

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН
САМАРКАНДСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

РЕФЕРАТ

ТЕМА: Исследование крови

Выполнил: Махмараимов С.

САМАРКАНД-2016

Исследование крови

План реферата

1. Порядок исследования крови
2. Техника взятия крови
3. Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)
4. Определение содержания гемоглобина
5. Определение количества эритроцитов и лейкоцитов
6. Определение длительности кровотечения по Дукке
7. Определение времени свертываемости крови по способу Бюркера

1. Порядок исследования крови

Порядок исследования:

Морфологическое исследование крови состоит из:

- определения количества гемоглобина,
- определения количества эритроцитов и
- лейкоцитов в 1 мм³ крови,
- подсчета лейкоцитарной формулы,
- цветового показателя, а также
- определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

Реже присоединяют подсчет ретикулоцитов, тромбоцитов.

Для морфологического исследования достаточно того количества крови, которое можно получить из укола в палец.

2. Техника взятия крови

Исследования крови следует всегда производить в одно и то же время при одинаковых условиях, до приема пищи. Кровь берут из IV пальца левой руки. Перед уколом палец дезинфицируют и обезжиривают, протирая его ватой, смоченной спиртом, а затем эфиром или их смесью. Прокол производят либо стерилизованным скарификатором, либо иглой Франка со сменными стерилизуемыми лезвиями. Укол обычно производится в верхушку мякоти первой фаланги на глубину 2,5 - 3 мм. Полученную после укола первую каплю снимают фильтровальной бумагой или ватой, смоченной эфиром. Кровь для исследования берут в определенном порядке: для определения СОЭ, гемоглобина, затем - для подсчета лейкоцитов и эритроцитов; делают мазки. После взятия крови, мякоть пальца оборачивается смоченной эфиром или спиртом ватой и прижимается к ладони для того, чтобы остановить кровотечение.

3. Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)

Оборудование и реактивы:

1. Аппарат Панченкова.
2. Капилляры Панченкова.
3. 5% раствор лимоннокислого натрия (свежеприготовленный) .
4. Часовое стекло.
5. Игла Франка или скарификатор.
6. Вата.
7. Спирт.

Аппарат Панченкова состоит из штатива с капиллярами (12 шт.) шириной 1 мм , на стенке которых нанесены деления от 0 (сверху) до 100 (снизу). На уровне 0 имеется буква К (кровь), а на середине пипетки, около метки 50 - буква Р (реактив).

Ход исследования:

В капилляр Панченкова набирают 5% раствор лимоннокислого натрия до метки 50 (буква Р) и выдувают на часовое стекло. Из укола пальца, держа капилляр горизонтально, набирают кровь до метки 0 (Буква К). Затем выдувают кровь на часовое стекло с лимоннокислым натрием, после чего вторично набирают кровь до метки 0 и выпускают дополнительно к первой порции.

Следовательно, на часовом стеклышке имеется соотношение цитрата и крови, равное 1:4 , т. е. четыре объема крови в один объем реактива. Перемешивают кровь концом капилляра, набирают ее до метки 0 и ставят в аппарат Панченкова строго вертикально. Через час отмечают число миллиметров столбика плазмы.

Оценка полученных данных:

В норме СОЭ равна для мужчин 4- 10 мм , для женщин 4- 15 мм в час.

4. Определение содержания гемоглобина

Оборудование и реактивы:

1. Гемометр Сали.
2. Пипетка от гемометра Сали.
3. 0,1 N HCl.
4. Дистиллированная вода.
5. Пипетка.
6. Стеклянная палочка.

7. Игла Франка или скарифikator.

Для количественного определения гемоглобина пользуются обычно колориметрическим способом. Принцип определения заключается в превращении гемоглобина крови в солянокислый гематин и сравнении цвета полученного с имеющимся в приборе стандартом. Прибором для определения служит гемометр Сали. Он состоит из двух запаянных пробирок со стандартной цветной жидкостью (1% раствор солянокислого гематина в глицерине), содержащей 16,67 г% гемоглобина (16,67 г на 100 мл крови). Между ними расположена градуированная пробирка, имеющая две шкалы. Одна - с делениями от 0 до 23 служит для определения гемоглобина в граммах на 100 мл крови, т. е. в грамм процентах; другая шкала с делениями от 0 до 140 показывает единицы гемоглобина (процент гемоглобина).

Ход исследования:

В градуированную пробирку, находящуюся в среднем прорезе, наливают до начала шкалы 0,1N раствор соляной кислоты. Затем из места укола на мякоти пальца пипеткой Сали набирают кровь до метки 0,02 мл (20 мм³), насасывая ее ртом через надетую на верхний конец пипетки резиновую трубочку со стеклянным мундштуком. Кончик пипетки обтирают от крови и опускают в пробирку с соляной кислотой, осторожно выдувая содержимое, чтобы не образовались пузырьки воздуха. Ударяя пальцем по нижней части пробирки, тщательно размешивают кровь и оставляют ее на 5 мин. для образования солянокислого гематина. За это время набирают кровь для остальной части анализа. По истечении этого времени приливают в пробирку по каплям дистиллированную воду, размешивая стеклянной палочкой до тех пор, пока цвет раствора исследуемой крови полностью сравнивается с цветом стандартной жидкости. Отмечают, на каком делении находится в градуированной пробирке нижний мениск раствора крови, показывающий содержание гемоглобина в г% или единицах (процентах).

Оценка полученных данных:

В норме содержание гемоглобина в грамм-процентах у мужчин колеблется от 13,3 до 18 г%, у женщин - от 11,7 до 15,8 г% (в среднем 13,7); в единицах (процентах) у мужчин - от 80 до 108 ед., у женщин - от 70 до 95 ед.

5. Определение количества эритроцитов и лейкоцитов

Оборудование и реактивы:

1. смесители (меланжеры) или пробирки для подсчета эритроцитов и лейкоцитов.
2. 3% - раствор NaCl (для разведения эритроцитов) или жидкость Гайема.
3. 3% раствор уксусной кислоты.

- Счетная камера.

Смесители представляют собой капиллярную пипетку с расширением- ампулой, содержащей бусинку, способствующую смешению крови с разводящей жидкостью. Смесители, предназначенные для подсчета эритроцитов, обладают капилляром более тонкого калибра и более объемистой ампулой на них нанесены метки одна - 0,5 другая - перед входом в ампулу - 1.0, третья - у выхода из ампулы - 101.

При набирании крови до метки 0,5 она окажется разведенной в 200 раз, при набирании до 1,0 - в 100 раз. Для разведения эритроцитов применяют 3% раствор поваренной соли или жидкость Гайема, в которой лучше сохраняется форма эритроцитов. Смеситель для лейкоцитов имеет более широкий просвет капилляра и меньшую по величине ампулу. Нанесены три метки: 0,5 , 1,0 и 11. Это позволяет развести кровь в 10, либо в 20 раз (чаще разводят в 20 Раз). Для разведения лейкоцитов используют 3 - 5% раствор уксусной кислоты. Уксусная кислота растворяет эритроциты, что позволяет вести подсчет только лейкоцитов.

Счетная камера.

Для подсчета форменных элементов наиболее часто применяется камера типа Бюркера с выгравированной на ней сеткой Горяева. Счетная камера состоит из толстого предметного стекла с особым углублением. На дне углубления счетной камеры выгравирована сетка, в клетках которой и подсчитываются форменные элементы. По краям углубления имеются возвышения, куда накладывается покровное стекло. Между нижней поверхностью этого стекла и дном углубления образуется замкнутое пространство, которое и представляет собой счетную камеру. Глубина камеры соответствует 0,1 мм . Счетная камера типа Бюркера разделена пополам глубокой канавкой и имеет на каждой половине сетку Горяева, что позволяет сразу считать 2 капли, не заполняя вновь камеры. Сетка Горяева имеет 225 больших квадратов (15X15), 25 из которых разделены на малые, по 16 в каждом; имеются также пустые квадраты, собранные в группы по 4 квадрата. Всего в сетке 100 больших пустых квадратов, собранных в 25 групп (5X5). Каждая сторона маленького квадратика равна 1/20 мм, а так как высота камеры составляет 0,10 мм , то объем равен 1/4000 мм³.

Ход исследования:

Для подсчета эритроцитов берут смеситель для эритроцитов, надевают резиновую трубочку, легким насасыванием набирают кровь из укола до метки 0,5. Избыток крови удаляют фильтровальной бумагой, после чего кончик смесителя погружают в приготовленный заранее флакон с 3% раствором поваренной соли или раствором Гайема и насасывают раствор, заполняя всю ампулу до метки 101. Тотчас снимают резиновую трубку, зажимают смеситель по длине между большим и указательным или средним пальцем и встряхивают в течение 3 минут. После этого заполняют счетную камеру, сливают

1-2 капли и выпускают последующую каплю на сетку.

Для подсчета лейкоцитов кровь из места укола набирают до метки 0,5, затем разводят 3% раствором уксусной кислоты до метки 11. Энергично встряхивают в течение 3 минут, после чего сливают 1-2 капли и заполняют счетную камеру. При работе с пробирками для подсчета эритроцитов, наливают 4 мл 3% раствора поваренной соли или жидкости Гайема и в нее выпускают 0,02 мл. крови, отмеренной пипеткой от гемометра Сали. Для подсчета белых кровяных элементов в пробирку наливают 0,4 мл 3 - 5% раствора уксусной кислоты и 0,02 мл крови. Энергично встряхивают пробирки, затем в жидкость опускают пипетку из гемометра Сали и, набрав содержимое, заполняют счетную камеру.

Заполнение счетных камер:

Хорошо вымытое и вытертое шлифованное покровное стекло накладывают на выступающие боковые края. Мякотью больших пальцев покровное стекло притирают, двигая вверх и вниз, все время плотно прижимая, пока не появятся, так называемые, Ньютоновы кольца. Перед заполнением камеры вновь энергично встряхивают смесители. выпускают 2 капли на

фильтровальную бумагу, а третьей заполняют щелку между камерой и покровным стеклом. Жидкость по капиллярности засасывается между ними и заполняет пространство над сеткой. Жидкость при заполнении камеры не должна затекать в желобки, если это случится, то ее удаляют фильтровальной бумагой.

Подсчет эритроцитов. Подсчет производят спустя 1-2 минуты (когда эритроциты осядут на дно камеры), пользуясь объективом 40X и окуляром 7X, либо объективом 8X и окуляром 15X.

Чтобы не сбиться со счета, придерживаются определенной последовательности счета: передвигая из квадрата в квадрат по горизонтали один ряд слева направо, следующий - справа налево. Считают, помимо находящихся внутри квадрата, все эритроциты, лежащие на двух линиях, например, на левой и верхней, и пропускают все лежащие справа и снизу. Считать эритроциты надо в 5 больших квадратах, т. е. в 80 маленьких.

Чтобы избежать неточности, вследствие не вполне равномерного распределения крови в камере, выбирают для подсчета не 5 рядом лежащих квадратов, а продвигаются по всей сетке.

Количество эритроцитов в 1 мм³ (искомое) вычисляют следующим образом: единицей счета всегда, при всяком подсчете, в любой сетке служит малый квадрат. Объем его, как было указано, равен 1/4000 мм³. Сосчитав эритроциты в 5 больших квадратах (80 малых квадратов), делят это количество на 80 и умножают на 200 (степень разведения крови) и на 4000 (чтобы получить количество клеток во всем кубическом миллиметре); практически, следовательно, полученное число умножают на 10000 (прибавляют четыре нуля).

Пример : В 80 маленьких квадратах подсчитано 480 эритроцитов. Следовательно, количество эритроцитов в 1 мм³ крови равно:

$$\begin{array}{r} 480 \cdot 4000 \cdot 200 \\ \hline 80 \end{array} = 4\ 800\ 000$$

Подсчет лейкоцитов. Для получения достаточно точного результата при подсчете лейкоцитов необходимо сосчитать не менее 100 больших квадратов (=1600 малых). Количество лейкоцитов в 1 мм³ получается следующим образом: число, сосчитанное в 3100 больших квадратах, делят на 1600 (приводят к 1 малому квадрату) и умножают на 20 (степень разведения) и на 4000; практически, сокращая постоянные цифры формулы, количество сосчитанных лейкоцитов (при разведении в 20 раз) умножают на 50.

Пример: в 100 больших квадратах сосчитано 120 лейкоцитов.

Следовательно, количество лейкоцитов в 1 мм³ равно

$$\begin{array}{r} 120 \cdot 4000 \cdot 20 \\ \hline 1600 \end{array} = 6000$$

Оценка полученных данных:

Нормальное количество эритроцитов в 1 мм³ от 4500000 до 5000000. В норме среднее количество лейкоцитов в 1 мм³ от 5000 до 9000 (крайние границы 4000 - 9000).

Вычисление цветового показателя:

Зная число эритроцитов в крови и содержание в ней гемоглобина, можно высчитать в какой мере насыщен каждый эритроцит. Цветовой показатель соответствует максимальному содержанию гемоглобина в одном нормальном эритроците, величина его условно принимается за единицу.

Для вычисления цветового показателя пользуются следующей формулой:

найденное количество Нв найденное число эритроцит.

----- : -----

нормальное количество Нв нормальное число эритроцит.

Практически определение цветового показателя производят путем деления процента (единиц) гемоглобина на удвоенные две первые цифры числа эритроцитов. Если же число эритроцитов меньше 1000000, то процент Нв делится на удвоенную первую цифру числа эритроцитов.

Приготовление мазков:

Мазок крови делают обычно вслед за наполнением обоих смесителей. Вытирают палец и пользуются свежесвыступившей каплей крови. Кровь берут на предметное стекло, которое должно быть тщательно обезжирено. Затем шлифованным предметным стеклом, или толстым покровным стеклом, которое ставят на первое предметное стекло под углом 45° в непосредственной близости от капли крови, чтобы она растекалась тонким слоем по ширине шлифованного стекла, делают на нем мазок. Хорошо сделанный мазок желтоватого цвета, просвечивает. Вслед за этим мазок фиксируют.

Фиксация мазка делается для того, чтобы уплотнить протоплазму форменных элементов крови и сделать мазок более устойчивым. Высохший на воздухе мазок погружается для фиксации в банку с метиловым спиртом на 1 - 3 мин., либо в смесь Никифорова, состоящую из равных частей этилового спирта и эфира, на 10-20 минут. По окончании фиксации мазки вынимают пинцетом и ставят в вертикальном положении на фильтровальную бумагу для высушивания.

Окрашивание мазка производится, как правило, при помощи смеси нескольких красок. Наиболее широко применяется окраска мазка по Романовскому - Гимзе. Перед употреблением краску разводят дистиллированной водой из расчета 1 - 2 капли на 1 мл воды. Мазки укладывают на мостики из стеклянных палочек, опирающихся на края кюветы, и заливают красителем в максимальном количестве, которое может удержаться на стекле. Продолжительность окраски 30 минут. После окраски краситель смывают струей воды, а мазки ставят вертикально на фильтровальную бумагу для просушки.

Окраска ретикулоцитов:

1. Предметные стекла (обезжиренные).
2. 1% раствор бриллианткрезилблау (спиртовой).
3. Шлифовальное предметное стекло.
4. Чашка Петри.
5. Фильтровальная бумага.
6. Стеклянная палочка.

7. Иммерсионное масло.

Методика окрашивания:

На обезжиренное абсолютно чистое предметное стекло наносят стеклянной палочкой каплю 1% алкогольного раствора краски бриллиант крезилблау. Шлифовальным предметным стеклом эту каплю размазывают так же, как при приготовлении обычного мазка крови. После подсыхания красителя на него наносят каплю крови и делают тонкий мазок, который сразу помещают во влажную камеру (чашка Петри с вложенным в нее кусочком мокрой фильтровальной бумаги). Через 3-5 минут мазок вынимают, высушивают на воздухе и исследуют под микроскопом с иммерсией.

Под микроскопом эритроциты при этой окраске желтовато-зеленоватого цвета; в отдельных же эритроцитах замечается синяя сеточка, иногда скудная и нежная, иногда обильная, зернистая - это и есть ретикулоциты.

Подсчет ретикулоцитов производится так:

Подсчитывают в поле зрения 1000 эритроцитов и отмечают сколько среди них ретикулоцитов. Найденное количество делят на 10. Нормальное содержание ретикулоцитов в крови 0,2 - 1,0%.

Подсчет лейкоцитарной формулы:

Лейкоцитарной формулой называют процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов крови. Для более точного ее вычисления необходимо просмотреть не менее 200 лейкоцитов. Так как различные виды лейкоцитов распределяются по мазку неравномерно, необходимо соблюдать следующие правила: проводить подсчет по верхнему и нижнему краю мазка, передвигая мазок по зигзагообразной линии. Считают три поля по самому краю в горизонтальном направлении, затем - три поля, направляясь к середине мазка, и т. и. Следовательно, в каждом из четырех участков насчитывают 50 клеток, а всего - 200. Для подсчета лейкоцитарной формулы используют специальный клавишный счетчик, на каждом клавише которого отмечается начальная буква названия лейкоцитов. Результаты подсчета лейкоцитарной формулы записываются в виде лейкограммы, имеющей в норме примерно следующий вид:

нейтрофилы

Колич. Лейкоцитов	базо- филы	эозино- филы	юные	палочко- ядерные	сегменто- ядерные	лимфо- циты	моно- циты
8000	1%	4%	0	4%	60%	25%	6%

Микроскопическая картина крови:

Эритроцит - безъядерная клетка, окрашивающаяся кислыми красками в розовый цвет и имеющая форму несколько уплощенного круга с вдавлением в центре. Диаметр в среднем около 8 микрон.

Лейкоциты различаются среди эритроцитов по их большей величине, по наличию ядра и по характеру окраски. Различают лейкоциты: базофильные, эозинофильные, нейтрофильные, лимфоциты и моноциты.

Первые три вида объединяются в группу гранулоцитов, т.е. клеток в протоплазме которых имеется зернистость.

Базофилы - клетки размером 12 - 14 микрон, с ядром неопределенной формы. Протоплазма содержит многочисленные крупные зерна, окрашивающиеся в фиолетовый цвет. Количество клеток не превышает 0,5-1%.

Эозинофилы - клетки размером 12 - 15", имеют сегментированное ядро в виде двух грушевидных сегментов, соединенных между собой тонким мостиком. Наиболее характерным признаком эозинофила является зернистость протоплазмы ярко-красного цвета. Количество эозинофилов в норме от 1 до 4%.

Нейтрофилы - круглые клетки, средняя величина 9 - 12 микрон.

Протоплазма слегка розоватая с мелкой зернистостью красновато-фиолетового цвета. Ядро состоит из 2-х, 4-х и более сегментов, соединенных между собой тоненькими мостиками, окрашивается основными красками в сине-фиолетовый цвет. Сегментоядерные нейтрофилы составляют от 50 до 68%. В менее зрелых клетках ядро вытянуто в виде палочки, так называемые палочко-ядерные нейтрофилы 1-4%. Еще реже, около 1%, встречаются нейтрофилы с круглым ядром - юные формы. Увеличение числа палочко-ядерных, появление юных, вплоть до миелоцитов, носит название сдвига влево, или регенеративного сдвига. Сдвигом вправо называется изменение формулы лейкоцитов в сторону увеличения более зрелых клеток.

Лимфоциты - клетки размером 7 - 9 микрон. Лимфоциты бывают малые, средние и широкопротоплазменные. Ядро круглое или овальное, сине-фиолетового цвета; иногда оно имеет с одной стороны острое углубление. Протоплазма голубая, нередко различаются ярко-красные зерна. Вокруг ядра остается бесцветный или более бледный ободок. В норме лимфоциты составляют 25 - 38%.

Моноциты - самая большая клетка нормальной периферической крови. Диаметр 12-20 микрон с крупным овальным ядром, почковидной или подковообразной формы. Окраска ядра светлее, чем у нейтрофилов и лимфоцитов, протоплазма серо-голубого цвета с мелкой азурофильной зернистостью. Моноциты составляют 6-8% всех лейкоцитов крови.

6. Определение длительности кровотечения по Дукке **Оборудование и реактивы:**

1. Игла Франка или скарификатор.
2. Фильтровальная бумага.
3. Секундомер.

Ход исследования:

Иглой Франка делают укол глубиной 3 мм в мякоть пальца или мочку уха. Самопроизвольно выступающая кровь снимается каждые 15-30 секунд фильтровальной бумагой. Через 1-3 минуты снятая фильтровальной бумагой капля становится маленькой, затем бумага совсем не окрашивается. Промежуток времени от момента появления первой капли крови до прекращения окрашивания фильтровальной бумаги обозначается как продолжительность кровотечения.

Оценка полученных данных:

Нормальная продолжительность кровотечения 2 - 4 минуты.

7. Определение времени свертываемости крови по способу Бюркера Оборудование и реактивы:

1. Часовое стекло.
2. Чашка Петри с влажной фильтровальной бумагой на дне.
3. Тонкая стеклянная палочка или игла.
4. Игла Франка или скарификатор.
5. Дистиллированная вода.
6. Секундомер

Ход исследования:

На часовое стекло наносят одну каплю прокипяченной дистиллированной воды. Иглой Франка делают укол в мякоть пальца, первую каплю снимают, а вторую наносят на часовое стекло, помешивают тонкой стеклянной палочкой. Время взятия крови отмечают по секундомеру. Часовое стекло помещают в чашку Петри. Лучше всего производить исследование при температуре 25°C. Каждые полминуты тонкой стеклянной палочкой или иглой прикасаются к капле крови от центра к периферии до тех пор, пока за палочкой не потянутся первые ниточки фибрина, после чего отмечают время появления их.

Оценка полученных данных:

У здоровых людей время свертываемости по методу Бюркера равно 5-6 минутам.