

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
для обучающихся по организации и проведению самостоятельной работы
по дисциплине «МЕТОДЫ И АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ МЕДИЦИНСКИХ
ЛАБОРАТОРИЙ»
для студентов специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия»

ВВЕДЕНИЕ

Целью освоения дисциплины является формирование у студентов понимания принципов, условий применимости и ограничений в использовании методов количественного и качественного анализа в медицинской биохимии.

Основными задачами изучения дисциплины являются:

- Ознакомить студентов с принципами измерительных технологий, техникой современного биохимического анализа, основными методами и методиками количественного анализа биологических объектов.
- Выработать навыки и умения по обращению с химическими реагентами, приборами и аппаратурой.

Методические рекомендации по изучению теоретического материала

При выполнении самостоятельного изучения теоретического материала студент должен руководствоваться следующими правилами. За основу рекомендуется брать рабочую программу учебной дисциплины в библиотеке СКФУ. Согласно плану-графику аудиторных занятий и самостоятельной работы, на изучение отдельных тем отводится разное количество часов. Значительная часть самостоятельной работы студента должна отводиться на усвоение полученного на лекции материала по пройденной теме, написании конспекта по заданным теоретическим блокам, поиску дополнительной литературы на базе библиотеки СКФУ и в системе интернет.

Весь охваченный теоретический материал должен быть осмыслен и переработан для более глубокого осмысления полученных данных. Все это поможет в тестировании и подготовке к экзамену.

Методические рекомендации при подготовке к собеседованию

Изучение основных разделов медицинской биохимии заканчивается проведением контрольных занятий, на которых обобщается весь материал по данной части учебной программы.

Собеседование представляет собой не только одну из форм текущего контроля, но и одну из активных форм учебных занятий, проводимых как в виде беседы преподавателя со студентами, так и в виде семинара, посвященного обсуждению определенной темы.

Целями собеседования являются: выяснение у студентов знаний, их углубление (повышение) и закрепление по той или иной теме курса; формирование у студентов навыков анализа теоретических проблем на основе самостоятельного изучения учебной и научной литературы.

Основная задача собеседования – пробудить у студента стремление к чтению и использованию дополнительной литературы. На собеседование могут выносятся как проблемные (нередко спорные теоретические вопросы), так и вопросы, требующие самостоятельного изучения, а также более глубокой проработки.

На самостоятельную подготовку к собеседованию студенту отводится 1-3 недели. Подготовка включает в себя изучение рекомендованной литературы и составление конспекта.

Методические указания по подготовке к лабораторным занятиям

При подготовке к лабораторным занятиям рекомендуется изучить контрольные вопросы по данному занятию, теоретический материал, изложенный в лабораторном практикуме, обратить внимание на технику безопасности и изучить методику проведения опытов. В протоколе должны быть отражены следующие разделы:

1. Номер занятия.
2. Название лабораторной работы.
3. Цель работы.
4. Ход выполнения работы.
5. Результаты.

6. Выводы.

Методические рекомендации по подготовке презентаций и докладов

Доклад должен содержать элементы новизны, наряду с фундаментальным аспектом должен быть проведен анализ современного состояния изучаемой проблемы, а также включенность в региональную проблематику.

Доклад должен состоять из введения, теоретической части, заключения, списка литературы и презентации, раскрывающей суть темы в графиках, картинках, схемах, формулах.

Доклад рекомендуется представлять в объеме 1 печатный лист. Текст работы должен быть напечатан через 1,5 интервала на одной стороне стандартного листа белой бумаги (А4). Текст и другие отпечатанные элементы работы должны быть черными, контуры букв и знаков – четкими, без ореола и затенения. Шрифт Times New Roman, кегель 14. Названия глав и параграфов выделяются полужирным шрифтом. Лист с текстом должен иметь поля: слева – 30 мм, справа – 10 мм, сверху – 20 мм, снизу – 20 мм. Нумерация страниц текста делается в правом нижнем углу листа. Проставлять номер страницы необходимо со страницы, где печатается «Введение», на которой ставится цифра «3». После этого нумеруются все страницы, включая приложения.

Между названием главы и названием параграфа этой главы ставится пробел равный двум интервалам, а название параграфа не должно отделяться от текста этого параграфа пробелом. Названия параграфов отделяются от текста предыдущего параграфа пробелом, равным двум интервалам. Каждая глава, а также введение, выводы, приложения и список использованной литературы начинаются с новой страницы. Слово «Глава» не пишется. Главы имеют порядковые номера в пределах всей работы, обозначаемые арабскими цифрами (например: 1, 2, 3), после которых ставится точка. Слово «параграф» или значок параграфа в названии не ставятся. Параграфы имеют порядковые номера в пределах глав, обозначаемые арабскими цифрами (например: 1.1. и 1.2.). Заголовки глав и параграфов в тексте работы должны располагаться по центру, точку в конце названия главы и параграфа не ставят. Не допускается переносить часть слова в заголовке. 4.5. Нумерация таблиц и рисунков может быть сквозной или соотноситься с номером главы и параграфа. Например, если таблица или рисунок включены в текст первого параграфа второй главы, нумерация следующая: Таблица 2.1.1., рис. 2.1.1. Последняя цифра означает порядковый номер таблицы (или рисунка) в данном параграфе. Таблица помещается в качестве следующей страницы после первого упоминания о ней в тексте.

ТЕМАТИКА

для самостоятельного изучения

1. Элементарные лабораторные процедуры и их оснащение. Весы и взвешивание, возможные источники погрешностей.
2. Лабораторные реагенты. Требования к качеству, чистота. Активность, стабильность. Способы выражения концентрации растворов.
3. Особенности хранения биологических образцов в зависимости от аналитической задачи.
4. Буферные системы в организме человека: классификация, примеры и механизмы действия. Взаимодействие буферных систем в организме.
5. Кисотно-основное равновесие (КОР). Основные показатели КОР. Возможные причины и типы нарушений КОР организма. Значения рН, последствия сдвига. Механизмы, регулирующие постоянство КОР.
6. Необходимость проведения ряда биохимических анализов в специальных условиях. Техника работ с реагентами, чувствительными к влаге, кислороду воздуха и свету. Проведение реакций в апротонных растворителях, в безводных условиях и в инертной атмосфере.
7. Техника проведения экстракции в водную фазу и органическими растворителями. Высушивание органических растворов. Барьерные методы (фильтрация, диализ, осмос на мембранах).

8. Общие принципы осаждения веществ из растворов, особенности осаждения биомолекул, условия осаждения, препятствующие нарушению пространственной структуры биологических макромолекул. Высушивание осадков.
9. Методы концентрирования растворов: ультрафильтрация, упаривание на ротаторном испарителе, распылительная сушка, лиофилизация, концентрирование диализом, осадительное концентрирование.
10. Титриметрические методы анализа. Классификация титриметрических методов. Кислотно-основное титрование. Осадительное титрование. Комплексонометрическое титрование. Окислительно-восстановительное титрование.
11. Термические методы анализа. Термогравиметрия. Термический анализ. Термометрическое титрование. Калориметрия. Методы калориметрических измерений. Низкотемпературная калориметрия биологических макромолекул.
12. Гидродинамические методы анализа биомолекул: физические основы, общие принципы, классификация. Седиментация и центрифугирование. Вискозиметрия. Способы измерения вязкости биологических жидкостей и растворов биополимеров. Ротационные и капиллярные вискозиметры.
13. Методы, основанные на релеевском рассеянии света. Нефелометрия и нефелометрическое титрование. Методы анализа агрегации клеток крови.
14. Дериватизация и каталитические реакции в биохимическом анализе. Маскировка мешающих веществ реакциями комплексообразования.
15. Методы катализа, используемые в биохимическом анализе. Ферменты как химические реагенты для реакций дериватизации анализируемого вещества.
16. Хроматографические методы: общие принципы, теория хроматографии, классификация хроматографических методов. История развития хроматографии. Ученые, внесшие вклад в ее развитие. Распределительная хроматография. Бумажная хроматография. Тонкослойная хроматография. Газожидкостная хроматография.
17. Адсорбционная хроматография. Ионообменная хроматография, особенности её применения в биохимическом анализе. Аффинная хроматография. Иммуносорбенты, их использование в клинической диагностике. ВЭЖХ как метод в анализе многих естественных метаболитов организма человека.
18. Газовая хроматография. Общая схема хроматографа. Взаимосвязь хроматографических параметров удерживания с термодинамическими величинами, эффекты межмолекулярных взаимодействий. Газовая хроматография в изучении фазовых переходов.
19. Эксклюзионная хроматография. Гель-фильтрация. Многоступенчатое хроматографическое разделение.
20. Оптическая микроскопия. Цитохимические и гистохимические окраски. Флюоресцентная и эпифлюоресцентная микроскопия.
21. Принципы определения молекулярной массы биологических макромолекул. Химические и ферментные сенсоры. Биочипы.
22. Методы геномики и протеомики. Биоинформатика. Проточная цитометрия как метод точного анализа клеточных популяций.
23. Особенности приготовления растворов: принципы приготовления, способы выражения, концентраций, растворимости, растворители для биохимического анализа, способы постепенного добавления реактивов.
24. Растворение плохо растворимых веществ (суспендирование, эмульгирование, детергенты, использование которых допустимо в биохимическом анализе). Буферные растворы.
25. Получение образца для анализа. Методы разрушения клеток: механические, ультразвуковые, химические, комбинированные.
26. Разделение субклеточных фракций. Выделение и очистка исследуемых соединений. Последовательное использование различных методов разделения веществ в биохимическом анализе.
27. Методы выделения и очистки биомолекул.

Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

Перечень основной литературы

1. Медицинская аппаратура. Полный справочник / М.Ю. Ишманов [и др.]. - Саратов : Научная книга, 2019. - 399 с. - ISBN 978-5-9758-1838-6. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/80197.html>
2. Лукашик Е. Я., Клинецвич С. И. Медицинская техника. - Гродно: ГрГМУ, 2023. - 116 с.
3. Букейханов, Н. Р. Медицинская техника цифровой медицины : учебное пособие / Н. Р. Букейханов. — Вологда : Инфра-Инженерия, 2022. — 124 с. — ISBN 978-5-9729-1022-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/281804>

Перечень дополнительной литературы

1. Апарнев А.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : учебное пособие / Апарнев А.И., Казакова А.А., Александрова Т.П. - Новосибирск : Новосибирский государственный технический университет, 2018. - 139 с. - ISBN 978-5-7782-3611-0. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/91180.html>
2. Молекулярно-абсорбционный метод анализа органических веществ : учебно-методическое пособие / Е.В. Черданцева [и др.]. - Екатеринбург : Уральский федеральный университет, ЭБС АСВ, 2015. - 98 с. - ISBN 978-5-7996-1567-3. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/69639..html>
3. Перегончая О.В. Практикум по аналитической химии. Физико-химические методы анализа : учебное пособие / Перегончая О.В., Соколова С.А.. - Воронеж : Воронежский Государственный Аграрный Университет им. Императора Петра Первого, 2017. - 100 с. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/72731.html>
4. Фролов С.В. Приборы, системы и комплексы медико-биологического назначения. Часть 3. Лабораторное оборудование для биологии и медицины: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки бакалавров и магистров 201000 «Биотехнические системы и технологии», а также аспирантов, проводящих исследования в медико-биологической области / Фролов С.В., Фролова Т.А.. - Тамбов : Тамбовский государственный технический университет, ЭБС АСВ, 2015. - 81 с. - ISBN 978-5-8265-1427-6. - Текст: электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/64164.html>
6. Шорохова И.С. Статистические методы анализа: учебное пособие / Шорохова И.С., Кисляк И.В., Мариев О.С. - Екатеринбург: Уральский федеральный университет, ЭБС АСВ, 2015. - 300 с. - ISBN 978-5-7996-1633-6. - Текст: электронный // IPR SMART: [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/65987.html>
7. Сальникова Е.В. Инструментальные методы анализа. Теоретические основы и практическое применение : учебное пособие / Сальникова Е.В., Мишукова Т.Г. - Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. - 122 с. - ISBN 978-5-7410-1725-8. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/71275.html>
8. Баланов, А. Н. Биометрия. Разработка и внедрение систем идентификации : учебное пособие для вузов / А. Н. Баланов. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 228 с. — ISBN 978-5-507-49167-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/405494>
9. Малахова, О. А. Методы анализа: практикум : учебное пособие / О. А. Малахова. — Самара : СамГАУ, 2023. — 109 с. — ISBN 978-5-88575-706-5. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/348062>
10. Системы здравоохранения в мировой практике ВОЗ : учебное пособие / С. В. Ефимова, Е. Л. Борщук, Е. А. Калинина [и др.]. — Оренбург : ОрГМУ, 2021. — 87 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/258059>
3. <http://www.e-reading.club/> - Большая онлайн библиотека

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
по выполнению лабораторных работ по дисциплине
«МЕТОДЫ И АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ»
для студентов специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия»

ВВЕДЕНИЕ

Целью освоения дисциплины является формирование у студентов понимания принципов, условий применимости и ограничений в использовании методов количественного и качественного анализа в медицинской биохимии.

Основными задачами изучения дисциплины являются:

- Ознакомить студентов с принципами измерительных технологий, техникой современного биохимического анализа, основными методами и методиками количественного анализа биологических объектов.

- Выработать навыки и умения по обращению с химическими реагентами, приборами и аппаратурой.

При подготовке к лабораторным занятиям рекомендуется изучить контрольные вопросы по данному занятию, теоретический материал, изложенный в лабораторном практикуме, обратить внимание на технику безопасности и изучить методику проведения опытов. В протоколе должны быть отражены следующие разделы:

1. Номер занятия.
2. Название лабораторной работы.
3. Цель работы.
4. Ход выполнения работы.
5. Результаты.
6. Выводы.

Методические рекомендации к оформлению отчетов по лабораторным работам

Лабораторный практикум является неотъемлемой частью дисциплин. Выполнение студентами лабораторных работ формирует обобщение, углубление и систематизацию теоретических знаний; умение применять профессионально-значимые знания. Также важнейшей задачей лабораторного практикума является развитие навыков ведения лабораторного журнала, оформления и защиты отчетов по проведенным работам.

Общие рекомендации по ведению лабораторного журнала

В качестве лабораторного журнала следует использовать общую тетрадь объемом не менее 48 листов. Журнал должен быть подписан (указаны ФИО студента, ФИО преподавателя, курс и номер группы). Оформление лабораторного журнала допускается как в рукописном, так и машинописном вариантах. В последнем случае листы с оформленными лабораторными работами должны быть вклеены или подшиты к журналу.

Лабораторный журнал следует заполнять аккуратно, избегая помарок и исправлений. Использование канцелярского корректора в лабораторном журнале не допускается.

Структура отчета по лабораторной работе

Отчет по лабораторной работе состоит из следующих разделов: название работы, цель и задачи работы, приборы и реактивы, ход работы, выводы.

Название работы

Отчет по лабораторной работе должен начинаться с новой страницы. В начале отчета пишется порядковый номер лабораторной работы в семестре, название выполняемой лабораторной работы. Рядом с названием следует указать дату выполнения работы.

Цели и задачи работы

В любой лабораторной работе можно выделить два типа целей, которые ставятся перед студентом. Первые цели – дидактические, к ним относят экспериментальное подтверждение и проверку существенных теоретических положений дисциплины, а также формирование у студентов практических умений и навыков работы в лаборатории. Вторая группа целей варьируется от работы к работе и заключается в получении тех или иных параметров и проведении опытов в соответствии с тематикой работы. При оформлении отчета студенту следует отразить как дидактические цели, так и экспериментальные цели работы. По желанию студент может написать подробные цели работы или сформулировать общую цель работы, в

рамках которой описать конкретные практические задачи. В данном разделе следует указать номера выданных преподавателем заданий.

Приборы и реактивы

Здесь указываются названия реактивов, с которыми студент будет работать. Подготовка раздела осуществляется перед выполнением лабораторной работы и позволяет студенту заблаговременно найти информацию.

При необходимости в данном разделе также приводится описание и схемы оборудования, используемого в работе. На схеме должны быть отражены и подписаны основные конструкционные элементы установки. В случае, если аналогичный прибор ранее использовался студентом при выполнении предыдущих работ, достаточно указать, в отчете к какой лабораторной работе можно найти соответствующую схему.

Ход работы

В разделе приводится краткое описание выполняемых действий от третьего лица. Указываются условия проведения эксперимента, перечисляется алгоритм манипуляций. Описание опыта не должно копировать текст практикума или методических рекомендаций. Описание должно быть составлено таким образом, чтобы читающий мог понять и воспроизвести последовательность действий, выполненных экспериментатором.

Особое внимание при оформлении отчета следует обратить на наблюдения, сделанные в рамках выполнения опыта. Точное и подробное описание наблюдений – залог правильности обсуждения наблюдаемых процессов. При необходимости в разделе «Ход работы» заполняются таблицы экспериментальных данных, на основе которых строятся графики зависимостей. Обратите внимание, каждая таблица, как и каждый график должны иметь название, отражающее приведенные данные. В «шапке» таблицы, а также рядом с осями на графике указывается наименование и единицы измерения физических величин. Все графики и диаграммы необходимо строить с применением ПК (пакеты программ Origin, MS Excel).

Проводимые в рамках выполнения работы расчеты также находятся в данном разделе. Обратите внимание, что при проведении расчетов используемые уравнения сначала записываются в общем виде, с использованием буквенных обозначений, только потом в уравнение подставляют численные экспериментальные или справочные данные. Для всех определенных в работе величин указываются единицы измерения.

Выводы

Важнейшей частью отчета по лабораторной работе является раздел «Выводы». Раздел содержит основные наблюдения и заключения, сделанные при выполнении работы. В разделе необходимо отразить полученные результаты, их соответствие теоретическим представлениям. Результаты измерений следует записывать в виде ($\bar{X} \pm \Delta X$), указать единицы измерения и относительную погрешность. В выводах по работе приветствуется описание возможных причин погрешностей, а также способов их избежать.

В отчете по лабораторной работе допускается писать выводы для каждого проведенного эксперимента и обобщающий вывод в конце отчета, где нужно систематизировать и обобщить полученные результаты.

Лабораторная работа №1

Организация работы медицинских лабораторий. Лаборатории общего типа. Клинический отдел. клинической биохимии. Специализированные лаборатории

Общие требования охраны труда

В медицинских лабораториях должны соблюдаться все требования нормативно-правовых актов в области охраны труда, в т.ч. специально разработанных для клиничко-диагностических, микробиологических, вирусологических, химических и аналитических лабораторий, санитарные правила и гигиенические нормативы, требования пожарной безопасности, электробезопасности и инструкций по эксплуатации лабораторного и иного оборудования.

При организации работ по обеспечению безопасности в лабораториях следует руководствоваться ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности». Указанный стандарт устанавливает требования по формированию и поддержанию безопасной рабочей среды в медицинских лабораториях.

В соответствии с СанПиН 2.1.3.2630-10 клиничко-диагностические, микробиологические и другие диагностические лаборатории должны размещаться в изолированных непроходных отсеках зданий. Помещение для забора материала располагают за пределами блока помещений для исследований.

Размещение и состав помещений микробиологических лабораторий определяется с учетом требований санитарных правил «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Работа с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) осуществляется только в специализированных микробиологических и вирусологических лабораториях.

К самостоятельной работе в медицинских лабораториях допускаются лица, имеющие соответствующую квалификацию и профессиональную подготовку, прошедшие в установленном порядке:

- вводный, первичный на рабочем месте и повторный инструктажи по охране труда, проверку знаний требований охраны труда, при необходимости стажировку на рабочем месте, внеплановый и целевой инструктаж;
- обучение безопасным методам и приемам выполнения работ;
- предварительный (при поступлении на работу) и периодический (в течение трудовой деятельности) обязательные медицинские осмотры и не имеющие медицинских противопоказаний.

Персонал лаборатории может подвергаться воздействию опасных и вредных производственных факторов, основными из которых являются:

- химические факторы: повышенный уровень вредных веществ в воздухе рабочей зоны, образующихся в процессе работы;
- биологические факторы: патогенные микроорганизмы, а также микроорганизмы-продуценты, содержащие живые клетки и споры микроорганизмов и белковые препараты (опасность заражения работников при исследовании инфекционных материалов, повышенная запыленность воздуха рабочей зоны биологическими веществами);
- физические факторы: аэрозоли, неионизирующие электромагнитные излучения, статические, электрические и магнитные поля, шум, вибрация, ультразвук, микроклимат, освещенность, поражение электротоком, травмирование осколками посуды, используемой в процессе работы, и т.д.;
- психофизиологические факторы, включая повышенное напряжение органов зрения;
- пожаро- и взрывоопасные факторы;
- другие опасные и вредные производственные факторы, связанные со спецификой трудовой деятельности, используемыми в работе оборудованием, инструментами и материалами.

Рабочие места в медицинской лаборатории подлежат специальной оценке по условиям труда в соответствии с приказом Минтруда России от 24.01.2014 № 33н.

При работе с химическими веществами следует руководствоваться ПОТ РМ-004-97 "Межотраслевые правила по охране труда при использовании химических веществ". Уровни концентрации и другие параметры опасных и вредных производственных факторов не должны превышать допустимых значений, предусмотренных в действующих санитарно-гигиенических нормах и иных нормативно-правовых актах.

В лаборатории должны быть разработаны и утверждены подробные инструкции по безопасности труда по отдельным видам работ и рабочим местам. Указанные инструкции должны в обязательном порядке содержать алгоритм действий работников при чрезвычайных ситуациях (авария, несчастный случай, отравление, пожар и т.д.) и быть вывешены на видном месте или находится в другом доступном для работников месте.

В качестве дополнительного источника информации следует использовать инструкции по безопасному обращению с материалами (MSDS) применительно ко всем химическим реагентам, используемым в лаборатории.

Лица, вновь принятые на работу в лабораторию, допускаются к работе только после соответствующего инструктажа и проверки знаний по охране труда и пожарной безопасности. Инструктаж, последующее обучение и проверка знаний по охране труда и пожарной безопасности производятся и документируются в соответствии с действующими нормативно-правовыми актами в этой области.

Работники лаборатории обязаны проходить предварительный (при поступлении на работу) и периодические обязательные медицинские осмотры в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 № 302н.

Персонал лаборатории должен быть обеспечен рабочей одеждой и средствами индивидуальной защиты в соответствии с действующими нормативно-правовыми актами.

В целях обеспечения безопасности трудовой деятельности в лаборатории необходимо оценить степень риска и разработать меры устранения или существенного снижения опасности для каждого производственного процесса. Для стандартных процессов необходимо разработать детальные инструкции, отражающие возможные риски (опасности) и содержащие способы их безопасного выполнения. Ответственный за охрану труда в лаборатории должен пересматривать и обновлять эти инструкции не реже одного раза в год.

Общая ответственность за охрану труда в лаборатории возлагается на ее заведующего, а по отдельным участкам – на их руководителей.

В соответствии с ГОСТ Р 52905-2007 для помощи руководителю лаборатории в обеспечении безопасности может быть назначен надлежащим образом обученный уполномоченный за безопасность. Это лицо должно разрабатывать программу лабораторной безопасности и следить за ее выполнением. Программа должна включать в себя обучение, мотивацию и тренировку персонала, соответствующее материально-техническое оснащение, обеспечение средствами защиты, аудит и дальнейшее совершенствование системы безопасности в лаборатории.

Ответственный за безопасность в лаборатории должен иметь право приостанавливать или прекращать деятельность, которая может быть небезопасной. При наличии комиссии по охране труда в лаборатории уполномоченный за безопасность должен быть ее членом по должности, если не председателем.

Условия труда работников лаборатории должны соответствовать требованиям безопасности, санитарным правилам и гигиеническим нормативам, требованиям пожарной и радиационной безопасности. Основные физические факторы условий труда в медицинских лабораториях представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Физические факторы условий труда в медицинских лабораториях

N	Физический фактор	Требования и пути устранения негативных аспектов
1.	Освещение	Лаборатория должна иметь естественное или искусственное освещение, уровень которого оптимален для безопасной работы. Должны быть сведены до минимума слепящие и отвлекающие отблески света.

2.	Температура	Любое оборудование, излучающее избыточное тепло или холод, должно быть изолировано от общего рабочего пространства. Для обеспечения личной безопасности и комфортности персоналу должно быть предоставлено персональное защитное оснащение, включая теплозащитные перчатки и соответствующую одежду. Температуру окружающей среды в лаборатории следует по возможности поддерживать на уровне комфортности для работников лаборатории.
3.	Вентиляция	Любое оборудование, способное испускать избыточный дым, тепло, пар, запах или токсичность, должно быть изолировано от общего рабочего пространства и помещено под подходящий вытяжной шкаф. Если это невыполнимо, должно быть проведено специальное переоборудование для создания комфортных условий работникам. В случаях образования неприятных или тошнотворных запахов в результате определенных процессов ручной работы рекомендуется применение местной естественной или механической вентиляции. Влажность окружающей среды и движение воздуха в лаборатории должны быть комфортными и соответствовать требованиям безопасности работников лаборатории. Скорость потоков воздуха в лаборатории должна быть отрегулирована таким образом, чтобы обеспечить адекватную вентиляцию и предотвратить дисперсию потенциально инфекционных агентов и токсических дымов. Вентиляционные каналы должны быть изолированы от общего рабочего пространства во избежание дисперсии или воздушного переноса инфекционных агентов или запахов в остальную часть рабочего пространства.
4.	Шум	На рабочем месте должно быть исключено возникновение избыточного шума. При выборе и размещении оборудования следует учитывать влияние отдельных элементов оборудования на общий уровень шума на рабочем месте. Необходимо принять меры для минимизации и приглушения образования шума.
5.	Эргономические факторы	Лабораторная деятельность, рабочее пространство и оборудование (например, стулья, лабораторные рабочие установки, клавиатуры компьютеров и мониторы), а также оборудование, производящее вибрацию, и ультразвуковое должны быть спроектированы или размещены таким образом, чтобы снизить риски вызванных эргономическим дистрессом расстройств или несчастных случаев.
6.	Проектирование для работы с живыми патогенами	Все лаборатории, работающие с живыми биологическими агентами, должны иметь конструктивные характеристики, соответствующие индивидуальной защите от микроорганизмов от умеренного до высокого риска. Лаборатории, предназначенные для работы с организмами групп высокого риска, должны иметь конструктивные характеристики большей защиты.
7.	Обозначения на дверях	Лаборатории должны иметь обозначения на каждом входе и выходе с указанием экстренного выхода, отличного от обычного. Обозначения на каждом месте должны включать в себя международно принятые указатели опасности (например, биоопасность, пожарная опасность, радиоактивность) и другие установленные правилами безопасности знаки.

Требования безопасности в медицинских лабораториях

Общие требования безопасности при организации работы медицинской лаборатории изложены в ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности». Стандарт предназначен для применения в медицинских лабораториях всех типов – от полевых

лабораторий с ограниченными ресурсами до больших исследовательских и обучающих лабораторий. В нем рассмотрены основные этапы по формированию систем безопасности в медицинских лабораториях (табл. 2).

Таблица 2 – Основные этапы по формированию систем безопасности в медицинских лабораториях

Этапы	Расшифровка
Этап 1: Руководство безопасностью	Должен быть назначен уполномоченный по безопасности в лаборатории, обладающий достаточным опытом, чтобы возглавить осуществление мер безопасности. Указанному лицу должно быть предоставлено достаточно времени для выполнения этой задачи. В небольшой лаборатории этот срок может быть минимальным, однако с увеличением сложности структуры лаборатории времени потребуется больше.
Этап 2: Идентификация опасностей	В сотрудничестве с персоналом лаборатории уполномоченный по безопасности должен составить перечень опасностей, которые существуют или могут возникнуть в лаборатории в результате ее деятельности. Важно, чтобы были учтены и те факторы, которые не имеют прямого лабораторного происхождения, например связанные с конструкцией здания или с окружающей средой.
Этап 3: Оценка риска	Уполномоченный по безопасности в тесном сотрудничестве с персоналом лаборатории должен оценить уровень риска, сочетающегося с каждым видом опасности, как с отдельным видом опасности как таковым, так и как с компонентом группы опасностей. В оценку риска входит оценка как рисков, специфичных для выполняемой работы, так и рисков, связанных с окружающей средой. Должны быть зарегистрированы достигнутый уровень риска, возможные последствия и степень их тяжести.
Этап 4: Определение приоритетов риска	Определение путей снижения уровня риска. В сотрудничестве с персоналом лаборатории уполномоченный по безопасности должен определить приоритетность рисков в зависимости от необходимости принятия немедленных, промежуточных или долгосрочных мер уменьшения риска. Эти стратегии должны быть основаны на учете потенциального вреда, а не на экономических соображениях, хотя последний компонент также не может быть проигнорирован. Могут возникнуть такие ситуации, которые потребуют трудного решения о прекращении отдельных видов деятельности, поскольку риски настолько велики, что перевешивают любую потенциальную выгоду.
Этап 5: Снижение риска	Полное отсутствие риска в медицинской лаборатории невозможно. Целью является снижение риска в такой степени, в какой это только возможно, с учетом всех действующих факторов. Должен быть разработан и принят план действий для снижения риска (рисков) до приемлемого уровня к намеченному сроку с привлечением всех сопричастных лиц как внутри лаборатории, так и других, влияющих извне своей деятельностью. Принятые решения и предлагаемые действия должны быть тщательно зарегистрированы и дополнены информацией, обосновывающей эти действия. Должны быть назначены ответственные исполнители и сроки реализации мероприятий по снижению рисков, определены и выделены необходимые ресурсы, разработана система контроля выполнения поставленных задач в области безопасности труда.

Зачастую многие меры для повышения безопасности требуют очень небольших расходов, вызывая лишь незначительные изменения в практике работы. Радикальные дорогостоящие нововведения требуются редко. Принятие научно обоснованных решений на

основе анализа состояния безопасности, статистики несчастных случаев, аварий, имеющих кадровых, финансовых и материально-технических ресурсов с учетом мнения экспертов-профессионалов может привести к повышению эффективности системы охраны труда при минимальных затратах.

В соответствии с ГОСТ Р 52905-2007 в медицинской лаборатории должна быть разработана программа безопасности, которая подлежит проверке и при необходимости пересмотру не реже одного раза в год. В ее состав должны входить следующие основные разделы:

- политика безопасности и здоровья;
- документально оформленные рабочие процедуры, в том числе приемы безопасной работы;
- образование и обучение персонала лаборатории;
- наблюдение за работниками;
- регулярные инспекции;
- опасные материалы и вещества;
- наблюдение за здоровьем работников;
- оказание первой медицинской помощи;
- регистрация, статистика и изучение инцидентов, несчастных случаев и заболеваний;
- отчет комиссии по охране труда;
- контроль выполнения программы безопасности.

Эффективное управление охраной труда основано на обратной связи и включает в себя функцию контроля. Правила проведения аудита состояния безопасности в медицинской лаборатории вместе с образцом опросного листа и порядок проверки программ безопасности содержатся в ГОСТ Р 52905-2007. Регулярные проверки выполнения программ безопасности служат напоминанием всему персоналу о потенциальных опасностях и способствуют усилению ответственности руководителей.

Рабочие места в лаборатории следует проверять не менее одного раза в год в независимости от результатов специальной оценки условий труда. При этом должны проверяться:

- комплексная безопасность производственных процессов и рабочих мест;
- обучение персонала безопасным методам работы;
- состояние противопожарной безопасности, в т.ч. функционирование пожарной сигнализации, наличие первичных средств пожаротушения, обучение персонала мерам противопожарной безопасности, путей эвакуации при пожаре;
- условия хранения горючих, инфекционных, радиоактивных, токсических материалов;
- состояние процедур обеззараживания и удаления отходов.

Контроль уровня безопасности осуществляется на основании имеющихся документов и проверки реального положения дел на рабочих местах. Результаты проверок документируются и докладываются заведующему лабораторией, главному врачу и руководителю службы охраны труда медицинской организации. На основании анализа результатов проверок разрабатываются и проводятся мероприятия по совершенствованию системы охраны труда.

В лаборатории должен быть разработан порядок сообщения о лабораторных инцидентах, несчастных случаях и профессиональных заболеваниях, а также о потенциальных опасностях. Сообщения должны содержать детальное описание инцидентов, анализ причины, рекомендации по предупреждению подобных инцидентов в будущем и предпринимаемые действия для выполнения этих рекомендаций.

Требования безопасности при бактериологических исследованиях

Производственные процессы в бактериологических лабораториях должны выполняться в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Работа с инфекционным материалом должна проводиться в специальных боксовых помещениях при строгом соблюдении правил безопасности при работе с микроорганизмами,

вирусами и возбудителями паразитарных болезней. При одновременном проведении работ с возбудителями инфекций различной степени опасности режим работы лаборатории должен устанавливаться с учетом требований и условий работы с наиболее опасным возбудителем.

При бактериологических исследованиях запрещается:

- работать с инфекционным материалом без резиновых перчаток и инструментов (пинцетов, игл, петлей, корнцангов);
- прикасаться руками к исследуемому материалу;
- допускать соприкосновение рук с конденсатом воды в засеянных чашках;
- размещать посуду с посевами патогенных бактерий непосредственно на столах;
- переливать инфицированные жидкости из сосуда в сосуд через край;
- оставлять по окончании работы на рабочих столах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с инфекционным материалом.

При бактериологических исследованиях следует:

- использовать в работе как одноразовую, так и стеклянную посуду многократного использования без повреждений, иглы шприцев с нормальной проходимостью;
- производить посев инфекционного материала в пробирки и чашки Петри около огня горелки с обжиганием петли, шпателя, краев пробирки; платиновые петли прокалывать на огне;
- делать надпись при посеве инфекционного материала на пробирках, чашках Петри, колбах, флаконах с указанием названия материала, номера культуры и даты посева или соответствующего регистрационного номера;
- помещать все чашки с посевами в кюветы или на подносы, а пробирки в штативы.

До начала работ в помещении лаборатории следует проводить уборку влажным способом. Пыль с поверхности столов, приборов, оборудования, подлокотников следует вытирать чистой тряпкой, увлажненной дезинфицирующим раствором. Полы необходимо протирать тряпкой, смоченной в дезрастворе.

После завершения работ с патогенными бактериями и инфицированным материалом должны быть проведены дезинфекционные мероприятия.

При аварийной ситуации во время работы с инфекционным материалом (бой посуды, разбрызгивание инфицированного материала, также во всех случаях загрязнения инфицированным материалом окружающих предметов, одежды или открытых частей тела сотрудников) следует известить о случившемся заведующего лабораторией и провести обеззараживание помещения, оборудования и предметов, которые могли быть инфицированы, предпринять меры личной профилактики. Запрещается покидать помещение без разрешения заведующего лабораторией до окончания проведения обезвреживающих мероприятий.

Требования безопасности при проведении лабораторных работ с использованием химических веществ

Организацию производственного процесса в лаборатории с использованием химических веществ следует осуществлять в соответствии с ПОТ РМ-004-97 "Межотраслевые правила по охране труда при использовании химических веществ". В документе идет речь, прежде всего, о вредных химических веществах, которые при контакте с организмом человека в случае нарушения требований безопасности могут вызвать производственные травмы, профессиональные заболевания или отклонения от нормы в состоянии здоровья как в период работы, так и в более отдаленные сроки жизни нынешнего и последующего поколений.

При использовании химических веществ следует учитывать их потенциальную опасность и возможность возникновения суммирующего и потенцирующего эффекта в сочетании с другими вредными производственными факторами. Изучение этих вопросов входит в задачи специальной оценки условий труда. Уровни опасных и вредных производственных факторов, возникающих при использовании химических веществ, не должны превышать допустимых значений, предусмотренных санитарно-гигиеническими нормами.

Производственные процессы с использованием химических веществ должны быть пожаро- и взрывобезопасными и проводиться в соответствии с производственными

регламентами, правилами эксплуатации лабораторного и иного оборудования и другими нормативно-правовыми актами в области охраны труда и пожарной безопасности.

Контакт работников с вредными веществами должен быть исключен или максимально ограничен за счет применения герметичного лабораторного оборудования, вытяжных шкафов и средств индивидуальной защиты.

При работе с едкими и ядовитыми веществами следует:

- проводить все работы в вытяжном шкафу при работающей вентиляции;
- пользоваться резиновыми перчатками и фартуком;
- пользоваться специальными сифонами для переливания из емкостей кислот, щелочей и других агрессивных жидкостей;
- отбирать из сосуда концентрированную кислоту специальной пипеткой или сифоном;
- разводить кислоты в специально приготовленной емкости, при этом сначала в нее залить воду, а затем добавлять кислоту;
- опускать щипцами при приготовлении растворов щелочей навеску щелочи в большой сосуд с широким горлом затем помещать сосуд на водяную баню для предотвращения разогревания раствора, заливать необходимым количеством воды и тщательно перемешивать;
- разбивать большие куски едкой щелочи, накрытые бельтином, в специально отведенном месте. Работа должна проводиться в защитных очках, фартуке, перчатках;
- переносить бутылки с кислотами, щелочами и другими едкими веществами только вдвоем в специальных корзинах или перевозить на специальной тележке;
- применять средства индивидуальной защиты органов дыхания при использовании сильнодействующих вредных веществ (синильной кислоты, ее солей, меркаптофоса, сероуглерода, мышьяковистого ангидрида);
- применять апробированные методы нейтрализации пролитых едких и ядовитых веществ.

При проведении работ в лаборатории следует:

- закрывать пробками сосуды с кислотными и щелочными растворами после их полного остывания;
- направлять в сторону от себя и других работников отверстие лабораторной посуды при нагревании веществ;
- пользоваться воронкой при переливании веществ;
- пользоваться полотенцем при переносе сосудов с горячей жидкостью; при этом сосуд необходимо поддерживать двумя руками: одной рукой за дно, другой – за горловину;
- поднимать двумя руками большие химические стаканы с жидкостью; при этом отогнутые края стаканов должны опираться на указательные пальцы;
- передавать в мойку использованную химическую посуду и приборы, содержавшие кислоты, щелочи и другие вредные вещества, после их очистки от остатков этих веществ и нейтрализации;
- использовать средства индивидуальной защиты (очки, марлевую повязку, резиновые перчатки) при мойке посуды хромовой смесью во избежание ее попадания на слизистые оболочки, кожные покровы тела;
- переливать жидкий азот из емкости в емкость в специальной защитной маске из прозрачного плексигласа.

При проведении работ запрещается:

- производить перегонку, экстрагирование и другие работы с вредными химическими веществами при неисправной вентиляции в вытяжном шкафу;
- использовать горелки с неисправными вентилями;
- зажигать огонь и включать электроприборы при признаках утечки газа;
- держать голову в полости вытяжного шкафа и над сосудами с испаряющимися веществами;
- производить органолептическую оценку неизвестных химических веществ;
- хранить запасы ядовитых, сильнодействующих, взрывоопасных веществ и растворов на рабочих столах и стеллажах;
- хранить и применять реактивы без этикеток;

- работать без специальной одежды, средств индивидуальной защиты и предохранительных приспособлений;
- выполнять работы, не связанные с лабораторными заданиями;
- пользоваться стеклянной посудой с надколами, трещинами, острыми краями;
- отсасывать ртом в пипетку исследуемое вещество;
- нагревать на открытом огне сосуды с ядовитыми сильнодействующими веществами.

При организации работ в лаборатории следует предусматривать мероприятия по своевременному удалению и обезвреживанию отходов. Неиспользованные в работе кислоты, щелочи и другие вредные вещества следует нейтрализовать. Спускать в канализацию отработанные жидкости возможно только после их полного обезвреживания.

Пролитые на пол различные химические растворы и растворители необходимо нейтрализовать и убрать при помощи опилок или сухого песка, пол протереть ветошью, смоченной соответствующим растворителем, а затем тщательно вымыть водой с моющим раствором или 10% раствором соды. Выполнять эту работу следует с применением средств индивидуальной защиты (противогазы, респираторы, перчатки, фартуки).

САНИТАРНО-ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЙ РЕЖИМ

Лабораторная профессия – риски и безопасность.

Лабораторным исследованиям подвергаются все виды биологических материалов человека, в которых исследуются широкий спектр компонентов с применением разнообразных физических, химических и биологических воздействий. Перечни лабораторных исследований, приборов и различного оборудования насчитывают сотни наименований. В центре этого мира лабораторной медицины – человек, лабораторный специалист. Это центральное положение лабораторного специалиста превращает его в объект одновременно двух видов опасностей – биологических и техногенных.

Биологические опасности обусловлены возможным наличием в биологических материалах человека различных патогенных агентов, способных вызвать заболевание работника.

Техногенные опасности имеют физическую или химическую природу и обусловлены агрессивными свойствами применяемых реагентов и неблагоприятными влияниями различных технических средств, используемых в аналитических процедурах.

Природа и характер всех этих потенциально опасных факторов, сопровождающих профессиональную деятельность лабораторного специалиста, достаточно хорошо изучены, и на этой основе разработаны эффективные средства предупреждения неблагоприятных последствий их воздействия на работников лабораторий. Соответствующие рекомендации и правила содержат четкие описания необходимых мер для создания безопасных условий работы сотрудников клинических лабораторий.

Вместе с тем необходимые меры лабораторной безопасности нередко не соблюдаются, что создает угрозу, как для здоровья работников лабораторий, так и для другого медицинского персонала, пациентов, всей окружающей среды. Каждый сотрудник лаборатории должен занять твердую позицию на основе требований соответствующих правил. Последствия их несоблюдения могут принести гораздо более серьезные материальные потери (не говоря уже о вреде для здоровья), чем расходы на меры безопасности. Особенно важно принципиально строгое следование нормам и правилам безопасности при создании новых лабораторий или внедрении новых видов исследований, например, молекулярно-биологических тестов.

В ряде случаев несоблюдение правил безопасности вызвано незнанием их лабораторным персоналом. Это может быть связано с:

- недостаточным распространением информации о правилах безопасности,
- ослаблением внимания к этой теме в системе последиplomного образования,
- отсутствием в лаборатории соответствующих нормативных документов и т.п.

Вопросы безопасности работы в лабораториях стали предметом нормативного регулирования на международном уровне в формате Международного стандарта ИСО 151990 «Медицинские лаборатории – требования к безопасности».

Знание и оценка рисков, связанных с лабораторным трудом, создание и поддержание условий, обеспечивающих безопасную работу – профессиональный вопрос первостепенной важности для деятельности клинико-диагностических лабораторий.

Санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ – это комплекс санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий, препятствующих инфицированию медперсонала КДЛ и обследуемых больных. Сотрудники КДЛ подвергаются риску заражения ВИЧ, вирусным гепатитом, кишечными инфекциями и другими инфекционными заболеваниями, основным источником распространения которых является инфицированный биологический материал (кровь, мокрота, ликвор, сперма, кал и другие секреты и экскреты). Ответственность за организацию и соблюдение противоэпидемического режима при работе с потенциально опасным материалом возлагается на руководителя КДЛ. Контроль за выполнением санитарно-противоэпидемического режима в КДЛ учреждений здравоохранения осуществляют заведующий КДЛ, старший фельдшер-лаборант и специалисты центров гигиены и эпидемиологии. Требования по соблюдению санитарно-противоэпидемического режима в учреждениях здравоохранения оговорены нормативными актами.

Правила устройства, техники безопасности и производственной санитарии в КДЛ ЛПУ

Устройство и содержание помещений

Размещение КДЛ в подвальных и полуподвальных помещениях запрещается.

Лаборатория должна иметь 2 входа (служебный и для посетителей).

Устройство, состав помещений и площади КДЛ следует принимать согласно “Строительным нормам и правилам”, утвержденным в установленном порядке.

Поверхности стен и потолков должны быть гладкими, допускающими легкую очистку их от пыли или “мокрую” уборку помещений.

В лаборатории, где по условиям эксплуатации необходимо обеззараживание поверхности стен, производят облицовку глазурованной плиткой на высоту 1,6 м.

В помещениях без облицовки стен облицовку следует предусматривать в местах установки санитарно-технических приборов, а также оборудования, вызывающего увлажнение стен, - на высоту 1,6 м и шириной, равной ширине приборов и оборудования, плюс 15 см с каждой боковой стороны.

Ширина основных проходов к рабочим местам или между двумя рядами оборудования должна быть не менее 1,5 м с учетом выступающих конструкций стен.

Двери в производственных помещениях лабораторий должны открываться в сторону выхода из помещения.

Полы в лабораторных помещениях покрываются линолеумом или релином. В боксах – гладкой плиткой.

Помещения лаборатории должны быть непроницаемы для грызунов

КДЛ должна быть обеспечена водопроводом, горячим водоснабжением, канализацией, центральным водяным отоплением и газом (если в населенном пункте имеется газовая сеть).

В населенных пунктах, не имеющих водопровода и канализации, устраиваются для больницы, в т. ч. и лаборатории, местный водопровод, канализация и очистные сооружения с обеззараживающими установками.

В производственных помещениях лаборатории должны быть оборудованы водопроводные раковины с подводкой холодной и горячей воды для мытья рук персонала и раковины, предназначенные для мытья лабораторного инвентаря и посуды.

Нагревательные приборы отопления должны иметь гладкую поверхность и быть доступны для легкой очистки.

При наличии в существующих лабораториях местного печного отопления печи должны быть оборудованы колосниковыми решетками, топочные отверстия должны выходить в коридор, на полу перед топочным отверстием должен быть укреплен лист из кровельного железа.

На вводе газовой сети в лабораторию устанавливается общий газовый кран, который закрывают в конце рабочего дня. Газовые горелки на рабочих столах и вытяжных шкафах должны иметь краны. Газовые горелки должны содержаться в чистоте и порядке, для чего их периодически следует разбирать и прочищать.

При временном перерыве в подаче газа необходимо перекрывать газовые краны у всех приборов.

При малейших признаках утечки газа и неисправных горелках следует прекратить работу до ликвидации утечки газа и замены горелок.

При пользовании спиртовой горелкой (спиртовкой) нельзя наливать спирт в нее, не потушив спиртовку, так как при наливании спирта выделяемые пары его могут воспламениться.

Спиртовка должна иметь металлическую трубку и шайбу для фитиля. При их отсутствии может быть воспламенение паров спирта внутри резервуара и взрыв спиртовки.

Помещения лаборатории должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией с механическим побуждением. Вентиляционные устройства должны размещаться так, чтобы шум от них не мешал работе персонала

Вентиляция во всех помещениях лаборатории должна включаться до начала работы.

Независимо от наличия приточно-вытяжной вентиляции должны быть оборудованы легко открывающиеся фрамуги или форточки во всех помещениях кроме специальных боксов бактериологической лаборатории. в летнее время окна производственных помещений должны снабжаться сетками от мух.

В помещениях для проведения исследований мочи и кала, биохимических, серологических и гормональных исследований следует устанавливать вытяжные шкафы с механическим побуждением.

Скорость движения воздуха в полностью открытых створках вытяжного шкафа должна быть 0,3 м/с, при работе с ртутью - 0,4 м/с, с сероводородом - 0,7 м/с.

Створки (дверцы) вытяжного шкафа во время работы следует держать максимально закрытыми (опущенными с небольшим зазором внизу для тяги). Открывать их можно только на время обслуживания приборов и установок. Приподнятые створки должны прочно укрепляться приспособлениями, исключающими неожиданное падение этих створок.

Вытяжные шкафы, предназначенные для работы с применением огня, должны покрываться огнестойкими материалами, а при работе с кислотами и щелочами - антикоррозийными материалами и иметь бортики для предотвращения стекания жидкости на пол. Вытяжные шкафы оборудуются электрическими лампами в герметической арматуре, выключатели которых размещаются вне вытяжного шкафа.

Штепсельные розетки должны размещаться на торцевой стороне рабочего стола вне вытяжного шкафа, шнуры к электроприборам обязательно изолируются резиновой трубкой.

Газовые и водяные краны вытяжных шкафов должны быть расположены у передних бортов (краев) и установлены так, чтобы устранялась возможность случайного открытия крана.

Расчетная температура и кратность обмена воздуха в помещениях КДЛ должна приниматься согласно строительным нормам и правилам, утвержденным в установленном порядке

Помещения лаборатории должны освещаться непосредственно прямым естественным светом. Отношение площади окон к площади пола должно быть 1:4 или 1:5.

Электрическая часть осветительных установок должна удовлетворять требованиям действующих Правил устройства электроустановок (ПУЭ).

Наименьшая освещенность КДЛ принимается согласно «Строительным нормам и правилам», утвержденным в установленном порядке.

Аппараты, приборы и оборудование

При эксплуатации приборов и аппаратов необходимо строго руководствоваться правилами (инструкциями), изложенными в техническом паспорте, прилагаемом к приборам и оборудованию заводом-изготовителем.

Металлические корпуса всех электроприборов и электрооборудования (автоклавы, центрифуги, муфельные печи, сушильные шкафы и т.д.) должны быть обязательно заземлены.

Регулярно должна проверяться исправность электроприборов и электрооборудования. Работа на неисправных электроприборах и электрооборудовании запрещается.

При эксплуатации центрифуг необходимо соблюдать следующие требования:

а) при загрузке центрифуги стаканами или пробирками соблюдать правила строгого попарного уравнивания;

б) перед включением центрифуги в электрическую сеть необходимо проверить, хорошо ли привинчена крышка к корпусу;

в) включать центрифугу в электрическую сеть следует плавно при помощи реостата, после отключения надо дать возможность ротору остановиться, тормозить ротор рукой запрещается;

При эксплуатации термостата необходимо соблюдать следующие требования:

а) запрещается в термостат ставить легковоспламеняющиеся вещества

б) предохранительные колпаки от регулирующих устройств нельзя снимать без электромонтера;

в) чистку термостата производить только после отключения его от сети.

При эксплуатации рефрижераторов (холодильников) нельзя допускать перестановку и перемещение их без участия специалиста.

Электроплиты, муфельные печи и другие нагревательные приборы должны устанавливаться на асбестовом или другом теплоизолирующем материале. Не следует допускать попадание на них кислот, щелочей, растворов солей и т. д.

При прекращении подачи электрического тока необходимо выключать все электроприборы.

Лабораторные столы для микроскопических или каких-либо других точных исследований должны располагаться у окон.

Для предотвращения переутомления и порчи зрения при микроскопировании и пользовании другими оптическими приборами необходимо обеспечить правильное освещение поля зрения, предусмотренное для данного микроскопа или прибора, не закрывать неработающий глаз, работать попеременно то одним, то другим глазом и делать перерывы в работе при утомлении зрения.

Верхняя доска лабораторного стола должна изготавливаться из водонепроницаемого кислото-щелочеустойчивого и негорючего материала.

Перед каждым аналитическим весами необходимо иметь светильники

Баллоны со сжатыми газами должны иметь предохранительные колпачки.

Баллоны нельзя помещать в места, освещаемые прямыми солнечными лучами, они не должны находиться вблизи нагревательных приборов, отопительных приборов и соприкасаться с электрическими проводами.

Расстояние от радиаторов и других отопительных приборов до баллонов должно быть не менее 1 м, а от печей и других источников тепла с открытым огнем - не менее 5 м. При наличии у отопительных приборов экранов, предохраняющих баллоны от местного перегрева, расстояние между экраном и баллоном должно быть не менее 100 мм. Баллоны должны быть тщательно закреплены в вертикальном положении.

Пользоваться баллонами, не имеющими надписи или окраски, установленных для данного газа, запрещается.

Перемещать баллоны следует на специальных носилках или специальных тележках так, чтобы не сталкивать баллоны с другими предметами.

Выпуск газа из баллона должен производиться через редуктор, предназначенный исключительно для данного газа. Вентиль открывать медленно. Нельзя находиться перед редуктором по направлению оси штуцера вентиля во время открывания вентиля баллона. При опорожнении баллона в нем должно оставаться избыточное давление не менее 0,5 кг/см².

В коридоре на видном, хорошо доступном месте, должны быть щит с набором противопожарного инвентаря, установка пожарного гидранта и огнетушитель.

В помещениях, где производится работа с нагревательными приборами и огнеопасными и взрывоопасными реактивами, должны находиться огнетушитель, ящик с сухим песком, асбестовое или суконное одеяло, или кошма, совок или лопата.

При возникновении пожара персонал должен самостоятельно принимать необходимые меры для его ликвидации, одновременно оповещая о пожаре администрацию учреждения.

Работающие в лаборатории обязаны перед началом работы надеть установленную действующими нормами спецодежду и иметь индивидуальные средства защиты, предусмотренные инструкцией.

Для работников лаборатории должны быть индивидуальные шкафы для спецодежды персонала.

Хранение, учет и применение ядовитых, взрывоопасных средств и работа с инфицированным материалом

Ядовитые средства должны храниться в отдельной комнате в металлических шкафах или сейфах под замком и пломбой. Комната должна быть оборудована водопроводом, канализацией, вентиляцией и вытяжным шкафом. На окнах комнаты, где хранятся ядовитые средства, оборудуются железные решетки, двери должны быть обиты железом. В лабораториях с небольшим объемом работы допускается нахождение металлического шкафа или сейфа с ядовитыми средствами и вытяжного шкафа в материальной комнате.

В аудиториях где производятся занятия с учащимися хранение ядовитых средств после окончания учебных занятий не разрешается.

После окончания работы особо ядовитые средства должны помещаться в металлические шкафы, где они хранятся.

Ключи от комнаты и шкафов, где хранятся ядовитые средства, а также печать или пломбир должны находиться у лица, ответственного за хранение ядовитых средств.

В лаборатории ответственным за хранение и расходование ядовитых средств и документов на них является заведующий лабораторией.

При поступлении ядовитых средств лицо, ответственное за их хранение, обязано лично проверить соответствие полученных средств сопроводительным документам.

Доступ в комнату, где хранятся запасы ядовитых веществ, разрешается лицам, непосредственно работающим с ними, что оформляется приказом по учреждению.

Ядовитые средства подлежат предметно-количественному учету в отдельных книгах, пронумерованных и прошнурованных и скрепленных печатью и подписью руководителя.

Учет ядовитых веществ должен вестись по форме:

- 1) приход (дата, откуда получено и номер документа, количество);
- 2) расход (дата, кому выдано, на что израсходовано количество);
- 3) остаток.

По аналогичной форме ведется журнал учета взрывоопасных огнеопасных веществ и растворов.

Отпуск ядовитых средств для текущей работы должен производиться только по письменному разрешению руководителя и по требованию, подписанному заведующим с указанием в нем фамилии лица, получающего это средство. При этом на каждую упаковку должны наклеиваться этикетки.

При распаковке инфекционного материала, присланного в лабораторию для исследования, банки и пробирки, содержащие материалы, обтирают дезинфицирующим раствором и ставят на металлические подносы, кюветы или в штативы.

При проведении бактериологических исследований с инфекционным материалом должны соблюдаться следующие правила:

а) перед работой тщательно проверяют целостность стеклянной посуды, проходимость игл и поршней у шприцев;

б) запрещается прикасаться руками к исследуемому материалу и к конденсату воды в засеянных чашках. Работу с инфекционным материалом следует проводить с помощью инструментов (пинцетов, игл, петлей, корнцангов и т. д.);

в) посев в пробирки и чашки Петри проводить около горячей горелки с обжиганием петли, шпателя и краев пробирки;

- г) переливание инфекционных жидкостей из сосуда в сосуд через край не допускается;
- д) при посеве инфекционного материала на пробирках, чашках, колбах, флаконах и прочей посуде делают надписи с указанием названия материала, номера анализа и даты посева;
- е) в комнате, предназначенной для обработки и посева инфекционного материала, запрещается проводить другие виды работ;
- ж) в процессе работы и после окончания работы используемые предметные стекла, пипетки, шпатели погружают на одни сутки в банки с дезинфицирующим раствором, затем моют и кипятят;
- з) посуду с использованными питательными средами, калом и мочой и др. материалами, взятыми от инфекционных больных, собирают в баки и обеззараживают автоклавированием, обрабатывают дезинфицирующим раствором или кипячением;
- и) запрещается оставлять на столах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с инфекционным материалом;
- к) поверхность рабочих столов обрабатывают дезинфицирующим раствором, руки обмывают дезинфицирующим раствором, а затем моют в теплой воде с мылом, как после окончания работы, так и при перерыве в работе, при выходе из помещения;
- л) при уборке помещения в конце рабочего дня полы моют с применением дезинфицирующего раствора, стены, двери, полки, подоконники, окна, шкафы и т. д. протирают дезинфицирующим раствором;
- м) дезинфекционные работы персонал должен проводить в резиновых перчатках.

Утилизаторы медицинских отходов

В лаборатории должны быть специальные ёмкость-контейнеры пластиковые, которые применяются для сбора опасных и чрезвычайно опасных отходов, в течение одной рабочей смены.

Утилизация отходов должна проводиться регулярно в соответствии со специальными требованиями по утилизации отходов (рис.5,6).

Для медицинского мусора существует классификация отработанных материалов. СанПИН устанавливает следующие классы:

Класс А – медицинские отходы, не имевшие контакта с инфекционными больными, приближенные по своему составу к ТБО. К ним относятся:

- упаковка от препаратов;
- пищевые отходы;
- предметы канцелярии.

Отработанные материалы группы А утилизируются на обыкновенных полигонах.

Класс Б – медицинские отходы, которые контактировали непосредственно с пациентами. К этому виду относятся:

- предметы, которые запачканы кровью или биологическими жидкостями больного;
- патологоанатомические отходы;
- остатки после операции (органы, ткани, кости);
- мусор из пищевого блока инфекционного отделения;
- медотходы из лабораторий, фармацевтических производств.



Рисунок 5 – Контейнеры для упаковки отходов



Рисунок 6 – Цвет контейнеров для упаковки отходов

Отработанные материалы собираются в плотную желтую полиэтиленовую упаковку, хранятся в контейнерах.

После сбора и упаковки мусора группы Б, проверяющий человек заполняет сопроводительный бланк, в котором указывается Ф. И. О. упаковщика, характер отходов, место сбора и дату.

Во время утилизации медицинских отходов класса б большинство микробов уничтожается. После этого материал поступает на пункт утилизации мусора.

Класс В – медицинские отходы, имеющие высокую эпидемиологическую опасность.

К ним относятся:

- отработанные материалы, имевшие контакт с инфекционными пациентами, которые способны привести к чрезвычайным происшествиям;
- остатки лабораторий, фармацевтических производств, имеющих лицензию на работу с микроорганизмами первой и второй групп патогенности;
- мусор, загрязненный мокротой пациентов;
- материалы лабораторий, производящие работу с возбудителями туберкулеза.

Сбор и утилизация производится в мягкие не прокальваемые упаковки красного цвета или бирки с таким же цветом. Упаковки закрепляются на специализированных стойках. Хранятся и транспортируются отходы только в герметично закрытых емкостях, на которые помещается бирка «Класс В». А также помещается адрес учреждения, из которого производится транспортировка мусора.

Дополнительные классы

Класс Г – медицинские отходы, содержащие токсичные вещества, они входят с 1 по 4 класс опасности. К ним относятся:

- дезинфицирующие вещества;
- препараты, приборы, в которых содержится ртуть или другие опасные вещества;
- отходы сырья фармацевтических предприятий;
- мусор от эксплуатации приборов, оборудования, освещения.

Сбор мусора производится в герметичные контейнеры, на которые помещается бирка «Класс Г».

После этого отходы транспортируются на специализированные предприятия, где мусор обеззараживается и направляется на переработку или на уничтожение.

Класс Д – медицинские отходы, в которых зафиксировано превышение нормы радионуклидов. К этому классу относят приборы и агрегаты, имеющие ионизирующее излучение. Для сбора транспортировки и уничтожения мусора класса Д допускаются предприятия, имеющие сертификат на эту деятельность.

Требования к организациям по утилизации

Действующий СанПИН устанавливает следующие требования к организации обращения с медицинскими отходами:

- руководитель предприятия утверждает правила, в которых прописаны ответственные лица и процедура обращения с отходами;
- смешивание отходов разных классов недопустимо;
- процессы перевозки мусора от места накопления к месту временного хранения обязаны быть механизированы;
- транспортировка, хранение и вывоз должен осуществляться согласно инструкции, действующей на предприятии;
- транспортировка мусора с территории производится спецтранспортом к месту обезвреживания;
- на рабочем месте обязана находиться аптечка первой медицинской помощи.

Регламент сбора

Требования к сбору медицинского мусора:

- к сбору допускаются совершеннолетние лица;
- к утилизации остатков оборудования группы Б и последующих привлекаются лица старше двадцати одного года;
- работник обязан предоставить сертификат прививок;
- при приеме на должность необходимо провести инструктаж по правилам обращения с отходами. После года работы инструктаж проводится единожды в год;

-рабочий персонал приступает к работе только в спецодежде и сменной обуви. В спецодежде запрещается выходить за пределы рабочего пространства. Личную и спецодежду работники обязаны хранить в разных шкафах;

-работодатель обязан обеспечить работника спецодеждой и средствами индивидуальной защиты. Стирка производится централизованно. Запрещено стирать рабочую одежду на дому;

-запрещается утилизировать медицинские отходы без спецодежды.

При сборе остатков медицинского оборудования запрещается:

-вручную вскрывать пакеты с мусором классов Б, В;

-пресовать пакеты категории Б, В;

-осуществлять работу без санитарной одежды.

Сжигание – медицинские отходы сжигаются в муфельных печах. Термическое уничтожение отходов с дополнительным сжиганием газообразных продуктов необходимо для предотвращения образования диоксида.

Диоксины – это экотоксины, обладающие большим мутагенным канцерогенным иммунодепрессантным действием.

Для сжигания используется следующий алгоритм: после термической обработки остается твердый остаток, не несущий в себе вред окружающей среде.

Остатки мусора загружаются в печь, где происходит обезвреживание при температуре от 800 до 1000 °С. После полного остывания пепел необходимо утилизировать как обычный бытовой хлам.

Стерилизация – для уничтожения мусора применяется стерилизующее устройство (автоклав).

Переработка методом стерилизации проходит под воздействием водяного пара и высокой температуры воды (от 100°C).

Этот метод подходит для обработки материалов, таких как медицинские инструменты, материалы для перевязок. Недостатком этого способа является выделение вредных веществ в окружающую среду. Способ является не очень эффективным, так как некоторые микроорганизмы способны выдержать температуру 100°C.

Химическая дезинфекция имеет следующие недостатки:

-велик риск проявления аллергических реакций у медработников, обрабатывающих данным способом;

-нет стопроцентной гарантии, что при этом способе уничтожаются все микроорганизмы в утилизируемой среде;

-при захоронении отработанных материалов присутствует риск заражения окружающей среды соединениями хлора;

-высокая себестоимость дезинфекции.

Воздействие микроволн

Перед воздействием волн отходы сначала дробят, затем перемешивают с водой. Утилизация этим методом приводит к образованию пара и выделению тепла, способствует равномерному нагреву медицинского мусора. После осуществления этого метода медицинский мусор следует вывозить на полигон бытовых отходов.

Методика временного хранения

Требования к условиям временного хранения отходов:

-сбор отходов осуществляется в течение одной смены;

-для остатков группы А обязана быть сконструирована специальная площадка;

-упаковка для сбора остатков хлама (категория Б, В) обязана выдерживать вес до десяти килограмм;

-сбор и временное хранение отходов (класс Б, В) осуществляются в отдельных помещениях, недоступных для посторонних людей;

-хранение мусора на время более двадцати четырех часов осуществляется в холодильных установках.

Холодильная установка для медицинских отходов

Особенности транспортировки

Требования к транспортировке медицинского мусора:

- для перевозки отходов категории А рекомендовано использование транспорта, который подходит для транспортировки ТБО;
- контейнеры, предназначенные для перевозки отходов группы А необходимо дезинфицировать не реже одного раза в неделю. Для категории Б после каждой транспортировки;
- организация, специализирующаяся на перевозке мусора обязана иметь территорию для промывки контейнеров;
- для перевозки остатков категории Б используются транспортные спецсредства. Применение этого транспорта для других целей запрещено;
- транспортировка мусора категории Д обязана производиться согласно требованиям законодательства;
- персонал, допущенный к транспортировке, должен регулярно проходить профосмотры.

Лабораторная работа №2

Охрана труда и пожарная безопасность в учреждениях здравоохранения. санитарнопротивоэпидемический режим. Порядок организации и проведения лабораторных исследованийА

Классификация основных форм деятельности человека

Объектом деятельности является материал, который должен получить новую форму, новые свойства и превратиться в продукт деятельности.

Но не всякий труд непосредственно связан с созданием материальных ценностей. Врачи-биохимики, проводя исследования биообъектов на приборах, косвенно участвуют в сфере производства.

Принято условно делить труд на физический и умственный. В зависимости от основных характеристик и физиологических требований, предъявляемых к организму, различают следующие формы труда (рис. 1).

Физическим трудом (работой) называют вид производственной деятельности, связанной с существенными энергетическими затратами, обеспечивающими усилия опорно-двигательного аппарата и систем, необходимых для его функционирования. При этом высшие психические функции (внимание, память, эмоциональная и интеллектуальная сферы) не испытывают значительного напряжения.

Физическая работа может быть статическая и динамическая. Динамическая работа заключается в перемещении грузов. Она рассчитывается по формуле:

$$A_d = (m_{hm} + m_{ho} / 2 + mL / 9) 6g$$

Статическая работа – это поддержание человеком усилий без перемещения тела и конечностей в пространстве. Она определяется по формуле:

$$A_c = m * t$$

где A_c – статическая работа, Дж;
 m – масса груза, кг;
 t – длительность удержания груза, с.

Статическая работа более утомительна, чем динамическая, т. к. напряжение мышц длится непрерывно.

Все работы согласно Санитарным правилам и нормам 2.2.4.548 в зависимости от энергозатрат организма делятся на категории, приведенные в таблице 3.

Тяжесть труда отражает нагрузку на опорно-двигательный аппарат, а напряженность труда на центральную нервную систему, анализаторы.

Умственный труд - это труд, при котором человек занят управлением производственным процессом и творческой деятельностью. В его основе лежат восприятие, переработка информации и принятие решений.

Восприятие информации осуществляется анализаторами, при этом включаются такие высшие психические функции, как внимание, память, интеллектуальная деятельность.

На рисунке 2 приведены формы умственного (интеллектуального) труда, приводящего к эмоциональным и интеллектуальным перегрузкам анализаторов человека.

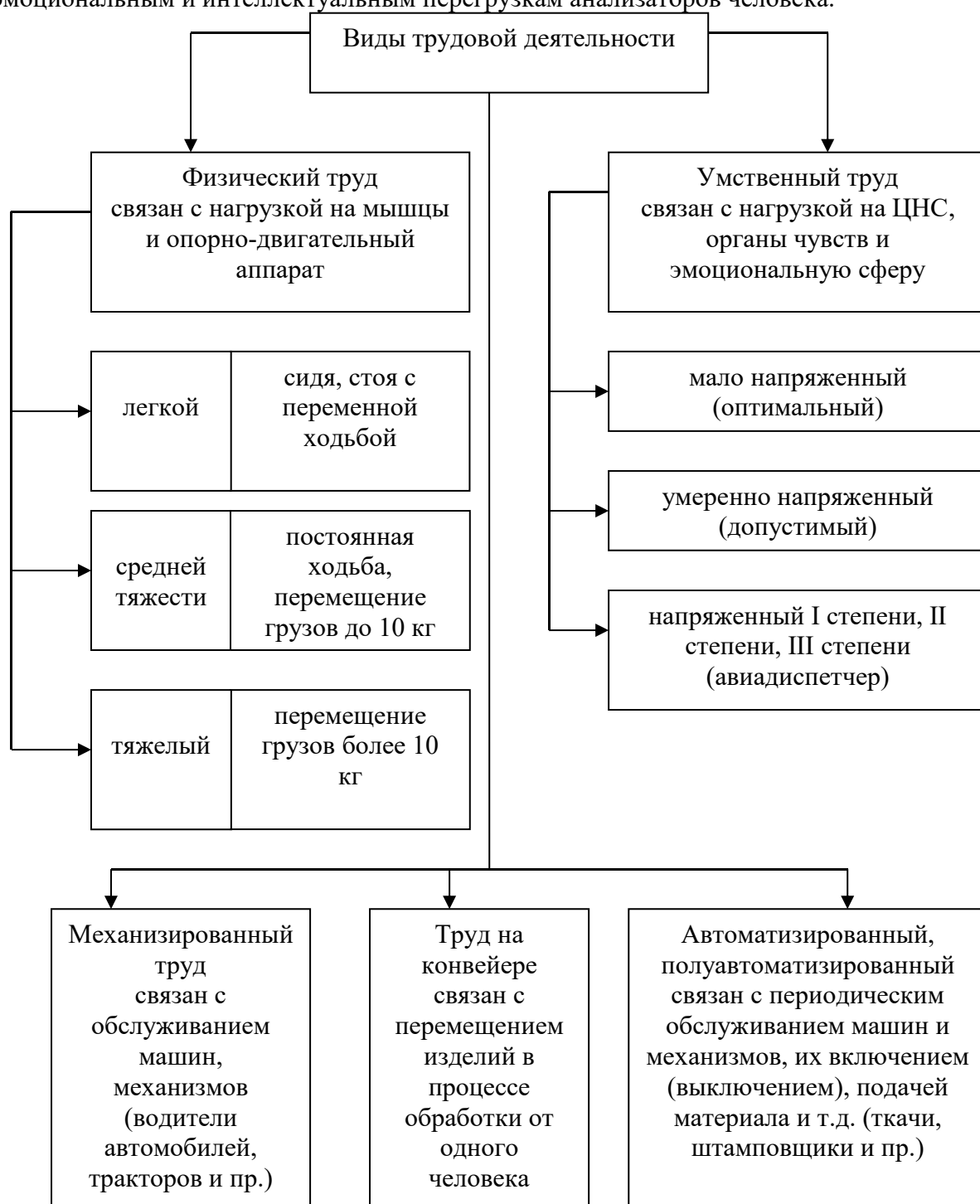


Рисунок 1 – Виды трудовой деятельности

В основу классификации работ по тяжести и напряженности положены степени утомления по виду кривой работоспособности.

Таблица 3 – Оценка тяжести работ

Характер работы, категория (Сан ПиН)		Потребление кислорода, л/мин	Энергозатраты, ккал/ч
Легкая	I ^a	до 0,5	до 120

	I ^б		от 121 до 150
Средней тяжести	II ^а	от 0,5 до 1,0	от 151 до 200
	II ^б		от 200 до 250
Тяжелая	III	1,0 и выше	более 250

Работоспособность – это потенциальная возможность человека выполнять на протяжении заданного времени и с достаточной эффективностью работу определенного объема и качества. На рисунке 3 приведены фазы работоспособности.

Утомление – это снижение работоспособности, возникающее в результате выполнения труда большой тяжести, напряженности или продолжительности и выражающееся количественном и качественном ухудшении его результатов.



Рисунок 2 – Формы интеллектуального труда

При тяжелых работах нарушается координационная функция центральной нервной системы и наступает переутомление, падает производительность труда, растет брак в работе.

К биологическим критериям тяжести и напряжённости труда кроме утомления относят заболеваемость работающих.

Факторы производственной среды и трудового процесса легли в основу гигиенической классификации труда, которая отражает опасность их воздействия на работоспособность и здоровье людей.

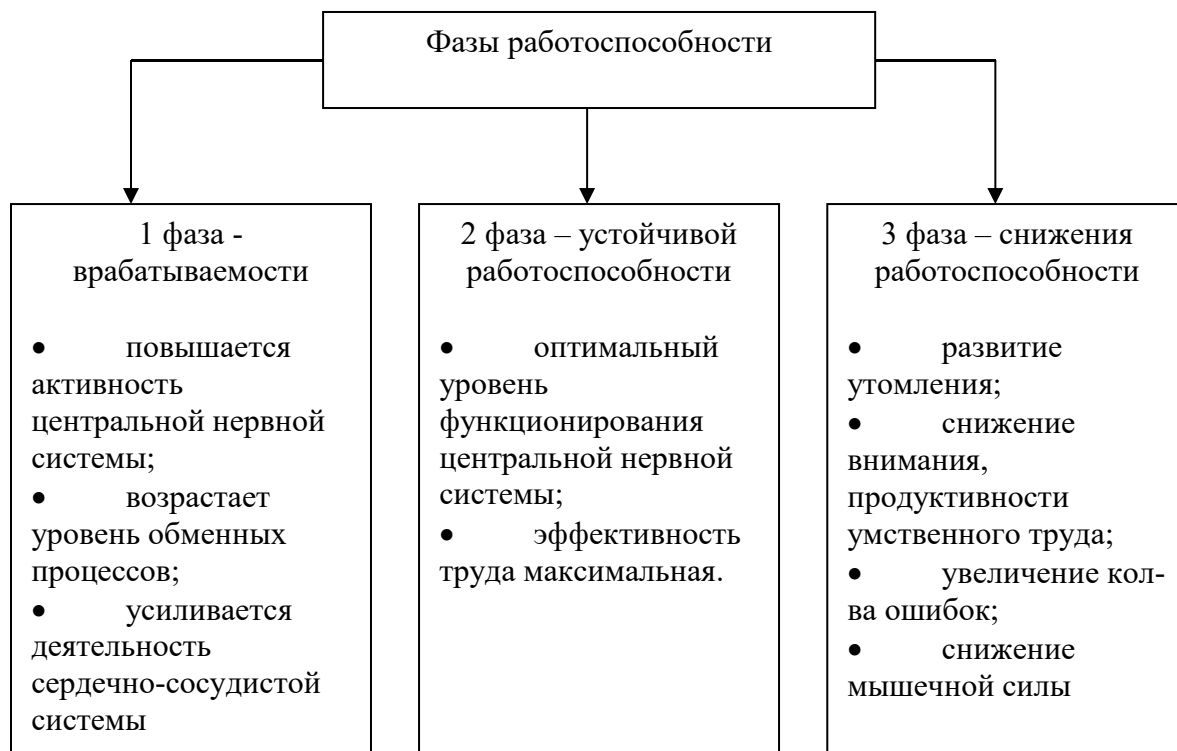


Рисунок 3 – Фазы работоспособности

Режимы труда и отдыха

Важнейшим условием поддержания высокой работоспособности является установление рационального режима труда и отдыха, под которым понимают чередование периодов работы и отдыха.

Введение в определённые периоды смены физиологически обоснованных перерывов играет большую роль в профилактике утомления. Время установления таких перерывов и их продолжительность должны быть связаны с характером работы: чем тяжелее и напряжённее работа, тем длительнее перерывы.

Работоспособность человека изменяется в течение суток. Максимальный её уровень наблюдается с 9 до 20 часов, минимальный с 2 до 4 часов утра. Причём в середине дня наблюдается некоторый спад работоспособности. В это время целесообразен обеденный перерыв продолжительностью около 1 часа.

Трудовой кодекс Российской Федерации (ТК РФ) регулирует трудовые отношения, устанавливает продолжительность рабочего времени и времени отдыха.

Рабочее время - это время, в течение которого работник в соответствии с правилами внутреннего трудового распорядка организации и условиями трудового договора должен исполнять трудовые обязанности.

Время отдыха время, в течение которого работник свободен от выполнения трудовых обязанностей и которое он может использовать по своему усмотрению.

Нормальная продолжительность рабочего времени не может превышать 40 часов в неделю.

Сокращённая продолжительность рабочего времени применяется для отдельных категорий граждан:

для лиц моложе 18 лет;

для лиц, работающих во вредных и опасных условиях;

для инвалидов.

Неполное рабочее время устанавливается по соглашению с работником, при этом оплата производится пропорционально отработанному времени или объёму работ. Продолжительность ежедневной работы зависит от возрастных категорий, условий труда и медицинских показаний.

Рациональная организация рабочего места

Под рабочим местом понимается зона, оснащенная необходимыми техническими средствами, в которой совершается трудовая деятельность исполнителя (группы исполнителей).

Организацией рабочего места называется система мероприятий по оснащению рабочего места средствами и предметами труда и их размещению в определенном порядке. Классификация рабочих мест приведена на рисунке 4.

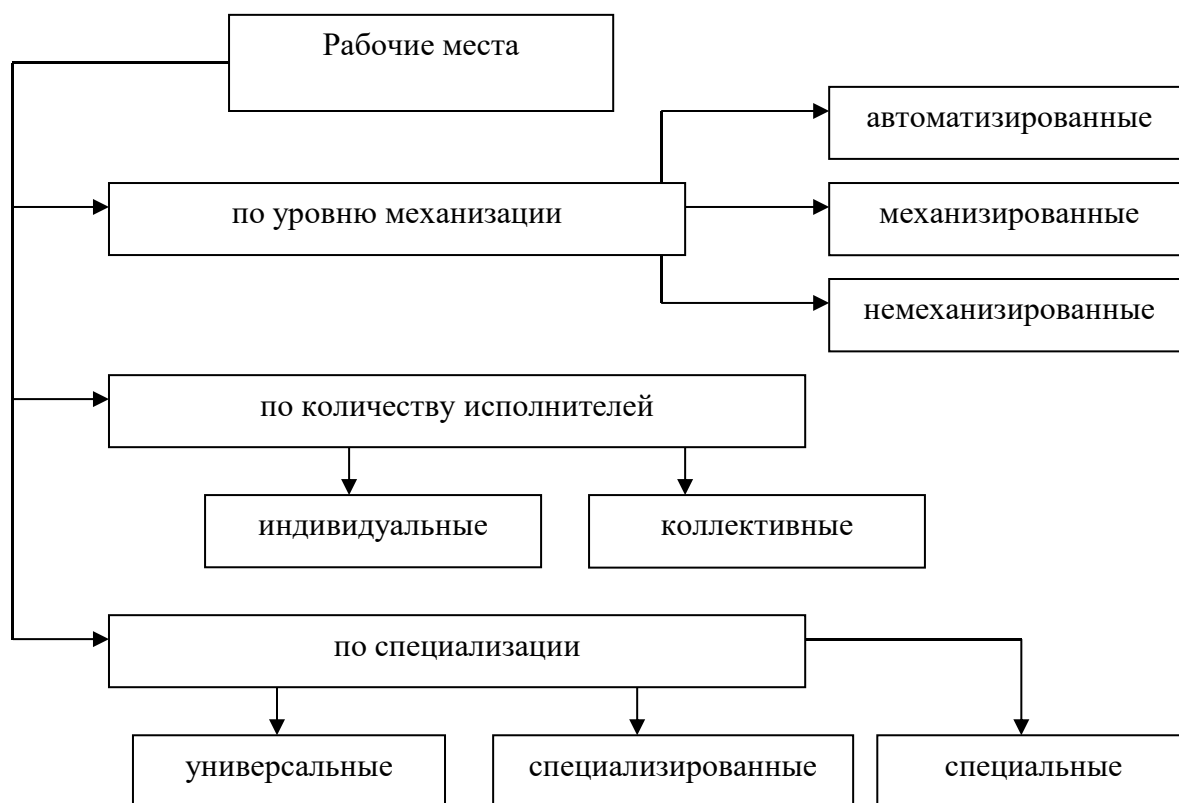


Рисунок 4 – Классификация рабочих мест

Рабочее место должно быть приспособлено для конкретного вида труда и для работников определенной квалификации с учетом физических, психических возможностей и особенностей.

При проектировании рабочего места исходят из конкретного анализа трудового процесса человека на данном оборудовании и учитывают антропометрические данные, физиологические и психические характеристики трудового процесса, санитарно-гигиенические условия работы.

Пространственная организация рабочего места включает в свой состав выбор рационального расположения рабочих зон, рабочих поверхностей, физиологически рациональной рабочей позы. Рациональной называют позу свободную, ненапряженную, которая поддерживается за счет минимума активного напряжения мышц (при вертикальном или слегка наклонном положении корпуса в положении сидя, стоя).

При конструировании рабочих мест должны быть соблюдены следующие условия:

- достаточное рабочее пространство для работающего человека;
- достаточные физические, зрительные и слуховые связи между оборудованием и человеком;
- оптимальное размещение рабочих мест в помещении; безопасные проходы;
- необходимое освещение;
- допустимый уровень шума и вибрации;
- наличие средств защиты работающих.

Конструкция рабочего места должна обеспечивать быстроту, безопасность, простоту и экономичность технического обслуживания в нормальных и аварийных условиях; отвечать

функциональным требованиям и предполагаемым условиям эксплуатации. Необходимо принимать во внимание:

- рабочую позу («сидя», «лежа», «стоя», «сидя-стоя» и др.);
- конфигурацию и способ размещения панелей индикаторов и органов управления;
- потребность в обзоре;
- необходимость использования рабочей поверхности для письма, хранения материалов, инструкций и прочие;
- пространство для ног и стол при работе сидя.

При конструировании необходимо обеспечивать зоны оптимальной и легкой досягаемости моторного поля рабочего места. Моторное поле - это пространство рабочего места с размещенными органами управления и др. техническими средствами, в котором осуществляются двигательные действия человека при выполнении рабочего задания. Различают зоны досягаемости, оптимальной и легкой досягаемости.

Зона досягаемости - это часть моторного поля рабочего места, ограниченная дугами, описываемыми максимально вытянутыми руками при движении их в плечевом суставе.

Зона легкой досягаемости - это часть моторного поля рабочего места, ограниченная дугами, описываемыми расслабленными руками при движении их в плечевом суставе.

Оптимальная зона досягаемости - это часть моторного поля рабочего места, ограниченная дугами, описываемыми предплечьями при движении в локтевых суставах с опорой.

При конструировании рабочего места необходимо обеспечить оптимальную зону информационного поля рабочего места. Под информационным полем понимают пространство рабочего места с размещенными средствами отображения информации и другими источниками сведений, используемых человеком в процессе трудовой деятельности. Важным критерием является угол обзора. По отношению к горизонтали он должен составлять 30 - 40 градусов, а в вертикальной плоскости 0 - 30 градусов (15 градусов вверх и 15 вниз от нормальной линии взора).

Рабочее место - это зона, оснащенная необходимыми техническими средствами, в которой совершается трудовая деятельность исполнителя.

Любые рабочие места независимо их специализации должны быть приспособлены для конкретного вида труда с учетом психофизиологических и антропометрических данных работника. Это положение является основным постулатом эргономики - науки, которая занимается конструированием рабочего места, его оборудования с учетом возможностей человека. Эргономический принцип - «не человек для машины, а машина для человека». С этих позиций планируется расположение моторного поля рабочего места - поля, на котором работающий выполняет соответствующие операции, например, печатание на машинке и т.п.

Операции, которые выполняются часто, должны располагаться в зоне легкой досягаемости (это зона, описываемая предплечьем при его движении в локтевом суставе); редко выполняемые операции могут располагаться за пределами оптимальной зоны или зоны легкой досягаемости т.е. в пределах зоны досягаемости. Если в работе обработка сенсорной информации является важным элементом, то учитывается расположение информационного поля рабочего места.

При организации рабочего места необходимо учитывать характер рабочей позы. Различают позы «сидя», «стоя», «промежуточные позы».

Поза «стоя» используется в случае, если необходимо приложить больших усилий (более 10 кг) к предмету работы. Эта поза дает также возможность увеличить площадь моторной зоны (зоны досягаемости) однако она более утомительна, так как в этом случае тратится на 10% больше энергии, чем в позе «сидя». Поза «сидя» удобна, экономична. Она широко используется во всех видах трудовой деятельности, при которых требуется выполнять точные и очень точные движения, при этом не прилагая усилий больше 10 кг. При организации рабочего места обязательно учитывают соответствие антропометрических данных работающего размерам оборудования.

При выполнении работы в позе «сидя» важным является соотношение с высотой рабочей поверхности и положением плеча и предплечья, а также устройство рабочего сиденья

(стул, кресло и т. п.). В последние годы широко используют стулья, регулируемые по высоте, а также регулируемые по высоте и наклону подставки для ног, благодаря которым создаются оптимальные условия для кровотока в нижних конечностях и возврата крови к сердцу.

Нерациональная организация рабочего места, пренебрежение основными постулатами эргономики приводит к нарушению состояния здоровья, например, к искривлениям позвоночника, к развитию заболеваний сосудов нижних конечностей.

Важнейшей эргономической характеристикой взаимоотношения в системе «человек - машина» является характер и повторяемость операций, число элементов в операции. Физиологи определили оптимальные значения этих показателей. Если эти рекомендации не учитываются, то у работающего возникает утомление, растет заболеваемость. Физиологически оправдано до 180 операций в час. Если число операций достигает 180-300 в час, то это свидетельствует о повышенной повторяемости, 300-600 операций/час – это большая повторяемость, и более 600 операций в час – особо большая повторяемость. Чем больше повторяемость, тем меньше длительность операции, тем «беднее» операция по содержанию, тем быстрее наступает утомление в процессе трудовой деятельности.

Оптимальной с точки зрения физиологии труда, является операция, которая содержит 5-6 отдельных элементов. Если их будет меньше, то это тоже «обедняет» трудовой процесс, приводит к преждевременному развитию утомления вследствие монотонии.

Таким образом, среди элементов операции могут быть такие, выполнение которых представляет сложность для исполнителя. Это критические элементы или критические особенности операции, при изменении или облегчении их выполнения можно повысить выполняемость всей операции в целом. Проводимый эргономический анализ позволяет строить рабочий процесс с учетом физиологических возможностей человека, а не вопреки им.

Характеристика труда работников клиничко-биологических лабораторий

Работа любого из врачей немыслима без привлечения тех или иных лабораторий, без проведения многих качественных и количественных анализов, тончайших измерений. На санитарно-эпидемиологических станциях имеются бактериологические, химические, радиологические, физические лаборатории, оснащенные современной измерительной и другой аппаратурой. В этих лабораториях работают врачи и средние медицинские работники. В зависимости от профиля лаборатории специальности врачей-лаборантов могут быть различными: врач-бактериолог, врач-вирусолог, врач-токсиколог. Вместе с врачами во многих лабораториях санэпидстанций трудятся также биологи, физиологи, химики, физики и другие специалисты с высшим и средним образованием.

Фельдшер-лаборант – это медицинский работник со специальной подготовкой, который обычно под руководством врача-лаборанта проводит исследования в клинической, биохимической, бактериологической и других лабораториях.

Важность лабораторной диагностики очень велика. Иногда результаты анализов говорят больше, чем все остальные данные о больном.

Каждому из нас приходилось сдавать кровь на анализ. Что может узнать врач, получив ответ из лаборатории? Очень многое. Количество эритроцитов (красных кровяных телец) в 1 кубическом миллилитре крови, их вид, насыщенность гемоглобином, время оседания, количество лейкоцитов (белых кровяных телец) и соотношение их видов между собой, состояние свертывающих систем крови, группу крови и десятки других характеристик: содержание сахара, микроэлементов, холестерина и т. д. Для распознавания болезни имеют значение малейшие отклонения от нормы, сочетание различных отклонений, соответствие этих отклонений клинической картине болезни.

Диагноз целого ряда заболеваний достоверно устанавливается или отвергается на основании специальных лабораторных реакций. Большое значение для выбора лечебного препарата имеет определение чувствительности к различным лекарственным средствам.

В клинических и биохимических лабораториях больниц и поликлиник исследуют кровь, мочу, кал, желчь, желудочный сок, мокроту, спинномозговую жидкость и другие среды организма и продукты выделения. Эти исследования бывают достаточно сложными и требуют тонкости проведения, в связи с чем в современных лабораториях используют разнообразные приборы и аппараты. Лаборант должен в совершенстве владеть лабораторной техникой,

отлично знать методики исследований, иметь ясное представление о возможных причинах отклонений результатов анализов от существующих норм. Четкость и правильность работы лаборанта на всех этапах (подготовка материала, исследование, запись результатов) - одно из главных условий для выполнения лабораторией ее функций.

Подготовка лаборантов, их знакомство с теоретическими основами и практическими методами лабораторной диагностики проводится на специальном отделении медицинского училища.

Гигиеническая оценка условий труда медицинских работников, занятых в основных профессиях ЛПУ, позволила выделить основные факторы риска, способные оказать повреждающее влияние на их здоровье, в том числе, репродуктивное. Анализ данных показал, что практически во всех изученных группах, условия труда по ряду показателей являются вредными. Наиболее неблагоприятные условия труда у специалистов хирургического (хирурги, акушеры-гинекологи), физиотерапевтического профилей, специалистов, занятых в клиничко-диагностических лабораториях, стоматологических отделениях (классы условий труда 3.2-3.3). Ведущим фактором является биологический; он максимален у специалистов хирургического профиля (врачи-хирурги, акушеры-гинекологи, средний медицинский персонал хирургического профиля), специалистов клиничко-лабораторного звена, стоматологов (3.2-3.3). Весьма значимым фактором являются химические вещества, источником которых могут быть лекарственные препараты. Наибольшее превышение допустимых уровней химических веществ отмечено на рабочих местах специалистов хирургического профиля, акушеров-гинекологов, анестезиологов-реаниматологов, специалистов стоматологического профиля, клиничко-диагностических лабораторий. Необходимо учитывать возможность контакта медицинских работников практически всех изученных профессиональных групп с веществами, вызывающими аллергические реакции и способными оказать повреждающее воздействие на репродуктивную функцию. Значимыми факторами являются тяжесть трудового процесса (рабочая поза, подъем и перенос тяжести пр.), что может приводить к заболеваниям опорно-двигательного аппарата, системы кровоснабжения и к смещению и опущению внутренних органов.

Лабораторная работа №3

Санитарно-противоэпидемический режим. Мероприятия в ЛПУ Основные элементы СПЭРа. Мероприятия в ЛПУ

Медицинскому персоналу КДЛ следует избегать контакта кожи и слизистых с кровью и другими биологическими жидкостями, для чего необходимо:

1. Работать в халатах, шапочках, сменной обуви, а при угрозе забрызгивания кровью или другими биожидкостями – в масках, очках, клеенчатом фартуке.
2. Работать с исследуемым материалом в резиновых перчатках, избегать уколов и порезов, все повреждения кожи должны быть закрыты лейкопластырем или напальчниками.
3. Проводить разборку, мойку, прополаскивание лабораторного инструментария и посуды после предварительной дезинфекции.
4. В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биожидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 мин. тампоном, смоченным 70 % спиртом, вымыть с мылом под проточной водой и вытереть индивидуальным полотенцем.
5. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина или 6% раствором перекиси водорода.
6. При попадании крови на слизистые оболочки, их немедленно промывают водой, 1% раствором борной кислоты, слизистую носа обрабатывают 1 % раствором протаргола, рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором борной кислоты или 0,06% раствором марганцевокислого калия.
7. Запрещается пипетирование крови ртом. Следует использовать автоматические пипетки, а при их отсутствии – резиновые груши.
8. Запрещается принимать пищу, пить, курить и пользоваться косметикой на рабочем месте.

9. Поверхность рабочих столов в конце каждого рабочего дня, а в случае загрязнения биологическим материалом, немедленно подвергаются дезинфекции.

Мероприятия при ранениях, контактах с кровью, другими биологическими материалами пациентов

Любое повреждение кожи, слизистых, загрязнение их биологическими материалами пациентов должно квалифицироваться как возможный контакт с материалом, содержащим ВИЧ или другой агент инфекционного заболевания.

Если контакт с кровью или другими жидкостями произошел с *нарушением целостности кожных покровов (укол, порез)*, пострадавший должен:

- снять перчатки рабочей поверхностью внутрь;
- выдавить кровь из раны;
- поврежденное место обработать одним из дезинфектантов (70% спирт, 5% настойка йода при порезах, 3% раствор перекиси водорода при уколах и др.);
- руки вымыть под проточной водой с мылом, а затем протереть спиртом 70%;
- на рану наложить пластырь, надеть напальчники;
- при необходимости продолжить работу, надеть новые перчатки.

В случае загрязнения кровью или другой биологической жидкостью *без повреждения кожи*:

- обработать кожу одним из дезинфектантов (70% спиртом, 3% перекисью водорода, 3% раствором хлорамина и др.);
- обработанное место вымыть водой с мылом и повторно обработать спиртом.

При попадании биоматериала на слизистые оболочки:

- полость рта прополоскать 70% спиртом;
- в полость носа закапать 20-30% раствором альбумида;
- глаза промыть водой, закапать 20-30% раствор альбумида.

При попадании биоматериала на халат, одежду, обувь:

- обеззараживаются перчатки перед снятием одежды;
- при незначительных загрязнениях биологической жидкостью одежда снимается и помещается в пластиковый пакет и направляется в прачечную без предварительной обработки, дезинфекции;
- при значительном загрязнении одежда замачивается в одном из дезинфектантов (кроме 6% перекиси водорода и нейтрального гидрохлорида кальция, который разрушает ткани);
- личная одежда, загрязненная биологической жидкостью, подвергается стирке в горячей воде 70°C с моющим средством;
- кожа рук и других участков тела под местом загрязненной одежды протирается 70% спиртом, затем промывается с мылом и повторно протирается спиртом;
- загрязненная обувь двукратно протирается ветошью, смоченной в растворе одного из дезинфицирующих средств.

Аптечка для экстренной медицинской помощи

Для оказания экстренной медицинской помощи при аварийной ситуации, сопровождающейся нарушением целостности кожных покровов, попаданием биологического материала на слизистые на рабочем месте, необходимо иметь аптечку со следующим набором предметов и медикаментов:

- напальчники (или перчатки),
- лейкопластырь,
- ножницы,
- спирт этиловый 70%,
- альбумид 20-30%,
- настойка йода 5%,
- перекись водорода 3%.

Средства индивидуальной защиты

Средствами индивидуальной защиты при работе в лабораториях являются халаты, косынки или шапочки, прорезиненный или полиэтиленовый фартук, резиновые перчатки, защитные очки.

Прорезиненный или полиэтиленовый фартук, резиновые перчатки, защитные очки (должны плотно прилегать к лицу) необходимы при работе с биологическим материалом и едкими веществами.

Халат является формой одежды медицинского персонала, стирается по мере загрязнения, но не реже 2 раз в неделю. В случае загрязнения биологическим материалом обязательно предварительное замачивание в дезинфицирующем растворе в соответствии со стандартом «Дезинфекция и стерилизация в медицинской практике: основные нормы и правила» (60 мин в 0,5% растворе хлорамина).

Перчатки необходимо одевать во время каждой процедуры работы с пациентами или с биологическим материалом. При работе с пациентами и при проведении аналитических манипуляций используются одноразовые диагностическо-смотровые нестерильные перчатки. Для обработки и мойки инструментов используют технические перчатки. Использованные перчатки погружаются в дезинфицирующий раствор на 60 минут.

Маска и очки необходимы при возможности разбрызгивания биологического материала. Маска должна меняться через каждые 4 часа работы. Очки после каждого использования протирают дезинфицирующим раствором, промывают проточной водой, высушивают.

Правила обеззараживания использованного биологического материала

Биологический материал от пациентов подлежит обеззараживанию.

Обеззараживание мокроты, оформленных фекалий, смешанных с мочой или водой в соотношении 1:5, жидких фекалий, рвотных масс, остатков пищи. Наиболее часто используют следующие средства:

- Хлормикс, Хлордез
- Двухосновная соль гипохлорита кальция (ДТС ГК): Время обеззараживания – 60 мин, нормы расхода – 200 г/л, засыпать и размешать
- Двухосновная соль гипохлорита кальция (ДСГК): Время обеззараживания – 60 мин, нормы расхода – 200 г/л, засыпать и размешать
- Гипохлорид кальция технический (ГКТ): Время обеззараживания – 120 мин, нормы расхода – 200 г/л марки А, 250 г/л марки В, засыпать и размешать
- Нейтральный гипохлорид кальция (НГК): Время обеззараживания – 120 мин, нормы расхода – 150 г/л. Время обеззараживания – 30 мин, нормы расхода 200 г/л, засыпать и размешать

Обеззараживание мочи, жидкости после ополаскивания зева:

- Автоклавирование при 1,5 атм в течение 60 минут
- Гипохлорид кальция технический (ГКТ): Время обеззараживания – 15 мин, нормы расхода – 10 г/л, засыпать и размешать
- Нейтральный гипохлорид кальция (НГК): Время обеззараживания – 15 мин, нормы расхода – 5 г/л, засыпать и размешать

При использовании других дезинфицирующих средств не указанных в данном списке, обеззараживание проводить согласно инструкции фирмы-производителя.

Обеззараживание отработанной крови и ее компонентов

Осуществляется в соответствии со «Стандартами дезинфекции и стерилизации при работе с кровью». Используют следующие средства: хлормикс, хлордез, люмакс, ультрадез и др. Их выпускают в виде порошка или гранул, которым засыпают использованный биологический материал, который через определенный промежуток времени (обычно 60 минут) утилизируют.

Обеззараживание культур микроорганизмов

Отработанные чашки Петри и пробирки с посевами патогенных культур, матрацы с зараженными перевиваемыми тканевыми культурами собирают в посуду с крышками и автоклавируют при 1200, 1,5 атм. в течение 60 минут или кипятят в мыльной воде или 2% содовом растворе в течение 30 минут с момента закипания. В виде исключения допускается обеззараживание погружением в дезинфицирующие растворы на 10- 12 часов (5% лизол или 3% хлорамин). В последнем случае посуда после обеззараживания тщательно промывается.

Способы и средства дезинфекции и стерилизации изделий медицинского назначения в КДЛ

Дезинфекция изделий медицинского назначения производится с целью профилактики внутрибольничных инфекций у пациентов и персонала учреждений здравоохранения. Дезинфекцию изделий проводят с целью уничтожения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов: вирусов (в том числе возбудителей парентеральных вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции), вегетативных бактерий (включая микобактерии туберкулеза), грибов. Дезинфекции подлежат все изделия после применения их у пациентов.

Дезинфекцию изделий осуществляют физическим или химическим методами. Выбор метода зависит от особенностей изделия и его назначения.

Физический метод дезинфекции наиболее надежен, экологически чист и безопасен для персонала. В тех случаях, когда позволяют условия (оборудование, номенклатура изделий и т. д.), при проведении дезинфекции изделий следует отдавать предпочтение данному методу. Дезинфекцию с использованием физического метода выполняют:

- способом кипячения в дистиллированной воде или в воде с добавлением натрия двууглекислого (сода пищевая);
- паровым методом в паровом стерилизаторе (автоклаве);
- воздушным методом в воздушном стерилизаторе (сухожаровом шкафу).

Дезинфекции способом кипячения подвергают изделия из стекла, металлов, термостойких полимерных материалов. Перед кипячением изделия очищают от органических загрязнений (кровь, слизь и др.), промывая водопроводной водой и соблюдая при этом меры безопасности при работе с биологическим жидкостями. Отсчет времени дезинфекционной выдержки начинают с момента закипания воды.

Паровым методом дезинфицируют изделия из стекла, металлов, ла- текса, термостойких полимерных материалов. Предварительная очистка изделий не требуется. Их складывают в стерилизационные коробки и помещают в паровой стерилизатор. Дезинфекция осуществляется воздействием водяного насыщенного пара под избыточным давлением.

Воздушным методом дезинфицируют изделия из стекла, металлов, силиконовой резины, не загрязненные органическими веществами (ввиду их пригорания к поверхности изделий).

Химический метод дезинфекции является более распространенным и общепринятым методом обеззараживания изделий медицинского назначения в учреждениях здравоохранения. Для дезинфекции изделия погружают в раствор сразу после применения, не допуская их подсушивания. При видимом загрязнении изделий биологическими субстратами их предварительно промывают водопроводной водой или раствором дезсредства в специально выделенной емкости с соблюдением мер безопасности.

После дезинфекции изделия промывают водопроводной водой, высушивают и применяют по назначению, а при наличии показаний подвергают стерилизации с предварительной предстерилизационной очисткой.

Предстерилизационную очистку изделий медицинского назначения осуществляют после их дезинфекции и последующего отмывания остатков дезинфицирующих средств под проточной водой. Новые инструменты, не применявшиеся для работы с пациентами, должны также пройти предстерилизационную очистку с целью удаления промышленной смазки и механических загрязнений.

Для предстерилизационной очистки используют физические и химические средства, разрешенные к применению.

Растворы, содержащие перекись водорода и моющие средства (Лотос, Лотос-автомат, Астра, Виксан-мед, Прогресс), готовят в условиях учреждений здравоохранения, применяя перекись водорода медицинскую или техническую (марки А и Б). Для снижения коррозионного действия моющих растворов с перекисью водорода и моющим средством «Лотос» и «Лотос-автомат», целесообразно периодически использовать ингибитор коррозии – 0,14% раствор олеата натрия. Инструменты с видимыми пятнами коррозии, а также с наличием оксидной пленки можно подвергать химической очистке не более 2 раз в квартал.

После проведения предстерилизационной очистки изделия высушивают в сушильных шкафах до полного исчезновения влаги.

Стерилизацию изделий медицинского назначения проводят с целью умерщвления на них всех патогенных и непатогенных микроорганизмов, в том числе их спорных форм.

Стерилизация проводится после дезинфекции и предстерилизационной очистки, является завершающим этапом обработки изделий медицинского назначения.

Стерилизацию осуществляют физическими и химическими методами. Выбор метода стерилизации зависит от особенностей стерилизуемых изделий.

Физические методы стерилизации:

Паровой метод – осуществляют в паровых стерилизаторах (автоклавах). Стерилизующим средством является водяной насыщенный пар под избыточным давлением 0,05 МПа, температурой 110–135°C. Паровым методом стерилизуют детали приборов и аппаратов из коррозионно стойких металлов, стекла, шприцы с пометкой 200°C, изделия из резины, латекса, отдельных видов пластмасс.

Воздушный метод – осуществляется в воздушных стерилизаторах, стерилизующим средством является сухой горячий воздух температурой 160°C и 180°C. Метод используется для стерилизации изделий из стекла, металла, силиконовой резины.

Химические методы стерилизации используют, когда особенности материалов, из которых изготовлены изделия, не позволяют использовать физические методы стерилизации (например, изготовлены из термолабильных материалов). Стерилизация изделий растворами химических средств является вспомогательным методом, поскольку не позволяет простерилизовать их в упаковке, а по окончании стерилизации необходимо промыть изделия стерильной жидкостью (питьевая вода, 0,9% раствор натрия хлорида), что при нарушении правил асептики может привести к вторичному обсеменению (контаминации) простерилизованных изделий микроорганизмами. Для стерилизации изделий химическими методами используют средства, разрешенные к применению для данной цели Министерством здравоохранения по режимам согласно инструктивно-методическим документам.

Для газового метода стерилизации используют смесь ОБ (смесь окиси этилена и бромистого метила в весовом соотношении 1:2,5 соответственно), окись этилена, пары раствора формальдегида в этиловом спирте.

Стерилизацию смесью ОБ и окисью этилена проводят при комнатной температуре (не менее 18°C), а парами раствора формальдегида в этиловом спирте – при температуре 80°C. Стерилизацию газовым методом осуществляют в стационарных газовых стерилизаторах, разрешенных к применению, а также в портативных аппаратах (микроанаэростаты объемом 2,0 дм³ и 2,7 дм³).

Лабораторная работа №4

Организация рабочих мест и эргономика Правил безопасной работы в лаборатории. Санитарно-противоэпидемический режим в клинко-диагностической лаборатории. Аптечка для экстренной медицинской помощи Средства индивидуальной защиты

Все измерения в медицинской биохимии (как собственно и во всех других областях) выполняются прямым либо косвенным методом.

В первом случае проводится прямое измерение заданных аналитов.

При косвенном методе измеряется одна величина и пересчитывается в другую. При этом измеряемая величина должна иметь функциональную зависимость от рассчитываемой.

Для прямых измерений используются специальные датчики (или чипы), которые реагируют только на наличие того вещества, для поиска которых они созданы. Это могут быть ионоселективные датчики, датчики глюкозы, лактата, рН, датчики газов. Прямой метод является весьма точным и дешевым способом измерения. Однако, его недостаток состоит в том, что прибор, созданный для измерения какого-либо одного аналита не сможет измерять концентрацию других веществ, что сужает применение приборов данного типа. Для измерения концентрации, скажем, 30-40 веществ (а обычно столько методик и выполняют в лабораториях), необходимо столько же приборов.

Универсальность измерений обеспечивается устройствами, использующими косвенный метод измерения. К таким относятся программируемые и автоматические фотометры. В этом

типе приборов реализован принцип фотометрирования, при котором регистрируют оптическую плотность и ее изменения.

Измерение концентрации белков, микроэлементов, ферментов, гормонов в биологических жидкостях осуществляется с использованием специальных наборов реагентов, при взаимодействии которых с соответствующими аналитами происходит измерение окраски реакционной среды, что регистрируется фотометрически.

Следует иметь в виду, что исследуемый материал должен быть в оптически прозрачной посуде, в которой производится фотометрирование (в противном случае фотометрирование будет затруднено или вообще невозможно).

Еще сравнительно недавно в лабораториях для биохимических исследований применялись в основном достаточно простые фотометры (типа ФЭК, КФК и т.п.). В последнее время таких инструментов остается все меньше, но до сих пор и они еще встречаются. Измерения сопровождаются вычислениями (иногда довольно трудоемкими). От лаборанта требуется приготовить исследуемый образец, согласно требованиям того набора реагентов, который он собирается использовать, провести биохимическую реакцию, затем произвести фотометрирование, произвести необходимые расчеты и получить результат.

Следующим шагом в развитии приборного оснащения являются программируемые фотометры (приборы типа Stat Fax). Используя эти инструменты, заранее их запрограммировав на достаточно большое количество методик можно существенно ускорить работу. Однако и эти инструменты не выпадают из цепочки: исследуемая среда → измерительный прибор → результат. От качества пробоподготовки, проведения реакции и чистоты посуды существенно зависит точность результатов.

Автоматические биохимические анализаторы позволяют существенно ускорить и упростить процесс получения конечного результата. В этом инструменте проведение реакции (разведение исследуемого образца и реагента, выдерживание времени реакции) и фотометрирование производится автоматически. Роль лаборанта сводится к правильной пробоподготовке (приготовлению исследуемого материала) и загрузкой на борт прибора исследуемых образцов и реагентов. Однако и здесь есть некоторые подводные камни. Вся работа должна в точности соответствовать заданной методике (алгоритму выполнения приготовления реакционной смеси, регистрации и расчета) и попытки что-либо изменить в методике (обычно это делается с целью экономии либо времени, либо расходных материалов) приводит к негативным последствиям, как в точности измерений, так и работе прибора в целом.

Кроме того, при использовании косвенных методов измерения, следует помнить о том, что в самом принципе косвенного метода заложена определенная погрешность.

Поэтому для каждой методики указывается ее точность и воспроизводимость, что необходимо учитывать. Кроме того, в любом инструменте содержатся узлы (а в автоматах их очень много), которые требуют технического обслуживания (очистка, регулировка, замена изношенных деталей). Если этого не делать, то по мере износа прибора точность измерения будет снижаться, а достоверность измерений может вызывать сомнения. Это возникает вследствие износа дозирующих устройств, загрязнения оптического канала, люфтов подвижных устройств.

Фотометрирование в биохимии служит для определения искомого вещества в исследуемой среде и (или) вычисления его концентрации, либо активности, используя изменение окраски реакционной смеси (либо интенсивности окраски, т.е. ее оптической плотности) (рис. 32). Как правило, фотометрирование производится на определенной длине волны, которая подбирается таким образом, чтобы поглощение света для данной реакционной смеси было максимальным.

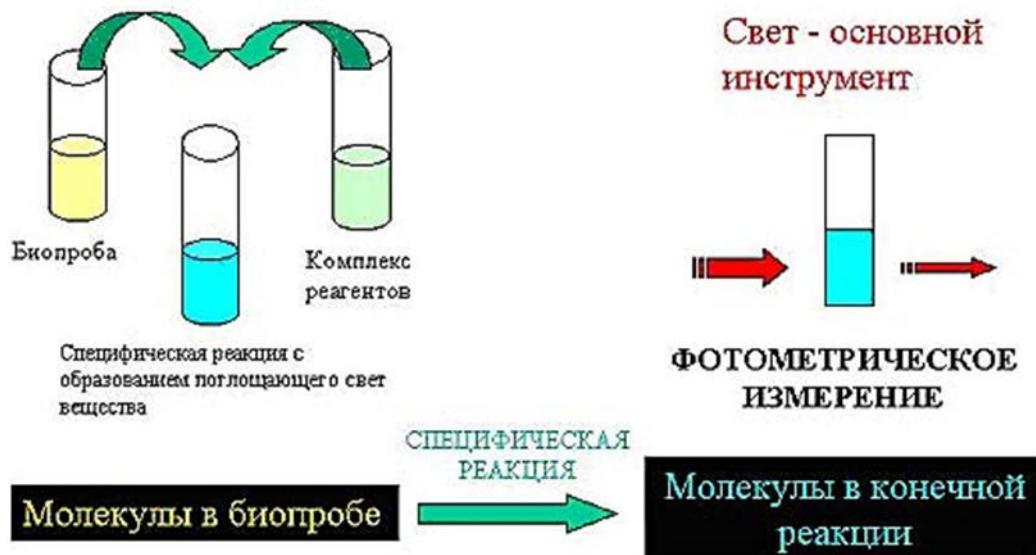


Рисунок 32 – Принципиальная схема фотометрического анализа

Лабораторная работа №5 ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ И ИХ ОСНАЩЕНИЕ. ЛАБОРАТОРНАЯ ПОСУДА

Применяемая в лаборатории посуда может быть разделена на две группы:

- по материалу – из каких материалов сделана посуда
- по назначению – для чего применяется посуда

По материалу в настоящее время промышленность предлагает широкий ассортимент различной лабораторной посуды из стекла, фарфора и пластика.

В аналитических лабораториях наиболее часто пользуют стеклянную посуду. Она бывает из обычного стекла или из специально химически и термически стойкого стекла (матовый круг или прямоугольник, маркировка ХС, ТС или ТХС). Лабораторная посуда из стекла может быть как прозрачной, так и непрозрачной, способной поглощать ультрафиолетовые лучи. Использование стеклянной посуды позволяет полностью исключить какое-либо воздействие материала на результаты работ, а так же позволяет работать с ядовитыми веществами без угрозы для здоровья.

Не менее востребована и пластиковая лабораторная посуда, которая изготавливается из различных полимерных материалов, обеспечивающих легкий вес и прочность, устойчива к щелочам, кислотам и другим агрессивным веществам. Так же имеет широкий температурный интервал в использовании, не меняя свою химическую стойкость при крайне низкой или высокой температуре.

Иногда также применяют посуду из фарфора которая, в отличие от стеклянной, обладает наибольшей термостойкостью и прочностью, вместе с тем, она тяжела и непрозрачна, что делает ее применение актуальным только для узкоспециализированных направлений. В тех случаях, когда термической устойчивости для проведения определенных работ недостаточно, используется лабораторная посуда, изготовленная из альтернативных материалов. Это может быть металлическая или кварцевая посуда.

По назначению применяемая в лаборатории посуда может быть разделена на три группы:

Посуда общего назначения - предметы, которые всегда должны быть в лаборатории и без которых нельзя провести большинство работ.

Посуда специального назначения - предметы, которые употребляются для одной какой-либо цели.

Мерная посуда – предметы, которые используются для измерения массы или объема. Вся мерная посуда подразделяется на посуду, которая для точного измерения объема не пригодна (мерные стаканы, мензурки, мерные бирки и цилиндры) и на посуду, с помощью

которой с достаточной точностью можно измерить объем раствора (мерные колбы, пипетки и бюретки).

Лабораторная посуда представляет собой емкости различного объема и формы, используемые для сбора биоматериалов и других манипуляций, связанных с проведением анализа. Лабораторная посуда может быть многоразового и одноразового использования. Многоразовая посуда чаще всего изготавливается из стекла. Основным недостатком ее является необходимость специальной подготовки к работе (очистка, мытье, сушка и т.д.).

Одноразовая посуда очень удобна в эксплуатации, так как не нуждается в мытье. Она чаще всего изготавливается из пластмассы. Использование одноразовой посуды позволяет без значительных затрат времени персонала соблюдать все правила санитарно-противоэпидемического режима и, ввиду невысокой стоимости пластиковой посуды отечественного производства, делает ее использование экономически выгодным. К тому же использование пластиковой посуды позволяет предотвратить аварии в центрифугах, связанные с раздавливанием стеклянных пробирок, что снимает необходимость проведения дополнительных мероприятий по обеззараживанию и очистке центрифуги.

В соответствии с функциональным назначением лабораторную посуду принято делить следующим образом:

1. посуда общего назначения;
2. мерная посуда;
3. посуда специального назначения.

Посуда общего назначения. Пробирки различаются по размерам и предназначению (химические, градуированные, центрифужные, с притертой пробкой и др.). Выбор пробирок для работы определяется целью манипуляции и объемом реакционной смеси. При работе с пробирками следует помнить, что необходимо заполнение их не более 2/3 от объема. В противном случае возможно проливание содержимого при перемешивании или центрифугировании. Нельзя перемешивать содержимое пробирки, закрывая ее отверстие пальцем. Перемешивание выполняется встряхиванием пробирки, либо стеклянной палочкой.

В медицинских лабораториях чаще всего используют пластиковые пробирки типа Эппендорф.

Виды пробирок

Пробиркой называют узкий и длинный сосуд цилиндрической формы с доньшком круглой, прямой или конической формы. Пробирки бывают с разным соотношением длина/ширина, различной вместимости, размера, назначения.

Пробирки можно условно разделить на:

- стеклянные и пластиковые;
- химические, биологические, градуированные (мерные), центрифужные, специализированные;
- с пробкой/крышкой, в том числе пришлифованной, или открытые;
- с круглым краем, с носиком, с ободком по краю, без ободка;
- с круглым дном, коническим, прямым, с «юбкой устойчивости».

Стеклянные пробирки изготавливают из стекла «Симакс» или пирексового, боросиликатного, реже – кварцевого. Как правило, лабораторное стекло имеет малый коэффициент линейного расширения, благодаря которому этот вид пробирки легко переносят резкие перепады температур. Иногда пробирки производятся со специально обработанной поверхностью, например, с антимикробной обработкой или со стенками, с которых легко «скатывается» вода.

Достоинство стеклянных пробирок – многоразовость, возможность любого типа стерилизации, допустимость нагрева многих из них на открытом огне.

Пластиковые пробирки, чаще всего, изготавливают из качественного полипропилена, допускающего температурную стерилизацию (до 120°C). Выпускаются и одноразовые сосуды, стерилизованные на заводе.

Лабораторный пластик обычно дешевле стекла, поэтому пластиковые пробирки часто дешевле стеклянных. Кроме того, они прочнее, их легче снабдить герметичной крышкой, но их невозможно нагревать стандартной спиртовкой или горелкой.

К специализированным пробиркам можно отнести:

- изогнутые пробирки для изучения состава твердых веществ;
- пробирки для фильтрации под вакуумом, с отводом для вакуумного насоса;
- пробирки для взвешивания — с двумя припаянными держателями в верхней части, за которые пробирку можно подвесить.

Типичные пробирки

– Химические – длинные, разной ширины и вместимости, с ободком по краю. Доннышко круглое. Чаще всего изготавливаются из стекла.

– Биологические – отличаются от химических только краем без ободка. Доннышко может быть круглым, коническим, с «юбкой устойчивости». Изготавливаются из стекла или пластика. Пластиковые пробирки могут оснащаться крышкой, герметичной, «дышащей» или такой, которая в зависимости от положения регулирует уровень доступа воздуха.

– Мерные – любой формы и размера, с любым доннышком, с пробкой/крышкой или без, стеклянные или пластиковые. Главная особенность — наличие градуировки на стенках. Мерные пробирки, как и мерные колбы или цилиндры, нежелательно нагревать, от этого может снизиться точность измерений в них.

– Центрифужные – короткие, с крышкой, чаще всего с коническим доннышком, иногда с «юбкой устойчивости». Могут изготавливаться из стекла или пластика.

– С «юбкой» устойчивости – пластиковая пробирка с круглым или коническим доннышком для центрифугирования, как правило, с закручивающейся крышкой. «Юбка» устойчивости является своего рода продолжением стенок пробирки, благодаря чему эта лабораторная посуда устойчиво стоит на горизонтальных поверхностях без вспомогательных приспособлений.

Пробирка Эппендорфа

Пробирка Эппендорфа – подвид химико-лабораторной посуды, сосуд конической формы с герметично защелкивающейся крышкой объемом 0.2, 0.5, 1.5, 2 или 5 мл (рис.7).



Рисунок 7 – Пробирки типа «Эппендорф»

Микропробирки 0.2 мл обычно применяются при проведении реакции ПЦР, и сертифицированы на отсутствие ДНКаз, РНКаз и ингибиторов ПЦР.

Особенности центрифужных пробирок Эппендорф

Пробирка Эппендорфа – это микроцентрифужная емкость конической формы, на одной стороне которой может быть нанесена градуировка. Подобные лабораторные сосуды применяются для сбережения, заморозки, перевозки образцов биологических материалов, жидкостей, заборов крови, активаторов и производных. Абсолютная герметичность закрытой пробирки Эппендорф позволяет использовать изделие в центрифугах с целью разделения жидкостей на фракции (или сепарации), а также упрощает транспортировку исследуемого материала. Боковая поверхность сосуда обычно имеет матовую область (муаровая

поверхность), позволяющее наносить нестираемые, четкие надписи, определяющие содержимое пробирки.

Микроцентрифужные пробирки производят из высококачественного полипропилена. Изделия отличаются следующими преимуществами:

- защелкивающаяся крышка обеспечивает герметичное закрытие/открытие пробирки, используя одну руку;

- практически полное отсутствие риска самопроизвольного открывания при нагревании;

- устойчивость к центрифугированию вплоть до 30 000 об/мин.

Лабораторная посуда из полипропилена отличается особыми физико-химическими свойствами. Оптимальный режим использования полипропилена характеризуется температурой 0-125°C. Позволяется стерилизации пробирок паром, химическими соединениями (этанол, формалин), этиленоксидом на протяжении 20-ти минут при температуре 121°C.

Полипропиленовые пробирки Эппендорфа характеризуются повышенной стойкостью реакции на воздействие разбавленных кислот (концентратов), альдегидов, щелочей, углеводов алифатического происхождения. Сравнительно высокий показатель химической устойчивости наблюдается к углеводам ароматического, галоидзамещенного типа, кетонам, эфирам.

Разновидности пробирок Эппендорф

Полипропиленовые пробирки-Эппендорфы изготавливаются в нескольких модификациях:

- коническая пробирка с захлопывающейся крышкой по 0,5 миллилитров;

- коническая пробирка с защелкивающейся крышкой 0,2 миллилитра

- конические пробирки Эппендорфов по 1,5 миллилитров.

Продажа: сосуды обычно отгружаются коробками в которых находятся пакеты по 200-500 пробирок/упаковку. Ускорение при центрифугировании: 17 000g. Стандартную пробирку Eppendorf производят бесцветной. Однако компании, специализирующиеся на химико-лабораторной посуде (в частности пробирках), выполняют заказы на изготовление изделий различных расцветок.

Пробирками Эппендорфа торгуют многие специализированные предприятия. Прежде чем купить определенное количество партий изделий, внимательно изучите предоставленные продавцом фотографии, описание, назначение, условия эксплуатации. Впервые выбирая, какой пробирке отдать предпочтение, фотография поможет оценить внешне объем изделия. Допускается выполнение индивидуальных заказов на разноцветную тару для идентификации образцов.

Применение микропробирок Эппендорфа

Данные пробирки очень широко распространены в медицинских, клинических, микробиологических и других лабораториях.

При выделении плазмидной ДНК методом центрифугирования в микропробирках осаждается гранула сконцентрированной нуклеиновой кислоты. Она концентрируется из раствора при скоростях порядка 14-15 000 об/мин.

Временное хранение небольших количеств образца в ходе эксперимента. В данном случае удобно наличие герметичной защелкивающейся крышки пробирки эппендорфа, которая защищает образец при падениях или попадании других веществ

Перевозка образцов в эппендорфах удобна также благодаря герметичным защелкивающимся крышкам

Сегодня данный вид пластиковой лабораторной посуды выпускает множество крупных и мелких производителей по всему миру. Цены сильно зависят от бренда, а также наличия сертификатов на отсутствие ДНКаз, РНКаз, ингибиторов ПЦР, стерильности, типа поверхности. Например, у фирмы Eppendorf есть микропробирки с покрытием LoBind благодаря которому на стенках пробирки остается минимальное количество образца. Это очень удобно при работе с небольшими количествами дорогих препаратов. Также пробирки эппендорфа производятся фирмами Corning, Deltalab, Thermo Scientific и другими.

Воронки служат для переливания и фильтрования жидкостей. Выпускаются различных размеров и формы (обычные, аналитические, делительные и т.д.). Химические стаканы – тонкостенные, различной вместимости, изготавливаются из химически стойкого стекла. Химические стаканы можно нагревать, но не на открытом пламени (например, на водяной бане).

Колбы. Очень разнообразны по формам и размерам (круглодонные, плоскодонные, конические и т. д.). Они могут быть изготовлены из обычного стекла, а также из специального термостойкого или термостойкого химически стойкого стекла (маркировка соответственно ТС и ТХС).

Мерная посуда. Применяется для измерения объема жидкости. На наружной стенке мерной посуды нанесены деления, указывающие объем в миллилитрах. Выпускается грубо калиброванная посуда (мерные пробирки, стаканы, мензурки, цилиндры) и посуда для точного отмеривания жидкостей (пипетки, мерные колбы).

Стекланные градуированные пипетки все еще применяются в КДЛ. Они бывают емкостью от 0,1 мл до 10 мл. Имеют деления по всей рабочей длине, что позволяет отмеривать не только конечные, но и любые промежуточные объемы жидкости. В зависимости от способа нанесения градуировки различают пипетки концевые и неконцевые. В концевых пипетках вся рабочая емкость вместе с вытянутым носиком отградуирована и рассчитана на измеряемые объемы жидкости. В неконцевых пипетках вытянутый носик и прилегающая к нему часть не градуированы и представляют собой «мертвый объем», не входящий в объем измеряемой жидкости.

Наиболее точными из всех видов мерной посуды являются мерные колбы. Они представляют собой обычно круглую плоскодонную колбу с длинным узким горлом, на котором нанесена кольцевая метка, ограничивающая точно измеренный объем. Выпускаются мерные колбы емкостью от 25 до 2000 мл. Их нельзя нагревать, так как это приводит к деформациям стекла и изменению первоначального объема. Не рекомендуется также в мерных колбах долго хранить приготовленные растворы.

При работе с любой мерной посудой важно уметь правильно выполнять сам процесс отсчета измеряемого объема жидкости. Если работа ведется с водными растворами (смачивают стекло и образуют вогнутый мениск), отсчет ведут по нижнему уровню мениска. Жидкости, не смачивающие стекло, образуют выпуклый мениск, и отсчет производится по верхнему уровню мениска. В клинических лабораториях часто приходится измерять объемы окрашенных непрозрачных жидкостей, смачивающих стекло (кровь, молоко и др.), когда нижний уровень мениска не виден. Для таких жидкостей отсчет ведут по верхней кромке мениска. Во всех случаях сосудов с измеряемой жидкостью следует располагать так, чтобы мениск жидкости находился на уровне глаз.

Посуда специального назначения бывает различных типов. Среди наиболее часто используемых в клиничко-диагностических лабораториях следует назвать чашки Петри, пастеровские пипетки, капельницы, эксикаторы и пр.

Эксикатор служит для предохранения от увлажнения гигроскопичных веществ. Представляет собой толстостенный двухкамерный сосуд с притертой крышкой. В нижнюю камеру помещают какое-либо вещество, поглощающее влагу (концентрированная серная кислота, прокаленный хлорид кальция, силикагель). Дном верхней камеры служит фарфоровая пластина с отверстиями. На ней размещают сосуды с препаратами. Притертые поверхности крышки и эксикатора смазывают вазелином. При закрывании крышки ее слегка поворачивают для лучшего притирания. Иногда в лабораториях используют эксикаторы с противоположной целью – для создания влажной камеры. В этом случае на дно нижней камеры наливают воду, а на фарфоровую пластину помещают препараты, которые следует предохранить от высыхания (например, агаровые гели).

Лабораторная работа №5

Дезинфекционные мероприятия. Кипячение. Паровой способ.

Воздушный способ. Виды бактерицидных облучателей-рециркуляторов

Кипячение

Кипячение — метод физической дезинфекции, основанный на воздействии высокой температуры. Режимы:

- в дистиллированной воде — 30 минут;
- в 2% растворе соды — 15 минут. smedk.ru +1

Применяется для изделий из стекла, металлов, термостойких полимерных материалов, резин, латекса. Перед кипячением изделия очищают от органических загрязнений, промывая водопроводной водой. Отсчёт времени начинают с момента закипания воды при полном погружении изделий. Применяемое оборудование — кипятильник дезинфекционный. smedk.ru +1

Паровой способ

Паровой метод дезинфекции осуществляется воздействием водяного насыщенного пара под избыточным давлением. Режим: 110 °С, 0,5 атм, 20 минут. smedk.ru +1

Применяется для изделий из стекла, металлов, резин, латекса, термостойких полимерных материалов. Также метод используют для дезинфекции одежды, постельных принадлежностей (матраса, подушки, одеяла), обуви, книг и других предметов. Предварительная очистка изделий не требуется. Их складывают в стерилизационные коробки и помещают в паровой стерилизатор (автоклав) или дезинфекционные камеры.



Воздушный способ

Воздушный метод дезинфекции предполагает обработку сухим горячим воздухом. Режим: 120 °С, 45 минут. smedk.ru +1

Применяется для изделий из стекла, металлов, силиконовой резины. Этим методом можно дезинфицировать только изделия, не загрязнённые кровью. Обработка проводится без упаковки в воздушных стерилизаторах (сухожаровых шкафах).



Виды бактерицидных облучателей-рециркуляторов

Бактерицидные облучатели-рециркуляторы используются для обеззараживания воздуха в помещениях. Они работают по принципу замкнутого цикла: вентилятор загоняет загрязнённый воздух в корпус, пропускает его через УФ-камеру с бактерицидным излучением и возвращает в помещение уже очищенным. sterilnost.ru +1

По конструкции облучатели-рециркуляторы бывают:

- **Открытые.** В них кожух не имеет барьеров, то есть ультрафиолетовые лампы не имеют препятствий и освещают лучами всё окружающее пространство. Обычно их используют в медицинских целях, при этом во время работы в комнате не должны находиться люди, домашние животные и даже комнатные растения.
- **Закрытые.** Имеют кожух, ограничивающий распространение УФ-лучей областью, через которую вентиляторами прогоняется воздух. Таким образом, они могут работать всё время и полностью безопасны для окружающих.
- **Комбинированные.** Сочетают предыдущие два типа, такие рециркуляторы можно использовать и как открытые, и как закрытые модели.

По способу установки рециркуляторы делятся на:

- **Настенные.** Компактные модели, предназначены для небольших помещений площадью до 40 м². Они крепятся на стену и занимают минимум места.
- **Напольные.** Имеют большую производительность и рассчитаны на помещения площадью до 100–150 м². Они оснащаются мощными вентиляторами и несколькими УФ-лампами для обеспечения высокой скорости обработки воздуха.
- **Потолочные.** Интегрируются в системы вентиляции и кондиционирования, обеспечивая непрерывную циркуляцию и обеззараживание воздуха в крупных помещениях без нарушения интерьера.
- **Передвижные.** В таком случае устройство не имеет креплений, его можно свободно переносить в разные комнаты.

По производительности рециркуляторы бывают:

- **Бытовые** — до 50 м³/ч. Предназначены для домашнего использования, детских комнат, небольших офисов.
- **Полупромышленные** — 50–200 м³/ч. Используются в медицинских кабинетах, образовательных учреждениях, общественных местах средней площади.
- **Промышленные** — свыше 200 м³/ч. Применяются в больших помещениях: операционных, палатах интенсивной терапии, производственных цехах пищевой промышленности.



Примеры бактерицидных рециркуляторов

Несколько моделей бактерицидных рециркуляторов:

- **NUR-01-215-G13-WH.** Закрытого типа, с двумя УФ-лампами по 15 Вт, производительность — 30 м³/ч. Предназначен для обеззараживания воздуха в присутствии людей.
- **СПДС-60-Р.** Настенный или потолочный рециркулятор с бактерицидными лампами, не продуцирующими озон. Подходит для операционных, детских палат и других помещений.
- **МСК-910.** Закрытого типа, подходит для медицинских учреждений, школ, офисов и дома. Безопасен при использовании в присутствии людей, животных и растений.

Кипячение

Кипячение — метод физической дезинфекции, основанный на воздействии высокой температуры. Режимы:

- в дистиллированной воде — 30 минут;
- в 2% растворе соды — 15 минут. smedk.ru +1

Применяется для изделий из стекла, металлов, термостойких полимерных материалов, резин, латекса. Перед кипячением изделия очищают от органических загрязнений, промывая водопроводной водой. Отсчёт времени начинают с момента закипания воды при полном погружении изделий. Применяемое оборудование — кипятильник дезинфекционный. smedk.ru +1

Паровой способ

Паровой метод дезинфекции осуществляется воздействием водяного насыщенного пара под избыточным давлением. Режим: 110 °С, 0,5 атм, 20 минут.

Применяется для изделий из стекла, металлов, резин, латекса, термостойких полимерных материалов. Также метод используют для дезинфекции одежды, постельных принадлежностей (матраса, подушки, одеяла), обуви, книг и других предметов. Предварительная очистка изделий не требуется. Их складывают в стерилизационные коробки и помещают в паровой стерилизатор (автоклав) или дезинфекционные камеры.



Воздушный способ

Воздушный метод дезинфекции предполагает обработку сухим горячим воздухом. Режим: 120 °С, 45 минут.

Применяется для изделий из стекла, металлов, силиконовой резины. Этим методом можно дезинфицировать только изделия, не загрязнённые кровью. Обработка проводится без упаковки в воздушных стерилизаторах (сухожаровых шкафах).



Виды бактерицидных облучателей-рециркуляторов

Бактерицидные облучатели-рециркуляторы используются для обеззараживания воздуха в помещениях. Они работают по принципу замкнутого цикла: вентилятор загоняет загрязнённый воздух в корпус, пропускает его через УФ-камеру с бактерицидным излучением и возвращает в помещение уже очищенным.

По конструкции облучатели-рециркуляторы бывают:

- **Открытые.** В них кожух не имеет барьеров, то есть ультрафиолетовые лампы не имеют препятствий и освещают лучами всё окружающее пространство. Обычно их используют в медицинских целях, при этом во время работы в комнате не должны находиться люди, домашние животные и даже комнатные растения.
- **Закрытые.** Имеют кожух, ограничивающий распространение УФ-лучей областью, через которую вентиляторами прогоняется воздух. Таким образом, они могут работать всё время и полностью безопасны для окружающих.
- **Комбинированные.** Сочетают предыдущие два типа, такие рециркуляторы можно использовать и как открытые, и как закрытые модели.

По способу установки рециркуляторы делятся на:

- **Настенные.** Компактные модели, предназначены для небольших помещений площадью до 40 м². Они крепятся на стену и занимают минимум места.
- **Напольные.** Имеют большую производительность и рассчитаны на помещения площадью до 100–150 м². Они оснащаются мощными вентиляторами и несколькими УФ-лампами для обеспечения высокой скорости обработки воздуха.
- **Потолочные.** Интегрируются в системы вентиляции и кондиционирования, обеспечивая непрерывную циркуляцию и обеззараживание воздуха в крупных помещениях без нарушения интерьера.
- **Передвижные.** В таком случае устройство не имеет креплений, его можно свободно переносить в разные комнаты.

По производительности рециркуляторы бывают:

- **Бытовые** — до 50 м³/ч. Предназначены для домашнего использования, детских комнат, небольших офисов.
- **Полупромышленные** — 50–200 м³/ч. Используются в медицинских кабинетах, образовательных учреждениях, общественных местах средней площади.
- **Промышленные** — свыше 200 м³/ч. Применяются в больших помещениях: операционных, палатах интенсивной терапии, производственных цехах пищевой промышленности.



Примеры бактерицидных рециркуляторов

Несколько моделей бактерицидных рециркуляторов:

- **NUR-01-215-G13-WH.** Закрытого типа, с двумя УФ-лампами по 15 Вт, производительность — 30 м³/ч. Предназначен для обеззараживания воздуха в присутствии людей.
- **СПДС-60-Р.** Настенный или потолочный рециркулятор с бактерицидными лампами, не продуцирующими озон. Подходит для операционных, детских палат и других помещений.
- **МСК-910.** Закрытого типа, подходит для медицинских учреждений, школ, офисов и дома. Безопасен при использовании в присутствии людей, животных и растений.

Лабораторная работа №6

Методы измерений в медицинской биохимии. Прямое определение метаболитов в крови. Абсорбционная фотометрия

Измерение массы выполняется с помощью технических (дискретность от 0 до 3 знаков после запятой) или аналитических весов (дискретность 4 знака после запятой).



технические



аналитические

Устройство электронных весов следующее:

Серии DX и DL



Электронные весы подразделяются по принципу взвешивания на:

- Весы для статического взвешивания – весы платформенные, весы автомобильные, вагонные весы, товарные весы и лабораторные аналитические и прецизионные.
- Весы для взвешивания в движении – весы автомобильные подкладные, вагонные весы статико-динамические, весы вагонные динамические.
- Весы автоматические непрерывного действия для суммарного учета – конвейерные весы и чеквейеры.
- Весы дискретного действия для суммарного учета автоматические – бункерные весы, автоматические весы-дозаторы и другие.

Погрешность весов при взвешивании

Для того, чтобы разобраться, что же такое погрешность весов при взвешивании, немного нужно окупнуться в метрологическую терминологию.

Погрешность измерения - это отклонение результата измерения от истинного значения измеряемой физической величины, обозначение Δ .

$$\Delta = x - x_{ист}$$

Результат измерения – найденное значения физической величины опытным путем с использованием специальных технических средств, обозначение x . **Истинное значение физической величины** – значение физической величины, которое идеальным образом в количественном и качественном отношении отражало бы соответствующее свойство объекта измерения, обозначение $x_{ист}$. **Физическая величина** – свойство, в качественном отношении характерна для многих объектов, явлений или процессов, но в количественном отношении индивидуальное для каждого из них. В зависимости от выбранной классификационной характеристики существуют различные классификации погрешностей измерения, среди которых можно выделить наиболее распространенные:

1. по форме выражения;
2. по источникам возникновения;
3. по закономерностям возникновения и проявления

По форме выражения погрешности делятся на абсолютные и относительные.

Абсолютная погрешность

Абсолютная погрешность весов – разность между результатом измерения массы груза на весах и истинным значением массы данного груза. Абсолютная погрешность по значению равна погрешности измерения и равна

$$\Delta = x - x_{ист}.$$

Относительная погрешность другие виды погрешностей

Относительная погрешность весов – это отношение абсолютной погрешности весов к условно истинному значению измеряемой величины, то есть к условно истинному значению

массы груза, взвешиваемого на весах. Относительная погрешность равна:

где δ – относительная погрешность; Δ – абсолютная погрешность; $x_{ист}$ – истинное значение физической величины – истинное значение массы взвешиваемого груза. **Основная погрешность** (абсолютная, относительная) весов – это погрешность весов, определенная при нормальных условиях. Нормальные условия(i) – совокупность нормированных рабочих условий, которые устанавливаются для обеспечения достоверности взаимного сравнения результатов измерений. Нормированные рабочие(i) условия – условия эксплуатации, устанавливающие диапазон значений влияющих величин, при которых метрологические характеристики весов находятся в пределах нормированных максимально допустимых погрешностей. **Нормированные рабочие** условия имеют такие показатели: – диапазон температур от минус 10 °С до плюс 40 °С; – относительная влажность – 98 % при температуре 25 °С.

Дополнительные погрешности весов

Дополнительная погрешность – погрешность весов, которая дополнительно возникает при эксплуатации весов в условиях отклонения хотя бы одной из влияющих величин от нормированного значения.

По источникам возникновения погрешности измерения бывают инструментальные, методические и личные (погрешности оператора).

Инструментальная погрешность весов – составляющая погрешности измерения, обусловленная свойствами средства измерительной техники, в данном случае весов. **Методическая погрешность** – составляющая погрешности измерения, обусловленная несовершенством метода измерения или несоответствием объекта измерения его модели, принятой для измерения. **Погрешность оператора** – составляющая погрешности измерения, обусловленная индивидуальными свойствами оператора/весовщика.

По закономерностям возникновения и проявления различают систематические, случайные и чрезмерные погрешности.

Систематическая погрешность весов – составляющая общей погрешности измерения, остается постоянной или закономерно изменяется при повторных измерениях одной и той же величины. **Случайная погрешность весов** – составляющая общей погрешности измерения, меняется случайным образом (как по знаку, так и по величине) при повторных измерениях одной и той же величины. **Чрезмерная погрешность** – погрешность измерения, которая существенно превышает ожидаемую при данных условиях погрешность. *Погрешность весов имеет свои пределы допустимых значений, которые регламентируются нормативным документом – стандартом. Результат значения измеряемой массы груза на весах в пределах допустимых погрешностей весов является приемлемым. Также есть термин «предел допустимой погрешности»(i), вот его значение: **предел допустимой погрешности** – это самая большая разница, положительная или отрицательная, установленная нормативным документом – стандартом между показанием весов и соответствующим действительным значением рабочих эталонов мер массы (гирь) при условии, что весы находятся в исходном положении и до нагрузки грузом имели нулевые показания.*

Дискретность весов – цена действительного деления весов

Дискретность весов – это значение, выраженное в единицах массы, равное: – разнице между значениями двух последовательных отметок шкалы – для аналогового отображения измеряемого значения массы; или – разнице между значениями двух последовательно отраженных показаний – для цифрового отображения измеряемого значения массы. Дискретность весов обозначается, как d .

Цена поверочного деления весов

Цена поверочного деления – значение, выраженное в единицах массы, используемой для классификации, оценки соответствия, поверки весов(ссылка). Цена поверочного деления весов обозначается, как e .

Классы точности весов

Класс точности – обобщенная метрологическая характеристика, определяется границами основной и дополнительной погрешностей весов, а также другими метрологическими характеристиками весов. Классы точности устанавливают в процессе проектирования весов с учетом проведенных испытаний в ходе проведения оценки соответствия требованиям Технического регламента, под действие которого попадают весы. Если в нормативном документе, Техническом регламенте, стандарте, или технических условиях, регламентирующего технические требования к весам конкретного типа, установлено несколько классов точности, то класс точности конкретных весов допускается присваивать при выпуске из производства и проведению испытаний на соответствие метрологическим характеристикам. А также понижать класс точности возможно по результатам периодической поверки (или другого вида поверки) в порядке, предусмотренном действующей методикой поверки данного типа весов.

Класс точности весов для статического взвешивания

Неавтоматические взвешивающие устройства, а именно весы для статического взвешивания: платформенные весы, железнодорожные весы, автомобильные весы, которые используются в законодательно регулируемой метрологии, попадают под действие *Технічного регламенту щодо неавтоматичних зважувальних приладів* и должны отвечать требованиям стандарта *ДСТУ EN 45501 «Метрологічні аспекти неавтоматичних зважувальних приладів»*. Весы квалифицируют в соответствии с: – ценой поверочного деления e шкалы весов, которая отражает абсолютную точность; – количеством поверочных делений n шкалы, которая отражает относительную точность. Максимально допустимые погрешности выражают через значение цены поверочного деления e . Более подробно о количестве поверочных делений n . Количество поверочных делений n – это отношение значения максимальной нагрузки Max весов до значения цены поверочного деления. Зная максимальную нагрузку Max весов и цену поверочного деления e шкалы весов можно высчитать количество поверочных делений n : $n = Max / e$ Согласно **ДСТУ EN 45501** весы для статического взвешивания подразделяются на такие классы точности: – специальный класс точности I – высокий класс точности II – средний класс точности III – обычный класс точности III Цена поверочного деления e , количество поверочных делений шкалы n и

минимальную нагрузку Min в соответствии с классом точности весов для статического взвешивания приведены в таблице.

Класс точности весов для статического взвешивания	Цена поверочного деления шкалы, e	Количество поверочных делений, $n = Max / e$		Минимальную нагрузку, Min (нижняя граница)
		минимальное	максимальное	
Специальный (I)	$0,001 \text{ г} \leq e < 0,002 \text{ г}$	50 000	–	100 e
Высокий (II)	$0,001 \text{ г} \leq e \leq 0,05 \text{ г}$	100	100 000	20 e
	$0,1 \text{ г} \leq e < 0,5 \text{ г}$	5 000	100 000	50 e
Средний (III)	$0,1 \text{ г} \leq e \leq 2 \text{ г}$	100	10 000	20 e
	$5 \text{ г} \leq e < 10 \text{ г}$	500	10 000	20 e
Обычный (III)	$5 \text{ г} \leq e < 10 \text{ г}$	100	1 000	10 e
а) Обычно невозможно выполнить испытания или поверку весов с $e < 1 \text{ мг}$ из-за неопределенности испытательных нагрузок				

Лабораторная работа №7

Элементарные лабораторные процедуры и их оснащение. Лабораторная посуда

Отмеривание растворов является одной из наиболее часто выполняемых лабораторных процедур. При этом от точности дозирования существенно зависят результаты исследования. В современных лабораториях для отмеривания растворов широко применяют разнообразные дозирующие устройства – дозаторы (пипетки), дилютеры и диспенсеры. Дилютеры – дозирующие устройства с одновременным разбавлением дозируемых жидкостей. Диспенсеры – устройства, обеспечивающие многократную выдачу доз при однократном взятии дозируемого раствора. Дозирующие устройства можно подразделить на несколько групп.

1. По способу забора и выдачи доз их подразделяют на пипеточные, клапанные и перистальтические дозаторы.

Пипеточные – это бесклапанные дозаторы, где забор и выдача пробы осуществляются через один и тот же наконечник дозатора. Забор дозирующей жидкости осуществляется в съемную насадку – наконечник, что обеспечивает высокую чистоту при выполнении операции дозирования, практически исключает загрязнение последующей пробы предыдущей. Перемещение дозируемой жидкости в насадке осуществляется путем передачи через воздушный тракт разрежения или давления воздуха, создаваемого в поршневой или плунжерной паре пипетки. Многие пипеточные дозаторы имеют устройства для сброса наконечников. Для повышения точности дозирования в конструкции корпуса некоторых пипеток предусмотрены теплоизолирующие кожухи, уменьшающие влияние температуры руки оператора на воздушный тракт дозатора.

Пипеточные дозаторы нашли самое массовое применение в лабораторной практике (рис.8).



Рисунок 8 – Устройство и характеристики пипеточного дозатора

Они наиболее часто используются в следующих режимах: прямое дозирование, обратное дозирование, многократное дозирование и режим разведения.

Прямое дозирование (рис.9) – наиболее распространенный режим дозирования, при котором весь забранный объем жидкости сбрасывается за один полный ход поршня. Этот режим в большей степени подходит для дозирования водных растворов.

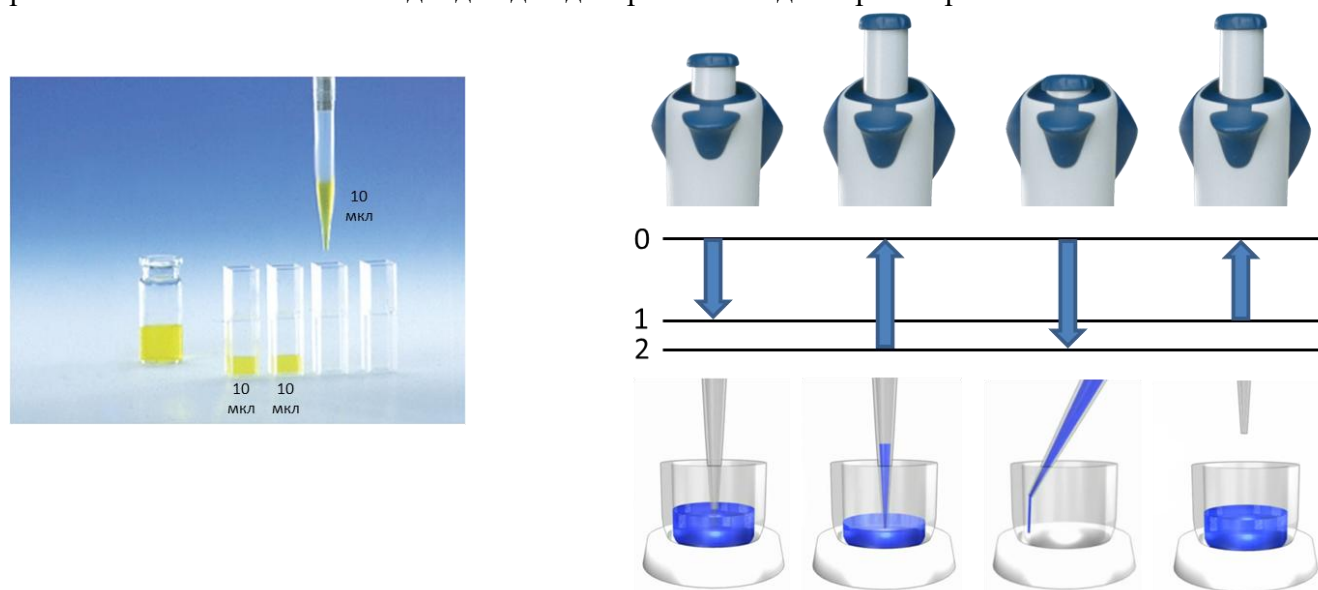


Рисунок 9 – Режим прямого дозирования

Обратное дозирование (рис.10) – используется для дозирования очень малых объемов, а также при работе с вязкими и пенящимися жидкостями. При этом в наконечник набирается несколько больший, по сравнению с дозируемым, объем жидкости. Остающийся в наконечнике некоторый объем жидкости нивелирует погрешность, связанную с образованием пены или мениска.

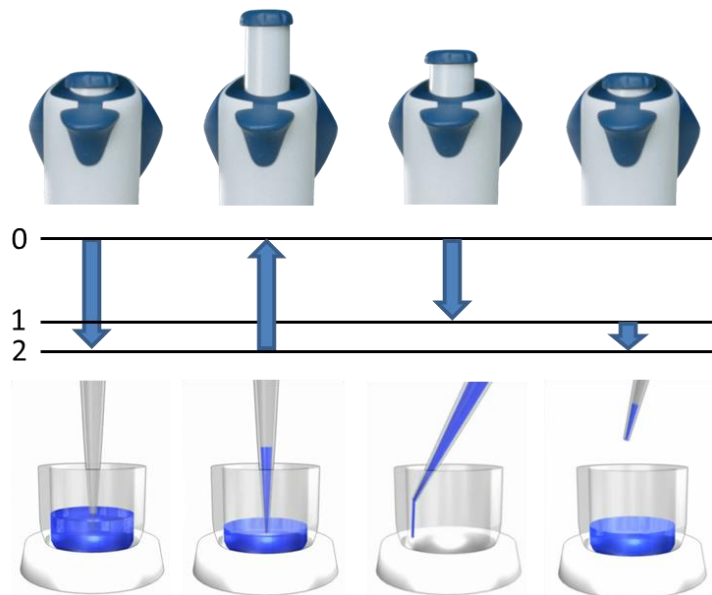
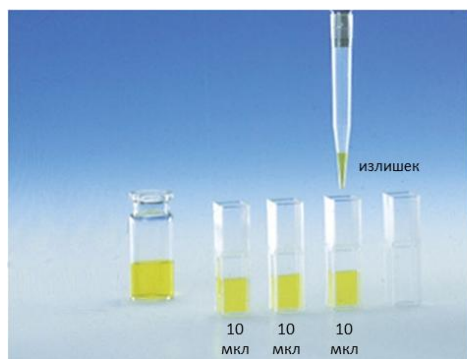
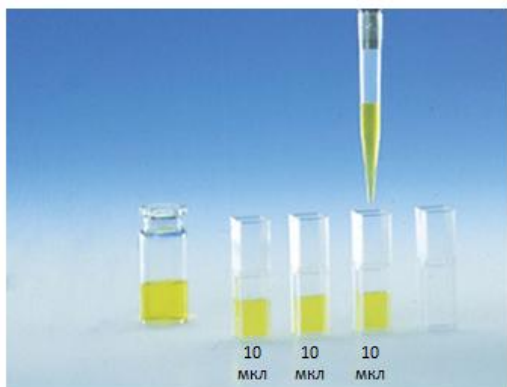
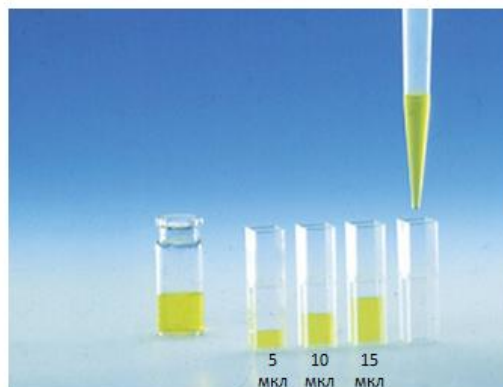


Рисунок 9 – Режим обратного дозирования

Другие техники дозирования (рис. 11):



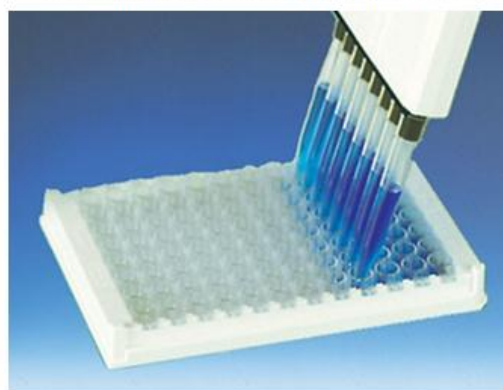
Многократное дозирование



Последовательное дозирование



Разведение



Многократный набор

Рисунок 11 – Другие техники дозирования

Клапанный дозатор имеет входной канал, куда поступает дозируемая жидкость, и выходной канал, через который выдается доза.

Перистальтические дозаторы чаще всего применяются в качестве дозатора-насоса подачи проб и реагентов в проточных анализаторах, как составная часть последних.

2. По способу установки дозы дозирующие устройства подразделяют на дозаторы с фиксированным объемом дозы и дозаторы с регулируемыми переменными объемами дозы.

3. По количеству каналов дозирования дозаторы разделяются на одноканальные, многоканальные и вариканальные. Одноканальные дозаторы не привязаны к форме носителя

проб и реакционной смеси, в связи с чем они универсальны. Многоканальные дозаторы ориентированы на специальные носители, так как имеют фиксированное количество каналов с определенным расстоянием между наконечниками. Они наиболее удобны при работе с микропланшетами и стрипами. Вариканальные – количество каналов меняется в диапазоне от 1 до 12.

4. По способу управления дозирующие устройства можно разделить на дозаторы с ручным приводом, автоматическим приводом и автоматическим приводом с микропроцессорным управлением – электронные дозаторы, среди которых наибольшее распространение получили электронные пипетки. Следует помнить, что дозаторы относятся к измерительным устройствам и, следовательно, должны подлежать метрологической проверке.

5. Ещё один значимый критерий дифференциации приборов – способ сброса отмеряемой жидкости. Возможно два варианта:

- воздушное смещение (air displacement) (рис.12, а);
- прямое выдавливание (positive displacement) (рис. 12, б)

В первом случае отмеривающий поршень контактирует со столбом воздуха, во втором – непосредственно с раствором. Воздушная прослойка затрудняет отмеривание вязких, тяжёлых, летучих жидкостей, поэтому для работы с такими препаратами рекомендуется прибор с прямым выдавливанием.

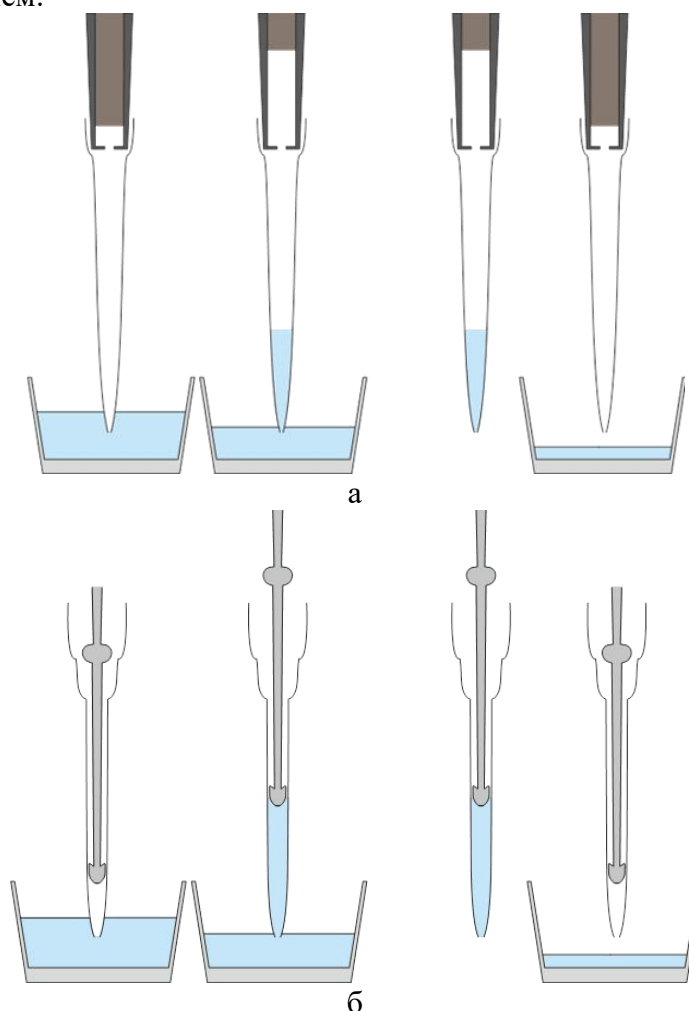


Рисунок 12 – Способ сброса отмеряемой жидкости

6. С практической точки зрения важно и то, каким способом прибор может быть обеззаражен:

- автоклавированием;
- ультрафиолетовым облучением;
- дезинфектантами.

«Специализация» лабораторных дозаторов постоянно углубляется за счёт разработки новых адаптированных моделей.

7. На сегодня разработаны специфические разновидности приборов для следующих лабораторных манипуляций:

- флаконные (для отмеривания из бутылей, флаконов);
- серологические (для работы с удлинёнными пипетками);
- роботизированные многоканальные (для серийной работы с микропланшетами на 384 или 96 позиций) – позволяют за час обработать до 1500–2000 проб.

Точность и прецизионность **Точность** - это способность пипетки дозировать количество жидкости, максимально близкое к объему, заданному в установках. Традиционные нормы точности для пипеток воздушного вытеснения составляют приблизительно 1 % при номинальных установках объема больше 35 %. Для установок объема пипетки на уровне 10 % или ниже характеристики точности могут быть почти в три раза меньше. **Прецизионность** измеряет способность пипетки воспроизводить дозировку одинаковых объемов жидкости. Традиционные нормы прецизионности для пипеток воздушного вытеснения составляют примерно от 1/3 до 1/4 от норм точности. Прецизионность часто называют повторяемостью или воспроизводимостью дозирования образца, а также стандартным отклонением.

Лабораторная работа №8

Элементарные лабораторные процедуры и их оснащение. Весы и взвешивание, возможные источники погрешностей

Правила ухода за лабораторной посудой Чистота посуды в значительной степени влияет на качество проводимых исследований. Вся посуда, контактировавшая с биологическим материалом, подвергается очистке от остатков материала и дезинфицируется в соответствии с действующими правилами санитарно-противоэпидемического режима. Значительные механические загрязнения удаляются разнообразными ершами, которые также затем обеззараживаются.

Обычно хорошая очистка достигается уже после замачивания посуды в моющем комплексном растворе. Затем посуда промывается проточной водой и ополаскивается дистиллированной водой. С хорошо вымытой посуды вода стекает струйками, не задерживаясь в виде капель. После сушки она абсолютно прозрачная и не имеет подтеков. Высушивают посуду в сухожаровых шкафах. Можно сушить и на любых приспособлениях, где обеспечивается свободный отток воды с посуды.

Для некоторых исследований предъявляются очень высокие требования к чистоте посуды. Тогда используют более эффективные химические методы очистки. Из них наиболее распространенным является мытье хромовой смесью.

Хромовую смесь готовят следующим образом: растворяют 25 г двуххромовокислого калия ($K_2Cr_2O_7$) в 150 мл концентрированной технической серной кислоты. Полученную смесь интенсивно взбалтывают и перед употреблением выдерживают сутки. Хранят хромовую смесь в сосуде из темного стекла. При стоянии смесь расслаивается на жидкую часть и осадок. Полного растворения бихромата калия не происходит. Правильно приготовленная смесь имеет темно-оранжевую окраску. В случае непригодности цвет изменяется на темно-зеленый. Посуду, подлежащую очистке, выдерживают в хромовой смеси не менее 2 часов, но обычно замачивают на ночь. Посуда должна быть полностью погружена в смесь. Очищенную посуду тщательно промывают проточной водой и дистиллятом. Работать с хромовой смесью следует в резиновых перчатках, прорезиненном фартуке и в защитных очках. Смесь, попадая на кожу или слизистые оболочки, может вызвать сильные ожоги. Не применяют хромовую смесь, если посуда загрязнена парафином, минеральными маслами. Необходимо избегать попадания в хромовую смесь спиртов, которые приводят ее в негодность.

Можно для очистки посуды использовать хромовый раствор. Готовят его по следующей прописи: растворяют 20 г бихромата калия в 100 мл концентрированной азотной кислоты. В

данном случае осадок бихромата не выпадает, так как образуется истинный раствор. Такой раствор по моющим свойствам превосходит хромовую смесь.

Каждый способ мытья посуды имеет свои преимущества и недостатки. Мытье хромпиком обеспечивает высокую степень чистоты. Кроме того, мытье хромпиком с последующим высушиванием в горячем сушильном шкафу значительно уменьшает микробную обсемененность посуды и способствует лучшей сохранности реактивов. В то же время данный метод достаточно трудоемок и требует соблюдения определенных мер предосторожности. С моющими средствами работать значительно удобнее, но они часто адсорбируются на стекле, что требует дополнительного многократного промывания водой. Поэтому для каждого вида анализов подбирается адекватный, не слишком трудоемкий, но достаточно надежный метод мытья посуды.

Сушка посуды осуществляется в специальных сушильных шкафах. В ряде случаев лабораторная посуда нуждается в стерилизации. Наиболее широко используется стерилизация автоклавированием при 120°C , давление 1 атм. Некоторые из видов пластмасс (например, полипропиленовая посуда) также выдерживают эти режимы обработки. При планировании работы в лаборатории следует предусмотреть возможности стерилизации пластмассовой посуды.

Лабораторная работа №9

Отмеривание растворов. дозаторы, возможные источники погрешностей

Калибровка, Калибровочный материал,

Калибровочный График

Расчет результатов измерений производится в зависимости от типа реакции. В каждом случае расчеты производятся по коэффициенту (фактору), по одному стандарту, либо по калибровочной зависимости сложного вида (мультистандартная калибровка).

Определение по конечной точке

После смешивания реактива и образца, начинается химическая реакция, которая сопровождается изменением оптической плотности (Abs). По истечении времени инкубации, которое задается в методике, реакция прекращается, и изменение оптической плотности также прекращается. Оптическая плотность становится более-менее постоянной величиной, пропорциональной концентрации искомого вещества. В этот момент и производится измерение оптической плотности (рис. 33).

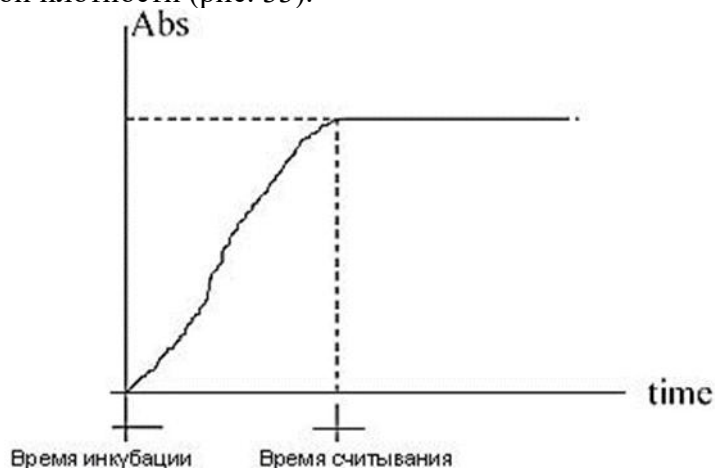


Рисунок 33 – Вид графика при определении по конечной точке

При калибровке по стандарту, выполняется замер оптической плотности реакционной смеси, где концентрация искомого вещества заведомо равна нулю (бланк). Затем, измеряется оптическая плотность реакционной смеси, где концентрация искомого вещества известна с высокой точностью (калибратор или, как еще говорят – стандарт), и химическая реакция подошла к концу (т.е. время инкубации закончилось) (рис. 34). Калибратор обычно прилагается к набору реагентов. Допустим, что 250 – это оптическая плотность бланка, 700 –

это оптическая плотность стандарта. Получив эти величины, мы можем построить график, где на горизонтальной оси – концентрация, а по вертикальной – оптическая плотность, причем оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации.



$$\text{Factor} = \text{ctg } a$$

Рисунок 34 – Вид графика при калибровке по стандарту

Получив такой график, который называется калибровочным, измеряя оптические плотности последующих образцов (исследуемых), можно высчитать концентрацию искомого вещества.

При использовании калибровки по стандарту, расчет производится по следующей формуле:

$$\text{CONC}_{\text{ОБР}} = (D_{\text{ОБР}} - D_{\text{ХОЛ.РЕАК.}}) \times \text{Factor}$$

Где Factor – фактор вычисляется при калибровке:

$$\text{Factor} = C_{\text{СТАНД}} / (D_{\text{СТАНД}} - D_{\text{ХОЛ.РЕАК.}})$$

$\text{CONC}_{\text{ОБР}}$ – концентрация исследуемого компонента;

$D_{\text{СТАНД}}$ – оптическая плотность пробы стандарта;

$C_{\text{СТАНД}}$ – концентрация стандарта.

При использовании современных инструментов фотометрирования (специализированных фотометров), концентрация высчитывается автоматически. При этом автоматически высчитывается фактор – пропорциональный углу наклона калибровочного графика по отношению к горизонтали (на самом деле высчитывается тангенс угла наклона).

Еще одна разновидность реакции по конечной точке – расчет по фактору.

В этом случае замеряется оптическая плотность бланка и по уже заданному фактору (который пропорционален углу наклона) производится измерение плотностей исследуемых образцов.

Формула для расчета будет следующей:

$$\text{CONC}_{\text{ОБР}} = (D_{\text{ОБР}} - D_{\text{ХОЛ.РЕАК.}}) \times \text{Factor}$$

$D_{\text{ОБР}}$ – оптическая плотность пробы образца,

$D_{\text{ХОЛ.РЕАК.}}$ – оптическая плотность холостой пробы по реактиву (если в методике есть параметр «R.Blank»),

Factor – фактор (коэффициент пропорциональности), по параметрам методики.

Еще одна разновидность конечно-точечной реакции – определение по сложной калибровочной кривой (рис. 35). Такая калибровочная зависимость применяется, когда интенсивность изменения окраски не прямо пропорциональна концентрации искомого вещества. В таких случаях используют несколько стандартов (до 9).

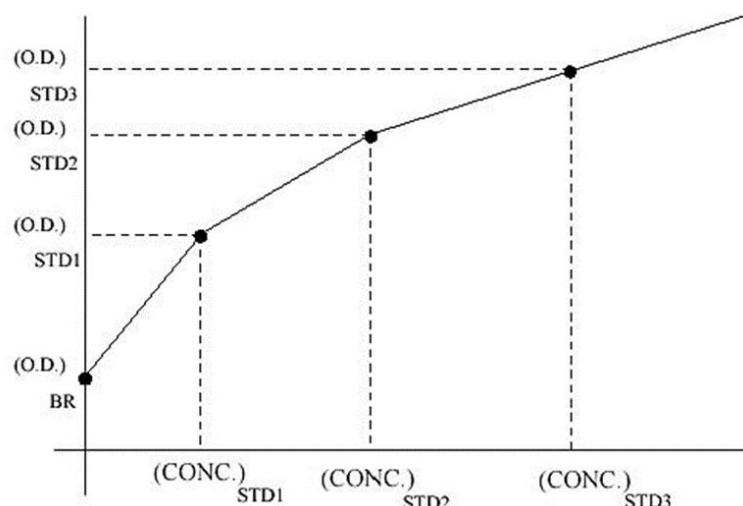


Рисунок 35 – Вид графика по сложной калибровочной кривой

Если говорить о современных методах исследований, то такая калибровка применяется чаще всего в методах иммунохимии.

Кроме всего, следует упомянуть о методах бихроматического фотометрирования. Этот метод является частным случаем метода по конечной точке. Вместо оптической плотности, измеренной на одной длине волн, в расчете используется разность оптических плотностей, измеренных на двух длинах волн – основной и вспомогательной (часто в терминологии используется термин – дифференциальный). Такой метод определения используется, когда нужно «отфильтроваться» от помех, обусловленных оптическими свойствами емкости, в которой производится фотометрирование (например, цилиндрическая пробирка), мутностью исследуемого образца (а иногда и окраской).

Еще одним частным случаем метода определения по конечной точке является дифференциальный метод (метод с холостой пробой по образцу). При использовании этого метода на одном и том же исследуемом образце приготавливается две пробы – одна с неполной композицией реагентов (когда не происходит специфическое окрашивание образца), вторая с полной композицией реагентов, когда специфическое окрашивание происходит. Разница оптических плотностей этих двух проб пропорциональна концентрации исследуемого вещества.

Расчет с калибровкой по стандарту:

$$\text{CONC}_{\text{ОБР}} = [(D_{\text{ОБР}} - D_{\text{ХОЛ.ОБР}}) / (D_{\text{СТАНД}} - D_{\text{ХОЛ.СТАНД}})] \times C_{\text{СТАНД}}$$

Где

$\text{CONC}_{\text{ОБР}}$ – концентрация исследуемого компонента;

$D_{\text{ОБР}}$ – оптическая плотность окрашенной пробы образца;

$D_{\text{ХОЛ.ОБР.}}$ – оптическая плотность холостой пробы образца;

$D_{\text{СТАНД}}$ – оптическая плотность окрашенной пробы стандарта;

$D_{\text{ХОЛ. СТАНД.}}$ – оптическая плотность холостой пробы стандарта;

$C_{\text{СТАНД}}$ – концентрация стандарта.

Расчет с калибровкой по стандарту:

$$\text{CONC}_{\text{ОБР}} = (D_{\text{ОБР}} - D_{\text{ХОЛ.ОБР.}}) \times \text{Factor}$$

Factor – фактор (коэффициент, указанный в инструкции к набору реагентов).

Кинетические методы измерения

Кинетические методы измерения – это методы, когда изменения оптической плотности регистрируются во времени и измеряется скорость изменения, которая пропорциональна либо концентрации исследуемого вещества, либо активности этого вещества (например, ферментов) (рис. 36).

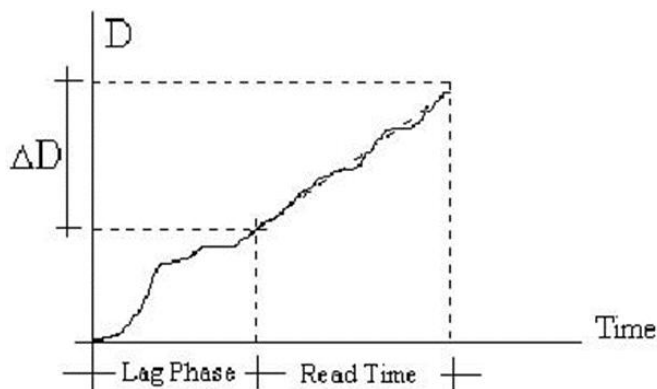


Рисунок 36 – Типичный пример кинетического измерения
 Расчет производится либо по фактору, либо по стандарту.
 Активность ферментов обычно вычисляется по фактору:

$$E_{\text{ОБР}} = (\Delta D_{\text{ОБР}}/\text{RealTime} - \Delta D_{\text{ХОЛ}}/\text{RealTime}) \times \text{Factor}$$

Где

$E_{\text{ОБР}}$ – исследуемая в образце активность фермента;

$\Delta D_{\text{ОБР}}/\text{RealTime}$ – скорость изменения оптической плотности пробы образца;

$\Delta D_{\text{ХОЛ}}/\text{RealTime}$ – скорость изменения оптической плотности холостой пробы по реактиву.

Расчет с калибровкой по стандарту:

В случае калибровки по стандарту, расчет происходит по той же самой формуле, только здесь фактор не является параметром, заданным в методике на реагенты, а вычисляется по формуле:

$$\text{Factor} = E_{\text{СТАНД}} / (\Delta D_{\text{СТАНД}}/\text{RealTime} - \Delta D_{\text{ХОЛ}}/\text{RealTime})$$

Где:

$E_{\text{СТАНД}}$ – активность исследуемого фермента в стандарте;

$\Delta D_{\text{СТАНД}}/\text{RealTime}$ – скорость изменения оптической плотности пробы стандарта;

А сам расчет производится по формуле:

$$E_{\text{ОБР}} = (\Delta D_{\text{ОБР}}/\text{RealTime} - \Delta D_{\text{ХОЛ}}/\text{RealTime}) \times \text{Factor}$$

Псевдокинетические методы измерения (двухточечная кинетика).

Здесь также определяется скорость изменения оптической плотности по времени реакции, только здесь измеряется оптическая плотность в начале интервала измерения (после ЛАГ-фазы) и в конце.

Лабораторная работа №10

ЛАБОРАТОРНЫЕ РЕАГЕНТЫ. ТРЕБОВАНИЯ К КАЧЕСТВУ, ЧИСТОТА. АКТИВНОСТЬ, СТАБИЛЬНОСТЬ. СПОСОБЫ ВЫРАЖЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРОВ

Существующая в РФ классификация химических реактивов базируется на положении о присвоении реактивам квалификации, принятом в СССР:

«Технический» («тех.») — низшая квалификация реактива. Содержание основного компонента выше 95 %. Цвет полосы на упаковке — коричневый.[1]

«Чистый» («ч.») — содержание основного компонента (без примесей) 98 % и выше. Цвет полосы на упаковке — зелёный.[1]

«Чистый для анализа» («ч.д.а.») — содержание основного компонента может быть выше или значительно выше 98 %, в зависимости от области применения. Примеси не

превышают допустимого предела, позволяющего проводить точные аналитические исследования. Цвет полосы на упаковке — синий.[1]

«Химически чистый» («х.ч.») — высшая степень чистоты реактива. Содержание основного компонента более 99 %. Цвет полосы на упаковке — красный.[1]

«Особо чистый» («ос.ч.») — квалификация установлена для веществ высокой чистоты. К особо чистым относятся вещества более высокой степени чистоты по сравнению с соответствующими химическими реактивами высшей из существующих квалификаций. Особо чистые вещества содержат примеси в таком незначительном количестве, что они не влияют на основные специфические свойства веществ. Число и концентрация примесей в отдельных особо чистых веществах различны и определяются, с одной стороны, потребностями практики, а с другой — достижениями препаративной и аналитической химии. Цвет полосы на упаковке — жёлтый.[1]

Каждому особо чистому веществу присваивается соответствующая марка в зависимости от природы и числа т. н. лимитируемых (=контролируемых) в нём примесей, а также их содержания:

Для особо чистых веществ, в которых лимитируются только неорганические примеси, марка обозначается буквами «осч» (особо чистый) и следующими за ними двумя (через тире) числами: первое показывает количество лимитируемых неорганических примесей, второе — отрицательный показатель степени суммы содержания этих примесей (примеси, лимитируемые по той же норме в одноимённом химическом реактиве, не учитываются). Например, марка особо чистого вещества, в котором лимитируются 11 неорганических примесей и сумма их составляет $2,5 \times 10^{-4}\%$ (масс.), обозначается «осч 11—4».

Для особо чистых веществ, в которых лимитируются только органические примеси, марка обозначается буквами «оп» (органические примеси), затем (через тире) числом, соответствующем отрицательному показателю степени суммы их содержания, и буквами «осч». Так, марка особо чистого вещества при сумме содержащихся органических примесей 10–3% (масс.) обозначается «оп—3 осч».

Для особо чистых веществ, в которых лимитируются как органические, так и неорганические примеси, при установлении марки учитывается содержание тех и других примесей. Например, марка особо чистого вещества, имеющего сумму органических примесей $2 \times 10^{-4}\%$ (масс.) и сумму восьми неорганических примесей $3 \times 10^{-5}\%$ (масс.), обозначается «оп—4 осч 8—5».

Особо чистые вещества получают путём т. н. глубокой (=наиболее тщательной) очистки веществ, для которой широко используют различные физико-химические методы (как правило, в сочетании) — осаждение, ректификация, дистилляция, экстракция, сорбция, ионный обмен и т. д. Разделение может быть основано и на различии в химических свойствах компонентов исследуемой системы, что позволяет использовать для получения особо чистых веществ также комплексообразование, избирательное окисление или восстановление и т. п. При очистке веществ следует учитывать возможное поступление загрязняющих примесей из воздуха, реактивов, воды, а также из материала аппаратуры.

Различные области применения химических реактивов налагают особые ограничения на содержание примесей, в связи с чем имеются специальные виды квалификаций, например:

Спектрально чистый;
Оптически чистый;
Хирально чистый;
Ядерно чистый;
также для:
криоскопии;
термохимии;
микроскопии;
хроматографии;

Большинство химических реактивов контролируют по двум-трём характеристикам. Однако многие кислоты, основания и соли, а также реактивы, применяемые в биологических исследованиях, контролируют по более чем 20 показателям. При этом важно также учитывать наличие взвешенных частиц, так как даже разбавленный раствор взвешенных частиц с линейными размерами меньше 1 мкм может внести заметный вклад в суммарную концентрацию примесей.

Требования к качеству химических реактивов, выпускаемых в РФ, определяются Государственными Стандартами (ГОСТ)[2] или Техническими Условиями (ТУ).

Стабильность химических реагентов зависит от:

- температуры хранения;
- освещенности;
- состава окружающей среды;
- способа приготовления;
- вспомогательных веществ;
- вида химического вещества (особенно агрегатного состояния);
- места хранения.

Стабильность бывает:

- Физическая
- Химическая
- Микробиологическая.

Лабораторная работа №11

ОСОБЕННОСТИ ХРАНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ЗАДАЧИ

Методические указания МУ 4.2.2039-05 "Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории" (утв. и введены в действие Главным государственным санитарным врачом РФ 23 декабря 2005 г.)

Для предохранения от инфицирования медицинского персонала и пациентов при сборе проб биоматериалов и доставке его в лабораторию необходимо:

- не загрязнять наружную поверхность посуды при сборе и доставке проб;
- не загрязнять сопроводительные документы (направления);
- свести к минимуму непосредственный контакт пробы биоматериала с руками медицинского работника, собирающего и доставляющего его в лабораторию;
- использовать стерильные одноразовые или разрешенные к применению для этих целей в установленном порядке контейнеры (емкости) для сбора, хранения и доставки проб;
- транспортировать пробы в переносках или укладках с отдельными гнездами;
- соблюдать асептические условия для предотвращения инфицирования пациента в процессе выполнения инвазивных мероприятий;
- собирать пробы в стерильную одноразовую или стеклянную посуду (не загрязненную биоматериалом, не испорченную трещинами, отколотыми краями и другими дефектами).

3.2. Пробы биоматериала необходимо собирать следующим образом:

- до начала антибактериальной терапии, при отсутствии такой возможности - непосредственно перед повторным введением (приемом) препаратов;
- в количестве (вес, объем), необходимом для выполнения анализа, т.к. недостаточное для исследования количество биоматериала приводит к получению ложных результатов;
- с минимальным загрязнением материала нормальной микрофлорой, т.к. ее наличие приводит к ошибочной трактовке результатов, полученных, например, при исследовании мокроты, проб из носа, глотки (зева), гениталий и др.

3.3. При сборе пробы следят за тем, чтобы в лаборатории при вскрытии емкости с биоматериалом не образовывался аэрозоль: пробы крови и других жидкостей организма

аккуратно без образования пены переносят из шприца в сухую и/или наполненную средой (антикоагулянт) посуду.

3.4. В направлении на исследование указывают: фамилию, имя, отчество больного; год рождения; отделение, в котором он находится; номер истории болезни (амбулаторной карты); диагноз; материал, посылаемый на исследование, и задачи исследования; дату и время взятия материала (часы); антибактериальные (иммунные) препараты, если проба сдается на фоне антибиотико- и/или иммунотерапии; фамилию, имя, отчество лечащего врача (консультанта), направляющего пробу на исследование. При направлении биоматериалов, полученных при вскрытии, указывают также отделение, в котором умер больной.

3.5. Перед сбором пробы, особенно при применении инвазивных методов, учитывается вероятность риска для пациента и пользы, а также значимость именно данного вида биоматериала для целей объективизации клинического диагноза и оценки проводимых или планируемых лечебных мероприятий.

4. Общие требования к доставке проб биоматериала в микробиологическую лабораторию

4.1. Все собранные пробы отправляют в микробиологическую лабораторию немедленно после получения, за исключением случаев использования емкостей с транспортировочными средами, разрешенными к применению для этих целей в Российской Федерации в установленном порядке.

Это необходимо для:

- сохранения жизнеспособности возбудителей и возможности выделения микроорганизмов, требующих особых условий культивирования (*Haemophilus* и др.);
- предотвращения избыточного роста быстрорастущих и активных микроорганизмов;
- поддержания соотношения исходных концентраций изолятов при наличии в пробе микробных ассоциаций;
- сокращения времени контакта пробы с некоторыми антисептиками, используемыми местно, которые могут обладать антибактериальной активностью;
- объективизации клинического диагноза инфекционно-воспалительного заболевания и оценки результатов терапии.

4.2. Допускается использование альтернативных методов для увеличения сроков доставки биоматериала в лабораторию.

Пробы хранят в холодильнике при температуре 2 - 8°C, за исключением нижеперечисленных случаев.

4.2.1. Когда пробу хранят в специализированной транспортировочной емкости (транспортировочная система), разрешенной к применению в установленном порядке, представляющей собой стерильную одноразовую пробирку с агаризованной или жидкой транспортировочной средой и зондом-тампоном, вмонтированным в пробку и стерильно упакованным вместе с пробиркой. В таких емкостях пробы хранят при комнатной температуре (18 - 20°C). Транспортировочные среды, специальные плотные с активированным углем и без него, позволяют обеспечить сохранение жизнеспособности микроорганизмов, требующих особых условий культивирования, в течение 48 - 72 ч.

Для проб на анаэробы и для фекальной флоры используют специальные емкости с транспортировочной средой, пробирки со средами для выделения кампилобактерий и хеликобактера, разрешенные к применению в установленном порядке. Такие среды создают анабиотическую атмосферу для микроорганизмов, что способствует снижению их метаболизма, сдерживанию роста, препятствует их высыханию и накоплению продуктов жизнедеятельности.

Каждую пробу, собранную в жидкую среду, тщательно перемешивают со средой.

4.2.2. Когда кровь культивируют в бульоне, тогда после получения пробу хранят в термостате при температуре 35 - 37°C.

Если пробы собирают в специальные емкости для последующего исследования с двухфазной средой, их следует хранить при комнатной температуре (18 - 20°C).

4.2.3. Когда при возможном наличии температурозависимых микроорганизмов (*Neisseria* sp.) пробы оставляют при комнатной температуре (18 - 20°C).

4.2.4. Когда пробу хранят в емкостях с соответствующими питательными средами, подготовленных в лаборатории или разрешенных к применению в установленном порядке при проведении:

- бактериологических исследований - в пробирках с вмонтированными зондами-тампонами или без них со средой, состоящей из забуференного физиологического раствора с глицерином для определения энтеробактерий семейства Кишечных ("на дизгруппу") и аэромонад. При работе с тампонами, вмонтированными в ватно-марлевую пробку, следят за тем, чтобы не замочить (не загрязнить) пробку средой и/или собранным материалом. Собранную пробу тщательно перемешивают со средой. Используют также готовые пробирки со специальной плотной средой, разрешенные к применению в установленном порядке;
- вирусологических исследований - в специальных емкостях с жидкой средой, разрешенных к применению в установленном порядке;
- паразитологических исследований - пробу тщательно смешивают с консервантом.

Пробы ликвора хранят при комнатной температуре (18 - 20°C), а при проведении в лаборатории вирусологических исследований - в термостате при 35 - 37°C.

4.3. Для транспортирования проб, исследуемых на наличие аэробов и факультативных анаэробов, используют:

- одноразовые стерильные сухие пробирки с вмонтированным зондом-тампоном (тубсеры) или емкости с транспортировочной средой, разрешенные к применению для этих целей в Российской Федерации в установленном порядке; допускается использование стерильных стеклянных пробирок, укупоренных газопроницаемой пробкой с вмонтированным зондом-тампоном, приготовленных в лаборатории;
- одноразовые стерильные емкости с завинчивающейся крышкой (допускаются стеклянные с газопроницаемой пробкой) - для сбора проб мочи, мокроты, фекалий, бронхо-альвеолярного лаважа, биопсийного (кусочки ткани) материала;
- стерильные одноразовые с завинчивающейся пробкой или стеклянные пробирки - для сбора стерильных жидкостей, бронхо-альвеолярного лаважа, отделяемого из дренажей или соскобов;
- стерильные чашки Петри - для сбора проб волос или для транспортирования соскобов с маркировкой дна чашки;
- специальные стерильные носоглоточные и урогенитальные зонды-тампоны с осью из алюминия (диаметр оси - 0,9 мм) и маленьким тампоном из хлопка или вискозы на кончике (диаметр тампона - 2,5 мм), вмонтированным в пробку, укупоривающую стерильную одноразовую стеклянную пробирку - для проб из носоглотки на *B. pertusis* и из уретры у мужчин.

4.4. Для транспортирования проб, исследуемых на наличие анаэробов, используют емкости со специальными транспортировочными средами и пробирки с тигликолевой средой; пробирки со средами для выделения кампилобактерий и хеликобактера, разрешенные к применению для этих целей в Российской Федерации в установленном порядке. Пробу, собранную в жидкую среду, тщательно с ней перемешивают. Для получения проб рекомендуются следующие приемы:

- отделяемое дренажей, используемых для активной аспирации полостей, отсасывают стерильным шприцем с плотным поршнем в объеме 2 - 4 мл; на заполненный шприц надевают стерильную иглу, закрытую стерильным ватным тампоном, удаляют из шприца избыток воздуха; ватный тампон сбрасывают в дезинфицирующий раствор; конец иглы вкалывают в стерильную резиновую пробку и в таком виде шприц с материалом доставляют в лабораторию;
- содержимое очагов инфекции и полостей, получаемое путем их пунктирования, собирают в объеме 2 - 4 мл с помощью 2-, 5-, 10-миллилитровых шприцев с плотным поршнем; из шприца удаляют избыток воздуха, закрыв иглу стерильным ватным тампоном, который затем сбрасывают в дезинфицирующий раствор; иглу дезинфицируют протиранием тампоном, смоченным 70%-м этиловым спиртом; для герметизации конец иглы вкалывают в стерильную резиновую пробку и в таком виде шприц с материалом доставляют в лабораторию.

При сборе большого объема материала (3 мл и более) анаэробные бактерии могут оставаться жизнеспособными в течение 24 ч при комнатной температуре (18 - 20°C).

Если отделяемого всего несколько капель, его переносят из шприца в небольшую емкость или в пробирку с транспортировочной средой немедленно после получения (емкости с транспортировочными средами накануне получают в лаборатории).

Кусочки тканей (биопсийный материал) при подозрении на анаэробную инфекцию собирают в стерильные одноразовые емкости с завинчивающейся крышкой (допускается - в стеклянную посуду с притертой крышкой) и доставляют в лабораторию немедленно.

4.5. Для транспортирования проб, исследуемых на наличие вирусов, используют специальные емкости с жидкой средой для сохранения вирусов.

Лабораторная работа №12

БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА: КЛАССИФИКАЦИЯ, ПРИМЕРЫ И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БУФЕРНЫХ СИСТЕМ В ОРГАНИЗМЕ

Буферные системы – совокупность нескольких веществ в растворе, сообщающих ему буферные свойства, т.е. способность противостоять изменению активной реакции среды (рН) при разбавлении, концентрировании раствора или при добавлении к нему небольших количеств сильной кислоты или щёлочи. Буферные системы широко распространены в природе: они находятся в водах мирового океана, почвенных водах и особенно в живых организмах, где выступают в качестве регуляторов, поддерживающих активную реакцию среды на определённых условиях, необходимых для нормального протекания жизненных процессов.

Буферные системы обеспечивают состояние кислотно-основного равновесия, соответствующего норме – протолитический гомеостаз. Смещение протолитического равновесия в кислую область вызывает ацидоз, в щелочную – алкалоз. Постоянство рН биологических жидкостей, тканей и органов обусловлено наличием нескольких буферных систем, входящих в состав этих биообъектов. Буферные системы проявляют свои буферные свойства в некотором диапазоне значений рН (≈ 2 единицы) – называемом зона буферного действия.

Лабораторная работа №12

ПОТЕНЦИОМЕТРИЯ

Потенциометрический метод анализа основан на измерении величины электродного потенциала в зависимости от физических или физико-химических процессов.

Потенциометрия – электрохимический метод анализа, основанный на определении количества вещества в анализируемом образце по величине электродного потенциала.

Плюсами метода являются:

- Высокая точность, высокая чувствительность;
- Возможность проводить титрования в более разбавленных растворах, чем это позволяют визуальные индикаторные методы;
- Возможность потенциометрического определения нескольких веществ в одном растворе без предварительного разделения;
- Возможность титрования в мутных и окрашенных средах.
- Значительно расширяется область практического применения потенциометрического титрования при использовании неводных растворителей: они позволяют, например, найти содержание компонентов, которые в водном растворе отдельно не титруются, провести анализ веществ, нерастворимых или разлагающихся воде;
- Возможность автоматизации процесса титрования.

Недостатком метода является его достаточно высокая длительность, которая обусловлена двумя факторами:

- Временем, необходимым для установления потенциала системы после добавления титранта;

- Необходимостью делать при титровании большое число отсчетов.
- Различают прямую потенциометрию и потенциометрическое титрование.

Электродный потенциал

При погружении какого-либо металла в воду ионы металла, входящие в его кристаллическую решетку, под воздействием полярных молекул воды отрываются и переходят в раствор, то есть происходит поверхностное растворение металла, вследствие чего на поверхности металлической пластинки остаются в избытке электроны, заряжающие ее поверхность отрицательно (рис. 39).

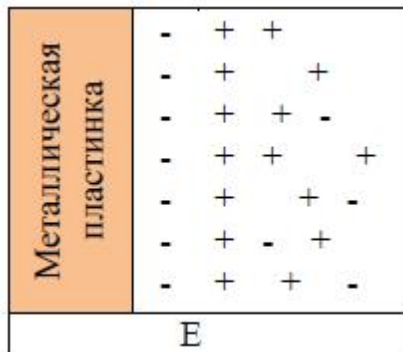


Рисунок 39 – Разность потенциалов на границе «металл-раствор»
- электродный потенциал E (В).

Возникающий отрицательный заряд будет все в большей степени препятствовать уходу положительно заряженных ионов металла в раствор. Наконец, растворение металла прекратится вовсе. А точнее, между пластинкой металла и раствором установится динамическое равновесие, в котором скорость растворения металла станет равной скорости обратного осаждения ионов металла из раствора на заряженную отрицательно поверхность металлической пластинки. Положительные ионы металла, перешедшие в раствор вследствие частичного его растворения в силу электростатического притяжения располагаются в жидкости вблизи заряженной отрицательно металлической поверхности, образуя так называемый двойной электрический слой. Одна часть этого слоя находится на поверхности металлической пластинки, вторая – в жидкости, прилегающей к ней.

На границе «металл-жидкость» возникает равновесная разность потенциалов, называемая электродным потенциалом.

Растворимость металла зависит от его природы и температуры. Для данного металла при данной температуре она постоянна. У различных металлов вследствие неодинаковой энергии связи атомов в кристаллической решетке и различной способности их катионов к гидратации поверхностное растворение протекает в неодинаковой степени и, следовательно, равновесные электродные потенциалы, возникающие на границе «металл-раствор», будут различными. Кроме того, величина потенциала зависит от природы электрода, концентрации раствора, в который электрод опущен и от характера протекающих в растворе реакций.

Электродные потенциалы измеряются в вольтах, В (по имени Алессандро Вольта) и вычисляются в соответствии с уравнением Нернста.

Стандартный (нормальный) потенциал

Стандартные (нормальные) потенциалы большинства электродных процессов в водных растворах давно определены и внесены в справочники физико-химических дисциплин. Приведены в таблице 2.32. Измерялись нормальные электродные потенциалы при стандартных условиях – давлении 101 325 Па и температуре 298 К (25°C) относительно выбранного электрода сравнения.

Электроды потенциометрии

Потенциометрический метод анализа основан на использовании зависимости электрического сигнала (потенциала) специального датчика, называемого измерительным электродом, от состава анализируемого раствора. В идеальном случае измерительный электрод избирательно (селективно) реагирует на определенный ион (или группу ионов), а его потенциал зависит от содержания этих ионов в растворе и подчиняется уравнению Нернста.

На практике может наблюдаться некоторое несоблюдение этих положений, объясняющееся, например, мешающим влиянием некоторых ионов либо другими факторами.

Форма и назначение как измерительных потенциометрических электродов, так и электродов сравнения весьма различна, но во всех случаях они подсоединяются к потенциометру, с табло которого и будут сниматься показания величины электродного потенциала E (В) или рН анализируемой системы, в зависимости от выбранного режима работы потенциометра. Измерительные электроды подразделяют на две группы:

- рН-электроды (то есть электроды, селективные к иону водорода);
- электроды, селективные к прочим ионам, которые называют ионселективными электродами.

Абсолютную величину потенциала в настоящее время измерить невозможно, однако можно измерить потенциал относительно другого электрода, потенциал которого известен и не зависит от состава раствора. Такой электрод и называется электродом сравнения. Наиболее известные электроды сравнения – это водородный, каломельный и хлорсеребряный электроды. Таким образом, измерения всегда проводятся при помощи двух электродов: измерительного и электрода сравнения (электродная пара). В последнее время получили широкое распространение электроды, объединяющие в одном корпусе измерительный электрод и электрод сравнения. Такие электроды получили название комбинированных электродов.

Без перечисленных электродов выполнить потенциометрические определения не представляется возможным.

Стеклянный электрод

Стеклянный электрод (рис. 40) представляет собой стеклянную цилиндрическую трубку, на конце которой находится стеклянный шарик с мембраной из электродного стекла толщиной стенок 0,06-0,1 мм. Электрод заполнен раствором кислоты или соли, в который для контакта погружена платиновая проволока, играющая роль токоподвода. Поверхность стекла шарика электрода в растворе приобретает потенциал, величина которого зависит от концентрации водородных ионов в растворе. Поэтому стеклянные электроды используются для измерения рН. Во избежание высыхания хрупкого шарика стеклянного электрода он хранится в колпачке с насыщенным раствором хлорида калия KCl .

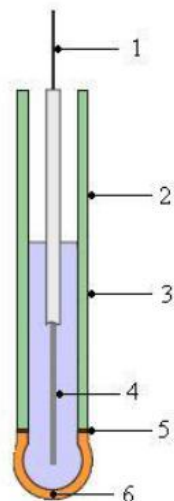


Рисунок 40 – Устройство стеклянного электрода:

1. Токоподвод;
2. Стеклянный корпус электрода (обычное стекло);
3. Внутренний раствор;
4. Вспомогательный электрод;
5. Спай;
6. Шарик с мембраной из электродного стекла.

В интервале рН от 2 до 9 стеклянные электроды являются идеальными водородными электродами: их потенциал зависит линейно от рН раствора. В кислых растворах с рН ниже 2 наблюдаются отклонения от истинного значения рН, которые возрастают с увеличением кислотности раствора. В щелочных же средах отклонения еще более значительны. В щелочных средах стеклянный электрод проявляет функции металлического электрода, обратимого по отношению к ионам щелочных металлов. Величина погрешности зависит от температуры, от сорта стекла электрода и от природы щелочных ионов в растворе. Лучшими стёклами можно считать известково-натриевые, худшими – калиевые. Введение в стекло

лития увеличивает область применимости стеклянного электрода до pH 13, но одновременно повышается его сопротивление.

Наибольшие отклонения при определённом сорте стекла наблюдаются в растворах LiOH и NaOH и наименьшие – в KOH.

Определение pH растворов производят по калибровочному графику pH – потенциал. В случае, если потенциометр для измерения pH градуирован в единицах pH, прибор следует каждый раз регулировать по точному буферному раствору.

Хлорсеребряный электрод

Хлорсеребряный электрод (рис. 41) характеризуется стабильностью потенциала (при 25°C потенциал насыщенного хлорсеребряного электрода составляет 0,222 В) и простотой конструкции и, наряду с водородным и каломельным электродами, используется в потенциометрии в качестве электрода сравнения.

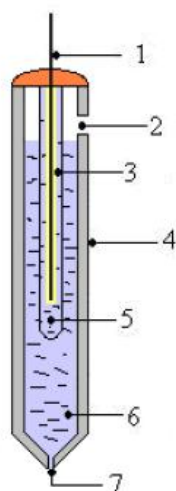
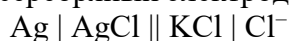


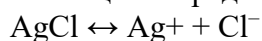
Рисунок 41 – Хлорсеребряный электрод сравнения :

1. Серебряная проволока;
2. Отверстие для ввода раствора KCl;
3. Слой AgCl;
4. Корпус электрода;
5. Внутренний раствор KCl;
6. Внешний раствор KCl;
7. Крошечное отверстие, обеспечивающее контакт с анализируемым раствором

Хлорсеребряный электрод представляет собой серебряную проволоку (1), электролитически покрытую слоем малорастворимой соли серебра, обычно – хлорида серебра AgCl (3) и опущенной в насыщенный раствор хлорида калия (5). Схематически хлорсеребряный электрод записывается так:



Потенциалоопределяющим для такого электрода является анион хлорида в равновесии:



Конструкция современного хлорсеребряного электрода сравнения включает в себя два раствора хлорида калия: один из них внешний (4) – служит солевым мостиком между электродом и анализируемой средой и одновременно предотвращает загрязнение внутреннего раствора (5), исключая его контакт с анализируемым раствором. Устроенные таким образом электроды получили название *электродов с двойным солевым мостиком*

Живой организм можно рассматривать с точки зрения электрохимии как систему, состоящую из клеток и межклеточного пространства, заполненного раствором электролитов. Все биологические ткани и жидкости обладают определенной электрической проводимостью.

В медицинской практике широко применяют методы электродиагностики и электролечения, основанные на использовании электрической проводимости тканей организма и ответных реакций на электрическое воздействие. В биологических системах образование и разрушение двойного электрического слоя на клеточных мембранах сопровождается распределением электронных импульсов вдоль нервных и мышечных волокон. Как правило, поверхность живых клеток и тканей имеет значительный отрицательный заряд за счет ионогенных групп макромолекул белков, находящихся на поверхности.

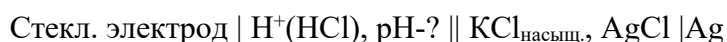
Отрицательный заряд макромолекул белков обусловлен тем, что pH большинства сред организма превышает изоэлектрическую точку белков. Под действием электростатических

сил к отрицательно заряженной поверхности клеточных мембран и тканей будет подходить положительно заряженные ионы Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и др., что приведет к возникновению двойного электрического слоя.

В биологических системах образование и разрушение двойного электрического слоя на клеточных мембранах сопровождается изменениями проницаемости клеточных мембран и распространения электрических импульсов вдоль нервных и мышечных волокон. К электрокинетическим методам анализа относят методы, основанные на электрохимических явлениях: изменение ЭДС или pH раствора, сопротивления системы или ее проводимости.

Электрохимические методы анализа широко используют в медико-биологических исследованиях для качественного и количественного определения в биологических жидкостях электролитов, белков, гормонов, витаминов, ферментов и других веществ; определения степени насыщенности крови кислородом, состава выдыхаемого воздуха, определения вредных веществ в сточных водах и воздухе промышленных предприятий.

Для потенциометрических измерений составляют гальванический элемент из двух электродов: электрода сравнения и индикаторного; потенциал последнего зависит от концентрации (активности) анализируемых ионов. Например:



Различают прямую потенциометрию и потенциометрическое титрование.

Прямая потенциометрия применяется для непосредственного определения концентрации различных ионов в растворе.

Потенциометрическое титрование – это метод анализа, в котором точка эквивалентности определяется по изменению в ходе титрования электродвижущей силы гальванической цепи, содержащей анализируемый раствор. Потенциометрическое титрование состоит в том, что к анализируемому раствору, в который опущены индикаторный и стандартный электроды, порциями добавляют титрант и после каждого добавления измеряют электродвижущую силу гальванической цепи. По результатам титрования строят кривую титрования.

Для более точного нахождения объема рабочего раствора в момент эквивалентности пользуются дифференциальной кривой титрования. Её рассчитывают по изменению ЭДС и объема титранта в процессе титрования. График строят в дифференциальных координатах. В этом случае кривая титрования имеет максимум, соответствующий моменту эквивалентности (рис. 42).

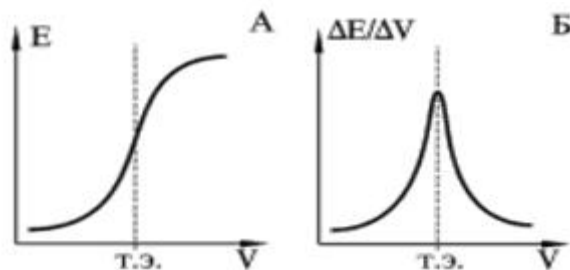


Рисунок 42 – Кривые потенциометрического титрования:

А — кривая титрования сильной кислоты сильным основанием;

Б — дифференциальная кривая титрования.

По кривой титрования находят точку эквивалентности и объем рабочего раствора, который пошел на титрование. На основании закона эквивалентов рассчитывают концентрацию вещества в исследуемом растворе.

Методом потенциометрического титрования анализируют не только истинные растворы, но и мутные, окрашенные, коллоидные системы.

Метод потенциометрии позволяет объяснить механизм генерирования и распространения нервных импульсов, природу реакций биологического окисления и гидролиза. Метод прямой потенциометрии применяют для клинического анализа на ионы H^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , I^- , HS^- и других в биологических жидкостях, растворах лекарственных

препаратов и солевых кровезаменяющих жидкостях, на молекулы глюкозы, мочевины, аминокислот, а также для контроля окружающей среды.

Лабораторная работа №13

РЕАКЦИЯ СРЕДЫ. ВОДОРОДНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ. БУФЕРНЫЕ РАСТВОРЫ

Постоянство концентрации ионов водорода – необходимое условие правильного протекания биохимических процессов. В организме постоянный рН в различных тканях и органах поддерживается буферными системами, а вне организма при проведении биохимических реакций – буферными смесями.

Буферные смеси состоят преимущественно из растворов слабых кислот и их щелочных солей. Они поддерживают постоянный рН, связывая известное количество ионов H^+ и OH^- , образующихся в процессе реакции или специально добавленных. Важнейшими буферными системами крови являются бикарбонатная, фосфатная, белковая и наиболее мощная гемоглобиновая.

1. ЛИМОННО-ФОСФАТНАЯ БУФЕРНАЯ СМЕСЬ

Одной из употребительных буферных смесей является лимоннофосфатная буферная смесь.

Ход работы

0,2 М раствор Na_2HPO_4 готовят из очищенного препарата соли. Соль $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ растворяют при нагревании в 1,3 части воды; раствор фильтруют и охлаждают при помешивании. Осадок отсасывают и высушивают при 36-38°C в течение нескольких дней, контролируя содержание кристаллизационной воды прокаливанием. Препарат точно соответствует формуле дигидрата, когда потери массы при прокаливании составляют $25,28 \pm 0,1\%$. Для приготовления 1 л 0,2 М раствора требуется 35,603 г $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$.

Для приготовления раствора лимонной кислоты пригодна лимонная кислота квалификации ч.д.а. На 1 л 0,1 М раствора требуется 21,008 г лимонной кислоты. Для приготовления буферных смесей в пробирках смешивают буферные растворы в соотношениях, указанных в таблице 6.

Таблица 6 - Приготовление буферных смесей

№	рН	0,2 М раствор Na_2HPO_4 , мл	0,1 М раствор лимонной кислоты, мл
1	2,2	0,20	9,80
2	2,4	0,62	9,38
3	2,6	1,09	8,91
4	2,8	1,58	8,42
5	3,0	2,05	7,95
6	3,2	2,47	7,53
7	3,4	2,85	7,15
8	3,6	3,22	6,78
9	3,8	3,55	6,45
10	4,0	3,85	6,15
11	4,2	4,14	5,86
12	4,4	4,41	5,59
13	4,6	4,68	5,32
14	4,8	4,93	5,07
15	5,0	5,15	4,85
16	5,2	5,36	4,61
17	5,4	5,58	4,42
18	5,6	5,80	4,20
19	5,8	6,05	3,95
20	6,0	6,31	3,69
21	6,2	6,61	3,39

22	6,4	6,92	3,08
23	6,6	7,28	2,72
24	6,8	7,72	2,28
25	7,0	8,24	1,76
26	7,2	8,69	1,31
27	7,4	9,08	0,92
28	7,6	9,36	0,64
29	7,8	9,57	0,43
30	8,0	9,72	0,28

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ pH ИССЛЕДУЕМОГО РАСТВОРА УНИВЕРСАЛЬНЫМ ИНДИКАТОРОМ

Окраска универсального индикатора изменяется в большом интервале pH (4-10,5). Окраска обычных индикаторов изменяется в очень небольшом пределе pH (1,5-2,0). Способность универсального индикатора изменять окраску в большом интервале pH обусловлена тем, что он представляет собой смесь нескольких индикаторов. Ниже приведен состав одного из универсальных индикаторов. Масса индикатора, мг на 100 мл спирта. Состав универсального индикатора:

Метиловый красный 20

Бромтимоловый синий ... 40

Фенолфталеин 80

Ход работы

Пользуясь цветной шкалой, определите pH, сравнивая окраску исследуемого раствора после его смешения с индикатором. 2-3 мл раствора, помещенного в фарфоровую чашечку, смешивают с двумя-тремя каплями универсального индикатора; подбирают одинаковую окраску на цветной шкале.

3. УСТРОЙСТВО И ПРИНЦИП РАБОТЫ pH-МЕТРА

Назначение pH-метр pH-150 промышленный и лабораторный предназначен для оперативного определения активности ионов водорода pH, окислительно-восстановительного потенциала Eh и температуры технологических растворов природных и сточных вод (рис. 43).

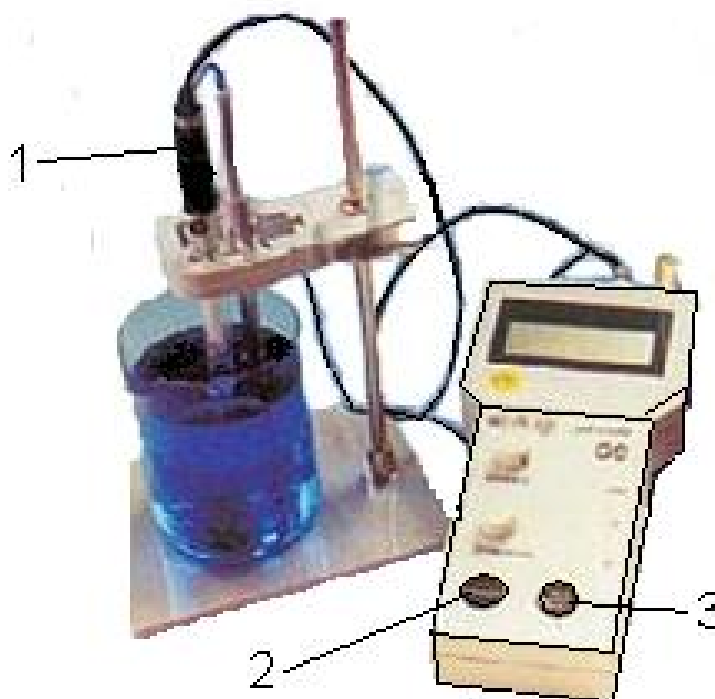


Рисунок 43 – pH-метр pH-150

1- электроды, 2- кнопка переключения режимов измерения, 3- кнопка «сеть»

pH-метр применяется в стационарных и передвижных лабораториях предприятий и научно-исследовательских учреждений химической, металлургической, пищевой, фармацевтической и медико-биологической промышленности, агропромышленном комплексе.

К достоинствам pH-метра pH-150 относят:

- Портативность, быстрота отклика, универсальность, точность, простота использования и обслуживания.
- Возможность измерения pH непосредственно в точке контроля.
- Малые габаритные размеры и вес.
- Автономное питание.
- Широкий диапазон рабочих температур.

Корпус pH метра имеет дисплей, где показаны параметры измерения, кнопку «сеть» (3) и кнопку переключения режимов (2). pH-метр имеет три режима измерения: pH, температуры и окислительно-восстановительного потенциала. pH-метр оснащен двумя электродами 1: стеклянным pH-чувствительным и температурным.

Порядок работы на pH-метре

1. Включить pH-метр в сеть за 15 минут до начала работы.
2. Перед началом работы промыть электрод дистиллированной водой.
3. Погрузить электрод в исследуемый раствор на 1-2 минуты при постоянном помешивании раствора. Нажать кнопку измерение для перехода в режим pH на панели прибора.
4. Нажать кнопку измерение для перехода в другой режим. Вытащить электрод из исследуемого раствора, промыть в дистиллированной воде, промокнуть фильтровальной бумагой.
5. Погрузить электрод в раствор хранения.
6. Выключить pH-метр.

4. СВОЙСТВА БУФЕРНЫХ РАСТВОРОВ

При разведении буферного раствора водой pH практически не меняется. Проверяем pH следующих растворов на pH-метре. Записываем полученные данные в таблицу 7.

Таблица 7 – Экспериментальные данные

Исходный раствор	Значение pH			
	Исходного раствора	при добавлении к 100 мл раствора 1 мл 0,1 М раствора		после 10-кратного разбавления
		HCl	NaOH	
0,1 М HCl				
0,1 М NaOH				
0,1 М CH ₃ COOH + 0,1 М NaCH ₃ COO				
0,1 М NH ₄ OH + 0,1 М NH ₄ Cl				

Объясните, почему растворы хлороводородной кислоты и гидроксида натрия нельзя считать буферными.

Лабораторная работа №14 БУФЕРНАЯ ЕМКОСТЬ. ПРИГОТОВЛЕНИЕ БУФЕРНЫХ РАСТВОРОВ С ЗАДАННЫМ pH

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРНОЙ ЕМКОСТИ

Регулирующее действие буферных растворов на величину pH буферного раствора можно

наблюдать при добавлении к нему определенного количества кислоты или щелочи, а также при его разведении.

1.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ АЦЕТАТНОГО БУФЕРА

Сливают 0,05 н. раствор уксусной кислоты и 0,05 н. раствор уксуснокислого натра в одном из соотношений, указанных в таблице 8:

Таблица 8 – Ацетатный буфер

CH ₃ COOH 0,05 н., мл	CH ₃ COONa 0,05 н., мл	pH
8,8	1,2	3,8
6,3	3,7	4,4
4,0	6,0	4,8
2,1	7,9	5,2

1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРНОЙ ЕМКОСТИ ПО ЩЕЛОЧИ

10 мл полученной смеси отмеряют в стаканчик и потенциометрически, используя стеклянный электрод, точно устанавливают pH раствора. Добавляют 1 мл 0,1 н. раствора NaOH, перемешивают и вновь определяют pH. При очень малых или очень больших сдвигах pH нужно взять новую порцию раствора и соответственно увеличить или уменьшить количество добавляемой щелочи.

Рассчитывают буферную емкость по уравнению: $B = \frac{\Delta b(\text{мг экв})}{\Delta pH(\text{мг})}$

где Δb – количество миллиграмм-эквивалентов добавленной щелочи или кислоты;

$\Delta pH = pH_2 - pH_1$, т. е. разница в величине pH буферного раствора до и после прибавления щелочи.

1.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРНОЙ ЕМКОСТИ ПО КИСЛОТЕ

Буферную емкость раствора по кислоте определяют таким же образом, как и по щелочи, пользуясь 0,1 н. раствором H₂SO₄ или HCl вместо щелочи. То же самое проделывают при добавлении тех же растворов щелочи и кислоты к дистиллированной воде, предварительно определив ее pH.

1.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРНОЙ ЕМКОСТИ ПРИ РАЗВЕДЕНИИ

Влияние разведения на величину pH и буферную емкость раствора определяют при разведении в 2-3 раза. Измеряют величину pH раствора до и после разведения и рассчитывают буферную емкость.

Результаты работы оформляют в виде таблицы 9. Сделайте выводы.

Таблица 9 – Результат эксперимента

Исследуемый раствор	Буферная емкость		
	по щелочи	по кислоте	при разведении
Буферный раствор			
Дистиллированная вода			

2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ БУФЕРНОГО РАСТВОРА С ЗАДАННЫМ pH

Приготовить буферный раствор с pH=4,5. Рассчитать его буферную емкость.

Ход работы

Расчеты следующие:

$$pH = pK_k + \lg \frac{V_c}{V_k},$$

$$pK_k = pK_d(CH_3COOH) = 4,756,$$

$$\frac{V_c}{V_k} = x,$$

$$4,5 = 4,756 + \lg x,$$

$$\lg x = -0,256,$$

$$x = 10^{-0,256} = 0,555,$$

$$\frac{V_c}{V_K} = 0,555,$$

$$V_c = 0,555V_K,$$

$$100 - V_K = 0,555V_K,$$

$$V_K = 64,31 \text{ мл},$$

$$V_c = 100 - 64,31 = 35,69 \text{ мл}.$$

Получили буферный раствор, состоящий из 64,31 мл CH_3COOH 0,2М и 35,69 мл CH_3COONa 0,2М. Готовим раствор и проверяем его pH на pH-метре.

Далее для полученного ацетатного буфера рассчитываем емкость по щелочи методом титрования. Для этого используем раствор 0,05М NaOH. Отбираем аликвоту 5 мл буферного раствора, помещаем в коническую колбу для титрования. Добавляем 4 капли фенолфталеина. Затем титруем раствор до тех пор, пока окраска индикатора станет розовой. Повторяем опыт 3 раза. Вычисляем средний объем титранта, пошедший на титрование.

Например, на титрование пошло 14,1 мл; 13,5 мл и 14,0 мл NaOH. Средняя величина = 13,8 мл.

Рассчитаем буферную емкость по щелочи:

$$B_{\text{щ}} = \frac{9C_{\text{соли}} C_{\text{к-ты}}}{C_{\text{к-ты}} + 10C_{\text{соли}}};$$

$$C_{\text{соли}} = \frac{V_c C_c}{V_{\text{б.р.}}} = \frac{35,69 \cdot 0,2}{100} = 0,07 \frac{\text{моль}}{\text{л}};$$

$$C_{\text{к-ты}} = \frac{V_c C_K}{V_{\text{б.р.}}} = \frac{64,31 \cdot 0,2}{100} = 0,13 \frac{\text{моль}}{\text{л}};$$

$$B_{\text{щ}} = \frac{9 \cdot 0,07 \cdot 0,13}{0,13 + 10 \cdot 0,07} = \frac{0,93}{0,83} = 0,12 \frac{\text{моль}}{\text{л}}.$$

Далее определяем экспериментальное значение буферной емкости, рассчитав по уравнению:

$$B_{\text{эксп}} = \frac{C_T V_T}{V_a};$$

$$B_{\text{эксп}} = \frac{0,05 \cdot 0,0138}{0,005} = 0,138 \frac{\text{моль}}{\text{л}}.$$

Лабораторная работа №15 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

ОПЫТ 1. Количественное определение общего белка и альбумина в сыворотке крови

Метод основан на принципе колориметрического определения альбуминов сыворотки крови в спиртовом растворе после осаждения остальных белков смесью этанола и трихлоруксусной кислоты биуретовой реакцией.

Ход работы

Определение концентрации альбуминов. В центрифужную пробирку, содержащую 1,5 мл 3% раствора ТХУ в 96% этаноле, вносят 0,5 мл исследуемой сыворотки крови, содержимое тщательно перемешивают стеклянной палочкой и спустя 10 мин центрифугируют. Затем 0,2 мл прозрачного центрифугата переносят в химическую пробирку с 2,3 мл 0,85% раствора NaCl. Далее к пробе прибавляют 2,5 мл биуретового реактива, хорошо перемешивают и оставляют на 30 мин в термостате при 37°C для развития окраски.

Фотометрия проводится в фотоэлектроколориметре при зеленом (№2) светофильтре в кюветах с рабочей длиной 10 мм.

Определение концентрации белка. Одновременно 0,1 мл сыворотки вносят в химическую пробирку, содержащую 2,4 мл 0,85% раствора NaCl. Прибавляют 2,5 мл биуретового реактива и далее продолжают так же, как описано для альбуминов.

Стандартизация. Для построения калибровочной кривой готовят 400 мг% раствор альбумина в 0,85% растворе NaCl. В ряд химических пробирок помещают последовательно 0,2; 0,3; 0,5; 1,0; 2,0 и 2,5 мл стандартного раствора БСА, доводят до объема 2,5 мл 0,85% раствором NaCl, прибавляют по 2,5 мл биуретового реактива и заканчивают определение как описано выше.

Приготовленные таким образом пробы соответствуют содержанию белка в исследуемой пробе от 0,8 до 10 г%. Концентрация общего белка в исследуемой сыворотке может быть определена по такой калибровочной кривой. Что касается альбуминов, то их концентрацию, найденную по калибровочной кривой, необходимо удвоить, так как разведение исследуемой сыворотки при определении альбуминов в 2 раза больше, чем при определении общего белка.

ОПЫТ 2. Определение резервной щелочности по методу Раевского

В две пробирки наливают по 2 мл 0,4% раствора хлористого натрия и по 2-3 капли 1% водного раствора индикатора ализаринового красного. Жидкость в пробирке приобретает желтовато-зеленоватый цвет.

В одну из пробирок добавляют 0,2 мл сыворотки крови, в другую – 1 каплю 0,01 н. раствора HCl.

Содержимое пробирки с сывороткой крови оттитровывают 0,01 н. раствором HCl до перехода вишнево-красного цвета в желтый, соответствующий цвету контрольной сыворотки.

Расчет:

$$X = \frac{a \cdot 0,4 \cdot 100}{0,2},$$

где: X – резервная щелочность, мг%;

a – объем 0,01 н. раствора HCl, пошедший на титрование, мл;

0,4 – масса NaOH, соответствующая 1 мл 0,01 н. раствора HCl, мг;

100 – коэффициент пересчета в мг%;

0,2 – объем сыворотки крови, мл.

ОПЫТ 3. Определение кальция по де-Ваарду

Метод основан на осаждении кальция из сыворотки крови раствором щавелевокислого аммония. Выпавший осадок щавелевокислого кальция после отделения и промывания растворяют в концентрированной минеральной кислоте. Количество освободившейся щавелевой кислоты определяют путем титрования перманганатом и рассчитывают массу связанного с ней кальция.

Ход работы

В три центрифужные пробирки наливают по 1 мл дистиллированной воды, а в третью (контрольную, холостой опыт) 2 мл. в первые две переносят пипеткой по 1 мл сыворотки крови. Перемешивают, во все пробирки добавляют по 0,5 мл насыщенного (4%) раствора щавелевокислого аммония, тщательно перемешивают и оставляют стоять в течение 30 мин. После чего центрифугируют содержимое обеих пробирок в течение 10-15 мин при 2500-3000 об/мин. Надосадочную жидкость осторожно не взмучивая осадка сливают, затем края пробирок тщательно протирают фильтровальной бумагой до полного удаления жидкости.

Щавелевокислый кальций остается на дне пробирок в виде белого осадка. К осадку добавляют 4 мл 2% раствора аммиака, встряхивают и снова центрифугируют 10-15 мин. Вынув из центрифуги пробирки, сливают надосадочную жидкость, повторяя остальные операции в том же порядке. Промывание осадка аммиаком повторяют еще раз. После центрифугирования последняя порция надосадочной жидкости тщательно сливается.

К осадку щавелевокислого кальция добавляют 1 мл 1 н. раствора H_2SO_4 , содержимое размешивают стеклянной палочкой и, не вынимая палочки, погружают пробирки на 2-3 мин в горячую водяную баню. Затем горячий раствор титруют 0,01 н. раствором $KMnO_4$ при постоянном помешивании до появления бледно-розового окрашивания, не исчезающего в течение минуты.

Расчет:

$$X = 0,2 (a - e) 100,$$

где: X – содержание кальция, мг%;

0,2 – масса кальция, соответствующая 1 мл 0,01 н. раствора $KMnO_4$, мг;

a – объем раствора KMnO_4 , пошедший на титрование испытуемого раствора, мл;

b – объем раствора KMnO_4 , пошедший на титрование контроля, мл;

100 – коэффициент пересчета в мг%.

ОПЫТ 5. Определение кальция трилонометрическим методом с флуорексоном.

Метод основан на способности флуорексона в щелочной среде (рН выше 13) образовывать с кальцием флуоресцирующее комплексное соединение зеленого цвета. При титровании трилоном Б флуорексон освобождается с восстановлением в точке эквивалентности первоначального розового цвета, а трилон Б с кальцием дает прочное комплексное соединение.

Ход работы

РЕАКТИВЫ:

- 0,1 н. раствор KOH ;

- Основной 0,1 М раствор трилона Б (37,21 г реактива растворяют в 1 л бидистиллированной воды).

- Рабочий 0,001 М раствор трилона Б (свежий). Готовят из основного непосредственно перед определением.

- Смесь флуорексона с KNO_3 в соотношении 1:100.

- Стандартный основной раствор кальция. 2,495 г высушенного углекислого кальция растворяют в 30 мл конц. HCl и доводят до 1 л бидистиллированной водой. В 1 мл содержится 1 мг кальция.

- Стандартный рабочий раствор кальция. 100 мл основного раствора доводят до 1 л бидистиллированной водой. В 1 мл содержится 0,1 мг кальция.

В две пробирки вносят по 1 мл 0,1 н. раствора KOH и несколько кристаллов индикаторной смеси. Титруют рабочим раствором трилона Б до исчезновения зеленой и появления бледно-розовой окраски. В одну пробирку прибавляют 0,1 мл сыворотки крови, а в другую 0,1 мл стандартного раствора кальция и снова титруют рабочим раствором трилона Б до исчезновения зеленого и появления светло-розового окрашивания.

Расчет:

$$X = \frac{a}{b} 10,$$

где: X – содержание кальция в сыворотке крови, мг%;

a – объем 0,001 М раствор трилона Б, пошедшего на титрование 0,1 мл сыворотки крови, мл;

b – объем 0,001 М раствор трилона Б, пошедшего на титрование 0,1 мл рабочего стандартного раствора кальция, мл;

10 – масса кальция в рабочем стандартном растворе, мг%.

ОПЫТ 6. Определение кальция комплексонометрическим методом

РЕАКТИВЫ

- 0,01 н. раствор трилона Б. готовят из фиксанала. В случае его отсутствия взвешивают 1,861 г трилона Б и растворяют в 1 л дистиллированной воды.

- Раствор мурексида. 0,1 г мурексида растворяют в 199 мл дистиллированной воды. Для работы используют свежеприготовленный раствор.

- 10% раствор NaOH .

В коническую колбу вносят 25 мл дистиллированной воды и 1 мл сыворотки крови, добавляют 1 мл 10% раствора NaOH и перемешивают. Вносят 7 капель раствора мурексида и титруют 0,01 н. раствором трилона Б до тех пор, пока розовый цвет не перейдет в фиолетовый.

Расчет:

$$X = a 0,2 100,$$

где: X – содержание кальция в сыворотке крови, мг%;

a – объем 0,01 н. раствора трилона Б, пошедший на титрование, мл;

0,2 – масса кальция, соответствующая 1 мл 0,01 н. раствора трилона Б, мг;

100 – коэффициент пересчета в мг%.

ОПЫТ 7. Определение неорганического фосфора

Метод основан на способности фосфора с молибдатом аммония в присутствии этилового спирта образовывать желтое окрашивание.

РЕАКТИВЫ

1. Стандартный раствор фосфора (основной). 2,197 г химически чистого однозамещенного фосфорнокислого калия (KH_2PO_4), предварительно высушенного в эксикаторе над серной кислотой, растворяют в 500 мл дистиллированной воды. Затем добавляют 2,5 мл хлороформа. В 1 мл основного раствора содержится 1 мг фосфора.

2. Рабочие стандартные растворы.

I раствор (3 мг%) – 3 мл основного раствора разводят водой до 100 мл, добавляют 0,5 мл хлороформа. В 1 мл содержится 0,03 мг фосфора.

II раствор (6 мг%) – 6 мл основного раствора разводят водой до 100 мл, добавляют 0,5 мл хлороформа. В 1 мл содержится 0,06 мг фосфора.

III раствор (9 мг%) – 9 мл основного раствора разводят водой до 100 мл, добавляют 0,5 мл хлороформа. В 1 мл содержится 0,09 мг фосфора.

3. 10% раствор молибденовокислого аммония на 8 н растворе H_2SO_4 .

Ход анализа

1 мл сыворотки крови отмеривают в пробирку, содержащую 3 мл дистиллированной воды. Добавляют 1 мл 20% ТХУ и тщательно перемешивают. Дают постоять 10 мин, затем фильтруют через беззольный фильтр. 1,5 мл фильтрата, соответствующее 0,3 мл сыворотки крови, переносят в пробирку, прибавляют 3 мл этилового спирта и хорошо перемешивают. Непосредственно перед спектрофотометрированием добавляют 0,4 мл 10% раствора молибденовокислого аммония, тщательно перемешивают и фотометрируют в ультрафиолете при 390 мкм. При работе на ФЭК используют синий светофильтр (№3) и кюветы с рабочей длиной 10 мм. В параллельные кюветы помещают дистиллированную воду.

Для каждой серии анализов строят калибровочную кривую, используя рабочие стандартные растворы. Их обрабатывают так же, как и сыворотку крови (табл.10).

Таблица 10 – Схема построения калибровочной кривой

Номера рабочих стандартных растворов	Стандартный рабочий раствор, мл	Вода дистиллированная, мл	20% ТХУ, мл	Тщательно перемешать	Смесь стандартной воды и ТХУ, мл	Этиловый спирт	10% раствор молибденовокислого аммония, мл	мг% неорганического фосфора
I	1	3	1		1,5	3	0,4	3
II	1	3	1		1,5	3	0,4	6
III	1	3	1		1,5	3	0,4	9

ОПЫТ 8. Рефрактометрическое определение содержания молочного сахара

Метод основан на зависимости показателя преломления света от содержания в растворе молочного сахара. Для этой цели из молока предварительно выделяют сыворотку, в которой определяют показатель преломления. Определение производится при постоянной температуре.

Существует несколько систем рефрактометров. Принцип действия прибора базируется на использовании явления преломления света. При переходе из одного вещества в другое луч света отклоняется от прямолинейного направления на некоторый угол. Соотношение угла входа луча света в вещество и угла преломления его на границе раздела двух сред называется коэффициентом (показателем) преломления.

Строение рефрактометра следующее (рис.44):

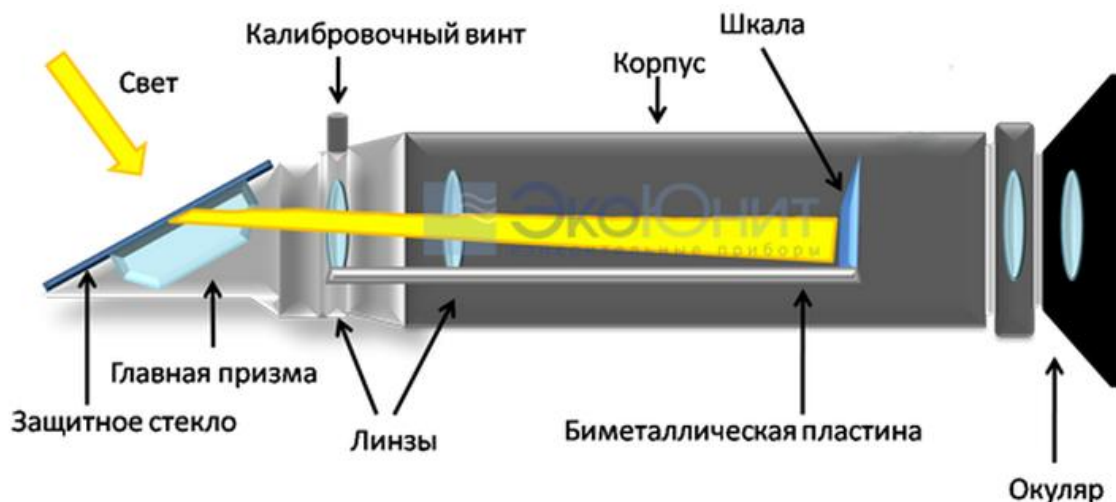


Рисунок 44 – Строение рефрактометра

Основной оптический элемент – главная призма, на которую наносится исследуемое вещество, состоящая из материала с высоким показателем преломления.

Благодаря этому, падающий свет, проходя через вещество и призму, преломляется под достаточно большим углом. Далее, через систему оптических линз свет падает на шкалу рефрактометра (проградуированную окружность). В зависимости от угла преломления луч света оказывается выше или ниже на шкале прибора. Освещенная часть шкалы при этом будет светлой, та часть, на которую луч света не падает, окажется темной. Величина угла преломления света зависит от состава раствора и его концентрации. Таким образом, по положению границы раздела между светом и тенью можно однозначно определить коэффициент преломления или оптическую плотность исследуемого раствора.

Проведение измерений

Перед проведением измерения ручной рефрактометр необходимо откалибровать. Для калибровки большинства рефрактометров используется дистиллированная вода. На главную призму с помощью пипетки наносится несколько капель воды, затем закрывается защитное стекло (без пузырьков воздуха!). Далее с помощью калибровочного винта на шкале прибора выставляется значение 0,0. После калибровки призму нужно аккуратно протереть фильтровальной бумагой. Теперь рефрактометр готов к измерениям.

Для проведения измерений производятся те же действия, что и при калибровке, но вместо дистиллированной воды на призму наносится исследуемый раствор. Калибровочный винт при этом остается в своем первоначальном положении. После нанесения раствора необходимо подождать 30 с для того, чтобы температура раствора сравнялась с температурой прибора. Затем рефрактометр направляют на источник света и снимают показания.

После проведения измерений призму снова нужно протереть фильтровальной бумагой.

Ход работы

Отмеряют в толстостенную пробирку 5 мл исследуемого молока. В молоко вносят 5-6 капель 4% раствора CaCl_2 . Закрывают пробкой с газоотводной трубкой, перемешивают и ставят в кипящую водяную баню на 10 мин.

Вынув пробирку из бани, охлаждают раствор до 15° . Отбирают пипеткой небольшое количество сыворотки. Каплю сыворотки наносят на нижнюю призму рефрактометра после калибровки дистиллированной водой. При помощи зеркала направляю луч света в верхнюю призму. Наблюдают через окуляр, вращением рычажка устанавливают четкость контуров и устраняют радужную границу светотени.

Передвижением окуляра добиваются совпадения границ света и тени с указателем в поле зрения. Указатель имеет вид круга с точкой или пунктиром посередине.

По левой шкале рефрактометра производят отсчет, показывающий коэффициент преломления. Используя коэффициент, по таблице 10 определяют концентрацию лактозы в молоке.

Таблица 11 – Массовая доля лактозы в молоке, соответствующая коэффициенту преломления

Коэффициент преломления	$\omega_{\text{лактозы, \%}}$	Коэффициент преломления	$\omega_{\text{лактозы, \%}}$	Коэффициент преломления	$\omega_{\text{лактозы, \%}}$
1,3390	3,88	1,3400	4,39	1,3410	4,85
1,3391	3,93	1,3401	4,44	1,3411	4,90
1,3392	3,98	1,3402	4,49	1,3412	4,95
1,3393	4,03	1,3403	4,52	1,3413	5,00
1,3394	4,08	1,3404	4,56	1,3414	5,05
1,3395	4,13	1,3405	4,60	1,3415	5,10
1,3396	4,19	1,3406	4,65	1,3416	5,15
1,3397	4,24	1,3407	4,70	1,3417	5,20
1,3398	4,29	1,3408	4,75	1,3418	5,25
1,3399	4,34	1,3409	4,80	1,3419	5,30

Провести аналогичный опыт с сывороткой, полученной флуккуляцией с МЦ.

Лабораторная работа №16 ФОТОМЕТРИЯ. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ

Теоретические основы фотометрии. Закон Бугера-Ламберта-Бера

Фотометрия – метод анализа, позволяющий количественно определять содержание компонента в пробе на основании измерения энергетических характеристик поля излучения (от «φωτόс» (греч) – цвет и «μετρέω» (греч) – измеряю).

Фотометрированию подвергаются окрашенные растворы. Если же определяемый компонент не окрашен, то его окрашивают введением реагента, дающего с неокрашенным определяемым компонентом цветное соединение.

Так, например, при фотометрическом определении бесцветного раствора белка его обрабатывают биуретовым реактивом, с которым вещества, содержащие пептидную связь, дают фиолетовое окрашивание (рис. 45).

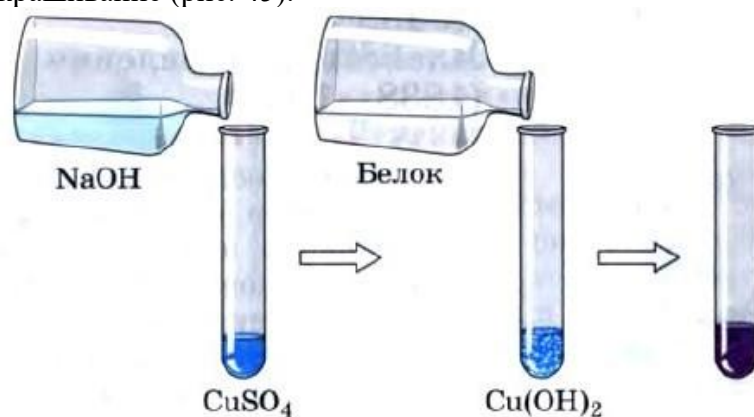


Рисунок 45 – Биуретовая реакция на пептиды и белки

Окрашенные соединения уже возможно определять фотометрически.

Стандартным (образцовым) раствором называют растворы с точной концентрацией, используемые для сравнения с анализируемым раствором или для построения калибровочного графика, по которому впоследствии находят содержание определяемого компонента в фотометрируемой пробе.

Интенсивность окраски раствора находится в прямой зависимости от концентрации окрашенного вещества и от толщины слоя раствора (рис. 3.1). Эта зависимость выражается **основным законом фотометрии – законом светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера.**

Растворы одного и того же окрашенного вещества при одинаковой концентрации этого вещества и толщине слоя раствора поглощают равное количество световой энергии, то есть светопоглощение таких растворов одинаковое:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon \cdot C \cdot l} \text{ или } \frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon \cdot C \cdot l}$$

где I – интенсивность светового потока, прошедшего через раствор,
 I_0 – интенсивность падающего на раствор светового потока,
 ε – молярный коэффициент поглощения света, постоянная величина,
 C – молярная концентрация окрашенного вещества, моль/л,
 l – толщина слоя раствора, см.

Если пучок лучей белого света с интенсивностью I_0 пропустить через стеклянную кювету, наполненную окрашенным прозрачным раствором, то после прохождения кюветы интенсивность света станет равной I и будет меньше, чем I_0 ($I < I_0$). Интенсивность света ослабеет вследствие нескольких причин: из-за отражения на границах фаз «воздух – стекло», «стекло – раствор», рассеивания от неизбежно присутствующих в растворе взвешенных частиц и, главным образом, в результате поглощения лучистой энергии окрашенными частицами. Причем, чем больше концентрация окрашенного вещества в растворе, тем интенсивнее его окраска, тем большее количество света поглотит такой раствор. Вот почему интенсивность излучения I , прошедшего через кювету с окрашенным раствором и попадающего на сетчатку глаза человека (визуальная колориметрия) или на чувствительный прибор – фотоэлемент (фотоэлектроколориметрия, спектрофотометрия), будет меньше интенсивности пучка света I_0 , входящего в кювету. Степень поглощения окрашенными растворами волн падающего света различной длины неодинакова. Поглощение лучистой энергии раствором в видимой и ультрафиолетовой областях спектра селективно и зависит от свойств поглощающих молекул или ионов.

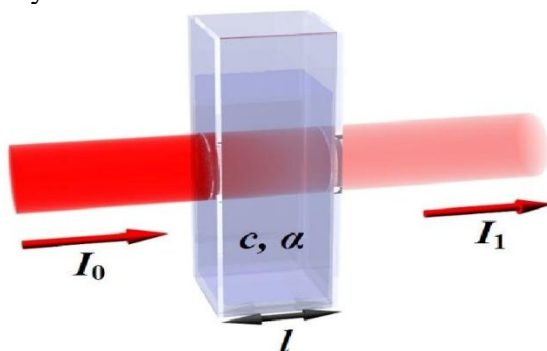


Рисунок 46 – Схема прохождения света через кювету с окрашенным раствором

По мере увеличения концентрации окрашенного вещества (C) и толщины его слоя (l , толщины кюветы, см) интенсивность потока света I , прошедшего через поглощающий раствор, уменьшается по сравнению с интенсивностью падающего света I_0 .

D – **оптическая плотность** (или **абсорбция А**) раствора – величина, характеризующая интенсивность окраски раствора в фотометрии – прямо пропорциональна молярной концентрации окрашенного вещества C и толщине слоя раствора l :

$$D = \varepsilon \cdot C \cdot l = A$$

Это же выражение называют также **погашением**, или **экстинкцией** раствора.

Если концентрация окрашенного раствора $C = 1$ моль/л и длина кюветы (а следовательно и слоя окрашенного раствора) $l = 1$ см, то $D = \varepsilon$.

Коэффициент ε – это оптическая плотность окрашенного раствора толщиной $l = 1$ см с концентрацией 1 моль/л, называемый **молярным коэффициентом светопоглощения раствора**.

Иногда вместо оптической плотности D оперируют понятием светопропускания раствора T , называемой также **прозрачностью**.

Величина, обратная оптической плотности (абсорбции, погашению, экстинкции раствора) называется прозрачностью.

Прозрачность (или пропускание) раствора T – это отношение интенсивности света, прошедшего через раствор, к интенсивности падающего света:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Прозрачность часто выражается в процентах путем умножения на 100.

Область применения закона Бугера-Ламберта-Бера ограничена и дает хорошие результаты

лишь для достаточно разбавленных растворов. Невозможность широкого применения закона

Бугера-Ламберта-Бера обусловлена следующими факторами:

- Влиянием колебаний температуры.
- Эффектами вследствие разбавления растворов.
- Наличием посторонних электролитов в растворе и их влияния.

Колебаниями pH, оказывающими существенное влияние на диссоциацию, комплексообразование, гидролиз и другие процессы, происходящие в растворах.

Методы фотометрии

Основными методами фотометрии являются колориметрия, фотоэлектроколориметрия и спектрофотометрия. Колориметрия, фотоэлектроколориметрия и спектрофотометрия базируются на основном законе фотометрии – законе светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера³¹, но если колориметрия и фотоэлектроколориметрия основаны на измерении поглощения света окрашенными растворами в видимой части спектра, то спектрофотометрия использует не только видимую часть спектра, но и примыкающие к ней ультрафиолетовый и инфракрасный участки спектра, то есть диапазон используемых спектрофотометрией волн много шире диапазона волн, который используют колориметрия и фотоэлектроколориметрия.

Фотоэлектроколориметрия

В отличие от визуальной колориметрии, где результат анализа был невысок и в значительной степени являлся субъективным, в фотоэлектроколориметрии интенсивность окраски цветного раствора измерялась прибором фотоэлектроколориметром, и результат фотометрических определений оказывался более точным.

Фотоэлектроколориметрия – фотометрический метод анализа, количественно определяющий содержание компонента в пробе на основании измерения оптической плотности окрашенных растворов специальными приборами – фотоэлектроколориметрами.

Фотоэлектроколориметр определяет интенсивность окраски цветного раствора с помощью фотоэлемента.

Фотоэлемент – слой полупроводника (сульфид серебра, селен и др.) – прибор, в котором световая энергия преобразуется в электрическую.

Преобразование световой энергии в электрическую в фотоэлементе связано с явлением фотоэффекта.

Фотоэффект – это отрыв электронов от атомов различных веществ под влиянием световой энергии.

В результате фотоэффекта возникает фотоэлектрический ток, величина которого прямопропорциональна падающему лучистому потоку. В связи с этим отношение интенсивностей потоков в математическом выражении закона Бугера-Ламберта-Бера может быть заменено отношением фототоков. Фотоэлектроколориметры (ФЭКи) – приборы с двумя фотоэлементами, включенными по принципу противотока, спектрофотометры – приборы с одним фотоэлементом.

Световой поток, попадая на фотоэлемент, возбуждает в нем электрический ток, который регистрируется включенным в цепь чувствительным гальванометром (или амперметром), отклонение стрелки которого пропорционально освещенности фотоэлемента. Помышленностью выпускались разные модели фотоэлектроколориметров. Хорошо зарекомендовали себя фотоэлектроколориметры серии КФК (рис. 47) и серии ФЭК (ФЭК, ФЭКН, ФЭК-М, ФЭК-52, ФЭК-56, ФЭК-56М, ФЭК-60; рис. 48).



Рисунок 47 – Фотоэлектроколориметр КФК-2

1 – шкала микроамперметра, 2 – ручка переключения светофильтров, 3 – ручка перемещения кювет, 4 – ручка включения фотоприемников, 5 – ручка установки 100%-го светопропускания, 6 – крышка кюветного отделения

Устройство и принцип работы фотоэлектроколориметров серии КФК

Принцип работы фотоэлектроколориметров серии КФК можно пояснить на его оптической схеме, представленной на рис. 3.8.

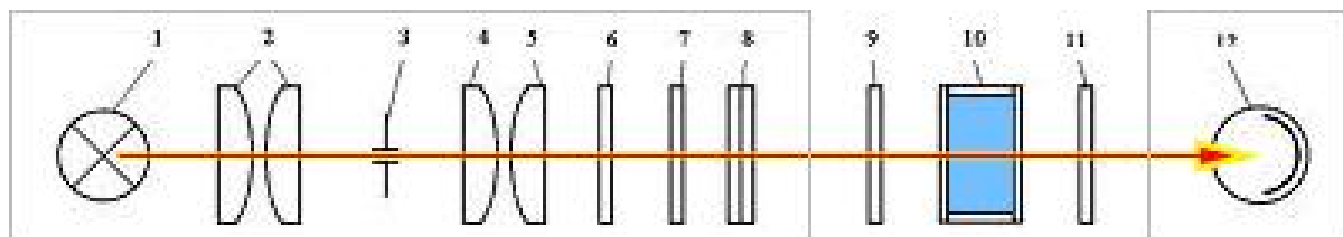


Рисунок 48 – Оптическая схема фотоэлектроколориметра КФК-2

Свет от малогабаритной лампы (1) проходит последовательно через систему линз со щелью (2,3,4,5) теплозащитный (6), нейтральный (7) и цветной (8) светофильтры, ограждающие стёкла (9,11), а между ними – специальный сосуд (оптическую кювету) с исследуемым раствором (10) и попадает на улавливающий фотэлемент (12), создающий слабый или сильный фототок в зависимости от количества попадающего на него света. Смена сосудов с эталонным и исследуемым растворами в этом колориметре производится лаборантом вручную, а измерение светопропускания производится косвенно – по показаниям миллиамперметра.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ И ПОЛИПЕПТИДОВ ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ БИУРЕТОВЫМ МАКРОМЕТОДОМ

Метод основан на биуретовой реакции, которая является показателем наличия пептидных связей в соединении.

Диапазон определяемых концентраций белка 0,2...1,0%.

Фотоколориметрирование проводится при длине волны 540 нм, рабочая длина кюветы 1 см. Для концентрации белка меньше 0,2% применяется фотоколориметрический биуретовый микрометод, где используется модифицированный биуретовый реактив Бенедикта.

Оборудование, реактивы:

Фотоколориметр; кюветы; раствор белка сывороточного альбумина стандартный (1%-й); водные вытяжки из мышечной ткани; реактив биуретовый.

Для приготовления биуретового реактива 0,15 г $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ и 0,6 г $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \times 4\text{H}_2\text{O}$ (виннокислый калий или сегнетова соль) растворяют в 50 мл H_2O при энергичном перемешивании, приливают 30 мл 10%-го раствора NaOH , добавляют 0,1 г KJ , раствор доводят водой до 100 мл.

Порядок выполнения работы:

В чистую пробирку помещают 1 мл раствора водорастворимого белка неизвестной концентрации или вытяжки, добавляют 4 мл биуретового реактива. Пробу перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин, образуется сине-фиолетовый комплекс.

Фотоколориметрирование комплекса проводится при длине волны 540 нм и рабочей длине кюветы 1 см. Сравнивая значения оптической плотности неизвестного раствора белка (D) с калибровочным графиком, определяют неизвестную концентрацию раствора белка, делают выводы.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО БЕЛКА ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ БИУРЕТОВЫМ

Фотоколориметрический биуретовый микрометод позволяет определить содержание белка от 0,1 до 2 г/л (0,01-0,2%).

Для определения применяется модифицированный биуретовый реактив Бенедикта. Фотоколориметрирование проводят при длине волны 315 нм и рабочей длине кюветы 1 см.

Оборудование, реактивы:

Фотоколориметр; кюветы; раствор белка (сывороточный альбумина) стандартный ($c = 2$ г/л); гидроксид натрия (6%-й раствор); реактив Бенедикта.

Приготовление реактива Бенедикта: для получения раствора 1 в небольшом количестве воды растворяют при нагревании 17,3 г цитрата натрия и 10 г карбоната; для получения раствора 2 растворяют в 10 мл воды 1,73 г медного купороса. Раствор 2 добавляют в раствор 1 и доводят теплой водой до 100 мл.

Порядок выполнения работы:

Помещают в пробирку 2 мл раствора исследуемого белка, добавляют 2 мл 6%-й раствора NaOH и 0,2 мл реактива Бенедикта.

Смесь перемешивают и оставляют на 15 мин. Фотоколориметрирование пробы проводят при длине волны 315 нм и рабочей длине кюветы 1 см. По калибровочному графику определяют содержание белка в исследуемом растворе. Построение калибровочного графика проводится по указанию преподавателя.

Лабораторная работа №17

Методы исследования. Фотометрия и спектрофотометрия. Колориметрия.

Электрофоретические методы Волновые и корпускулярные характеристики электромагнитного излучения Классификация спектроскопических методов

Особенности и преимущества спектрофотометрического метода анализа (молекулярная абсорбционная спектроскопия)

Визуальные методы

В визуальных методах человеческий глаз оценивает окраску исследуемого образца путем сравнения со стандартом. Визуальные методы относятся к колориметрическим методам (колориметрия — измерение цвета).

Визуальные методы включают в себя ряд способов. Некоторые из них представлены на рисунке 49.

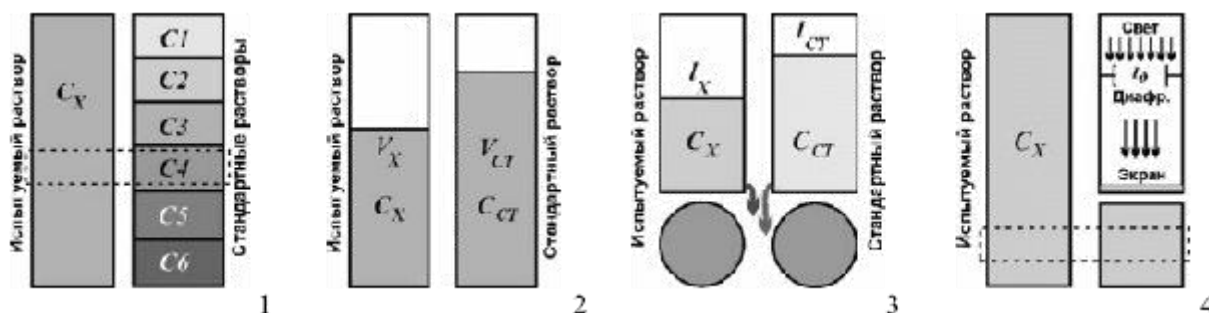


Рисунок 49 – Визуальные методы колориметрии

1 – метод цветowych шкал (стандартных серий); 2 – метод разбавления; 3 – метод уравнивания интенсивности окраски; 4 – метод диафрагм или оптического клина

В методе цветовой шкалы приготавливают серию стандартных растворов с различной концентрацией вещества (с различной окраской растворов). Для этого проводят цветную реакцию вещества с известной максимальной концентрацией в нескольких пробирках. Затем добавляют в пробирки различное количество воды, разбавляя цветные растворы до различных концентраций вещества (интенсивностей цвета). Для исследуемого образца вещества проводят цветную реакцию и определяют концентрацию, сравнивая цвет полученного раствора с Цветами стандартных растворов. Данный способ широко используется при полуколичественной оценке содержания ряда метаболитов в моче с помощью тест-полосок, когда окраска тест-полоски сравнивается с цветной шкалой, нанесенной на тубу.

В методе разбавления исследуемый и стандартный (с известной концентрацией) растворы (примерно одинаковой концентрации) наливают в прозрачные градуированные пробирки. Наблюдая окраску, добавляют растворитель в пробирку с более окрашенным раствором до тех пор, пока цвета пробирок, то есть концентрации, не уравниваются. Искомое содержание вещества находят из условия: $C_x = a_x/v_x = C_{cm} = a_{cm}/v_{cm}$, откуда $a_x = a_{cm} * v_x/v_{cm}$.

Метод уравнивания интенсивности окраски состоит в сравнении стандартного и испытуемого растворов разной толщины. Для этого наливают эти растворы в стеклянные цилиндры с плоскими доньями и наблюдают окраску сверху сквозь толщу растворов и, сливая более интенсивно окрашенный раствор, добиваются одинаковой интенсивности окраски в обоих цилиндрах. Искомую концентрацию можно найти из соотношения $C_x = C_{cm} * l_{cm}/l_x$.

Уравнивания световых потоков можно достигнуть также в методе диафрагм или оптического клина, сравнивая интенсивность окраски раствора с экраном с подходящей окраской. Освещенность экрана изменяется при изменении ширины диафрагмы, которая имеет соответствующую шкалу. Вместо диафрагмы можно использовать стеклянный световой клин, у которого интенсивность окраски зависит от участка клина. Перемещая клин вдоль диафрагмы максимального размера, добиваются совпадения окраски раствора и экрана.

В связи с индивидуальными, неповторяющимися свойствами глаза, визуальные измерения субъективны и характеризуются относительно большой ошибкой. Человеческий глаз довольно быстро устает, поэтому при выполнении больших серий визуальных определений точность измерения непрерывно уменьшается. Кроме того, производительность таких исследований крайне мала. Несоответствие визуальных методов современным требованиям к точности биомедицинских измерений привело к их вытеснению из медицинской практики фотоэлектрическими методами.

В то же время некоторые методы визуальной колориметрии весьма просты, используют несложное оборудование (часто без электропитания) и недорогие расходные материалы.

Поэтому международные организации здравоохранения сохранили эти методы для исследования анемий у населения в некоторых труднодоступных районах Африки (Anemia Detection Methods in Low-Resours Settings: A Manual Fof Health Workers. December 1997. U. S. Agency for International Development USAID).

Определение гемоглобина по цвету цельной капиллярной крови



Рисунок 50 – Набор фильтрационной бумаги WHO HEMOGLOBIN COLOR SCALE

Наиболее простым является скрининговый полуколичественный тест на анемию с помощью полосок специальной фильтрационной бумаги из набора WHO HEMOGLOBIN COLOR SCALE, разработанного ВОЗ в 1997 году (рис.50). Содержание гемоглобина оценивается по цвету капли цельной капиллярной крови, помещаемой на бумагу (рис. 51).

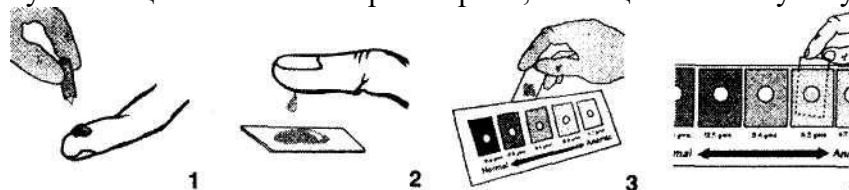


Рисунок 51 – Определение гемоглобина по цвету цельной крови.

Цифрами указан порядок постановки теста.

Цвет крови определяется методом сравнения со шкалой цветности, имеющейся в наборе. Для такого определения не нужны реагенты, не нужно лизирование, электрическое питание. К достоинствам метода относится также портативность. Чувствительность и специфичность метода составляет 90%. Тест дает результат в течение нескольких секунд.

Определение гемоглобина методом Сали

От прибавления к крови соляной кислоты гемоглобин превращается в хлоргемин (солянокислый гематин, гематин-хлоргидрат) коричневого цвета. Интенсивность цвета определяется количеством НЬ в крови. Определение производится в упрощенном колориметре, называемом гемометр Сали (рис. 52), следующим образом: в трубочку гемометра наливают п/10 соляной кислоты до 10 деления. Гемоглобиновой пипеткой, емкостью 0,02 мл набирают капиллярную кровь, переносят в солянокислый раствор в трубочку, перемешивают и получают гематин коричневого цвета. Интенсивность окрашивания зависит от времени реакции. Через строго определенное время реакция прерывается вливанием дистиллированной воды. Затем воду добавляют каплями (перемешивая раствор) до тех пор, пока цвет пробирки не выровняется с цветом стеклянных стандартов, расположенных с двух сторон от трубочки. Когда цвет раствора сравнивается со стандартом, отсчитывают уровень жидкости в трубочке по шкале, проградуированной в единицах концентрации гемоглобина.

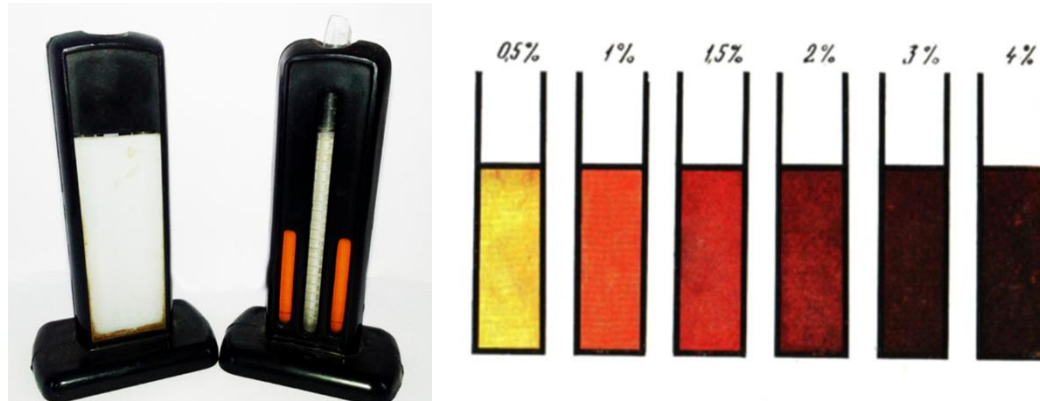


Рисунок 52 – Гемометр Сали

Метод Сали обладает рядом источников ошибок.

1. «Гематиновая ошибка» — цвет хлоргемина зависит от посторонних факторов, особенно от количества и характера плазматических белков.

2. Нестабильность цвета цветных стандартов, которые со временем «бледнеют» на свету. Это приводит к завышенным результатам измерений. Чтобы этого избежать, необходимо время от времени проверять гемометр, калибруя его другими, более надежными методами. При смене трубочки также требуется перепроверка гемометра.

3. Неточность соблюдения времени реакции.

4. Субъективность оценки интенсивности окраски.

Величина ошибки метода Сали находится в пределах от 10 до 30%. Достоинством метода относится использование портативного прибора без электрического питания.

Определение гемоглобина оксигемоглобиновым или гемиглобинцианидным методами на компараторе цвета

В этом методе цвет гемоглобина, трансформированного в оксигемоглобин или гемиглобинцианид посредством соответствующих трансформирующих растворов, сравнивается с цветом цветных стеклянных стандартов, расположенных на вращающемся диске компаратора

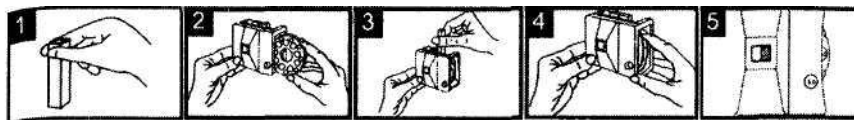


Рисунок 53 – Процедура определения гемоглобина на компараторе

Процедура определения гемоглобина состоит в следующем:

1. В пробирке (или кювете) проводится цветная оксигемоглобиновая или гемиглобинцианидная реакция.
2. В компаратор помещается диск с цветными стеклянными стандартами, соответствующими методу приготовления цветного раствора.
3. Пробирка с цветным раствором помещается в компаратор.
4. Вращая диск, подбирают стеклянный стандарт с цветом, совпадающим с цветом раствора.
5. Значение концентрации считывают в окошке компаратора (справа внизу).

Описанный метод требует точного дозирования 0,02 мл крови, точного дозирования трансформирующих растворов. Погрешность определения цвета обусловлена 9 градациями цветовых стандартов.

Достоинство компаратора в его портативности и отсутствии электрического питания.

Определение гемоглобина сапониновым методом на гемоглобинометре с серым оптическим клином

Гемоглобинометр BMS содержит в качестве стандарта оптический серый клин с плавно изменяющейся интенсивностью окраски. Капля капиллярной крови наносится на стеклянную пластину (рис. 54) и перемешивается деревянной палочкой, пропитанной раствором сапонины и ЭДТА, в течение минуты до полного лизирования крови. Затем пластина помещается в прибор и наблюдается в окуляре прибора в свете миниатюрной лампочки. Окраска пробы сравнивается с окраской оптического клина, который перемещается пальцем за рычажок до совпадения интенсивностей цвета. Положение рычажка на шкале концентраций дает результат измерения.

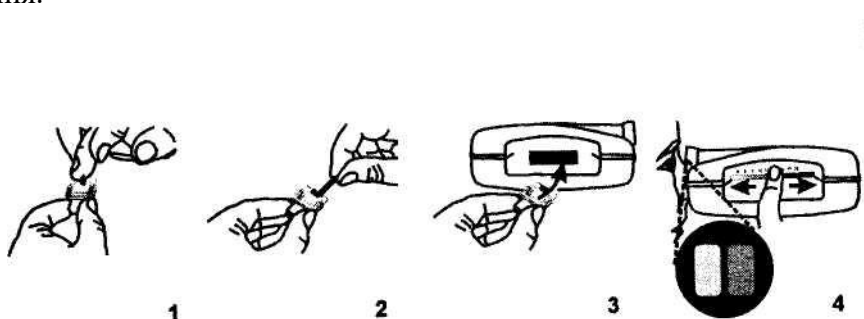


Рисунок 54 – Определение гемоглобина на гемоглобинометре с оптическим клином

Портативный гемоглобинометр BMS питается от батарей 1,5 В. Чувствительность метода 77,5%, специфичность 96%. Погрешность определения гемоглобина около 5%.

Лабораторная работа №18

Электрофоретические методы. История открытия, Особенности метода Модификации. Применение в сфере современной медицины

Информативность и экономичность – важнейшие требования к лабораторным исследованиям, которые приходится учитывать как в отечественной, так и в зарубежной практике. Одним из достаточно информативных лабораторных тестов, используемых в настоящее время, является электрофорез белков биологических жидкостей (сыворотка крови, моча, спинномозговая жидкость и др.), который позволяет получить значительную диагностическую информацию. К сожалению, в большинстве лабораторий нет необходимых приборов. В то же время часть лабораторий, имеющих оборудование для электрофореза, им зачастую не пользуется из-за поломок, отсутствия расходных материалов или, как нередко бывает, невостребованности этого типа анализов лечащими врачами вследствие их недостаточной осведомленности о современных возможностях и клинической значимости этого метода. Исследование белкового и липопротеинового спектра сыворотки крови особенно значимо для диагностики патологических состояний, сопровождающихся нарушениями обмена белков и дислипидемиями. При многих заболеваниях в сыворотке крови изменяется соотношение отдельных белков (диспротеинемия), хотя общее содержание белка может остаться нормальным.

В настоящее время известно более 150 индивидуальных сывороточных белков; значительную часть из них можно количественно определить современными иммуноферментными, иммунохемилюминесцентными и иммунотурбидиметрическими методами. Но при всей информативности и доказательности таких анализов пока они в основном малодоступны из-за сравнительной дороговизны: себестоимость одного количественного определения апопротеинов, антитрипсина или иммуноглобулинов составляет от 2 до 8 долларов США. Вместе с тем типовые сдвиги белкового состава сыворотки крови можно определить гораздо более доступным электрофоретическим методом, который к тому же позволяет "одним взглядом" оценить общую картину белкового спектра и получить значимую диагностическую информацию.

Принцип электрофоретического разделения молекул состоит в их движении с различной скоростью в постоянном электрическом поле. Наиболее часто в клинической практике используется электрофорез на поддерживающих средах-носителях – хроматографической бумаге, ацетатцеллюлозных мембранах, различных гелях, а также на комбинированных средах. Электрофорез на бумаге до недавнего времени широко применялся во многих лабораториях, однако он имеет много недостатков. Основной из них – в том, что результаты фракционирования белков этим методом могут быть получены лишь на 2-3 день исследования. Электрофорез в агарозном, крахмальном и особенно в полиакриламидном геле дает существенно лучшие результаты, позволяя идентифицировать большее количество белковых фракций сыворотки (до 30), но и ему присущи недостатки – сложность приготовления геля или дороговизна готовых гелевых пластин. Использование мембран из ацетата целлюлозы позволяет достигнуть компромисса и использовать их главные особенности – однородность материала, очень малую емкость слоя, требующую микроколичеств пробы (0,4–2,0 мкл), быстроту разделения и окраски белков (20-80 мин), легкость отмывания фона, а также относительно низкую стоимость пленок и их доступность. В целом применение ацетатцеллюлозных мембран позволяет повысить четкость фракционирования и значительно сократить время, требуемое для разделения, окраски и анализа.

Знак и величина электрического заряда молекул белков сыворотки крови, а значит, направление и скорость их движения при электрофоретическом разделении, зависят от значения pH и ионной силы среды. Кроме того, скорость движения белковых молекул определяется их молекулярной массой, ионным окружением (составом и концентрацией буфера), приложенным напряжением и другими факторами. В связи с этим для получения сопоставимых данных электрофорез должен осуществляться при строго определенных значениях указанных параметров. В буферном растворе с pH=8,6 или 8,9 и ионной силой 0,08–0,15 моль/л все белки сыворотки крови приобретают отрицательный заряд и движутся от

катода к аноду, причем дальше всего уходят альбумины, имеющие меньшую молекулярную массу, затем располагаются α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулины. Иногда каждая из этих основных фракций может разделиться на несколько подфракций.

Следует указать, что результаты электрофореза сильно зависят от подготовки пробы и мастерства лабораторного персонала. Сыворотку крови для исследования лучше брать свежей, хранившейся не более нескольких часов. В пробе не должно быть следов гемолиза; в противном случае свободный гемоглобин и его комплекс с гаптоглобином могут образовать дополнительные полосы в области α_2 - и β -глобулинов. В присутствии ионов кальция и под влиянием некоторых лекарственных веществ возможно расслоение β -фракции на две подфракции, что объясняется нарушением подвижности СЗ-компонента комплемента. Наконец, в целом качество «картинки» зависит от навыков нанесения пробы (это тоже определенное искусство, формирующееся практикой) и используемых инструментов-аппликаторов.

Необходим постоянный контроль pH буфера, применяемого для электродных камер и для смачивания пленок, т.к. от его значения зависит качество разделения фракций. Дело в том, что в ходе электрофореза на аноде и катоде протекают различные электрохимические процессы, приводящие к изменениям характеристик буферных растворов (в частности, pH). В связи с этим для восстановления его значения некоторые специалисты рекомендуют по окончании рабочего дня смешивать буферные растворы из разных электродных камер путем сливания в один сосуд, что позволяет существенно продлить срок службы буфера (в зависимости от интенсивности работы – до нескольких недель и более, но с условием периодического контроля pH; при выходе этого показателя за пределы $\pm 0,1$ – $0,2$ от требуемых величин буферный раствор подлежит замене на свежеприготовленный). Срок работы электродных буферных растворов уточняется опытным путем; обычный признак потери их годности – сокращение длины разгонной дорожки, «наложение» белковых фракций друг на друга и «обрезанный» задний край гамма-глобулиновой фракции при обычных значениях тока (напряжения) и времени электрофореза. Замачивание пленок необходимо всегда осуществлять в свежем буферном растворе, не применявшемся в качестве электродного буфера.

Надо помнить, что электрофорез относится к полуколичественным исследованиям. Это определяется самой «технологией» его этапов, в частности, окраски проб и денситометрии. По принятым международным правилам, первоначальная оценка результатов электрофоретического разделения сывороточных белков (выявление нормы или патологии) должна проводиться **визуально**, путем сравнения с картиной нормальной сыворотки, а количественные данные предназначены только для документирования результатов и динамического наблюдения. При оценке фракций только по процентному их содержанию возможны ошибки трактовки анализа. Например, при гипергаммаглобулинемии относительное количество альбумина (в %) автоматически окажется сниженным, хотя его абсолютная концентрация (в г/л) реально не изменялась. Для исключения недоразумений желательно количественно определять белковые фракции – в г/л, что легко осуществить умножением процентного содержания отдельных фракций на концентрацию общего белка в сыворотке крови. Можно дополнительно провести определение уровня сывороточного альбумина колориметрическим методом и результат сравнить со значением, полученным при электрофорезе; эта процедура одновременно поможет оценить качество анализа.

С учетом приведенного выше, при интерпретации результатов клиницистам нет смысла придавать диагностическое значение, например, снижению содержания альбумина у пациента на 2-3% от справочных данных. Само понятие нормы в лабораторной практике весьма условно; нормальные значения параметров зависят от местных факторов и должны формироваться в первую очередь "на местной базе", т.е. в конкретной лаборатории при обследовании здорового контингента. Вместе с тем для общего контроля качества разделения белков выпускаются **специальные контрольные сыворотки**, которые желательно иметь в каждой лаборатории, работающей этим методом.

Приведенные положения о количественной оценке фракций в полной мере относятся и к электрофоретическому разделению липопротеинов сыворотки крови, применяемому для

оценки типа и тяжести гиперлипопротеинемии (ГЛП) с учетом количества триглицеридов, холестерина общего и холестерина в составе ЛПВП. Наибольшее значение электрофоретический метод имеет для дифференциальной диагностики атерогенной ГЛП III типа и умеренно атерогенной ГЛП V типа: ГЛП-III характеризуется наличием патологически измененных (аномальных) ЛП, отличающихся значительным содержанием ТГ, ХС и одновременно высокой электрофоретической подвижностью; на графике будет видно слияние фракций ЛПНП и ЛПОНП (β -ЛП и пре- β -ЛП). Но надо помнить, что методом электрофореза выявляется только относительное распределение фракций, количественная оценка отдельных ЛП не рекомендуется, поскольку для этого метода не существует стандартных калибровочных и контрольных материалов.

Для электрофореза белков используются различные аппараты, как ручные, так и полуавтоматические. Современные комплексы оснащены микропроцессорными блоками питания и управляются компьютером; в большинстве систем на последней стадии исследования окрашенных мембран или гелевых пластинок (определения относительного количества белков в каждой фракции) используется электронный цветной сканер или миниатюрная фотокамера, что существенно повышает точность и воспроизводимость результатов. Программное обеспечение дает возможность усредненного расчета оптической плотности отдельных фракций путем автоматического определения границ "дорожек" и многократного сканирования каждой из них в нескольких "разрезах", что позволяет исключить ошибки из-за локальных микродефектов и неровного положения носителя, а также до определенной степени нивелировать искривление дорожки и влияние окрашенного фона при неполной отмывке. На экран дисплея и на принтер выводится график-денситограмма с рассчитанным содержанием отдельных белковых фракций. При необходимости маркеры границ фракций на графике можно скорректировать, при этом будет произведен автоматический пересчет их показателей. В компьютере, как правило, создается архив электрофореграмм; их можно в любое время извлечь и просмотреть.

Электрофорез белков, позволяющий определить их количественные сдвиги и физико-химические характеристики, помогает выявить заболевания печени и почек, иммунной системы, некоторые злокачественные новообразования (лейкозы), острые и хронические инфекции, генетические поломки и др. Известен ряд своеобразных электрофоретических "синдромов" – типичных картин электрофореграмм, характерных для некоторых патологических состояний. Среди них можно отметить:

1.Острое воспаление с активацией системы комплемента и увеличением синтеза острофазных белков (α_1 -антитрипсина, гаптоглобина, фибриногена и др.). Оно проявляется увеличением доли α_1 - и α_2 -глобулинов и может быть подтверждено измерением СОЭ, исследованием концентрации С-реактивного белка, фибриногена (в динамике) и других острофазных белков.

2.Хроническое воспаление с усилением синтеза ряда острофазных белков, а также иммуноглобулинов; проявляется умеренным возрастанием α_2 - и β -глобулинов, повышением γ -глобулинов и некоторым снижением альбумина. Подобные отклонения могут наблюдаться при хронических инфекциях, коллагенозах, аллергии, аутоиммунных процессах и при малигнизации.

3.Тяжелые заболевания печени сопровождаются снижением синтеза альбумина и α -глобулинов, что и отражается на электрофореграммах. Как указывалось выше, нужно помнить, что процентная концентрация альбумина может оказаться сниженной лишь относительно, из-за накопления других белков, поэтому оценивать нарушения белково-синтезирующей функции печени следует по абсолютному содержанию альбумина (в г/л). При хронических гепатитах и циррозах печени возрастает как относительное, так и абсолютное количество γ -глобулинов (β - и γ -фракции могут сливаться из-за накопления IgA), причем превышение γ -глобулинов над альбуминами является весьма неблагоприятным прогностическим признаком.

4.Нефротический синдром сопровождается увеличением фильтрации белков в почках и селективной протеинурией – потерей с мочой большого количества альбумина и части низкомолекулярных глобулинов (α_1 -антитрипсина, трансферрина). При этом в печени усиливается синтез более крупных протеинов семейства α_2 -глобулинов (макроглобулин, апо-

В), которые накапливаются в крови и формируют картину со значительным снижением альбумина и повышением α_2 -глобулинов.

5.Нарушение всасывания или значительная потеря белков возможна как при нефротическом синдроме, так и при массивных ожогах, синдроме Лаэлла, патологии желудочно-кишечного тракта и т.д. В последнем случае снижается абсолютное содержание общего белка и особенно альбумина, а на протеинограмме оказывается уменьшенной доля альбумина при относительно равномерном возрастании всех глобулинов. Введение белковых препаратов (иммуноглобулины, альбумин или плазма крови) в ходе лечения больных немедленно отражается на электрофоретической картине, что позволяет следить за динамикой потерь или выведения поступивших белков.

6.Тяжелый иммунодефицит врожденного или приобретенного генеза обычно сопровождается выраженным снижением γ -глобулиновой фракции. При этом желательно провести дополнительное количественное определение IgG, IgA и IgM.

7.Парапротеинемия при злокачественных и доброкачественных процессах – симптом, для выявления которого именно электрофорез является методом выбора. При накоплении в крови моноклональных иммуноглобулинов или фрагментов их цепей, как бывает, в частности, при миеломной болезни и некоторых лейкозах, на протеинограмме появляется более или менее острый пик в области от α_2 - до γ -глобулинов (так называемый М градиент), хорошо заметный визуально. Электрофорез белков мочи, проведенный параллельно, в этом случае выявит пик, находящийся в той же области. Для дифференцировки парапротеинов и идентификации белковых цепей можно использовать современнейшую модификацию электрофореза – иммунофиксацию, для которой выпускаются специальные гелевые пластины с антисыворотками.

Ниже представлены примеры интерпретации данных исследования сыворотки крови нескольких пациентов, проведенного с помощью устройства электрофореза с анализатором электрофореграмм УЭФ-01-«Астра» производства НПЦ «Астра» (г. Уфа) (рис.55-58) [<http://www.labteh.kh.ua/Articles/0006.html>].

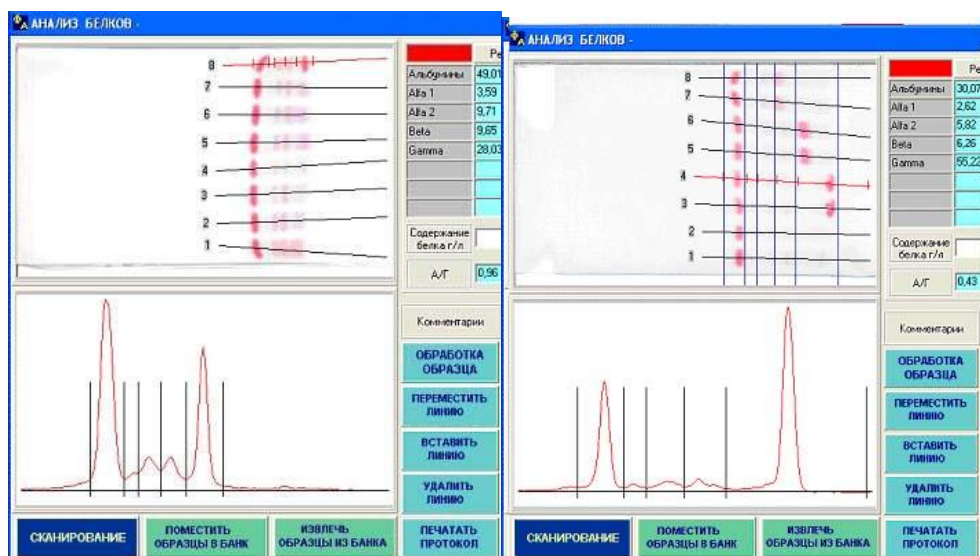


Рисунок 55 – На протеинограммах хорошо виден М-градиент в области γ -глобулинов, что свидетельствует о гаммапатии (скорее всего моноклональной), сопровождающейся резким повышением γ -глобулиновой фракции, снижением β -глобулинов и альбуминов. Это может быть характерно для γ -плазмоцитом, макроглобулинемии Вальденстрема, амилоидоза, лимфомы, а также возможно при введении некоторых антикоагулянтов. Для уточнения диагноза необходимо определение содержания общего белка в сыворотке крови и белка Бенс-Джонса в моче, проведение электрофореза с иммунофиксацией и др.

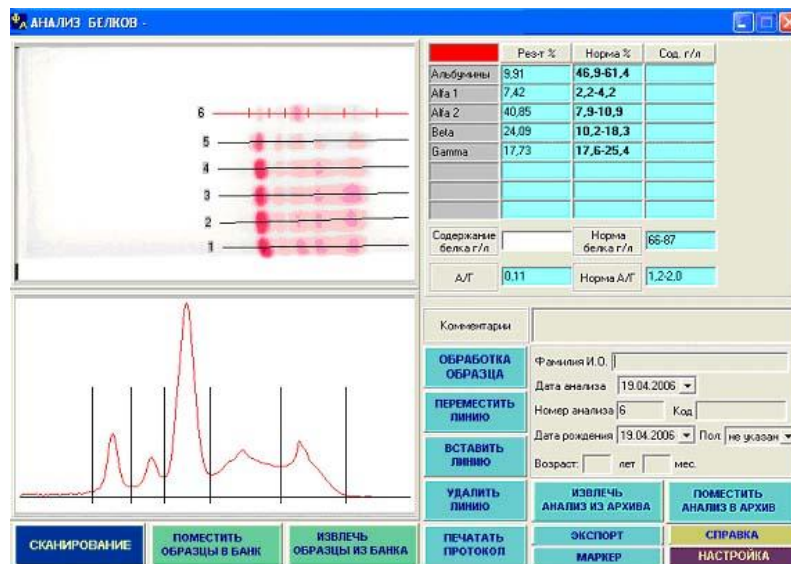


Рисунок 56 – На протеинограмме – значительное снижение альбуминов, резкое повышение α_2 -глобулинов и некоторое возрастание β -глобулинов. Значительное уменьшение уровня как альбуминов, так и общего белка в сыворотке крови характерно для нефротического синдрома; косвенным свидетельством гипопроотеинемии может быть низкая интенсивность окраски белковых фракций данной дорожки по сравнению с соседними. Другие, более редкие состояния со сходным изменением фракций: α_2 -плазмочитома, опухоли, термические ожоги, ряд острых и подострых заболеваний, а также анальбуминемия. Для уточнения диагноза необходимо определение общего белка в сыворотке крови, электрофорез с иммунофиксацией, электрофорез белков мочи и т.д.

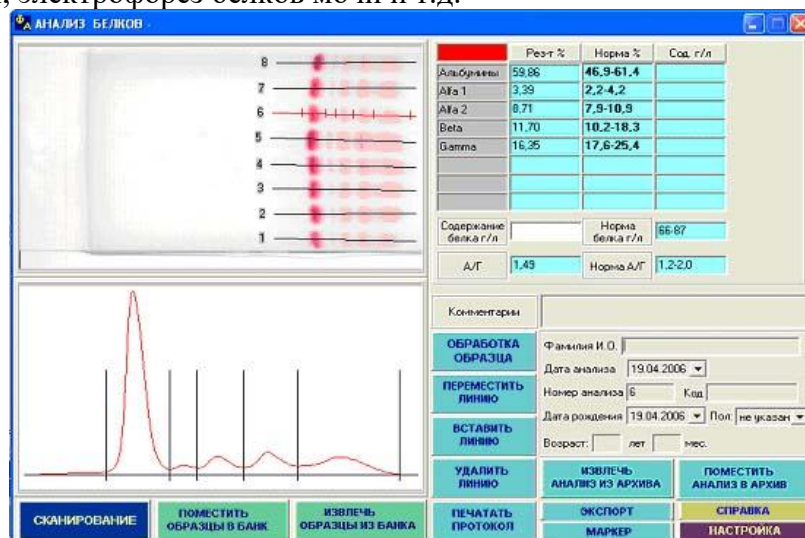


Рисунок 57 – Отмечается небольшое избирательное снижение фракции γ -глобулинов, что возможно при иммунодефиците, иммуносупрессии на фоне лечения кортикостероидами, иммунодепрессантами, химиотерапии, а также при некоторых лимфопролиферативных заболеваниях.

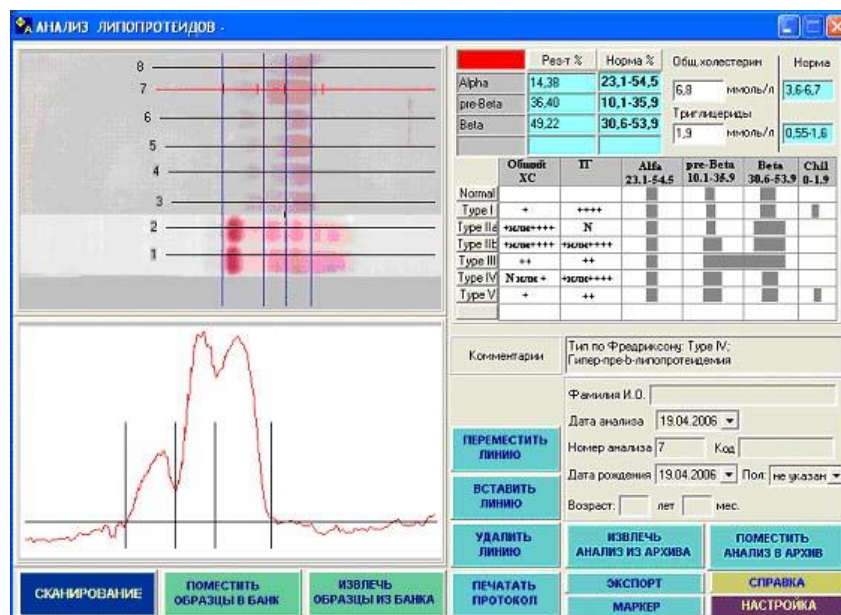


Рисунок 58 – На данной электрофореграмме представлены результаты разделения липопротеидов сыворотки крови, выполненного параллельно с сывороточными белками. Отмечается увеличение фракции пре-β-липопротеинов, что в сочетании с повышением уровня общего холестерина и триглицеридов и равномерно-мутным видом сыворотки характерно для ГЛП IV типа. Для окончательного фенотипирования необходимы данные о клинических проявлениях заболевания, наследственной отягощенности и индексе атерогенности.

Электрофоретические методы в клинической лабораторной диагностике имеют хорошую перспективу. Так, среди новинок можно отметить автоматические системы капиллярного электрофореза, которые выполняют быстрое разделение биомолекул внутри капилляра под действием высокого напряжения; для таких приборов требуются уже не микролитры, а нанолитры образца. В целом использование современных электрофоретических анализаторов позволяет с высокой точностью и минимальными затратами исследовать широчайший спектр биохимических параметров с целью уточнения диагноза, мониторинга патологического процесса и обоснования методов терапии заболеваний.

Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

Перечень основной литературы :

1. Медицинская аппаратура. Полный справочник / М.Ю. Ишманов [и др.]. - Саратов : Научная книга, 2019. - 399 с. - ISBN 978-5-9758-1838-6. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/80197.html>
2. Лукашик Е. Я., Клинецвич С. И. Медицинская техника. - Гродно: ГрГМУ, 2023. - 116 с.
3. Букейханов, Н. Р. Медицинская техника цифровой медицины : учебное пособие / Н. Р. Букейханов. — Вологда : Инфра-Инженерия, 2022. — 124 с. — ISBN 978-5-9729-1022-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/281804>

1. Апарнев А.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : учебное пособие / Апарнев А.И., Казакова А.А., Александрова Т.П. - Новосибирск : Новосибирский государственный технический университет, 2018. - 139 с. - ISBN 978-5-7782-3611-0. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/91180.html>

2. Молекулярно-абсорбционный метод анализа органических веществ : учебно-методическое пособие / Е.В. Черданцева [и др.]. - Екатеринбург : Уральский федеральный университет, ЭБС АСВ, 2015. - 98 с. - ISBN 978-5-7996-1567-3. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/69639..html>

3. Перегончая О.В. Практикум по аналитической химии. Физико-химические методы анализа : учебное пособие / Перегончая О.В., Соколова С.А.. - Воронеж : Воронежский

Государственный Аграрный Университет им. Императора Петра Первого, 2017. - 100 с. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/72731.html>

4. Фролов С.В. Приборы, системы и комплексы медико-биологического назначения. Часть 3. Лабораторное оборудование для биологии и медицины: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки бакалавров и магистров 201000 «Биотехнические системы и технологии», а также аспирантов, проводящих исследования в медико-биологической области / Фролов С.В., Фролова Т.А.. - Тамбов : Тамбовский государственный технический университет, ЭБС АСВ, 2015. - 81 с. - ISBN 978-5-8265-1427-6. - Текст: электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/64164.html>

6. Шорохова И.С. Статистические методы анализа: учебное пособие / Шорохова И.С., Кисляк И.В., Мариев О.С. - Екатеринбург: Уральский федеральный университет, ЭБС АСВ, 2015. - 300 с. - ISBN 978-5-7996-1633-6. - Текст: электронный // IPR SMART: [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/65987.html>

7. Сальникова Е.В. Инструментальные методы анализа. Теоретические основы и практическое применение : учебное пособие / Сальникова Е.В., Мишукова Т.Г. - Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. - 122 с. - ISBN 978-5-7410-1725-8. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/71275.html>

8. Баланов, А. Н. Биометрия. Разработка и внедрение систем идентификации : учебное пособие для вузов / А. Н. Баланов. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 228 с. — ISBN 978-5-507-49167-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/405494>

9. Малахова, О. А. Методы анализа: практикум : учебное пособие / О. А. Малахова. — Самара : СамГАУ, 2023. — 109 с. — ISBN 978-5-88575-706-5. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/348062>

10. Системы здравоохранения в мировой практике ВОЗ : учебное пособие / С. В. Ефимова, Е. Л. Борщук, Е. А. Калинина [и др.]. — Оренбург : ОрГМУ, 2021. — 87 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/258059>

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
по выполнению практических занятий по дисциплине
«МЕТОДЫ И АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ»
для студентов специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия»

ВВЕДЕНИЕ

Целью освоения дисциплины является формирование у студентов понимания принципов, условий применимости и ограничений в использовании методов количественного и качественного анализа в медицинской биохимии.

Основными задачами изучения дисциплины являются:

- Ознакомить студентов с принципами измерительных технологий, техникой современного биохимического анализа, основными методами и методиками количественного анализа биологических объектов.

- Выработать навыки и умения по обращению с химическими реагентами, приборами и аппаратурой.

Приказы регламентирующие работу

Нормативно-правовые акты РФ и РТ

1. Приказ МЗ РФ от 25.12.97 № 380 "О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ".

2. Приказ МЗ РФ от 15.07.2010 № 908 "Об установлении региональных стандартов технологий исследования функции органов и тканей с использованием специальных процедур"

3. Приложение к приказу МЗ РТ от 13.07.2005 г. №604 «Стандарты технологий пренатального этапа клинических лабораторных исследований»

4. Письмо Минздрава РФ от 3 октября 2000 г. N 15-12/453 "О порядке допуска специалистов к работе в клинико-диагностических лабораториях" 6. Приказ Минздрава РФ от 21 декабря 1993 г. N 295 "Об утверждении Положения об аккредитации клинико-диагностических лабораторий"

5. Приказ Минздрава РФ от 7 февраля 2000 г. N 45 "О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации"

6. Приказ Минздрава РФ от 21 февраля 2000 г. N 64 "Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований"

7. Приказ Минздравмедпрома РФ от 3 мая 1995 г. N 117 «Об участии клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений России в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований» (с изм. от 19 февраля 1996 г.)

8. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 13 мая 2005 г. N 330 "О Перечне должностей медицинских и фармацевтических работников, а также организаций и учреждений, которым предоставлено право отпуска наркотических средств и психотропных веществ физическим лицам"

9. Приказ Минздрава РФ от 26 мая 2003 №220 "Об утверждении отраслевого стандарта "Правила проведения внутри лабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов"

10. «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях» (утв. и введено в действие Главным государственным санитарным врачом РФ 4 марта 2004 г.)

11. Безопасность работы с микроорганизмами III -IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08

12. Приказ 30 мая 1974 г. N 493 «О введении в действие перечня документов со сроками хранения Министерства Здравоохранения СССР, органов, учреждений, организаций, предприятий СИСТЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ"

13. Пособие по проектированию учреждений здравоохранения (к СНиП 2.08.02-89)

14. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (с изменениями от 2 июня 2009 г.)

15. СанПиН 2.1.7.728-99 Почва, очистка населенных мест, бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы, правила сбора, хранения и удаления лечебно-профилактических учреждений.

16. Приказ Минздрава России от 26.05.2003 г. N 220 «Правила проведения внутри лабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»

ПРИБОРНОЕ ОСНАЩЕНИЕ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

№	Наименование предметов оборудования и приборов	Уровень оказания медицинской помощи			
		Доврачебная	Первичная медицинская	Специализированная	Высокотехнологическая
1. Технические средства для пробоподготовки					
1.1.	Дистиллятор		+	+	+
1.2.	Холодильник	+	+	+	+
1.3.	Приспособление для фиксации и окраски мазков крови на предметном стекле полуавтоматическое		+	+	+
1.4.	Центрифуга лабораторная	+	+	+	+
1.5.	Комплект-укладка для транспортировки биожидкостей		+	+	+
1.6	Планшеты для исследования микроагглютинации или серологические пробирки		+	+	+
1.7	Цитоцентрифуга			+	+
1.8	Дозаторы механические или электронные	+	+	+	+
1.9.	Баня водяная			+	+
1.10..	Аппарат для получения деионизированной воды		+	+	+
1.11..	Встряхиватель пробирок»		+	+	+
1.12.	Компьютеры персональные с принтерами		+	+	+
1.13.	Программы для компьютеров для выполнения внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований		+	+	+
1.14.	Программы для компьютеров для формирования лабораторной информационной системы (ЛИС)			+	+
2.Химико-микроскопические исследования биологических жидкостей					
2.1.	Анализатор автоматический для исследования физико-химических свойств мочи на диагностических тест-полосках	+	+	+	+
2.2.	Анализатор общего белка в моче	+	+	+	+
2.3.	Анализатор основных показателей фертильности спермы		+	+	+
2.4.	Микроскоп бинокулярный, в том числе с объективом масляной иммерсии и встроенной осветительной системой		+	+	+
2.5.	Микроскоп биологический бинокулярный люминесцентный, в том числе с одним и более блоками светофильтров(возбуждающим и запирающим) и ртутной лампой			+	+
3.Гематологические исследования					

3.1.	Анализатор гематологический с дифференцировкой лейкоцитов		+	+	+
3.2.	Гемоглобинометр фотометрический	+	+	+	+
3.3.	Миксер гематологический, или ротационный перемешиватель		+	+	+
3.4.	Прибор для определения СОЭ (в комплекте)		+	+	+
3.5.	Система для анализа фракций гемоглобинов			+	+
3.6.	Цитометр (цитофлюориметр) проточный			+	+
4. Цитологические исследования					
4.1.	Рабочее место врача-цитолога		+	+	+
4.2.	Архив микропрепаратов		+	+	+
4.3.	Микроскоп биологический бинокулярный с фото/видеовыходом, соединенный с видеосистемой, телекамерой, компьютером с программами для морфометрии, (а также для сохранения архивов, телеконсультаций, обеспечения качества работы)		+	+	+
4.4.	Персональный компьютер с программами для анализа изображений		+	+	+
4.5.	Оборудование для проведения исследований методом жидкостной цитологии			+	+
4.6.	Оборудование для постановки иммуноцитохимических реакций			+	+
4.7.	Автомат конвейерного окрашивания цитологических препаратов разными методами			+	+
5.Биохимические исследования					
5.1.	Анализатор биохимический, автоматический		+	+	+
5.2.	Анализатор гипербилирубинемии у новорожденных транскутанный			+	+
5.3.	Анализатор гликогемоглобина		+	+	+
5.4.	Анализатор глюкозы из проб цельной крови электрохимический, автоматический		+	+	+
5.5.	Иммунохимический анализатор (в комплекте)			+	+
5.6.	Анализатор рН и газов крови полуавтоматический			+	+
5.7.	Анализатор фотометрический иммуноферментный для анализа в планшетах		+	+	+
5.8.	Анализатор электролитного состава ионоселективный-		+	+	+
5.9.	Анализатор фотометрический иммуноферментный для анализа в пробирках			+	+
5.10.	Комплект оборудования для иммуноферментного анализа на планшетах		+	+	+
5.11.	Система клинического электрофореза			+	+
5.12.	Денситометр для системы клинического электрофореза		+	+	+
5.13.	Атомно-абсорбционный спектрофотометр				+
5.14.	Глюкометр для определения глюкозы в цельной крови при анализе по месту лечения	+	+	+	+
5.15.	Жидкостный хроматограф высокого давления			+	+
5.16.	Оксиметр автоматический			+	+
5.17.	Осмометр			+	+

5.18.	Спектрофотометр			+	+
5.19.	Флуориметр			+	+
5.20.	Фотометр отражательный для экспресс-анализа маркеров повреждения сердечной мышцы в комплекте с иммунохроматографическими кассетами		+	+	+
6. Коагулологические исследования					
6.1.	Анализатор агрегации тромбоцитов			+	+
6.2.	Анализатор коагулологический		+	+	+
6.3.	Коагулометр многоканальный автоматический			+	+
6.4.	Тромбоэластограф			+	+
6.5.	Комплект оборудования для определения Д-димера в плазме		+	+	+
7. Экстренные (экспресс) исследования при неотложных состояниях.					
7.1.	Анализатор портативный для экспресс – определения коагулологических аналитов			+	+
7.2.	Анализатор гематологический			+	+
7.3.	Анализатор глюкозы в крови	+	+	+	+
7.4.	Анализатор лактата в крови		+	+	+
7.5.	Анализатор мочи в комплекте с диагностическими тест-полосками	+	+	+	+
7.6.	Анализатор pH и газов крови			+	+
7.7.	Анализаторы электролитного состава ионоселективный			+	+
7.8.	Гемоглобинометр	+	+	+	+
7.9.	Тромбоэластограф			+	+
7.10.	Фотометр для биохимических исследований			+	+
7.11.	Комплект оборудования для экспресс-анализа маркеров повреждения сердечной мышцы		+	+	+
7.12.	Центрифуга гематокритная в комплекте с гематокритными капиллярами			+	+
8. Микробиологические исследования					
8.1.	Анализатор бактериологический для идентификации бактерий и определения чувствительности к антибиотикам			+	+
8.2.	Автоматизированная система для гемокультур			+	+
8.3.	Автоматизированная система диагностики микобактерий			+	+
8.4.	Анаэроустат			+	+
8.5.	Аппарат для свертывания и инактивирования сыворотки		+	+	+
8.6.	Газовый хроматограф в комплекте			+	+
8.7.	Инкубатор CO ₂			+	+
8.8.	Ламинарный шкаф			+	+
8.9.	Ламинарный бокс			+	+
8.10.	Облучатель бактерицидный		+	+	+
8.11.	Прибор для определения мутности бактериальной суспензии			+	+
8.12.	Стерилизатор паровой (автоклав)		+	+	+
8.13.	Стерилизатор воздушный (шкаф сушильно-стерилизационный)		+	+	+
8.14.	Термостат		+	+	+

9. Иммунологические исследования					
9.1.	Анализатор автоматический для иммунохимических исследований,			+	+
9.2.	Аппарат для инаktivирования сыворотки		+	+	+
9.3.	Система для типирования групп крови АВО и резус-фактора на основе гелевой технологии , в комплекте		+	+	+
9.4.	Нефелометр или система для турбидиметрических исследований		+	+	+
9.6.	Цитометр (цитофлуориметр) проточный			+	+
9.7.	Шкаф холодильный или холодильник с морозильной камерой (-30° С)		+	+	+
9.8.	Автоматическая система учета результатов серологических исследований для диагностики сифилиса			+	+
10.Молекулярно-биологический исследования, полимеразная цепная реакция (ПЦР)					
10.1.	Анализатор автоматический для ПЦР в комплекте				+
10.11.	Комплект оборудования для проведения ПЦР и с количественной оценкой результатов			+	+
10.12.	ПЦР - бокс (стерильный шкаф с ламинарным потоком воздуха)			+	+
10.13.	СВЧ-печь			+	+

Порядок организации экстренного выполнения исследований

1. При оказании медицинской помощи пациентам, находящимся в критическом состоянии, может потребоваться экстренное выполнение лабораторных исследований в целях немедленного получения информации, необходимой для оценки состояния пациента и принятия решения о неотложных лечебных мерах.

2. Выбор способа организации экстренного выполнения лабораторных исследований осуществляет руководитель учреждения здравоохранения на основе предложений руководителей профильных клинических подразделений и заведующего лабораторией с учетом клинической потребности в экстренном выполнении определенных лабораторных тестов, имеющегося оборудования и штатных возможностей.

3. Экстренное выполнение лабораторных исследований может быть организовано следующими способами:

а) внеочередным выполнением отдельных исследований в основной клинко-диагностической лаборатории учреждения;

б) выделением в составе основной клинко-диагностической лаборатории учреждения круглосуточного (дежурного) подразделения;

в) созданием отдельной лаборатории (экспресс-лаборатории) для круглосуточного выполнения экстренных лабораторных исследований;

г) выделением должностей лабораторных специалистов в штате профильных клинических подразделений, в которых часто возникает потребность в экстренном выполнении лабораторных исследований, с оснащением их необходимыми средствами лабораторного анализа и методическим руководством со стороны заведующего основной клинко-диагностической лабораторией учреждения;

д) обучением нелабораторного персонала клинических подразделений применению портативных аналитических устройств для проведения некоторых необходимых исследований (преимущественно ориентировочного характера) при общем контроле за качеством результатов исследований со стороны основной клинко-диагностической лаборатории учреждения.

4. Перечень применяемых экстренных лабораторных тестов на этапах оказания квалифицированной и специализированной медицинской помощи с указанием необходимых сроков их выполнения приведен в таблице 3. Перечень экстренно выполняемых лабораторных тестов на этапе оказания скорой медицинской помощи определен в соответствующих стандартах медицинской помощи, утверждаемых Министерством здравоохранения и социального развития РФ.

5. Перечень оборудования, необходимого для экстренного выполнения лабораторных тестов и специализация клинических подразделений, нуждающихся в соответствующем лабораторном обеспечении, приведены в таблице 4.

6. С учетом жизненно-важного значения результатов экстренно выполняемых тестов для предпринимаемых лечебных мер и исходов случаев заболеваний в учреждении должна быть разработана и осуществлена надежная система обеспечения качества исследований и регистрации полученных данных.

7. Работа экспресс-лаборатории организуется в круглосуточном режиме, нагрузка при выполнении лабораторных тестов на персонал не учитывается.

Исследования, результаты которых имеют жизненно важное значение для пациентов в критических ситуациях и рекомендуемые сроки выполнения

Вид исследования	Рекомендуемый срок выполнения, мин
Показатели газообмена и кислотно-основного равновесия крови	5
Показатели электролитного баланса (калий, натрий, кальций, хлор)	5
Гемоглобин, гематокрит	5
Основные метаболиты (лактат, глюкоза)	5 — 10
Показатели функционального состояния почек	10
Основные ферменты	10
Тропонин	10 — 15
Основные показатели гемостаза	10 — 15
Показатели гемореологии (вязкость)	5—7
Осмоляльность крови и мочи	5

Рекомендуемый перечень оборудования для экстренного выполнения лабораторных исследований на этапе оказания медицинской помощи

Вид изделия, исследуемые параметры	Вид лаборатории, клинического отделения
Анализатор кардиомаркеров	Дежурная Приемное отделение Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения гипербарической оксигенации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии Ожоговое отделение
Анализатор кислотно-щелочного состояния и газов крови	Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии Ожоговое отделение Отделение гемодиализа Отделение анестезиологии-реаниматологии
Анализатор электролитов	Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии Ожоговое отделение Отделение гемодиализа

	Отделение анестезиологии-реаниматологии
Анализатор для определения основных показателей гемостаза (коагулометр)	Дежурная Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии Ожоговое отделение Отделение гемодиализа
Анализатор биохимический автоматический: определение ферментов	Дежурная Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии Отделение гемодиализа Лаборатория отделения гипербарической оксигенации Нефрологическое отделение Нейрохирургическое отделение
Анализатор гематологический	Дежурная Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии Ожоговое отделение Отделение гемодиализа Нефрологическое отделение Нейрохирургическое отделение
Гемоглобинометр	Приемное отделение Отделение анестезиологии-реаниматологии Кардиоревматологическое отделение для детей
Центрифуга гематокритная	Отделение анестезиологии-реаниматологии
Анализатор глюкозы в крови (портативный глюкометр)	Отделение анестезиологии-реаниматологии
Анализатор мочи на тест-полосках	Приемное отделение Нейрохирургическое отделение
Тромбоэластограф	Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии
Анализатор агрегации тромбоцитов	Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии
Осмометр	Нефрологическое отделение
Вискозиметр	Лаборатория отделения кардиореанимации Лаборатория отделения сердечно-сосудистой хирургии

Информационные системы

Информационные системы предназначены для комплексной автоматизации деятельности клинико-диагностической лаборатории. В зарубежной литературе для них принято название LIMS - Laboratory Information Management System (система управления лабораторной информацией).

Информационные компьютерные технологии находят наибольшее применение в первую очередь там, где имеется большой объем выполняемой рутинной работы. Тысячи клинико-диагностических лабораторий (КДЛ) в мире ежедневно выполняют огромное количество различных видов исследований. Объем обрабатываемой при этом информации достаточно

велик. Типичная средняя КДЛ насчитывает 15 пользователей (специалистов лаборатории), исследующих примерно 10000 проб в год и выполняющих по каждой пробе в среднем 5 тестов с определением 4-х параметров в каждом. В крупных лабораториях одновременно может быть задействовано до 100 и более пользователей.

Современное функционирование единого технологического процесса производства клинических лабораторных исследований невозможно без поддержки компьютерных информационных систем. Большинство клиничко-диагностических лабораторий использует тот или иной вид автоматизированных информационных систем. Однако только некоторые из них используют единую лабораторную информационную систему, объединяющую все подразделения лабораторий. Еще меньшее количество лечебных учреждений имеют лабораторную информационную систему, интегрированную с клинической информационной системой, хотя благодаря развитию и внедрению локальных сетей ситуация может быстро меняться. Некоторые учреждения, особенно большие больницы, предпочитают создание собственных систем, но большинство клинических лабораторий используют системы, поставляемые коммерческими фирмами. Использование лабораторных информационных систем - стандарт в практике клиничко-диагностических лабораторий США.

Структура лабораторных информационных систем

При обсуждении проблемы, стоит ли создавать ЛИС в конкретной лаборатории данного лечебного учреждения или в этом нет необходимости, нужно исходить из установки, что на современном этапе развития клинической лабораторной диагностики и средств компьютеризации внедрение ЛИС в практику любой лаборатории не только выгодно с экономической точки зрения, но и должно являться абсолютным стандартом для работы клиничко-диагностической лаборатории.

При отсутствии достаточного финансирования учреждений здравоохранения проблема состоит лишь в том, с чего начинать создание ЛИС, и каким путем идти для последовательного расширения ее возможностей в плане минимизации финансовых затрат на разработку ЛИС.

Основным направлением при разработке ЛИС для небольших и средних клиничко-диагностических лабораторий является пошаговая информатизация, которая позволяет лабораториям поэтапно решать стоящие перед ней проблемы. Основные элементы такой ЛИС представлены на рис. 1.

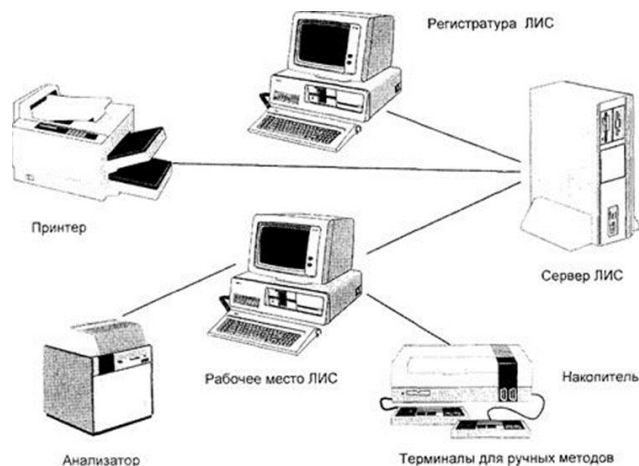


Рис. 1. Основные элементы лабораторной информационной системы

В самом простом варианте, для лабораторий где работает 1 врач, ЛИС может представлять собой 1 рабочее место с компьютером, на котором установлено программное обеспечение, и принтером. Это рабочее место служит как для регистрации поступивших на исследование проб, так и для ручного ввода и распечатывания результатов анализов, а также составления статистических отчетов по проведенным исследованиям.

Для небольших лабораторий, в которых имеются автоматические анализаторы, следующим шагом является подключение анализатора к рабочему месту (ЛИС), что позволит передавать информацию с результатами анализов непосредственно в ЛИС. Учитывая тот факт, что в лаборатории часть методов выполняется вручную (подсчет мазков крови, микроскопия осадка мочи), параллельно необходимо создавать терминалы для автоматического ввода

результатов этих анализов. Например, при подсчете мазка крови в самом простом варианте таким терминалом может служить электронный вариант счетчика мазков крови, который легко через накопитель и интерфейс подключается к ЛИС (рабочему месту). Такой подход используют разработчики программно-аппаратного комплекса MEDAP. В случае, если у лаборатории имеется возможность установить еще один компьютер, при соответствующем программном обеспечении его клавиатуру можно использовать для ввода результатов ручных методов исследования и в качестве счетчика лейкоцитарной формулы крови или костного мозга. При решении вопроса о том, сколько рабочих мест (рабочих компьютеров) должно быть в клиничко-диагностической лаборатории, необходимо исходить из того, что, как минимум, каждый врач лаборатории должен иметь отдельное рабочее место (компьютер). Понятие "минимум" подразумевает, что количество компьютеров может быть большим, если в лаборатории имеется несколько автоанализаторов, так как для их подключения в ЛИС также необходимы средства информатизации. Следует иметь в виду, что при подключении автоанализатора к рабочему компьютеру, в большинстве случаев, при выполнении автоанализатором исследований компьютер для других целей использован быть не может.

Когда в лаборатории работают 2 врача и более, а количество выполняемых исследований превышает 50 000 анализов в год, возникает необходимость в создании еще одного рабочего места для регистратуры. Это обусловлено необходимостью максимального высвобождения рабочих мест врачам лаборатории для непосредственного выполнения исследований или подготовки анализаторов, проведения и регистрации в ЛИС результатов внутрилабораторного контроля качества, так как объем исследований не оставляет свободного времени в течение рабочего дня для использования рабочих компьютеров в целях регистрации поступившего материала. Создание рабочего места регистратуры параллельно решает проблему введения задания автоанализатору по выполнению исследований, так как оно поступает на анализатор автоматически после регистрации проб. Кроме того, к моменту проведения исследования врач уже будет иметь информацию о пациенте, которая поступит к нему с рабочего компьютера регистратуры, что имеет важное значение при оценке результатов исследований (например, есть возможность посмотреть динамику показателей у пациента).

При наличии в лаборатории нескольких рабочих мест врачей, рабочего места регистратуры, нескольких автоанализаторов, а также количестве исследований, превышающих 100 000 анализов в год, необходимо установить сервер - хранилище данных, поступающих в ЛИС (в самом простом варианте это отдельный, аналогичный используемому на рабочем месте компьютеру, или более мощный). Это позволит врачам более оперативно решать проблемы регистрации проб, одновременного ввода результатов анализов с различных рабочих мест, обмена информацией между различными рабочими компьютерами, ее анализа, форматирования бланков результатов исследований, составления статистических отчетов и т.д. Установка сервера определяется количеством одновременно работающих в лаборатории в ЛИС рабочих-мест (специалистов лаборатории), объемом базы данных (количеством выполняемых анализов в день, сроком их хранения) и особенностями используемого в ЛИС программного обеспечения (прикладное программное обеспечение и система управления базы данных).

В крупных клиничко-диагностических лабораториях, выполняющих сотни тысяч анализов в год, ЛИС будет представлять собой разветвленную сеть, имеющую в своем составе несколько рабочих мест для регистрации проб, множество рабочих мест, подключенных к автоанализаторам и необходимых для ручного ввода результатов анализов, а также мощный сервер, позволяющий годами хранить введенную в ЛИС информацию, проводить ее сравнительный анализ и получать любые виды отчетов. Для распечатки такого объема результатов анализов, статистических отчетов и другой информации необходимо подключить к ЛИС несколько принтеров.

Таким образом, при помощи ряда последовательных шагов можно решать проблему создания современной ЛИС.

При условии, что этапы создания ЛИС

разнесены во времени, можно добиться максимального эффекта в повышении эффективности работы клиничко-диагностической лаборатории при минимальных затратах.

В заключение приводим несколько простых практических советов, которые необходимо учесть при разработке ЛИС.

1. Процедура заказа лабораторных исследований клиницистами является не только одним из основных звеньев взаимодействия отделений стационара и клиничко-диагностической лаборатории, но и определяющим в объеме информации о пациенте, которую в дальнейшем будут получать врачи лабораторий. Поэтому в заявке должны быть отображены следующие данные:

- дата и время назначения;
- дата и время взятия крови;
- Ф.И.О. пациента;
- отделение, номер истории болезни, номер палаты;
- возраст, пол;
- диагноз;
- Ф.И.О. лечащего врача;
- перечень необходимых исследований;
- подпись специалиста, проводившего взятие крови.

Указание времени взятия крови имеет важное значение практически для всех видов исследования, но особенно для исследования системы гемостаза, лекарственного мониторинга, бактериологических исследований.

2. В случае, если при разработке ЛИС не планируется соединение ЛИС с клинической информационной системой, регистрация поступающего на исследования биоматериала должна будет осуществляться в регистратуре лаборатории или непосредственно на рабочем месте (компьютере). Специалисты лаборатории должны сами определить, какой объем информации о пациенте и доставленном биоматериале им необходим для введения в ЛИС.

3. При постановке задач необходимо составить максимально возможный спектр лабораторных тестов, выполняемых лабораторией, и указать разработчикам на необходимость наличия возможности введения в ЛИС дополнительных тестов, референтных величин к ним и изменения референтных интервалов при переходе на другой метод исследования.

4. После получения заявок на лабораторные анализы из клинической информационной системы в ЛИС или регистрации проб, доставленных в лабораторию, ЛИС может распечатать общий лист заказа на исследования на данный конкретный день. Получение такого листа заказа позволяет правильно составить план работы лаборатории, приступить к подготовке необходимых автоанализаторов к работе (включение, калибровка, внутрилабораторный контроль качества). Дальнейшая работа врача лаборатории включает анализ полученного задания на данный конкретный день и распределение заявленных лабораторных исследований по автоанализаторам и рабочим местам для ручных методов.

5. При постановке задач по созданию ЛИС необходимо указать разработчикам на необходимость предусмотреть возможность автоматического введения данных внутрилабораторного контроля качества в ЛИС с автоанализаторов или ручного введения для неавтоматизированных методов с построением карт Леви-Дженнинга. Результаты внутрилабораторного контроля качества должны храниться в ЛИС, их всегда можно оперативно просмотреть и принять решение о выдаче результатов анализов.

6. Не менее важным моментом при постановке задач по созданию ЛИС является наличие возможности предварительного (перед отправкой на печать) просмотра результатов анализов. Наличие возможности предварительного просмотра результатов анализов имеет важное практическое значение в обеспечении качества лабораторных исследований и исключения различного рода ошибок. После получения результатов исследований они проверяются и анализируются врачами лаборатории. В случае получения значительного отклонения в результатах жизненно важных параметров их немедленно обсуждают с врачами-клиницистами. При необходимости исследования повторяют. Аналогично поступают и в отношении других результатов, вызывающих сомнение.

При постановке задач необходимо указать разработчикам на создание возможности выделения любым из возможных способов величин результатов анализов, выходящих за пределы референтного интервала (например, распечатка рядом с результатом слова "больше" или "меньше" или стрелок, а также величин, требующих немедленного врачебного вмешательства (перечень таких показателей приведен ниже). В ряде случаев комплексы результатов лабораторных анализов требуют текстового комментария, что также необходимо учитывать при постановке задач.

Помимо возможности предварительного просмотра результатов анализов при постановке задач необходимо включить и возможность ведения рабочего журнала в ЛИС. В таком случае все особенности, связанные с выполнением той или иной методики исследования, будут храниться в ЛИС и в случае необходимости полученные результаты анализа могут быть проанализированы с учетом возникших сложностей спустя дни и недели. Кроме того, в рабочем журнале могут храниться данные калибровок, используемых разведений и другая информация.

Только после предварительного просмотра и анализа полученных результатов лабораторных исследований они могут быть отправлены в память ЛИС и на печать.

7. В своей повседневной деятельности специалисты должны представлять различные виды отчетов, о чем было достаточно сказано в предыдущих разделах. В связи с этим, при постановке задач необходимо предусмотреть все возможные формы и виды отчетов. Это является принципиальным моментом в постановке задач разработчикам ЛИС.

8. После постановки задач и их практической реализации по разработке ЛИС в практическом плане важно, чтобы разработчики системы продолжали сопровождать ее. В таких случаях их хорошее знание ЛИС в большинстве случаев позволяет совершенствовать ее в дальнейшем, даже если какие-то возможности были упущены при первоначальном проектировании.

КДЛ находятся в сфере информационного бизнеса, предлагая на рынке лабораторную информацию. Те КДЛ, которые смогут поставить своим клиентам качественную информацию, станут лидерами на рынке. Перед выбором ЛИС важно иметь ясное понимание, каковы в точности требования вашей лаборатории по организации данных, в дополнение к выгодам, которые ваша лаборатория может ожидать от ЛИС.

Роль лабораторной информационной системы в автоматизированной лаборатории

Рабочим материалом лаборатории является биологический материал с закрепленным за ним информационным запросом, сформулированным врачом.

При использовании технологий ЛИС клиническая лаборатория переходит из состояния обработки образцов в состояние анализа и управления информацией, благодаря применению системы автоматической обработки образцов и интегрированной управляющей лабораторной информационной системы.

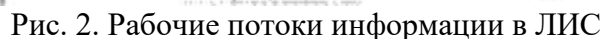
Эта система разрабатывалась на основе концепции цикла автоматического оборудования, предложенной Э. Лундбергом в 1991 году. Цикл начинается с врача, который обследует пациента, затем следует заказ анализа/взятие образцов/подтверждение/транспортировка/предварительная обработка/анализ/отчет/архивирование/анализ результатов врачом и принятие лечебных решений.

Поскольку все шаги этого цикла связаны как звенья одной цепи, то наличие одного слабого звена ставит под угрозу надежность всей цепи. Обязанность клинических лабораторий в этом цикле заключается в предварительной обработке полученных образцов и передаче результатов анализов для проведения лечения.

Задачи лаборатории по обеспечению надежности в данном цикле выполняются с применением систем маркирования и идентификации образцов с помощью унифицированных технологий штрихового кодирования. Применение штрих-кодов в дополнение к схеме Лундберга превращает биологический материал в информационную единицу. Единицей информационно-аналитического потока в автоматизированной лаборатории является идентифицированный биологический материал, проходящий через стандартные этапы лабораторного анализа.

Важнейшими возможностями информационно-управляющей системы для лаборатории являются:

- В целом ЛИС должна обеспечивать движение потоков информации на всех этапах технологических процессов производства анализов от регистрации пациента и полученного биоматериала до выдачи результатов исследований (рис. 2). Под термином "правила авторизации" следует понимать определенные алгоритмы (программы), или предоставление определенных полномочий специалистам лаборатории, что необходимо для оценки результатов лабораторных анализов.



Рассмотрим более подробно возможности информационно-управляющей системы.

Автоматические методы анализа крови имеют ряд преимуществ, связанных прежде всего с высокой производительностью (до 100 и более проб в час), анализом большого количества (десятки тысяч) клеток, оценкой более 20 показателей (вместо 10–12 при обычном

анализе крови), высокой точностью и низкой погрешностью измерений. Они позволяют произвести анализ и подсчет форменных элементов, а также измерить концентрацию гемоглобина, для чего у них имеется встроенный гемоглобинометр. Современные гематологические анализаторы являются специализированными автоматизированными приборами с компьютерной обработкой сигналов. Данные выводятся в цифровой форме в сочетании с графическим представлением основных клеточных популяций в виде гистограмм или скатерограмм. При получении результатов, отклоняющихся от нормальных значений, анализаторы дают сигнал с помощью «флагов» или «сигналов тревоги» – *Hight* (H) и *Low* (L).

В зависимости от определяемых параметров и степени сложности анализаторы можно условно разделить на 3 основных класса:

- I класс – автоматические гематологические анализаторы, позволяющие проводить анализ крови с подсчетом лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов по оценке параметров объема клеток, а также дифференцировать лейкоциты по трем популяциям – лимфоциты, моноциты и гранулоциты (так называемые анализаторы *3Diff*). К анализаторам такого типа относятся *Cobas Micros 18* (Roshe), *Cell-Dyn 1600* (Abbott), *K-450/K-1000* (Sysmex);

- II класс – высокотехнологичные гематологические анализаторы, позволяющие проводить развернутый анализ крови и дифференцировку лейкоцитов по пяти параметрам – нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты (так называемые анализаторы *5Diff*) (*Pentra-60*, *Cell-Dyn 3700*, *MEK-8222*);

- III класс – сложные аналитические системы, выполняющие не только развернутый анализ крови с дифференцировкой лейкоцитов по пяти параметрам, но и подсчет и анализ ретикулоцитов. При необходимости такие приборы комплектуются блоком для автоматического приготовления и окраски мазков из образцов крови (*Sysmex XE-2100*, *Coulter LH750*, *Advia 2120*, *Pentra-120*).

В основе работы анализаторов I класса лежит кондуктометрический метод (апертурно – импедансный метод, метод Культера), предложенный в 1947 г. Н. Wallace и Joseph R. Coulter. Метод основан на подсчете числа и определении характера импульсов, возникающих при прохождении клеток через отверстие малого диаметра (апертуру), по обе стороны которого расположены электроды. В момент прохождения клетки через микроотверстие сопротивление в электрической сети возрастает и на приборе регистрируется импульс. Количество импульсов соответствует количеству клеток, а амплитуда импульса пропорциональна объему клетки. На основании анализа амплитуды импульсов строится кривая распределения клеток по объему (гистограмма). Для правильного подсчета клеток через апертуру необходимо пропустить строго определенный объем суспензии за определенное время. Кроме того, образцы крови разводятся до такой концентрации, при которой в канале датчика всегда будет не больше одной клетки, так как две и более клеток регистрируются в виде одного импульса, что приводит к погрешностям в измерении.

Апертурно-импедансный метод позволяет произвести точный подсчет количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов с определением показателей объема клеток (HCT, MCV, MCH, MCHC, MPV), а также дифференцировать лейкоциты по трем параметрам (гранулоциты, лимфоциты, моноциты). Разделение эритроцитов и тромбоцитов проводится по разнице в амплитуде электрического сигнала (у тромбоцитов амплитуда ниже в связи с меньшими размерами). Содержащимися в исследуемом образце лейкоцитами при этом пренебрегают, поскольку в норме концентрация эритроцитов в крови на три порядка превышает концентрацию лейкоцитов.

Для определения количества лейкоцитов используется отдельный канал. Предварительно производят лизис эритроцитов специальными лизирующими растворами (гемолитиками). При этом эритроциты разрушаются до очень мелких фрагментов, которые при подсчете лейкоцитов генерируют электрические импульсы очень низкой амплитуды, не влияющие на результат анализа.

Для идентификации основных популяций лейкоцитов (лимфоциты, моноциты, гранулоциты) используют особенности изменений их объема после обработки гемолитиками. Изменение объема клетки зависит от многих факторов, включающих величину и форму ядра, объем цитоплазмы, наличие внутриклеточных включений и т. д. (поэтому размер

трансформированных клеток не соответствует размерам клеток при визуальном просмотре их в окрашенном мазке крови). При этом лейкоциты распределяются на гистограмме следующим образом:

- область малых объемов (35–90 фл) формируется лимфоцитами, которые под действием гемолитика значительно уменьшаются в объеме;
- область больших объемов (120–400 фл) формируется гранулоцитами (нейтрофилы, базофилы, эозинофилы), которые напротив подвергаются небольшому сжатию;
- средняя область между двумя пиками формируется так называемыми «средними» лейкоцитами (90–120 фл). Здесь располагаются моноциты (поэтому в некоторых анализаторах клетки в этой области указываются как моноциты). Однако, учитывая тот факт, что коэффициент корреляции с моноцитами сравнительно невысок ($r = 0,5-0,8$), более корректным является название параметра «средние лейкоциты». В область таких клеток могут частично попадать базофилы, эозинофилы, различные патологические формы.

Анализаторы II и III классов используют в своей работе дополнительные современные технологии, которые отличаются у разных фирм-производителей. Так, в анализаторах фирмы *Bekman-Coulter* (LN500, LN750) (США – Франция) используется трехмерный анализ дифференцировки лейкоцитов, который включает в себя одновременный компьютерный анализ клеток по объему, электропроводности и дисперсии лазерного света (Scatter). Это позволяет разделять лейкоциты не на три, как при кондуктометрическом методе, а на пять основных популяций: лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы и базофилы.

Распределение клеток отражается на лейкоцитарной скатерограмме, на которой каждый тип клеток имеет свою зону расположения. В анализаторах *Cell-Dyn* (*Cell-Dyn* 3000, 3200, 3500, 3700, 4000) для дифференцировки лейкоцитов применяется мульти-параметрическая система лазерного светорассеяния (так называемая технология MAPSS – Multi Angle Polarized Scatter Separation). Производится регистрация интенсивности рассеяния клетками поляризованного лазерного луча под разными углами, что дает сведения о следующих свойствах клетки:

- размер – оценивается по прохождению поляризованного лазерного луча под малым углом рассеяния (близким к 0°);
- структура и степень сложности – оценивается по анализу рассеяния поляризованных лазерных лучей, направленных под углом до 7°;
- ядерно-цитоплазматическое соотношение – оценивается по анализу рассеяния поляризованных лазерных лучей, направленных под углом до 10°;
- форма ядра – оценивается по анализу рассеяния поляризованных лазерных лучей, направленных под углом 90°;
- клеточная зернистость и дифференцировка эозинофилов – оценивается по светорассеянию деполаризованного луча под углом 90°.

В гематологических анализаторах серии ХТ и ХЕ фирмы *Sysmex* применяется метод проточной цитофлуориметрии с использованием флуоресцентного красителя полиметина. Этот флуоресцентный краситель связывается с ДНК и РНК неизмененных клеток, что позволяет использовать его как для дифференцировки лейкоцитов по пяти параметрам (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты, лимфоциты), так и для подсчета ретикулоцитов. Анализ клеток осуществляется по рассеянию лазерного луча (633 нм) при контакте с окрашенной клеткой и возбуждению флуоресценции красителя. Сигналы улавливаются фотоумножителями и регистрируются в виде трех параметров:

- светорассеяние под малым углом (FSC – Forward Scatter) – отклонение лазерного луча под малым (до 10°) углом, которое зависит от размера и формы клетки;
- боковое светорассеяние (SSC – Side Scatter) – рассеяние под углом до 90°, зависит от плотности клетки, т.е. характеризует ее структуру и гранулярность;
- флуоресцентный сигнал (SFL – Side Fluorescence) регистрируется так же, как боковое светорассеяние под углом 90°, и позволяет судить о содержании РНК/ДНК в клетках.

На основании полученных сигналов все клетки распределяются по кластерам (зонам) в соответствии с их размером, структурой и количеством ДНК. Таким образом происходит дифференцировка лейкоцитов на 4 популяции: лимфоциты, моноциты, эозинофилы и

нейтрофилы вместе с базофилами. Разделение нейтрофилов и базофилов происходит в базоканале после предварительной обработки лейкоцитов реактивом, вызывающим лизис всех клеток, за исключением базофилов (так называемый специфический химический лизис). Кроме того, приборы оборудованы каналом для выделения незрелых гранулоцитов (позволяют оценить «сдвиг влево») и атипичных лимфоцитов.

В приборах серии Technicon (ADVIA 2120, Pentra DX 120) дифференцировка лейкоцитов производится на основе принципа жидкостной цитохимии (измерение активности пероксидазы в лейкоцитах) в сочетании с другими методами (кондуктометрический, гидродинамическое фокусирование, оптическая абсорбция). Приборы позволяют дифференцировать лейкоциты на 5 основных популяций, а также выявлять активированные лимфоциты, незрелые гранулоциты, бласты, нормобласты.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ В ПРОГРАММЕ EXCEL

Для проведения работы необходимо набрать в программе Excel данные, показанные в таблице 9.

Записи в колонках **D** и **E** – это подсказки, которые помогут разобраться с тем, какие характеристики мы будем рассчитывать. Колонка **F** у Вас должна быть пока пустой, в нее будем помещать наши формулы.

Обработку результатов начнем с расчета числа опытов **n**. Казалось бы это очевидное число, но в ходе работы, какой-то результат мы можем отбросить, или провести еще пару опытов. Желательно, чтобы нам не пришлось при этом переделывать все формулы. Для определения числа значений используется специальная функция, которая называется **СЧЕТ**. Для ввода формулы с функциями используется **Мастер функций**, который запускается командой «Вставка функции» через меню «Вставка» – «Функция» или кнопкой на панели инструментов с обозначением f_x . Щелчком мышкой по ячейке **F6**, где должен находиться результат и запустим Мастер функций.

Таблица 9 – Примерный вид листа данных

	A	B	C	D	E	F
1						
2						
3	Данные эксперимента				Обработка	
4						
5	№	X				
6	1	14,85		Число значений n	СЧЕТ	10
7	2	14,80		Среднее значение $\bar{X}_{\text{ср}}$	СРЗНАЧ	14,803
8	3	14,84		Станд. отклонение S	СТАНДОТКЛОН	0,0643
9	4	14,81		Ст. откл. среднего $S_{\text{ср}}$	=S / КОРЕНЬ(n)	0,0203
10	5	14,63		К.Стьюд (5%, n-1) t	СТЮДРАСПОБР	2,2622
11	6	14,81		Доверит. интервал ДИ	=t * $S_{\text{ср}}$	0,046
12	7	14,80		Относит ошибка δ	=ДИ / $\bar{X}_{\text{ср}}$	0,0031
13	8	14,85				
14	9	14,84				
15	10	14,80				

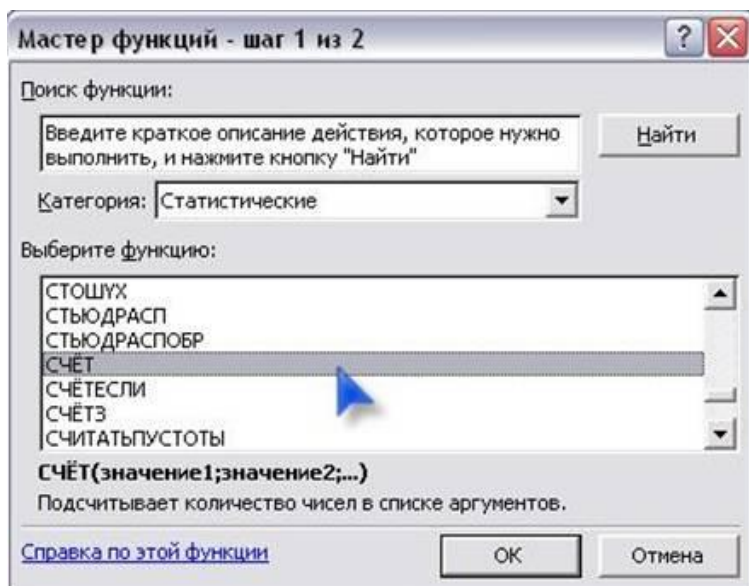


Рисунок 5 – Первый шаг работы

Первый шаг работы (рис.5) служит для выбора нужной функции. Все функции разделены, в зависимости от своего назначения на несколько категорий (математические, логические и др.). Для обработки данных эксперимента используются в основном статистические функции. Поэтому, прежде всего в списке категорий выбираем категорию «Статистические». Во втором окне появляется список статистических функций. Если щелкнуть по любой из них, внизу появляется краткое описание функции. Специальной ссылкой можно вызвать систему помощи Excel, в которой данная функция будет разобрана подробно, с примерами. Список функций упорядочен по алфавиту, что позволяет без труда нужную нам функцию СЧЕТ («Подсчитывает количество чисел в списке аргументов»). Выделив щелчком эту функцию, нажимаем кнопку **Ок** и переходим к шагу 2.

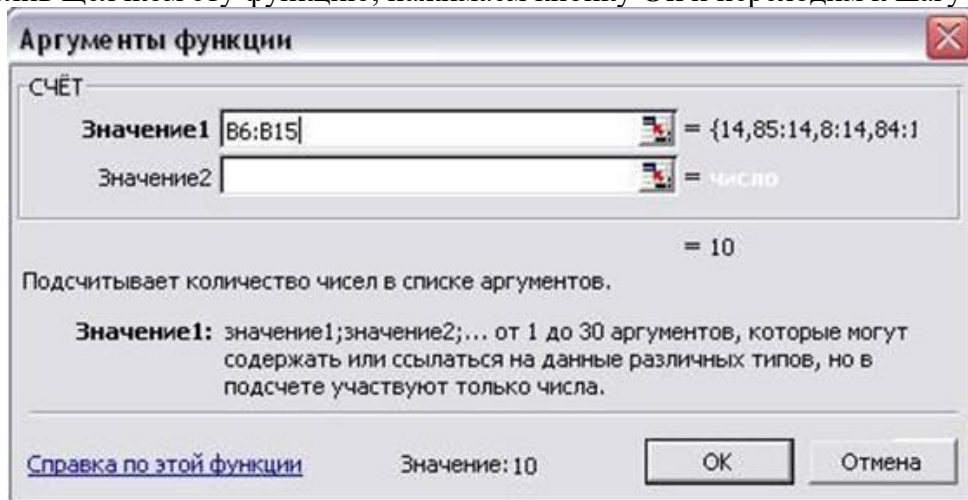


Рисунок 6 – Второй шаг работы

Второй шаг (рис.6) служит для задания аргументов функции. Функции СЧЕТ надо указать, какие числа ей надо пересчитывать, или в каких ячейках находятся эти числа. Диапазон ячеек указывается адресами первой и последней ячейки, записанными через двоеточие, в нашем случае данные находятся в ячейках **B6:B15**. Как и в других случаях эти адреса лучше не вводить, а показывать мышкой. Для этого устанавливаем указатель мышки на первую ячейку, нажимаем левую кнопку и ведем до последней. Обратите внимание, что окно аргументов можно перемещать, если оно заслоняет нужную часть экрана. Кроме того, рядом с полем для ввода есть маленькая кнопка с красной стрелочкой. При щелчке по ней окно аргументов сворачивается до узкой полоски. Когда мы показываем в основном окне диапазон ячеек, в окне аргументов появляется запись диапазона адресов, а рядом с ним – значения чисел из первых ячеек. Предварительное значение функции тоже показывается после ввода ее аргументов. Это помогает избегать ошибок. Помогает работе с мастером функций и подсказка

под полем для ввода аргументов, в которой разъясняется их смысл и возможные значения. Заканчивается работа с мастером функций нажатием кнопки “Ok” или клавиши “Enter”. Если все сделано правильно, в ячейке F6 появится нужное значение “10”.

Следующие два этапа обработки серии опытов.

В ячейке F7 с помощью функции СРЗНАЧ рассчитывается среднее значение выборки, в ячейке F8 – стандартное отклонение выборки, с помощью функции СТАНДОТКЛОН. Будьте аккуратны при выборе функций – среди них есть очень похожие по названию. Аргументами этих функций служит все тот же диапазон ячеек.

Следующая формула сложная, частично она набирается как обычная формула, начиная с символа “=”. Указав, где находится делимое S и набрав знак операции (=F8/), вызываем мастер функций. Функция КОРЕНЬ – математическая, поэтому на первом шаге выбираем категорию математических функций. Аргументом этой функции служит число опытов, которое мы рассчитали в ячейке F6. Окончательный вид формулы “=F8/ КОРЕНЬ(F6)”.

Для расчета доверительного интервала необходимо определить коэффициент Стьюдента. Он зависит от вероятности ошибки (при обычно задаваемой надежности 95% вероятность ошибки составляет 5%), и от числа степеней свободы $n-1$). Для нахождения коэффициента Стьюдента используется статистическая функция Excel СТЬЮДРАСПОБР (“Стьюдента распределение обратное”). Особенностью этой функции является то, что первый аргумент, число 5% (или 0,05) вводится в соответствующее окно с клавиатуры. Для второго указываем адрес ячейки, где находится значение n , затем дописываем в окне “-1”. Получаем запись “F6-1”.

Для нахождения доверительного интервала используется обычная формула умножения. Конечно, вместо букв там должны стоять адреса ячеек, где находятся коэффициент Стьюдента и стандартное отклонение среднего. Как правило, значение доверительного интервала округляется до одной значащей цифры, такой же порядок округления должен быть и у среднего. Поэтому окончательный результат можно записать так: с 95%-ной надежностью $X = 14,80 \pm 0,05$. В заключение посчитаем относительную ошибку определения X : $\frac{DI}{X_{\text{ср}}}$ (формула: “=F11/F7”). Значение относительной ошибки обычно выражают в процентах, у нас 0,3%.

Если Вы впервые работаете в Excel, описанная процедура обработки данных эксперимента может показаться очень сложной. Но на практике, вводить формулы, с помощью мастера функций, ничуть не сложнее, чем обычные арифметические. К тому же, один раз подготовив лист Excel для обработки данных, можно скопировать его, и ввести результаты новой серии опытов в колонку В. Результаты будут тут же рассчитаны автоматически.

Изучение зависимостей.

Часто в исследованиях изучается зависимость некоторой величины от другой. Характер этих зависимостей стремятся выразить математическими формулами, коэффициенты которой могут иметь определенный физический смысл. Наиболее употребительна и проста в обработке линейная зависимость, которую можно выразить уравнением прямой $y = kx + b$. При этом коэффициент k показывает степень влияния x на y , а b – некоторое начальное значение y . Поскольку значения, полученные в ходе эксперимента, всегда включают некоторую ошибку, экспериментальные точки не лежат строго на прямой. Как же провести по этим разбросанным точкам наилучшую линию. Для этого используется статистический метод «наименьших квадратов» предлагающий достаточно сложные функции для нахождения коэффициентов k и b , а также для оценки их достоверности.

В Excel эта задача решается при помощи статистических функций НАКЛОН (наклон прямой относительно оси X, коэффициент k) и ОТРЕЗОК (отрезок отсекаемый прямой на оси Y, коэффициент b). Кроме того, Excel позволяет построить график зависимости, саму прямую, которая называется **линией тренда**, а также вывести уравнение прямой на график.

Для знакомства с этими возможностями перейдем на Лист 2 книги, назовем его «Зависимость» и введем необходимые исходные данные (табл.10).

Таблица 10 – Примерный вид листа «Зависимость»

	А	В	С	Д	Е	Ф
1	Линейная зависимость				Обработка	
2	№	Х	У			
3	1	1,85	3,28		НАКЛОН	1,42
4	2	2,70	4,20		ОТРЕЗОК	0,905
5	3	3,84	6,76		КВПИРСОН	0,981
6	4	4,81	8,60			
7	5	5,63	8,70			
8	6	6,81	10,82			
9	7	7,80	11,20			
10	8	8,85	14,50			
11	9	9,84	14,60			
12	10	10,50	15,50			

В колонках **В** и **С** вводятся данные эксперимента по измерению величин **Х** и **У**, записи в колонке **Е** играют роль подсказок, колонка **Ф** заполняется по мере обработки. Начнем с ячейки **Ф3**.

Ввод формул проводится с помощью мастера функций так, как это описывалось ранее. Маленькое отличие заключается в том, что у функций **НАКЛОН** и **ОТРЕЗОК** два аргумента: диапазон ячеек со значениями **У** и диапазон ячеек со значениями **Х**. Щелкаем мышкой сначала по полю для ввода первого аргумента, показываем нужный диапазон (**С3:С13**). Затем щелкаем по второму полю и повторяем ввод (**В3:В13**). Также рассчитывается и значение функции **ОТРЕЗОК** в ячейке **Ф4**.

Для оценки достоверности можно использовать квадрат коэффициента корреляции Пирсона (**R²**). Если он равен 1, то имеет место полная корреляция с моделью, т.е. точки лежат строго на прямой. В противоположном случае, если коэффициент равен 0, то уравнение линейной зависимости полностью неудачно. Для его нахождения используется статистическая функция **КВПИРСОН**. Таким образом, данные нашего эксперимента с достоверностью 0,98 описываются уравнением **y = 1,42x+0,905**.

Рассмотрим теперь второй метод обработки и представления результатов эксперимента в виде графика. Для построения графиков и диаграмм в Excel'е используется **Мастер диаграмм**, который можно запустить, используя меню Вставка – Диаграмма, или кнопки на панели инструментов с условным изображением диаграммы. Предварительно щелкнем мышкой по любой свободной ячейке нашего листа.

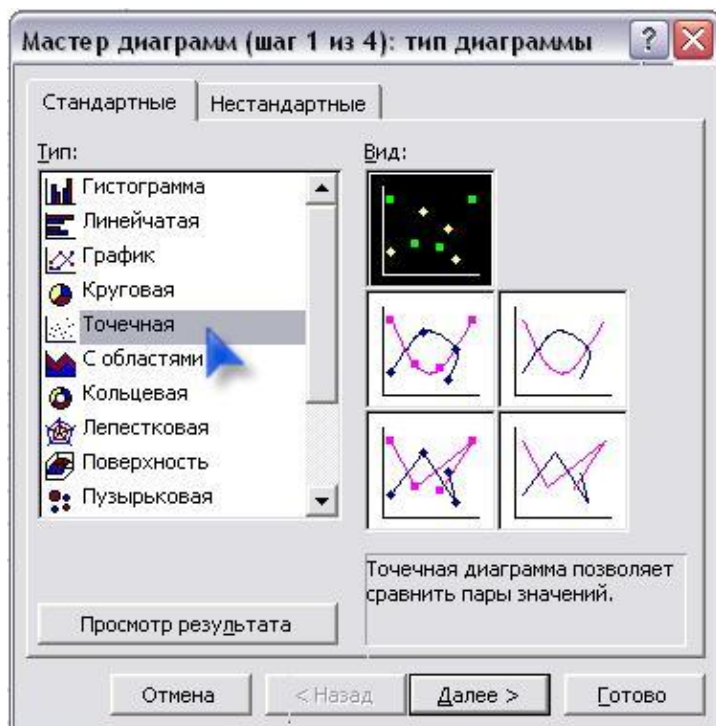


Рисунок 7 – Тип и вид диаграммы

На первом шаге (рис.7) выбирается тип и вид диаграммы. Для построения графика зависимости одной величины от другой используются точечные диаграммы, причем лучше (из-за разброса точек) выбирать вид «Точки, не соединенные линиями». Заканчиваем выбор, щелкая по кнопке «Далее».

На втором шаге необходимо указать, где у нас находится независимая величина X и зависящая от нее Y (рис.8). Для этого щелкаем по ярлычку вкладки «Ряд» и затем по кнопке «Добавить».

Открываются поля для указания X и Y. Ввод значений адресов в эти поля не отличаются от работы с Мастером функций (только при вводе Y предварительно сотрите условное значение $=\{1\}$). Если Вы правильно выполните эту часть работы, на поле вверху уже появится примерный вид графика.

Следующие два шага имеют отношение к оформлению и размещению графика. На первый раз можно, ничего не меняя, просто нажимать кнопки «Далее» и «Готово». Полученный черновой вариант графика всегда можно редактировать, изменять или удалять его отдельные элементы. Обычно для этого щелкают по нужному элементу графика правой (!) кнопкой мышки. При этом открывается контекстное меню, в котором выбирают подходящую команду.

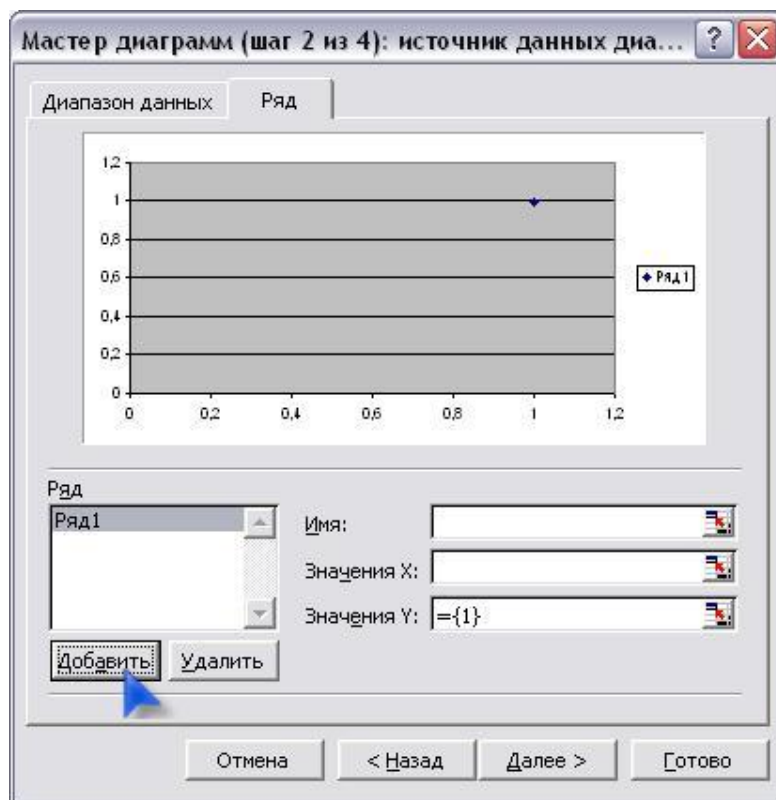


Рисунок 8 – Выбор ряда данных

Если правой кнопкой мышки щелкнуть по одной из точек графика, то в контекстном меню можно увидеть команду «**Добавить линию тренда**». Это и есть необходимая нам линия. Добавляется она тоже в два шага. На первом выбирается тип (линейный), на втором – параметры. На вкладке **Параметры** нам важно поставить галочки против слов: «показывать уравнение» и «поместить величину достоверности». Если из теоретических предпосылок понятно, что прямая должна проходить через начало координат (при нулевой концентрации скорость реакции, очевидно, равна нулю) поставим галочку и в данном пункте. Примерный вид графика после добавления линии тренда представлен на рисунке 9. Выведенное уравнение прямой и величины достоверности совпадает с рассчитанными ранее.

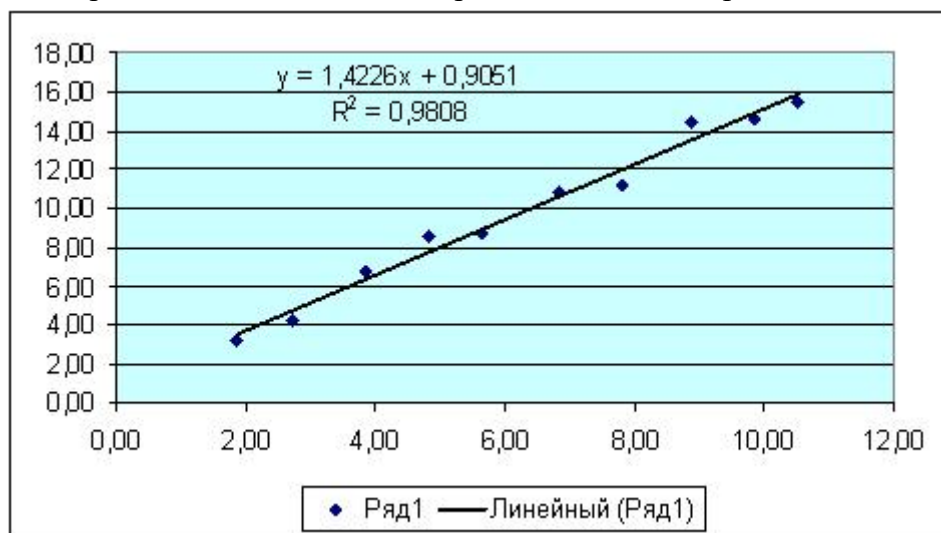


Рисунок 9 – Примерный вид графика

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для фотометрического определения содержания глюкозы в сыворотке или плазме крови ферментативным методом
ГЛЮКОЗА - ФКД

НАЗНАЧЕНИЕ.

Набор предназначен для количественного определения содержания глюкозы в сыворотке или плазме крови человека глюкозооксидазным методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на 50 определений при расходе 2,0 мл раствора ферментно-хромогенной смеси на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА.

При окислении b-D-глюкозы кислородом воздуха под действием глюкозо-оксидазы образуется эквимольное количество перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты в присутствии фенольных соединений с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации глюкозы в анализируемой пробе и измеряется фотометрически при длине волны 500 (490-540) нм.

СОСТАВ НАБОРА:

- Ферментно-хромогенная смесь, таблетированная, содержащая калий-фосфатный буфер, фенол-содержащие хромогены, 4-аминоантипирин, стабилизаторы, глюкозооксидазу (1500 ЕД) и пероксидазу (1100 ЕД) - 1 таблетка;

- калибратор (калибровочный раствор глюкозы с концентрацией 10 ммоль/л) - 1 флакон ;

- антикоагулянт (0,1 моль/л натрия цитрата) - 1 таблетка.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.

Отклонение от линейности в диапазоне концентраций глюкозы от 2 до 20 ммоль/л не превышает 5%. Чувствительность - не более 1 ммоль/л. Коэффициент вариации - не более 5%.

Для проверки правильности определений рекомендуется использовать отечественные или зарубежные контрольные сыворотки, аттестованные данным методом. Содержание глюкозы в сыворотке или плазме крови человека в норме составляет 4,2-6,1 ммоль/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить значения нормы для исследуемого контингента людей.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

Ферментно-хромогенная смесь содержит токсичные компоненты. При работе с ней следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае попадания ферментно-хромогенной смеси следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

При работе следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР», Москва, 1981 г.

Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с набором.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.

Негемолизированная сыворотка или плазма крови человека.

Сыворотку крови получают обычным способом.

Плазму крови получают следующим образом. Таблетку антикоагулянта внести в 50 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать до полного растворения; полученный раствор можно хранить при температуре +2-8°C не более 7 дней. В центрифужную пробирку внести 0,1 мл крови, добавить 0,9 мл раствора антикоагулянта, тщательно перемешать и центрифугировать при 3000 g в течение 15 минут при комнатной температуре (+18-25°C). Полученную надосадочную жидкость перенести в чистую пробирку и использовать для анализа.

Содержание билирубина до 324 мкмоль/л не влияет на правильность определения содержания глюкозы.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр или фотоэлектрокалориметр, длина волны 500 (490-540) нм, кювета с длиной оптического пути 5 или 10 мм, а также автоматический или полуавтоматический биохимический анализатор;

- термостат водяной, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,025; 0,1; 0,25; 0,9 и 2,0 мл;

- секундомер или таймер (часы);

- колба мерная вместимостью 100 мл;

- пробирки стеклянные вместимостью 10 мл;

- вода дистиллированная.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ.

Приготовление раствора ферментно-хромогенной смеси.

Таблетку ферментно-хромогенной смеси внести в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавить 70 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать до полного растворения таблетки и довести дистиллированной водой до метки. Полученный раствор ферментно-хромогенной смеси можно хранить при температуре $+2-8^\circ\text{C}$ в посуде из темного стекла не более 3 дней при условии достаточной герметизации флакона.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

Определение содержания глюкозы в сыворотке крови.

Внести в пробирки анализируемые образцы сыворотки крови и реагенты по следующей схеме:

Реагенты, сыворотка крови	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Холодная проба, мл
Раствор ферментно-хромогенной смеси	2,0	2,0	2,0
Сыворотка крови	0,025	---	---
Калибратор	---	0,025	---
Вода дистиллированная	---	---	0,025

ПРИМЕЧАНИЕ: при использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (отношение сыворотки к раствору ферментно-хромогенной смеси составляет 1 : 80).

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 15 минут при температуре $+37^\circ\text{C}$ или в течение 25 минут при комнатной температуре ($+18-25^\circ\text{C}$).

Через 5-10 минут после начала инкубации пробирки с пробами интенсивно встряхнуть вручную.

После окончания инкубации измерить величину оптической плотности опытной и калибровочной проб против холодной пробы в кюветах с длиной оптического пути 5 или 10 мм при длине волны 500 (490-540) нм.

Окраска проб стабильна в течение 2 часов после окончания инкубации при условии предохранения от прямого воздействия солнечных лучей.

РАСЧЕТЫ

Расчет концентрации глюкозы в анализируемых пробах провести по формуле:

$$C = \frac{E_o}{E_k} * 10,$$

где: C - концентрация глюкозы, ммоль/л;

E_o - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E_k - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

10 - концентрация глюкозы в калибраторе, ммоль/л.

Определение содержания глюкозы в плазме крови.

В пробирку внести 2,0 мл раствора ферментно-хромогенной смеси, добавить по 0,25 мл надосадочной жидкости, полученной так, как это описано в разделе «Анализируемые образцы».

Калибровочный раствор готовить следующим образом: в пробирку внести 0,025 мл калибратора (1 часть) и 0,225 мл раствора антикоагулянта (9 частей) и тщательно перемешать (приготовление раствора антикоагулянта см. Раздел «Анализируемые образцы»), полученную смесь можно хранить при температуре +2-8°C не более 1 дня; для определения взять 0,25 мл полученной смеси.

Далее определение содержания глюкозы и расчеты проводить как это описано в разделе «Определение содержания глюкозы в сыворотке крови»).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ.

Хранение набора должно проводиться при температуре +2-8°C в темном месте в течение всего срока годности (1 год).

Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 10 дней.

Замораживание не допускается.

Раствор ферментно-хромогенной смеси можно хранить при температуре +2-8°C в посуде из темного стекла не более 3 дней при условии достаточной герметизации флакона.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре +2-8°C в темном месте не более 3 месяцев.

Раствор антикоагулянта можно хранить при температуре +2-8°C не более 7 дней.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

Перечень основной литературы :

1. Медицинская аппаратура. Полный справочник / М.Ю. Ишманов [и др.]. - Саратов : Научная книга, 2019. - 399 с. - ISBN 978-5-9758-1838-6. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/80197.html>
2. Лукашик Е. Я., Клинецвич С. И. Медицинская техника. - Гродно: ГрГМУ, 2023. - 116 с.
3. Букейханов, Н. Р. Медицинская техника цифровой медицины : учебное пособие / Н. Р. Букейханов. — Вологда : Инфра-Инженерия, 2022. — 124 с. — ISBN 978-5-9729-1022-9. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/281804>

Перечень дополнительной литературы :

1. Апарнев А.И. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : учебное пособие / Апарнев А.И., Казакова А.А., Александрова Т. - Новосибирск : Новосибирский государственный технический университет, 2018. - 139 с. - ISBN 978-5-7782-3611-0. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/91180.html>
2. Молекулярно-абсорбционный метод анализа органических веществ : учебно-методическое пособие / Е.В. Черданцева [и др.]. - Екатеринбург : Уральский федеральный университет, ЭБС АСВ, 2015. - 98 с. - ISBN 978-5-7996-1567-3. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/69639..html>
3. Перегончая О.В. Практикум по аналитической химии. Физико-химические методы анализа : учебное пособие / Перегончая О.В., Соколова С.А.. - Воронеж : Воронежский Государственный Аграрный Университет им. Императора Петра Первого, 2017. - 100 с. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/72731.html>
4. Фролов С.В. Приборы, системы и комплексы медико-биологического назначения. Часть 3. Лабораторное оборудование для биологии и медицины: учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки бакалавров и магистров 201000 «Биотехнические системы и технологии», а также аспирантов, проводящих исследования в медико-биологической области / Фролов С.В., Фролова Т.А.. -

Тамбов : Тамбовский государственный технический университет, ЭБС АСВ, 2015. - 81 с. - ISBN 978-5-8265-1427-6. - Текст: электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/64164.html>

6. Шорохова И.С. Статистические методы анализа: учебное пособие / Шорохова И.С., Кисляк И.В., Мариев О.С. - Екатеринбург: Уральский федеральный университет, ЭБС АСВ, 2015. - 300 с. - ISBN 978-5-7996-1633-6. - Текст: электронный // IPR SMART: [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/65987.html>

7. Сальникова Е.В. Инструментальные методы анализа. Теоретические основы и практическое применение : учебное пособие / Сальникова Е.В., Мишукова Т.Г. - Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. - 122 с. - ISBN 978-5-7410-1725-8. - Текст : электронный // IPR SMART : [сайт]. - URL: <https://www.iprbookshop.ru/71275.html>

8. Баланов, А. Н. Биометрия. Разработка и внедрение систем идентификации : учебное пособие для вузов / А. Н. Баланов. — Санкт-Петербург : Лань, 2024. — 228 с. — ISBN 978-5-507-49167-4. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/405494>

9. Малахова, О. А. Методы анализа: практикум : учебное пособие / О. А. Малахова. — Самара : СамГАУ, 2023. — 109 с. — ISBN 978-5-88575-706-5. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/348062>

10. Системы здравоохранения в мировой практике ВОЗ : учебное пособие / С. В. Ефимова, Е. Л. Борщук, Е. А. Калинина [и др.]. — Оренбург : ОрГМУ, 2021. — 87 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/258059>