

Воробель А.В., Грицуляк Б.В., Глодан О.Я., Халло О.Є.

Курс лекцій

ЦИТОЛОГІЧНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА МІКРОПРЕПАРАТІВ

ЛЕКЦІЇ З КУРСУ

“ЦИТОЛОГІЧНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА МІКРОПРЕПАРАТІВ”

Змістовий модуль 1

“Цитологічна техніка та діагностика мікропрепаратів в гематології”

Лекція № 1

Тема: Специфіка роботи клініко-діагностичної лабораторії (КДЛ).

План

1. Основні підрозділи клініко-діагностичної лабораторії (КДЛ).
2. Правила техніки безпеки та охорони праці під час роботи в КДЛ.
3. Обов'язки медичного лаборанта.
4. Вихначення поняття “клінічні лабораторні дослідження”
5. Обсяг робіт в клініко-діагностичної лабораторії.
6. Лаборанти повинні вміти (перелік питань).

СПЕЦИФІКА РОБОТИ В КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Сучасна багатопрофільна клініко-діагностична лабораторія у своїй структурі має такі основні підрозділи: гематологічний (дослідження крові), загальноклінічний (дослідження сечі, шлункового вмісту, дуоденального вмісту, харкотиння, калу, цереброспінальної, серозної рідин, виділень із статевих органів та ін.), серологічний, цитохімічний і цитологічний, біохімічний, бактеріологічний, імунологічний.

КДЛ повинна бути розташована окремо від інших приміщень, мати два виходи (основні та допоміжні приміщення). Серед допоміжних – препаратурська, для миття посуду, місце для зберігання реактивів.

Лабораторія повинна мати нормативне освітлення. Світильники розташовують над лабораторними столами, лабораторію обладнують припливно-витяжною вентиляцією, витяжними шафами.

Під час роботи в КДЛ необхідно строго дотримувати правил техніки безпеки та охорони праці.

Правила техніки безпеки та охорони праці

Лаборант в обов'язковому порядку повинен користуватися засобами індивідуального захисту (гумові рукавиці, фартухи, халати, шапочки, захисні окуляри, маски).

На робочому місці повинні перебувати тільки необхідні для виконання даного дослідження реактиви, обладнання, прилади і т. д.

Концентровані кислоти необхідно зберігати у товстостінному скляному посуді з притертими скляними корками у витяжній шафі.

Всі роботи з леткими кислотами, легкозаймистими речовинами слід проводити лише у витяжній шафі. При розведенні концентрованих кислот, кислоту лити у воду, а не навпаки.

При роботі з реактивами використовувати піпетки з гумовими грушами або спеціальні відсмоктувачі.

Відпрацьовані кислоти слід нейтралізувати, розвести їх і тільки тоді утилізувати.

Легкозаймисті речовини не можна нагрівати на відкритому вогні. Для цього необхідно використовувати водяну баню з закритим електричним підігрівом.

Всі електроприлади повинні бути заземлені. Заземлення перевіряють один раз на рік з видачею сертифікату. Працювати можна лише зі справною апаратурою, яка завірена Держстандартом України.

У лабораторії повинен бути протипожежний інвентар: вогнегасники, ящики з засобами пожежогасіння.

Лаборант повинен постійно пам'ятати про ймовірність зараження при роботі з інфікованим матеріалом. Тому слід працювати в захисному одязі.

Відпрацьований матеріал, використаний посуд, поверхню лабораторного столу та приміщення дезінфікують розчинами хлораміну, хлорного вапна, фенолу, перекису водню та ін. За порушення правил безпеки лаборант несе адміністративну і кримінальну відповідальність.

У приміщенні лабораторії забороняється їсти і курити.

Медичний лаборант повинен організувати свою роботу так, щоб домогтись високої продуктивності праці з раціональними затратами сил і засобів.

Обов'язки лаборанта клініко-діагностичної лабораторії складні та різно-сторонні Він є помічником лікаря-лаборанта і підпорядкований безпосередньо завідувачу лабораторії.

Обов'язки медичного лаборанта

1. Забезпечувати санітарно-протиепідемічний режим у КДЛ.
2. Обладнувати робоче місце.
3. Виготовляти реактиви, дезінфікуючі розчини, знешкоджувати відпрацьований матеріал, мити лабораторний посуд і проводити стерилізацію.
4. Брати матеріал для лабораторних досліджень.
5. Проводити основні види досліджень та вміти їх інтерпретувати.
6. Організовувати процес роботи шляхом групування однотипних досліджень, виконувати їх у суворій послідовності, раціонально використовувати свій робочий час.
7. Працювати з сучасною лабораторною апаратурою.
8. Дотримуватися правил техніки безпеки під час роботи в КДЛ.
9. Вести затверджену документацію та звітність.
10. Надавати першу медичну допомогу при нещасних випадках.

Лаборанти повинні бути поінформовані з таких питань:

1. Досягнення медицини.

2. Нові методи лабораторної діагностики.

3. Нові чинні накази МОЗ України та обласного управління охорони здоров'я.

4. Екологічний і санітарно-епідеміологічний стан регіону, країни.

Клінічні лабораторні дослідження – це комплекс лабораторних досліджень, які застосовують лікарі для діагностики, верифікації діагнозу, прогнозу захворювань, спостереження за перебігом захворювань і лікування.

У клініко-діагностичній лабораторії необхідно мати окреме приміщення для проведення таких робіт:

- реєстрація і прийом біоматеріалу;
- взяття крові з пальця;
- дослідження показників крові;
- загальноклінічне дослідження (сечі, шлункового вмісту, дуоденального вмісту, харкотиння, цереброспінальної рідини, серозної рідини, виділень зі статевих органів);
- мікроскопічне дослідження біоматеріалу;
- забарвлення препаратів;
- виготовлення реактивів;
- миття посуду і дезінфекція відпрацьованого матеріалу. Робочі місця мають бути забезпечені всім необхідним для проведення відповідних робіт.

Лаборанти повинні вміти:

- обладнати робоче місце для дослідження крові;
- виготовляти реактиви і дезінфекційні розчини;
- проводити дезінфекцію лабораторного посуду до і після дослідження крові;
- дотримуватися правил профілактики СНІДу, сироваткового гепатиту під час гематологічних досліджень;
- визначати ШОЕ, кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, розраховувати колірний показник і середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті, виготовляти мазки крові, фіксувати і забарвлювати їх, підраховувати лейкоцитарну формулу;
- визначати осмотичну резистентність еритроцитів, гематокритну величину;
- визначати час зсідання крові та тривалість кровотечі;
- визначати групу крові, резус-фактор, індивідуальну сумісність, резус-антитіла;
- проводити запис результатів досліджень у бланк аналізів і реєстраційний журнал;
- проводити основні види досліджень та вміти їх інтерпретувати [7].

Лекція № 2

Тема: Дослідження складу периферичної крові. Загальний клінічний аналіз периферичної крові: техніка визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) та концентрація гемоглобіну за методом Салі.

План

1. Компоненти загального клінічного аналізу.
2. Матеріальне забезпечення.
3. Правила і послідовність взяття крові на клінічний аналіз.
4. Техніка проколу шкіри пальця та взяття крові на клінічний аналіз.
5. Техніка визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ).
6. Техніка визначення гемоглобіну за методом Салі. Ознайомлення з визначенням гемоглобіну на фотоелектрокалориметрі та автоматичних гемоаналізаторах.

ЗАГАЛЬНИЙ КЛІНІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ

У поняття загального клінічного аналізу крові входять такі компоненти:

- виготовлення мазків крові;
- визначення ШОЕ;
- визначення вмісту гемоглобіну;
- визначення кількості еритроцитів;
- визначення кількості лейкоцитів;
- вираховування колірного показника та середнього гемоглобіну в еритроциті;
- підрахунок лейкоцитарної формули.

Матеріальне забезпечення:

- штатив із пробірками: аглютинаційними і серологічними;
- штативи та капіляри Панченкова;
- гемометр і піпетка Салі;
- фотоелектроколориметр;
- 5% розчин цитрату натрію;
- 3% розчин ацетатної кислоти, 3% розчин натрію хлориду, 0,1 нормальний розчин хлоридної кислоти, трансформуючий розчин;
- скляні палички;
- гумові груші;
- камера Горяєва;
- покривні скельця;
- шліфовані скельця;
- предметні скельця;

- стандартні розчини гемоглобіну, лейкоцитів, еритроцитів, тромбоцитів;
- стерильний матеріал, скарифікатори, вата, спирт 70°, 1% розчин йоду, дезінфекційні розчини, гумові рукавички;
- розчини для очищення капілярів і контролю миття та стерилізації.

Правила і послідовність взяття крові на клінічний аналіз

Для визначення клінічного аналізу крові необхідно підготувати реактиви й обладнати робоче місце.

Дезінфікуємо палець пацієнта, робимо прокол шкіри пальця, першу краплю крові знімаємо сухою стерильною ваткою і виготовляємо два мазки. Набираємо кров у луночку, а з неї на ШОЕ, гемоглобін, еритроцити і лейкоцити.

Інші дослідження крові проводяться за спеціальним призначенням лікаря. Це додаткові методи дослідження крові.

Техніка проколу шкіри пальця та взяття крові на клінічний аналіз

При взятті крові та при роботі з нею необхідно дотримуватись правил особистої гігієни та вимог наказів з приводу профілактики вірусного гепатиту (наказ № 408 МОЗ України від 12.07.1989 р.), СНІДу (наказ № 120 від 25.05.2000 р.). Важливе значення має також дотримання послідовності взяття крові.

Взяття крові на клінічний аналіз проводимо натще, з IV пальця лівої руки, в окремих випадках – із мочки вуха або з п'ятки (у немовлят).

При взятті крові необхідно дотримувати всіх правил асептики. Шкіру пальця обробляємо стерильним ватним тампоном, змоченим спиртом, і протираємо сухим стерильним ватним тампоном. Після цього обережно відкриваємо (щоб не розстерилізувати) одноразовий скарифікатор і робимо прокол шкіри пальця на глибину 3–4 мм, ближче до його бокової поверхні в напрямку, перпендикулярному до папілярних ліній пальця. Першу краплю знімаємо сухим стерильним ватним тампоном, тому що вона містить тканинну рідину, яка може вплинути на результат аналізу.

Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ)

Кров, змішана з розчином цитрату натрію, не зсідается при стоянні, а розділяється на два шари: верхній – плазма, нижній – форменні елементи крові. Залежно від зміни хімічних і фізичних властивостей крові осідання еритроцитів і розділення на шари відбувається з різною швидкістю.

У нормі ШОЕ для різних категорій обстежуваних людей різне:

- | | |
|----------------------|--------------------|
| – жінки | 2–15 мм/год; |
| – чоловіки | 1–10 мм/год; |
| – новонароджені | 1–2 мм/год; |
| – грудні діти | 9 і більше мм/год; |
| – люди похилого віку | до 20 мм/год. |

Матеріальне забезпечення: вата, спирт 70°, скарифікатори, 5% цитрат натрію скло з луночкою, аглютинаційні пробірки, штативи та капіляри Панченкова, годинник, дезрозчин, гумові рукавички.

Правила визначення ШОЕ

При постановці ШОЕ потрібно дотримуватися таких правил:

- брати кров натще;
- прокол пальця робити на все вістря скарифікатора (тоді кров вільно виходить із ранки);
- перевіряти придатність реактивів, використовувати стерильні капіляри;
- дотримуватися правильного співвідношення реактиву і крові (1 : 4);
- старанно перемішувати реактив з кров'ю;
- заповнювати капіляри без пухирців повітря;
- ставити капіляри у штатив Панченкова строго вертикально;
- проводити визначення при температурі 18–22 °С;
- не переміщати штатив із кров'ю протягом визначення (рис. 1).

Відразу після встановлення капіляра в штатив лаборант повинен відмічати час постановки, записувати номер і прізвище хворого, а також час, коли знімається показник.

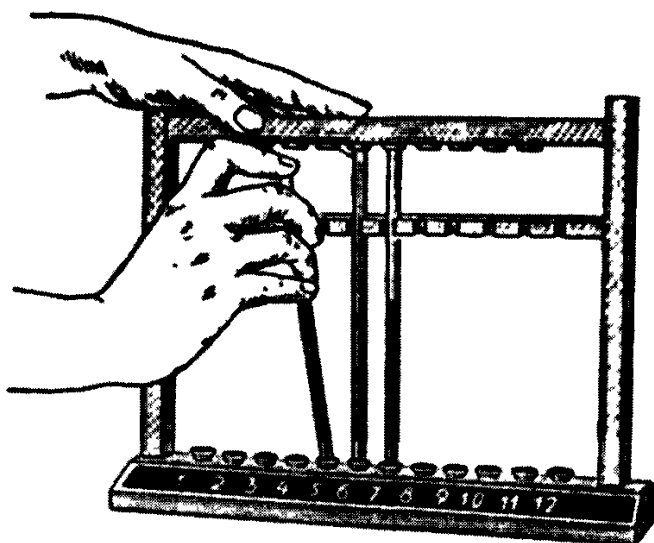


Рис. 1. Апарат Панченкова для визначення ШОЕ

Хід визначення

Беремо кров натще. Використовуємо свіжий реактив, чисті і сухі капіляри. Проколюємо шкіру пальця, першу краплю знімаємо. Промиваємо капіляр Панченкова 5% цитратом натрію і набираємо його в пробірку: якщо 25 поділок 1 капіляр крові, а якщо до 50 поділок – 2 капіляри крові до мітки “К”. Вносимо кров у пробірку з цитратом натрію, розмішуємо і набираємо в капіляр до мітки “К”. Ставимо в штатив Панченкова на 1 год.

Визначення проводимо за висотою стовпчика плазми крові, що міститься над осілими еритроцитами (в мм/год). Записуємо результат і пересвідчуємося, що кров не згорнулася. Для цього виймаємо капіляр зі штатива: якщо кров витікає з нього вільно, це значить, що визначення проведене правильно.

Прискорення ШОЕ вказує на наявність патологічного процесу (інфекційно-запального, гнійного, септичного, гемобластозу та ін.) і є показником його важкості, однак нормальні показники ШОЕ не завжди свідчать про відсутність патологічного процесу.

Прискоренню ШОЕ сприяють також збільшення в крові глобулінів, фібриногену, холестерину і зменшення в'язкості крові (зокрема, при анеміях, гломерулонефриті, уремії).

Сповільнення ШОЕ характерне для станів, які супроводжуються згущенням крові, збільшенням в'язкості крові, маси еритроцитів, при еритроцитозах, еритремії, а також при збільшенні вмісту в крові альбумінів і жовчних кислот, при серпоподібно-клітинній анемії, опіках, холері, вроджених вадах серця, серцево-судинній недостатності, набряках, опіках тощо.

Визначення концентрації гемоглобіну

Гемоглобін – дихальний пігмент, який забезпечує фіксацію кисню і постачання його тканинам. За будовою це хромопротеїд, простетичною частиною якого є гем, а білковою – глобін. Біосинтез гемоглобіну відбувається в кістковому мозку в нормоцитах.

Концентрацію гемоглобіну визначають для діагностики ряду патологічних процесів: анемії, еритремії, вторинних еритроцитозів, оцінки ступеня крововтрати, згущення крові при дегідратації організму, функцій кісткового мозку, ефективності гемотрансфузій, впливу медикаментів, іонізуючого випромінювання та ін.

Нормальна концентрація гемоглобіну у жінок становить 130–140 г/л, у чоловіків 130–160 (до 180 г/л).

У крові дітей в перший тиждень після народження міститься 170–190 г/л гемоглобіну, у віці 3–6 місяців 95–135 г/л, у подальшому концентрація гемоглобіну стає як у дорослих.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, скарифікатори, капіляр та гемометр Салі, ФЕК, 0,1 нормальний розчин хлоридної кислоти, піпетки, скляні палички, трансформуючий розчин, стандарт гемоглобіну для контролю, гумові груші, дистильована вода, дозатори, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Визначення гемоглобіну за методом Салі

Принцип методу: гемоглобін при додаванні хлоридної кислоти перетворюється у хлорид гематину коричневого кольору.

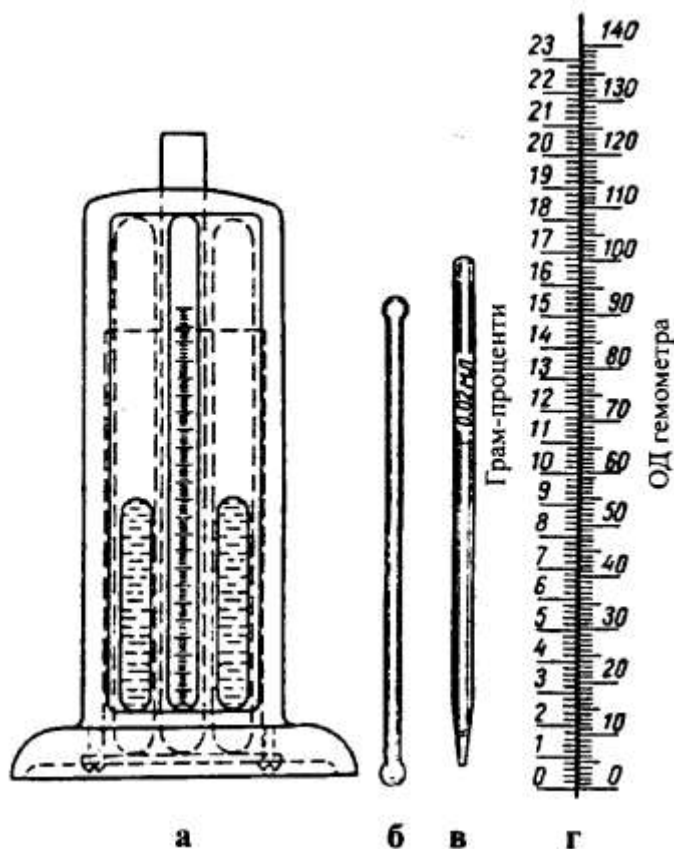


Рис. 2. Гемометр Салі та його деякі складові частини: а – гемометр Салі; б – паличка; в – капіляр; г –градуйована шкала гемометра

Гемометр Салі – це простий колориметр (рис. 2). Прилад має пластмасовий корпус, задня стінка якого зроблена з матового скла. В корпусі вмонтовані три невеликі скляні пробірки. Дві бокові, запаяні з двох кінців, містять стандартний розчин хлориду гематину в гліцерині. Колір рідини в стандартних пробірках відповідає кольорові 2% розчину хлориду гематина.

Між двома стандартами вставлена градуйована пробірка. На всіх трьох пробірках нанесено по дві кругові мітки: нижня відповідає вмістові 0,2 мл, верхня – 2 мл.

Середня пробірка гемометра має шкалу, градуйовану в грам-процентах (г%). Ця шкала виражає кількість гемоглобіну в грамах, які містяться в 100 мл крові (рис. 2).

Для дослідження в градуйовану пробірку гемометра Салі до кругової мітки з допомогою піпетки набирають 0,1 нормального розчину хлоридної кислоти;

– набирають кров з луночки піпеткою Салі (0,02 мл), вносять на дно пробірки з хлоридною кислотою, надосадовою рідиною старанно промивають піпетку, щоб не утворилися пухирці повітря, перемішують і залишають на 5 хв.;

– додають дистильованої води у вміст пробірки до кольору стандартів;

– показник гемоглобіну відповідає нижньому меніскові поділки градуйованої пробірки. У зв'язку з тим, що поділки відповідають грам-процентам, а гемоглобін визначається в г/л, відповідно одержане число множимо на 10 ($13 \text{ г}\% \times 10 = 130 \text{ г/л}$).

Гемометр Салі має термін придатності, який не можна порушувати. Зберігати гемометр слід у темному місці.

Визначення Нв гемоглобінціанідним методом на фотоелектроколориметрі (ФЕК).

Цей метод ґрунтується на тому, що під впливом заліzosинеродистого калію гемоглобін окислюється в геміглобін, який утворює з ацетонціангідрином забарвлену речовину – геміглобінціанід – речовину стійку, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмістові гемоглобіну.

- для дослідження піпеткою Салі 0,02 мл крові вносять у пробірку з 5 мл трансформуючого розчину, промивають 2–3 рази верхнім шаром розчину, перемішують і залишають на 10 хв;
- паралельно кожного дня ставлять одну стандартну пробу на всю серію аналізів з концентрацією 150 г/л – для внутрішньолaboratorного контролю та перевірки метрологічної відповідності вимірювань;
- фотометрують при довжині хвилі 500–560 нм (зелений світлофільтр) у кюветі шириною 10 мм проти контролю – трансформуючого розчину чи дистильованої води;
- вміст гемоглобіну визначають за калібрувальним графіком, який готують заздалегідь, використовуючи як стандарт розчин гемігلوبінціаніду, що додається до набору реактивів фірмою.

Визначення концентрації гемоглобіну на автоматичних гемоаналізаторах

Проводиться згідно з інструкцією до приладу. Цей метод швидкісний і точний.

Збільшення концентрації гемоглобіну спостерігається при симптоматичних еритроцитозах у гірських жителів, льотчиків, при згущенні крові на ґрунті голодування, сильного потовиділення і втрати води через кишечник (ентероколіти, неспецифічний виразковий коліт, дизентерія, холера); також має місце при безперервному блюванні вагітних, хронічному затрудненому диханні, при вроджених вадах серця.

Виражене підвищення гемоглобіну – до 240 г/л – спостерігається при еритремії, а також при ряді інших патологічних процесах: гіпернефрома, полікістоз нирок, гідронефроз, при деяких пухлинах головного мозку та ендокринних залоз.

Зменшення концентрації гемоглобіну, як і зменшення кількості еритроцитів і зниження колірного показника, – найважливіша ознака анемії.

Про гемолітичну анемію, як правило, свідчить також зміна гематокриту.

Лекція № 3

Тема: “Клінічний аналіз периферичної крові: цитологія та техніка визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів в 1 л крові колірного показника та середнього вмісту гемоглобіна в еритроциті”

План

1. Визначення кількості еритроцитів в 1 л крові за допомогою камери Горяєва. Еритроцитоз. Еритропенія.
2. Визначення кількості еритроцитів в 1 л крові . Фізіологічні поняття “лейкоцитоз”, “лейкопенія”.
3. Розрахунок колірного показника крові (КПК) та середнього гемоглобіну в еритроциті (СГЕ).
4. Значення колірного показника в диференційній діагностиці анемії.
5. Ознайомлення з технікою визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів за допомогою автоматичних лічильників.

Визначення кількості еритроцитів в 1 л крові

Еритроцити становлять основну масу клітинних елементів крові. Це без'ядерні клітини діаметром 7–8 мкм, які мають форму двояковвігнутого диска.

У периферійній крові еритроцит функціонує в середньому 90–120 днів. Кількість еритроцитів в 1 л крові становить у нормі для жінок $3,7\text{--}4,7 \times 10^{12}/\text{л}$, або Тера на літр (Т/л), для чоловіків $4,0\text{--}5,0 \times 10^{12}/\text{л}$, (Т/л).

Матеріальне забезпечення: вата, спирт 70°, скарифікатори, штатив з пробірками, 3% хлорид натрію, камера Горяєва, автоматичні лічильники, покривні скельця, скляні палички, мікроскопи, піпетки, груші, дозатори, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Камера Горяєва – це товсте предметне скло, яке має чотири поперечні борозни (рис. 3). Борозни поділяють скло на пластинки – дві бокові та середню. Середня пластинка на 0,1 мм нижча від бокових. Вона поділена поперечною борозною на дві рівні частини. На кожній половин середньої пластинки нанесена сітка Горяєва (рис. 3). Складовою частинок камери є шліфоване покривне скло. Його необхідно накласти так, щоб воно покрило обидві бокові та середню пластинки.

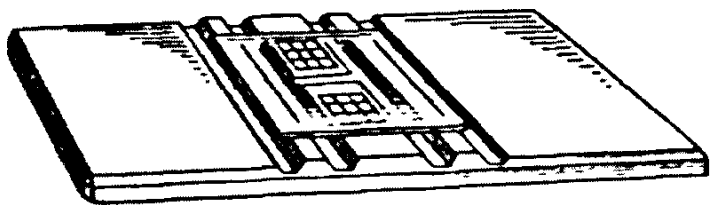


Рис. 3. Камера Горяєва

Натискаючи великими пальцями на краї скла, його притирають до бокових пластинок, поки не утворяться райдужні кільця (кільця Ньютона). Бокові пластинки вищі від середньої, між нею і покривним склом залишається щілина. Це і є камера, в яку заливають розведену кров (рис. 4).

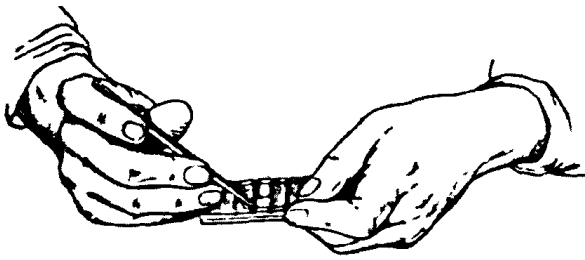


Рис. 4. Заповнення камери Горяєва

У пробірку наливаємо 4 мл 3% розчину хлориду натрію. З луночки набираємо 0,02 мл крові, кінчик піпетки витираємо і кров опускаємо на дно пробірки з розчином хлориду натрію.

Рідиною з верхнього шару старанно 2–3 рази прополіскуємо піпетку. Вміст пробірки перемішуємо та заповнюємо камеру Горяєва, яка заздалегідь підготовлена (рис. 4). Притираємо сухе покривне скло так, щоб утворилися кільця Ньютона.

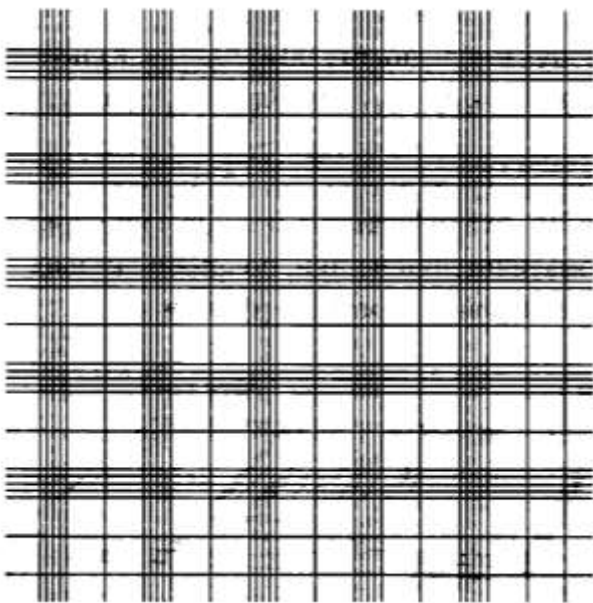


Рис. 5. Сітка камери Горяєва

Нанесена на дно камери сітка Горяєва квадратна, розграфлена на 225 великих квадратів – 15 по горизонталі та 15 по вертикалі. Частина великих квадратів (через два на третій) розділена на 16 малих квадратів (рис. 5).

У пробірку наливаємо 4 мл 3% розчину хлориду натрію. З луночки

Вміст пробірки старанно перемішуємо, нахиляємо пробірку, занурюємо скляну паличку так, щоб на ній звисала крапля розведення, і підносимо її до щілини між камерою та покривним склом. Кров повинна рівномірно заповнити камеру, без пухирців повітря, не затікаючи в борозни. Можна заповнювати камеру також за допомогою пастерівської піпетки.

Заповнену камеру залишають у горизонтальному положенні на 1 хв для осідання еритроцитів. Підраховують еритроцити під мікроскопом при малому збільшенні (об'єктив 8 х, окуляр 10 х або 15 х) в затемненому полі зору (діафрагма прикрита, конденсор

опущений), у 5-ти великих розграфлених (на 16 малих) квадратах, розташованих по діагоналі. Щоб результат був достовірним, треба дотримуватися відповідних правил підрахунку: в кожному квадраті необхідно враховувати ті еритроцити, які розташовані всередині квадрата, також ті, які розташовані на лівій і верхній стороні квадрата (рис. 6).

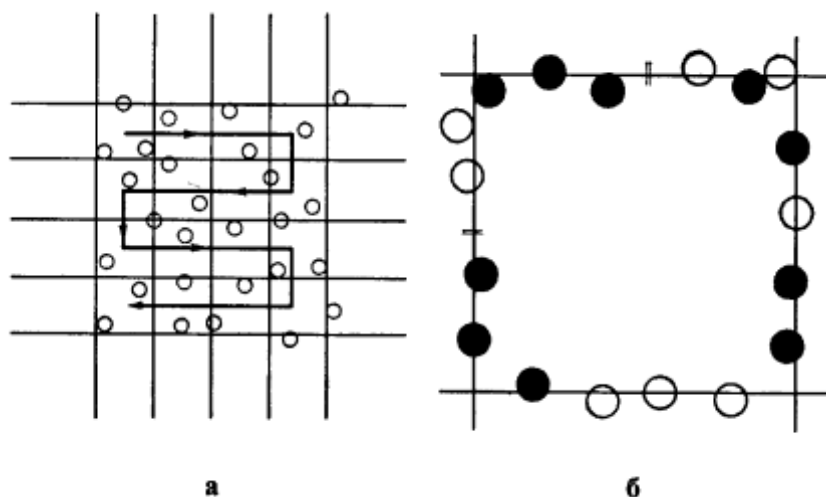


Рис. 6. Правила підрахунку еритроцитів у сітці Горяєва:
а – порядок підрахунку еритроцитів: *б* – в кожному маленькому квадраті враховуються еритроцити, що лежать у його межах (забарвлені)

Розрахунок еритроцитів в 1 л крові КП і СГЕ (колірного показника і середнього гемоглобіну в еритроциті)

Розрахунок кількості еритроцитів проводять за формулою:

$$x = \frac{a \cdot b \cdot 4000}{v} \cdot 10^6 / \text{л},$$

де x – кількість еритроцитів в 1 л;

a – сума еритроцитів, підрахованих у 5 великих квадратах;

b – розведення крові у 200 разів;

v – кількість підрахованих еритроцитів у 5 великих розграфлених на 16 малих квадратів ($5 \cdot 16=80$);

4000 – об'єм малого квадрата $1/4000$ мкл;

10^6 – перерахунок із мікролітрів у літри.

Скорочена формула:

$$x = \frac{a \cdot 200 \cdot 4000}{80} \cdot 10^6 / \text{л}.$$

Кінцевий результат

$$x = a \cdot 10000 \cdot 10^6 = a \cdot 10^{12} / \text{л}.$$

Отже, підраховану кількість еритроцитів множать на $10^{12} / \text{л}$.

Наприклад: у 5 великих квадратах камери Горяєва підраховано 435 еритроцитів. В 1 л крові кількість еритроцитів буде $435 \cdot 10^{10} = 4,35 \cdot 10^{12} / \text{л}$.

Контроль якості здійснюють контрольною суспензією (E_p – контроль еритроцитів), яку досліджують так, як кров.

Зменшення кількості еритроцитів – еритроцитопенія – є одним із найважливіших показників анемій, її ступінь різний залежно від виду та важкості.

Збільшення кількості еритроцитів – еритроцитоз – характерний для еритремії, гострих інтоксикацій, ацидозів, зневоднення організму (при блювоті, проносі), у новонароджених тощо.

Розрахунок колірного показника крові

Колірний показник – це співвідношення між кількістю гемоглобіну та еритроцитів. Він показує ступінь насиченості еритроцитів гемоглобіном. Колірний показник (КП) вираховують за формулою:

$$КП = \frac{Hb \cdot 3}{\text{Перші три цифри еритроцитів}}$$

Норма 0,85–1,05.

За цим показником роблять висновок про те, який вміст гемоглобіну в еритроцитах: нормальний (нормохромний), знижений (гіпохромний) – до 0,85 чи підвищений (гіперхромний), тобто вищий за 1,05.

Визначення КП має велике значення для диференціальної діагностики анемій за колірним показником. Розрізняємо:

- гіпохромні анемії – КП нижче 0,85 (залізодефіцитна анемія);
- нормохромні анемії – КП 0,85–1,05 (гемолітична анемія);
- гіперхромні анемії – КП вище 1,4–1,8 (B_{12} фолієводефіцитна анемія).

Визначення середнього гемоглобіну в одному еритроциті

Вміст гемоглобіну в одному еритроциті – це абсолютна кількість гемоглобіну в одному еритроциті, виражена в пікограмах (пг).

Примітка: $1 \text{ г} = 1 \cdot 10^{12} / \text{пг}$

Вміст гемоглобіну в одному еритроциті розраховують за формулою:

$$C_{GE} = \frac{\text{Гемоглобін у г/л}}{\text{Кількість еритроцитів у літрах}}$$

Приклад розрахунку:

$$C_{GE} = \frac{150 \cdot 12^{12} \text{ пг/л}}{5 \cdot 10^{12} / \text{л}} = \frac{150}{5} = 30 \text{ пг}$$

Норма 27–33 пг.

Примітка: КПК та C_{GE} можна визначити за допомогою спеціального графіка – номограми.

Номограма для визначення КПК і СГЕ має чотири шкали (рис. 7). На лівій шкалі нанесена кількість еритроцитів (Е) в 1 л крові, на середній – концентрація гемоглобіну (Г) в грамах на літр, на правій КПК і СГЕ в пікограмах. Для визначення користуємося лінійкою, яку розташовуємо на номограмі таким чином, щоб її ребро проходило через цифру кількості гемоглобіну й еритроцитів. Точка перетину ребра лінійки з правою шкалою показує цифри колірного показника зліва від осі шкали і вміст гемоглобіну в одному еритроциті справа від осі шкали.

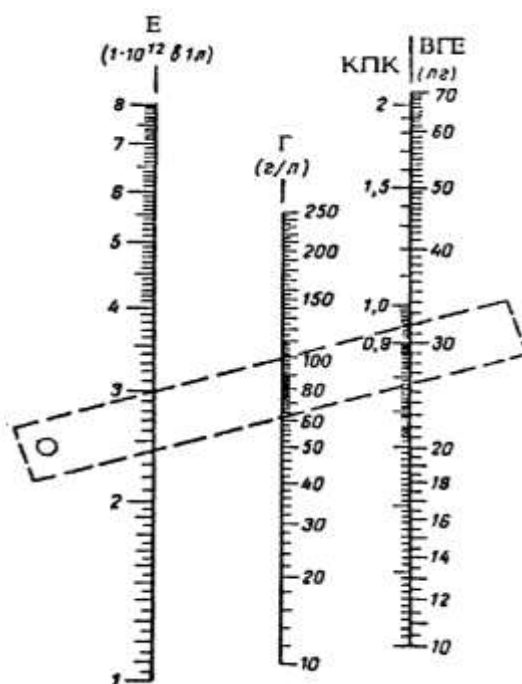


Рис. 7. Номограма для визначення колірного показника крові (КПК) та вмісту гемоглобіну в одному еритроциті (СГЕ)

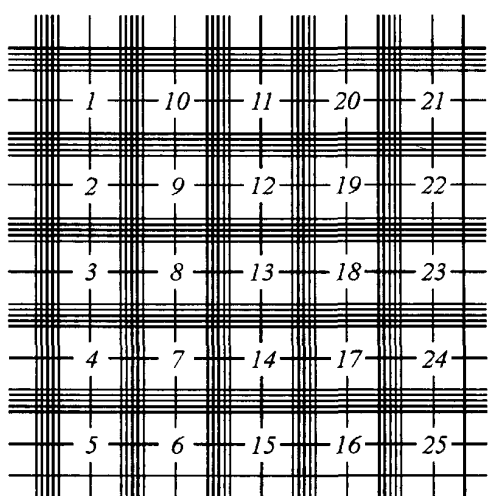


Рис. 8. Порядок підрахунку лейкоцитів у всій сітці камери Горяєва

Визначення кількості лейкоцитів в 1 л крові

Кількість лейкоцитів в 1 л крові – один з показників загального клінічного аналізу. В нормі кількість лейкоцитів у дорослих коливається, за даними різних авторів, від 4,0 до $9,0 \cdot 10^9/\text{л}$ або Гіга на літр (Г/л). У новонароджених дітей кількість лейкоцитів становить 9,0–13,0 Г/л, а в перші години може досягати 30,0–38,0 Г/л. Кількість лейкоцитів у крові менше 4,0 Г/л розцінюється як лейкопенія (хоч у деяких людей така кількість може бути фізіологічною нормою), а більше 9,0 Г/л як лейкоцитоз.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, штатив з пробірками, піпетки, дозатори, гумові груші, скарифікатори, 3% ацетатна кислота, камера Горяєва, мікроскоп, покривні скельця, скляні палички, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Взяття та розведення крові. У серологічну пробірку вносимо 0,4 мл 3% ацетатної кислоти і піпеткою 0,02 мл крові випускаємо на її дно. Піпетку 2–3 рази промиваємо розчином. Ацетатна кислота руйнує еритроцити, а лейкоцити залишаються.

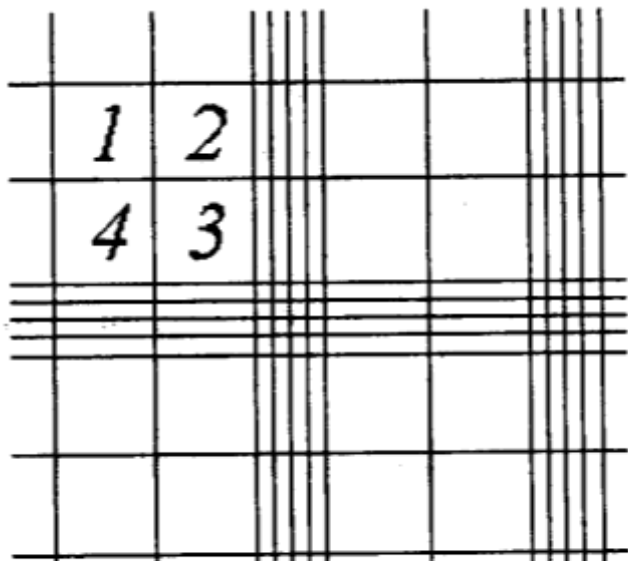


Рис. 9. Порядок підрахунку лейкоцитів у чотирьох квадратах сітки

Перед заповненням камери Горяєва розведену кров у пробірці старанно перемішуємо. Камеру заповнюємо так, як і для підрахунку еритроцитів.

Після заповнення камеру залишаємо на 1–2 хв.

Підрахунок лейкоцитів проводимо при малому збільшенні мікроскопа (об'єктив 8×, окуляр 10× або 15×), у затемненому полі зору при опущеному конденсорі у великих нерозграфлених квадратах (рис. 8).

Підрахунок проводимо в кожному великому квадраті, дотримуючись тих самих правил, які описані для еритроцитів (рис.9).

Розрахунок проводимо за формулою:

Кількість лейкоцитів в 1 л крові

$$\frac{B \cdot 4000 \cdot 20}{1600} \cdot 10^6$$

$$x = B \cdot 50 \cdot 10^6;$$

де B – кількість лейкоцитів, підрахована у 100 великих квадратах;

4000 – об'єм малого квадрата (1/4000 мкл);

20 – розведення крові;

1600 – кількість малих квадратів (у 100 великих).

Наприклад: якщо у 100 великих квадратах сітки Горяєва підраховано 120 лейкоцитів, то розрахунок проводиться так:

$$\text{кількість лейкоцитів в 1 л крові} = \frac{120 \cdot 4000 \cdot 20}{1600} \cdot 10^6 =$$

$$= 120 \cdot 50 \cdot 10^6 = 6000 \cdot 10^6 = 6,0 \cdot 10^9/\text{л.}$$

Тоді кількість лейкоцитів в 1 л крові буде $6,0 \cdot 10^9/\text{л}$. Щоденний контроль якості здійснюють контрольною суспензією лейкоцитів (L-контроль), яку досліджують так, як і еритроцити крові.

Найчастіше лейкоцитоз буває результатом гострих інфекцій, особливо якщо їх збудниками є коки (стафілококи, стрептококи, пневмококи, гонококи). Крім цього, лейкоцитоз спостерігається у пацієнтів з великими опіками, після початку гострих крововтрат у новонароджених, вагітних, після оперативних втручань тощо.

Лейкопенія може виникнути внаслідок дії іонізуючої радіації, деяких токсичних речовин, вживанні медикаментів (антибіотики, сульфаніламідні препарати, цитостатики), при вірусних та деяких бактеріальних інфекціях (черевний тиф, бруцельоз), при заміщенні кровотворної тканини жировою або пухлинною.

Визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів за допомогою автоматичних лічильників

Застосування сучасних приладів полегшує виконання дослідження, зменшує затрату часу.

Підрахунок формених елементів крові проводять як за допомогою спеціальних лічильників (“Пікоскел”, “Cell-Counter”, “Celloscope”, “Гемоцитометр” тощо), так і на гематологічних автоматах (“Гемолог-8”, “Coulter Counters” та ін.).

Визначення проводять згідно з інструкцією до приладу.

Лекція № 4

Тема: Вчення про кровотворення “Морфологія клітин різних рядів”

План

1. Сучасна схема гематопоезу.
2. Цитологічна характеристика гранулоцитів: нейтрофілів, еозинофілів, базофілів.
3. Морфологія моноцитів.
4. Морфологія лімфоцитів.

На сьогодні загальноприйнятою є така схема гематопоезу (рис.1). Ствобурава клітина спочатку обирає один з двох напрямів диференціювання: мієлоїдний або лімфоїдний. Мієлоїдний шлях диференціювання зумовлює утворення гранулоцитів (еозинофілів, базофілів, нейтрофілів), а також моноцитів, еритроцитів і мегакаріоцитів, а лімфоїдний — утворення В-лімфоцитів, Т-лімфоцитів та НК-клітин.

Мегакаріоцити – багатоядерні клітини, які утворюються в разі неповного поділу клітини, під час якого відбувається поділ ядра без поділу цитоплазми. У процесі “відшнуровування” від мембрани маленьких без’ядерних везикул з мегакаріоцитів утворюються тромбоцити.

СКК з кожним поділом все більше диференціюються і через кілька десятків поділів перетворюються на спеціалізовані клітини крові. Вважають, що перші етапи диференціювання можуть бути зворотними, тобто клітина за певних умов може дедиференціюватися і почати інший шлях розвитку. Останні етапи диференціювання завжди чітко детерміновані і є незворотними.

На певній стадії цього процесу утворюються *комітовані клітини*. Вони також мультипотентні, однак під час їх поділу вже виникають диференційовані клітини-попередниці: одна з таких стовбурових кровотворних клітин кісткового мозку внаслідок поділу утворює дві клітини — *мієлоїдну* і *лімфоїдну* стовбурові клітини, кожна з яких дає початок відповідним процесам: *мієлопоезу* — утворенню еритроцитів, гранулоцитів і тромбоцитів і *лімфопоезу* — утворенню і диференціації лімфоцитів [2, 20–22, 25, 30].

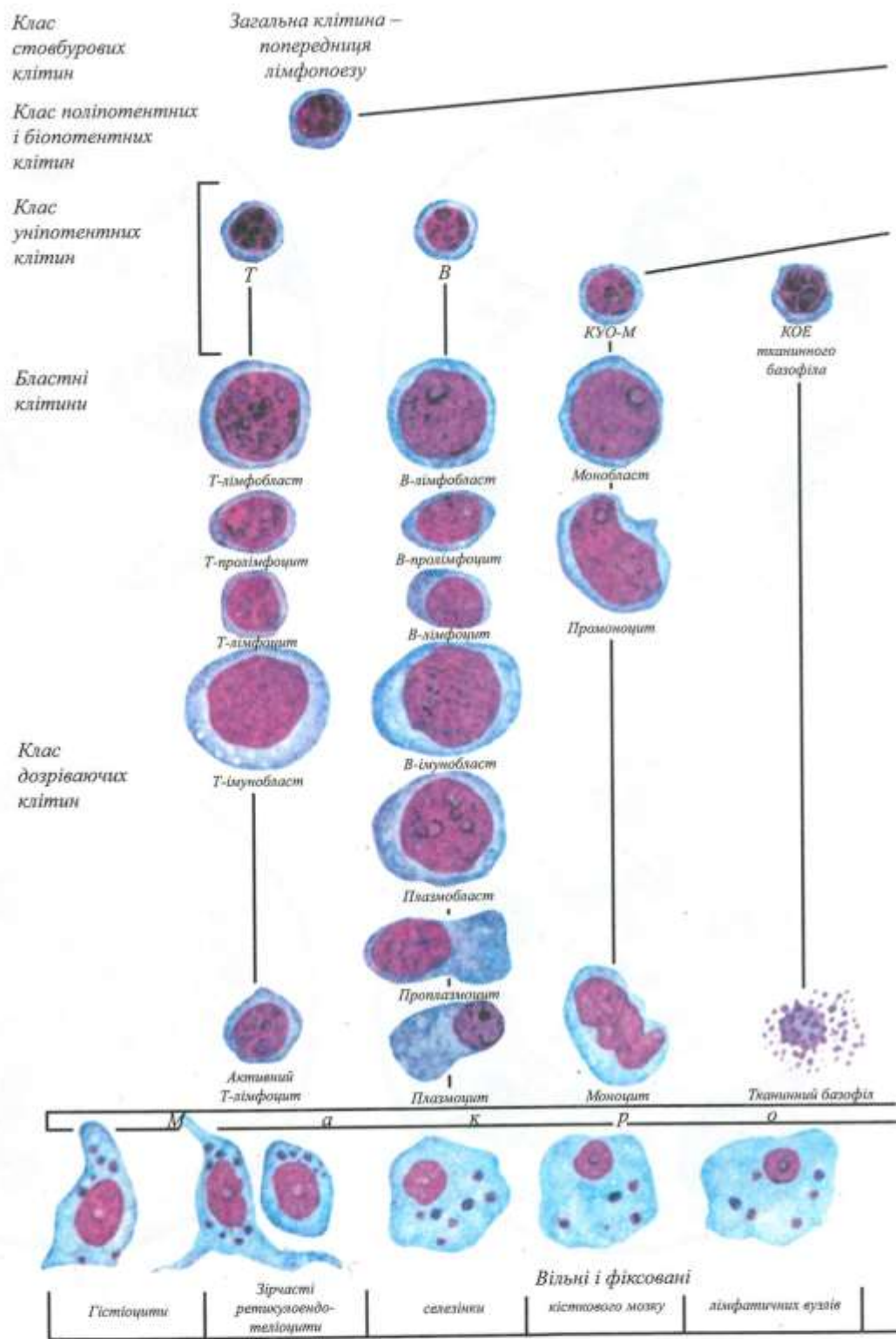
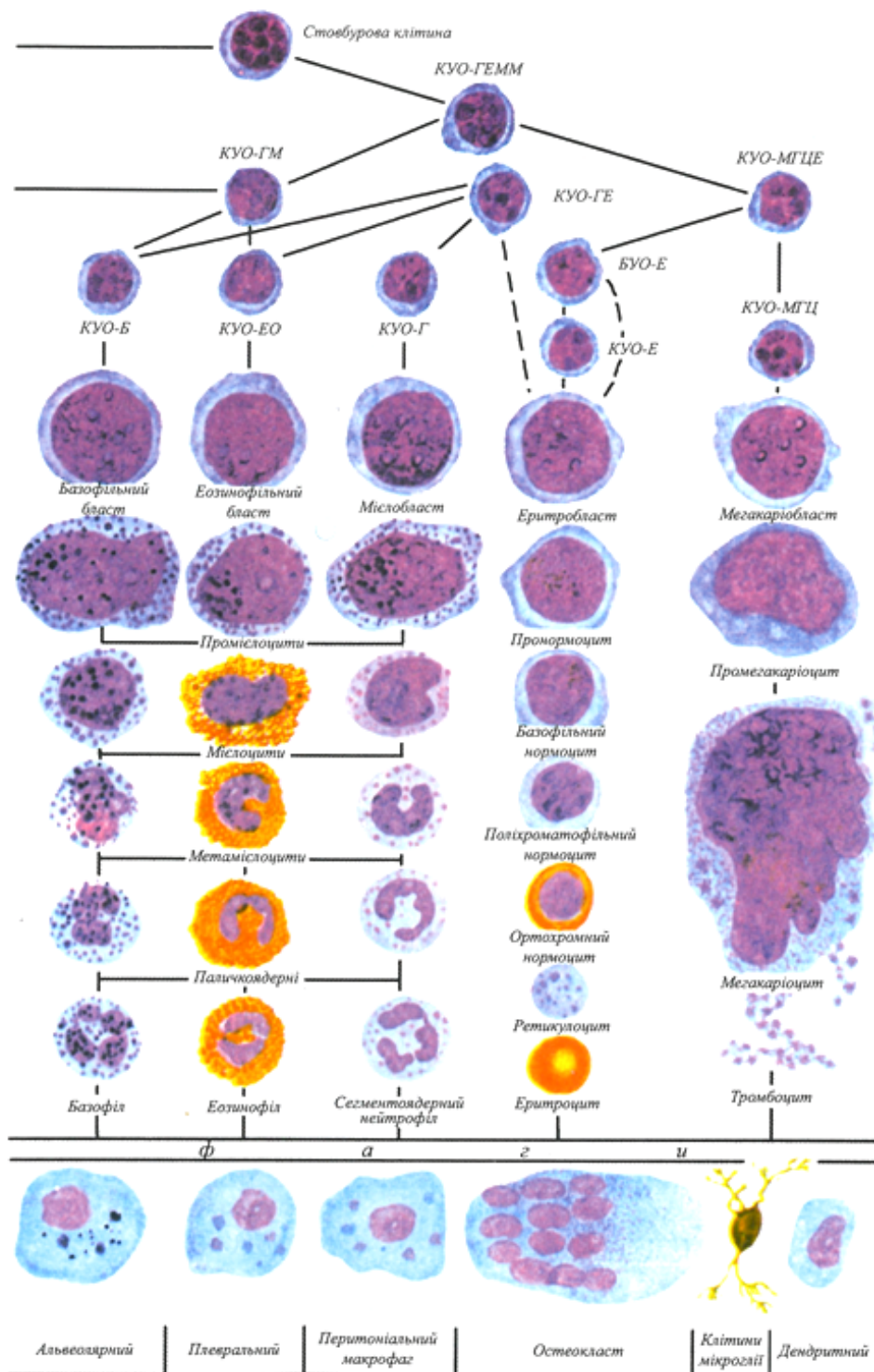


Рис. 50. Схема кровотворення

KUO-ГЕММ – колонієутворююча одиниця гранулоцитарно-еритроцитарна (макрофатарна (макрофагальна); **KUO-E** – колонієутворююча одиниця еритроцитарна; **KUO-МГЦЕ** – одиниця еритроцитарна; **KUO-ГЕ** – колонієутворююча одиниця гранулоцитарно-еритро-одиниця базофіла; **KUO-ЕО** – колонієутворююча одиниця еозинофіла; **KUO-Г** – колонієутво-**МГЦ** – колонієутворююча одиниця мегакаріоцитарна; **KUO** – колонієутворююча одиниця



(за О. І. Воробйовим, 1981):

гально) – мегакаріоцитарна; **КУО-ГМ** – колонісуюча одиниця гранулоцитарно-моноцитарна; **КУО-ГМ** – колонісуюча одиниця мегакаріоцитарно-еритроцитарна; **БУО-Е** – бурсоутворююча одиниця мегакаріоцитарна; **КУО-М** – колонісуюча одиниця моноцитарна; **КУО-Б** – колонісуюча одиниця гранулоцитарна; **КУО-Е** – колонісуюча одиниця еритроцитарна; **КУО-тканинного базофіла**

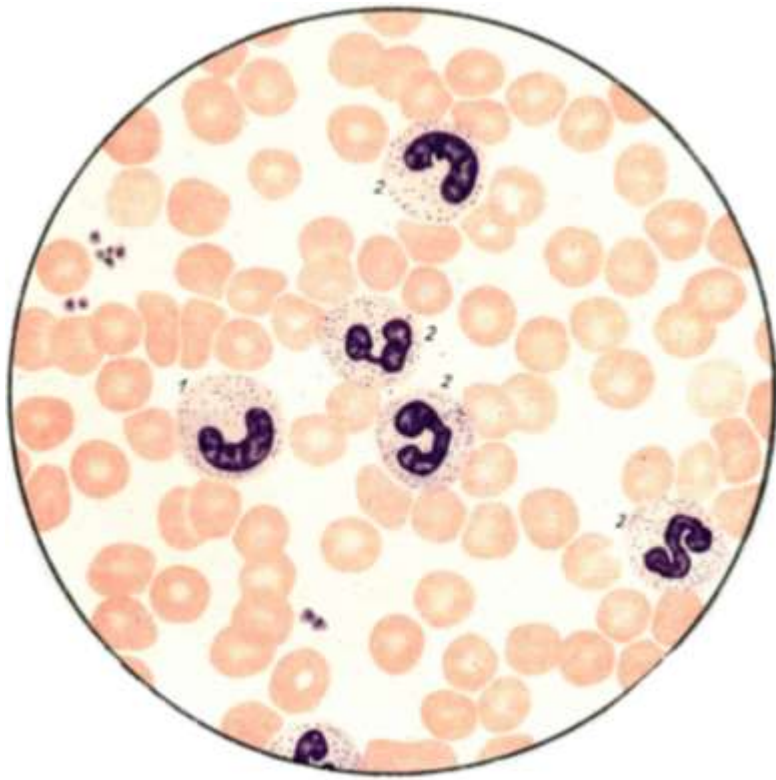


Рис. 13. Нейтрофільні сегментоядерні гранулоцити

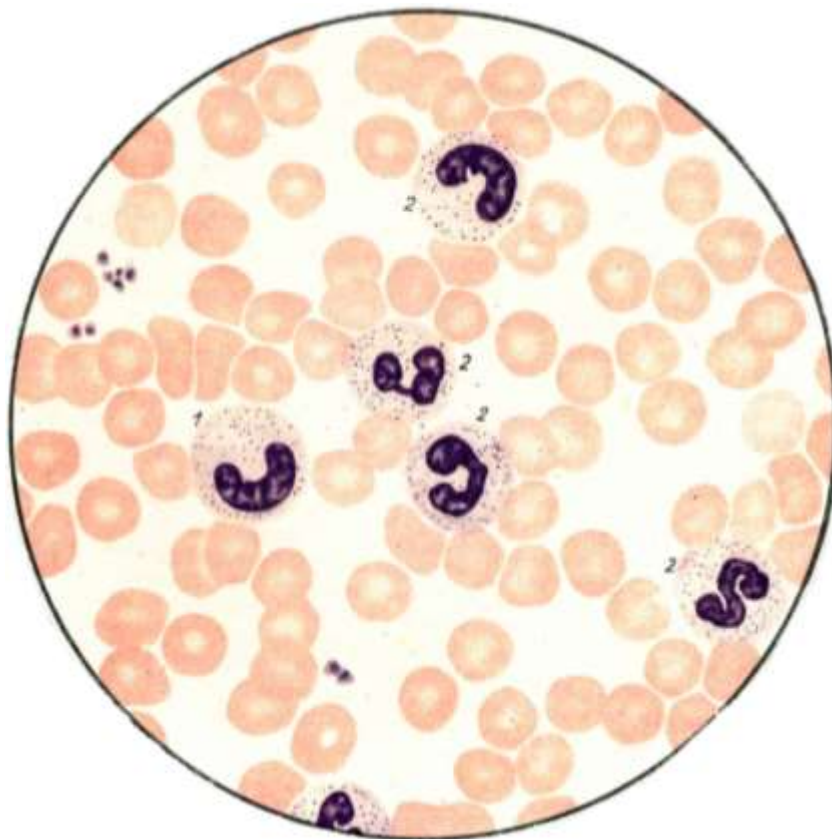


Рис. 14. 1 – нейтрофільний метамієлоцит; 2 – нейтрофільний паличко-ядерний гранулоцит

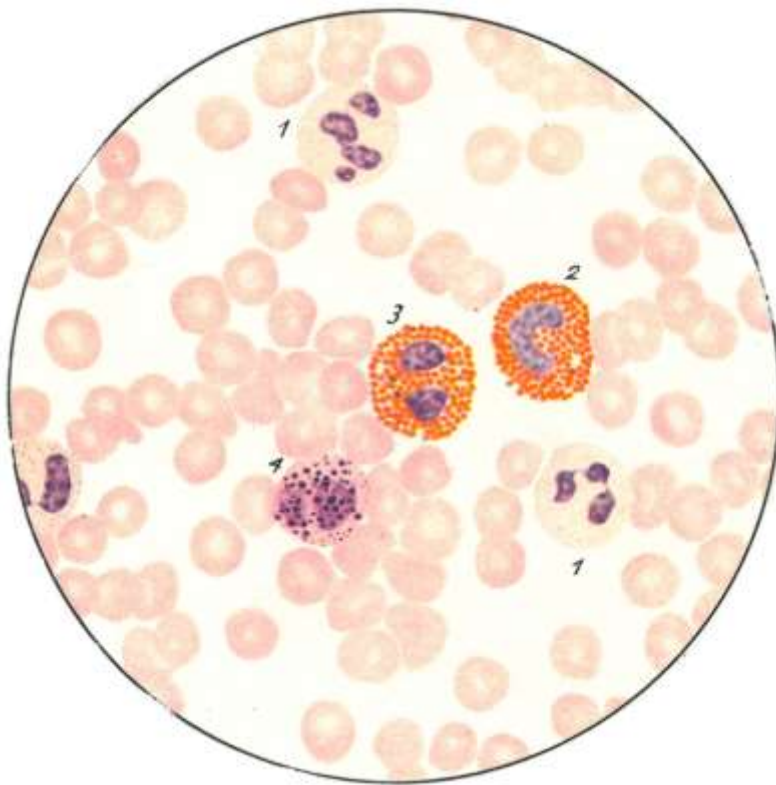


Рис. 15. 1 – сегментоядерний нейтрофіл; 2– еозинофіл паличкоядерний;
3 – еозинофіл сегментоядерний; 4 – базофіл сегментоядерний

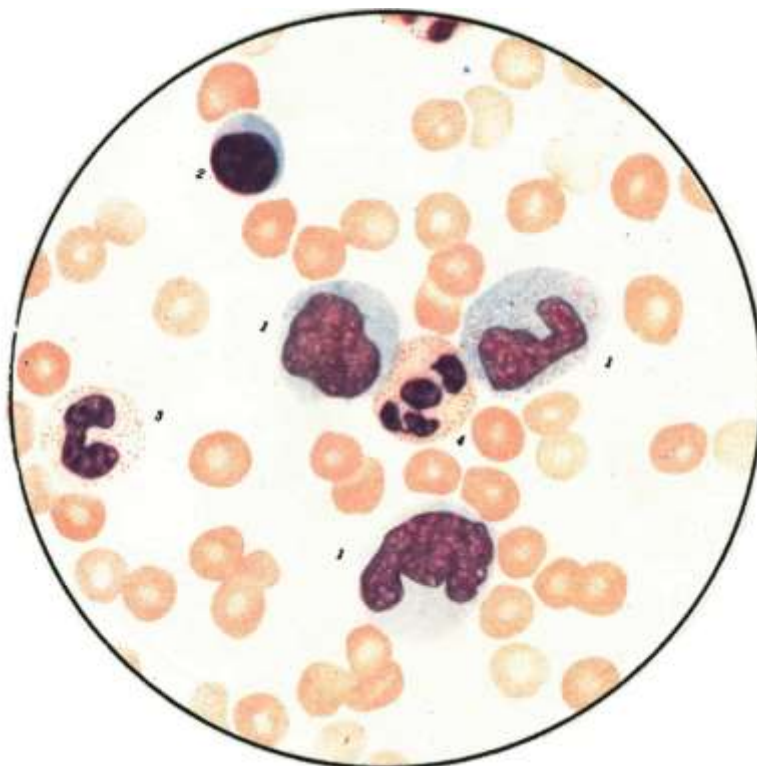


Рис. 16. 1 – моноцити; 2 – лімфоцит; 3 – нейтрофільний паличкоядерний
гранулоцит; 4 – нейтрофільний сегментоядерний гранулоцит

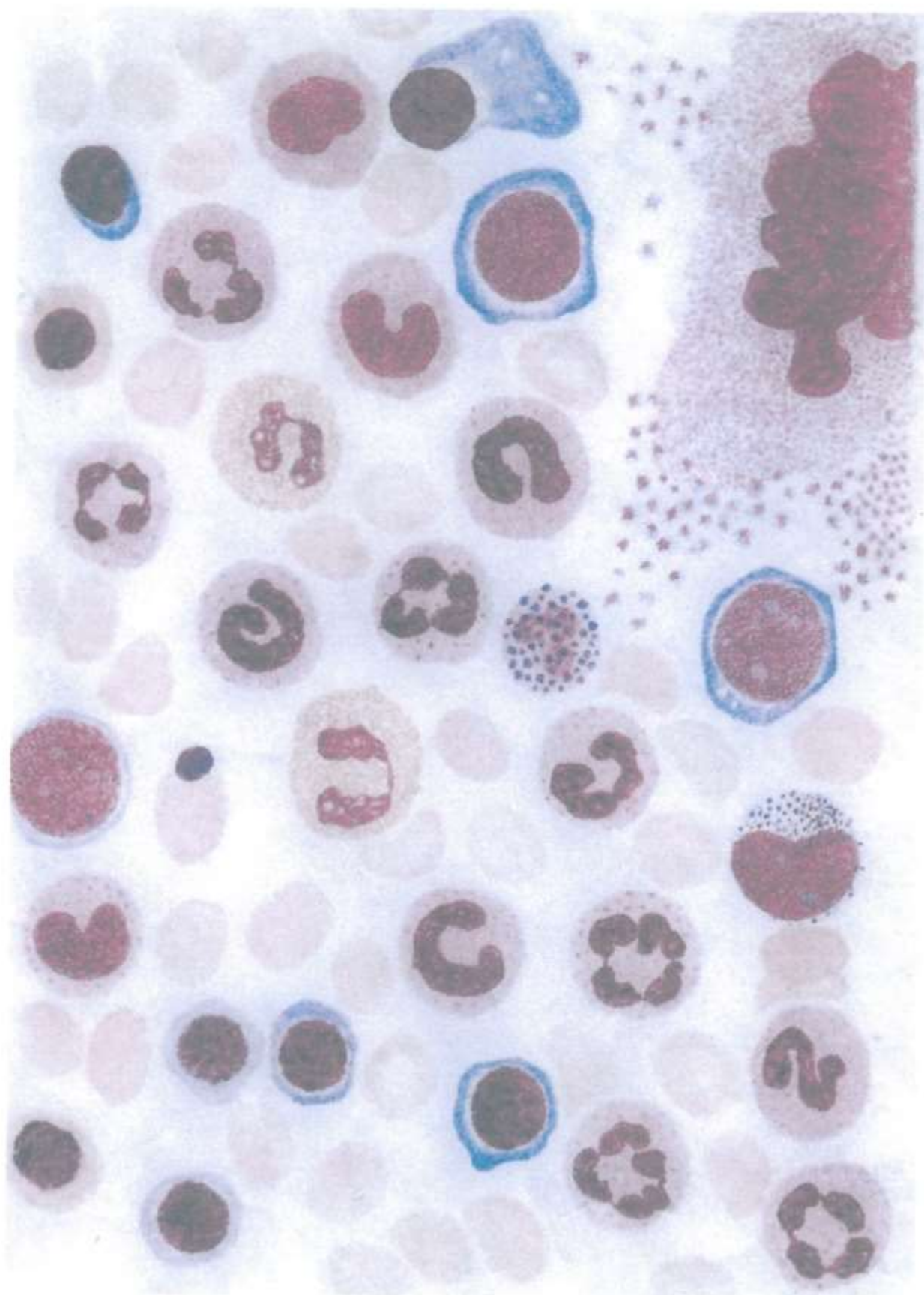


Рис. 17. Картина нормального кісткового кровотворення за мазками пунктату грудини

Лекція № 5

Тема: “Цитологічна техніка підрахунку лейкоцитарної формули”

План

1. Техніка виготовлення мазків периферичної крові.
2. Забарвлення мазків периферичної крові.
3. Правила роботи з мікроскопом.
4. Підрахунок лейкоцитарної формули.
5. Гематологічна норма у новій Міжнародній (CI) системі одиниць.

Техніка виготовлення мазків крові

Мазки крові виготовляють для вивчення морфологічних особливостей клітин крові та підрахунку лейкоцитарної формули.

Для мазків використовуємо кров після проколу шкіри пальця, знявши її першу краплю сухим стерильним тампоном.

Для дослідження виготовляємо не менше двох мазків.

Вимоги до виготовлення мазків крові:

- для виготовлення мазка повинна бути використана вся крапля крові;
- мазок повинен займати приблизно 3/4 предметного скла та закінчуватися “щіточкою”;
- мазок повинен бути рівним і чітким, напівпрозорим і мати жовтуватий відтінок;
- товстий мазок непридатний для дослідження, тому що форменні елементи крові в ньому розташовуються в кілька шарів і деформуються;
- у тонкому мазку важко порахувати потрібну кількість лейкоцитів.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, скарифікатор, буферний розчин, предметні та шліфовані скельця, суміш Нікіфорова, етиловий спирт, азур, еозин, барвник-фіксатор Мая – Грюнвальда, фарба Романовського, кювети для забарвлення, дистильована вода, дезрозчин, рукавички.

Підготовка предметних стекол

Якість мазків залежить від чистоти предметного скла. Якщо скло вже було у використанні, то з нього знімаємо імерсійне масло ватним тампоном, змоченим у бензолі або ефірі, а потім заливаємо теплим 2% розчином прального порошку і перекису водню на 8–10 год. Попередній мазок крові знімаємо так само, кип'ятимо у тому ж розчині 30–45 хв. Промиваємо проточною та дистильованою водою. Занурюємо у суміш Нікіфорова (96% спирт і ефір у співвідношенні 1:1). Нове предметне скло промиваємо проточною та дистильованою водою і занурюємо у суміш Нікіфорова для знежирення. Оброблене предметне скло виймаємо із суміші Нікіфорова за допомогою пінцета, витираємо насухо.

Виготовлення мазків:

- після проколу шкіри пальця першу краплю крові стираємо сухим стерильним ватним тампоном;
- до купола наступної краплі доторкаємося предметним склом на відстані 1,5–2 см від краю;
- шліфоване скло ставимо перед краплею крові під кутом 45° так, щоб вона рівномірно розтілася по ребру шліфованого скла;
- рівномірним швидким рухом ведемо шліфоване скло справа наліво, не натискаючи і не піднімаючи скла від предметного (рис. 10.).

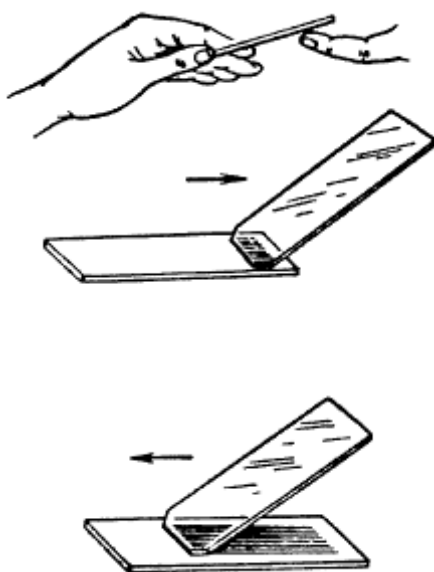


Рис. 10. Техніка виготовлення мазків крові

Фіксація мазків. Після висихання мазка на повітрі підписуємо посередині олівцем прізвище й ініціали пацієнта або його реєстраційний номер. Фіксуємо різними методами, помістивши мазок у кювету (найкращий із фіксаторів – метиловий спирт):

- метиловим спиртом протягом 3–5 хв;
- сумішшю Нікіфорова 10–15 хв;
- етиловим спиртом 96% 20–25 хв;
- хлороформом кілька секунд;
- формаліном 1 хв;
- фіксатором-барвником Мая – Грюнвальда 3–5 хв.

Фіксацію мазка крові проводимо для закріплення його на склі та запобігання гемолізові еритроцитів.

Зафіксовані мазки виймаємо із фіксатора і ставимо у штатив вертикально для висихання на повітрі.

Забарвлення мазків крові. При забарвленні мазків дотримуємося правил приготування розчинів барвників і часу для забарвлення. Обов'язково враховуємо рН води, яка має бути нейтральною, або готуємо фосфатний буферний розчин. Для забарвлення використовуємо методи забарвлення: Романовського, азур-еозин, Крюкова – Паппенгейма, Нохта і т. п.

Забарвлення мазків за Романовським

Спочатку готуємо робочий розчин фарби. Готуємо кілька різних розведень барвника (1 крапля барвника на 1 мл дистильованої води, 2 краплі на 1 мл води та 3 краплі на 1 мл води). Щоб забарвити мазок, необхідно 3–4 мл робочого розчину, який готуємо перед самим використанням.

Забарвлення мазків проводимо різними титрами, використовуючи різні розведення барвника і три мазки. Після мікроскопії вибираємо найкраще забарвлений мазок. Для виготовлення досліджуваних мазків використовуємо те розведення барвника, яке дало найкраще забарвлений мазок.

Мазки для забарвлення розташовуємо на мостику так, щоб вони не доторкались один до одного, і наливаємо попередньо розведеної фарби Романовського 3–4 мл на один мазок. Залишаємо на 30–40 хв. залежно від експериментально визначеного часу, а потім змиваємо проточною водою, висушуємо та мікроскопуємо.

Забарвлення мазків за методом Крюкова – Паппенгейма:

– мазки фіксуємо у фарбі-фіксаторі Мая – Грюнвальда: на нефіксований мазок наносимо фарбу-фіксатор 2 мл на 3 хв, доливаємо стільки ж дистильованої води і забарвлюємо ще 1 хв;

– фарбу зливаємо і змиваємо проточною водою;

– заливаємо мазки на 15–20 хв. фарбою Романовського;

– змиваємо мазки водопровідною водою і висушуємо їх на повітрі.

Забарвлення мазків за методом Нохта.

Окремо готуємо два барвники: розчин жовтого водного еозину (1 г на 1 л дистильованої води), розчин фарби азур II (1 г на 1 л дистильованої води). Барвники ставимо в темному місці на два тижні для дозрівання. Їх необхідно часто помішувати, щоб фарба не осідала. Фарбники змішуємо в циліндрі безпосередньо перед забарвленням мазків. Для розведення краще користуватися буферним розчином. Свіжовиготовлену фарбу наливаємо на зафіксований мазок на 20–30 хв.

Перевірка якості забарвлення. Методи, що використовуються для забарвлення мазків крові, є поліхромними. Структурні частини клітини забарвлюються різними барвниками залежно від реакції: лужні частини забарвлюються кислою фарбою (еозином) у червоний колір, а кислі – метиленовим синім у синій колір.

При забарвленні за методом Романовського якісно забарвлюється ядро, тому цей метод широко вживається.

Метод Крюкова – Паппенгейма вважається найкращим, особливо для забарвлення кістково-мозкових пунктатів і крові при патології.

При забарвленні за методом Нохта клітинні елементи виглядають так само, як при забарвленні за методом Романовського.

Підрахунок лейкоцитарної формули

Матеріальне забезпечення: готові мазки крові, імерсійне масло, мікроскопи, лічильники для підрахунку лейкоцитів, рукавички.

Підготовка мікроскопа для дослідження. Протираємо оптичну частину мікроскопа, готуємо окуляр 7×, та об'єктив 90×, ввігнуте дзеркало, конденсор відкриваємо, діафрагму піднімаємо максимально.

Розглядаємо мазок крові у найтоншій його частині – біля “щіточки”. На мазок наносимо краплю імерсійного масла і занурюємо в нього об'єктив. Під контролем ока повільним рухом макрогвинта піднімаємо або опускаємо тубус до отримання зображення. Різкість наводимо за допомогою мікрогвинта.

Вивчаємо морфологію клітин у мазку крові, диференціюємо їх за морфологічними ознаками.

Підрахунок лейкоформули проводимо з урахуванням нерівномірного розташування лейкоцитів у мазку. При цьому посуваємо

мазок по лінії меандра (рис. 11), заглиблюючись на 3–5 полів зору в його середину і на 2–3 поля зору до периферії мазка. Важчі лейкоцити (еозинофіли, моноцити) зустрічаються частіше по краю мазка, а легші (лімфоцити) – в середині. Підрахунок ведемо як по середині, так і по краю мазка в тонкій його частині, де добре видно будову клітини.

Облік кількості клітин ведемо за допомогою лічильника (рис. 12), в крайньому разі – на папері.

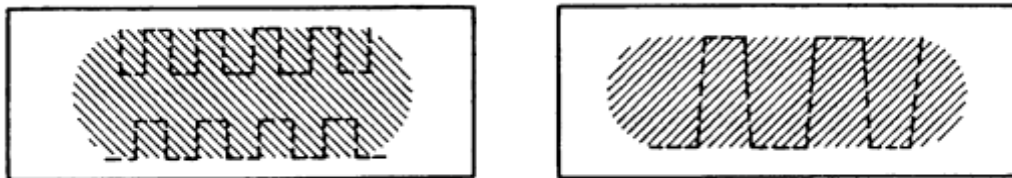


Рис. 11. Техніка підрахунку лейкоцитарної формули

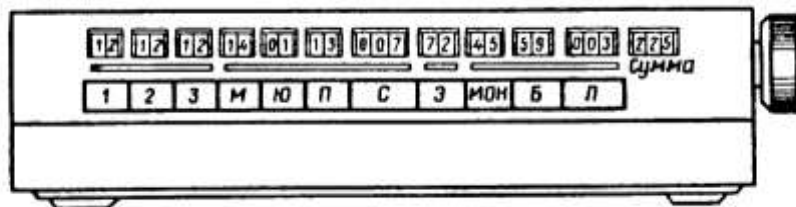


Рис. 12. Лабораторний лічильник ЛЛ-1 для підрахунку лейкоцитарної формули

Підраховуємо 100–200 клітин, (якщо 200 клітин, то відповідно ділимо результат на два) і знаходимо процентний вміст кожного виду лейкоцитів. Це відносні числа. Абсолютні числа лейкоцитів – це вміст окремих видів лейкоцитів в 1 л крові.

$$X = \frac{A \cdot B}{100},$$

де А – кількість лейкоцитів в 1 л крові,

В – відносне число даного виду лейкоцитів,

100 – підраховані клітини крові.

Наприклад, число лейкоцитів в 1 л крові $6,0 \cdot 10^9$ / л, сегментоядерних нейтрофілів 55%.

Абсолютну кількість нейтрофілів в 1 л крові вираховуємо за формулою:

$$X = \frac{6,0 \cdot 10^9 / \text{л} \cdot 55}{100} = 3,3.$$

Результати досліджень записуємо у відповідну графу бланка аналізу, попередньо перевіривши, чи сума всіх показників лейкоформули становить 100 %. Порівнюємо результати з нормальними показниками.

В нормі показники лейкоформули становлять:

паличкоядерні	1,0–6,0%
сегментоядерні	47,0–72,0 %
еозинофіли	0,5–5,0 %
базофіли	0–1,0 %
лімфоцити	9,0–37,0 %
моноцити	3,0–11,0%
плазматичні клітини у дітей	1–2 %

**Величини і розміри лабораторних тестів у новій Міжнародній (СІ)
і старій системах одиниць**

Назва дослідження	Попереднє позначення	Позначення в одиницях СІ
Гемоглобін	г%, г/л	ммоль/л (1г% – 10г/л · 0,6206 – 1 ммоль (л))
Число еритроцитів у крові	4240000 в 1 мм ³ 4,24 · 10 ⁶ в 1 мкл	4,24 Т/л (Т – тера – 10 ¹²)
Число лейкоцитів у крові	6800 в 1 мм ³ 6,8 · 10 ³ в 1 мкл	6,8Г/л (Г – гіга – 10 ⁹) число/мм ³ · 0,001 – Г/л
Число тромбоцитів у крові	29 1000 в 1 мм ³ 29,1 · 10 ⁴ в 1 мкл	291 Г/л
Число еозинофільних гранулоцитів	280 в 1 мм ³ 0,28 · 10 ³ в 1 мкл	0,28 Г/л
Число ретикулоцитів у крові	1,2% або 12%	0,0012 (1,2% · 0,001 – 0,012; число/мм ³ · 0,001 – Г/л)
Швидкість осідання еритроцитів	14 мм/год;	14 мм/год.
Величина гематокриту	0,46 л/л; 46 об%	0,46 [об%·0,01-(1)]
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті	пг	фмоль (фемтомоль) (пг)·0,06206- (фмоль); (фмоль)·16,11-(пг)
Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах	г%	ммоль/л (г%)·0,6206-(ммоль/л); (ммоль/л)·1,611-(г%)

Загальне дослідження крові

Міністерство охорони здоров'я України				МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ	
Найменування закладу				ФОРМА № 2 2 4 / 0	
Лабораторія				Затверджена наказом МОЗ України 0 4 0 1 2 0 0 1 р. №	
КЛІНІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ № _____ " _____ " _____ 200__ р. (Дата взяття біоматеріалу)					
Прізвище, ім'я, по батькові _____ Вік _____ Заклад _____ Відділення _____ Медична карта № _____ Клінічний діагноз (профогляд) _____					
Найменування показників		Результат	Норма (в одиницях СІ)		
Гемоглобін	ч		130,0–160,0 г/л		
	ж		120,0–140,0 г/л		
Еритроцити	ч		4,0–5,0 Т/л		
	ж		3,9–4,7 Т/л		
Колірний показник			0,85–1,15		
Ретикулоцити			0,2–1,0 %		
Тромбоцити			180,0–320,0 Г/л		
Лейкоцити			4,0–9,0 Г/л		
Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ)	ч		1–10 мм/год за Панченковим		
	ж		2–15 мм/год за Панченковим		
Нейтрофіли	Мієлоцити				
	Метамієлоцити				
	Паличкоядерні		1,0–6,0 %		
	Сегментоядерні		47,0–72,0 %		
Еозинофіли			0,5–5,0 %		
Базофіли			0–1,0 %		
Лімфоцити			19,0–37,0 %		
Моноцити			3,0–11,0 %		
Плазматичні клітини					

Морфологія лейкоцитів: _____

гіперсегментація ядер _____

токсигенна зернистість _____

Морфологія еритроцитів: _____

Дегенеративні зміни: _____

анізоцитоз _____

пойкілоцитоз _____

анізохромія _____

Висновок: _____

“ _____ ” _____ 20 ____ р. Прізвище, І.,Б. _____
(дата видачі аналізу) (підпис)

Лекція № 6

Тема: “Діагностика мікропрепаратів периферичної крові при анеміях різного генезу (ЗДА), V_{12} дефіцитній анемії, апластичній анемії, гемолітичних анеміях”.

План

1. Цитологічна Діагностика мікропрепаратів периферичної крові при анеміях різного генезу (ЗДА), V_{12} дефіцитній анемії, апластичній анемії, гемолітичних анеміях.
2. Діагностика мікропрепаратів при гострих лейкозах.
3. Діагностика мікропрепаратів при хронічних лейкозах.
4. Діагностика мікропрепаратів при парaprотейнічних гемобластозах.

ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА АНЕМІЙ

У мазках крові при анеміях під час підрахунку лейкоцитарної формули можна виявити патологічні форми еритроцитів:

- *пойкілоцити* – еритроцити різної форми (овальні, грушоподібні, серпоподібні, мішенеподібні, краплеподібні, зірчасті та ін.);
- *анізоцити* – еритроцити різних розмірів (мегалоцити – розміром 10–12 мкм і більше, овальної форми, гіперхромні; макроцити – розміром більше 9–10 мкм; мікроцити – розміром менше ніж 6 мкм; шизоцити – розміром 2–3 мкм);
- *анізохромні еритроцити* – еритроцити різного забарвлення (гіперхромні – інтенсивніше забарвлені, майже немає просвітлення в еритроциті, гіпохромні – забарвлені світліше від норми, а інколи всередині еритроцита добре помітно просвітлення);
- *поліхроматофільні еритроцити* – еритроцити різних відтінків фіолетового кольору (молоді незрілі форми еритроцитів, які надходять з кісткового мозку в периферійну кров при посиленій регенерації).

Можуть зустрічатися еритроцити з дегенеративними змінами, а саме: кільця Жоллі (округлі рожево-червоні утворення, це залишки ядра нормоцитів), кільця Кебота (утворення рожево-червоного кольору у вигляді еліпсів або вісімок – це залишки оболонки ядра нормоцитів).

Базофільні гранули – округлі дрібні утворення синього кольору в цитоплазмі еритроцита.

При анеміях у периферійній крові можуть зустрічатися молоді форми еритроцитів – нормоцити.

Нормоцити – це клітини різних розмірів від 18 мкм (базофільні) до 7 мкм (оксифільні), поліхроматофільні з округлим ексцентрично розташованим ядром, яке ущільнюється з дозріванням клітини. Колір цитоплазми у

базофільного нормоцита – синій, у поліхроматофільного – сірувато-рожевий, у оксифільного – рожевий (рис. 26).

При анемії у периферійній крові може бути велика кількість нормоцитів, що є ознакою регенерації еритропоезу.

Матеріальне забезпечення: мікроскопи, імерсійне масло, мазки крові, лічильники, бланки досліджень.

Хід визначення

Для визначення виду анемії необхідно провести клінічний аналіз, додаткові дослідження крові та підрахувати лейкоцитарну формулу.

Анемії внаслідок крововтрат (постгеморагічні анемії)

Картина крові. Зміни в периферійній крові настають на 4–5-й день після кровотечі. Еритроцити і гемоглобін спочатку в нормі, на 2–3-й день починають знижуватись. Колірний показник у межах норми – нормохромна анемія. У мазку незначний пойкилоцитоз, анізоцитоз, макроцитоз, поліхроматофіли, зсув лейкоформули вліво до метамієлоцитів. Лейкоцитоз від 12 до $20 \times 10^9/\text{л}$. Спочатку тромбоцитопенія, пізніше тромбоцитоз. Залежно від кровотечі кількість ретикулоцитів збільшується до 10 %, ШОЕ прискорена.

Оскільки лабораторна діагностика складна і поставити діагноз постгеморагічної анемії важко, допомагає анамнез.

Залізодефіцитна анемія

Картина крові, різко знижується рівень гемоглобіну – від 20–30 до 110 г/л, еритроцити в нормі або знижені до $1,5\text{--}2,0 \cdot 10^{12}/\text{л}$, знижений колірний показник до 0,5–0,6 (норма 0,85–1,05), гіпохромія еритроцитів, мікроанізоцитоз, пойкилоцитоз, у тяжких випадках з'являються нормоцити. Лейкопенія зі зсувом вліво, відносний лімфоцитоз. Кількість лейкоцитів у межах норми, може спостерігатися лейкопенія, ретикулоцити в нормі або трохи підвищені, число тромбоцитів підвищене, ШОЕ незначно збільшена (фото 1, 2).

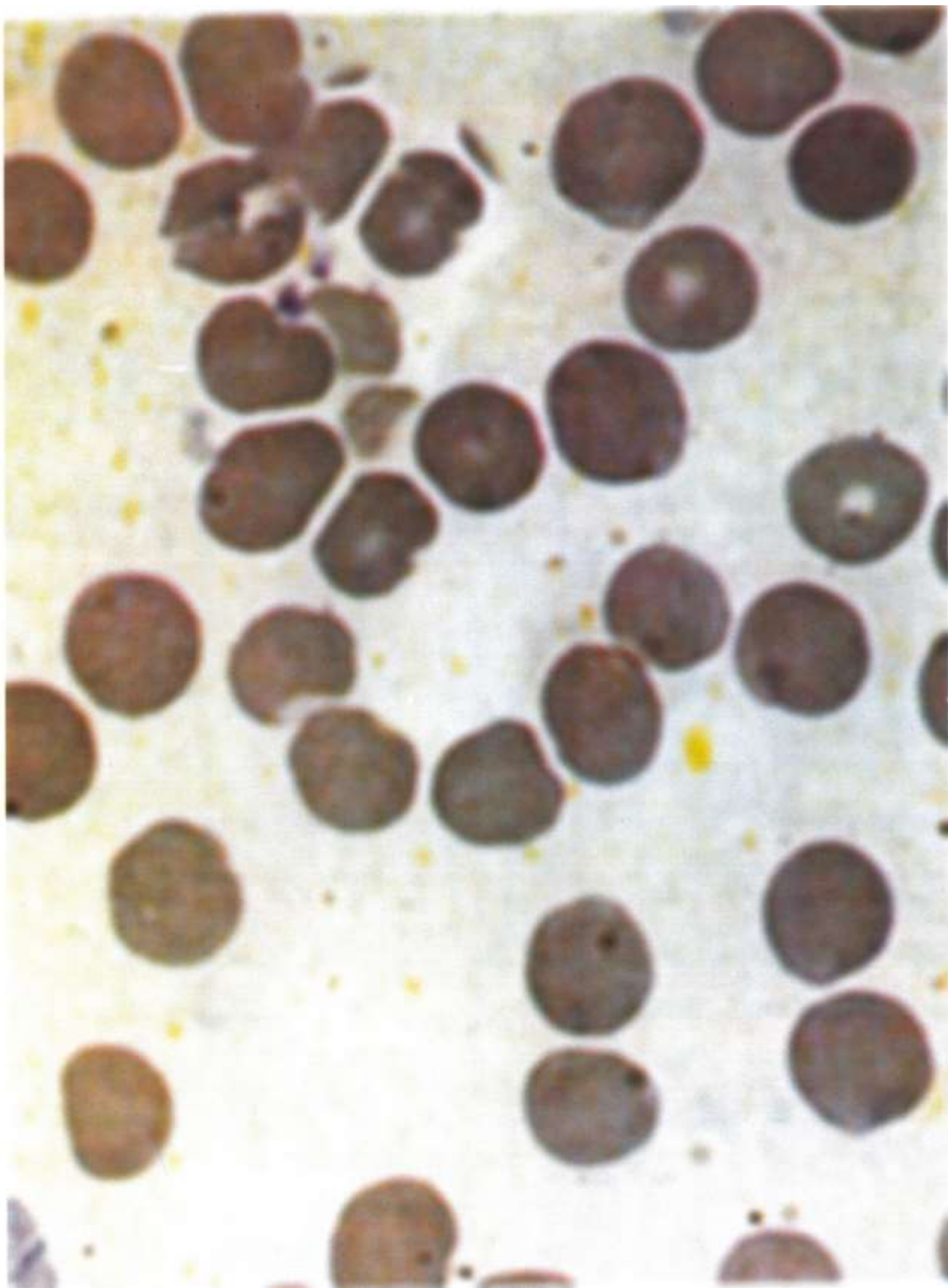


Фото 1. Нормохромні еритроцити. Периферична кров. Фарбування по Папенгейму ($\times 1000$)

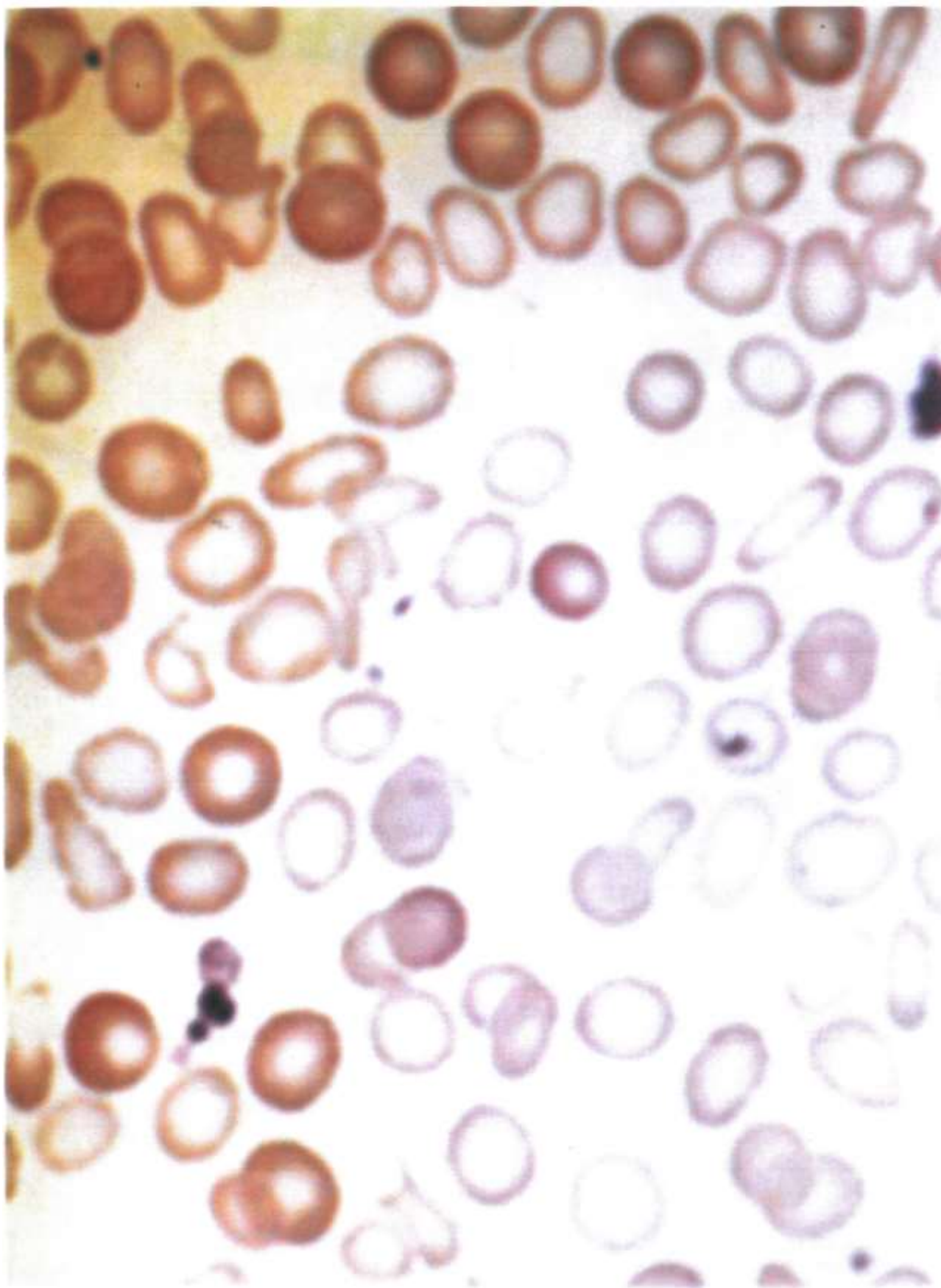


Фото 2. Залізодефіцитна анемія. Гіпохромія еритроцитів. Периферична кров.
Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

В₁₂ та фолієво-дефіцитні анемії

Картина крові. Вміст еритроцитів різко знижується до 1,0 Т/л, гемоглобіну – до 20 г/л. Еритроцити падають швидше, ніж гемоглобін: колірний показник становить 1,4–1,8. Анемія гіперхромного характеру, еритроцити великі гіперхромні – макроцити і мегалоцити, в них можна знайти кільця Жоллі, кільця Кебота, інколи мегалобласти, еритроцити з базофільною пунктацією, анізоцитоз, пойкилоцитоз. Характерна поява в периферійній крові нормоцитів. Кількість ретикулоцитів низька, тромбоцитопенія, нейтропенія зі зсувом вліво до мієлоцитів. Може бути також зсув вправо. Отже, зміни в крові характеризуються ураженням усіх трьох ростків кровотворення (фото 3, 4).

Апластичні анемії

Картина крові. Спостерігається різке, але рівномірне зменшення кількості еритроцитів до $1,0 \times 10^{12}$ /л, гемоглобіну до 20–30 г/л і нижче. Анемія нормохромного характеру. Анізоцитоз, пойкилоцитоз виражені незначно. Лейкопенія до $1,0 \times 10^9$ /л, абсолютна нейтропенія і відносний лімфоцитоз, еозинопенія. Спостерігається тромбоцитопенія, ШОЕ прискорюється до 30–50 мм/год. Зменшуються всі ростки кровотворення: еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів.

Гемолітичні анемії

Картина крові. Мікросфероцитоз, який протікає з загостренням і ремісіями, різкий ретикулоцитоз. Під час кризу еритроцити і гемоглобін значно падають, а пізніше дуже швидко відновлюються, нормохромна анемія, колірний показник 1,0. Анізоцитоз, пойкилоцитоз, еритроцити сферичної форми, їх товщина збільшена, діаметр зменшений, вони рівномірно забарвлені без центрального просвітлення. Вміст ретикулоцитів 60% і більше, з'являються нормоцити, поліхроматофіли. Лейкоцити в нормі, під час кризу лейкоцитоз із нейтрофіліозом, тромбоцити в нормі. Знижена осмотична резистентність у період ремісії, характерне підвищення осмотичної резистентності при гемолітичному кризі, білірубін у крові.

Примітка. При вищезгаданих анеміях картина крові може змінюватися залежно від стадії перебігу хвороби, її періоду та гостроти (фото 5).

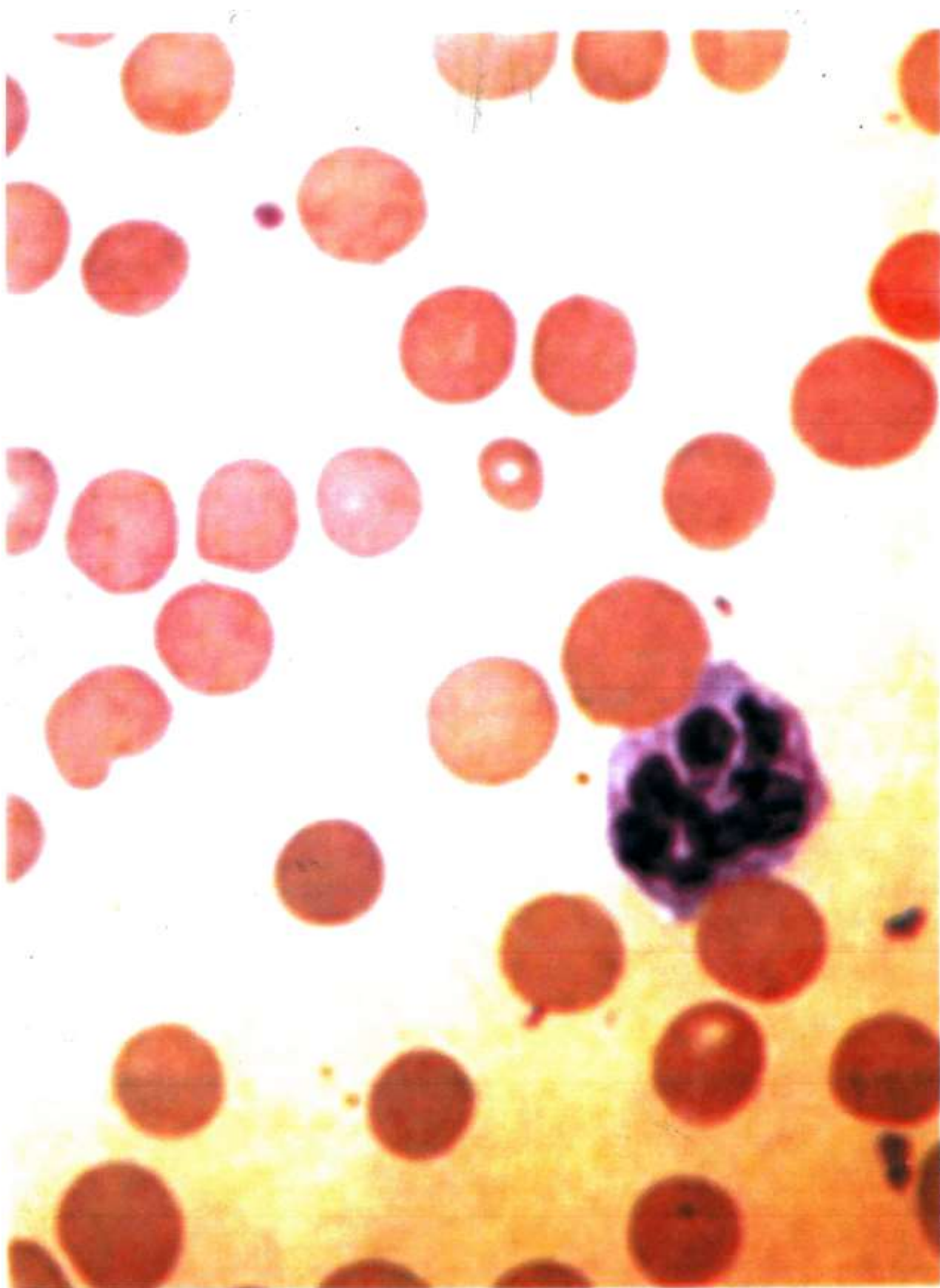


Фото 3. В₁₂-дефіцитна анемія. Периферична кров. Макроцитоз. Полісегментація нейтрофілів. Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

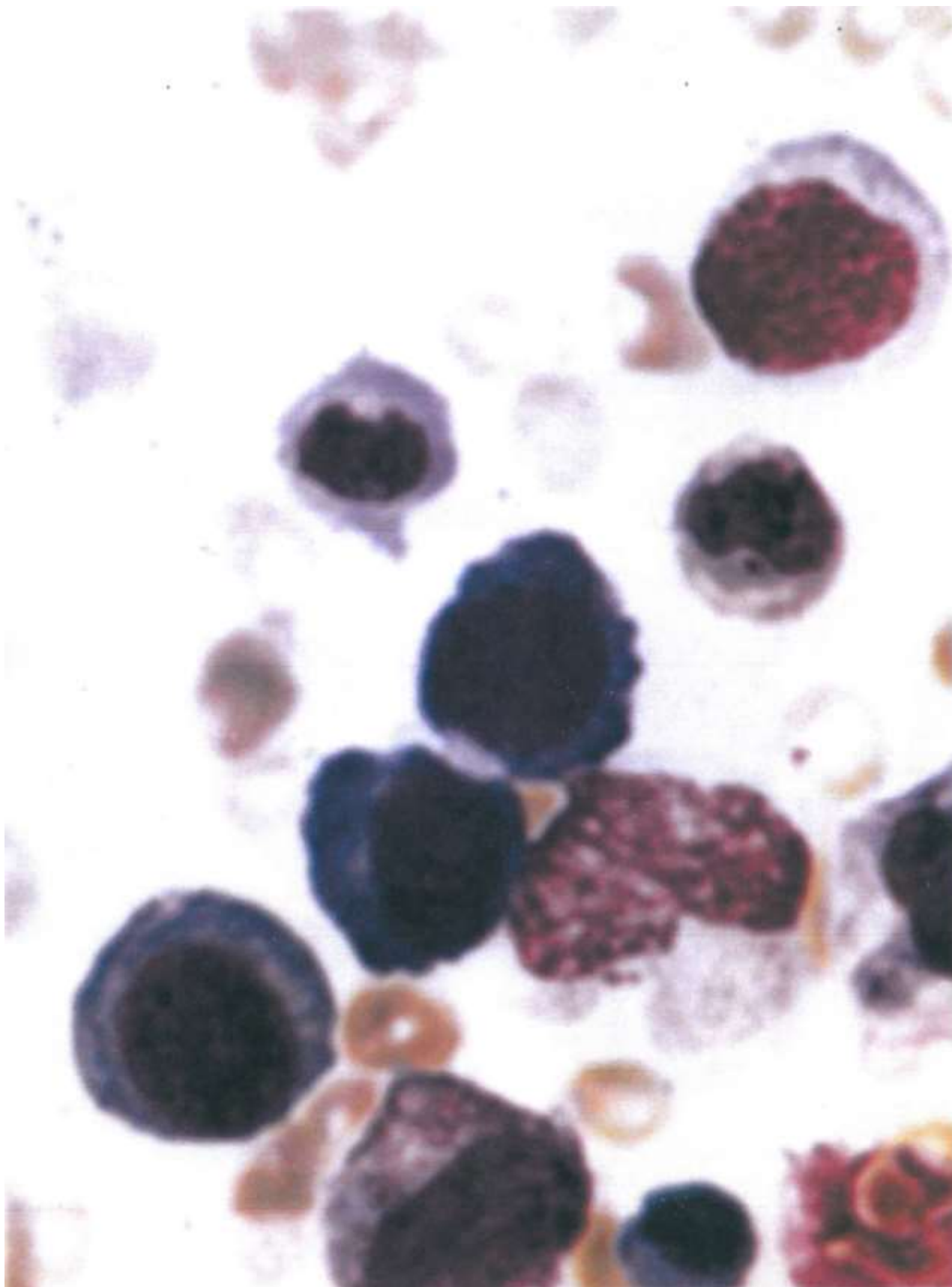


Фото 4. В₁₂-дефіцитна анемія. “Синій” кістковий мозок. Мегалобластичний тип кровотворення. Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

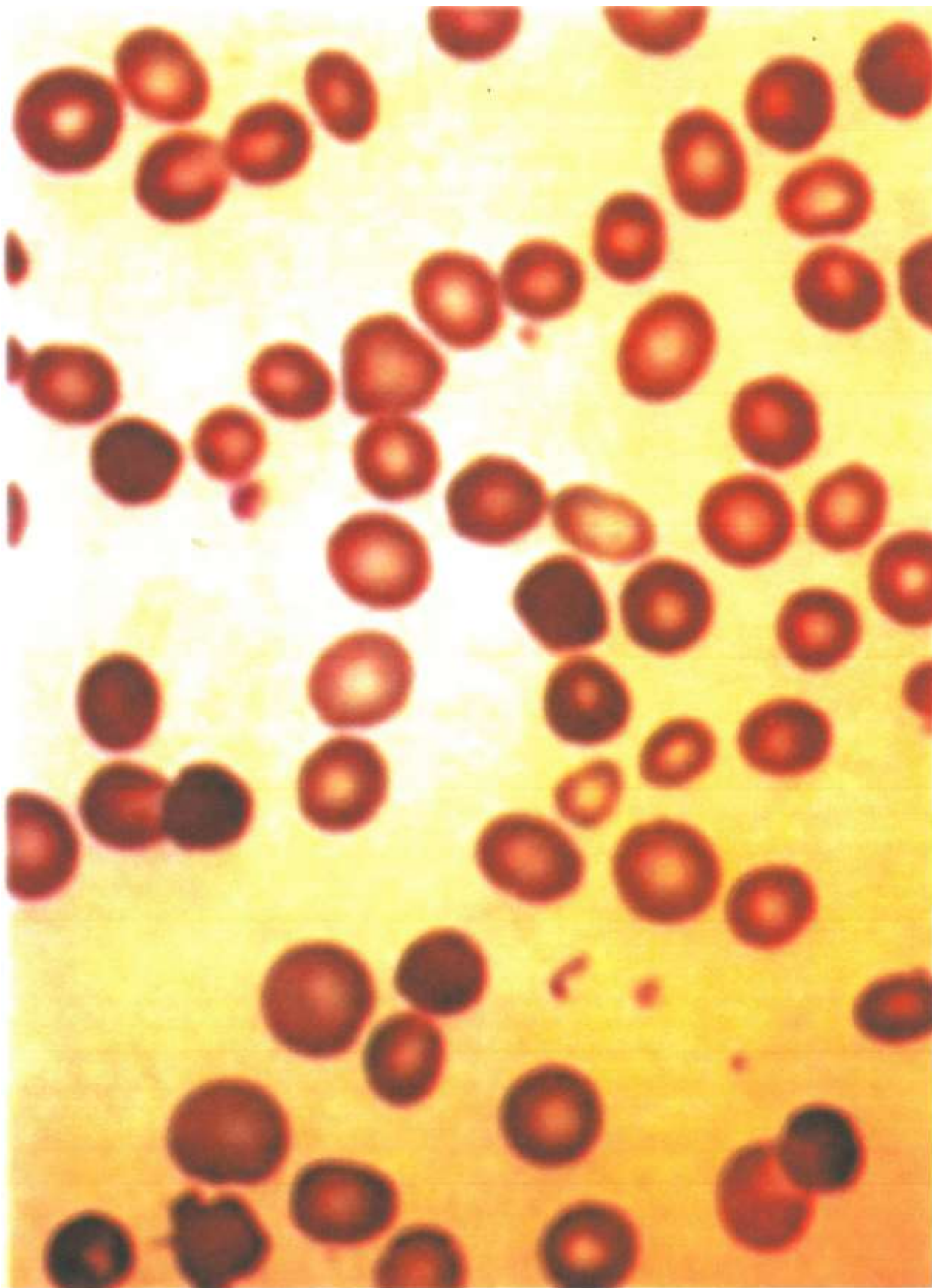


Фото 5. Мікросфероцитарна анемія. Периферична кров. Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

ЦИТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ

Гострі лейкози

Матеріальне забезпечення: готові мазки крові, імерсійне масло, мікроскопи, лічильники, бланки досліджень.

Картина крові. У периферійній крові переважають бластні клітини. Клітини морфологічно змінені (рис. 26).

Вид гострого лейкозу визначають імунологічними та цитохімічними методами. Цитохімічне дослідження полягає у проведенні мікрохімічного аналізу клітинних структур, біохімічних досліджень на рівні клітини. У клітинах визначаємо наявність ліпідів, глікогену, мукополісахаридів і активність ряду ферментів: пероксидази, кислої і лужної фосфатази, неспецифічних естераз. Розглядаємо мазки при цитохімічних реакціях і визначаємо вид гострого лейкозу.

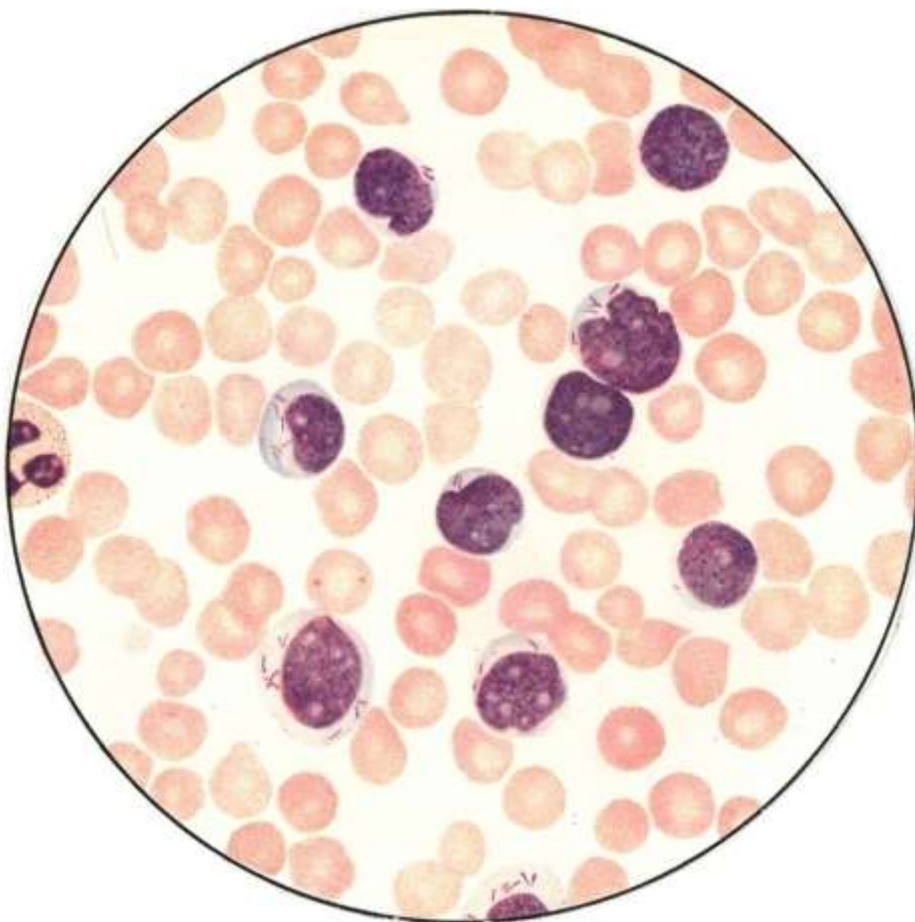


Рис. 27. Мієлобласти, в цитоплазмі палички Ауєра

Мієлопроліферативні лейкози

Хронічний мієлолейкоз.

Картина крові. Рівномірне збільшення базофілів і еозинофілів (але не у всіх хворих), нейтрофільний лейкоцитоз зі зсувом вліво до мієлоцитів і промієлоцитів, інколи і до мієлобластів; можлива поява нормоцитів, тромбоцитоз, ШОЕ нормальна або підвищена, лейкоцитоз до 20–30 Г/л, може бути до 400 Г/л, а інколи до 600–800 Г/л і більше, в результаті чого утворюються лейкоцитні тромби в судинах головного мозку, селезінці, легенях; анемія, пойкилоцитоз, анізоцитоз еритроцитів виражені незначно (рис. 28).

Лімфопроліферативні лейкози

Хронічний лімфолейкоз.

Картина крові. Лімфоцити 40–60 %, лізовані лімфоцити (тіні Гумпрехта), лейкоцитоз до 100 Г/л, зустрічаються пролімфоцити, поодинокі лімфобласти, поступово розвивається анемія, тромбоцитопенія (рис. 29).

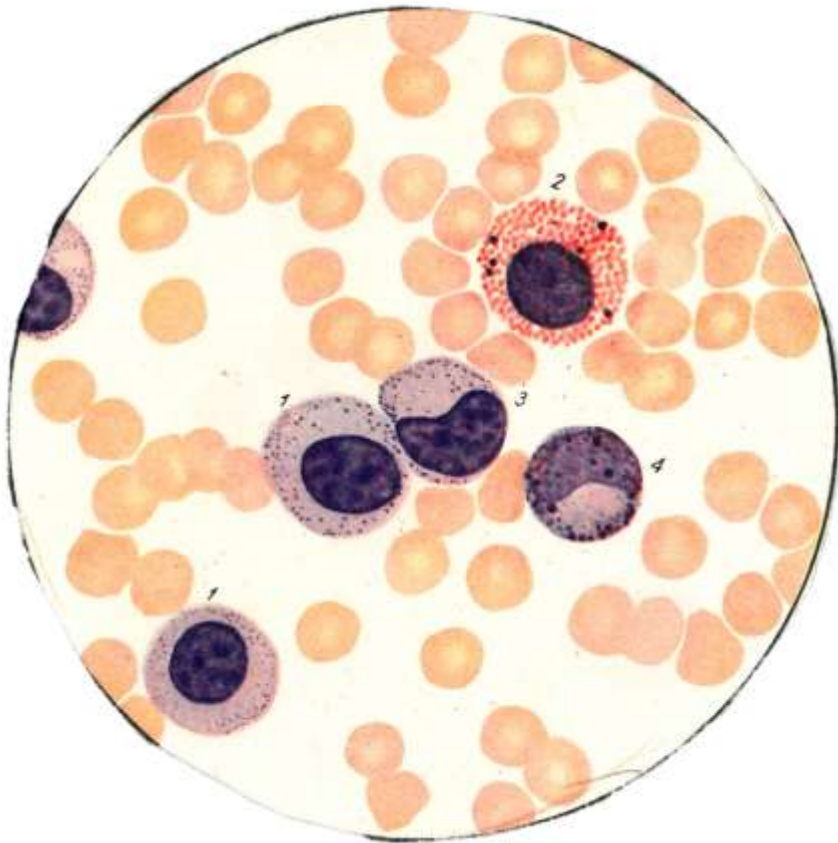


Рис. 28. 1 – Міелоцит нейтрофільний; 2 – еозинофільний міелоцит;
3 – метаміелоцит нейтрофільний; 4 – базофільний метаміелоцит

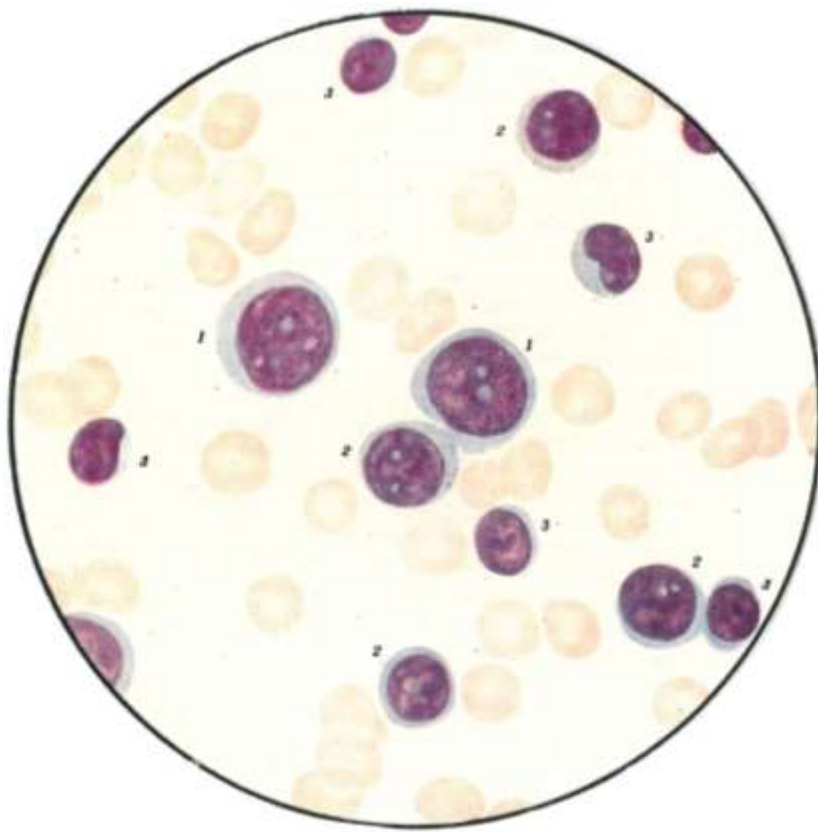
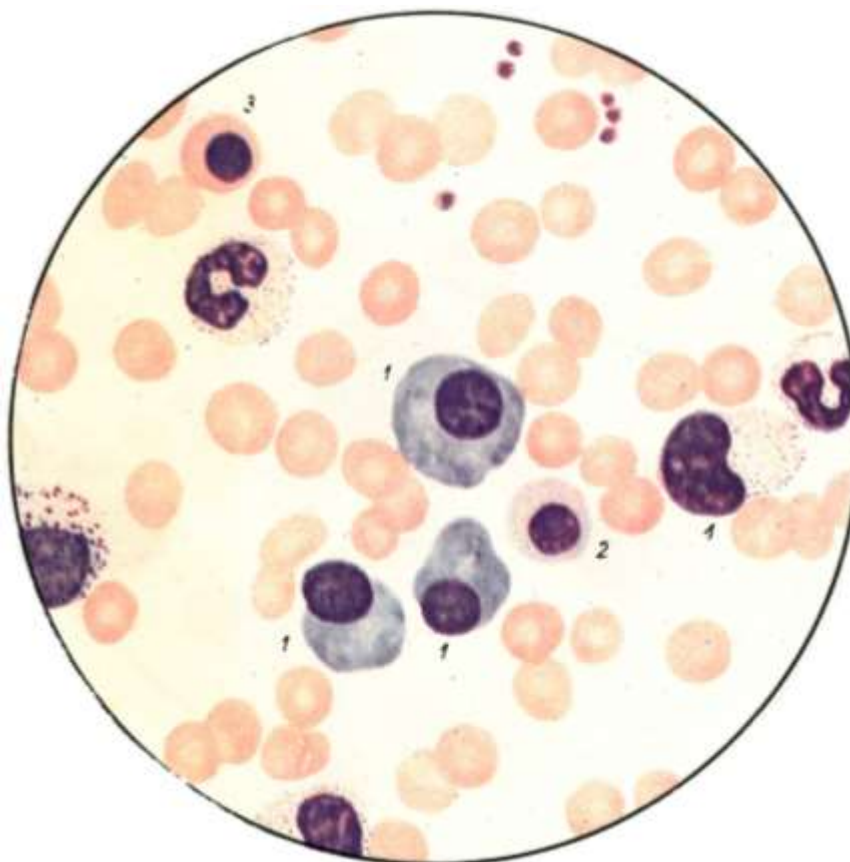


Рис. 29. 1 – Лімфобласти; 2 – пролімфоцити; 3 – лімфоцити



*Рис. 29а. 1 – Плазматичні клітини; 2 – нормоцит поліхроматофільний;
3 – нормоцит оксифільний*

ПАРАПРОТЕЇНЕМІЧНІ ГЕМОБЛАСТОЗИ

Мієломна хвороба.

Картина крові. Лейкопенія, плазматичні клітини типу плазмобластів, проплазмоцити, плазмоцити, нормохромна анемія, інколи з'являються нормоцити, ШОЕ 50–90 мм/год, кількість тромбоцитів у нормі, інколи на початку захворювання спостерігається гіпертромбоцитоз, ретикулоцити в нормі (рис. 29а).

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2

Цитологічна техніка та діагностика мікропрепаратів шлункового соку доуденального вмісту, виділень із статевих органів, рідини серозних порожнин, мокротиння, сечі та калу

Лекція № 7

Тема: “Особливості цитологічної техніки та діагностики мікропрепаратів шлункового соку доуденального вмісту, виділень із статевих органів”.

План

1. Загальна характеристика методів дослідження секреторної функції шлунка.
2. Мікроскопічне дослідження нативних препаратів шлункового соку з виявленням елементів слизової оболонки, елементів їжі, флори. Діагностика значення.
3. Мікроскопічне дослідження нативних препаратів жовчі з виявленням клітинних елементів, слизі, кристалічних утворень та паразитів. Діагностичне значення.
4. Особливості забору матеріалу для дослідження виділень із статевих органів.
5. Діагностика мікропрепаратів виділень із статевих органів з метою виявлення захворювань, які передаються статевим шляхом, безплідності у чоловіків, визначення чистоти піхви.

ДОСЛІДЖЕННЯ ШЛУНКОВОГО ВМІСТУ

Всі методи дослідження секреторної функції шлунка діляться на зондові та беззондові. Дослідження за допомогою зонда є основним методом дослідження секреції шлунка в лабораторних умовах. Найбільш інформативним є метод інтрагастральної рН-метрії та фракційний метод одержання шлункового вмісту із застосуванням субмаксимальних і максимальних подразників для визначення ахілії.

Лабораторному дослідженню підлягає 9 порцій шлункового вмісту: порція, одержана натще, згодом 4 порції, одержані протягом кожних 15 хвилин першої години зондування, базальна секреція і 4 порції, одержані протягом другої години зондування після введення стимулятора, стимульована або максимальна секреція.

Мікроскопічне дослідження шлункового вмісту

Мікроскопічному дослідженню підлягає порція натще, а також перша після застосування подразників. Дані мікроскопічного дослідження шлункового вмісту дають змогу судити про евакуаторну функцію шлунка, а також деякою мірою про стан його слизової оболонки. При цьому виявляємо елементи слизової оболонки (слиз, кров, епітеліоцити, шматочки тканин), елементи їжі при застійних явищах (зерна крохмалю, дріжджі, ліпіди, м'язові волокна) та мікроорганізми (сарцини, палички молочнокислого бродіння).

Матеріальне забезпечення: шлунковий вміст, предметні та покривні скельця, розчин Люголя, розчин судану III, мікроскопи, чашки Петрі, препарувальні голки, шпатель, центрифуга, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Для виготовлення нативних препаратів шлунковий вміст виливаємо в чашку Петрі, розглядаємо на чорному та білому фоні, шпателем і препарувальною голкою відбираємо на предметні скельця слизові, кров'яні та щільні грудки. Із кожної досліджуваної порції виготовляємо три препарати: нативний, з розчином Люголя та з суданом III.

Мікроскопуємо препарати спочатку під малим, а потім під великим збільшенням (об'єктив 40), ідентифікуємо елементи.

Досліджуємо згідно з загальними правилами дослідження нативного препарату.

Під час мікроскопічного дослідження можна виявити:

I. Елементи слизової оболонки:

Слиз – у нормі виявляють невелику кількість. Має вигляд волокон. При атрофічному гастриті його кількість зменшена або відсутня. При підвищеній секреції слиз відсутній. Багато слизу при гіпертрофічному гастриті й ахілії. Необхідно відрізнити шлунковий слиз від слизу порожнини рота та дихальних шляхів, який містить пухирці повітря та плоский чи навіть альвеолярний епітелій.

Клітини епітелію – епітелій слизової оболонки шлунка виявляють окремо і скупченнями у грудочках слизу разом з лейкоцитами. В кислому середовищі – у вигляді голих овальних чи круглих ядер, розташованих поряд. При зниженій секреції шлунка вони зберігають циліндричну форму клітин. Багато епітеліоцитів шлунка зустрічаються при гіпертрофічному гастриті, особливо в пілоричній частині шлунка. При поліпах шлунка трапляються пласти однотипного циліндричного епітелію з ознаками проліферації: двох-, триядерні клітини зі збільшеними ядрами, у деяких з них знаходять ядерця. При раку шлунка іноді виявляють у щільних грудках і в слизі атипів клітини, нерідко розташовані у вигляді груп та залозистих утворів, нерідко з жировою дистрофією.

Лейкоцити – в нормі перебувають у грудках слизу, частіше у вигляді голих ядер нейтрофілів (ядра Яворського). При ахілії структура їх зберігається. Дуже багато лейкоцитів знаходять при гнійному гастриті.

Еритроцити – незмінні виявляють у шлунковому вмісті, в якому знижена кислотність або відсутня хлоридна кислота (рис. 37).

Клітини новоутворень – ці клітини виявляють у нативних і пофарбованих препаратах шлункового вмісту.

II. Елементи їжі:

– крохмальні зерна. Це утворення круглої або овальної форми, різних розмірів. Розчином Люголя забарвлюються у синій колір (рис. 38);

– м'язові волокна – утворення циліндричної форми, жовто-коричневого кольору, які мають поздовжню або поперечну посмугованість, розташовуються окремо або групами;

– нейтральний жир зустрічається у вигляді крапель округлої форми різного розміру, суданом III забарвлюється в оранжевий колір;

– рослинна клітковина – зустрічається перетравлена та неперетравлена. Це залишки їжі. Рослинну клітковину виявляють при порушенні евакуаторної функції шлунка. Перетравлена рослинна клітковина має вигляд круглих безбарвних клітин. Неперетравлена рослинна клітковина – це клітини різних розмірів та форм (це оболонки рослин і овочів).

III. Флора:

– палички молочнокислого бродіння – грубі, довгі, часто розташовані під кутом одна до одної, зустрічаються в шлунковому вмісті, якщо відсутня хлоридна кислота;

– сарцини – мають вигляд перев'язаних туюків; розчином Люголя забарвлюються в темно-бурий або червоно-фіолетовий колір;

– дріжджові гриби – мають овальну, рідше круглу форму, розташовуються поодинокі, попарно або скупченнями. Розчином Люголя забарвлюються в жовтий колір (рис. 37, 39).

**Мікроскопічне дослідження:
(для секретії натщесерце, базальної, стимульованої)**

Слиз _____

Лейкоцити _____

Еритроцити _____

Клітини епітелію _____

Елементи їжі: зерна _____

Крохмалю (амілодекстрини, еритродекстрини, ахродекстрини) _____

Елементи гриба, подібного до дріжджів _____

Нейтральний жир _____

М'язові волокна _____

Сарцини _____

Палички молочнокислого бродіння _____

Висновок: _____

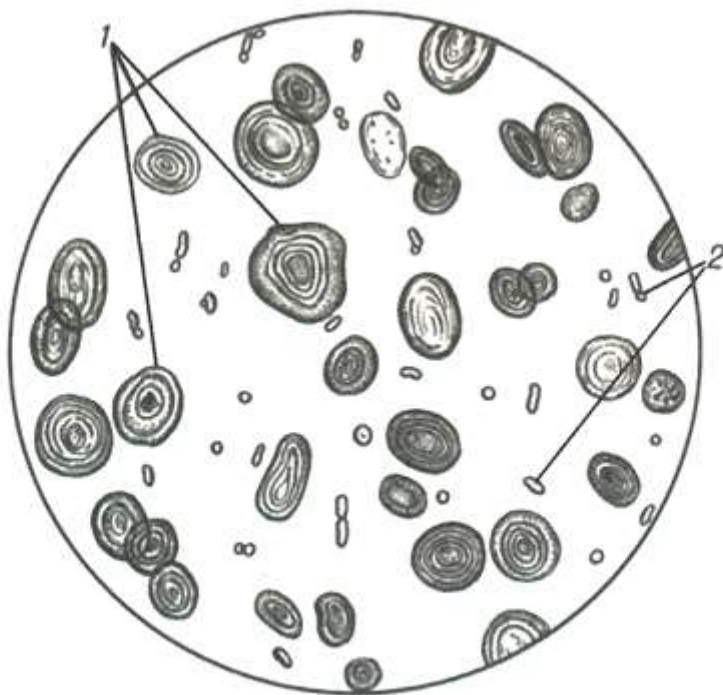
“ _____ ” _____ 200__ р.
(дата видачі аналізу)

Прізвище, І., Б. _____
підпис



Рис. 37. Мікроскопічне дослідження шлункового вмісту:

- 1 – лейкоцити; 2 – покритво-ямковий епітелій; 3 – еритроцити; 4 – дріжджові гриби;
 5 – слиз; 6 – щільна група атипичного епітелію; 7 – покритво-ямковий епітелій, лейкоцити,
 дифузний кров'яний пігмент у слизі; 8 – альвеолярний макрофаг; 9 – плоский епітелій;
 10 – міслін; 11 – дріжджові гриби і крохмальні зерна, забарвлені розчином Люголя;
 12 – палички молочнокислого бродіння.



*Рис. 38. Крохмальні зерна (1) і дріжджові гриби (2)
у шлунковому вмісті*

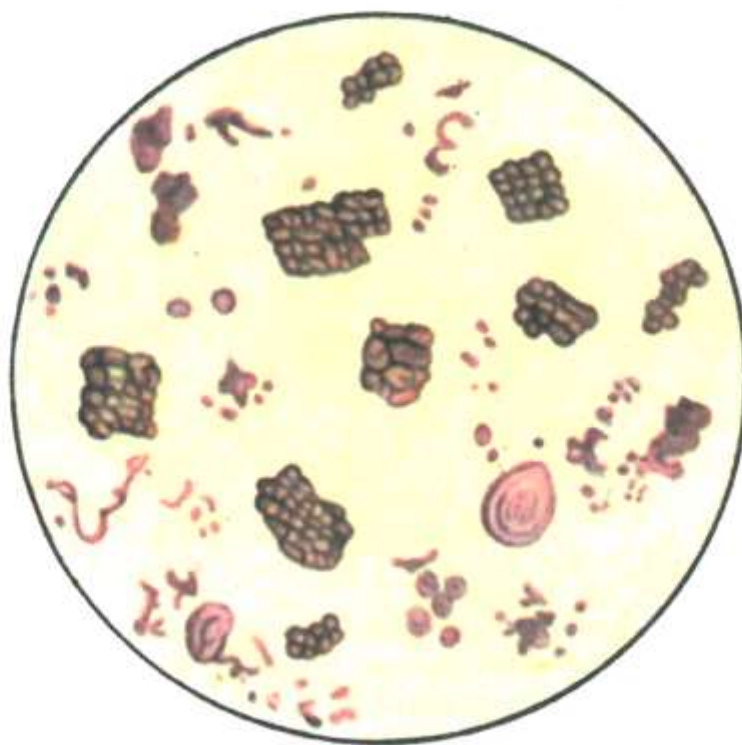


Рис. 39. Сарцини у шлунковому вмісті

Мікроскопічне дослідження

Мікроскопічне дослідження жовчі необхідно проводити відразу після визначення фізичних властивостей. Бажано, щоб жовч була ще теплою.

Для виготовлення нативного препарату жовч із пробірок виливаємо у чашку Петрі та розглядаємо на чорному і білому фоні. За допомогою препарувальної голки і шпателя відбираємо підозрілі згустки, разом із жовчю переносимо на предметне скло і покриваємо покривним.

Розглядаємо під малим збільшенням мікроскопа (окуляр 7×, об'єктив 8×), а пізніше під великим (окуляр 7×, об'єктив 40×).

Нативні препарати необхідно виготовляти з кожної порції жовчі: “А”, “В”, “С”.

Під час мікроскопії можна виявити клітинні елементи (лейкоцити, еритроцити, епітелій, лейкоцитозиди), слиз, кристалічні утворення та паразитів.

Лейкоцити – мають діагностичне значення, якщо зустрічаються у грудочках слизу чи з війчастим епітелієм.

Епітелій:

- високий призматичний довгий, вузький з довгим вузьким ядром – із загальної жовчної протоки;

- великий циліндричний з кутикулою і ворсинками, велике овальне ядро – з дванадцятипалої кишки;

- високий призматичний, з великим ядром – із жовчного міхура;

- високий циліндричний без кутикул – із жовчних проток печінки.

Лейкоцитозиди – це клітини круглої форми. Вважають, що це змінений епітелій дванадцятипалої кишки. *Кристалічні утворення:*

- кристали холестерину мають вигляд безбарвних табличок різного розміру зі сходоподібним кутом;

- білірубін – кристали у вигляді голок або ромбів жовтого та коричневого кольору, можуть розташовуватися окремо або скупченнями;

- кальцій білірубінат – дрібні крупинки золотисто-жовтого та коричневого кольору; випадають в осад часто з кристалами холестерину і мікролітами;

- мікроліти – темні компактні округлі чи багатогранні утворення із солей кальцію, слизу і холестерину;

- жовчні кислоти – маленькі, блискучі, коричневі, жовті або сіруваті зернятка.

У нормі під час мікроскопічного дослідження дуоденального вмісту можемо виявити невелику кількість слизу, епітелію та поодинокі кристали холестерину.

Виявлення великої кількості холестерину, кальцію білірубінату, мікролітів свідчать про можливість каменеутворення.

Паразити:

Під час мікроскопічного дослідження жовчі можемо виявити лямблії в теплій жовчі, при її охолодженні вони втрачають рухомість і морфологічно

подібні до епітеліоцитів, яйця, іноді личинки гельмінтів – при гельмінтозах печінки, жовчного міхура, дванадцятипалої кишки (опісторхозі, фасціольозі, дикроцеліозі, стронгілоїдозі, трихостронгілоїдозі) (рис. 40).

стор. 2 ф. №222/0

Показники	Фази									
	I/загальної жовчної протоки		II/закриття сфінктера печінково-підшлун. ампули		Порції					
					III/A		IV/B		V/C	
	результат	норма	результат	норма	результат	норма	результат	норма	результат	норма
Мікроскопічне дослідження	(у нормі мікроскопічні елементи відсутні)									
I. Елементи запалення:										
Слиз										
Лейкоцити										
Епітеліальні клітини										
II. Елементи порушення колоїдної стійкості:		5-7								
Кристали холестерину										
Мікроліти										
Жирні кислоти (голчасті, брилчасті кристали)										
Кальцій білірубінат										
III. Елементи паразитарної інвазії:										
Веgetативні форми лямблій										
Яйця гельмінтів										
Висновок										

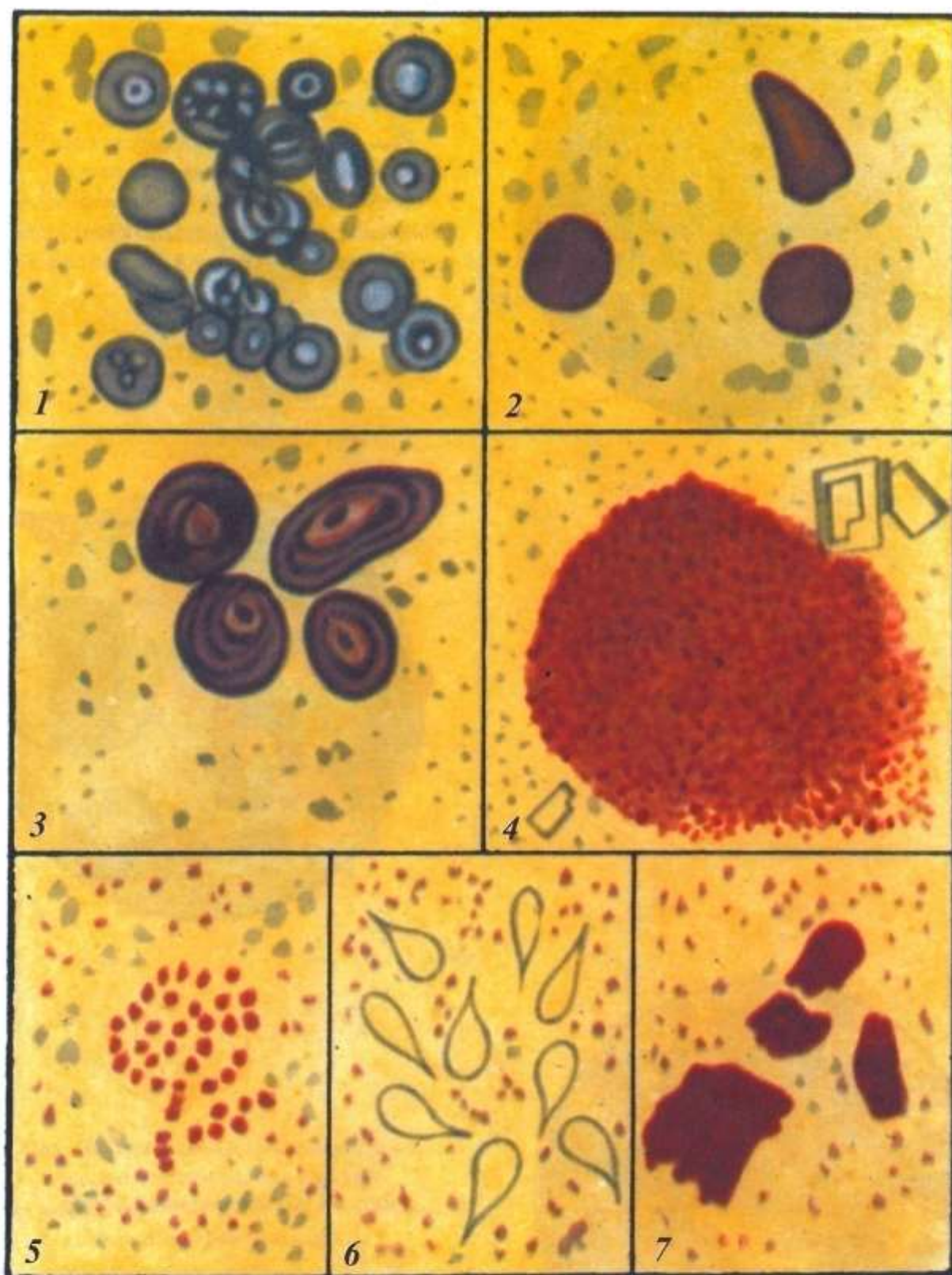


Рис. 40. Мікроскопічне дослідження дуоденального вмісту:
 1 – лейкоцити; 2 – мікроліти; 3 – сферомікроліти;
 4 – білірубінат кальцію і кристали холестерину;
 5 – жовчні кислоти; 6 – лямбії; 7 – коричневі плівчасті утворення

ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА ВИДІЛЕНЬ ЗІ СТАТЕВИХ ОРГАНІВ

Дослідження виділень зі статевих органів проводяться для діагностики захворювань, які передаються статевим шляхом (зокрема, гонореї, трихомоніазу), для визначення функціонального стану яєчників, ступеня чистоти піхви, виявлення клітинних елементів новоутворів.

Дослідження еякуляту проводять для діагностики безплідності чоловіків, а дослідження секрету передміхурової залози – для діагностики захворювань передміхурової залози.

Дослідження виділень із піхви на ступінь чистоти

Для дослідження вмісту піхви, каналу шийки матки і сечовипускного каналу лікар робить забір матеріалу, а лаборант проводить дослідження.

Бактеріальна флора піхви у зрілої та здорової в статевому відношенні жінки репродуктивного періоду складається виключно із грампозитивних паличок Дедерляйна, які розкладають глікоген, що виділяється поверхневими клітинами епітелію і розпадається до молочної кислоти, тому у піхві підтримується кисла реакція (рН 4,0–5,0). В такому середовищі палички Дедерляйна швидко розмножуються, випереджаючи інші мікроорганізми, які попадають у піхву, і зникають через 2,5–70 годин.

Секрет каналу шийки матки має бактерицидну дію. Незважаючи на це, самоочищення не може бути безмежним, тому при попаданні патогенних мікроорганізмів можуть виникати запальні процеси. Під час запальних процесів у піхві рН зростає до 5,5 і вище. Залежно від паличкової флори розрізняють чотири ступені чистоти піхви.

Матеріальне забезпечення: мазки виділень із піхви, устаткування для забарвлення мазків, пінцет, 1% розчин метиленового синього, фарба за Грамом, імерсійне масло, мікроскоп, дистильована вода, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Забарвлені препарати вивчаємо під мікроскопом з імерсійною системою. У мазках можна диференціювати клітинні елементи:

- лейкоцити;
- еритроцити;
- клітини плоского епітелію;
- різні мікроорганізми: товсті грампозитивні палички Дедерляйна, тонкі, трохи зігнуті грамнегативні палички *Comme Variable*, які не забарвлюються за Грамом, гнійна флора, стафілококи, стрептококи.

Залежно від фази менструального циклу розрізняємо чотири ступені чистоти піхви:

I ступінь чистоти: в мазках виявляємо чисту культуру грампозитивних паличок Дедерляйна, поодинокі клітини плоского епітелію, слизу, рН 4,0–4,7. Така картина вмісту піхви здорової жінки у пізню фолікулінову фазу.

II ступінь чистоти: в мазках виявляємо багато паличок Дедерляйна, поодинокі лейкоцити, сапрофіти, клітини плоского епітелію, слиз, рН 4,5–5,0. Така картина вмісту піхви відповідає нормальному стану жінки, зустрічається найчастіше.

III ступінь чистоти: в мазках виявляємо плоский епітелій, незначну кількість паличок Дедерляйна, велику кількість лейкоцитів, гнійну флору, багато різних коків (у тому числі стрептококів і стафілококів), рН 5,0–6,5. Така картина вмісту піхви характерна для запального процесу слизової оболонки піхви.

IV ступінь чистоти: у мазках відсутні палички Дедерляйна, наявна велика кількість лейкоцитів, епітелію, гнійна флора, мікроорганізми, рН 6,5–8,5. Така картина характерна для запального процесу в слизовій оболонці піхви.

Визначення ступеня чистоти піхви має значення для діагностики та лікування пацієнтки.

Лабораторна діагностика гонореї

У чоловіків беремо виділення із сечівника, секрет передміхурової залози. Виділення поміщаємо на предметне скло і розподіляємо тонким шаром. У жінок беремо виділення з уретри, піхви, цервікального каналу, прямої кишки. На склі позначаємо У (уретра), П (піхва), С (цервікальний канал), Р (ректум). Можна досліджувати вранішню сечу 10–15 мл. Сечу центрифугуємо і виготовляємо нативні препарати та пофарбовані з осаду сечі. Забарвлення проводимо метиленовим синім, еозином за Грамом.

Гонорея передається від людини людині, переважно статевим шляхом, уражає сечостатеві органи. Інкубаційний період 2–3 дні. Збудником гонореї є гонокок, відкритий Нейсером у 1879 р. Матеріалом для дослідження при цій хворобі служать виділення з піхви, уретри, шийки матки, прямої кишки.

Матеріальне забезпечення: мазки, устаткування для забарвлення мазків, 4% розчин метиленового синього, 1% розчин кристалічного фіолетового, 96% етиловий спирт, 1% водний розчин нейтрального червоного, мікроскоп, імерсійне масло, рукавички, дезрозчин.

Хід визначення

Для виявлення гонококів використовуємо методи забарвлення мазків: 1% розчином метиленового синього та за Грамом у модифікації.

Забарвлення 1% розчином метиленового синього.

Реактив: 1 г метиленового синього розчиняємо в 100 мл дистильованої води, фільтруємо. На мазок, зафіксований протягом 3 хв. 96% етиловим спиртом, наливаємо 1% водний розчин метиленового синього на 1 хв. Після цього фарбу змиваємо водою, препарат висушуємо на повітрі та вивчаємо

елементи препарату під мікроскопом. Гонококи забарвлюються в темно-синій колір.

Забарвлення за методом Грама (у модифікації)

Цей метод має основне диференціально-діагностичне значення і є обов'язковим при дослідженні виділень на виявлення гонореї.

Препарат фіксуємо над полум'ям горілки і накриваємо клаптиком фільтрувального паперу, заливаємо 1% розчином генціанвіолету кристалічного фіолетового на 1 хв., пізніше папір знімаємо, препарат промиваємо водою. Заливаємо розчином Люголя на кілька секунд і змиваємо його. Знебарвлюємо препарат у 96% етиловому спирті. Промиваємо водою. Дофарбовуємо протягом 3 хв. 1% водним розчином нейтрального червоного, промиваємо, висушуємо.

Препарати досліджуємо під мікроскопом з імерсійною системою. Грампозитивні гонококи забарвлюються в рожевий чи темно-рожевий колір.

Класичні гонококи мають вигляд диплококів бобовидної форми (кавового зерна), іноді більш округлені, розташовані попарно. Для гонококів характерне розташування всередині лейкоцитів у вигляді “бджолиного рою”, але вони можуть перебувати і поза лейкоцитами (рис. 49).

При гострій гонореї у мазках багато лейкоцитів, гонококи розташовані внутрішньоклітинно та позаклітинно. При хронічній гонореї можуть з'являтися дегенеративні форми гонококів, розміщені внутрішньоепітеліально, та інші мікроорганізми.

Виявлення гонококів під час дослідження має дуже важливе значення для діагностики.

Лабораторна діагностика трихомоніазу

Найчастішою причиною хронічних запальних процесів піхви, шийки матки і сечовипускного каналу є трихомонадна інфекція.

Для виявлення трихомонад виготовляємо нативний препарат, фарбуємо синькою або за Цогікяном. Нативний препарат необхідно розглядати свіжим, тоді можна побачити, як рухається трихомонада. У препаратах, забарвлених за методом Цогікяна, можна спостерігати трихомонади із джгутиками. У препаратах, забарвлених за Грамом, трихомонаду легко відрізнити від інших клітинних елементів вакуолізованою цитоплазмою.

Трихомонада – це одноклітинний паразит грушоподібної або овальної форми, більший від лейкоцита. Він має чотири джгутики, один кінець загострений, пересувається за допомогою індулюючої мембрани. Трихомонади можуть існувати у дівчаток і жінок у піхві, в сечовипускному каналі та в прямій кишці. Встановлено, що трихомонади патогенні, вони є збудниками кольпіту, цервіциту, уретриту. Така хвора має в піхві неприємні відчуття, свербіння, виділення білувато-жовтуватого кольору, пінисті.

Взяття матеріалу проводять у жінок із піхви, шийки матки, у чоловіків – із сечівника.

Матеріальне забезпечення: готові мазки, устаткування для забарвлення мазків, предметні та покривні скельця, мікроскоп, 1% метиленовий синій, 0,5% діамантовий зелений, барвник Романовського, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Для виготовлення нативного препарату на предметне скло наносимо краплю ізотонічного розчину хлориду натрію і краплю досліджуваних виділень. Накриваємо покривним склом. Проводимо мікроскопію (окуляр 7×, об'єктив 40×). У свіжовиготовленому нативному препараті ми можемо побачити трихомонаду з чотирма джгутиками. Трихомонади легко забарвлюються метиленовим синім, за методом Грама, Романовського, фуксином.

При забарвленні по Романовському трихомонади набувають синього кольору з темним ядром.

Виготовлення забарвлених препаратів

Препарати фіксуємо і забарвлюємо 1% метиленовим синім і еозином, 0,5% діамантовим зеленим, за методами Романовського, Грама, Цогікяна.

Дослідження еякуляту (сім'яної рідини)

Еякулят збирають у чистий посуд, попередньо підігрітий до температури тіла. Досліджувати його краще через 30 хв., коли настане повне розрідження і гомогенізація еякуляту під впливом ферменту гіалуронідази.

Дослідження еякуляту включає визначення фізичних властивостей та мікроскопічне дослідження, при необхідності виконують додаткові дослідження – біохімічні, біологічні та ін.

Матеріальне забезпечення: матеріал для дослідження, штатив з пробірками, предметні та покривні скельця, хімічні піпетки, мірні центрифужні пробірки, скляні палички з оплавленим кінцем, універсальний індикаторний папір, камери Горяєва, капіляр Салі, мікроскоп, імерсійне масло, устаткування для забарвлення мазків, фіксатор-барвник Мая – Грюнвальда, барвник Романовського, реактив Рубенкова, рукавички, дезрозчин.

Визначення фізичних властивостей еякуляту

Хід визначення

Кількість вимірюємо за допомогою центрифужної пробірки. У здорових чоловіків за еякуляцію виділяється 3–4 мл еякуляту. При аспермії – до 0,5–1,0 мл (внаслідок атрофії яєчок). Збільшення кількості еякуляту спостерігається при гіперфункції бульбоуретральних залоз.

Колір – у нормі сірувато-білий. Патологічні домішки можуть змінювати колір. При гемоспермії еякулят забарвлюється в рожевий або коричневий колір. Спостерігається при кровотечі зі статевих органів. Жовтий колір з'являється при піоспермії, при запальних процесах передміхурової залози, сім'яних пухирців.

Прозорість – склоподібно прозорий еякулят бідний на сперматозоїди (азоспермія); мутний, молочно-білого кольору еякулят має велику кількість сперматозоїдів.

Запах – у нормі нагадує запах свіжого каштанового цвіту. Відсутність запаху спостерігається при закупорці вивідних передміхурових протоків. При гнійно-запальних процесах запах змінюється і залежить від мікрофлори, яка викликала запальний процес.

Консистенція – у свіжому еякуляті тягуча, з часом настає розрідження.

В'язкість – визначають за допомогою скляної палички з оплавленим кінцем. Кінець палички після розрідження вносять у досліджуваний еякулят і легко піднімають над ним. При нормальному вмісті сперматозоїдів на поверхні палички залишається крапля сперми, при підвищеній в'язкості вона тягнеться за рухом палички, при зниженій – краплі на паличці не залишається.

Реакція – визначається за допомогою універсального індикаторного паперу. В нормі рН сперми 7,2–7,6. При патології реакція може коливатися в кислу або лужну сторону.

Мікроскопічне дослідження

Включає вивчення нативних препаратів, підрахунок кількості сперматозоїдів у камері Горяєва та вивчення елементів у забарвленому препараті.

Дослідження нативних препаратів

Для виготовлення нативних препаратів досліджуваний еякулят виливаємо в чашку Петрі, за допомогою пастерівської піпетки на предметне скло наносимо 1–2 краплі рідини, накриваємо покривним склом і мікроскопуємо, – спочатку під малим, а пізніше під великим збільшенням. У препараті здорових чоловіків можна побачити велику кількість рухомих сперматозоїдів, які мають грушоподібну головку, шийку і хвостик. Можна бачити ще лейкоцити, еритроцити, епітелій простати, лецитинові зерна, амілоїдні тільця, яєчкові циліндри, кристали Бетхера, тільця Труссо – Лаллемана.

При відсутності сперматозоїдів у нативному препараті еякулят центрифугуємо при 3000–4000 об./год. упродовж 5–10 хв, потім готуємо нативні препарати і встановлюємо наявність сперматозоїдів або їх відсутність. Пізніше препарати забарвлюємо і досліджуємо сперматограму.

Підрахунок сперматозоїдів у камері Горяєва

Для розведення еякуляту використовуємо такі реактиви: 5 г бікарбонату натрію і 1 мл 40% нейтрального формаліну та 100 мл дистильованої води.

Краще використовувати реактив Рубенкова: 0,1 г основного фуксину, 0,02 мл барвника Романовського, 0,2 мл концентрованого розчину фенолу, 0,1 мл гліцерину, 2 мл 96% етанолу, 100 мл 1% розчину хлориду натрію (цей реактив дає змогу разом із підрахунком вивчати морфологію сперматозоїдів).

Хід визначення

Для підрахунку сперматозоїдів у камері Горяєва в аглютинаційну пробірку наливаємо 0,4 мл розведеної рідини, до якої за допомогою піпетки Салі додаємо 0,02 мл розмішаного еякуляту. Вміст пробірки змішуємо і заповнюємо камеру Горяєва. Через декілька хвилин підраховуємо кількість сперматозоїдів у 5 великих квадратах по діагоналі (окуляр – 7х, об'єктив 40х з опущеним конденсором).

Підраховуємо ті сперматозоїди, головки яких розташовані всередині квадратів.

Розраховуємо кількість сперматозоїдів в 1 л за формулою:

$$x = a \cdot 10^6 / l,$$

де x – кількість сперматозоїдів в 1 л;

a – кількість підрахованих сперматозоїдів у 5 великих квадратах;

10^6 – перерахунок із мікролітрів у літри.

Кількість сперматозоїдів у всьому еякуляті визначають шляхом множення кількості сперматозоїдів в 1 мл на об'єм еякуляту в мілілітрах.

Нормальний вміст сперматозоїдів $60\text{--}100 \cdot 10^6/\text{л}$ л. При гіперспермії – сперматозоїдів більше $120 \cdot 10^6/\text{л}$; пригіг олігоспермії – менше $60 \cdot 10^6/\text{л}$; при азоспермії – сперматозоїди відсутні.

Мікроскопічне дослідження забарвлених препаратів

Для мікроскопічного дослідження виготовляємо мазок. Змішуємо еякулят і краплю наносимо на предметне скло, як для дослідження крові.

Препарат підсушуємо на повітрі, фіксуємо 3 хв. фіксатором-барвником Мая – Грюнвальда, промиваємо дистильованою водою, фарбуємо розведеним за титром барвником Романовського протягом 20–30 хв. Барвник змиваємо, препарат промиваємо водою і висушуємо.

Препарат вивчаємо під мікроскопом з імерсійною системою.

Елементи мікроскопії

Хід визначення

Під час мікроскопії у препаратах встановлюємо наявність чи відсутність сперматозоїдів.

Сперматозоїди – це чоловічі статеві клітини, які мають головку, шийку та хвостик. Крім нормальних сперматозоїдів, зустрічаються і дегенеративні форми – з подвійною головою, без шийки, з двома хвостиками.

Лейкоцити – в нормі поодинокі. Збільшення кількості лейкоцитів при піоспермії спостерігається при запальних процесах.

Еритроцити – в нормі відсутні. Збільшення кількості еритроцитів спостерігається при гемоспермії, виявляється при пораненнях.

Епітеліальні клітини – в нормі зустрічається невелика кількість циліндричного епітелію сечовивідного каналу і поодинокі клітини придатка яєчка. Форма клітини придатка полігональна, ядро кругле, гіперхромне, велика цитоплазма.

Лейцитинові зерна – дрібні білуваті утворення круглої форми. У нормі в еякуляті їх багато, а при запаленні передміхурової залози їх кількість зменшується інколи до повного зникнення.

Кристали Бетхера – безбарвні, видовженої форми кристали. Розчином Люголя забарвлюються в синій колір. Чим сильніше виражена гіпоспермія, тим швидше і в більшій кількості утворюються ці кристали. Їх поява характерна для простатиту.

Амілоїдні тільця – овальної або округлої форми, центральна частина дрібнозерниста, жовтого кольору, деколи тільця зливаються по 2–3 разом.

Зустрічаються при застої сперми (аденома або гіпертрофія передміхурової залози), а також при запаленні передміхурової залози.

Для визначення *спермограми* фарбуємо мазок за Паппенгеймом і підраховуємо з імерсійною системою мікроскопа не менше 200 сперматозоїдів. У нормальній спермі – сперматозоїди нормальної форми і становлять 80–85 %. При патологічному сперматогенезі спостерігаємо сперматозоїди з патологією головки і шийки, з подвійною головкою, без шийки, з двома хвостиками. З клітин сперматогенезу в нормальній спермі можуть бути тільки сперматоцити, сперматиди, кількість яких не перевищує 2% (рис. 51).

Сперматоцити – круглі або полігональні клітини, розміром 17–19 мкм і з великим круглим ядром. Цитоплазма світла, дрібнозерниста.

Сперматиди – дрібні клітини округлої або видовженої форми з великими гіперхромними ядрами, розташованими центрально або ексцентрично. Цитоплазма базofilна, може бути вакуолізованою. Зі сперматидів утворюються сперматозоїди.

Дослідження секрету передміхурової залози

Забір матеріалу проводить сексопатолог після масажу передміхурової залози. Визначаємо такі фізичні властивості: кількість (у нормі 0–4 мл), реакцію (в нормі рН 6–6,4).

Проводимо мікроскопічне дослідження нативного та забарвленого препаратів. Під час мікроскопії можемо виявити лейкоцити, еритроцити, епітеліальні клітини, кристали Бетхера, амілоїдні тілця, макрофаги, клітини пухлин, мікроорганізми.

Морфологія сперматозоїдів:		
1. З нормальною морфологією (%)		80–85
2. Дегенеративні (%):		20–15
а) патологія головки		15
б) патологія шийки		3–5
в) патологія хвоста		2–5
Аглютинація сперматозоїдів		–
Клітини сперматогенезу (%)		0,5–2
Еритроцити		поодинокі в препараті
Лейкоцити		поодинокі в препараті
Епітеліальні клітини: уретри		поодинокі в препараті
простати		поодинокі в препараті
Сперматофаги		–
Зерна ліпідів		велика кількість
Кристали Бетхера		поодинокі в препараті
Амілоїдні тільця		–
Слиз		відсутній
Показник плодовитості Фарріса		більш як 200

Спеціальні дослідження: _____

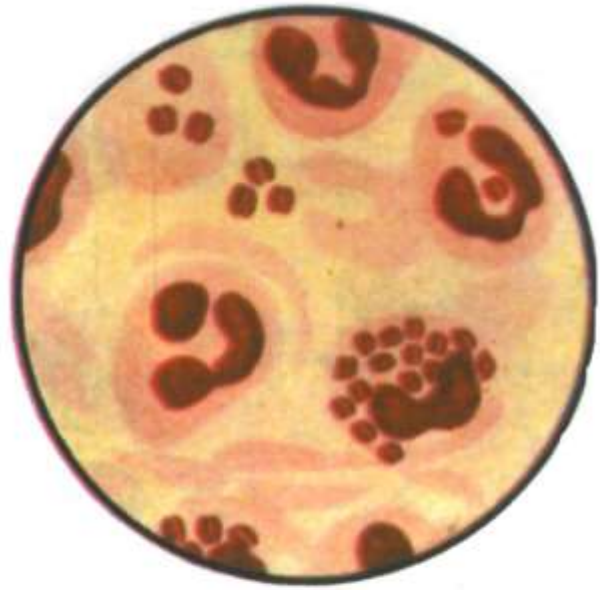
а) пенетраційна властивість _____

б) % рухливих через 1 годину _____

“ _____ ” _____ 200 ____ р. Прізвище, І., Б. _____
(дата видачі аналізу) (підпис)



1



2



3



4

Рис. 48–49. Деякі мікроорганізми і найпростіші:

1 – гонококи (забарвлення метиленовим синім); 2 – гонококи (забарвлення за Грамом);
3 – трихомонади (забарвлення метиленовим синім); 4 – трихомонади (забарвлення за Цогікяном)

Лекція № 8

Тема: “Виготовлення нативних та забарвлених цитологічних препаратів та діагностика мікропрепаратів рідини із серозної порожнини та мокротиння”

План

1. Особливості забору мокротиння на клінічний аналіз.
2. Техніка виготовлення нативних і забарвлених препаратів.
3. Техніка мікроскопії мікропрепаратів мокротиння. Значення в діагностиці хвороб органів дихання.
4. Отримання матеріалу для дослідження рідини із серозної порожнини.
5. Цитологічна і лабораторна техніка та діагностика мікропрепарату серозної рідини.

ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА ХВОРОБ ОРГАНІВ ДИХАННЯ

Дослідження харкотиння (мокротиння)

У клініко-діагностичній лабораторії дослідження харкотиння проводять для діагностики захворювань дихальних шляхів і легень.

Харкотиння збирають у сухий чистий скляний посуд, як правило, з темного скла, після відкашлювання. Для клінічного аналізу харкотиння збирають уранці після очищення зубів та прополіскування ротової порожнини і надсилають у лабораторію з направленням.

Клінічний аналіз харкотиння включає вивчення фізичних властивостей, мікроскопічне та бактеріологічне дослідження.

Харкотиння – це патологічний секрет, який виділяється із легень та дихальних шляхів при їх захворюваннях і при кашлі або відхаркуванні. Складається із секрету слизової дихальних шляхів, до якого приєднується секрет бронхів, іноді примішуються гній, набрякова рідина та інші патологічні рідини, які можуть потрапляти із ротової порожнини, а також слиз, слина. В нормі харкотиння не виділяється.

Мікроскопічне дослідження

Техніка виготовлення нативних і забарвлених препаратів

Харкотиння виливаємо в чашку Петрі і розглядаємо на чорному та білому фоні, відбираємо підозрілі грудочки за допомогою голок і лопаточок. Невеликі грудочки кладемо на предметне скло, покриваємо покривним і виготовляємо нативний препарат (4-5 препаратів). При цьому пам'ятаємо, що харкотиння не

повинно виходити за межі покривного скла. Для забарвлення за методом Ціля – Нільсена прикладаємо одне предметне скло на друге і розтягуємо. Після цього розглядаємо під мікроскопом для виявлення мікобактерій туберкульозу.

Таким чином можна досліджувати і матеріал, який одержує лабораторія внаслідок бронхоскопії та промивних вод бронхів.

Техніка мікроскопії

Нативний препарат мікроскопуємо при малому збільшенні мікроскопа (окуляр 7×, об'єктив 8×), а пізніше переводимо на велике збільшення (окуляр 7×, об'єктив 40×). Визначаємо кількість елементів у препараті або в полі зору мікроскопа. Крім цього, виготовляємо препарати для забарвлення за методом Ціля – Нільсена.

Під час мікроскопії можемо виявити такі елементи:

Лейкоцити – круглі, сірі, зернисті клітини – при різних запальних процесах дихальної системи.

Еозинофіли – клітини круглої форми з однорідною зернистістю, що заломлюють світло і зустрічаються при бронхіальній астмі й інших алергічних реакціях (рис. 45).

Еритроцити – круглі клітини зелено-жовтого кольору, які виявляються при легневих кровотечах, інфаркті легень, туберкульозі, раку. Під впливом гнилісних процесів вони руйнуються, і розрізнити їх неможливо. У таких випадках необхідно провести реакцію на приховану кров.

Епітелій плоский – це великі клітини з малим ядром, як правило, з ротової порожнини, який не має діагностичного значення.

Циліндричний епітелій – це епітелій бронхів, який має форму високого бокала з війками, ядро круглої форми розміщене ближче до звуженої частини, частіше зустрічається при бронхітах.

Альвеолярні клітини (макрофаги) – клітини круглої або овальної форми, 10–30 мкм, ядро бобовидне, округле або дископодібної форми з невеликою цитоплазмою, нагадують ікру жаб. Зустрічаються при застійних явищах, вадах серця. Пігментуються в золотисто-бурий колір від гемосидерину.

Спіралі Куримана – слизисті утворення різної величини, мають вигляд закрученої спіралі з центральною ниткою, зустрічаються при бронхіальній астмі (рис. 42).

Кристали Шарко – Лейдена мають вигляд витягнутих безбарвних ромбів різного розміру, виникають внаслідок розпаду еозинофілів. Зустрічаються при бронхіальній астмі.

Корки Дітріха – гнійні грудочки, які складаються з детриту, жирних кислот, бактерій. Розмір – як просiane зерно. Зустрічаються при абсцесі, гангрені легень, бронхоектазах.

Фібрин – тонкі волокна, розміщені паралельно. Зустрічаються при запальних процесах.

Рисоподібні зерна – сірувато-білуваті щільні утворення, які формуються в старих кавернах при туберкульозі легень. У них містяться коралоподібні волокна, детрит, мила і мікобактерії туберкульозу.

Кристали гематойдину – голчасті ромбічні кристали від золотисто-жовтого кольору до коричневого, утворюються при крововиливах в некротичній тканині, при розпаді легеневої тканини.

Кристали холестерину – безбарвні прямокутники або ромбічної форми таблички з одним обламаним східцеподібним кутом. Зустрічаються при новоутворах, абсцесі, ехінококозі, туберкульозі.

Коралоподібні волокна – еластичні волокна, вкриті милами, вони не блищать, великі, зустрічаються у вигляді уривків і різних скупчень, утворюються в старих кавернах (рис. 43).

Тетрада Ерліха – звапнілі волокна, аморфні вапна, кристали холестерину і мікобактерії туберкульозу. Зустрічаються при туберкульозі.

Друзи актиноміцетів – це гнійні грудочки жовтувато-сірого кольору, міцелій закінчується колбоподібним здуттям зеленуватого кольору (рис. 46).

Еластичні волокна – мають вигляд контурних ниток, які іноді складаються в пучки, зустрічаються при розпаді легеневої тканини, раку легень, туберкульозі, абсцесах.

Мікрофлора – у харкотинні можна виявити мікобактерії туберкульозу, різні коки, друзи актиноміцетів.

Пухлинні клітини – характеризуються різними розмірами та формами з невеликими і малими ядрами, які дегенеративно змінені, найчастіше з жировою дистрофією, можуть бути розміщені поодинокі або групами. Окремі клітини нагадують плоский епітелій (при плоскоклітинному раку).

При аденокарциномі – клітинні комплекси залозистих структур, мають чіткі контури і утворюють круглі групи клітин, можуть бути овальні, конічні, грушоподібні, у вигляді розеток, іноді гігантські багатоядерні клітини, ядра яких розміщуються по периферії цитоплазми (залозистий рак).

Дрібноклітинний рак – клітини нагадують лейкоцити, але на відміну від них не мають зернистості, розміщені тісними групами або доріжками, а в забарвленому препараті нагадують лімфоцитоподібні клітини з великими ядрами, як грона винограду, контури ядер нерівні.

Недиференційований рак – характеризується поліморфізмом клітин.

Для виявлення *гемосидерину* в харкотинні проводимо реакцію на берлінську лазур (реакція Перлса).

Для проведення реакції на берлінську лазур (на присутність гемосидерину) кладемо на предметне скло підозрілі частинки харкотиння, розтягуємо шпателем і голкою та підсушуємо на повітрі. На підсушений препарат наливаємо суміш із рівних частин 5% розчину К-заліzosинеродистого і 3% розчин хлоридної кислоти. Обидва розчини змішуємо в пробірці, прополіскуємо дистильованою водою (суміш не повинна мати синього відтінку). Через 8–10 хв. реактив зливаємо і препарат накриваємо покривним склом. При додатній реакції під час мікроскопії можемо побачимо альвеолярний епітелій, у якому

міститься гемосидерин. Він забарвлюється в синій колір, тобто відбувається утворення берлінської лазурі. Часто можна бачити і макроскопічно сині ділянки препарату під покривним склом – це великі скупчення альвеолярного епітелію з гемосидерином.

Бактеріологічне дослідження харкотиння

Забарвлюємо препарат за методом Ціля – Нільсена для виявлення мікобактерій туберкульозу.

Для виявлення мікобактерій туберкульозу найефективніше поєднання бактеріоскопії, люмінесцентної мікроскопії та посіву.

Для виявлення інших мікроорганізмів (стафілококів, пневмококів, стрептококів та ін.), а також друз актиноміцетів використовуємо забарвлення мазків за Грамом.

Для виявлення мікобактерій туберкульозу виготовляємо мазки з харкотиння, відбираємо підозрілі грудочки, кладемо на предметне скло, другим покриваємо і розтираємо. Мазок повинен зайняти не більше двох третіх поверхні скельця. Забарвлюємо за Цілем – Нільсеном.

На препарат накладаємо смужку фільтрувального паперу. Наливаємо 2–3 мл карболового фуксину Ціля. Тримаючи препарат пінцетом, підігріваємо над полум'ям горілки до триразового відходження пари. Вистуджуємо, папір знімаємо, препарат промиваємо водою і повністю занурюємо скло в 3% спиртовий розчин хлористоводневої кислоти. Внаслідок цього знебарвлюються всі частини харкотиння, крім кислото- і спиртостійких мікобактерій.

Промиваємо водою і забарвлюємо протягом 30 секунд метиленовим синім. При цьому всі частини харкотиння забарвлюються в синій колір, крім мікобактерій туберкульозу. Заново промиваємо препарат водою і висушуємо на повітрі. Мікроскопуємо з імерсійною системою. На синьому фоні добре видно мікобактерії туберкульозу червоного кольору. Вони поліморфні, мають вигляд тонких, злегка зігнутих паличок різної довжини, можуть розташовуватися поодинокі або групами (рис. 44).

код форми за ЄДРПОУ ☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐
Код закладу за ЗКПО ☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐

Міністерство охорони здоров'я України		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ
Найменування закладу		ФОРМА № <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>
Лабораторія		Затверджена наказом МОЗ України
		<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> р. № <input type="text"/> <input type="text"/>

АНАЛІЗ ХАРКОТИННЯ № _____

“ _____ ” _____ 200 ____ р.
(Дата взяття біоматеріалу)

Прізвище, ім'я, по батькові _____ Вік _____

Заклад _____ Відділення _____

Медична карта № _____

Клінічний діагноз (профогляд) _____

I. Фізичні властивості

Кількість _____ Запах _____ Колір _____ Характер _____

Консистенція _____ Патологічні домішки _____ Форма _____

II. Мікроскопічне дослідження

Лейкоцити _____

Еритроцити _____

Елементи епітелію бронхів _____

Альвеолярні клітини (макрофаги) _____

Елементи з ознаками злоякісності _____

Кристали _____

Волокна (еластичні, коралоподібні, кальцифіковані) _____

Фібрин _____

Спіралі Куршмана _____

Мікобактерії туберкульозу (МБТ) _____

Гриби _____

Інші елементи неклінічного походження _____

Інша форма _____

ВИСНОВОК _____

“ _____ ” _____ 200 ____ р. Прізвище, І., Б. _____

(дата видачі аналізу) (підпис)

Рис. 42. Спіралі Куришмана
 1 – осьова нитка; 2 – мантия

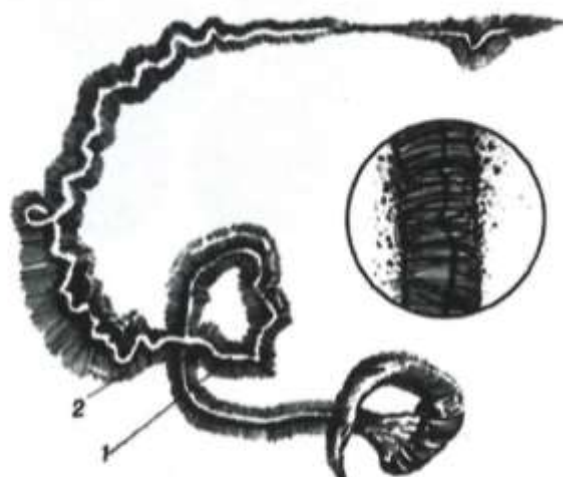


Рис. 43. Коралоподібні волокна

*Рис. 44. Мікобактерії туберкульозу
(забарвлення за методом Ціля – Нільсена)*

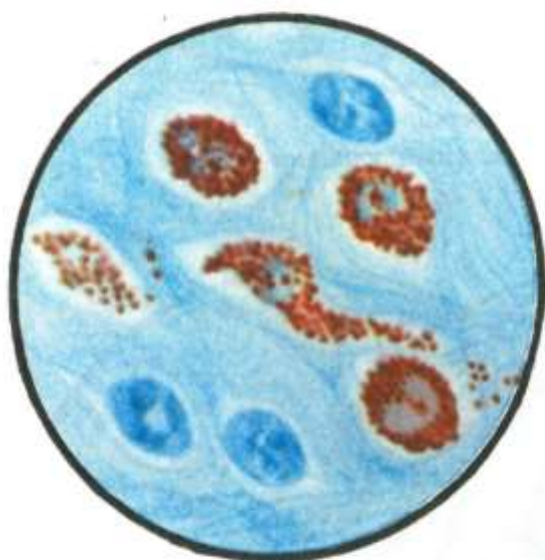
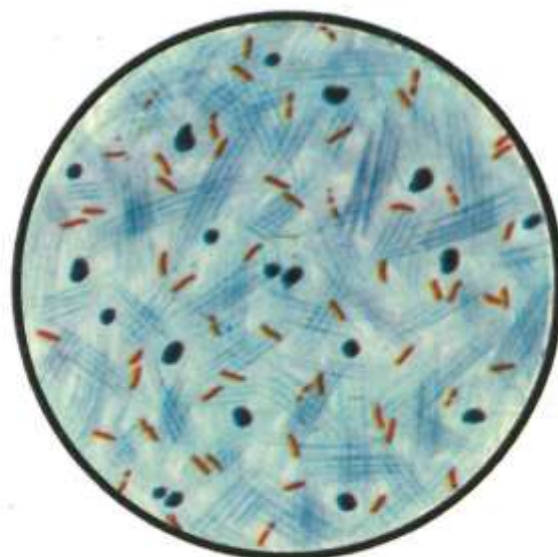
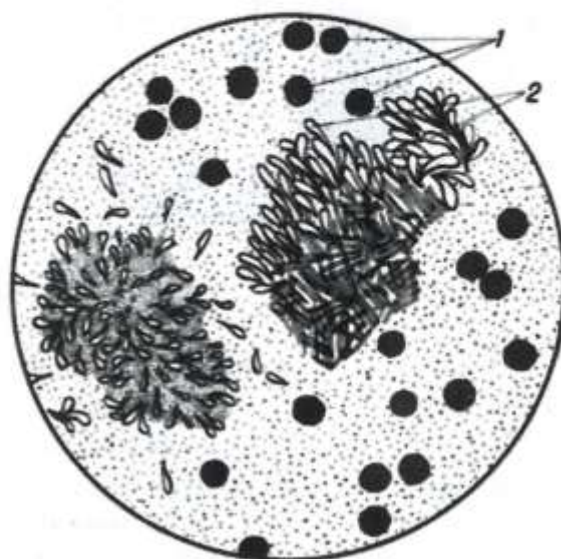


Рис. 45. Еозинофіли в харкотинні

*Рис. 46. Харкотиння при актиномікозі
легень (нативний препарат):
1 – жирно-зернисті клітини (ксантомні);
2 – колбоподібні утворення*



ДОСЛІДЖЕННЯ РІДИН ІЗ СЕРОЗНИХ ПОРОЖНИН

Внутрішні порожнини організму- грудна, черевна і порожнина перикарда – вкриті серозними оболонками. Ці оболонки складаються з двох листків (зовнішнього та внутрішнього) і порожнини перикарда. Завертаючись, він переходить на внутрішні органи (легені, кишечник, серце та ін.). Між серозними листками є невеликий простір, який називається серозною порожниною.

В нормі між серозними листками порожнина практично відсутня. Вона утворюється при різних патологічних станах, пов'язаних з накопиченням рідини.

Рідина, що з'являється в серозній порожнині в результаті запальних процесів, називається ексудатом. Ексудати наявні при перитоніті (запаленні очеревини), плевриті (запаленні плеври), перикардиті (запаленні перикарда).

Рідина, яка утворюється в результаті порушення загального та місцевого кровообігу, називається транссудатом. Транссудати зустрічаються при тяжких вадах серця, які супроводжуються порушенням кровообігу (рідина збирається в черевній порожнині), при цирозах печінки, серцево-судинній декомпенсації, нефротичному синдромі.

Матеріал для дослідження одержуємо шляхом проколу (пункції), який проводить лікар. Для попередження згортання додаємо у посудину антикоагулянт – 5 мл 5% лимоннокислого Na на 0,01 мл пунктату. Збираємо матеріал у чистий посуд і відразу направляємо на дослідження, де визначають фізичні властивості, проводимо хімічне, мікроскопічне і бактеріологічне дослідження.

Мікроскопічне дослідження серозної рідини

Техніка виготовлення нативних і забарвлених препаратів

Для виготовлення нативного препарату беремо предметне скло, даємо на нього краплю відцентрифугованого осаду і кладемо зверху покривне скло. Розглядаємо препарат під мікроскопом, спочатку під малим, а пізніше під великим збільшенням.

Для виготовлення забарвлених препаратів осад рівномірно розподіляємо по предметному склу, висушуємо на повітрі, фіксуємо метиловим або етиловим спиртом протягом 3–5 хв. Фарбуємо за методом Романовського, досліджуємо під мікроскопом з імерсійною системою.

Під час мікроскопії вивчаємо морфологію клітин. У транссудатах клітинних елементів мало, а в ексудатах значно більше.

Серед клітинних елементів розрізняємо клітини крові та клітини тканин.

Клітини крові

Еритроцити виявляємо в ексудатах і транссудатах. Вони потрапляють у рідину під час проколу. Багато еритроцитів у геморагічному ексудаті.

Лейкоцити в невеликій кількості (до 15–20 в полі зору) спостерігаємо в трансудатах. В ексудатах, особливо гнійних, вони покривають все поле зору.

Нейтрофіли виявляємо у гнійному ексудаті, лімфоцити – в трансудаті та багато в серозному ексудаті, еозинофіли – в серозних і геморагічних ексудатах, вони з'являються при алергічних захворюваннях. Плазматичні клітини спостерігаємо при затяжних запальних процесах у серозному або гнійному ексудаті, а також у період розсмоктування геморагічного ексудату.

Клітини тканин

Мезотелій – це великі клітини (до 20–30 мкм в діаметрі), ядро розташоване в центрі, цитоплазма базофільна. Зустрічаються двох- і триядерні форми. Мезотелій виявляємо в трансудатах при серцевих і ниркових захворюваннях. В ексудаті їх можна побачити в початковій стадії запального процесу і при пухлинах.

Клітини пухлин можуть бути різних розмірів. Цитоплазма вакуолізована, різко базофільна. Ядра великі, мають багато нуклеол. Характерна наявність комплексів, у яких окремі клітини не мають чітких границь (рис. 47).

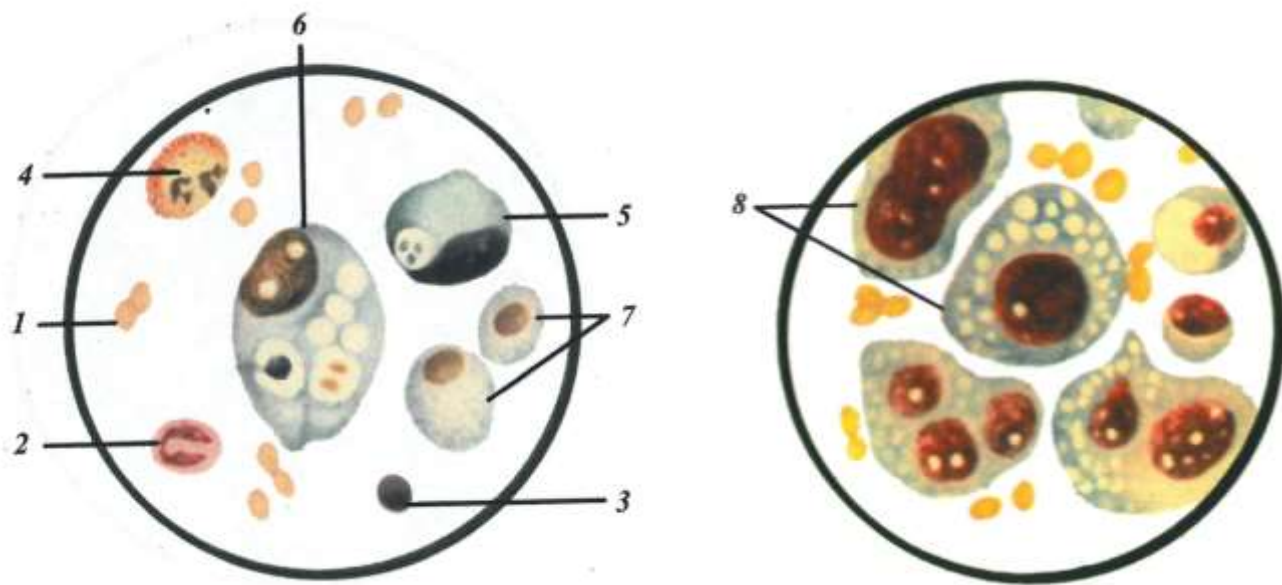


Рис. 47. Клітинний склад ексудатів:

1 – еритроцити; 2 – нейтрофіли; 3 – лімфоцити; 4 – еозинофіли; % – полібласти; 6 – макрофаги; 7 – мезотелій; 8 – пухлинні клітини

Лекція № 9

Тема: “Цитологічна техніка та діагностика мікропрепаратів сечі та калу”

План

1. Правила забору сечі для проведення клінічного аналізу сечі.
2. Цитологічна техніка та діагностика мікропрепаратів неорганізованого осаду сечі. Значення в діагностиці захворювань нирок і сечовивідних шляхів.
3. Діагностика мікропрепаратів елементів організованого осаду сечі.
4. Правила забору калу на копрологічне дослідження.
5. Цитологічна техніка та діагностика мікропрепаратів калу з визначенням елементів кишкової стінки, залишків їжі, мікрофлори. Діагностичне значення.

ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ

Для проведення клінічного аналізу сечі хворого попереджують, щоб зібрав сечу зранку в чистий сухий скляний посуд після обмивання зовнішніх статевих органів. При необхідності сечу отримують за допомогою катетера.

МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ОСАДУ СЕЧІ

Елементи неорганізованого осаду сечі

Мікроскопія осадів сечі є одним із основних компонентів аналізу сечі, особливо при діагностиці захворювань нирок і сечовивідних шляхів.

Нормальна сеча виділяється прозорою, а після нетривалого стояння на дні утворюється хмаринка, в якій є гомогенний слиз, поодинокі лейкоцити, епітелій слизової сечового міхура, а у жінок – плоский епітелій зовнішніх статевих органів. При стоянні в сечі руйнується захисний колоїд і більшою чи меншою мірою випадають осад солей.

Якщо виділена сеча мутна, то причиною можуть бути слиз, кров, гній, фосфати, бактерії.

Осади сечі поділяються на організовані та неорганізовані.

Неорганізований осад сечі складається переважно із солей:

Білуватий колір – фосфати;

Рожеуватий – аморфні урати;

Кристалічний цегляно-червоний – сечова кислота;

Кристалічно-білуватий – трипельфосфати.

Більшу достовірність дає мікроскопічне дослідження, в сумнівних випадках – хімічне.

Осади кислої сечі

Сечова кислота – кристали різної форми і величини. Найчастіше це ромбічна табличка, з якої утворюються інші форми: точильні бруски, веретена, бочечки, голчасті та списоподібні, складені в снопи, пучки, шестигранні таблички, розетки і друзи. Насичуються урохромом і пігментуються в рубіново-червоний, цеглясто-червоний чи золотисто-жовтий колір. Зрідка білого кольору, особливо при лейкозі (рис. 34). Легко розчиняються в лугах, нерозчинні в кислотах і при нагріванні.

У здорових людей сечова кислота може бути виявлена після сильного потовиділення при незначному вживанні рідини. При патології – сильне блювання, проноси, гарячкові стани, застійні явища, вади серця, посилений розпад клітин (лейкози), важка ниркова недостатність, різко кисла реакція сечі. Випадання сечової кислоти без наявності уратів протягом першої години стояння сечі або у свіжій сечі свідчить про наявність солей чи каменів у нирках.

Аморфні урати – це сечокислий Na (натрій), K (калій), Ca (кальцій), Mg (магній). Колір залежить від поглинання урохому. Це аморфні коричневі довгуваті зерна, які часто вкривають усе поле зору і заважають розглядати інші елементи осаду сечі (їх можна розчинити нагріванням).

Осади лужної сечі

Аморфні фосфати – безбарвна маса з дрібних зернят і кульок, що групуються в купки неправильної форми. Розчиняються в кислотах і не розчиняються при нагріванні. У здорових людей – при вживанні рослинної їжі та після блювоти.

Трипельфосфати – безбарвні шестигранні призми (гробові кришки), рідше борозни пера, листя папороті. Випадають в осад при вживанні рослинної їжі, мінеральної води та при циститах (рис. 33).

Вуглекисле вапно – білуваті кульки у вигляді гімнастичних гир (рис. 33).

Осади кислої та лужної сечі

Кислий сечокислий амоній – частіше трапляється в лужній сечі. В нейтральній і кислій – у новонароджених. Кристали мають форму коричнево-жовтих куль. При нагріванні розчиняються, а при охолодженні випадають в осад (рис. 33, 35).

Оксалати можуть бути в кислій і в лужній сечі у вигляді безбарвних табличок, що сильно заломлюють світло (поштові конверти). Рідше – у вигляді пісочного годинника, круглі чи овальні, іноді з ростками з радіальною посмугованістю (рис. 34). Розчиняються в хлоридній кислоті, нерозчинні в лугах і ацетатній кислоті. Їх часто знаходять у здорових людей, після вживання їжі, багатой на щавелеву кислоту, а також у хворих на сечокислий діабет, сечокам'яну хворобу.

Нейтральні фосфати – в слабокислій і слаболужній сечі, кристалізуються у вигляді довгих блискучих клиноподібних утворень, інколи мають вигляд пластинок неправильної форми або утворюють голчасті

кристали, зібрані в пучки. Легко розчинні в кислотах і нерозчинні в лугах (рис. 36).

Карбонат кальцію – виявляють разом із фосфатами в аморфному та кристалічному вигляді. Кристали безбарвні, у вигляді концентричних куль різної величини, які складаються попарно і нагадують гімнастичні гіри або перехрещені барабанні палички. Розчиняються в кислотах з виділенням вуглекислого газу (CO_2).

Матеріальне забезпечення: сеча для дослідження, штатив із пробірками, центрифуга, предметні та покривні скельця, мікроскопи, центрифужні пробірки, скляні трубки, пастерівські піпетки, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Після відстоювання сечі протягом 1–2 год. піпеткою збираємо осад із дна посудини і вносимо його в центрифужну пробірку, залишаючи від краю 1–2 см. Центрифужні пробірки заздалегідь нумеруємо, а піпетку, якою збирають осад, кожен раз промиваємо водою, щоб не перенести елементи одного осаду в інший. Пробірки з осадом врівноважуємо, ставимо у центрифугу в протилежні гнізда і центрифугуємо 5–7 хв 1500 об/хв. Після зупинки центрифуги пробірки виймаємо і швидким рухом зливаємо надосадову сечу. Старанно перемішуємо і наносимо за допомогою пастерівської піпетки невелику краплю осаду на предметне скло, зверху кладемо покривне. Крапля осаду не повинна виходити за межі покривного скла.

Якщо осад складається з кількох шарів, то спершу готуємо препарат як описано, а потім сечу ще раз центрифугуємо і виготовляємо препарати з різних шарів осаду. Якщо осаду на око не видно, то препарат готуємо як звичайно. При значному осаді уратів, фосфатів і еритроцитів спершу готуємо нативний препарат, а потім осад розчиняємо, тому що згадані компоненти заважають детальному вивченню осаду сечі.

Розчинення уратів: до осаду доливаємо 10 мл селену (5 г бури і 5 г борної кислоти розчиняємо в 100 мл гарячої дистильованої води й охолоджуємо). Вміст пробірки перемішуємо. Осад розчиняється остаточно. Урати можна розчинити нагріванням, але вони випадають в осад при охолодженні. Фосфати розчиняємо в 10% розчині хлоридної кислоти, еритроцити – дистильованою водою. Після розчинення осадів знову центрифугуємо і виготовляємо ще один нативний препарат.

Нативний препарат поміщаємо через 3–5 хв. після його виготовлення на предметний столик мікроскопа. Розглядаємо при малому (окуляр 7×, об'єктив 8×), а при великому збільшенні (окуляр 7×, об'єктив 40×), при опущеному конденсорі, не проглядати одні й ті ж елементи, рекомендується мікроскопувати не менше 15 – полів зору.

При малому збільшенні проводимо загальний перегляд препарату.

При великому збільшенні деталізуємо окремі елементи осаду, приблизно і підраховуємо кількість лейкоцитів, еритроцитів, циліндрів, клітин ниркового та

перехідго епітелію, елементів неорганізованого осаду сечі тощо в полі зору (рис. 30, 31, 32).

Результати дослідження записуємо в бланк аналізу у відповідні графи – “у невеликій кількості”, “багато”.

Кристали патологічної сечі

Лейцин і тирозин – спостерігаються переважно разом при гострій жовтій атрофії печінки, отруєннях фосфатом, лейкозах.

Кристали лейцину – жовтувато-бурі або зеленувато-жовті кулі різного розміру променистою та концентричною посмугованістю, що нагадує поперечний зріз дерева.

Кристали тирозину – тонкі, блискучі жовтуваті голки, що нагадують пучки і зірки. Лейцин не розчиняється в ефірі, ацетоні та спирті. Тирозин розчинний у мінеральних кислотах і лугах.

Цистин – правильні шестигранні таблички, безбарвні. Нерозчинні у воді, алкоголі, ефірі, ацетоні, ацетатній кислоті. Розчиняються в мінеральних кислотах, аміаку лугах. Виділяються при спадковій цистинурії.

Ксантин – безбарвні ромби, розчиняється в аміаку, лугах і хлоридній кислоті.

Холестерин – має вигляд безбарвних великих і малих табличок з обрізаними кутами і сходоподібними виступами, які розташовуються окремо або нашаровуються одна на одну. В кислотах і лугах холестерин нерозчинний, легко розчиняється у хлороформі, ефірі та гарячому спирті, хлоридній кислоті. Зустрічається при амілоїдній і ліпоїдній дистрофії нирок, ехінококозі та новоутворах сечових і статевих органів.

Жир має вигляд сильно заломлюючих світлих крапельок і зернят з різко визначеними темними краями. Вони можуть бути в осаді окремо або нашаровуватися на елементи сечі. Розчиняється в хлороформі, ефірі.

Ліпіди – морфологічно ідентичні з жирами, але подвійно заломлюють світло. Виділяються з сечею при нефротичному синдромі та інших захворюваннях.

Гематойдин – похідне гемосидерину, має вигляд ромбічних кристалів або голок забарвлення від золотисто-жовтого до коричнево-оранжевого.

Гемосидерин – зустрічається в сечі у вигляді аморфних мас, які осаджуються на всіх елементах сечі, надаючи їм буруватого відтінку.

Білірубін – має вигляд голчастих кристалів жовтувато-коричневого кольору або аморфних пігментних зерен (рис. 32).

Елементи організованого осаду сечі

Основними елементами організованого осаду сечі є еритроцити, лейкоцити, епітелій, циліндри, уретральні нитки, фібрин.

Еритроцити змінюють колір і форму залежно від реакції сечі, її концентрації та тривалості перебування еритроцитів (рис. 30).

У слаболужній сечі вони досить довго залишаються незмінними і мають форму круглих дисків жовтувато-зеленуватого кольору.

У слаболужній розбавленій сечі – блідо-жовті або рожеві (більшого розміру). Довше перебування еритроцитів у сечі веде до їх вилущення. Вони набувають вигляду двоконтурних безбарвних кілець. Поява еритроцитів у сечі має важливе значення для діагностики захворювань нирок.

Поодинокі незмінні еритроцити виділяються із сечею при свербінні статевих органів, внаслідок травми сечовивідних шляхів кристалами солей, або у жінок із піхви – в післяменструальний період.

Наявність еритроцитів у сечі називається гематурією і свідчить про більшу чи меншу кровотечу. Мікрогематурія характеризується невеликою кількістю еритроцитів, що виявляються мікроскопічно (тоді колір сечі не змінений). При макрогематурії сеча червонувата або бура.

Еритроцити з'являються в сечі при гломерулонефритах, нирковій недостатності, сечокам'яній хворобі, туберкульозі, травмах, циститі, пухлинах.

Лейкоцити – це найчастіше нейтрофіли; вони круглі, дещо більші від еритроцитів. Залежно від реакції та кількості сечі мають різний вигляд: у слабокислій нейтрофіли зернисті, круглі, безбарвні, їх ядро посегментоване. В кислій сечі зморщуються і стають склоподібними, а при туберкульозі нирок можуть мати цвяхоподібну форму (рис. 30).

У лужній сечі нейтрофіли втрачають зернистість і контури, стають дещо більші. В різко лужній – руйнуються, утворюючи тягучий слизистий осад. При деяких патологічних станах можуть жироперероджуватись.

Окремі лейкоцити (0–1 у чоловіків, 2–4 в полі зору у жінок) зустрічаються в нормі. Збільшення їх кількості свідчить про запальні процеси в нирках та в сечовивідній системі. Розташовуються окремо, групами різного розміру (на все поле зору) і скупченнями.

Епітеліоцити – в осаді нормальної сечі трапляються поодинокі зі слизової сечового міхура і плоскі з епітелію вагіни. При патологічних станах їх злушення відбувається під дією різних факторів (дія токсинів, зміна рН), що приводить до зміни їх морфології, і вони рідко подібні на ті ж клітини в нормі. Практично епітелій можна диференціювати на основі їх форми та розміру з урахуванням різних дегенеративних змін, наявності інших формених елементів.

Плоский епітелій у жінок – зі слизової вагіни і зовнішніх статевих органів. Це широкі й округлі, іноді полігональні клітини, різко контуровані, світлі, прозорі або більш тьмяні з одним ядром, розміщеним центральне. Часто розташовані групами і пластами (рис. 30).

Епітелій сечовивідного каналу – у чоловіків – перехідний у передній частині сечовивідного каналу перед простатою, потім переходить у циліндричний. При хронічному уретриті у чоловіків епітеліоцити в сечі мають вигляд склоподібних округлої чи овальної форми клітин середнього розміру, світлих, часто непрозорих, незернистих, білуватих, їх ядра розташовані в

центрі, але погано проглядаються. Зустрічаються окремо, часто групами в слизу або уретральних нитках разом із лейкоцитами.

Епітелій сечового міхура, сечоводів і мисок – перехідний двошаровий з поверхневим і базальним шаром. Поверхневий шар – великі, злегка сплюснуті клітини, базальний – поліморфні клітини середнього розміру з дрібними ядрами округлої чи овальної форми. Ядро клітин перехідного епітелію пухирчасте, невеликих розмірів, а цитоплазма забарвлена сечовими пігментами в злегка жовтуватий колір і містить зерна (рис. 30).

Епітелій сечового міхура – великі полігональні клітини з одним або кількома ядрами та зернистою цитоплазмою, або поліморфні середнього розміру витягнутої, округлої чи овальної форми, або округлі з пухирчастим ядром і зернистою цитоплазмою, зустрічаються окремо, групами, скупченнями. Багато при гострому катаральному та хронічному циститах, при інфекційних захворюваннях або після прийому деяких лікарських препаратів.

Епітелій ниркової миски – веретеноподібні, грушоподібні, хвостаті клітини, часто розташовуються черепицеподібно – при катаральному пієліті. Інколи їх важко відрізнити від епітелію сечового міхура, тому їх записують у бланк разом.

Епітелій сечоводів – клітини вужчі й іноді значно подовжені.

Епітелій нирок – кубічний епітелій ниркових каналців. Клітини овальної, округлої форми, рідше полігональні, з ядром, що нагадує змінений еритроцит. Цитоплазма жовтувата з дрібними зернами. Клітини часто з жировою і білковою дистрофією (зерна або крапельки жиру). При цьому ядро маленьке або зовсім непомітне (рис. 30). При жировій дистрофії клітини збільшені, можлива вакуолізація. Можуть зустрічатися у вигляді окремих клітин, епітеліальних циліндрів. З'являються у сечі при гострих і хронічних захворюваннях нирок поряд із циліндрами та білком.

Епітелій простати примішується до сечі (особливо в чоловіків у похилому віці). В нормі клітини – безбарвні або білуваті, циліндричні з великим круглим або овальним ядром, при патології – з ознаками жирової дистрофії. Разом з цими клітинами у чоловіків зустрічаються інші елементи соку простати – зерна ліпідів, амілоїдні тільця, сперматозоїди.

Епітелій слизової матки – циліндричні дрібні безбарвні клітини, часто в стані жирової дистрофії. У сечі зустрічаються в грудочках слизу або гною при запальних процесах, у період менструації та після неї.

Циліндри – зліпки каналців нефронів циліндричної форми, прямі та звивисті утвори різної ширини і довжини. На одному кінці заокруглені, інший обірваний. У кислій сечі досить довго зберігаються, у лужній швидко руйнуються.

Наявність циліндрів – перша ознака реакції нирок на загальну інфекцію, інтоксикацію чи зміни в самих нирках. Найкраще циліндри виявляються у ранішній сечі.

Гіалінові циліндри – білкові зліпки ниркових каналців, однорідні, бліді, майже прозорі. Спостерігаються при всіх захворюваннях нирок, але їх кількість

не залежить від важкості процесу. Гіалінові циліндри можуть бути вкриті аморфними уратами і фосфатами, клітинами епітелію нирок, еритроцитами і лейкоцитами.

Зернисті циліндри – утворюються із зернистих мас зруйнованих клітин. Ці циліндри короткі, з поперечними перехватами. Зустрічаються при всіх гострих і хронічних захворюваннях нирок.

Епітеліальні циліндри – з епітелію каналців нефронів. Іноді епітеліоцити відкладаються на поверхні гіалінових циліндрів. Зустрічаються при різних захворюваннях нирок.

Буро-пігментовані циліндри – зернисті й епітеліальні, пігментовані гемосидерином. Зустрічаються при гломерулонефритах.

Кров'яні циліндри – з еритроцитів чи кров'яних згустків, при гломерулонефритах.

Лейкоцитарні циліндри – складаються з лейкоцитів, утворюються при гнійному процесі в нирках – пієлонефриті.

Жирно-зернисті циліндри – густо вкриті жировими краплями, зустрічаються при нефрозі, ліпоїдному нефрозі.

Воскоподібні циліндри – ширші від гіалінових, матові, блідо-жовті, однорідні, широкі, чітко контуровані, часто мають щілини та тріщини. Свідчать про важке ураження нирок (амілоїдоз).

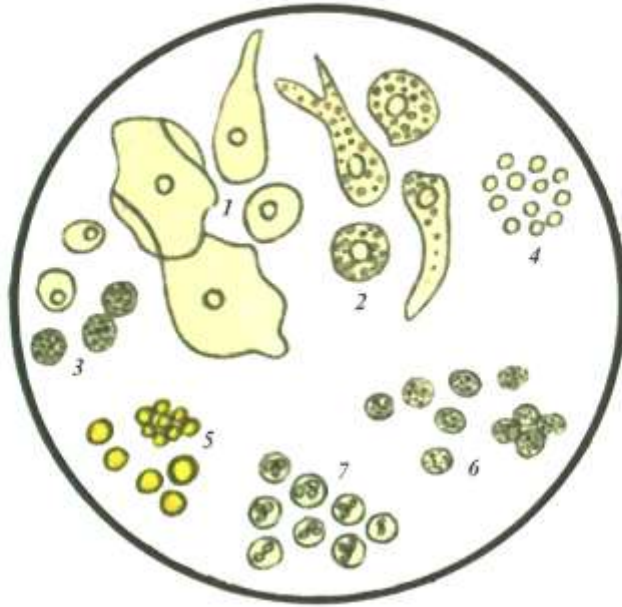


Рис. 30. Клітинні елементи в осаді сечі:

1 – плоский епітелій; 2 – перехідний епітелій; 3 – епітелій нирок;
 4 – еритроцити змінені; 5 – еритроцити незмінені;
 6 – лейкоцити в лужному середовищі; 7 – лейкоцити в кислому середовищі

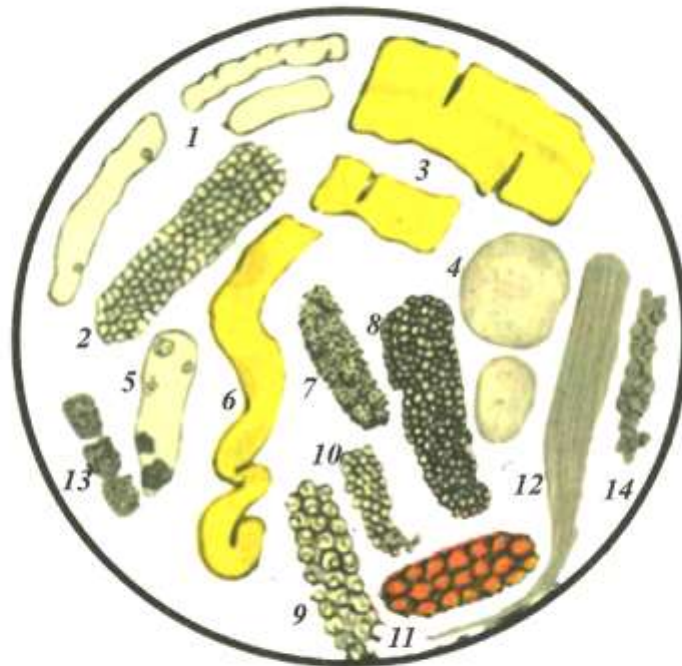
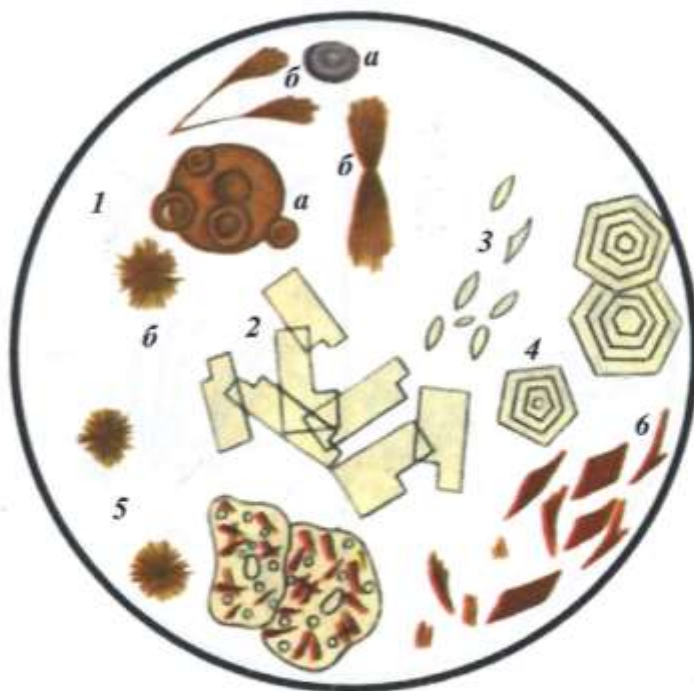


Рис. 31. Циліндри в осаді сечі:

1 – гіалінові; 2 – гіаліново-крапельні; 3 – воскоподібні; 4 – гіалінові шари;
 5 – гіаліновий циліндр, на поверхні якого знаходяться еритроцит, лейкоцит і епітелій;
 6 – гіаліновий, забарвлений у жовтий колір; 7 – зернистий; 8 – жирозернистий;
 9 – епітеліальний; 10 – еритроцитарний; 11 – епітеліальний буропігментований;
 12 – циліндрод; 13 – бактеріальний; 14 – лейкоцитарний.



*Рис. 32. Кристали солей, які зустрічаються в патологічній сечі:
1 – лейцин (а), тирозин (б); 2 – холестерин; 3 – ксантин;
4 – цистин; 5 – білірубін; 6 – гематойдин*



*Рис. 33. Неорганізований осад лужної сечі:
трипельфосфати; 2 – кислий сечокислий амоній; 3 – вуглекисле вапно.*



*Рис. 34. Неорганізований осад кислої сечі:
1 – кристали оксалатів; 2 – кристали сечової кислоти*

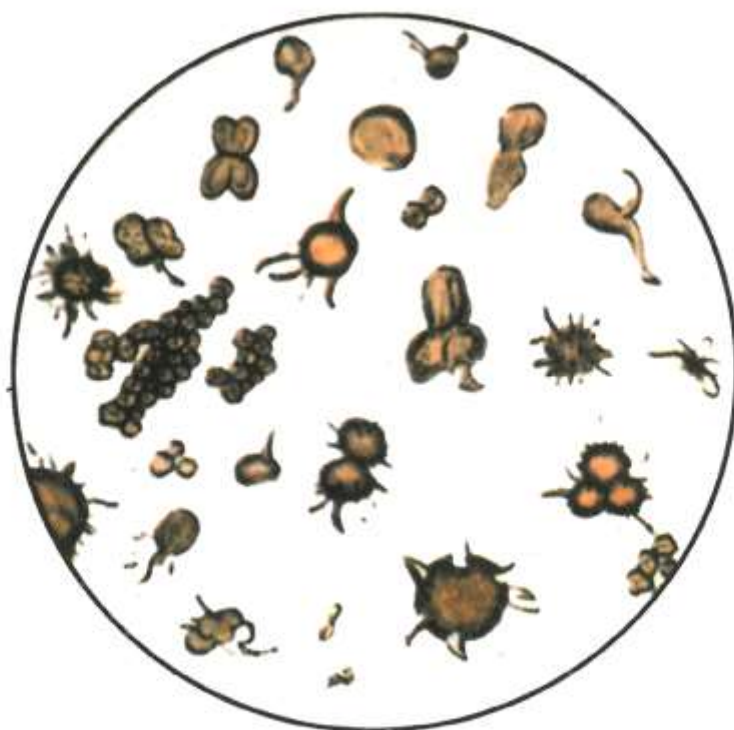


Рис. 35. Кристали кислого сечокислого амонію



Рис. 36. Кристали нейтральних фосфатів

МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ

Еритроцити		
Лейкоцити		2-4 в полі зору у жінок 6-8 в полі зору у чоловіків
Епітелій: плоский		поодинокий в полі зору
перехідний		поодинокий у препараті
нирковий		
інший (вписати)		
Циліндри		
гіалінові		
зернисті		
епітеліальні		
буропігментовані		
еритроцитарні		
лейкоцитарні		
гіаліново-крапельні		
воскоподібні		
вакуолізовані		
Фібрин		
Еластичні волокна		
Слиз (гомогенний, волокнистий, циліндроїдами, уретральний)		поодинокий
Солі		
Бактерії		
Висновок		
" " 20 р.		Прізвище, І., П.,
(дата видачі аналізу)		(підпис)

КОПРОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Збирають кал при самотійній дефекації в чисту суху посудину, яка не пропускає вологи, і доставляють у лабораторію відразу або протягом 8–12 годин, зберігаючи його тим часом на холоді при температурі 3–4 °С. Не можна досліджувати кал після клізми, прийому послаблюючих засобів, барвників, настою беладони, пілокарпіну, препаратів заліза, вісмуту, барію та ін. Кал не повинен містити сторонніх домішок (сеча, деззасоби та ін).

Мікроскопічне дослідження калу

Мікроскопічне дослідження калу дає змогу діагностувати порушення ферментативної активності органів травного каналу, виявити прискорену евакуацію хімуса зі шлунка в кишечник, ураження слизової оболонки товстої та прямої кишок, наявність гельмінтів і найпростіших, йодофільної флори, кристалів та ін.

Матеріальне забезпечення: кал для дослідження, предметні і покривні скельця, скляні палички з оплавленим кінцем, чашки Петрі, розчин Люголя, метиленовий синій, ацетатна кислота, дистильована вода, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Для мікроскопічного дослідження відбираємо видимі домішки: спочатку відшукуємо на поверхні калу за допомогою шпателя та голки, а потім відбираємо кілька грудочок калу із різних його ділянок, розтираємо їх разом у чашці Петрі, виготовляємо водну емульсію і шукаємо домішки поперемінно на чорному та білому фоні.

Краплю емульсії набираємо скляною паличкою з оплавленим кінцем, поміщаємо її на предметне скло, покриваємо покривним і злегка притискаємо.

З емульсії калу виготовляємо 4–5 препаратів:

- нативний – для вивчення детриту, залишків неперетравленої або частково перетравленої рослинної та тваринної їжі;
- з розчином Люголя – для виявлення внутрішньоклітинного та позаклітинного крохмалю, йодофільної флори, дріжджів, цист;
- з метиленовим синім – для диференціації крапель нейтрального жиру та жирних кислот;
- з ацетатною кислотою – для діагностики мил;
- препарат зі слизу, слизисто-кров'яних, гнійних мас і тканинних грудочок.

I. Елементи кишкової стінки – слиз, лейкоцити (нейтрофіли і еозинофіли), еритроцити, епітелій плоский, циліндричний, клітини пухлин.

– *слиз* виявляють поряд із лейкоцитами, еритроцитами й епітелієм: прозорі гомогенні утворення у вигляді волокон;

– *лейкоцити* – частіше зустрічаються нейтрофіли, під впливом флори вони змінюють форму і розпадаються;

– *еозинофіли* зустрічаються у великій кількості при пухлинах, туберкульозі кишечника, шигельозі, мають однорідні гранули; якщо еозинофіли розташовані в слизі – це свідчить про спастичний коліт, неспецифічний виразковий коліт, анкілостомоз;

– *еритроцити* зустрічаються змінені та незмінені; незмінені – при кровотечі прямої кишки; якщо кровотеча з верхніх відділів травного каналу, то еритроцити руйнуються, змінюються, їх важко розпізнати; при виразкових процесах кишечника еритроцити разом із лейкоцитами виявляють у слизі;

– *епітелій* – плоский (у центрі з маленьким ядром) вистеляє задньопрохідний отвір, циліндричний вистеляє слизову оболонку кишечника (це клітини подовженої форми, з одного кінця розширені); іноді епітелій змінює свою форму і розміри, підлягає жировому переродженню і вакуолізації, має вигляд напівпрозорих брилок, у яких не видно ядер;

– *клітини пухлин* мають різні розміри та форму, великі ядра і ядерця, різну кількість цитоплазми, розташовуються окремо, грудочками або у вигляді щільних груп; зустрічаються при плоскоклітинному, залозистому раку, інших злоякісних новоутворах.

II. Залишки їжі (м'язові волокна, сполучна тканина, крохмаль, перетравлена і неперетравлена клітковина, нейтральний жир, мила, кристалічні утворення):

– *м'язові волокна* – у вигляді овальних та округлих утворень жовтого кольору; неперетравлені або слабонеретравлені м'язові волокна мають поперечну та поздовжню покресленість, вони можуть розташовуватися окремо або у вигляді груп, з'єднаних між собою; зустрічаються у хворих з ахілією, ферментативною недостатністю підшлункової залози, при прискореній перистальтиці кишечника;

– *сполучна тканина* має вигляд тонких волокон, які не перехрещуються, зустрічаються ізольовано або з групами м'язових волокон; це залишки неретравлених судин, хрящів;

– *крохмаль* має вигляд зерен округлої або овальної форми, які заломлюють світло; залежно від ступеня перетравленості крохмалю концентрична покресленість може бути виражена по-різному; крохмальні зерна зустрічаються внутрішньоклітинно або окремо; розчином Люголя незмінені крохмальні зерна забарвлюються у синій колір, а частково перетравлені – в лілово-червоний;

– у нормі в калі виявляють тільки неперетравлену клітковину; при ахлоргідрії, недостатній активності ферментів підшлункової залози, прискореній евакуації хімусу зі шлунка та кишечника виявляємо велику кількість клітковини та крохмальних зерен;

– *перетравлена рослинна клітковина* – це великі, прозорі, як правило, безбарвні утворення неправильної форми, розташовуються пластами або окремо; виявляємо в калі при ахлоргідрії, ахілії шлунка;

– *неперетравлена рослинна клітковина* має широкі потовщені міжклітинні простори, непрозору двоконтурну оболонку, забарвлюється в коричневий або жовтий колір; виявляємо в калі при постійному вживанні рослинної їжі;

– *нейтральний жир* має вигляд безбарвних, злегка жовтуватих крапель різного розміру, які суданом III забарвлюються в червоний, оранжевий або жовтий колір;

– *мила* мають вигляд брилок або голкоподібних кристалів, коротших, ніж жирні кислоти; для диференціації крапель жирних кислот із краплями нейтрального жиру використовують забарвлення препарату метиленовим синім, при цьому краплі жирних кислот забарвлюються у темно-синій колір, детрит – у блідо-блакитний, краплі нейтрального жиру безбарвні або жовтого кольору; у нормі з калом виділяється близько 5% спожитого жиру у вигляді мил; якщо з калом виділяється велика кількість жиру, це явище називається стеатореєю, яку спостерігаємо при порушенні жовчовиділення, секреторної функції підшлункової залози та при закупорці її вивідної протоки, а також при прискореній перистальтиці тонкого кишечника та при порушенні всмоктування;

– *кристалічні утворення* – трипельфосфати, білірубін, гематоїдин, оксалати, кристали Шарко – Лейдена – блискучі, безбарвні, мають форму ромба; їх виявляють при гельмінтозі та захворюваннях кишечника, спричинених кишковими найпростішими, а також при захворюваннях алергічного характеру (рис. 41).

III. Мікрофлора становить 1/3–1/4 частину калу. При патології у калі можна виявити йодофільну флору:

– *кlostридії* – грубі, веретеноподібні бацили, довжиною 2 мкм, шириною 1–1,2 мкм;

– *гриби роду Candida* – овальні або круглої форми, маленькі, псевдоміцелій у вигляді ниток; розчином Люголя забарвлюються у синій колір, спостерігаються при дисбактеріозі.

У калі можна виявити яйця та членики гельмінтів, личинки кишкових найпростіших, яйця опісторхозів, ціп'яка широкого, карликового ціп'яка, аскарид, гостриків та ін.

Копрологічна картина при деяких захворюваннях

Кал при нормальному травленні – коричневого кольору, слаболужної або нейтральної реакції, м'якої консистенції, циліндричної форми. Мікроскопічно виявляють трохи неперетравленої клітковини, поодинокі м'язові волокна, трохи мил.

Кал при недостатності травлення у шлунку (гастрит з ахілією) – темно-коричневого кольору, лужної реакції, щільної або кашкоподібної консистенції, сформований, може бути і несформований. Мікроскопічно – достатня кількість неперетравленої клітковини, крохмалю, незмінні м'язові волокна групами, незначна кількість мил, йодофільної флори.

Кал при недостатності підшлункової залози – кількість до 1 кг, колір сірувато-жовтий, реакція лужна, консистенція мазеподібна, несформований, запах – прогірклого жиру. Мікроскопічне – пластами неперетравлена і перетравлена клітковина, достатня кількість крохмалю, незмінні м'язові волокна, багато нейтрального жиру.

Кал при ненадходженні жовчі в кишечник – більше норми, сірувато-білий, кислої реакції, твердий або мазеподібний, оформлений або ні, негативна реакція на стеркобілін. Мікроскопічно – багато незмінених м'язових волокон, перетравлена клітковина і крохмаль (може і не бути), багато жирних кислот, нейтральний жир, трохи мил.

Кал при недостатності травлення в тонкому кишечнику – жовтого кольору, лужної реакції, рідкої або напіврідкої консистенції, позитивна реакція на білірубін. При мікроскопії виявляють багато неперетравленої клітковини і крохмалю, помірну кількість змінених і незмінених м'язових волокон, нейтрального жиру, жирних кислот і мил, трохи йодофільної флори.

Кал при недостатності травлення у товстій кишці:

- бродильна диспепсія – кал жовтого або світло-коричневого кольору, різко кислої реакції, кашкоподібної консистенції, пінистий, має трохи слизу. Мікроскопічно – багато перетравленої клітковини і крохмалю, трохи мил і м'язових волокон, багато йодофільної флори;

- гнилісна диспепсія – колір темно-коричневий, реакція лужна, рідкий, слизу небагато. Мікроскопічно – незначна кількість перетравленої клітковини, зрідка-крохмаль, трохи змінених м'язових волокон, мил.

Кал при запальних процесах у товстій кишці:

- коліт із запором – колір темно-коричневий, реакція лужна, консистенція тверда, форма – овечий кал. Мікроскопічно – трохи слизу, змінених м'язових волокон, мил;

- дизентерія, виразковий коліт – кал із домішками слизу, крові, гною. Мікроскопічно – лейкоцити в слизі, еритроцити, циліндричний епітелій. Позитивна реакція Трибуле – Вишнякова.



Рис. 41. Нативний препарат калу:
 1 – детрит; 2 – м'язові волокна;
 3 – сполучна тканина; 4 – неперетравлена
 клітковина; 5 – перетравлена клітковина;
 6 – краплі жиру; 7 – мила; 8 – жирні кислоти

Мікроскопічне дослідження калу

Залишки їжі _____

М'язові волокна:

не змінені _____

змінені (перетравлені) _____

Рослинна клітковина перетравлена _____

Крохмаль _____

Рослинна клітковина перетравлена _____

Жир нейтральний _____

Жирні кислоти _____

Мила _____

Кристали _____

Слиз _____

Епітеліальні клітини _____

Лейкоцити _____

Еритроцити _____

Елементи з ознаками злоякісності _____

Йодофільна флора _____

Найпростіші _____

Яйця гельмінтів _____

Елементи гриба, подібного до дріжджового _____

Висновок _____

“ ____ ” _____ 200__ р.

Прізвище, І., Б. _____

підпис

Список літератури

1. *Абрамов М. Т.* Гематологический атлас. – М. : Медицина, 1979.
2. *Воробель А. В.* Основи гематології : монографія / А. В. Воробель. – Івано-Франківськ : Вид-во “Плай” ЦІТ Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника, 2009. – 148 с.
ISBN 978-966-640-249-6
3. Клінічна лабораторна діагностика: навч. посіб. / Б. Д. Луцик, Л. Є. Лановець, Г. Б. Лебедь та ін. ; за ред. проф. Б. Д. Луцика. – К. : ВСВ “Медицина”, 2011. – 288 с. + 8 с. кольоров. вкл.
ISBN 978-617-505-129-0
4. *Кишкун А. А.* Руководство по лабораторным методам диагностики. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2007. – 798 с.
5. Лабораторные и инструментальные исследования в диагностике / под ред. В. Н. Титова ; пер. с англ. В. Ю. Халатова. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2004. – 960 с.
6. *Лановець Л. Є., Луцик Т. П.* Посібник з лабораторної імунології. – Львів, 2002.
7. *Манастирська О. С.* Клінічні лабораторні дослідження / О. С. Манастирська. – Вінниця : Нова книга, 2007. 168 с.
ISBN 966-8609-76-X
8. *Меньшиков В. В.* Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков. – Медицина, 1987.
9. Медицинские лабораторные технологии : в 12 т. / под. Ред. А. И. Карпищенко. – С. Пб : Интермедиа, 2001. – Т. 1. – 408 с.; Т. 2. – 600 с.
10. *Плотникова К. С.* Практикум з клінічних лабораторних методів дослідження / К. С. Плотникова, Б. Ф. Панібратцева, Ж. Г. Островська. – К. : Здоров’я, 2002. – 240 с.
ISBN 5-311-01286-2
11. Посібник з клінічної лабораторної діагностики / Денисюк В. Т., Ганджа І. М., Виговська Я. І. та ін. – К. : Здоров’я, 1993.
12. Руководство по клинической лабораторной диагностике : учеб. пособие : в 2-х ч. / М. А. Базарнова, А. Й. Воробьев, З. Баркаган и др. ; под ред. М. А. Базарновой, А. Й. Воробьева. – К. : Вища шк. 1991. – 319 с. : ил.