

День 1 (5.06.2017)

В первый день ознакомились с ТБ и основными документами лаборатории .

Ознакомление с нормативными документами:

- Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения (протокол № 58).
- Правила техники безопасности при эксплуатации изделий медицинской техники в учреждениях здравоохранения. Общие требования.
- Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в КДЛ ЛПУ.
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 17.09.1993г. № 220 «О мерах по развитию и совершенствованию инфекционной службы в Российской Федерации».
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 25.12.1997г. № 380 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
- Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 15189-2009 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности», идентичный международному стандарту ИСО 15189-2007 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности», утвержден приказом Ростехрегулирования от 09.12.2009 № 629-ст.
- Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в отделении лабораторной диагностики.
- Инструкция по проведению мероприятий при возникновении аварийной ситуации при работе с патогенными биологическими агентами.
- Инструкция по применению дезинфицирующих средств в отделении лабораторной диагностики
- Инструкция по правилам сбора, временного хранения и удаления отходов из ОЛД.
- План ликвидации аварии, связанной с нарушением целостности кожных покровов.
- План ликвидации аварии с разбрызгиванием ПБА на рабочем месте при работе с патогенными биологическими агентами.

- План ликвидации аварии без разбрызгивания ПБА на рабочем месте при работе с патогенными биологическими агентами.
- Инструкция по охране труда для персонала, работающего с ультрафиолетовыми бактерицидными облучателями открытого типа.

День 2(6.06.2017)

Сегодня ставили СОЭ и определяли ее показатели.

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – показатель, определение которого входит в общий анализ крови. Это неспецифический лабораторный скрининговый тест, изменение которого может служить косвенным признаком текущего воспалительного или иных патологических процессов, таких как злокачественные опухоли и диффузные заболевания соединительной ткани.

Скорость оседания эритроцитов определяют в разведенной цитратом крови за определенный промежуток времени (1час) и выражают в мм за 1 час. Значение СОЭ определяют как расстояние от нижней части поверхностного мениска (прозрачная плазма) до верхней части осевших эритроцитов в вертикальном столбце стабилизированной цитратом цельной крови.

Удельная масса эритроцитов выше, чем удельная масса плазмы, поэтому в пробирке при наличии антикоагулянта (цитрата натрия) под действием силы тяжести эритроциты оседают на дно. Процесс оседания (седиментации) эритроцитов можно разделить на 3 фазы, которые происходят с разной скоростью:

- **Первая фаза:** медленное оседание отдельных эритроцитов.
- **Вторая фаза:** образование агрегатов эритроцитов (т.н. "монетные столбики"), ускорение оседания.
- **Третья фаза:** образование множества агрегатов эритроцитов и их «упаковка», оседание замедляется и постепенно прекращается.

Метод Панченкова

- **Капилляр Панченкова.** Стандартный стеклянный капилляр для определения СОЭ: длина – 172 мм; наружный диаметр – 5 мм; диаметр отверстия – 1,0 мм; четкая коричневая градуировка от 0 до 10 см, шаг шкалы – 1,0 мм; верхнее деление шкалы отмечено «0» и буквой «К» (кровь), напротив деления 50 имеется буква «Р» (реактив).
- **Прибор ПР-3 (СОЭ-метр, аппарат Панченкова)** – представляет собой пластиковый штатив с гнездами для установки 20 капилляров.
- **Время измерения:** один час.

Процедура определения:

1. Подготовить 5% раствор цитрата натрия и внести на часовое стекло.
2. Промыть капилляр 5% раствором цитрата натрия.

3. Произвести забор капиллярной крови в промытый капилляр.
4. Перенести кровь из капилляра на часовое стекло.
5. Повторить шаги 3 и 4.
6. Перемешать кровь с цитратом натрия на часовом стекле и вновь заполнить капилляр.
7. Установить капилляр в штатив Панченкова. Запустить таймер для каждого капилляра отдельно.
8. Через 1 час определить СОЭ по высоте столба прозрачной плазмы.

День 3(07.06.2017)

Приготовление и окраска мазков крови.

На сухое подготовленное предметное стекло ближе к короткой стороне наносят стеклянной палочкой (или непосредственно из места укола пальца) небольшую каплю крови. Оставляют стекло в горизонтальном положении и размазывают кровь по стеклу с помощью сухого чистого шлифованного стекла, держа его под углом 45°. Коротким ребром, подождав, пока вся кровь не расплывется по нему, быстро проводят по предметному стеклу. Сильно нажимать на предметное стекло не следует, так как это может привести к повреждению форменных элементов крови. Мазки высушивают на воздухе и маркируют (лучше простым карандашом). Высохший мазок должен быть равномерно тонким, желтоватого цвета, достаточной величины, занимать почти всю длину стекла и заканчиваться «метелочкой». Толстые (густо-розового цвета) мазки использовать не следует, так как в них морфология клеток трудноразличима.

Фиксация и окраска мазков крови. Перед окраской мазки крови обычно фиксируют 5 мин в метиловом спирте для предотвращения гемолиза, который может произойти при контакте с водой в процессе окрашивания водорастворимой краской или при последующем контакте с водой. Методики фиксации описаны ниже вместе с методиками окраски.

Окраска по Нохту. Высохшие фиксированные мазки, помещают в кювету с рабочим раствором краски на строго определенное время 20 мин. При Вынимают контейнер со стеклами из кюветы с красителем и помещают в кювету с водопроводной водой . Мазки высушивают на сушилке.

День 4 (08.06.2017)

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ.

Определение времени свертывания крови по Сухареву.

Для определения используется капиллярная кровь, взятая из пальца (первая капля крови обязательно удаляется сухой стерильной салфеткой). Взятая кровь набирается в капилляр

Панченкова, который наклоняется в заданном ритме то влево, то вправо под определенным углом. Секундомером засекается время, когда кровь перестает свободно перемещаться внутри сосуда, то есть начинает свертываться. Время свертываемости крови (по Сухареву) в норме составляет: начало образования фибрина от 30 до 120 секунд, окончание процесса от 3-х до 5-ти минут.

День 5 (09.06.2017)

Прием и маркировка биоматериала. Прием материала осуществляется при наличии направления с номером, соответствующим номеру на вакутейнере с кровью. Также в направлении указывается ФИО пациента, возраст и наименование исследований. При маркировке на вакутейнере ставится регистрационный номер, который соответствует номеру на направлении.

При приеме биоматериала необходимо соблюдать технику безопасности:

1. Использование средств индивидуальной защиты (медицинский костюм или халат, перчатки, медицинская шапочка);
2. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина, 6% раствором перекиси водорода.
3. В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биологическими жидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 минут тампоном, обильно смоченным 70% спиртом, вымыть под проточной водой с мылом и вытереть индивидуальным тампоном.
4. При подозрении на попадание крови на слизистые оболочки их немедленно обрабатывают струей воды, 1% раствором борной кислоты или вводят несколько капель нитрата серебра; нос обрабатывают 1% раствором протаргола; рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором перманганата калия.

Правила дезинфекции и утилизации биоматериала и использованных лабораторных инструментов.

Утилизация биоматериала происходит путем замачивания пробирок вместе с остатками материала в специальной емкости, маркированной Класс «Б» в дезинфицирующем растворе.

Дезинфекция использованных лабораторных инструментов происходит путем замачивания в специальных маркированных емкостях с дезинфицирующим раствором, на которых указана дата изготовления раствора и время экспозиции.

День 6-7 (10.06.-12.06.2017)

Самостоятельная работа с дневником.

День 8 (13.06.2017)

Определение количества эритроцитов и лейкоцитов в крови.

Для подсчета эритроцитов необходимы камера Горяева, исследуемая кровь, 3,5% раствор натрия хлорида, микроскоп с объективом 40 и окуляром 7, стерильные пробирки. Предварительно покровное стекло плотно притирают к камере. Кровь перед исследованием разводят в специальном растворе натрия хлорида из расчета 200: 1. По принципу капиллярности кровь распространяется под покровным стеклом в счетной камере. Эритроциты подсчитывают в пяти больших квадратах, разделенных на малые. Для подсчета выбирают эритроциты внутри квадрата и по двум границам (например, верхней и правой или нижней и левой). Нормальное содержание эритроцитов – $3,4-5,0 \cdot 10^{12}/л$ у женщин и $4,0-5,6 \cdot 10^{12}/л$ у мужчин.

Подсчет лейкоцитов. В пробирку вносят 0,4 мл 5% раствора уксусной кислоты, подкрашенной метиленовым синим (уксусная кислота лизирует эритроциты, метиленовый синий окрашивает ядра лейкоцитов) и 0,02 мл капиллярной крови. Полученное разведение считается равным 1 : 20. Перед заполнением камеры Горяева пробирку с разведенной кровью тщательно встряхивают. Камеру Горяева заполняют так же, как для подсчета эритроцитов. Подсчет лейкоцитов производят в 100 больших квадратах (неразграфленных). Нормальное содержание лейкоцитов - $4-9 \cdot 10^9/л$.

День 9-10 (14.06-15.06.2017)

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ.

Работа на гематологическом анализаторе **Medonic M- SERIES**.

Особенности гематологического анализатора Medonic M 20:

- Время от момента забора до получения результата - менее 60-ти секунд
- Минимум процедур обслуживания
- Сенсорный экран
- Программа контроля качества

20 параметров

- WBC - количество лейкоцитов
- LYMabs - Абсолютное количество лимфоцитов
- LYM% - процентное содержание лимфоцитов
- MIDabs - Абсолютное количество моноцитов
- MID% - процентное содержание моноцитов

- GRNabs - Абсолютное количество гранулоцитов
- GRAN% - процентное содержание гранулоцитов
- RBC - количество эритроцитов
- MCV - средний объем эритроцитов
- HCT - гематокрит
- RDW% - процентная ширина распределения эритроцитов
- **RDWabs** - Абсолютная ширина распределения эритроцитов
- HGB - гемоглобин
- MCH - среднее содержание гемоглобина в 1-м эритроците (цветной показатель крови = $0,03 \times MCH$)
- MCHC - средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах
- PLT - количество тромбоцитов
- MPV - средний объем тромбоцитов
- **PCT** - тромбокрит
- **PDWabs** - Абсолютная ширина распределения тромбоцитов
- **LPCR** - коэффициент концентрации крупных тромбоцитов

Регистрация результатов в рабочий журнал.

День 11(16.06.2017)

Взятие капиллярной крови:

- Идентифицировать пациента.
- Оформить/проверить направления.
- Выяснить, соблюдал ли пациент предписанную диету и нет ли у него аллергии на вещества, содержащиеся в дезинфицирующем средстве для очищения кожи в месте пункции.
- Обеспечить пациенту удобное и подходящее для взятия крови положение и проверить теплые ли руки у пациента. При необходимости согреть их.
- Надеть перчатки.
- Подготовить необходимые средства для работы.
- Выбрать место пункции.
- Обработать перчатки дезинфицирующим средством.
- Очистить место предполагаемой пункции дезинфицирующим средством и дать коже высохнуть.

- Фиксировать руку пациента и палец, куда планируется нанести прокол; сдавить мягкую часть дистальной фаланги до возникновения легкого отека и конец пальца приобретает темно-красную окраску.
- Произвести прокол кожи немного латеральнее от центральной оси пальца.
- Первая капля крови удаляется сухой очищающей салфеткой.
- Полностью заполнить капилляр кровью.
- После взятия крови на место прокола следует поместить салфетку, смоченную дезинфицирующим раствором и сдавить на 3-5 минут.
- Маркировать пробирки.
- Все используемые во взятие крови необходимые средства собрать в специальный контейнер.

День 12(17.06.2017)

Самостоятельная работа с дневником.

День 13-14 (19.05-20.06.2017)

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ.

Подсчет лейкоцитарной формулы

Подсчет лейкоцитарной формулы крови производят в окрашенных мазках периферической крови.

Приготовление мазков. Тщательно вымытым и обезжиренным предметным стеклом (его краем) прикасаются к капле крови на месте укола. Мазок делают шлифовальным стеклом, поставив его под углом в 45° к предметному стеклу впереди капли. Подведя стекло к этой капле, ждут, пока кровь расплывется вдоль его ребра, затем быстрым легким движением проводят шлифовальное стекло вперед, не отрывая от предметного раньше, чем иссякнет вся капля. Мазок высушивают и фиксируют используя смесь Никифорова (равные части абсолютного этилового спирта и эфира) в течение 30 минут. Используют краситель Романовского-Гимзе (заводского приготовления). Рабочий раствор краски приготавливают из расчета 1,5—2 капли готовой краски на 1 мл дистиллированной воды. Краску наливают на мазок возможно более высоким слоем, длительность окраски — 30—35 мин. По истечении этого срока мазки промывают водой и высушивают на воздухе. Подсчет лейкоцитарной формулы крови производят в окрашенных мазках

периферической крови. Считать лучше ближе к концу мазка в самом тонком месте, не менее 200 клеток (исключение составляют выраженные лейкопении), а затем выводят процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов.

День 15 (22.06.2017)

Взятие капиллярной крови:

- Идентифицировать пациента.
- Оформить/проверить направления.
- Выяснить, соблюдал ли пациент предписанную диету и нет ли у него аллергии на вещества, содержащиеся в дезинфицирующем средстве для очищения кожи в месте пункции.
- Обеспечить пациенту удобное и подходящее для взятия крови положение и проверить теплые ли руки у пациента. При необходимости согреть их.
- Надеть перчатки.
- Подготовить необходимые средства для работы.
- Выбрать место пункции.
- Обработать перчатки дезинфицирующим средством.
- Очистить место предполагаемой пункции дезинфицирующим средством и дать коже высохнуть.
- Фиксировать руку пациента и палец, куда планируется нанести прокол; сдавить мягкую часть дистальной фаланги до возникновения легкого отека и конец пальца приобретает темно-красную окраску.
- Произвести прокол кожи немного латеральнее от центральной оси пальца.
- Первая капля крови удаляется сухой очищающей салфеткой.
- Полностью заполнить капилляр кровью.
- После взятия крови на место прокола следует поместить салфетку, смоченную дезинфицирующим раствором и сдавить на 3-5 минут.
- Маркировать пробирки.

- Все используемые во взятие крови необходимые средства собрать в специальный контейнер.

Приготовление и окрашивание мазков крови из венозной и капиллярной крови, определение СОЭ. Регистрация результатов в рабочий журнал.

День 16 (23.06.2017)

Правила работы и техника безопасности в гематологической лаборатории.

1. К занятиям допускаются студенты только в белых халатах. Входить в лабораторию в пальто, в головном уборе, вносить посторонние вещи не разрешается.
2. Каждый студент работает на своем рабочем месте и несет ответственность за закрепленное за ним оборудованием, включая микроскоп, чистоту рабочего места.
3. Строго соблюдать правила обращения с реактивами и красителями.
4. Запрещается работать с неисправными электроприборами. Обо всех неисправностях следует сообщить руководителю.
5. Работать в резиновых перчатках, при повышенной опасности заражения - в двух парах перчаток.
6. Использовать маски, очки, экраны.
7. Использовать маски и перчатки при обработке использованной одежды и инструментов.
8. Осторожно обращаться с острым медицинским инструментарием.
9. Не надевать колпачок на использованную иглу.
10. После дезинфекции использованные одноразовые острые инструменты утилизировать в твердых контейнерах.
11. Собирать упавшие на пол иглы магнитом, щеткой и совком.
12. Микротравмы на руках закрывать лейкопластырем, лифузолом или начальником. До и во время работы следует проверять, не пропускают ли перчатки влагу, нет ли в них повреждений.
13. Поврежденные перчатки немедленной заменять. Обработанные после использования перчатки менее прочны, чем новые, и повреждаются значительно чаще. Применение кремов на жировой основе, жировых смазок разрушает перчатки.
14. Взятие крови у пациентов или проведение других процедур, когда медработник может случайно пораниться использованной иглой, необходимо производить в латексных перчатках, т.к. они уменьшают количество инокулята крови, который передается при уколе.

15. После снятия перчаток замочить их в дезрастворе на 1 час, руки вымыть с мылом и вытереть индивидуальным полотенцем.
16. Снимать перчатки осторожно, чтобы не загрязнить руки.
17. Резиновые перчатки снятые единой, повторно не использовать из-за возможности загрязнения рук.
18. К работе в лабораториях допускаются лица, прошедшие медицинские освидетельствования и инструктаж по технике безопасности. Любые работы в лаборатории надо выполнять точно, аккуратно, без спешки. Запрещается производить в лаборатории какие либо работы, не связанные непосредственно с выполнением порученных заданий.
19. На рабочем месте должны находиться только необходимые для выполнения конкретной работы реактивы, приборы и оборудование. Беспорядок на рабочем месте недопустим. К любой работе можно приступать только в том случае, если все ее этапы понятны и не вызывают никаких сомнений.
20. В лаборатории запрещается принимать пищу, курить за работой и рабочим столом.
21. Работу с ядовитыми веществами следует проводить в резиновых перчатках, защитных очках, а работу с инфицированным материалом только с помощью инструментов (пинцетов, зажимов, игл, нетель, крючков, корнцангов и т.д.).
22. При работе пипеткой с инфицированным материалом, ядовитыми и едкими жидкостями необходимо пользоваться резиновой грушей. Бывшая в употреблении посуда помещается в дезинфицирующий раствор, кипятится и промывается большим количеством воды. После соприкосновения с инфицированным материалом, руки, а также столы, на которых проводилась работа, обрабатываются дезинфицирующими растворами.
23. Работа с особо опасным материалом проводится в изолированном помещении с применением дополнительных средств защиты - наруканников, передников, перчаток, респираторов и т.д. Для* предупреждения отравлений при работе, связанной с образованием вредных паров и газов, с летучими химическими веществами, необходимо пользоваться вытяжными шкафами.
24. Емкости с реактивами и химическими веществами, хранящиеся в лаборатории, должны быть снабжены этикетками с разборчивыми надписями, где указаны название соединения и его химическая формула. Запрещается исправлять надписи на этикетках, наклеивать новые этикетки, не сняв старые, наносить на тару легко смывающиеся надписи, а также пользоваться реактивами без этикеток или с неясными надписями на них. В подобных случаях необходимо с помощью анализа точно установить формулу вещества или же немедленно уничтожить его. Необходимо внимательно следить за сохранением чистоты реактивов. Ни в коем случае нельзя путать пробки от банок с реактивами, доставать вещество из банок грязным шпателем, рукой и т.д.
25. Запрещается сливать в раковины отходы химических реактивов, органических растворителей, водные растворы химических веществ, питательных сред для

микробиологических исследований, остатки радиоактивных растворов и т.д. Отходы подобного рода следует в конце рабочего дня выносить в специально отведенные для сливов места с целью последующего централизованного их уничтожения.

26. Воспрещается оставлять без присмотра работающие установки, включенные электрообогревательные приборы, газовые горелки. Если необходимо ненадолго отлучиться от работающей установки, следует поручить присмотр за ней достаточно квалифицированному сотруднику, подробно проинструктировав его. Ни в коем случае нельзя поручать присмотр за установкой другим лицам, если установка не вышла на рабочий режим, работает нестабильно или имеет какие-либо отклонения от нормы

27. Перед уходом из лаборатории дежурный проверяет рабочие места, закрывает воду, выключает свет, электроприборы. После ознакомления с техникой безопасности при работе в микробиологической лаборатории студенты расписываются в журнале.

Следует строго соблюдать личную гигиену — тщательно дезинфицировать и мыть руки с мылом после окончания работы и перед едой.

В специальном журнале студенты и сотрудники делают запись о проведении инструктажа и ознакомлении с режимом работы в лаборатории.