

Введение в практическую деятельность.



Содержание.

1. Освоение раздела ПМ 03.01
2. Лабораторное оборудование.
3. Основные методы, используемые для биохимических исследований.
4. Правила работы с диагностическими наборами.
5. Правила работы с дозаторами.
6. Правила работы с центрифугой.
7. Санитарно-эпидемиологический режим.



Освоить профессиональных компетенций (ПК):

ПК 3.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных биохимических исследований.

ПК 3.2. Проводить лабораторные биохимические исследования биологических материалов; участвовать в контроле качества.

ПК 3.3. Регистрировать полученные результаты лабораторных биохимических исследований.

ПК 3.4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.



Обучающийся в ходе освоения профессионального модуля (ПМ 03.01) должен:

иметь практический опыт:

- определения показателей белкового, липидного, углеводного и водно-минерального обменов, активности ферментов, белков острой фазы, показателей системы гемостаза;

уметь:

- принимать и регистрировать биоматериал;
- проводить пробоподготовку;
- определять биохимические показатели биологических жидкостей;
- работать с дозирующими устройствами;
- работать на автоматических фотометрах, биохимических анализаторах, коагулометрах;
- проводить контроль качества;
- оценивать полученные результаты «норма-патология»;
- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;
- вести учетно-отчетную документацию.



знать:

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в биохимической лаборатории;
- особенности подготовки пациента к биохимическим лабораторным исследованиям;
- механизмы обмена веществ и его регуляции;

- сущность биохимических процессов;
- основы гомеостаза и биохимические механизмы сохранения гомеостаза;
- патологию обменных процессов и системы гемостаза;
- унифицированные методы анализа биологических жидкостей;

- основные методы исследования обмена веществ, системы гемостаза, гормонального профиля, ферментов и др.



Лабораторное оборудование

Посуда:

- Пипетки градуированные
- Цилиндры
- Стаканы
- Колбы
- Пробирки
- Стеклянные палочки
- Флаконы
- воронки

Оборудование:

- Штативы
- Дозаторы
- Пинцеты
- Бумага фильтровальная
- Диагностические наборы

Приборы:

- Биохимический анализатор
- Анализатор глюкозы
- Система электрофореза
- Коагулометр
- Термобаня
- Термостат
- Водяная баня
- Весы
- Холодильник
- Центрифуга
- Секундомер

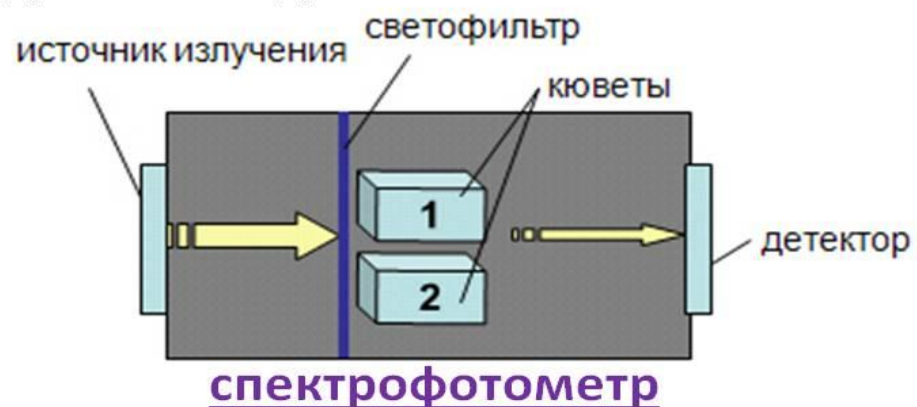


Основные методы, используемые для биохимических исследований.



Спектрофотометрический анализ

- Основан на измерении светопоглощения при строго определенной длине волны



Фотоколориметрический анализ



- Фотоэлектроколориметр КФК- 2МП

Электрофорез

```
graph TD; A[Электрофорез] --> B[На бумаге]; A --> C[На полиакриловом геле (ПААГ)]; A --> D[Иммуноэлектрофорез]; A --> E[Капиллярный]; B --- F[5 фракций]; C --- G[16-17 фракций]; D --- H[30 фракций]; E --- I[30 фракций];
```

На бумаге

5 фракций

На полиакриловом геле
(ПААГ)

16-17 фракций

Иммуноэлектрофорез

30 фракций

Капиллярный

30 фракций



Классификация хроматографических методов

Классификация по принципу фракционирования

Аффинная хроматография

Гель-фильтрация

Адсорбционная хроматография

Осадочная хроматография

Адсорбционно-комплексобразовательная хроматография

Распределительная хроматография

Нормальнофазная хроматография (НФХ, NPC)

Обращеннофазная хроматография (ОФХ, RPC)

Классификация по способу элюции

Вытеснительная хроматография

Хроматографическая элюция

Фронтальный анализ

Ионообменная хроматография

Катионообменная хроматография

Анионообменная хроматография

Классификация по расположению неподвижной фазы

Колоночная хроматография

Хроматография в толстом слое

Тонкослойная хроматография (ТСХ, TLC)

Бумажная (на пленке) хроматография

Классификация по агрегатному составу фаз

Сверхкритическая флюидная хроматография

Жидкостная хроматография

Жидкостно-гелевая хроматография

Жидкостно-жидкостная хроматография

Жидкостно-твердофазная хроматография

Газовая хроматография

Газо-твердофазная хроматография

Газо-жидкостная хроматография

Классификация по цели проведения

Аналитическая хроматография

Препаративная хроматография

Промышленная хроматография

Классификация по давлению в хроматографической системе

Хроматография высокого давления (ВЭЖХ, HPLC)

Хроматография низкого давления (FPLC)

Правила работы с диагностическими наборами.

Для избежания распространенных ошибок, необходимо необходимо придерживаться следующих правил:

1. Тщательно изучить инструкцию по применению набора, и пунктуально следовать ее рекомендациям по условиям хранения, приготовления и проведения анализа.
2. Не использовать наборы, герметичность которых нарушена.
3. Не использовать наборы с истекшим сроком годности и истекшим сроком хранения.
4. Необходимо использовать только чистую посуду для приготовления растворов рабочих реагентов.
5. Для приготовления растворов рабочих реагентов использовать только свежую дистиллированную воду.
6. При приготовлении растворов рабочих реагентов нельзя встряхивать и не допускать вспенивания.
7. Указывать на флаконе с приготовленным раствором рабочего реагента наименование, дату и срок хранения.
8. Дозировать необходимое количество только кончиком соответствующим каждому раствору рабочего реагента.
9. Хранить растворы рабочих реагентов согласно инструкции и с плотно закрытыми крышками.



Правила работы с дозаторами.



Техника работы с дозатором

Перед выполнением рабочих операций дозирования необходимо выполнить следующие рекомендации, позволяющие значительно уменьшить ошибки при дозировании:

- убедитесь, что сменный наконечник надет плотно и герметично на посадочный конус;
- при аспирации (наполнении наконечника) держите дозатор вертикально, а сменный наконечник погружайте в дозируемую жидкость не более чем на 3 мм;
- предварительно прополощите наконечник дозируемой средой, что обеспечит температуру, равную температуре наконечника (это немаловажно при дозировании жидких сред с вязкостью и плотностью отличными от вязкости и плотности воды);
- всегда контролируйте операцию хода поршневого штока с помощью большого пальца руки; во время выполнения аспирации недопустимо извлечение наконечника из дозируемой жидкости (возможен заброс в поршневую систему дозируемых сред);
- при дозировании жидких сред малых объемов (до 20 мкл) краем наконечника следует касаться стенки бюретки, пробирки либо стенки лунки микропланшета.



Техника прямого дозирования

Прямой способ дозирования является основным для водных растворов и предполагает дополнительное перемещение плунжера для того, чтобы удалить все имеющиеся в сменном наконечнике остатки дозируемых сред, т.е. эта операция заканчивается режимом «продувки».

Последовательность выполнения операций:

- установите наконечник на дозатор;
- нажмите кнопку плунжерного штока до первой остановки;
- погрузите наконечник в дозируемую жидкость не более чем на 3 мм;
- медленно отпустите кнопку плунжерного штока до верхней стартовой позиции для всасывания жидкости в сменный наконечник;
- извлеките наполненный сменный наконечник из дозируемой жидкости;
- выпустите взятый раствор, плавно нажимая на кнопку до первой остановки. После короткой паузы дождитесь операцию кнопку до второй остановки (до упора), после этого наконечник полностью опустошается;
- отпустите кнопку в исходное положение, при необходимости замените наконечник.



Техника обратного дозирования

Обратный метод используется для работы с жидкостями, имеющими высокую вязкость или склонность к вспениванию, а также при работе с малыми объемами (20 мкл).

Последовательность действий:

- установите наконечник на дозатор;
- держа дозатор, вертикально нажмите кнопку вниз до самого упора;
- после этого погрузите наконечник в дозируемую жидкость не более чем на 3 мм и плавно отпустите кнопку до верхней стартовой позиции для всасывания жидкости в сменный наконечник ;
- извлеките наконечник из раствора и перенесите в пробирку, выпустите раствор, нажав кнопку до первой остановки.
- остаток жидкости в наконечнике сбросьте в резервуар.



Техника пипетирования.

На рис. 3 приведены схемы пипетирования с помощью автоматических пипеток.

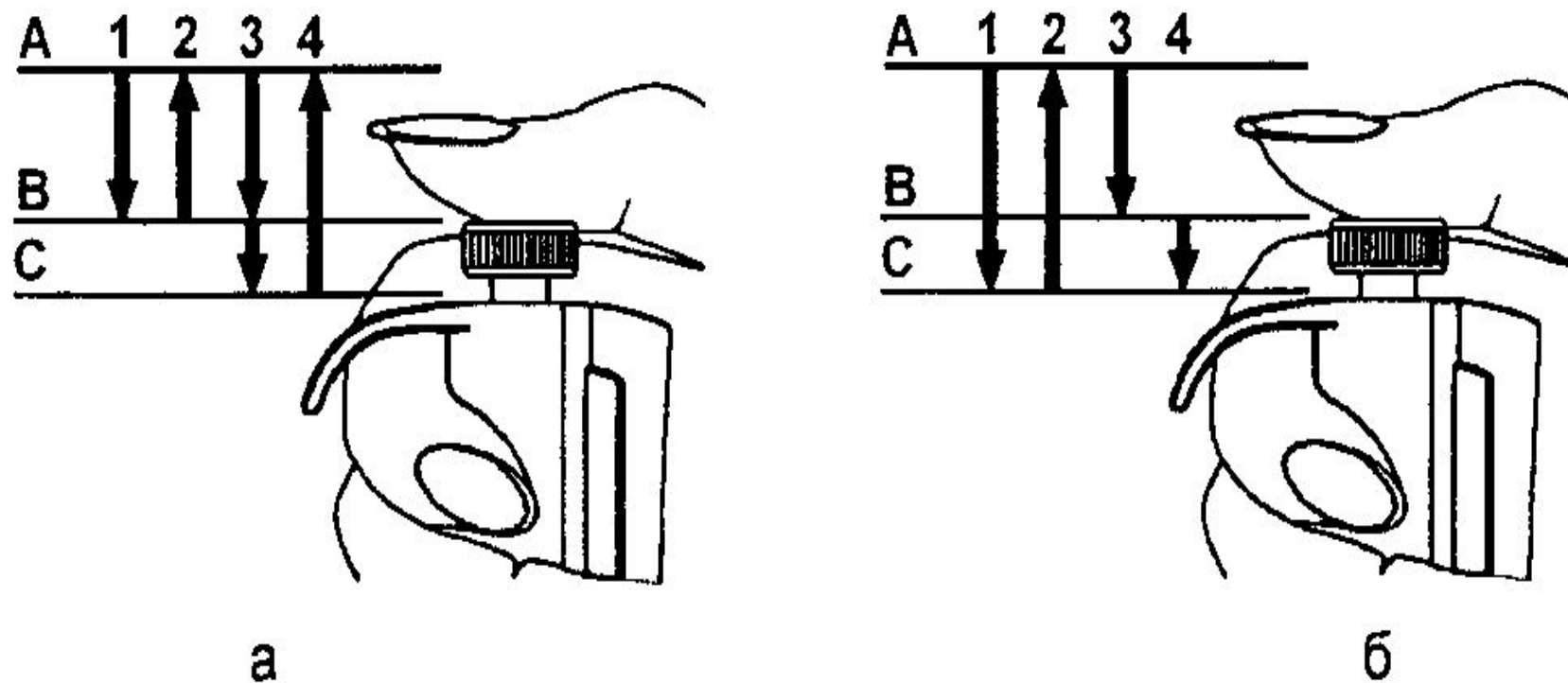


Рис. 3. Схемы техники пипетирования (а — прямой метод, б — обратный метод); А — исходное положение, В — первая остановка, С — вторая остановка.

Правила работы с центрифугой.

1. Работать с центрифугой могут только специалисты с профильным образованием (лаборанты, врачи-лаборанты), прошедшие инструктаж и освоившие управление прибором конкретной марки и модели.
2. Для исключения опасности электро-травмы лаборатория должна быть оборудована надежным контуром заземления.
3. Центрифугирование должно осуществляться в помещении с хорошей естественной вентиляцией.
4. Не разрешается эксплуатация аппарата, роторов, пробирок при обнаружении любых видимых дефектов. Провести тщательный осмотр корпуса и центрифужной камеры, ротора, сосудов для центрифугирования.
5. Загружать ротор надлежащим образом во избежание его разбалансировки или разрушения.
6. Запускать прибор с открытой крышкой, повреждениями корпуса или отсутствием конструктивных элементов.
7. Опирается на центрифугу, открывать или перемещать ее во время работы.
8. Ставить на верхнюю поверхность работающего аппарата какие-либо предметы.
9. Открывать крышку до момента, пока на дисплее не подтверждена полная остановка ротора.
10. При аварийном отключении электропитания для извлечения образцов из центрифуги произвести механическое открытие крышки, строго следуя соответствующей инструкции.



Санитарно-эпидемиологический режим.

I. Средства индивидуальной защиты:

1. Халат
2. Шапочка
3. Сменная обувь
4. Перчатки
5. Маска
6. Очки

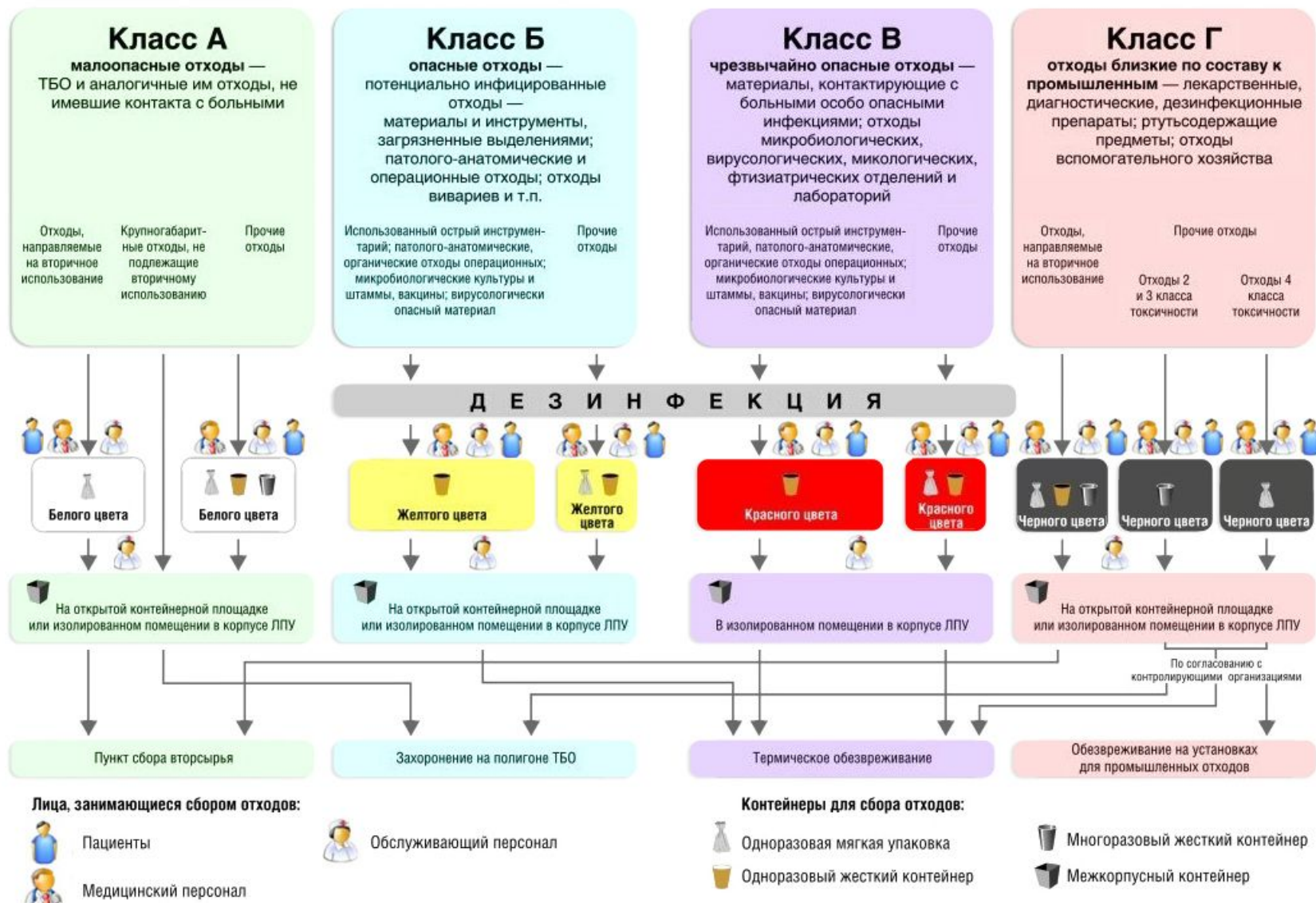


III. Дезинфицирующие средства



IV. Отходы

СХЕМА ОБРАЩЕНИЯ С ОТХОДАМИ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ



Домашнее задание.

В тетради для практических работ написать:

1. «Правила разведения лиофилизированного материала (контрольная сыворотка)»
2. «Правила работы с биологическим материалом (сыворотка, плазма)»
(в оглавлении – техника безопасности; взятие биоматериала; транспортировка биоматериала; хранение биоматериала; пробоподготовка биоматериала)

