**День 1 (30.03.19)**

Ознакомление с правилами работы в КДЛ. Перед началом работы в лаборатории необходимо ознакомиться с правилами техники безопасности. Каждый работающий в лаборатории обязан содержать свое рабочее место в чистоте и порядке. Приступая к работе, необходимо ознакомиться с устройством приборов и аппаратов, их принципом действия.

Прежде чем приступить к лабораторной работе по данной теме, тщательно изучите ее описание; подготовьте необходимые приборы и реактивы. Внимательно наблюдайте за ходом опыта, отмечая каждую его особенность (выпадение и растворение осадков, изменение окраски, температуры и т.д.). В ходе эксперимента аккуратно ведите записи в рабочем журнале. Категорически запрещается использовать посуду, имеющую трещины или отбитые края. Все флаконы с реактивами в лаборатории должны иметь соответствующие этикетки. После использования раствора флаконы сразу закрываются пробками.

Работы с вредными веществами проводить только в вытяжном шкафу.

Концентрированные кислоты и щелочи наливать осторожно в вытяжном шкафу. Разбавление кислот производят путем осторожного приливания кислоты тонкой струйкой по стеклянной палочке в холодную воду при непрерывном помешивании. Растворение щелочей следует проводить в фарфоровой или пластиковой посуде в вытяжном шкафу на поддоне. Куски щелочи запрещается брать руками. Растворение необходимо проводить небольшими порциями при перемешивании. При несчастных случаях немедленно заявляйте дежурному лабо ранту. В лаборатории имеется медицинская аптечка с необходимыми медикаментами для оказания экстренной помощи.

**День 2 (01.04.19)**

Подготовка материала к иммунологическим исследованиям: прием, маркировка, регистрация биоматериала. Пробирки с образцами венозной крови доставляют в лабораторию в день взятия 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 (ФИО, возраст, № истории болезни или амбулаторной карты, отделение, назначение); - маркировку пробирок с образцами крови (на них должны быть нанесены код и фамилия больного, идентичные коду и фамилии в бланке направления материала для исследования). Лаборант должен зарегистрировать доставленный материал.

**День 3 (02.04.19)**

Организация рабочего места. Требования к организации рабочего места:

1. Лаборатория должна быть оснащена современной лабораторной мебелью, вытяжными шкафами. Для реактивов выделяют отдельные полки и шкафы.
2. Поверхность производственных столов для работы с биологическим материалом должна быть из водонепроницаемого, кислотощёлочеустойчивого и индифферентного к действию дезинфектантов материала. Лабораторный стол следует содержать в порядке и чистоте.
3. Рабочее место должно быть хорошо освещено: недалеко от окон и иметь осветительные лампы.
4. Рабочий стол лаборатории должен быть приспособлен к условиям работы, оборудован водопроводными кранами и водостоком. Все химические стаканы, колбы, чашки при работе должны быть прикрыты часовым стеклом или чистой бумагой, чтобы предотвратить попадание в них пыли или каких-либо загрязнений. Кроме рабочих столов, в лабораториях должны быть письменный стол, где хранятся все тетради и записи, и, при необходимости, титровальный стол. Необходимо следить, чтобы лаборатория всегда была в порядке. Уходя из лаборатории, надо убедиться, что все краны закрыты; все моторы и электронагревательные приборы выключены; дверцы вытяжных шкафов опущены; стол чист и убран; все приборы и аппараты закрыты; никаких огнеопасных веществ на столах нет. Надо проверить, на месте ли противопожарные средства, закрыть краны, выключить рубильники от подводок к приборам, выключить свет и тогда только оставить лабораторию.

**День 4 (03.04.19)**

Определение иммунологических показателей. Оценка показателей клеточного звена Определение основных популяций (Т-клетки, В-клетки, натуральные киллеры) и субпопуляций Т-лимфоцитов (Т-хелперы, Т-ЦТЛ). Для первичного исследования иммунного статуса и выявления выраженных нарушений иммунной системы ВОЗ рекомендовано определение CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56, соотношение CD4/CD8. Исследование позволяет определить относительное и абсолютное количество основных популяций лимфоцитов: Т-клетки – CD3, В-клетки – CD19, натуральные киллеры (NK) – CD3- CD16++56+, субпопуляции Т лимфоцитов (Т-хелперы CD3+ CD4+, Тцитотоксические CD3+ CD8+ и их соотношение). Метод исследования Иммунофенотипирование лимфоцитов проводится c использованием моноклональных антител к поверхностным дифференцировочным ангинам на клетках иммунной системы, методом проточной лазерной цитофлуорометрии на проточных цитофлуориметрах. Выбор зоны анализа лимфоцитов производится по дополнительному маркеру CD45, который представлен на поверхности всех лейкоцитов. Интерпретация результатов Т-лимфоциты (CD3+ клетки). Повышенное количество свидетельствует о гиперактивности иммунитета, снижение абсолютного количества Тлимфоцитов свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета, а именно о недостаточности клеточно-эффекторного звена иммунитета. В-лимфоциты (CD19+ клетки). Снижение наблюдается при физиологических и врожденных гипогаммаглобулинемиях и агаммаглобулинемиях, увеличение отмечается при аутоиммунных заболеваниях, хронических заболеваниях печени, циррозе, муковисцедозе, бронхиальной астме, паразитарных и грибковых инфекциях. NK-лимфоциты с фенотипом CD3-CD16++56+.

Увеличение количества связано с активацией антитрансплантационного иммунитета, снижение наблюдается при врожденных иммунодефицитах, паразитарных инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, облучении, лечении цитостатиками и кортикостероидами, стрессе, дефиците цинка. Т-лимфоциты хелперы с фенотипом CD3+CD4+. Увеличение абсолютного и относительного количества наблюдается при аутоиммунных заболеваниях, снижение абсолютного и относительного количества Т-клеток свидетельствует о гипореактивном синдроме с нарушением регуляторного звена иммунитета, является патогномичным признаком для ВИЧ-инфекции; встречается при хронических заболеваниях (бронхитах, пневмониях и т.д.), солидных опухолях. Т-цитотоксические лимфоциты с фенотипом CD3+ CD8+. Повышение выявляется практически при всех хронических инфекциях, вирусных, бактериальных, протозойных инфекциях. Является характерным для ВИЧинфекции. Снижение наблюдается при вирусных гепатитах, герпесе, аутоиммунных заболеваниях. Соотношение CD4+/CD8+.

Исследование соотношения CD4+/CD8+ (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8) рекомендовано только для мониторинга ВИЧинфекции и контроля эффективности АРВ терапии. Позволяет определить абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов, субпопуляций Тхелперов, ЦТЛ и их соотношение. Для дополнительного исследования и выявления изменений иммунной системы при патологиях, требующих оценки наличия острого или хронического воспалительного процесса и степени его активности, рекомендуется включать подсчет количества активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+HLA-DR+ и ТNK–клеток с фенотипом CD3+CD16++56+. Т-активированные лимфоциты с фенотипом CD3+HLA-DR+. Маркер поздней активации, показатель гиперреактивности иммунитета. По экспрессии данного маркера можно судить о выраженности и силе иммунного ответа. ТNK-лимфоциты с фенотипом CD3+CD16++CD56+. Т-лимфоциты, несущие на своей поверхности маркеры CD16++ CD 56+. Эти клетки имеют свойства как Т-, так и NK-клеток.

Исследование рекомендовано как дополнительный маркер при острых и хронических заболеваниях. Активированные лимфоциты CD3+CDHLA-DR+, CD8+CD38+, CD3+CD25+, CD95. Тест отражает функциональное состояние Т-лимфоцитов и рекомендован для контроля за течением заболевания и контроля иммунотерапии при воспалительных заболеваниях разной этиологии.

**День 5 (04.04.19)**

Регистрация результатов исследования. Журналы регистрации результатов исследования должны иметь регистрационный номер ЛПУ, оформленный титульный лист с указанием ЛПУ, названия лаборатории, групп регистрируемых исследований, дат начала и окончания журнала, должны быть пронумерованы, прошнурованы, скреплены подписью руководителя ЛПУ и печатью. В наименованиях граф (столбцов) результатов должны быть указаны единицы измерения данного показателя. Столбцы результатов каждого вида исследований за каждый день подписываются непосредственным исполнителем вида исследований. Журналы регистрации результатов исследований хранятся в архиве ЛПУ или в КДЛ в течение 3 лет. Результаты исследований выдаются клинико-диагностической лабораторией на бланках утвержденных образцов, с обязательным указанием единиц измерений, значений диапазона референтных (нормальных) величин, при необходимости, методики определения. Банк результатов исследования датируется и подписывается исполнителем, ответственным сотрудником или заведующим клинико-диагностической лабораторией.

**День 6 (05.04.19)**

Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ. Отходы медицинских лабораторий, содержащие биологические жидкости, относятся классу Б. Это эпидемиологически опасные отходы, инфицированные и потенциально инфицированные, а также материалы и инструменты, загрязненные кровью или другими биожидкостями, отходы клинико- диагностических лабораторий и микробиологических лабораторий, работающих с микроорганизмами 3–4 групп патогенности (СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»). Обеззараживание отходов группы Б проводится централизованным и децентрализованным способами, химическими и физическими методами. Физические методы предполагают воздействие насыщенным паром под избыточным давлением, температурой, радиационным, электромагнитным излучением, применяются при наличии специального оборудования – установок для обеззараживания медицинских отходов. После обеззараживания физическими методами и изменения внешнего вида отходов, отходы класса Б могут быть захоронены на полигонах ТБО (измельчены, прессованы). Химический метод обеззараживания отходов класса Б предполагает воздействие растворами дезинфицирующих средств, обладающих бактерицидным, вирулицидным, фунгицидным действием в соответствующих режимах. Осуществляется либо с помощью специальных установок, либо способом погружения отходов в промаркированные емкости с дезинфицирующим раствором в местах их образования. Согласно предписанию СанПин 2.1.7.2790- 10 жидкие отходы класса Б (рвотные массы, моча, фекалии и аналогичные биологические жидкости, в том числе и от больных туберкулезом) допускается сливать без предварительного обеззараживания в систему централизованной канализации, то кровь должна пройти обязательное обеззараживание перед утилизацией.