- маркировку пробирок с образцами крови (на них должны быть нанесены код или фамилия больного, идентичные коду и фамилии в бланке направления материала для исследования).

Лаборант должен зарегистрировать доставленный материал, отметить количество пробирок.

**День 4**

Ферменты – специфические белки, играющие роль биокатализаторов.

Требования к ферментам, используемым в клинико-биохимических исследованиях:

* Органоспецифичность.
* Низкая активность в крови в норме.
* Выход в кровь только при повреждении соответствующего органа.
* Высокая стабильность в крови (не менее 1-2 часов).
* Доступная методика определения активности фермента.

**Преаналитический этап исследований ферментов.**

На данном этапе нужно соблюдать 3 условия:

1. Правильное составление запроса на анализ, в котором должно быть указано следующее:

* Фамилия И. О., пол и дата рождения пациента.
* Имя врача (в срочных случаях с указанием телефона).
* Клинический диагноз (описание проблемы).
* Требуемые анализы.
* Тип анализируемого материала.
* Дата и время взятия пробы.
* Назначенное лечение (например, медикаменты).

2. Строго соблюдать условия забора биологического материала:

* Срок сбора, время взятия.
* Подготовка обследуемого (или участка тела обследуемого).
* Процедура взятия биоматериала.
* Чистота посуды и материалов для забора (одноразовые шприцы).
* Факторы внешней среды (особенно температура).
* Наличие или отсутствие консервантов, антикоагулянтов.
* Первичная обработка биоматериала.

3. Строго соблюдать условия транспортировки биоматериала (особенно при исследовании активности ферментов).

**Клинико-диагностическое значение определения активности амилазы**

Амилаза - фермент, осуществляющий расщеплении крахмала и гликогена.наиболее богаты им поджелудочная и слюнные железы. Содержание амилазы в сыворотке крови связано с приемом пищи: днем активность выше, чем ночью.

Активность амилазы в сыворотке крови **повышается** (гиперамилаземия) при:

* Остром панкреатите (в 10-30 раз, приходя к норме на 6-7 сутки, если активность сохраняется увеличенной более 5 суток, это говорит о развитии хронического процесса);
* Обострении хронического панкреатита;
* Паротите (воспалении слюнных желез);
* Почечной недостаточности;
* Может быть вызвана приемом алкоголя, адреналина, наркотических веществ.

**Снижение** активности амилазы в сыворотке крови (гипоамилаземия) наблюдается при:

* Заболеваниях печени (гепатитах, механической желтухе, циррозе);
* Сахарном диабете;
* Гипотереозе;

**Норма активности амилазы:**

Сыворотка крови – 30-220 МЕ/л

Моча - 20 –160 г/ч\*л.

**Кинетический метод определения активности альфа-амилазы**

Принцип метода: Под действием α-амивзы синтетический субстрат гидролизуется с образованием свободного 2-хлорнитрофенола, имеющего максимум поглощения при длине волны 400-415. Измерение за единицу времени приращение оптической плотности пробы прямо пропорционально активности α-амилазы в исследуемом образце. Особенностями данного субстрата, отличающими его от других синтетических субстратов α-амилазы, являются одностадийность ферментативного гидролиза и практически идентичная его аффиность к активным центрам различных изоформ α-амилазы, что существенно повышает корректность и воспроизводимость получаемых результатов.

Ход определения: Непосредственно переде проведением анализа нагреть рабочий реагент до 37 ℃

Длина волны=405

D=1см

Температура проведения реакции 37℃

Измерение против воздуха или воды

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Внести в кювету | Макроанализ | Микроанализ |
| Рабочий реагент. мкл | 1000 | 300 |
| Образец, мкл | 20 | 6 |

Смешать и инкубировать при 37℃ в течение 1 минуты. Измерить ∆Е/мин в течение 3-х минут. Вычислить среднее значение ∆Е/мин превышает величину 0,200 А/мин, развести исследуемый образец физиологическим раствором, повторить анализ, а результат умножить на степень разведения.

**Определение содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение щелочной фосфатазы.**

**Щелочная Фосфатаза** – ряд ферментов оптимум рН которых лежит в пределах 10.

ЩФ представлена 11 изоферментами, встречается практически во всех органах и тканях, но наиболее богаты клетки костной ткани и печени.

Служит биохимическим маркером кальциево-фосфорного обмена костной ткани. Активность ЩФ в сыворотке крови детей в 2-3 раза выше активности взрослых (связано с усиленным ростом костей).

**N** – 20-130 МЕ/л

Увеличение активности ЩФ в сыворотке крови наблюдается при:

* механической желтухе
* циррозе печени, холецистите, холестазе
* рахите у детей
* остеомаляции
* болезни Педжета
* миеломной болезни

Уменьшение активности ЩФ в сыворотке крови наблюдается при:

* гипотиреозе
* старческий остеопороз
* замедленном росте у детей
* гиповитаминозе С
* гипервитаминозе

**Определение содержания креатифосфокиназы в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение креатинфосфокиназы.**

**Креатинфосфокиназа** представлена тремя изоферментами. простатический изофермент. Печеночный изофермент. эритроцитарный изофермент

Наибольшее диагностическое значение имеет простатическая форма КФ.

**N –2.2 – 10.5 МЕ/л**

Увеличение активности КФ в сыворотке крови наблюдается при:

* простатите
* раке предстательной железы
* аденоме предстательной железы.
* Метастазах
* Множественной миеломе

Уменьшается активность сыворотке КФ при:

* Тромбоцитопениях

**День 5**

**Определение содержания ЛДГ в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение лактатдегидрогеназы**

**ЛДГ – лактатдегидрогеназа**, фермент катализирующий превращение молочной кислоты в пируват и наоборот. ЛДГ олигомер, состоящий из 4 субъединиц, представленных –Н и М. В плазме выявлено 5 изоферментов

**N – ЛДГ 120-240 МЕ/л;**

Увеличение активности ЛДГ в сыворотке крови наблюдается при:

* инфаркте миокарда (через 12-14 часов после начала ИМ)
* недостаточности функции сердечно-сосудистой и легочной систем
* гемолитической анемии
* воспалительных заболеваний печени (особенно острых форм)
* повреждении мышц

Увеличение активности аминотрансфераз наблюдается при:

Инфаркте миокарда активность АсАТ в 95% случаев повышается (активность КК, ЛДГ при этом повышена). Возрастание происходит на 4-6 ч. с момента приступа. Оно четко выражено спустя 24-36 ч. (увеличивается в 4-5 раз выше нормы) и лишь на 3-7 сутки снижается до нормы. Отношение показателей активностей КК/АсАТ имеет высокую значимость при дифференциальной диагностике инфаркта миокарда(отношение около 5) и поражениях скелетных мышц (около 27). Коэффициент де РитисаАсАТ/АлАТ более 1.

Остром вирусном гепатите (АлАТ и АсАТ более чем в 100 раз).

Быстрое снижение активности аминотрансфераз одновременно с возрастанием гипербилирубинемии свидетельствует об обширных некротических изменениях в ткани печени. В благоприятных ситуациях гепатита активность данных ферментов снижается медленно в течение нескольких недель и даже месяцев.

* Хроническом гепатите;
* Циррозе печени (активность повышается в 5-8 раз);
* Механической желтухе (АлАТ повышается в 50 раз долго остается повышенной, сопровождаясь возрастанием активности ЩФ, ГГТП и содержанием билирубина);
* Токсическом поражении печени;
* Легочной эмболии (активность КК при этом не повышена);
* Пораженияхмышц (мышечной дистрофии, дерматоитозит);

Снижение активности АсАТ и АлАТнаблюдаются при:

* Снижении содержания в организме витамина В6.
* Почечной недостаточности.

**Норма** активности аминотрансферазв сыворотке крови:

АсАТ = 8 – 33 МЕ/л

АлАТ = 4 – 36

**День 6.**

**Работа с дневником**

**День 7**

**Определение содержания показателей углеводного обмена**

**Преаналитический этап исследований обмена углеводов.**

Основным показателем обмена углеводов в организме служит глюкоза. Её исследование проводят в цельной крови (капиллярной и венозной), сыворотке, плазме, моче. При заборе, хранении и транспортировке биологического материала нужно соблюдать ряд общих требований.

Подготовка обследуемых:

* Забор крови делают утром с 8 до 10 часов утра. В экстренных случаях взятие крови осуществляется в любое время дня.
* Кровь берут натощак, после 8-12-часового голодания.
* Воздержание от приема алкогольных напитков не менее 24 часов.
* Исключается физическое напряжение и эмоциональное возбуждение, для чего дают обследуемому отдохнуть 15 минут.

**Определение содержания глюкозы в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение глюкозы**

Гипергликемия -увеличение уровня глюкозы в крови,может быть:

* Инсулярная – причиной может быть поражение паренхимы поджелудочной железы или гипофункция бетта-клеток островков Лангерганса, при которых снижается уровень выработки инсулина.
* Экстраинсулярная – не связана с выработкой инсулина, подразделяется на:
* Физиологическую – причина прием углеводной пищи (алиментарная) или различные эмоциональные состояния, при которых возрастает уровень адреналина (нейрогенная).
* Патологическая – причинами могут быть заболевания желез внутренней секреции (опухоли передней доли гипофиза, надпочечников, тиреотоксикоз и т.д.), токсикозы различного происхождения, травмы, опухоли мозга, снижение обмена глюкозы при наркозе, воспалениях, септических состояниях, вследствие нарушения функций ферментативных систем.

Гипергликемия встречается при следующих заболеваниях:

Сахарный диабет, поражениях ЦНС, печени, желез внутренней секреции, стрессовых ситуациях, обильном приеме углеводной пищи, приеме некоторых лекарственных средств (кофеин, стрихнин, адреналин, эфир, опий, морфий, хлороформ и т.д.).

Гипогликемия -уменьшение уровня глюкозы в крови, встречается при:

* Снижении гормональной функции щитовидной железы, надпочечников, гипофиза.
* Увеличение функций инсулярного аппарата поджелудочной железы.
* Некоторые формы поражения почек (нефриты, нефрозы).
* Некоторые формы поражения печени (гепатиты, жировая инфильтрация печени).
* Гликогенозы.

**Норма.**

Норма глюкозы в цельной крови: 3,3 – 5,5 ммоль/л.

Норма глюкозы в сыворотке крови: 3,7 – 6,1 ммоль/л

**Определение концентрации глюкозы в крови глюкозооксидазным методом**

*Принцип метода.*Глюкоза в присутствии фермента глюкозооксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием пероксида водорода, при разрушении которого под влиянием пероксидазы происходит конденсация фенола и 4-аминоантипирина в окрашенное соединение 4-(n-бензохинономоноимино)-феназон. Количество последнего прямо пропорционально содержанию глюкозы в пробе.

Ход определения: В 3 инкубационные кюветы с длиной оптического пути 1 см вносить по 1 мл рабочего реагента, подогреть до 37°С в течение 5 мин, добавить во вторую и третью по 10 мкл стандартного раствора глюкозы и образца (serum или плазму), тщательно перемешать, инкубировать 5 мин и измерить при λ=500 нм абсорбцию стандарта и образца относительно бланка (холостой пробы в первой кювете).

**День 8**

**Определение содержания сиаловых кислот в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение сиаловых кислот**.

Сиаловые кислоты представляют собой N-ацетилпроизводныенейраминовой кислоты. Они находятся во всех тканях и биологических жидкостях, являются важной составной частью углеводно-белковых комплексов, в которых занимают краевое положение. После отщепления от комплексов свободные сиаловые кислоты инактивируют многие бактериальные и вирусные болезнетворные агенты, поэтому увеличение содержания в крови сиаловых кислот может быть проявлением компенсаторной, защитной воспалительной реакции. В моче сиаловые кислоты обнаруживаются только при протеинурии.

Увеличение концентрации сиаловых кислот в крови наблюдается при:

* Ревматизме.
* Туберкулезе (особенно активном).
* Инфаркте миокарда.
* Раке.
* Остеомиелите.
* Лейкимии.
* Других заболеваниях преимущественно воспалительного характера, а также сопровождающихся распадом соединительной ткани.

Снижение концентрации сиаловых кислот наблюдается при:

* Гемахроматозе.
* Дегенеративных процессах в ЦНС.

**Норма** сиаловых кислот в сыворотке и плазме крови 1,8 – 2,7 ммоль/л

**Определение содержания лактата в сыворотке крови.**

**Клинико-диагностическое значение лактата**

Анаэробный гликолиз вызывает заметное увеличение содержания лактата в крови. Особенно явно происходит при длительных нагрузках.

Общая причина увеличения содержания молочной кислоты в крови– кислородное голодание, которое может возникнуть при шоке, пневмонии, острой сердечное недостаточности.

Лактацидоз наблюдается также при острой почечной недостаточности и лейкемии. Измерение концентрации лактата позволяет оценить кислотно-основное состояние и используется для диагностики и лечения лакацидоза.

Особенности определения лактата:

1. Биологический материал – плазма (полученная со фторидом натрия), спинномозговая жидкость, сыворотку использовать нельзя. Стабильность материала при 20С – 2 часа.

2. Уровень лактата возрастает при физической нагрузке, и возвращается в норму через 30 минут.

3. Кровь берется натощак, в состоянии покоя, веностаз не должен превышать 30 секунд, использование жгута не рекомендуется.

4. В результате внутриклеточного гликолиза, концентрация лактата в пробе может быстро увеличиваться. Поэтому необходимо сразу выполнить отделение форменных элементов. Кровь должна хранится на льду, отделение плазмы в течение 15 минут после взятия крови.

Нормальные значения: 0,5 – 2,2 ммоль/л

**Определение содержания гликозилированного гемоглобина в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение**

**гликозилированного гемоглобина и фруктозамина.**

Гликозилированный гемоглобин НвА1с– гемоглобин, образующийся посттрансляционно, вследствие «нагрузки» обычного Нв глюкозой. Степень гликозилированияНв зависит от концентрации глюкозы, которая сохраняется в эритроцитах на протяжении всей их 120-дневной жизни. Поэтому процент гликозилированногоНв отражает средний уровень глюкозы в течение предшествующих 2 месяцев, что позволяет осуществлять точный контроль за содержанием глюкозы в крови между визитами больного к врачу, чем выше гликозилированныйНв, тем хуже контролировался уровень глюкозы в крови. ГликозилиованныйНв – НвА1с.

Определение гликозилированного гемоглобина проводят для ранней

диагностики сахарного диабета, особенно при массовых обследованиях населения на скрытые формы диабета, а также для ретроспективной оценки степени декомпенсации данного заболевания за последние три месяца для улучшения контроля за эффективностью лечения сахарного диабета.

Фруктозамин в сыворотке, это гликированный белок, отражающий средний уровень глюкозы в крови за последние 2-3 недели.

Биологическим материалом для исследования служит цельная венозная кровь, берут с ЭДТА, до исследования держат на льду.

**Нормальное содержание:**

НвА1с –5,5 – 6.5% от общего Нв;

Оценка результатов: если НвА1 менее 6% - отсутствие существенных нарушений в регуляции углеводного обмена; 6-8% - хорошая регуляция;8-9% удовлетворительная регуляция; 9-12% плохая регуляция.

Фруктозамин – 118-282 мкмоль/л мужчины;

161 – 351 мкмоль/л женщины.

**День 9**

**Определение содержания показателей белкового обмена**

**Преаналитический этап исследования обмена белков.**

Для характеристики обмена белков можно определять различные показатели в цельной крови (капиллярной и венозной), сыворотке, плазме, моче, спиномозговой жидкости. При заборе, хранении и транспортировке биологического материала нужно соблюдать ряд общих требований. Подготовка обследуемых:

* Забор крови делают утром с 8 до 10 часов утра. В экстренных случаях взятие крови осуществляется в любое время дня.
* Кровь берут натощак, после 8-12-часового голодания.
* Воздержание от приема алкогольных напитков не менее 24 часов.
* Исключается физическое напряжение.

**Клинико-диагностическое значение общего белка.**

Гипопротеинемии (снижение уровня общего белка в крови) встречаются:

* при недостатке белковой пищи (голодании, недоедании);
* сужении пищевода, нарушениях работы ЖКТ (например, воспалительного характера – при энтеритах);
* воспалительных процессах печени, при которых подавляется биосинтез белка (цирроз печени, интоксикации);
* врожденные нарушения в синтезе отдельных белков (анальбуминемия);
* при повышенном распаде белков (ожоги, злокачественные опухали, гиперфункции щитовидной железы);
* при беременности и лактации;
* при увеличении количества воды в кровеносном русле (например, при уменьшении диуреза, прекращении выделения мочи), внутривенном введении большого количества глюкозы, выделение в кровь большого количества антидиуретического гормона гипоталамуса.

Гиперпротеинемия (увеличение уровня общего белка в крови) бывает 2 видов:

* Абсолютная гиперпротеинемия (не связанная с нарушением водного баланса) – встречается редко. Значительное возрастание концентрации общего белка (до 120 г/л) встречается при миеломной болезни. Менее выраженнаягиперпротеинемия отмечается при хроническом полиартрите.
* Относительная гиперпротеинемия (вызвана уменьшением содержания воды в русле крови) возникает из-за потери жидкости организмом больных, страдающих тяжелыми ожогами, генерализованным перитонитом, непроходимостью кишечника, неукротимой рвотой, поносом, несахарным диабетом, хроническим нефритом. Она может отмечаться при усиленном потоотделении

**Норма** общего белка в сыворотке и плазме крови 65 – 85 г/л, у детей до 6 лет 56-85 г/л.

**Биуретовый метод определения общего белка в сыворотке и плазме крови.**

Принцип метода: В результате взаимодействии белковых молекул с ионами меди в щелочной среде образуется окрашенный комплекс, имеющий максимум, поглощения при длине волны 540 нм.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты | Опытная проба | Калибратор | Контроль |
| Монореагент, мкл | 1000 | 1000 | 1000 |
| Исследуемый материал | 20 | ---- | ---- |
| Калибратор, мкл | ---- | 20 | ---- |
| Вода, мкл | ---- | ---- | 20 |

Смешать и инкубировать 10 минут при температуре 37 ℃ или 30 минут при температуре 18-25 ℃. По окончании инкубации измерить оптическую плотность пробы (Епробы) и калибратора (Екалибратора) против контроля на реактивы. Окраска стабильна в течение 60 минут

**Определение содержания С-реактивного белка в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение СРБ.**

СРБ в сыворотке здоровых людей обычными методами не обнаруживается. Проба на СРБ становиться положительной в остром периоде многих воспалительных заболеваний, при злокачественных новообразованиях. Так положительные результаты наблюдаются при инфаркте миокарда, ревматизме, системной красной волчанке, инфекционном неспецифическом полиартрите, нефрите, лимфогранулематозе.

С-реактивный белок – классический белок острой фазы воспаления. Он синтезируется печенью и состоит из пяти идентичных полипептидных цепей. Концентрация С-реактивного белка быстро увеличивается в процессе воспаления. С-реактивный белок активирует систему комплемента, начиная с C1q, инициирует фагоцитоз поврежденных клеток. Однакоглавная функция – связывание и детоксикация эндогенных токсических веществ, образующихся в результате повреждения тканей.

**Качественное определение содержания определения С-реактивного белка в сыворотке крови человека методом латекс-агглютинации.**

Принцип метода: Определение содержания С-реактивного белка основано на взаимодействии СРБ исследуемой пробы со специфическими антитеами против СРБ человека, иммобилизированным на поверхности латексных частиц. При смешивании антиСРБ-латекса с сывороткой крови, содержащей СРБ в концентрации, превыщающей 6 мг\л, в результате реакции между антителами к СРБ и СРБ развивается визуально регистрируемая агглютинация латексных частиц, что свидетельствует о положительной реакции пробы.

Ход определения: Поместить в индивидуальные лунки тест-пластины калибраторы и исследуемые образцы сыворотки в объеме 20 мкл. Внутрь каждой лунки добавить по 20 мкл антиСРБ-латекса. Быстро перемешать содержимое капель исследуемого образца антиСРБ-латекса в каждой лунке индивидуальным шпателем до гомогенного состояния. Перемешивать на механической орбитальной мешалке или вручную со скоростью 80-100 об\мин в течение 2 минут. Процесс агглютинации следует регистрировать в течение 1 минуты после окончания движения тест-пластины. Существенное увеличение временного промежутка между остановкой тест-пластины и фиксацией результата может привести к регистрации ложной агглютинации, возникающей в процессе подсыхания реакционной смеси.

Интерпретация результата:

Часто видимые агрегаты латексных частиц –концентрация СРБ>6 мг\л.

Мелкие агрегаты- концентрация СРБ~6 мг\л

Равномерно-гомогенная молочная суспензия-концентрация СРБ <6 мг\л

**День 10**

**Определение содержания мочевины в сыворотке крови.**

**Клинико-диагностическое значение мочевины.**

Гиперуремия - увеличение содержания мочевины в крови наблюдается при:

усиленном её образовании в результате богатого белками рациона питания, чрезмерного катаболизма белка, лейкозов, желтухи, тяжелых инфекционных заболеваний, непроходимости кишечника, ожогов, дизентерии, шока;

* уменьшении выведения с мочой при ретенционной почечной азотемии, ретенционной внепочечной азотемии (острой почечной недостаточности, опухолях мочевыводящих путей, предстательной железы, почечнокаменной болезни, недостаточности деятельности сердца);
* •кровотечении из верхних отделов желудочно-кишечного тракта;
* приеме некоторых лекарств - сульфаниламидов, левомецитина, тетрациклина и других.

Гипоуремия - снижение содержания мочевины в кровинаблюдается при:

* тяжелых поражениях печени, при отравлении фосфором, мышьяком, декомпенсированном циррозе;
* голодании;
* пониженном катаболизме белков;
* после гемодиализа. Увеличение экскреции мочевины с мочой наблюдается при:
* злокачественной анемии (вследствие отрицательного азотистого баланса);
* лихорадке;
* гиперпротеиновой диете;
* гиперфункции щитовидной железы; Уменьшение экскреции мочевины
* нарушении функции почек;
* нефропатии беременных;
* паренхиматозной желтухе (вследствие нарушения образования мочевины);
* острой дистрофии печени;
* приеме анаболитических гормонов (положительный азотистый баланс).

**Нормальное содержание**: 2.5 – 8.3. ммоль/л

**Колориметрический метод определения концентрации мочевины в биологических жидкостях.**

Принцип метода: При взаимодействии мочевины с диацетилмонооксимом в кислой среде в присутствии тиосемикарбазида и трехвалетного железа образуется окрашенный комплекс, имеющий максимум поглощения при длине волны 540 нм.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты | Опытная проба | Калибратор | Контроль |
| Рабочий реагент, мкл | 1000 | 1000 | 1000 |
| Исследуемый материал | 5 | ---- | ---- |
| Калибратор, мкл | ---- | 5 | ---- |
| Вода, мкл | ---- | ---- | 5 |

Смещать и инкубировать в кипящей водяной бане в течение 10 минут. По окончании инкубации пробы охладить в проточной воде и измерить оптическую плотность пробы и калибратора против контроля на реактивы. Окраска стабильна в течение 15 минут.

**День 11**

**Определение содержания креатинина в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение креатинина в крови и моче.**

Гиперкреатининемия - повышение уровня кретинина в крови может наблюдаться при:

•Усиленном его образовании во время голодания, усиленной мышечной работе, резко выраженном нарушении функции печени и сердечнососудистой системы, воспалительных заболеваниях легких, лихорадочных состояниях, кишечной непроходимости.

• Задержке в организме вследствие нарушения клубочковой фильтрации почек (что расценивается как ранний признак почечной недостаточности), закупорке мочевых путей.

• Нарушением гормонального баланса, например, у больных сахарным диабетом.

Повышенное выведение креатинина с мочой происходит при острых инфекционных заболеваниях, большой физической работе.

Снижение – при лейкозах, хронических заболеваниях (амилоидозе) почек, атрофии мышц, некоторых формах анемии, после назначения кортикотропина (АКТГ).

Билирубин - один из основных показателей пигментного обмена, присутствующий в плазме крови здоровых людей в свободном и связанном состоянии. 80-85% билирубина образуется в результате многоэтапного разложения другого пигмента гемоглобина, 15-20% является производным цитохрома, миоглобина и каталаз.

Неконъюгированный (непрямой, нерастворимый в воде) билирубин, связанный с альбумином плазмы, является продуктом цикла деградации, происходящем в ретикулоэндотелиальной системе, купферовских клетках печени, селезенке и костном мозге. Неконъюгированный билирубин растворим в жирах и токсичен. В микросомах клеток печени под влиянием фермента глюкуронилтрансферазы билирубин образует билирубинмоно- и билирубиндиглюкурониды, при этом присущая билирубину токсичность в значительной мере теряется. В отличие от неконъюгированного билирубина конъюгированный (прямой) билирубин растворим в воде и экскретируется почками. Исследование содержания билирубина позволяет, как объективно оценивать степень тяжести желтухи, так и контролировать ее течение. Соотношение общего и прямого билирубина является ценными показателями для проведения дифференциальной диагностики различных форм желтухи. Количество прямого билирубина меньше 20% от общего говорит о допеченочном происхождении желтухи, при гепатитах и постпеченочной желтухе прямой билирубин может превышать 50% от общего. Общий билирубин состоит из 2 фракций: 1. непрямой (свободный, комплекс с альбуминами) 2. прямой (конъюгированный, связанный с глюкуроновой кислотой)

Увеличение содержания билирубина сопровождается желтушной окраской слизистых оболочек и кожных покровов. Легкая форма желтухи до 86 мкмоль/л, среднетяжелая 87-159 мкмоль/л, тяжелая 160 мкмоль/л. Содержание непрямого (свободного) и общего билирубина в крови возрастает при:

• повышенном распаде эритроцитов (гемолитическая анемия);

• физиологической желтухе новорожденных;

• врожденных и приобретенных нарушениях превращения свободного билирубина в связанный в печени (синдром Жильберта).

Концентрация прямого (связанного) билирубина в крови увеличивается при воспалительных процессах в печени (гепатит).

Содержание прямого и общего билирубина в крови увеличивается при механической желтухе. Содержание общего билирубина увеличивается также при приеме лекарств, увеличивающих гемолиз (н-р аспирин, тетрациклин). Уровень прямого билирубина может увеличиваться под действием лекарств, задерживающих желчь в печени (холестаз) н-р пиницилин, эритромицин, пероральных контрацептивов, никотиновой кислоты.

**Определение содержания мочевой кислоты в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение мочевой кислоты.**

Мочевая кислота - главный продукт распада основного компонента нуклеиновых кислот пуриновых оснований. Поскольку она не используется далее в обменных процессах, то выделяется почками с мочой.

Исследование содержания мочевой кислоты представляет особый интерес для диагностики подагры, т.к. это заболевание тесно связано с нарушением обмена пуриновых оснований. Оно характеризуется отложением солей мочевой кислоты в суставах и других тканях, а также увеличение мочевой кислоты в крови.

Гиперурикемия - повышение уровня мочевой кислоты в крови - наблюдается при:

• заболеваниях , которые сопровождаются распадом клеточных элементов (лейкозах, эритроцитозах, злокачественных новообразованиях, инфаркте миокарда, голодании);

• нарушении выделительной функции почек (гломерулонефрит);

• подагре;

• употребление пищи богатой пуриновыми основаниями и жирами. Гипоурикемия - понижение уровня мочевой кислоты в крови - отмечается при лечении препаратами пиперазинового ряда, иногда при гепатите, анемиях

Урикозурия - увеличение уровня мочевой кислоты в моче обнаруживается в 25-30 % случаев подагры, некоторых наследственных заболеваниях (синдром Леша-Найхана) и нарушениях накопления гликогена.

Гипоурикозурия - уменьшение уровня мочевой кислоты в моче обычно отражает развитие почечной недостаточности, прием салицилатов в дозе 2-3 г в сутки.

**День 12.**

Работа с дневником.

**День 13**

**Определение содержания показателей белкового обмена.**

**Преаналитический этап исследований обмена липидов.**

Подготовка пациента:

* взятие материала для исследования липидов проводится натощак, не менее чем через 12-14 часов после приема пищи;
* время взятия биологического материала с 7 до 9 ч утра, доставка в лабораторию не позднее 10 ч утра;
* исключение алкоголя должно быть не менее, чем за 24 часа до взятия биоматериала, что особенно важно для таких показателей как ТАГ, Хс, ЛПВП;
* за неделю до взятия крови из диеты следует исключить жиры, за две недели – препараты, снижающие уровень липидов;
* сдавливание сосудов при наложении жгута должно быть минимальным и не превышать 1 мин;
* физическая и мышечная нагрузка, тренировки должны быть исключены как минимум за 3 дня до взятия крови;
* для исключения влияния положения тела, обследуемый должен находится в покое, сидеть или лежать не менее 5 мин, в связи с изменением концентрации ряда компонентов при переходе пациента из горизонтального положения в вертикальное;
* в качестве антикоагулянта при получении плазмы рекомендуется использовать ЭДТА;
* отделение полученной плазмы проводят не позднее чем через 2 ч;
* сыворотку и плазму можно хранить в закрытом сосуде в холодильнике в течение 5 дней, при –200С в течение 3 месяцев, повторное оттаивание и замораживание сыворотки не допускается.

**Определение Содержания ТАГ В Сыворотке Крови**

**Клинико-диагностическое значение тригли**

Увеличение концентрации ТГ отмечается при:

* Хронической ишемической болезни сердца (вызванной атеросклеротическими изменениями в организме).
* Вирусном гепатите.
* Заболеваниях связанных с застоем желчи в печени, обтурацией желчных ходов и общего желчного протока.
* Панкреатите.
* Хронической почечной недостаточности, нефротическом синдроме.
* Подагре.
* Снижении функции щитовидной железы.
* Хроническом алкоголизме.
* Лечении кортикостероидами, мочегонными, бета-блокаторами.

Снижение концентрации ТАГ отмечается при:

* Гипертиреозе.
* Синдроме мальабсорбции.

Показатели **нормы** содержания ТГ в плазме - 0.55 –1.65 ммоль/л. Слабо выраженная гипертриглицеридемия отмечается при содержании ТГ в крови 2.3 –5.6 ммоль/л, выраженная – при уровне ТГ больше 5.6 ммоль/л.

**Определение концентрации триглицеридов в сыоротке или плазме крови.**

Принцип метода: Концентрация хинонимина, определенная фотометроически при длине волны 500 нм. Пропорциональна концентрация общего холестерина и исследуемом образце.

Ход определения:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты | Опытная проба | Калибратор | Контроль |
| Монореагент, мкл | 1000 | 1000 | 1000 |
| Исследуемый материал | 10 | ---- | ---- |
| Калибратор, мкл | ---- | 10 | ---- |
| Вода, мкл | ---- | ---- | 10 |

Смешать и инкубировать 10 минут при температуре 37 ℃ или 15 минут при температуре 18-25 ℃. По окончании инкубации измерить оптическую плотность пробы (Епробы) и калибратора (Екалибратора) против контроля на реактивы при длине волны 500нм(490-520) нм и d=1см. Окраска стабильна в течение 60 минут.

**День 14**

**Диагностическое значение определения общего холестерина.**

Увеличение концентрации Хс в сыворотке отмечается при:

* Первичных гиперлипопротеинемий (наследственно обусловленных нарушениях метаболизма)
* Вторичных гиперлипопротеинемий – ишемическая болезнь, заболевания печени, поражения почек, снижение функции щитовидной железы, заболевания поджелудочной железы, сахарный диабетбеременность, алкоголизм, прием лекарств.
* Уменьшение концентрации Хс в сыворотке отмечается при:
* Голодании.
* Злокачественных новообразований.
* Болезнях печени (цирроз в позней стадии заболевания, острая дистрофия, инфекции).
* Повышенной функции щитовидной железы.
* Анемии

**Нормальные величины:**3.0- 5.2 ммоль/л

**Колориметрический метод определения холестерина.**

Принцип метода: Концентрация хинонимина, определенная фотометроически при длине волны 500 нм. Пропорциональна концентрация общего холестерина и исследуемом образце.

Ход определения.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты | Опытная проба | Калибратор | Контроль |
| Монореагент, мкл | 1000 | 1000 | 1000 |
| Исследуемый материал | 10 | ---- | ---- |
| Калибратор, мкл | ---- | 10 | ---- |
| Вода, мкл | ---- | ---- | 10 |

Смешать и инкубировать 10 минут при температуре 37 ℃ или 15 минут при температуре 18-25 ℃. По окончании инкубации измерить оптическую плотность пробы (Епробы) и калибратора (Екалибратора) против контроля на реактивы. Окраска стабильна в течение 2-х минут.

**День 15**

**Определение Содержания Хс-Лпвп В Сыворотке Крови**

**Клинико-диагностическое значение ХС-ЛПВП**

Повышение концентрации Хс-ЛПВП в плазме отмечается при:

* Большой регулярной физической активности.
* Влиянии некоторых лекарств, понижающих содержание общих липидов.
* Циррозе печени.
* Алкоголизме.
* Раке кишечника.
* Снижение концентрации Хс-ЛПВП отмечается при:
* Атеросклерозе
* Инфаркте миокарда
* Сахарном диабете
* Туберкулезе легких
* Нефротическом синдроме
* Снижение уровня Хс-ЛПВП сопровождает факторы риска ИБС, к числу которых относят:
* Курение
* Ожирение
* Малоподвижный образ жизни
* Гипертензию.

Показатели **нормы** содержания Хс-ЛПВП в плазме крови составляют 0.9 – 1.9 ммоль/л. Снижение концентрации Хс-ЛПВП до уровня 0.9 ммоль/л вызывает повышенный риск атеросклероза (уменьшение концентрации ХсЛПВП с 0.91 до 0.78 ммоль/л – сопровождается трехкратным повышением риска развития ИБС). Увеличение концентрации Хс-ЛПВП плазмы сопровождается усилением антиатерогенного влияния ЛПВП.

**Клинико-диагностическое значение Хс-ЛПНП**

**Хс-ЛПНП –** холестерин липопротеинов низкой плотности или бетахолестерин. ЛПНП – основная транспортная форма Хс, переносящая его главным образом в виде эфиров Хс из печени в клетки органов и тканей.

**В норме** содержание Хс-ЛПНП в плазме ниже 3.5 ммоль/л, повышенные – 3.5 –4.0 ммоль/л, высокие - более 4.0 ммоль/л.

Увеличение концентрации Хс-ЛПНП в плазме отмечается при:

* Первичных гиперлипопротеинемий (наследственно обусловленных нарушениях метаболизма)
* Ожирении.
* Ишемической болезни сердца.
* Заболеваниях печени
* Нефротическом синдроме
* Сахарном диабете
* Гипотиреозе

Уменьшение концентрации Хс-ЛПНП в сыворотке отмечается при:

* Голодании
* Злокачественных новообразованиях
* Гипертиреозе
* Поражении ЦНС
* Лихорадочных состояниях.
* Анемии.
* Заболевания легких
* Обширных ожогах

**День 16**

**Определение содержания показателей минерального обмена**

**Преаналитический этап исследований водно-минерального обмена.**

При исследовании минерального обмена необходимо соблюдать следующие условия:

* Предпочтительным материалом для исследования является сыворотка крови, негемолизированная и не желтушная;
* Кровь берется натощак, последний прием пищи перед взятием крови не менее, чем за 12 ч. Следует исключить физические нагрузки, прием алкоголя, продукты, содержащие исследуемые минеральные вещества;
* Не менее, чем за 5 дней следует исключить препараты, содержащие железо, кальций и т.д.;
* При заборе крови пациент находится в положении сидя или лежа, при повторных исследованиях следует соблюдать одно и то же положение тела;  Кровь собирают в неметаллическую и не стеклянную посуду, пластмассовые пробирки, избегая венозного стаза и гемолиза;
* При транспортировки биоматериала следует избегать вибрации пробирок, длительное хранение цельной крови недопустимо;
* При получении сыворотки кровь следует как можно быстрее отцентрифугировать, и отделить ее от сгустка и клеток крови;
* В программе срочных анализов определение натрия и калия должно быть выполнено не позднее 30 мин с момента поступления.

**Определение содержания калия в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение калия**

Гиперкалиемия наблюдается при:

* заболеваниях, сопровождающихся распадом клеточных элементов и чрезмерным высвобождением калия из клеток (обширный некроз, внутрисосудистый гемолиз, ожогах, опухолях, голодании, шоке);
* уменьшении выделения калия почками (почечная недостаточность, болезнь Аддисона);

Гипокалиемия наблюдается при:

* недостаточном поступлении этого элемента в организм (голодание, после хирургического вмешательства);
* усиленном выведении с мочой, вследствие нарушения эндокринной системы (синдром Конна, Иценко-Кушинга);
* усиленном выделении через кишечник при поражении ЖКТ (неукротимая рвота, понос)

**В норме:** новорожденные 3,7-5,9 ммольл

Дети 3,4-4,7 ммоль/л

Взрослые 3,5-5,1 ммоль/л

**Турбидиметрический метод определения калия в сыворотке или плазме крови.**

Принцип метода: При взаимодействии калия ионами тетрафенилбората в щелочной среде образуется стабильная суспензия. Оптическая плотность суспензии, измеренная при длине волны 578 нм, пропорциональна концентрации ионов калия в исследуемой образце.

Ход определения.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Реагенты | Опытная проба | Калибратор | Контроль |
| Монореагент, мкл | 200 | 200 | 200 |
| Исследуемый материал | 5 | ---- | ---- |
| Калибратор, мкл | ---- | 5 | ---- |
| Вода, мкл | ---- | ---- | 15 |

Смешать и инкубировать 5 минут при температуре 37 ℃. По окончании инкубации измерить оптическую плотность пробы (Епробы) и калибратора (Екалибратора) против контроля на реактивы.

**День 17**

**Определение содержания натрия в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значени натрия.**

Натрий – основной внеклеточный катион. Вместе с ионами хлора определяют осмотическую активность плазмы. Обеспечивают перенос воды в организме.

Гипернатриемия сопровождается жаждой, повышением температуры тела, тахикардией, отмечается при:

* Болезнь Иценко-Кушинга (усиленное выделение в кровь гормонов коры надпочечников)
* Потеря воды через ЖКТ (рвота, диарея, увеличение диуреза, потоотделение)
* Несахарный диабет (нарушение выделения вазопрессина)
* Хронические заболевания почек
* Чрезмерное введение физиологического раствора

Гипонариемия сопровождается потерей аппетита, тошнотой, рвотой, тахикардия,снижение АД, отмечается при:

* Избыточном поступлении воды в организм
* Гипергликемии
* Сердечной недостаточности
* Циррозе печени, нефротическом синдроме

**Показатели нормы** содержания натрия в плазме крови составляют 130-150 ммоль/л

**Определение содержания хлора в сыворотке крови.**

**Клинико-диагностическое значение ионов хлора**

Гиперхлоремия отмечается при:

* Нарушении водного баланса (обезвоживании, гипервентиляции);
* Заболеваниях почек (острая почечная недостаточность, нефропатия, воспалительные заболевания почек);
* Нарушении функции сердечно-сосудистой системы. Гипохлоремияотмечается при:
* Пневмонии;
* Тяжелых инфекционных заболеваниях;
* Заболеваниях надпочечников (надпочечники продуцируют гормоны, которые контролируют баланс жидкости и электролитов в организме);
* Усиленном потреблении воды, задержке ее в организме вследствие нарушения выделительной функции почек;
* Повышенном выделении ионов хлора из организма (при избыточном потоотделении, поносе, длительной рвоте)

**Нормальные величины** (сыворотка крови): 97 – 108 ммоль/л

**Определение содержания магния в сыворотке крови**

**Клинико-диагностическое значение магния**

Гипермагнемия сопровождается появлением сонливости, угнетением дыхательного центра, нарушения проводимости миокарда, блокады и остановки сердца; отмечается при:

* Почечной недостаточнсоти;
* Гипотиреозе.;
* Остром диабетическом ацидозе;
* Бронхиальной астме.болезниАддисона;
* Обезвоживании.

Гипомагнемия проявляется обезвоживанием артерий, нарушением свертываемости крови, повышению артериального давления, снижению микроциркуляции в капиллярах. Дефицит магния вызывает нарушение всех энергозависимых процессов, уменьшение синтеза белков; отмечается при:

* Голодании;
* Беременности (2 и 3 триместры);
* Онкологических заболеваниях;
* Остром и хроническом панкреатитах;
* Циррозе печени;
* Сердечно-сосудистой недостаточности;
* Рахите;
* Гастроэнтерите;
* Эндокринных нарушениях (гиперфункции щитовидной железы, гипофункции паращитовидных желез, сахарном диабете).

**Определение содержания кальция в сыворотке крови.**

**Клинико-диагностическое значение кальция**

Гиперкальциемия наблюдается при:

* Злокачественных новообразованиях;
* Миеломе;
* Гиперфункции паращитовидных желез;
* Акромегалии, гигантизме (гиперсекреция в кровь соматотропина);
* Передозировке витамина Д;
* Остеолизе в результате метастазов, новообразований в костной ткани;

Гипокальциемия наблюдается при:

* Гипофункции паращитовидных желез;
* Хирургическом вмешательстве;
* Недостатке витамины Д;
* Переливании большого количества цитратной крови;
* Хронической почечной недостаточности, нефрите;
* Нарушении всасывания кальция в кишечнике;
* Гипоальбуминемии.

**В норме** концентрация общего кальция в сыворотке крови составляет 2,0 – 2,8 ммоль/л.

**День 18**

Работа с дневником.

**День 19**

**Определение показателей КОС организма**

**Преаналитический этап исследований КОС.**

Для исследования КОС идеальным материалом является артериальная кровь, которую обычно берут из лучевой, локтевой, бедренной артерий стеклянным или пластиковым шприцом.

* Время взятия крови с 7 до 9 ч, натощак, исключая физическую активность за 3 дня до исследования;
* За 5 минут до взятия крови обследуемый находится в покое, взятие проводят в одном положении – сидя или лежа;
* Время наложения жгута не превышает 1 мин;
* Основное требование к получению материала – взятие в анаэробных условиях, отсутствие пузырьков воздуха в шприце, выбор адекватного антикоагулянта без его избытка (гепарин);
* Исследование крови после забора должно быть выполнено не позднее чем через 5-10 мин, если исследование не может быть выполнено в указанные сроки, закупоренный шприц помещают в воду с кусочками льда, не более чем на 1 час;
* Перед исследованием шприц с кровью извлекают из ледяной бани и выдерживают при комнатной температуре не менее 10 мин;
* Перед измерением кровь перемешивают путем вращения шприца между ладонями и переворачиванием его вверх и вниз;
* У пациентов в критическом состоянии анализ выполняют немедленно.

**Методы исследования КОС**

Исследования кислотно-основного равновесия крови проводят на специальных газоанализаторах, которые прямым методом измеряют рН (потенциометрия) и рСО2 (полярография), а также температуру и барометрическое давление. Затем автоматически проводятся расчет остальных показателей КОР. Для оценки и правильной диагностики нарушений КОР крови существуют специальные номограммы. В номограммах указана область нормальных значений КОР крови, острых или хронических метаболических и респираторных нарушений. При нанесении полученного анализа на такую номограмму можно четко определить, какое нарушение КОР имеется у больного и правильно выбрать метод его коррекции

**День 20**

**Методы исследования гемостаза.**

Методы исследования коагуляционного гемостаза значительно различаются по принципу исследования и возможностям визуальной и автоматизированной оценки результатов. Современная аппаратура для исследования свертывания крови основана, как правило, на 4 основных методах.

1. Турбидиметрический метод. Образование фибрина под действием тромбина проявляется повышением мутности исследуемого образца, что детектируется фотометром.

2. Кинетический метод. Конечный результат определяется по скорости изменения оптической плотности. Исследуемая плазма инкубируется с ферментом, и остаточная ферментативная активность определяется в реакции с хромогенными субстратами. Концентрация исследуемого вещества прямо или косвенно пропорциональна скорости гидролиза субстрата и выражается средним изменением плотности в минуту.

3. Клоттинговый метод. Основан на регистрации времени образования фибринового сгустка. Это самые распространенные и быстрые методы оценки свертывающей системы. Их автоматизация с помощью коагуллометров значительно повысила точность результатов**.**

**Преаналитический этап исследований гемостаза.**

Для исследования системы гемостаза в биохимических исследованиях используют плазму, получаемую из венозной крови.

Подготовка обследуемых:

* Забор крови делают утром с 8 до 10 часов и натощак, из локтевой вены.
* Исключить физическое перенапряжение и эмоциональное возбуждение (дать обследуемому 15 минут отдохнуть).
* Исключить курение и прием алкоголя непосредственно перед обследованием.
* Первые 5-6 капель выпускают на ватный тампон, т.к. они могут содержать тканевой тромбопластин.
* До центрифугирования пробирки ставят в ледяную баню (кроме исследования функции тромбоцитов).
* Интервал времени между забором крови и исследованием существенно сказывается на многих параметрах коагулограммы (2 часа), поэтому в результатах анализа указываю время забора крови и начала исследования.
* Пробирки лучше использовать пластиковые одноразовые.
* Если гематокритный показатель близок к нормальному (40 - 45 %), то соотношение крови и антикоагулянта должно составлять 9 : 1.
* Взятие крови целесообразно проводить не в одну пробирку, а дробно – в несколько пробирок с соответствующей расфосовкой антикоагулянта – стабилизатора.
* В качестве антикоагулянта используют 3,8 % раствор цитрата натрия, т.к. в цитратной плазме лучше сохраняются лабильные факторы свертывания крови и тромбоциты.
* Плазму рекомендуется хранить при комнатной температуре, если ее используют для определения ПТВ, активности ф.VII или исследования функции тромбоцитов, для проведения всех прочих тестов плазму хранят при 2-8 С
* Ацетилсалициловая кислота, нестероидные противовоспалительные средства, пенициллин, стрептокиназа, урокиназа увеличивают время кровотечения.

**День 21**

**Клинико-диагностическое значение определение ПВ**

**Удлинение** протромбинового времени (снижение протромбинового индекса) наблюдается при врожденной или приобретенной недостаточности факторов, отражающих функционирование внешнего механизма образования протромбокиназы, ее действие на протромбин и последующее образование фибрина (I, II, V, VII, X). Обычно оно отмечается у больных принимающих антикоагулянты, при тяжелых поражениях паренхимы печени и недостатке витамина К (механическая желтуха, нарушения всасывания в кишечнике, кишечный дисбактериоз), ДВС –синдроме .

**Укорочение** протромбинового времени указывает на гиперкоагуляцию и связано с опасностью тромбозов**.**

**Определение протромбинового времени плазмы.**

Принцип: Внешний путь свертывания принято invitro моделировать тестом протромбинового времени, когда к цитратной плазме, бедной тромбоцитами, добавляют тромбопластин, представляющий собой солевой экстракт тканей, содержащий тканевые факторы и фосфолипиды клеточных мембран Способы выражения протромбиновой активности:

**1. Протромбиновый индекс -** выражается в процентах по отношению к здоровому человеку-донору. ПТИ = (ПТВ здорового человека / ПТВ обследуемого) \* 100%

**2. Протромбиновое отношение -** отношение протромбинового времени больного человека к протромбиновому времени здорового

**ПО = ПВ больного / ПВ нормы.**

**3. МНО – международного нормализованного отношения МНО = ПОМИЧ**

**МИЧ –** международный индекс чувствительности указывается в паспорте к тромбопластину (не должен превышать 2) Нормальные величины: МИЧ – 1,0 – 2.0 ПВ – 15 -20 сек. ПО – 0.9 – 1.1 МНО – 0.9 – 1.15, на фоне использования антикоагулянтов 2,0 – 3,0

**День 22**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЧТВ ПЛАЗМЫ.**

**Клинико - диагностическое значение определения АЧТВ**

Удлинение теста АЧТВ может быть вызвано:

- синдром ДВС (2 фаза)

- заболевания печени

- массивные гемотрансфузии

- введение гепарина

- дефицит факторов внутреннего пути свертывания

- дефицит витамина К

- присутствие ингибиторов свертывания

- наличие волчаночного антикоагулянта

- наличие гемофилии

Укорочение АЧТВ:

- признак развития тромбозов

- синдром ДВС (1 фаза)

**Принцип метода определения АЧТВ:** определяется время свертывания бедной тромбоцитами плазмы крови в условиях стандартизированной контактной (каолином) и фосфолипидной (кефалином) активации процесса свертывания в присутствии ионов кальция.

**День 23**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРОМБИНОВОГО ВРЕМЕНИ ПЛАЗМЫ**

Тромбин – это витамин К зависимый фермент. Он имеет много функций: активирует кофакторыV и VIII, ф.XI и ф.VIII, способствует агрегации и дезинтеграции тромбоцитов, превращает растворимый фибриноген плазмы в нерастворимый фибрин. В норме тромбиновое время составляет 14-17 сек

**Принцип определение тромбинового времени плазмы:** при добавлении тромбина стандартной активности к исследуемой плазме образуется сгусток фибрина, время образования которого – тромбиновое время – свидетельствует о нормальном содержании или о недостаточности фибриногена. тромбинового времени происходит при:

- гипофибриногенемия (менее 1 г/л)

- ДВС синдром (2 фаза)

- повышение концентрации продуктов деградации фибриногена/фибрина

- присутствие в крови гепарина

- парапротеинемии

- дисфибриногенемии, связанной с заболеваниями печени.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФИБРИНОГЕНА В ПЛАЗМЕ**

**Принцип определения фибриногена на коагулометре Минилаб 701 хронометрическим методом Клауса:** измеряется время свертывания цитратной плазмыразбавленной в 10 раз при добавлении избытка тромбина. Образование сгустка фибрина зависит только от концентрации в плазме фибриногена.

**Клиническое значение:**

Увеличение содержания фибриногена наблюдается при:

 воспалительных процессах;

 злокачественных новообразованиях;

 туберкулезе.

Уменьшение содержания фибриногена наблюдается при:

 паренхиматозных состояниях печени;

 после оперативного вмешательства;

 при ДВС-синдроме.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИТРОМБИНА III ПЛАЗМЫ**

**Клинико-диагностическое значение определения антитромбина III**

У здоровых лиц активность антитромбина III варьирует от 85 до 115%, при снижении активности до 40-60% наблюдаются спонтанные тромбозы и эмболии. В большинстве случаев снижение плазменного уровня антитромбина III носит приобретенный характер:

- уменьшение биосинтеза (при заболеваниях печени), пассивная потеря с биологическими жидкостями (нефротические протеинурии, энтеропатии). При всех формах дефицита антитромбинаIII возникает ДВС-синдром.

Система протеина С – протеин С, протеин S, тромбин, тромбомодулин, осуществляет регуляцию свертывающей активности плазмы крови. Действие системы направлено на ингибирование ф.V и ф.VIII, что приводит к существенному удлинению времени свертывания. В организме активация Системы протеина С осуществляется тромбином, реакция активации происходит на эндотелии, в ней принимает участие тромбомодулин, ингибирование факторов зависит от комплексирования с протеином S.

**День 24**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ РФМК ПЛАЗМЫ**

**Клинико-диагностическое значение определения РФМК плазмы**

Набор РФМК-тест предназначен для определения в плазме крови растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), являющихся маркерами внутрисосудистого свертывания крови при тромбозах, тромбоэмболиях, ДВС-синдромах различного генеза. Повышение уровня РФМК характерно для активации свертывания крови, чем больше их концентрация, тем выше риск внутрисосудистого тромбообразования.

Принцип метода: заключается в появлении в плазме, содержащей РФМК, зёрен (паракоагулята) фибрина после добавления к ней раствора фенантролина.

**Проведение анализа Качественный вариант теста.**

Определения проводят при комнатной температуре смешиваемых реагентов. К 0,1 мл исследуемой плазмы крови, взятой в пробирку, добавить 0,1 мл раствора фенантролина. Немедленно включить секундомер. При непрерывном покачивании пробирки в проходящем свете регистрируют время от момента добавления реагента до начала появления первых зерен фибрина.

Чтение результатов В течение 60 с отметить появление зёрен паракоагулята (в случае положительного результата) или их отсутствие (отрицательный результат). В нормальной плазме крови результат отрицательный.

Норма: содержание РФМК в плазме по количественному варианту методики составляет в среднем 3,38-0,02 мг/100 мл (или 3,38 мг%), с верхним пределом нормы 4,5 мг/100 мл.