

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

**ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА
ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА**

**Івано-Франківськ
2013**

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДВНЗ “ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТЕФАНИКА”**

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

**ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА
ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА**

Навчальний посібник

Івано-Франківськ
2013

УДК 6116-71+616-071
ББК 53.4я73
В75

Рецензенти:

Оринчак М. А., професор, доктор медичних наук, завідувачка кафедрою внутрішньої медицини стоматфакультету Івано-Франківського національного медичного університету

Дельцова О. І., професор кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету, доктор медичних наук

Воробель А. В.

В75 Цитологічна і лабораторна техніка та діагностика : навчальний посібник. – Івано-Франківськ : Вид-во “Плай” ЦІТ Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника, 2013. – 164 с.; 26 іл.
ISBN 978-966-640-373-8

У навчальному посібнику подано методи лабораторних досліджень загального клінічного аналізу крові, сечі, визначення груп крові та Rh-фактора.

Цитологічні особливості периферичної крові при анеміях та гемобластозах проілюстровані кольоровими рисунками та фото.

Посібник знайомить з цитологічною і лабораторною технікою та діагностикою хвороб шлунково-кишкового тракту, хвороб органів дихання, виділень із статевих органів.

Пропонований нами посібник призначений для студентів-біологів з метою майбутньої підготовки за кваліфікацією “Лабораторна діагностика”.

УДК 6116-71+616-071
ББК 53.4я73

ISBN 978-966-640-373-8

© Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, 2013

© Вид-во Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника, 2013

ЗМІСТ

ВСТУП	5
СПЕЦИФІКА РОБОТИ В КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ	6
ЗАГАЛЬНИЙ КЛІНІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ	10
Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ).....	11
Концентрація гемоглобіну.....	13
Кількість еритроцитів в 1 л крові.....	16
Кількість лейкоцитів в 1 л крові.....	21
Визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів за допомогою автоматичних лічильників.....	23
Техніка виготовлення мазків крові.....	23
Підрахунок лейкоцитарної формули.....	27
ДОДАТКОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ	32
Визначення кількості тромбоцитів	32
Визначення часу зсідання крові	35
Визначення тривалості кровотечі	35
Визначення кількості ретикулоцитів	37
Визначення гематокритної величини	39
ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ ТА РЕЗУС-ФАКТОРА	40
Визначення групи крові (системи АВО) стандартними сироватками... ..	40
Визначення групи крові системами АВО за допомогою стандартних еритроцитів.....	42
Визначення групи крові за допомогою тест-реагентів “Цоліклон”.....	43
Визначення резус-фактора методом конглютинації з застосуванням желатину.....	44
Визначення крові на біологічну сумісність.....	46
ЦИТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ АНЕМІЯХ	48
Анемії внаслідок крововтрати (постгеморагічні).....	49
Залізодефіцитна анемія.....	49
В ₁₂ та фолієво-дефіцитні анемії.....	52
Аластичні анемії.....	52
Гемолітичні анемії.....	52
ЦИТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ	56
Гострі лейкози	56
Хронічні лейкози	56
Мієлопроліферативні лейкози	57
Хронічний мієлолейкоз.....	57
Лімфопрولیферативні лейкози	57
Хронічний лімфолейкоз.....	57
Парапротеїнемічні гемобластози	59
Мієломна хвороба (плазмоцитома).....	59
Лімфогранульоматоз	59
ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ	62
Фізичні властивості та реакція сечі	62

Проба Зимницького.....	64
Хімічне дослідження сечі.....	64
Визначення глюкози в сечі.....	70
Виявлення кетонів у сечі.....	72
Виявлення білірубіну в сечі експрес-методом.....	73
Виявлення уробіліну в сечі.....	73
Мікроскопічне дослідження осаду сечі.....	74
Елементи неорганізованого осаду сечі.....	74
Кристали патологічної сечі.....	77
Кількісні методи дослідження сечі.....	83
ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА	
ХВОРОБ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ.....	87
Дослідження шлункового вмісту.....	87
Визначення фізичних властивостей шлункового вмісту.....	87
Хімічне дослідження шлункового вмісту.....	88
Визначення дебіту хлоридної кислоти.....	92
Визначення ферментативної активності за методом Туголукова.....	94
Мікроскопічне дослідження шлункового вмісту.....	96
Беззондові методи дослідження шлункового вмісту.....	98
pH-метрія.....	99
Діагностика гелікобактерної інфекції.....	104
Дослідження дуоденального вмісту.....	105
Фізичні властивості жовчі.....	105
Фізичні властивості дуоденального вмісту.....	105
Мікроскопічне дослідження.....	108
Копрологічне дослідження.....	112
Макроскопічне дослідження калу.....	112
Хімічне дослідження калу.....	114
Мікроскопічне дослідження калу.....	117
ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА	
ХВОРОБ ОРГАНІВ ДИХАННЯ.....	124
Дослідження харкотиння (мокротиння).....	124
Визначення фізичних властивостей.....	124
Мікроскопічне дослідження.....	126
Техніка виготовлення нативних і забарвлених препаратів.....	126
Бактеріологічне дослідження харкотиння.....	128
Дослідження рідин із серозних порожнин.....	131
Хімічне дослідження серозної рідини.....	132
Мікроскопічне дослідження серозної порожнини.....	133
ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА	
ВИДІЛЕНЬ ІЗ СТАТЕВИХ ОРГАНІВ.....	135
Дослідження виділень із піхви на ступінь чистоти.....	135
Лабораторна діагностика гонореї.....	136
Мікроскопічне дослідження.....	142
Підрахунок сперматозоїдів у камері Горяєва.....	142
Дослідження секрету передміхурової залози.....	145
Список літератури.....	149
ДОДАТКИ.....	150

ВСТУП

У навчальному посібнику подано методики цитологічних і технік лабораторних досліджень, їх значення в діагностиці захворювань.

Навчальний посібник складається з таких розділів: “Специфіка роботи в клініко-діагностичній лабораторії, “Клінічний аналіз крові та сечі”, “Додаткові методи дослідження крові”, “Визначення групи крові та резус-фактора”, “Цитологічна характеристика периферичної крові при анеміях та гемобластозах”, “Цитологічна і лабораторна техніка та діагностика хвороб шлунково-кишкового тракту, хвороб органів дихання, виділень із статевих органів”.

До кожного розділу подана медична документація, форма 211/0, затверджена наказом МОЗ України 04.01.2001 р. №1.

Крім загальноприйнятих лабораторних досліджень, студенти знайомляться з технікою визначення кількості еритроцитів та лейкоцитів за допомогою автоматичних лічильників “Пікосел”, “Гемоцитометр”. Застосування сучасних приладів полегшує виконання дослідження, зменшує затрату часу.

Посібник проілюстрований кольоровими рисунками та фото, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу.

Навчальний посібник призначений для студентів-біологів з метою майбутньої підготовки за кваліфікацією “Лабораторна діагностика”.

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 – препаратозна, 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 різносторонні. 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. Організувати 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;
- проводити взяття крові для клінічного аналізу та додаткових 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].

У клінічній практиці велике значення має дослідження складу периферійної крові. Вивчення морфологічної картини крові, визначення її фізико-хімічних властивостей, кількісного та якісного складу формених елементів, їх будови дають змогу розпізнавати різні захворювання не тільки в органах кровотворення, а й у інших органах і системах, що допомагає ефективно лікувати пацієнта.

Методи дослідження крові багаточисленні та різноманітні. У клініці внутрішніх хворіб найчастіше використовують клінічний аналіз крові.

До спеціальних, або додаткових, аналізів крові належить визначення таких показників, як: тривалість кровотечі, час зсідання крові, кількість тромбоцитів, ретикулоцитів, осмотична резистентність еритроцитів, гематокритна величина тощо.

Серологічні методи (визначення групи крові і резус-фактора) дають змогу судити про антигенний склад крові та наявність антитіл.

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.

Дезинфікуємо 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 зсідається 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.

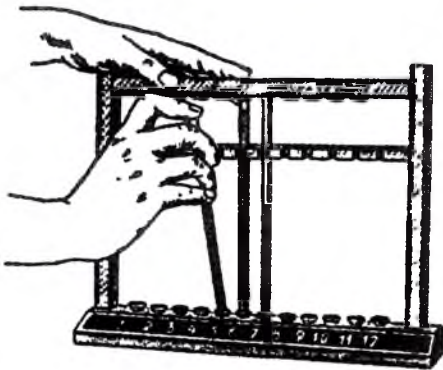


Рис. 1. Апарат Панченкова для визначення ШОЕ

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, розміщу-

ємо 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: анемій, еритремії, вторинних еритроцитозів, оцінки ступеня крововтрати, згущення крові при дегідратації організму, функцій кісткового мозку, ефективності гемотрансфузій, впливу медикаментів, іонізуючого випромінення 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, ка-

піляр 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.

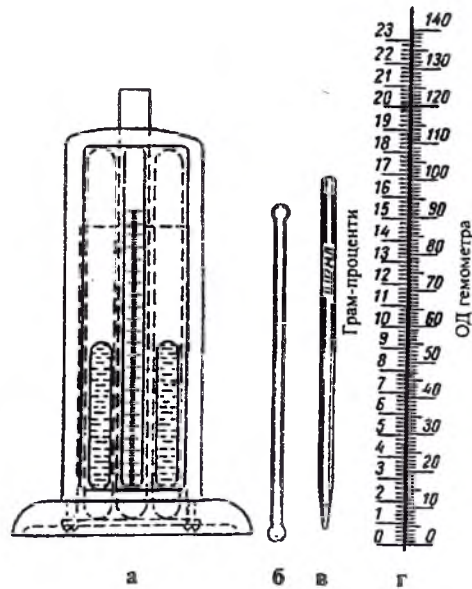


Рис. 2. Гемометр Салі та його деякі складові частини: а – гемометр Салі; б – паличка; в – капіляр; г – градуйована шкала гемометра

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 гемо-

глобіну 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 гемоглобіну іціанідним методом на фотоелектроколориметрі (ФЕК).

Цей метод ґрунтується на тому, що під впливом заліzosинеродистого калію гемоглобін окислюється в геміглобін, який утворює з ацетонціангідрином забарвлену речовину – геміглобініціанід – 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 внутрішньолабораторного 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 геміглобініціаніду, 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 згу-

щенні 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 затrudненому 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.

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 3,7–4,7 x 10¹²/л, або Тера на літр (Т/л), для чоловіків 4,0–5,0 x 10¹²/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, ґруші, 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

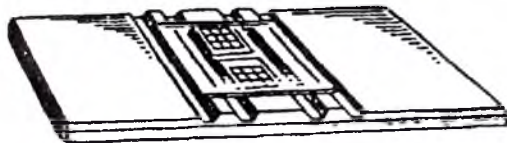


Рис. 3. Камера Горяєва

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. 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

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 наливаемо 4 мл 3% розчину хлориду натрію. З луночки набираєм 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 задалегідь підготовлена (рис. 4). Притираємо сухе покривне скло так, щоб утворилися кільця Ньютона.

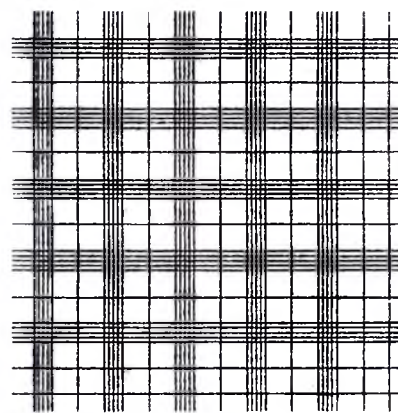


Рис. 5. Сітка камери Горяєва

Вміст пробірки старанно перемішуємо, нахилиємо пробірку, зануруємо 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 за-

темненому 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).

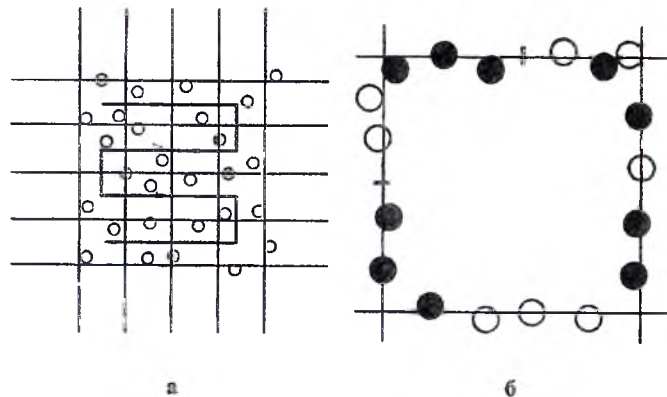


Рис. 6. Правила підрахунку еритроцитів у сітці Горяєва:
а – порядок підрахунку еритроцитів; б – в кожному маленькому квадраті враховуються еритроцити, що лежать у його межах (забарвлені)

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

Розрахунок кількості еритроцитів проводять за формулою:

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 анемії, 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:

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

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 анемії 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 (В₁₂ 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 г = 1·10¹²/пг

Вміст гемоглобіну в одному еритроциті розраховують за формулою:

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

Приклад розрахунку:

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

Норма 27–33 пг.

Примітка: КПК та СГЕ 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.

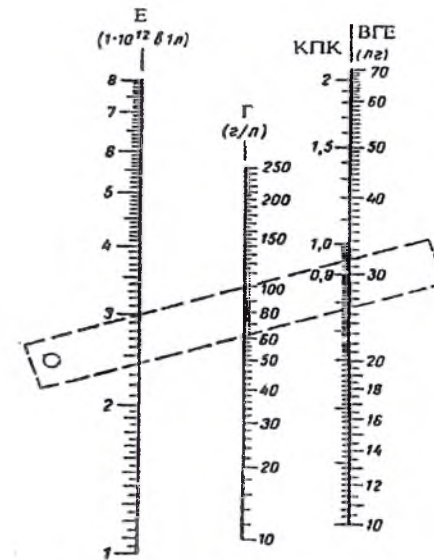


Рис. 7. Номограма для визначення колірного показника крові (КПК) та вмісту гемоглобіну в одному еритроциті (СГЕ)

Визначення кількості лейкоцитів в 1 л крові

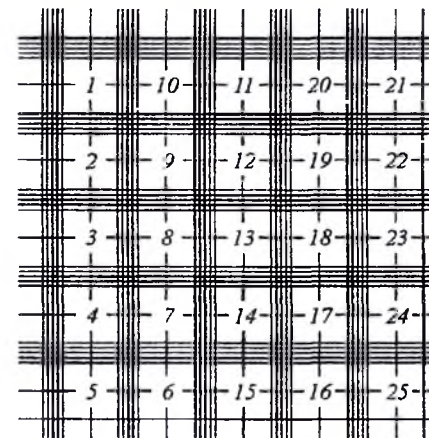


Рис. 8. Порядок підрахунку лейкоцитів у всій сітці камери Горяєва

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 9,0·10⁹/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.

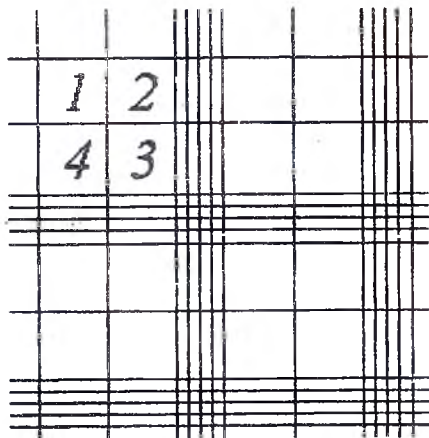


Рис. 9. Порядок підрахунку лейкоцитів у чотирьох квадратах сітки

Розрахунок проводимо за формулою:

Кількість лейкоцитів в 1 л крові

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

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

де v – 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.

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, азури, 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 розтіклася по ребру шліфованого скла;

– рівномірним швидким рухом ведемо шліфоване скло справа наліво, не натискаючи і не піднімаючи скла від предметного (рис. 10.).

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.

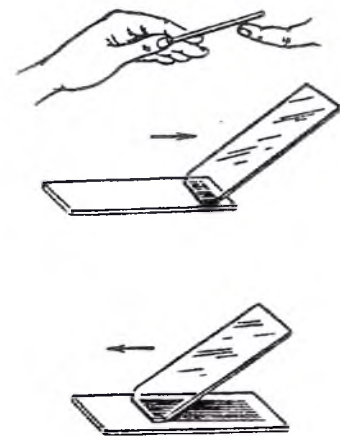


Рис. 10. Техніка виготовлення мазків крові

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, азури-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 “щітки”. На мазок наносимо краплю імерсійного масла і занурюємо в нього об'єктив. Під контролем ока повільним рухом макровинта піднімаємо або опускаємо тубус до отримання зображення. Різкість наводимо за допомогою мікровинта.

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 у 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

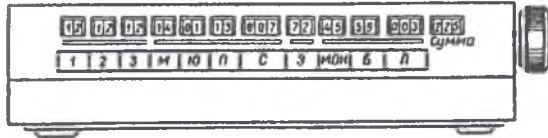


Рис. 12. Лабораторний лічильник ЛЛ-1 для підрахунку лейкоцитарної формули

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.

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:

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 %

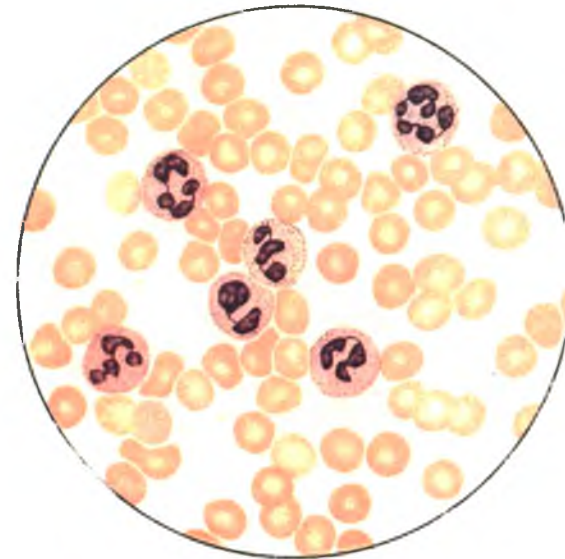


Рис. 13. Нейтрофільні сегментоядерні гранулоцити

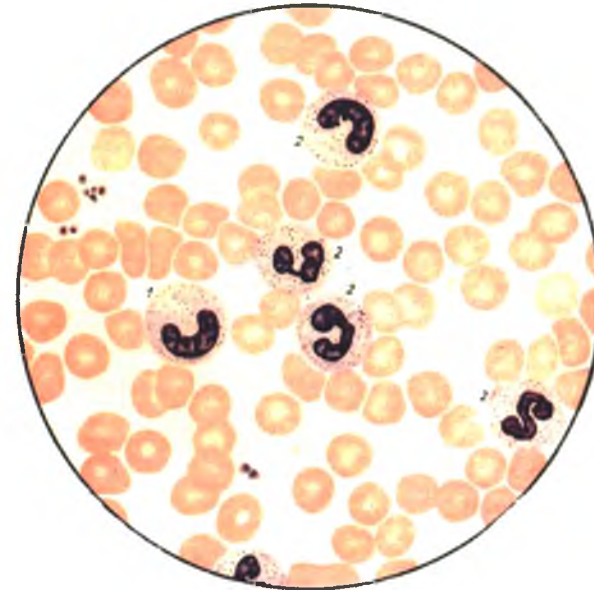
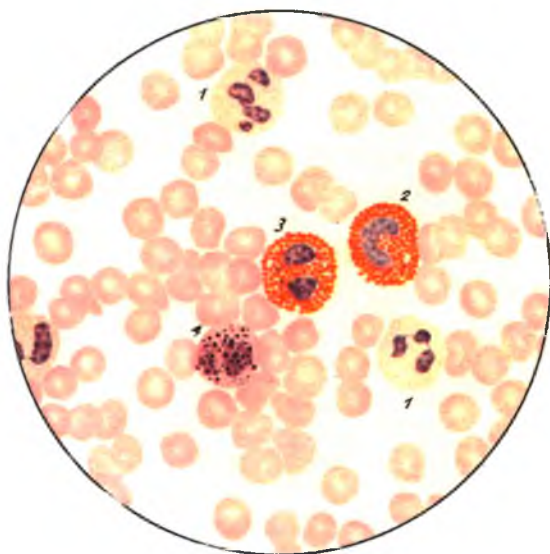
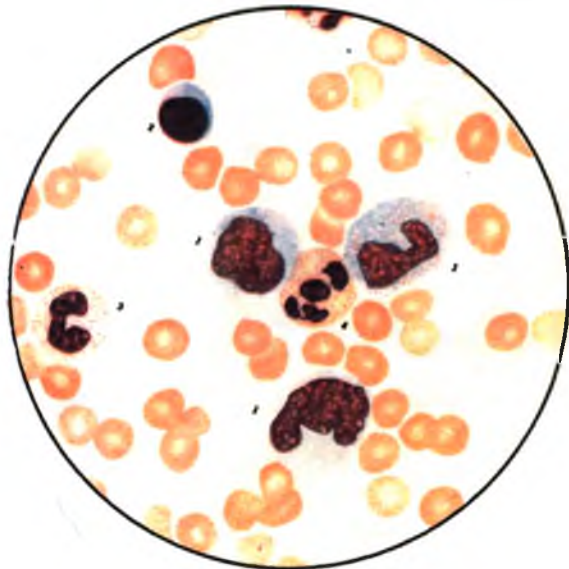


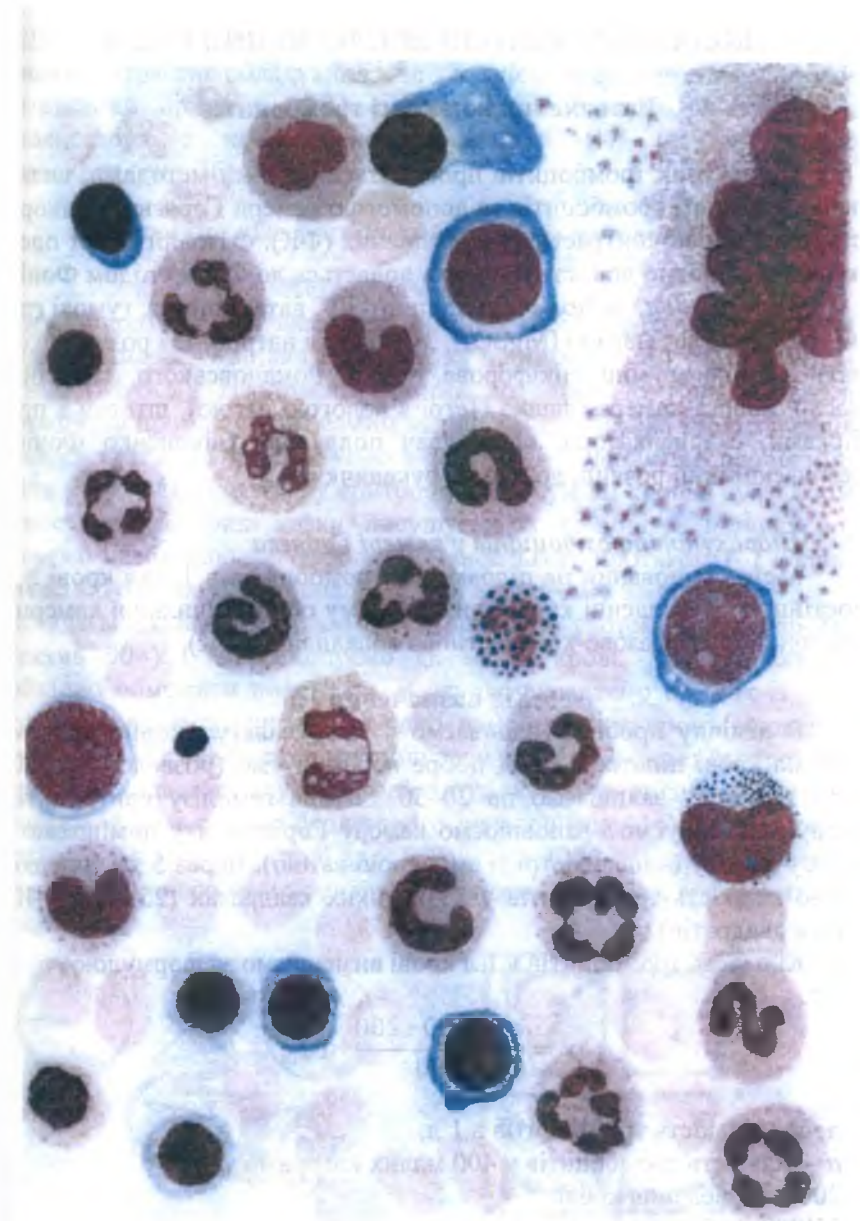
Рис. 14. 1 – нейтрофільний метамієлоцит; 2 – нейтрофільний паличко-ядерний гранулоцит



*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*

ДОДАТКОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ

Визначення кількості тромбоцитів

Підрахунок тромбоцитів проводиться різними методами: визначення кількості тромбоцитів за допомогою камери Горяєва, з використанням фазово-контрастного обладнання (ФК). Фазовий ефект одержують відповідно до інструкції, яка додається до ФК, методом Фоніо.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, піпетка, гумові груші, 14% сульфат магнію ($MgSO_4$), 3% хлорид натрію, 1% розчин оксалату амонію, суміш Нікіфорова, фарба Романовського, імерсійне масло, волога камера (чашка Петрі з вологою ватою), штатив з пробірками, скарифікатори, обмежувач поля зору (віконечко Фоніо), дезінфекційний розчин, дозатори, рукавички.

Підрахунок тромбоцитів у камері Горяєва

Метод оснований на підрахунку тромбоцитів в 1 мкл крові при постійному розведенні крові і визначеному об'ємі лічильної камери з використанням фазово-контрастного обладнання (ФК).

Хід визначення

В хімічну пробірку наливаємо 4 мл оксалату амонію додаємо 0,02 мл крові піпеткою Салі, добре перемішуємо (розведення в 200 раз). Пробірку залишаємо на 20–30 хв. для гемолізу еритроцитів. Знову перемішуємо і заповнюємо камеру Горяєва, яку поміщаємо у вологу камеру (чашка Петрі зі змоченою ватою). Через 5 хв. підраховуємо кількість тромбоцитів у 25 великих квадратах ($25 \cdot 16 = 400$ малих квадратів).

Кількість тромбоцитів в 1 л крові визначаємо за формулою:

$$x = \frac{\alpha \cdot 4000 \cdot 200}{400} \cdot 10^6$$

де x – кількість тромбоцитів в 1 л,
 α – кількість тромбоцитів у 400 малих квадратах;
200 – розведення крові;
1/4000 – об'єм малого квадрата;
400 – малі квадрати. Скорочена формула $x = a \cdot 2 \cdot 10^9$ /л.

Для кращого виявлення тромбоцитів у камері можна використати фазово-контрастне обладнання, яке дає якісніше зображення. Фазово-контрастний пристрій (ФК) складається з фазових об'єктів (Ф), конденсатора з кільцевими діафрагмами (К) і допоміжного мікроскопа (рис. 20).

Визначення кількості тромбоцитів за методом Фоніо

Хід визначення

Для підрахунку за вказаним методом необхідно виготовити та забарвити мазок. Капіляр Панченкова промиваємо 14 % сульфатом магнію ($MgSO_4$). Набираємо реактив до мітки 75 і виливаємо в серологічну пробірку. Тим самим капіляром набираємо крові з пальця до мітки 0 ("К") і перемішуємо з реактивом. Одночасно проводимо взяття крові для підрахунку еритроцитів. Із суміші крові з сульфатом магнію готуємо тонкі мазки, висушуємо їх на повітрі, підписуємо, фіксуємо і забарвлюємо фарбою Романовського протягом 1–2 годин, змиваємо водопровідною водою, мазки висушуємо на повітрі. Розглядаємо забарвлений мазок з імерсійною системою (окуляр 7×, об'єктив 90×) і мікроскопуємо як мазки крові. Для підрахунку необхідно обмежити поле зору. В окуляр вкладаємо кружок із чорного паперу з вирізаним посередині ромбічним отвором (віконечко Фоніо, рис. 13). В обмеженому полі зору рахуємо окремо еритроцити і серед них – двояковипуклі тромбоцити, які мають вигляд невеликих угорів 3–4 мкм рожево-фіолетового кольору (рис. 14) (вони зустрічаються не в кожному полі зору). Рахуємо 1000 еритроцитів, серед них загальне число тромбоцитів. Визначаємо кількість еритроцитів в 1 л крові.

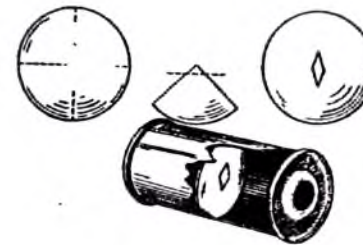


Рис. 18. Віконечко для підрахунку тромбоцитів за методом Фоніо

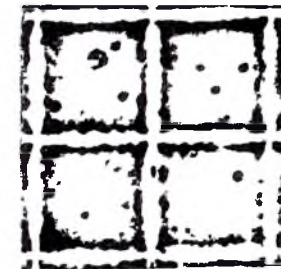


Рис. 19. Тромбоцити в сітчастій камері при фазово-контрастному зображенні

Кількість тромбоцитів розраховуємо за формулою:

$$X = \frac{A \times B}{1000},$$

де X – кількість тромбоцитів в 1 л крові;

A – кількість тромбоцитів на 1000 еритроцитів;

B – кількість еритроцитів в 1 л крові.

Наприклад: кількість тромбоцитів 75;

кількість еритроцитів $4,2 \times 10^{12}$ /л;

кількість тромбоцитів в 1 л крові

$$\frac{75 \cdot 4,2 \cdot 10^{12} / \text{л}}{1000} = \frac{75 \cdot 4,2 \cdot 10^9}{\text{л}} = 315 \cdot \text{л} \left(\frac{\Gamma}{\text{л}} \right).$$

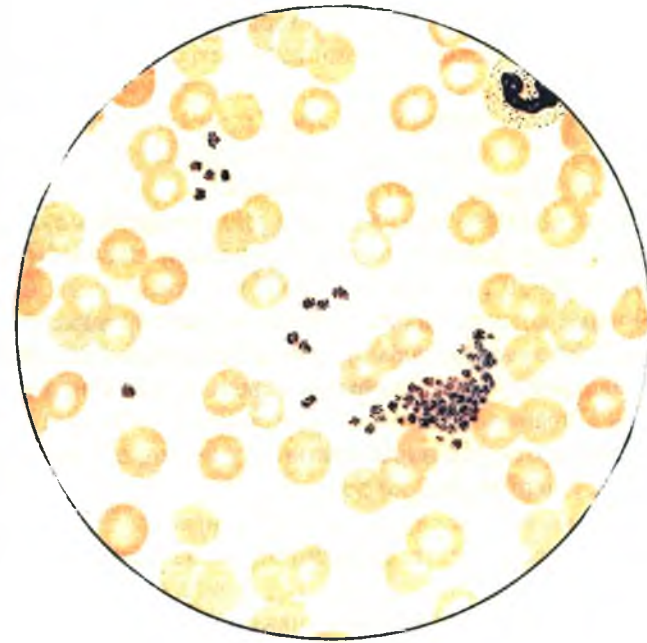
Визначення кількості тромбоцитів за допомогою електронно-автоматичних лічильників

Хід визначення

Тромбоцити підраховуємо у плазмі крові після самовільного осідання еритроцитів. Може бути застосований будь-який автоматичний лічильник- “Цилоскоп”, “Культер” та ін. Дослідження проводимо згідно з інструкцією.

Збільшення кількості тромбоцитів – тромбоцитоз – спостерігається при хронічному мієлолейкозі, сублейкемічному мієлозі, мієлофіброзі, еритремії, опіках, гемолітичних кризах, після кровотеч.

Зменшення кількості тромбоцитів – тромбоцитопенія – спостерігається при гострому лейкозі, системному червоному вовчаку, інфекційно-токсичних станах і автоімунних захворюваннях, геморагічних діатезах.



Мал. 20. Тромбоцити

ВИЗНАЧЕННЯ ЧАСУ ЗСІДАННЯ КРОВІ

Матеріальне забезпечення: вата, спирт 70°, штатив із пробірками, секундомір, смужки фільтрувального паперу, капіляри Панченкова, скарифікатори, дезрозчин, рукавички.

Визначення тривалості кровотечі за методом Дукє

Хід визначення

Скарифікатором робимо прокол мочки вуха, глибиною не менше 3–4 мм. Кров повинна виходити самовільно без натиску. Після проколу включаємо секундомір. Коли виступить крапля крові, доторкаємося до неї фільтрувальною смужкою паперу, і так через кожні 30 сек. Поступово краплі стають менші. Продовжуємо цю маніпуляцію до зникнення слідів крові на фільтрувальному папері. Секундомір зупиняємо і підраховуємо результат.

У нормі тривалість кровотечі за Дуке становить 2–4 хв. Збільшення часу кровотечі спостерігається при тромбоцитопатії, тромбоцитопенії та зменшенні резистентності судинної стінки.

Визначення часу зсідання капілярної крові за методом Сухарева

Хід визначення

Взяття крові проводимо з пальця в стерильний і сухий капіляр Панченкова. Першу краплю знімаємо. У капіляр набираємо стовпчик крові висотою 25–30 мм і переводимо її на середину. Включаємо секундомір і через кожних 30 сек. нахиляємо капіляр вправо і вліво під кутом 30–45°. Кров вільно пересувається всередині капіляра. З початком зсідання крові рух її сповільнюється. Припинення руху крові свідчить про її повне зсідання.

Початок згортання в нормі настає у період від 30 сек. до 2 хв., а закінчення – у період від 3 до 5 хв.

Визначення часу зсідання венозної крові за методом Лі -Уайта

Хід визначення

Взяття крові проводимо із вени сухою голкою без шприца. Перші краплі випускаємо на ватний тампон. Пізніше у дві сухі градуйовані пробірки набираємо по 1 мл венозної крові. Включаємо секундомір відразу після дотику крові з пробіркою. Пробірки з кров'ю ставимо на водяну баню при температурі 37° С. Через 2 хв. після взяття крові, а потім через кожних 30 сек. пробірки нахиляємо на 45–60°. Якщо зсідання крові не відбувається, то вона розтікається по стінці пробірки. Зсідання вважається закінченим, коли утворився згусток.

У нормі згортання венозної крові триває 5–10 хв.

Прискорене зсідання крові спостерігається при крововтратах у післяпологовий і післяопераційний періоди, при сильних больових подразненнях.

Сповільнення зсідання крові спостерігається при коагулопатіях.

РЕТИКУЛОЦИТИ

Ретикулоцит – це молода незріла клітина еритроцита в діаметрі 9–11 мкм. Має зернисто-нитчасту субстанцію.

Ретикулоцити виявляють спеціальними методами забарвлення

(суправітальними). В нормі кількість ретикулоцитів від 0,2 до 1 %, (2–10‰).

Визначення кількості ретикулоцитів

Матеріальне забезпечення: вата, спирт 70°, штатив з пробірками, скарифікатор, барвник діамантовий крезилловий синій, азур I, азур II, імерсійне масло, мікроскопи, предметні та шліфовані скельця, шкелець Фонію, дезрозчин, рукавиці.

Реактиви: Виготовлення барвника діамантового крезилового синього: 1 г діамантового крезилового синього розчиняємо у 80 мл абсолютного спирту. Довго перемішуємо до повного розчинення барвника. Зберігаємо у скляному посуді з темного скла.

Азур I – зважуємо і поміщаємо в колбу, даємо 1 г фарби азуру I, 0,4 г оксалату амонію, 0,8 г хлориду натрію, 10 мл етилового спирту 96% і 90 мл дистильованої води. Перемішуємо до повного розчинення. Колбу щільно закриваємо корком і тримаємо в термостаті при температурі 37 °С протягом 2–3 діб, періодично помішуючи. Барвник фільтруємо в темну посудину.

Азур II – в колбу поміщаємо 1 г фарби азуру II, 0,4 г хлориду натрію, 5 г цитрату натрію і 45 мл дистильованої води. Добре перемішуємо до повного розчинення. Колбу закриваємо корком і тримаємо в термостаті при температурі 37 °С протягом 2 діб для дозрівання. Періодично фарбу помішуємо. Фільтруємо барвник у темну посудину.

Забарвлення діамантовим крезилловим синім на склі

Хід визначення

Скляною паличкою наносимо краплю фарби діамантового крезилового синього на предметне скло і робимо тонкі мазки. Такі мазки виготовляємо заздалегідь і зберігаємо в темному місці. Фарба швидко висихає. Перед взяттям крові готуємо вологу камеру. Можна використати чашку Петрі: для цього змочений водою валик вати кладемо по її периметру. Поверх мазка фарби на предметному склі робимо мазок крові. Не даючи йому висохнути, поміщаємо у вологу камеру на 8–10 хв. За цей час відбувається забарвлення нитчасто-сітчастої субстанції ретикулоцитів. Мазки висушуємо на повітрі.

Підрахунок ретикулоцитів проводимо з імерсійною системою в обмеженому полі зору, де виявляємо, скільки незрілих клітин зустрічається серед 1000 еритроцитів. Ретикулоцити входять в число поражених еритроцитів. У забарвлених мазках еритроцити мають жовто-зеленуватий колір, а нитчасто-сітчаста субстанція ретикулоцитів – синюватий.

Метод забарвлення азуром II у пробірці

Хід визначення

У серологічну пробірку вносимо піпеткою 0,05 мл розчину фарби азур II і 0,2 мл крові. Перемішуємо, залишаємо на 3 хв. для забарвлення і виготовляємо тонкі мазки. Еритроцити забарвлюються в жовтувато-зелений колір, а зернисто-сітчаста субстанція – в синій колір.

Метод забарвлення азуром I у пробірці

Хід визначення

У серологічну пробірку вносимо 0,3–0,5 мл розчину фарби азур I. Кров набираємо в капіляр Панченкова і вносимо в цю ж пробірку (5–6 крапель), кров з фарбою перемішуємо і закриваємо корком, залишаємо на 1–1,5 год. Виготовляємо тонкі мазки. Підрахунок проводимо в обмеженому полі зору. Еритроцити забарвлюються в жовтувато-зелений колір, а зернисто-сітчаста субстанція – у фіолетово-синій (рис. 21).

Збільшення кількості ретикулоцитів – ретикулоцитоз – спостерігається при гемолітичній, гострій постгеморагічній анеміях, при еритремії. Наявність ретикулоцитозу може свідчити про приховану кровотечу.

Зменшення кількості ретикулоцитів – ретикулоцитопенія – або їх відсутність спостерігається при апластичних анеміях, нелікованій V_{12} -дефіцитній анемії, променевій хворобі.

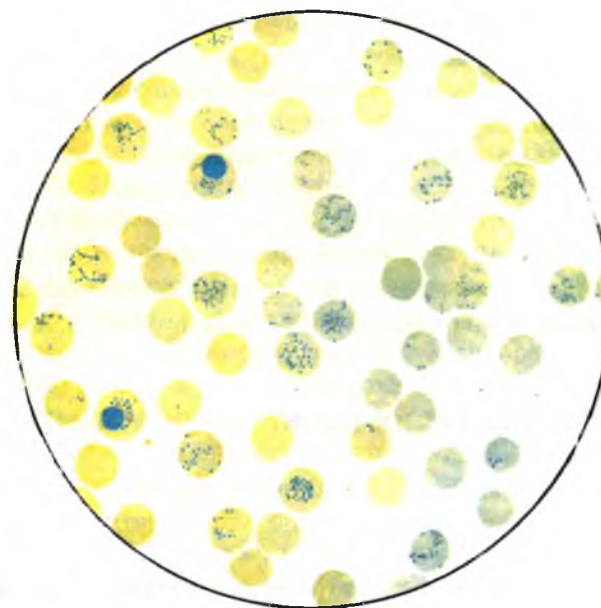


Рис. 21. Ретикулоцити. Суправітальне забарвлення метилкрезилблау

Визначення гематокритної величини

Гематокритна величина – це співвідношення об'єму плазми з об'ємом еритроцитів крові. Метод визначення гематокритної величини оснований на розділенні гепаринізованої плазми і еритроцитів за допомогою центрифугування.

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, гепарин або трилон Б, 5000 мЕ/мл, розведений дистильованою водою 1:5, гематокритна центрифуга, мікропіпетки, пластилін, скарифікатор, рукавички, дезінфекційний розчин.



Рис. 22. Мікроцентрифуга для визначення гематокритної величини

Хід визначення

Для попередження зсідання крові спеціальні скляні трубочки, які розділені на 100

рівних частин, промиваємо антикоагулянтом (гепарином або трилоном Б), висушуємо. Заповнюємо кожну із трубочок на 7/8 їх довжини кров'ю з пальця або вени і закриваємо з одного кінця пластиліном. Поміщаємо в центрифугу (рис. 22) так, щоб закриті кінці прилягали до гумової прокладки. Центрифугуємо протягом 5 хв при 8000 об/хв. Гематокритну величину визначають за допомогою спеціальної шкали.

Норма у жінок 36–42%, у чоловіків 40–48 %, у новонароджених 44–62°. Підвищення гематокритної величини спостерігається при еритремії, вторинному еритроцитозі, у новонароджених, а зниження – при анеміях.

ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ КРОВІ ТА РЕЗУС-ФАКТОРА

Залежно від наявності в крові аглютиногенів “А” і “В”, аглютининів “L” і “β” і від їх комбінацій усе людство поділяється на чотири групи.

I група – в еритроцитах аглютиногени відсутні, у сироватці містяться аглютинини “α” і “β”. Група крові 0 (I).

II група – в еритроцитах аглютиноген “А”, в сироватці – аглютинин “β”. Група крові А(II).

III група – в еритроцитах аглютиноген “В”, в сироватці – аглютинин “α”. Група крові В(III).

IV група – в еритроцитах аглютиногени “А” і “В”, в сироватці аглютинини відсутні. Група крові АВ(IV).

Групу крові визначають на основі реакції ізогема гліютинації.

В основі методів визначення групи крові лежить взаємодія антигенів еритроцитів з відповідними антитілами.

Для визначення групи крові зі стандартними сироватками або за допомогою моноклональних антитіл (тест-реагентів “Цоліклон”) використовують венозну кров.

Для дослідження венозну кров центрифугують для відокремлення сироватки. Отриману сироватку крові відбирають в окрему пробірку.

Визначення груп крові (системи АВО) стандартними сироватками

Матеріальне забезпечення: спирт 70°, вата, скарифікатор, стандартні сироватки двох різних серій кожної групи, ізотонічний розчин

хлориду натрію, скляні палички, білі пластинки, секундомір, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

В основі реакції лежить взаємодія антигену з антитілом.

На білу пластинку з позначками наносимо з ампул по одній великій краплі сироватки груп 0_{αβ} (I), A_β (II), B_α (III) двох різних серій. Поряд з ними наносимо по одній краплі досліджуваної крові. Скляною паличкою перемішуємо кров із сироваткою (для кожної краплі окремо, або після кожного перемішування промиваємо паличку в ізотонічному розчині хлориду натрію та витираємо насухо). Пластинку легко похитуємо, спостерігаючи за аглютинацією, протягом 5 хв. Якщо аглютинація з'явилася через 3 хв. від початку дослідження, додаємо по краплі ізотонічного розчину хлориду натрію для виявлення чіткішої аглютинації.

При відсутності аглютинації рідина залишається однорідною.

Якщо аглютинацію спостерігаємо в усіх краплях, то проводимо контроль. Якщо всі три сироватки дали аглютинацію, значить, група крові АВ(IV). Щоб виключити неспецифічну аглютинацію, дослідження обов'язково проводимо з сироваткою групи АВ(IV). Відсутність аглютинації підтверджує дану групу крові.

Оцінка результатів:

– якщо у всіх трьох краплях аглютинація відсутня, то досліджувана кров 0(1) групи;

– якщо аглютинація спостерігається у краплях з сироватками 0(1) і В(III) груп, то досліджувана кров А(II) групи.

– якщо аглютинація спо-

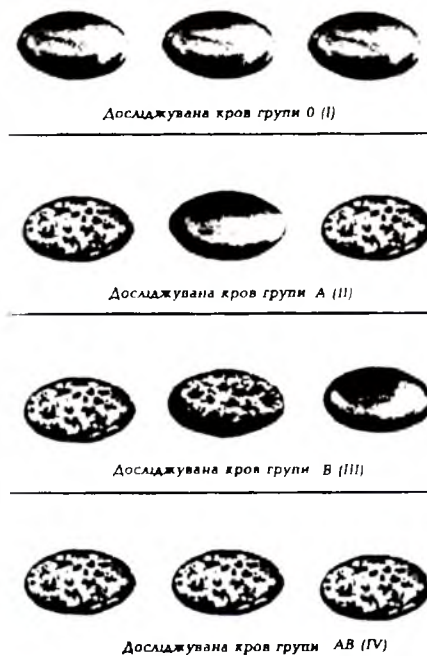


Рис.23. Оцінка результатів визначення груп крові стандартними сироватками

стерігається у краплях з сироватками 0(1) і А(II), то досліджувана кров В(III) групи.

– якщо аглютинація спостерігається у всіх трьох краплях, то досліджувана кров АВ(IV) групи (рис. 23).

Визначення групи крові (системи АВО) за допомогою стандартних еритроцитів

За допомогою стандартних еритроцитів встановлюємо наявність або відсутність групових аглютининів і, виходячи з цього, робимо висновки про групову належність даної крові.

Матеріальне забезпечення: досліджувана сироватка, стандартні еритроцити 0(1), А(II), В(III), штатив із хімічними пробірками, біла пластинка, секундомір, скляні палички, ізотонічний розчин хлориду натрію, дезрозчин, рукавички.



Досліджувана кров групи 0 (I)



Досліджувана кров групи А (II)



Досліджувана кров групи В (III)



Досліджувана кров групи АВ (IV)

Рис. 24. Оцінка результатів реакції ізогемоаглютинації зі стандартними еритроцитами

Хід визначення

На білу пластинку наносимо три краплі досліджуваної сироватки, до них додаємо по одній краплі стандартних еритроцитів: до першої краплі 0(1) групи крові; до другої краплі – А(II) групи крові; до третьої краплі – В(III) групи крові.

Якщо аглютинація відбулась через 5 хв. від початку дослідження, додаємо ізотонічний розчин натрію хлориду і перемішуємо скляною паличкою.

Оцінка результатів:

- якщо аглютинація відбулась у другій і третій краплях.
- досліджувана кров 0(1) групи;
- якщо аглютинація відбулась у третій краплі – досліджува-

на кров А(II) групи;

– якщо аглютинація відбулась у другій краплі – досліджувана кров В(III) групи;

– якщо аглютинація не відбулась у трьох краплях – досліджувана кров АВ(IV) групи (рис. 23).

Якщо не дотримуватися правил визначення груп крові, можуть бути допущені помилки.

Визначення групи крові за допомогою тест-реагентів “Цоліклон”

За допомогою тест-реагентів “Цоліклон” виявляють аглютиногени А і В в еритроцитах стандартними моноклональними груповими антитілами за допомогою цоліклонів анти-А, анти-В.

Матеріальне забезпечення: тест-реагент “Цоліклон”, білі пластинки, досліджувані еритроцити, скляні палички, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

На білу пластинку з позначками анти-А та анти-В наносимо по краплі тест-реагенту, додаємо по краплі досліджуваної крові, перемішуємо скляною паличкою. Похитуючи пластинкою, спостерігаємо за аглютинацією до 3 хв.

Таблиця 1

Оцінка результатів визначення групи крові

№з/п	Реакція досліджуваних еритроцитів з цоліклоном		
	анти-А	анти-В	Групи крові
1	-	-	0(I)
2	+	-	А(II)
3	-	+	В(III)
4	+	+	АВ(IV)

1. Аглютинації немає (-) з цоліклоном анти-А і анти-В. Відповідно, досліджувані еритроцити не мають антигенів А і В і кров належить до групи 0(1).

2. Аглютинація (+) спостерігається з цоліклоном анти-А. Відповідно, досліджувані еритроцити мають тільки антиген А і кров належить до групи А (II).

3. Аглютинація (+) спостерігається тільки з цоліклоном анти-В. Відповідно, досліджувані еритроцити мають тільки антиген В і кров належить до групи В (III).

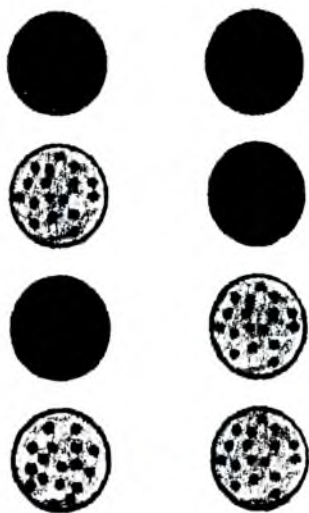


Рис. 25. Визначення групи крові за допомогою тест-реагентів "Цоліклон"

4. Аглотинація спостерігається з цоліклоном анти-А та з анти-В. Відповідно, досліджувані еритроцити мають обидва антигени (А і В) і кров належить до групи АВ (IV) (рис. 24).

Резус-фактор

У 1940 р. вчені Ландштейнер і Вінер відкрили ще один антиген – (Rh) резус. Він був названий *резус-антигеном*. Дістав назву від мавп, на яких проводилися досліди, – макакус-резус. Еритроцитами цих мавп імунізували кроликів, після чого сироватка крові цих кроликів набувала здатності аглютинувати еритроцити мавп-макак. Далі виявилось, що ця сироватка викликає склеювання еритроцитів не тільки мавп, але й більшості людей. Таким чином був виявлений новий антиген,

який називається резус-антигеном і міститься у 85% людей (Rh⁺) резус-плюс. Кров у 15% людей цього антигену не має. Така кров позначається (Rh⁻) – резус-від'ємний.

Резус-антиген неоднорідний. Найчастіше зустрічається D-антиген. Існують також С, Е та інші антигени системи резус.

Антигенні властивості передаються по спадковості.

Визначення резус-фактора методом конглотинації із застосуванням желатину

За допомогою цього методу досліджувані еритроцити інкубуємо зі стандартною антирезус-сироваткою, яка містить неповні Rh-антитіла в колоїдному середовищі (желатиновому розчині). Якщо досліджуємо еритроцити резус-позитивні, відбувається їх склеювання, якщо резус-негативні – еритроцити не склеюються. Це виявляється після додавання ізотонічного розчину (реакція конглотинації).

Матеріальне забезпечення: досліджувані еритроцити, штатив із серологічними пробірками 3 ряди, сироватка антирезус, 10% розчин

желатину, водяна баня, стандартні еритроцити, ізотонічний розчин хлориду натрію, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

У штатив ставимо 3 ряди серологічних пробірок, на кожному ряді пробірках з кров'ю підписуємо прізвище й ініціали пацієнта.

В однаково позначені три пробірки кожного ряду вносимо по 0,05 мл (1 крапля) досліджуваних еритроцитів. У три контрольні пробірки поміщаємо по 0,05 мл (1 крапля) стандартних резус-позитивних еритроцитів групи 0(1) однойменної з досліджуваною кров'ю. В інші три контрольні пробірки – по 0,05 мл (1 крапля) стандартних резус-негативних еритроцитів тієї ж групи, що і в досліджуваній крові.

Пізніше у всі пробірки додаємо по 0,1 мл (2 краплі) 10% розчину желатину, підігрітого до температури 48°C (до розчинення). У всі пробірки першого ряду додаємо по 0,1 мл (2 краплі) сироватки антирезус однієї серії, у пробірки другого ряду – по 0,1 мл (2 краплі) сироватки антирезус другої серії. У пробірки третього ряду не вводимо сироватки антирезус, ці пробірки служать контролем на відсутність неспецифічної аглютинації досліджуваних еритроцитів у присутності желатину. Вміст пробірок перемішуємо і поміщаємо на водяну баню при 48°C на 5 хв. або в термостат при тій же температурі на 30 хв. Після підігрівання доливаємо по 8–10 мл підігрітого ізотонічного розчину хлориду натрію, вміст пробірок перемішуємо і тоді розглядаємо їх на світлі або через лупу.

Результат оцінюємо: він може бути негативним або позитивним. Якщо кров резус-позитивна, в пробірці спостерігаються ледь помітні червоні зернятка або пластівці, які складаються зі склеєних еритроцитів. Якщо кров резус-негативна, в пробірці буде видно рідину, рівномірно забарвлену в рожевий колір.

Результати вважаємо достовірними при співпадінні в обидвох серіях стандартної сироватки антирезус.

У контрольних пробірках стандартні резус-позитивні еритроцити однойменної групи, або групи 0(I) з сироваткою антирезус повинні дати позитивний результат, а стандартні резус-негативні еритроцити однойменної групи – негативний. Крім цього, негативний результат повинен бути також у всіх пробірках третього ряду, тобто у пробірках без сироватки антирезус.

Визначення крові на біологічну сумісність

Матеріальне забезпечення: біла пластинка, сироватка реципієнта, еритроцити донора, скляна паличка, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

На білу пластинку наносимо одну краплю сироватки реципієнта, до неї додаємо краплю еритроцитів донора (співвідношення сироватка – еритроцити становить 10:1). Перемішуємо сироватку з еритроцитами скляною паличкою. Спостерігаємо протягом 5 хв. При наявності ознак аглютинації додаємо краплю ізотонічного розчину хлориду натрію і знову перемішуємо. Якщо відбулася аглютинація, то кров донора та реципієнта несумісна, отже, гемотрансфузію проводити не можна.

Примітка. Це дослідження обов'язково проводить перед гемотрансфузією лікар, відповідальний за переливання крові.

Визначення групи крові та резус-фактора обов'язкове для хворих, яким проводиться гемотрансфузія, а також для вагітних жінок і немовлят.

Щоб запобігти помилкам, які трапляються під час визначення групи крові та резус-фактора, необхідно:

- перевіряти терміни реактивів, сироваток, а також вказані на етикетці титри антитіл;
- користуватися стерильним матеріалом під час проколу шкіри пальця;
- користуватися для досліджень чистою та сухою пластинкою;
- дотримуватися правил співвідношення еритроцитів і сироватки;
- враховувати час спостереження за ходом аглютинації;
- скляні палички після змішування крапель обов'язково промити і витирати насухо;
- перевіряти справність водяної бані;
- досліджувати свіжу кров або кров, яка зберігалася в холодильнику не більше трьох діб (гемоліз – сироватка рожевого кольору – свідчить про те, що кров не можна досліджувати);
- проводити дослідження з сироваткою АВ(IV), якщо за результатами прямої реакції зі стандартними сироватками I, II, III груп спостерігається аглютинація в усіх краплях;
- обов'язково проводити контроль із сироватками двох серій.

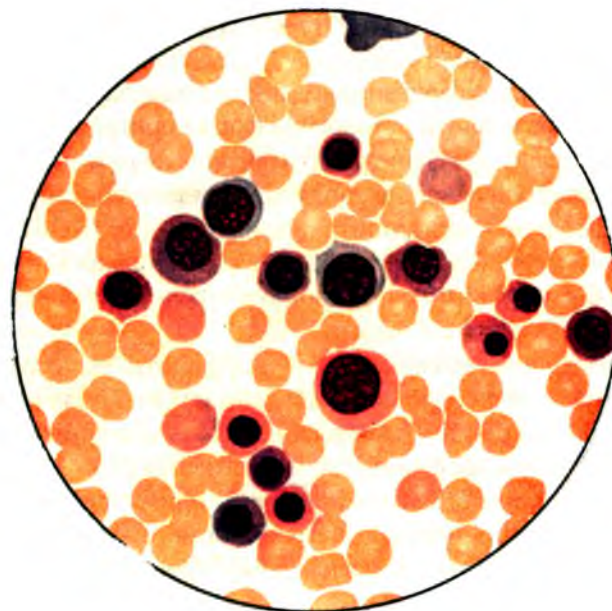


Рис. 26. Базофільні, поліхроматофільні та оксифільні пронормоцити та нормоцити

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, аніоцитоз, 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).

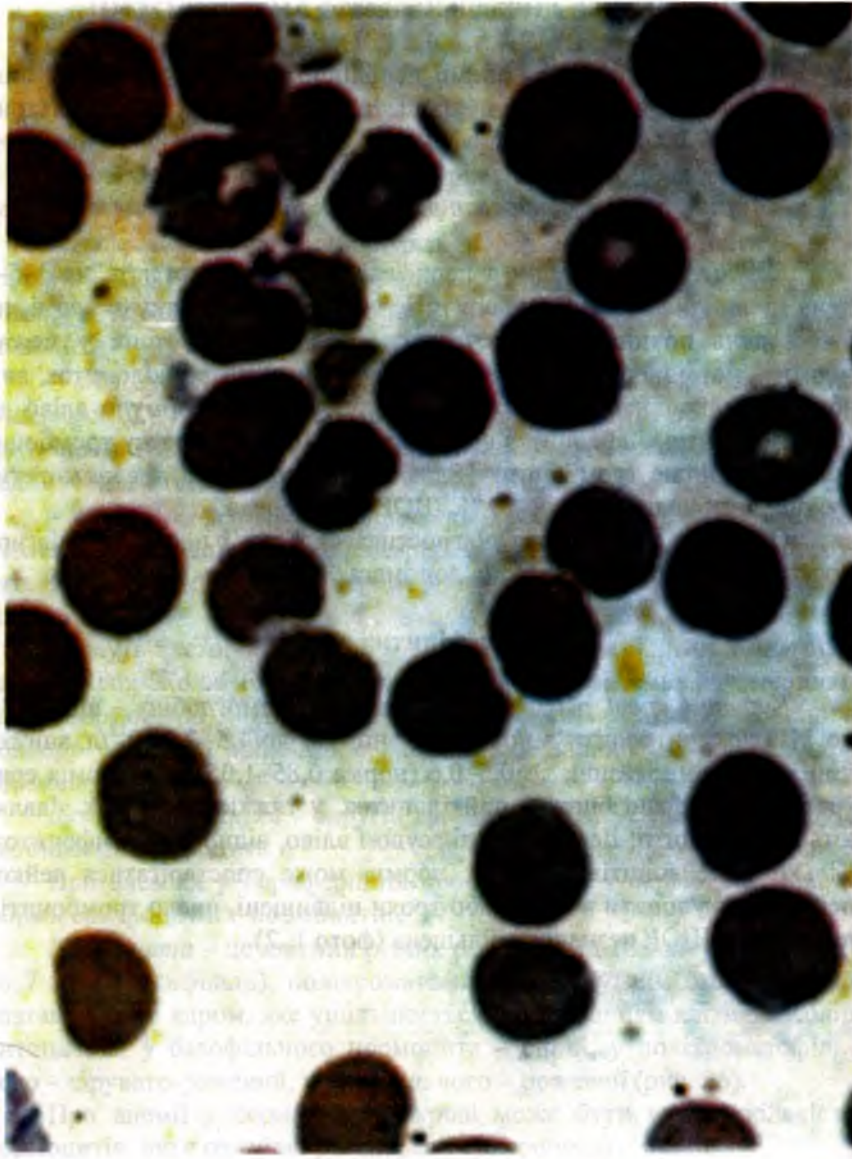


Фото 1. Нормохромні еритроцити. Периферична кров. Фарбування по Папенгейму (× 1000)

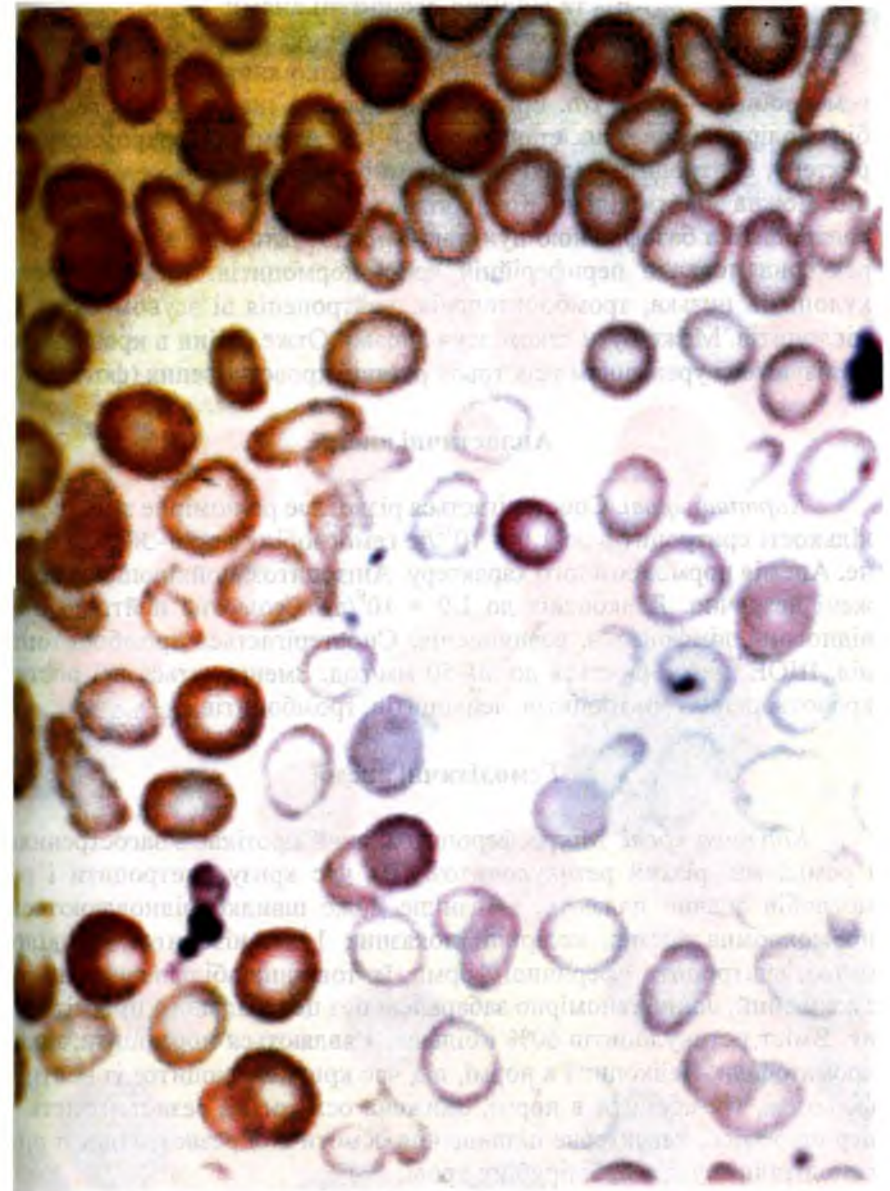


Фото 2. Залізодефіцитна анемія. Гіпохромія еритроцитів. Периферична кров. Фарбування по Папенгейму (x 1000)

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 мегалобласти, 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 кризи 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 кризи лейкоцитоз із нейтрофільозом, тромбоцити в нормі. Знижена осмотична резистентність у період ремісії, характерне підвищення осмотичної резистентності при гемолітичному кризі, білірубину крові.

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

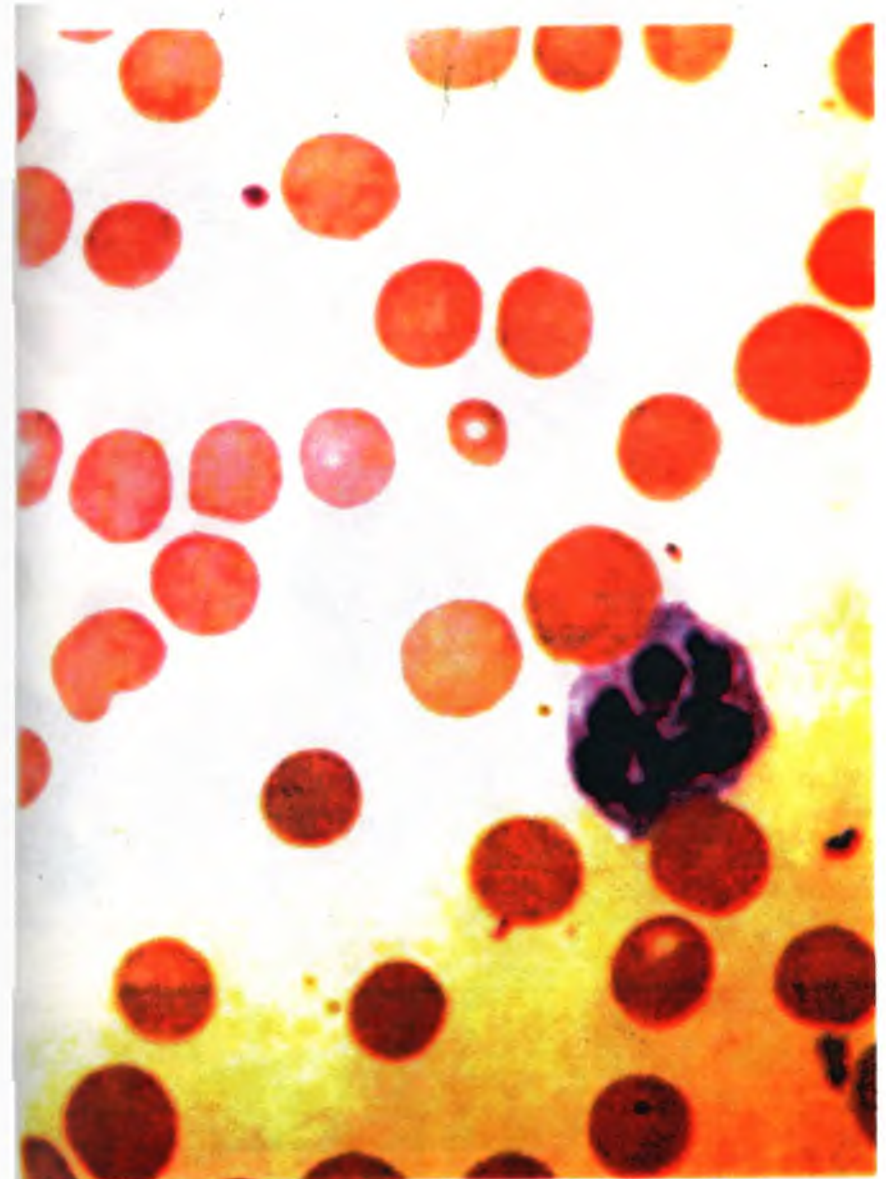


Фото 3. В₁₂-дефіцитна анемія. Периферична кров. Макроцитоз. Полісегментація нейтрофілів. Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

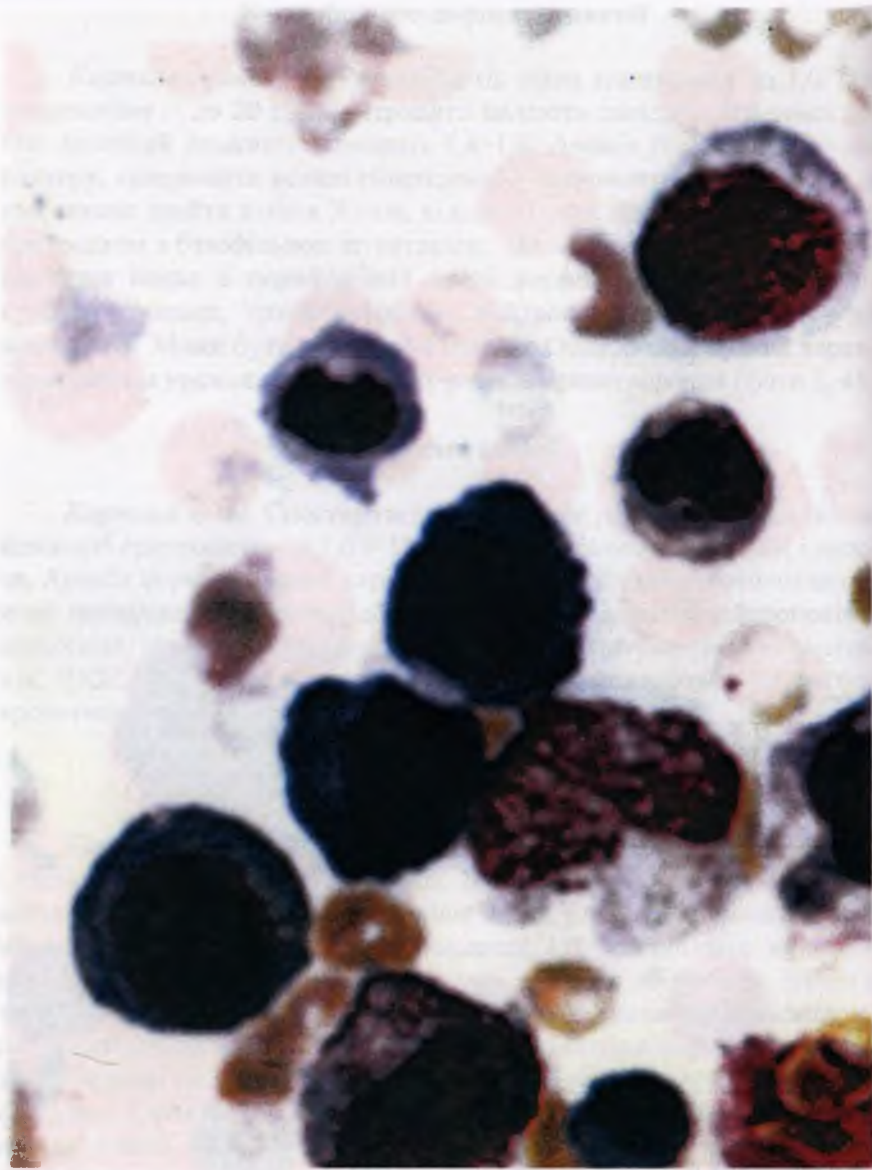


Фото 4. В₁₂-дефіцитна анемія. “Синій” кістковий мозок. Мегалобластичний тип кровотворення. Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

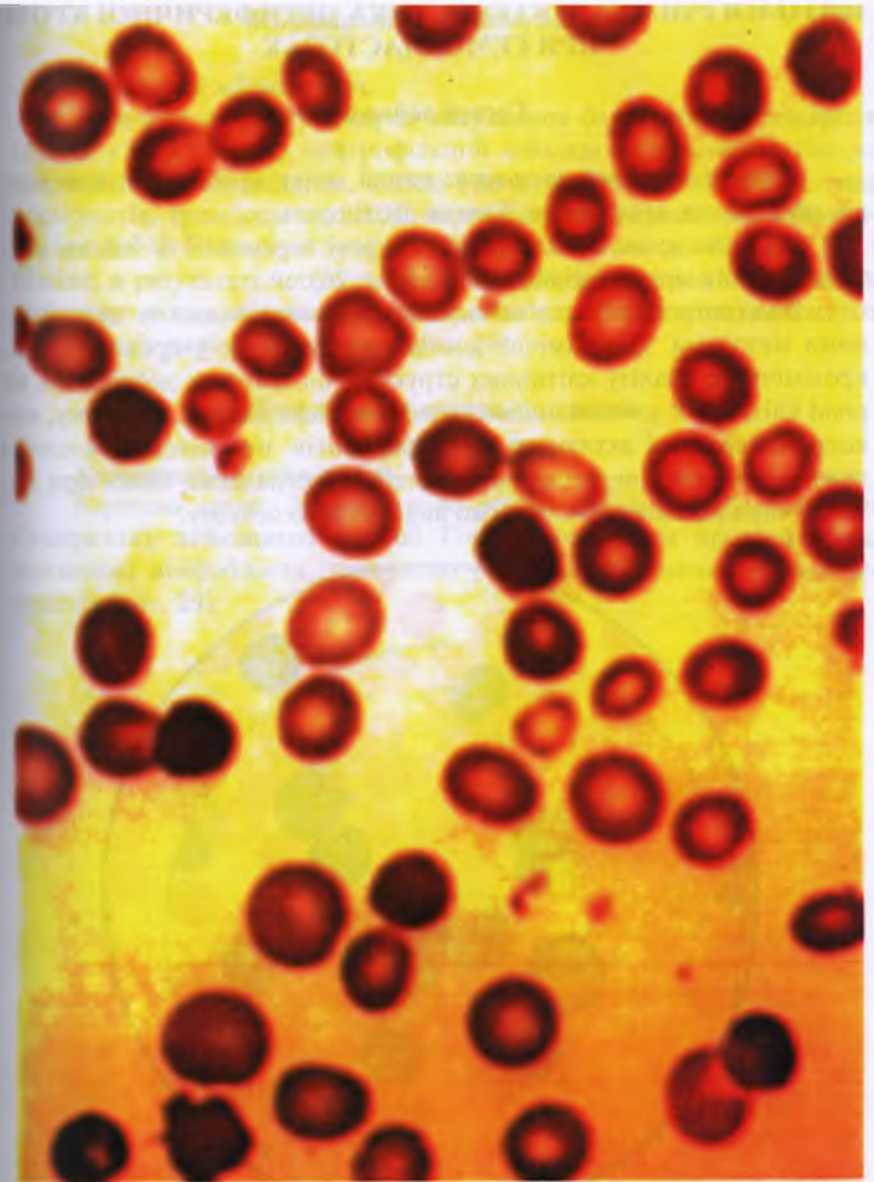


Фото 5. Мікросфероцитарна анемія. Периферична кров. Фарбування по Паппенгейму (x 1000)

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, мукopolісахаридів і активність ряду ферментів: пероксидази, кислій і лужної фосфатази, неспецифічних естераз. Розглядаємо мазки при цитохімічних реакціях і визначаємо вид гострого лейкозу.

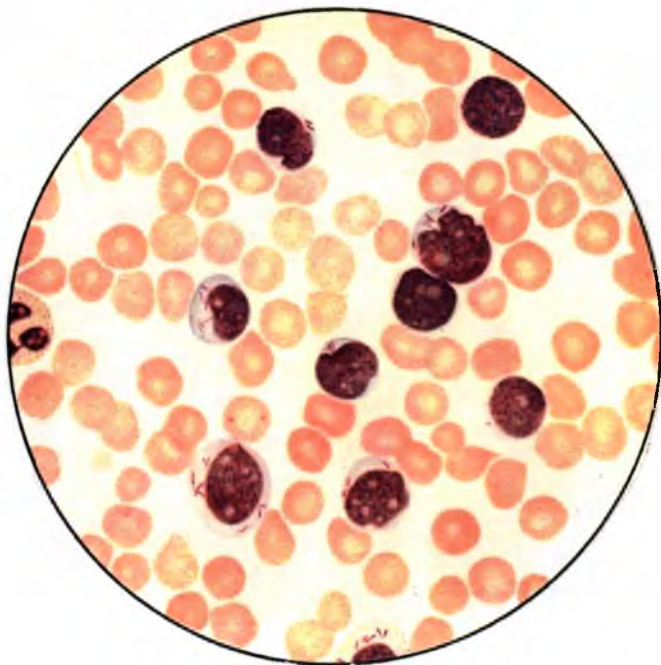


Рис. 27. Мієлобласти, в цитоплазмі палички Ауєра

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).

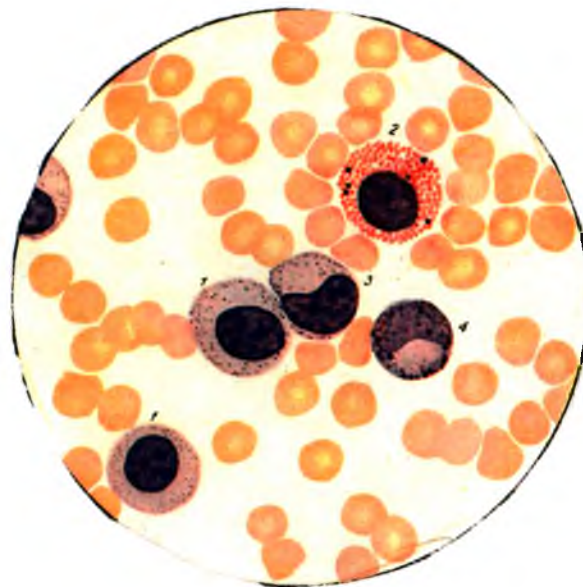


Рис. 28. 1 – Мієлоцит нейтрофільний; 2 – еозинофільний мієлоцит; 3 – метамієлоцит нейтрофільний; 4 – базофільний метамієлоцит

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).

ЛІМФОГРАНУЛЬОМАТОЗ

Для цього системного пухлинного процесу характерний розвиток лімфогранульоми з наявністю специфічних клітин Березовського – Штернберга або їх попередників – клітин Ходжкіна. Ці клітини великі, 40–80 мкм, округлої форми, ядра можуть бути круглі, бобовидні або лапчасті, розташовані ексцентрично. В ядрах видно нуклеоли, часто дуже великі (1–2), рідше менші (5–6). Зрілі клітини Штернберга мають декілька ядер. Дуже характерні клітини з двома однаковими за розміром і формою ядрами. Цитоплазма таких клітин базофільна.

Клітини Ходжкіна одноядерні, менших розмірів. Ядро округле, розташоване центрально, має 2–3 нуклеоли світло-голубого кольору. Цитоплазма неширока, базофільна, інтенсивно забарвлена.

Картина крові. Лейкопенія, еозинofilія, нейтрофільоз зі зсувом вліво, інколи в нейтрофілах токсична зернистість. У пізніх стадіях захворювання лімфоцитопенія, моноцитопенія. Збільшення кількості тромбоцитів до $400 \cdot 10^9/\text{л}$, ШОЕ – до 80 мм/год.

Діагностичним критерієм лімфогранульоматозу є поява в пунктаті лімфовузла клітин Березовського – Штернберга на фоні еозинofilії.

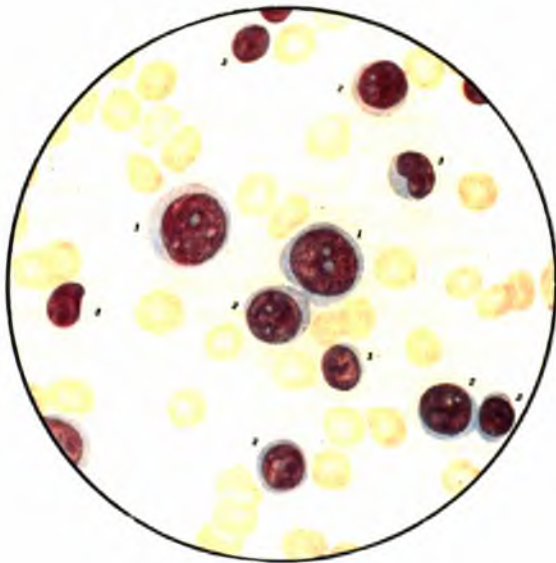


Рис. 29. 1 – Лімфобласти; 2 – пролімфоцити; 3 – лімфоцити

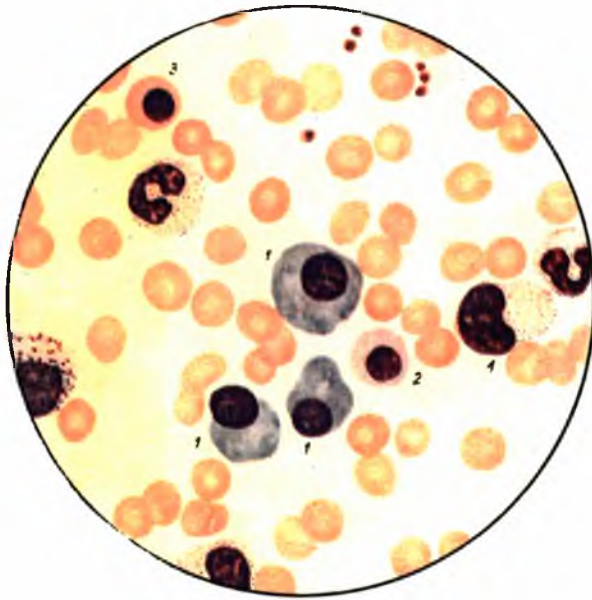


Рис. 29а. 1 – Плазматичні клітини; 2 – нормоцит поліхроматофільний;
3 – нормоцит оксифільний

Загальне дослідження крові

стор. 2 ф. № 224/0

Міністерство охорони здоров'я України		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ	
Найменування закладу		ФОРМА № 2/214/101	
Лабораторія		Затверджена наказом МОЗ України 014/011210/011р. № 111	
<p>КЛІНІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ № _____</p> <p>_____ " _____ 200__ р.</p> <p>(Дата взяття біоматеріалу)</p>			
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	Міелоцити		
	Метаміелоцити		
	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 _____
 поїкілоцитоз _____
 анізохромія _____

Висновок: _____

_____ " _____ 20__ р. Прізвище, І.Б. _____
(дата видачі аналізу) (підпис)

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.

Визначення фізичних властивостей та реакції сечі

Матеріальне забезпечення: сеча для дослідження, штатив із пробірками, піпетки, урометр, циліндри, лійки, фільтри, універсальний індикаторний папір, центрифуга, чорний фон, дезрозчин, рукавички.

У лабораторію сеча надходить з направленням, лаборант залишає її на 1–1,5 год для відстоювання, потім збирає осад сечі та визначає фізичні властивості в такій послідовності:

- кількість;
- колір;
- прозорість;
- запах;
- відносну густину;
- реакцію.

Осад може бути різного забарвлення: рожевий, сірий, білий, цегляно-червоний, бурий, зелено-жовтий; за характером – кристалічний або аморфний.

У центрифужну пробірку за допомогою скляної трубки збираємо осад із дна посудини, приблизно 10 мл. Марковані пробірки з сечею ставимо в центрифугу і центрифугуємо протягом 10 хв. при 1500 об/хв.

Кількість сечі вимірюємо в градуйованих циліндрах. Виділення сечі за певний проміжок часу називається діурезом. Визначаємо добовий, денний і нічний діурез. Добовий діурез здорової людини становить у нормі 1–2 л.

Збільшення діурезу – поліурія. Зменшення діурезу – олігурія. Зупинка виділення сечі – анурія.

У нормі денний діурез значно перевищує нічний. Збільшення виділення сечі в нічний час – ніктурія. Нетримання сечі – енурез. Почастішання ритму сечовипускання – полакіурія. Рідке сечовипускання – олігурія.

Колір сечі в нормі соломяно-жовтуватий, зумовлений наявністю урохрому, уроеритринів, уробіліну, гематопорфірину. У новонароджених дітей сеча безбарвна, на другий-третій день – янтарно-коричнева. Більш насиченого кольору сеча нічна, при олігурії. Водяниста – при поліурії. Червоний колір – при гемоглобінурії та гематуріях, порфіринурії, міоглобінурії, при прийомі сульфаніламідних препаратів, споживанні буряка, червоних ягід та ін. Сеча пивного кольору – з появою жовтої піни – при жовтяницях. Зелений відтінок сеча має теж при жовтяницях, при виділенні метиленової синьки (після вживання ревеню, листя сенни, препаратів хризотранової кислоти). Чорний колір – при стоянні, при алкаптонуриї або меланінуриї. Молочно-білий відтінок – внаслідок ліпуриї, фосфатуриї та ін.

Прозорість – у нормі свіжовиділена сеча прозора. Помутніння може виникнути за рахунок клітинних елементів, бактерій, слизу, жирів, солей.

Запах – у нормі специфічний. Аміачний – при запальних процесах, гнилісний – при гангренозних процесах, плодовий – при виділенні з сечею кетонових тіл, залежить від їжі (часник), лікарських препаратів.

Густину визначаємо за допомогою урометра (градуйованого від 1,000 до 1,050) та циліндра. Сечу наливаємо у циліндр об'ємом 50 мл так, щоб не утворилася піна (якщо утвориться, її необхідно зібрати фільтрувальним папером). Занурюємо у циліндр урометр, злегка натиснувши на нього. Відчитуємо результат по шкалі.

Густина ранньої сечі 1,014–1,028 (30). Протягом доби густина коливається, що пояснюється функцією нирок. Гіпостенурія (відносна густина в межах 1,015–1,007), буває при наростанні ниркової недостатності, хронічній нирковій недостатності, нецукровому діабеті, при зменшенні набряків, після надмірного вживання рідини. Гіперстенурія (густина 1,022–1,030) – при цукровому діабеті, накопиченні рідини в серозних порожнинах, наростанні набряків, у ранній фазі гострого нефриту, сухоїдінні, посиленому потовиділенні, блювоті, проносі. Ізостенурія – це тривале виділення сечі з густиною, що дорівнює густині первинної сечі 1,010, свідчить про важке ураження нирок, втрату ними здатності концентрувати і розбавляти сечу.

Реакцію сечі найчастіше визначають за допомогою універсального індикаторного папірця. Індикаторну зону паперу змочують досліджуваною сечею і порівнюють із кольором стандартної шкали. В нормі сеча має нейтральну або слабокислу реакцію (рН 7–5).

На реакцію сечі впливає харчування, вживання м'ясної їжі робить сечу кислою, рослинної – лужною.

Лужна реакція буває при циститі, після блювання та проносів, під час розсмоктування набряків та прийняття деяких ліків.

Кисла реакція буває при цукровому діабеті, важкій нирковій недостатності, подагрі, при сечокам'яній хворобі.

Проба Зимницького

Про функціональний стан нирок судять із результатів функціональних проб, найбільш фізіологічною з яких є проба Зимницького. Її переваги полягають у тому, що ця проба проводиться при звичайному харчовому режимі хворого і не вимагає попередньої підготовки.

Дослідження ведемо протягом доби, після випорожнення хворим о 6-й годині ранку сечового міхура. Потім через кожних три години хворий збирає сечу у 8 банок. У кожній порції визначаємо об'єм і відносну густину.

Підраховуємо денний, нічний, добовий діурез, співвідношення день/ніч, процент виділення рідини, визначають діапазон коливання відносної густини сечі.

При нормальній функції нирок із сечею виділяється 60-70% спожитої рідини (близько 1,5 л/ день/ніч/ = 3:1 (4:1), амплітуда коливання густини 1,003 – 1,028 (30 і більше). У дітей процент виділення рідини 75–80 %, збільшення при запальних процесах дистальних каналців.

При розвитку ниркової недостатності спостерігається перевага нічного діурезу над денним, значне зниження і зменшення діапазону значень густини, але до 1,010. Нічний діурез переважає над денним (денний/нічний 1:3; 1:4).

ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ

У кожній порції сечі, яка направлена в лабораторію для клінічного аналізу, обов'язково визначають білок та глюкозу. Кров'яні,

жовчні пігменти та кетонів тіла визначають за розпорядженням лікаря.

Визначення білка в сечі

За добу через ниркові клубочки фільтрується 30–50 г білка. В мішечку сечу потрапляє незначна його кількість, яку неможливо визначити звичайними методами. У сечі здорової людини білка немає. Поява білка в сечі називається протеїнурією.

Протеїнурії виникають при фільтрації білка з крові в нирки або внаслідок приєднання білка до сечі в сечовивідних шляхах. Залежно від причини розрізняють такі види протеїнурій:

- ниркові (ренальні);
- наднирникові;
- позаниркові (екстраренальні).

Ниркові протеїнурії поділяють на органічні та функціональні.

Органічні ниркові протеїнурії виникають як результат органічного ураження паренхіми нирок внаслідок збільшення проникності капілярів за рахунок запальних процесів, дегенеративних змін та ін. Вони завжди стійкі, довготривалі, кількість білка в сечі може бути різна – від слідів до 120 г/л.

Функціональні ниркові протеїнурії виникають внаслідок збільшення проникності пор ниркового фільтра або внаслідок сповільнення проходження крові в клубочках у відповідь на сильне зовнішнє подразнення:

- протеїнурія новонароджених у перші 4–10 днів пояснюється незміцнілим нирковим фільтром;
- інсулярні протеїнурії- аліментарні (при вживанні великої кількості білка), термічні, механічні, психічні. Наприклад: холодова, пальаторна, маршова, емоційна. Вони доброякісні, зникають після припинення дії подразника;
- ортостатична протеїнурія – при лордозі хребта у дітей;
- застійна протеїнурія – у серцевих хворих / стадії декомпенсації, при пухлинах живота (до 10 г/л), цирозах печінки.

код форми за ЄДРПОУ □□□□□□□□□□
Код закладу за ЗКПО □□□□□□□□□□

Міністерство охорони здоров'я України	МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ		
Найменування закладу _____	ФОРМА № [21111710] _____		
Лабораторія _____	Затверджена наказом МОЗ України	[0141011210101] р. № [11] _____	
АНАЛІЗ СЕЧІ ЗА ЗИМНИЦЬКИМ № _____			
" _____ " _____ 200 ____ р. (Дата взяття біоматеріалу)			
Прізвище, ім'я, по батькові _____ Вік _____			
Заклад _____ Відділення _____			
Медична карта № _____			
Клінічний діагноз (профогляд) _____			
Номер порції	Години	Густина	Кількість сечі (л)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
Денний діурез _____ (л)			
Нічний діурез _____ (л)			
Добовий діурез _____ (л)			
" _____ " _____ 20 ____ р. (дата видачі аналізу)		Прізвище, І. П. _____ (підпис)	

Наднирникові протеїнурії виникають при парапротеїнемічних гемобластозах, коли злуцується епітелій нирок через перевантаження білком і розвивається “міеломна нирка”.

Позаниркові протеїнурії зумовлені домішками білка, що виділяється сечовивідними шляхами і статевими органами. Зустрічаються при циститах, уретритах, простатитах, вульвовагінітах. Кількість білка невелика.

Матеріальне забезпечення: сеча для дослідження, штатив із пробірками, піпетки, чорний фон, секундомір, ФЕК, 20% сульфосаліцилова кислота, 50% азотна кислота, реактив Ларіонової, 3% сульфосаліцилова кислота, 10% ацетатна кислота, насичений хлорид натрію, експрес-тести, калібрувальний графік, дезрозчин, рукавички.

Якісне визначення білка в сечі

Проба з 20% розчином сульфосаліцилової кислоти

Ця проба найбільш якісна і чутлива на білок (чутливість 0,015 г/л). Дослідження проводимо у двох пробірках – дослідній і контрольній. Сеча повинна бути прозорою і мати кисло реакцію. Мутну сечу фільтруємо або центрифугуємо, лужну – підкислюємо ацетатною кислотою. У дослідну пробірку з 3–4 мл сечі додаємо 4–5 крапель 20% сульфосаліцилової кислоти. Друга пробірka – контроль. Розглядаємо на чорному фоні. При наявності білка в сечі виникає помутніння.

Експрес-метод

У клініко-діагностичній лабораторії використовуємо різні набори експрес-тестів:

“Біофам”, “Альбуфан”, “Асфан” та ін. Для визначення беремо смужку тесту, намочуємо індикаторну зону досліджуваною сечею, порівнюємо із кольором шкали. Якщо колір змінюється згідно зі стандартною шкалою, то це вказує на наявність білка. Визначення білка в сечі експрес-тестами проводимо згідно з інструкцією до тестів.

Проба Геллера

В аглютинаційну пробірку наливаємо 0,5–1,0 мл 50% азотної кислоти або реактиву Ларіонової, піпеткою набираємо стільки ж досліджуваної сечі. У лівій руці тримаємо аглютинаційну пробірку, правою рукою піпеткою по стінці напаровуємо сечу (на реактив).

Пробірку ставимо у вертикальне положення. Відчитуємо результат на чорному фоні. При наявності білка в сечі на межі двох рідин утворюється біле кільце. Воно буває ниткоподібне, компактне, широке. При позитивній якісній пробі визначаємо кількість білка в сечі одним із методів:

- методом Брандберга – Робертса – Стольнікова;
- фотометричним методом.

Визначення кількості білка в сечі

За методом Брандберга – Робертса – Стольнікова

В основі цього методу лежить кільцева проба Геллера з розведенням сечі.

Хід визначення

В аглютинаційну пробірку наливаємо 0,5–1 мл 50% азотної кислоти або реактиву Ларіонової, грушею у піпетку набираємо таку ж кількість досліджуваної сечі. Нашаровуємо сечу на реактив, включаємо секундомір. Результат відчитуємо залежно від часу утворення кільця: ниткоподібне кільце може утворитися – відразу; протягом 1 хв; протягом 3 хв; воно може бути ниткоподібне широке, компактне. Залежно від того, на якій хвилині утворилося кільце, здійснюємо розведення. Якщо ниткоподібне кільце утворилося відразу, то сечу розводимо у два рази.

Наприклад: Якщо з'явилося широке кільце, сечу розводимо в 4 рази (1 мл сечі + 3 мл дистильованої води). При наступному нашаруванні розведеної сечі може утворитися ниткоподібне кільце на першій хвилині відразу, тоді вираховуємо кількість білка в сечі.

$$0,033 \text{ г/л} \times 4 \text{ (ступінь розведення сечі)} \times 1 \frac{3}{8} (1,375) \text{ (поправка)} = 0,181 \text{ г/л білка}$$

Розведення сечі

Якщо утворилося широке кільце, сечу необхідно розвести в 4 рази (1 мл сечі + 3 мл дистильованої води). Якщо кільце компактне, то сечу розводимо у 8 раз (1 мл сечі + 7 мл дистильованої води).

Якщо ниткоподібне кільце утворилося відразу – розводимо сечу в 2 рази (1 мл сечі + 1 мл дистильованої води).

Розведення сечі з наступним нашаруванням проводимо доти, поки не з'явиться ниткоподібне кільце в інтервалі від 1 до 3 хв. При підрахунку кількості білка ступені розведення перемножуємо, множимо на чутливість проби 0,033 г/л. Слід пам'ятати про поправку, на якій хвилині утворилося ниткоподібне кільце, і подивитись у таблицю (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення кількості білка в сечі, г/л

Час утворення кільця	Поправка	Нерозведена сеча	Ступінь розведення												
			2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	
1–1 1/4	1 3/8	0,45	0,91	0,183	0,37	0,73	1,47	2,93	5,87	11,7	23,4	46,9	93,8	188	
1 1/4–1 1/2	1 1/4	0,042	0,083	0,166	0,33	0,67	1,33	2,67	5,33	10,6	21,3	42,6	85,3	171	
1 1/2–1 3/4	1 3/16	0,04	0,079	0,158	0,32	0,63	1,27	2,53	5,07	10,1	30,2	40,5	81	162	
1 3/4–2	1 1/8	0,037	0,075	0,15	0,3	0,6	1,2	2,4	4,8	9,6	19,2	38,4	76,8	146	
1 3/2–2 1/4	1 1/16	0,035	0,07	0,142	0,28	0,56	1,13	2,26	4,53	9,07	18,1	36,2	72,5	146	
2 1/2–3	1	0,033	0,066	0,133	0,27	0,53	1,07	2,13	4,27	8,53	27	34,1	68,3	137	
3–3 1/2	1 3/16	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	
3 1/2–4	7/16	0,029	0,058	0,117	0,23	0,47	0,93	1,87	3,73	7,47	14,9	29,9	59,7	119	

Фотометричний метод

Визначення кількості білка в сечі ґрунтується на тому, що білок із 3% сульфосаліциловою кислотою дає помутніння, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості білка.

Дослідження проводимо у двох центрифужних пробірках: “Д” – дослід і “К” – контроль. Набираємо в кожен з них по 1,25 мл профільтрованої сечі. В дослідну пробірку додаємо 3,75 мл 3% сульфосаліцилової кислоти, в контрольну – стільки ж фізіологічного розчину. Перемішуємо і через 5 хв фотометруємо на ФЕКу при оранжевому або червоному світлофільтрі в кюветі товщиною 5 мм проти контролю. Розрахунок ведемо по калібрувальному графіку.

При вмісті білка в сечі більше 1 г/л її слід розвести.

Виявлення білка в сечі має значення для діагностики протеїнуриї (органічних, функціональних, надниркових, позаниркових),

їх перебігу та лікування. Цінне діагностичне значення має визначення якісного складу білків у сечі – альбумінів і глобулінів. Визначення білка в сечі необхідне при органічних протеїнуриях (гломерулонефриті, пієлонефриті, нирковій недостатності, амілоїдозі, туберкульозі, пухлинах нирок, інфекційних і токсичних ураженнях нирок); при позаниркових протеїнуриях запальних процесах сечовивідних шляхів і статевих органів (кольпіті, простатиті, уретриті).

Визначення глюкози в сечі

Виділення із сечею глюкози називається глюкозурією і залежить від факторів:

- 1) від концентрації глюкози в крові після порогової концентрації;
- 2) від кількості сечі, профільтрованої через клубочок;
- 3) від кількості реабсорбованої в канальцях глюкози.

При нормальному функціонуванні нирок глюкозурія може виникнути тоді, коли рівень глюкози у крові перевищує нирковий поріг – 8,88–9,99 ммоль/л. Поняття ниркового порога відносно, його рівень залежить від функції нирок. У немовлят нирковий поріг вищий – до 12,77 ммоль/л. Він може підвищуватися при хронічних ниркових захворюваннях, введенні пігуїтрину, адреналіну і знижуватися при ураженні канальцевого апарата нирок (ренальний діабет), при введенні флоридзину.

Глюкозурії за механізмом виникнення поділяються на функціональні (фізіологічні) та патологічні. Функціональна (фізіологічна) глюкозурія – аліментарна – спостерігається при вживанні з їжею великої кількості глюкози, після прийому лікарських препаратів. У цих випадках її рівень у крові перевищує 9,9 ммоль/л (нирковий поріг).

Патологічні глюкозурії обумовлені порушенням обміну речовин і поділяються на ниркові та позаниркові.

До ниркових глюкозурій належить ренальний діабет – вроджене або набуте порушення реабсорбції глюкози в канальцях нефронів (нирковий поріг для глюкози знижений – напр., 6,9 ммоль /л), а також вторинна ренальна глюкозурія – при хронічних нефритах, нефрозах, глікогеновій хворобі, гострій нирковій недостатності, отруєнні (флоридзином), світлоклітинному раку нирки.

Позаниркові глюкозурії:

Цукровий діабет, який розвивається при недостатньому виділенні інсуліну, а також при наявності до нього резистентності.

Центральні (нервові) – при “цукровому уколі” дна IV шлуночка при черепних травмах, пухлинах мозку, менінгітах, токсикозах, енцефалітах, судомах, внутрішньочерепних крововиливах, наркозах, лихоманках, емоційних збудженнях.

Печінкові – при захворюваннях печінки, внаслідок порушення її функцій.

Гормональні – при патології гіпофіза (акромегалії, гігантизмі, синдромі Іценка-Кушинга), тиреотоксикозі, гіперплазії кори наднирників, передозуванні кортизону. Але всі позаниркові глюкозурії є свідченням схильності або навіть проявом цукрового діабету.

Матеріальне забезпечення: досліджувана сеча, штатив із пробірками, 4% розчин глюкози, водяна баня, дистильована вода, піпетки, експрес-тести, ФЕК, калібрувальний графік, реактив Гайнеса – Акімова, реактив Лестраде, дезрозчин, рукавички.

Якісні методи визначення глюкози в сечі

Визначення глюкози за пробою Гайнеса – Акімова

Проба Гайнеса ґрунтується на здатності глюкози при нагріванні в лужному середовищі відновлювати дигідроксид міді у гідрат закису і закис міді. В хімічну пробірку набираємо 2 мл реактиву Гайнеса і додаємо 4–6 крапель досліджуваної сечі. Нагріваємо на водяній бані або над полум'ям пальника до кипіння. При наявності глюкози синій колір змінюється на жовтий або оранжевий.

При відсутності глюкози в сечі колір не змінюється.

Експрес-метод

Дослідження проводимо згідно з інструкцією. Виявлення глюкози в сечі за допомогою глюкотесту основане на специфічному окисленні глюкози ферментом глюкозооксидазою. Гідроген пероксид, що утворюється при цьому, розщеплюється іншим ферментом – пероксидазою – і окислює барвник (ортотолуїдин, бензидин), при цьому утворюється зелене забарвлення. При наявності глюкози в сечі визначаємо її кількість.

Визначення глюкози в сечі колориметричним методом на ФЕКУ

Колориметричний метод визначення глюкози в сечі на ФЕКУ ґрунтується на тому, що при нагріванні сечі, яка містить глюкозу, з розчином їдкого натрію змінюється колір вмісту пробірки.

Досліджувану сечу (4 мл) змішуємо з 1 мл 10% розчину NaOH і ставимо у киплячу водяну баню на 3 хв. Через 10 хв. колориметруємо на ФЕКУ з зеленим світлофільтром у кюветі шириною 5 мм. Для контролю застосовуємо дистильовану воду. Кількість глюкози знаходимо по калібрувальній кривій, для побудови якої готуємо ряд стандартних розчинів глюкози. Слід пам'ятати, що сечу перед визначенням глюкози необхідно добре перемішати, а при високих концентраціях глюкози сечу потрібно розвести.

Виявлення глюкози в сечі має велике значення для діагностики хронічних нефритів, нефрозів, гострої ниркової недостатності, отруєння (флоридзином), глікогенової хвороби, цукрового діабету та інших захворювань.

Виявлення кетонових тіл у сечі

Кетонові тіла – це ацетон, ацетоацетатна кислота, β -оксимасляна кислота. У нормі білки, жири і вуглеводи розщеплюються через проміжні стадії до активної форми ацетату – ацетилкоензиму А, який розкладається згодом до кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O . Для його згоряння необхідний оксалацетат, який утворюється при розщепленні вуглеводів. При недостатньому засвоєнні вуглеводів або при надмірному засвоєнні жирів і білків порушується кількісне співвідношення між ацетилкоензимом А і оксалацетатом. Виникає нестача оксалацетату. В крові накопичується ацетилкоензим А. Це веде до конденсації його молекул між собою і до утворення проміжних сполук кетонових тіл, спричиняючи кетонемію, а потім і кетонурію. Кетонурії бувають аліментарного й органічного походження. Органічні кетонурії найчастіше спостерігаються при цукровому діабеті (переважно спостерігається кетонурія разом з глюкозурією).

Кетонові тіла – переважно кислоти і ацетон. Отже, значна кетонемія веде до порушення кислотно-лужної рівноваги в кислотний бік, може розвинути ацидоз, наслідком чого є ацидотична кома із судомами, блювотою, загальним важким станом. При кетонурії сеча набуває специфічного різкого запаху прілих плодів або ацетону. Визначення кетонових тіл не входить у загальний клінічний аналіз сечі.

Кетонові тіла виявляють у свіжій сечі на вимогу лікаря. При стоянні сечі ацетонова кислота розщеплюється до ацетону, який швидко випаровується.

Проба Ланге

Матеріальне забезпечення: досліджувана сеча, штатив із пробірками, 10% розчин натрію гідропрусиду, 25% розчин аміаку, натрій карбонат, амоній сульфат, натрій нітропрусид, експрес-набір для визначення кетонових тіл, реактив Лестраде, концентрована ацетатна кислота, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

У пробірку наливаємо 8–10 мл сечі, додаємо 0,5 мл свіжого 10% розчину нітропрусиду натрію і 0,5–1,0 мл концентрованої ацетатної кислоти, все перемішуємо. На цю суміш обережно нашаровуємо розчин аміаку. При наявності кетонових тіл на межі двох рідин виникає фіолетове кільце, інтенсивність якого визначається в плюсах, цифрами чи словами: слабо позитивна, позитивна, різко позитивна реакція.

Примітка. Кетонові тіла з натрієм нітропрусидом у лужному середовищі утворюють сполуку, яка має червоне або фіолетове забарвлення. Для приготування насиченого розчину нітропрусиду натрію необхідно до дрібки реактиву додати 3–4 мл дистильованої води і розмішати. В осаді повинні залишитися кристали.

Виявлення білірубину в сечі

Експрес-методи

Виявлення білірубину проводимо згідно з інструкцією до експрес-тестів. Наявність білірубину в сечі спостерігаємо при жовтяницях – паренхіматозних (токсичній, вірусній, травматичній); механічній (закупорці жовчних шляхів каменем, пухлиною).

Виявлення уробіліну в сечі

Виявлення уробіліну основане на прискоренні окиснення уробіліногену під дією окисника.

Проба Фпоранса

Матеріальне забезпечення: досліджувана сеча, штатив із пробірками, ефір, концентрована сірчана кислота, концентрована хлоридна кислота, реактив Ерліха, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

У пробірку наливаємо 10 мл сечі, підкислюємо кількома краплями концентрованої сірчаної кислоти і додаємо 2–3 мл ефіру. Пробірку щільно закриваємо корком і обережно прокочуємо по столі. У другу пробірку наливаємо 1–2 мл хлоридної кислоти і на неї нашаруємо ефірну витяжку з першої пробірки. При наявності уробіліну на границі двох рідин утворюється рожеве кільце. Його інтенсивність відмічаємо за допомогою плюсів, цифр або слів. Проба Флоранса дуже чутлива і може застосовуватися для визначення відсутності уробілінових тіл у сечі.

Експрес-метод

Виявлення уробіліну проводимо згідно з інструкцією.

Уробілінурія спостерігається при захворюваннях печінки, гемолітичній анемії та захворюваннях кишечника. Виявлення уробіліну в сечі має важливе діагностичне значення при інфекційному гепатиті, оскільки він з'являється в переджовтушній стадії. У період загострення, коли виражена жовтяниця, ахолічний кал, уробілінурія зникає і знову з'являється в період одужання.

Уробілінурію можна виявити при ентероколіті, тривалому голудуванні, тиреотоксикозі, інфекційних захворюваннях.

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 осадки 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;

Рожеватий – 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 урохрому. 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 ванно – білуваті кульки у вигляді гімнастичних гир (рис. 33).

Осади кислій 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 гирі або перехрещені барабанні палички. Розчиняються в кислотах з виділенням вуглекислого газу (CO₂).

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 центри-

фугуємо 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% розчином 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 перехідного 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 в 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.

Гематоїдин – 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 слизовою сечового міхура і плоскі з епітелію вагіни. При патологічних станах їх злущення 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 центрально. 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 двохаровий 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 циститі, 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).

код форми за ЄДРПОУ
 Код закладу за ЗКПО

Міністерство охорони здоров'я України		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ	
Найменування закладу		ФОРМА № <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Лабораторія		Затверджена наказом МОЗ України	
		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
АНАЛІЗ СЕЧІ ЗАГАЛЬНИЙ № _____			
" _____ " _____ 200__ р.			
(Дата взяття біоматеріалу)			
Прізвище, ім'я, по батькові _____		Вік _____	
Заклад _____		Відділення _____	
Медична карта № _____			
Клінічний діагноз (профогляд) _____			
Фізико-хімічні властивості			
Показники	Результат	Норма (в одиницях СІ)	
Кількість _____ мл (доставлено)			
Колір		світло-жовтий	
Прозорість		прозора	
Уретральні нитки		-	
Густина		1,001 – 1,040 г/см ³	
Реакція (pH)		5,0-7,0	
Білок (г/л)		-	
Глюкоза (ммоль/л)		-	
Кетонні тіла		-	
Реакція на кров		-	
Білірубін		-	
Уробілінові тіла		-	
Жовчні кислоти		-	
Індикан		сліди	
Мікроскопічне дослідження			
Еритроцити		2-4 в полі зору у жінок	
Лейкоцити		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, циліндроподібний, уретральний)		поодинокий	
Солі			
Бактерії			
Висновок			
" _____ " _____ 20__ р.		Прізвище, І., П., _____	
(дата видачі аналізу)		(підпис)	

Гіаліново-крапельні циліндри – складаються з матових білуватих крапель гіаліну (нагадують сірий каракуль), зустрічаються при глибоких процесах у нирках (хронічний гломерулонефрит, нефроз).

Вакуолізовані циліндри – епітеліальні циліндри в стадії вакуолізації – при важких ураженнях нирок (особливо при гематурійній формі хронічного гломерулонефриту).

Циліндроїди – довгі, ніжні, бліді стрічкоподібні утвори з поздовжньою посмуго-ваністю, на кінцях розщеплені, складаються зі слизу (рис. 31).

Фібрин – з'являється у сечі на 2–3 день після макрогематурії. В осаді змінні фрагментовані еритроцити.

Еластичні волокна – разом із гноем чи кров'ю при некротичних процесах у дрібних, тканинних фрагментах, при новоутвореннях, туберкульозі, абсцесах сечостатевого органів.

Елементи новоутворень – при раку сечового міхура, матки і шийки матки, статевого члена, при раку нирок, пухлині Вільямса зустрічаються разом з еластичними волокнами і кристалами гематойдину.

Гігантські клітини Пирогова – Ланганса – округлі клітини з великою кількістю ядер еліпсоїдної форми, розташовані по периферії цитоплазми. Зустрічаються при туберкульозі нирок разом із сирнистим некрозом.

Уретральні нитки – білуваті нитки від кількох міліметрів до кількох сантиметрів, складаються зі слизу, лейкоцитів, епітелію сечовипускного каналу. Можуть бути слизистими чи слизисто-гнійними при хронічному уретриті. Елементи сперми і секрету простати в нормі та при захворюваннях статевих органів: амілоїдні тільця, зерна ліпідів, сперматозоїди, епітелій простати.

Кількісні методи дослідження сечі

Осади сечі досліджуються орієнтовними та кількісними методами.

Для діагностики стертих і прихованих форм нефриту, пієліту, пієлонефриту, особливо коли кількість формених елементів незначна (в межах 10–15 лейкоцитів), використовують кількісні методи дослідження осаду сечі. Для детальнішої діагностики застосовуються метод Аддїса – Каковського, яким визначають кількість елементів у сечі, виділених за добу, та метод Амбурже, яким визначають кіль-

кість елементів у сечі, виділених за 1 хв. Обидва методи незручні, бо вимагають точного збирання і врахування об'єму сечі.

Через це у клініко-діагностичній лабораторії використовують метод Нечипоренка.

При пієлонефритах і запаленнях сечовивідних шляхів зростає загальна кількість формених елементів, але з переважанням кількості лейкоцитів над еритроцитами, кількість циліндрів не збільшується.

При гломерулонефритах еритроцити переважають над лейкоцитами, збільшується кількість циліндрів.

Матеріальне забезпечення: сеча для дослідження, центрифуга, мірні центрифужні пробірки, піпетки з грушами, камери Горяєва, мікроскопи, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Для дослідження беремо середню порцію ранішньої сечі. У лабораторії визначаємо реакцію сечі (при лужній сечі елементи осаду можуть частково руйнуватися). Старанно перемішуємо сечу, набираємо в мірну центрифужну пробірку 10 мл і центрифугуємо 5 хв. при 1500 об/хв. Після центрифугування відбираємо піпеткою з грушею надосадову сечу, залишаючи 1 мл/1000 мкл. Залишену сечу з осадом старанно перемішуємо і заповнюємо камеру Горяєва. Через 3–5 хв проводимо підрахунок лейкоцитів. Підрахунок лейкоцитів, еритроцитів і циліндрів проводимо з окуляром 7×, об'єктивом 40× при опущеному конденсорі у 100 великих нерозграфлених квадратах сітки.

Розрахунок проводимо за формулою:

$$x = \frac{A \cdot 4000 \cdot 10^6}{1600 \cdot 10} = \frac{A}{4} \cdot 10^6,$$

де x – число формених елементів в 1 л сечі;

A – число формених елементів у 100 великих квадратах сітки камери Горяєва;

4000 – коефіцієнт переведення об'єму одного малого квадрата (1/4000 мкл) в об'єм, рівний 1 мкл;

1600 – число малих квадратів у 100 великих;

10 – відношення об'єму процентрифугованої сечі до об'єму надосадової рідини разом з осадом;

10^6 – кількість мікролітрів в 1 літрі.

Якщо у сечі є велика кількість формених елементів, їх важко порахувати в камері, тоді осад розводимо у 2–4 рази. Це розведення враховуємо при остаточному розрахунку результатів дослідження.

У здорової людини (за методом Нечипоренка) в 1 л сечі може бути лейкоцитів не більше як $4 \cdot 10^6$, еритроцитів $1 \cdot 10^6$, циліндрів 0–1 на 4 камери підрахунку.

При оцінці одержаних результатів слід враховувати таку тенденцію:

а) при пієлонефритах і запаленнях сечовивідних шляхів зростає загальна кількість формених елементів, але з переважанням лейкоцитів над еритроцитами кількість циліндрів не збільшується;

б) при гломерулонефритах еритроцити переважають над лейкоцитами, збільшується кількість циліндрів.

код форми за ЄДРПОУ	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Код закладу за ЗКПО	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА ХВОРОБ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

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 суб-максимальних 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.

Визначення фізичних властивостей шлункового вмісту

Матеріальне забезпечення: шлунковий вміст для дослідження, мірний циліндр, штатив з бюреткою для титрування, 0,5% спиртовий розчин диметиламідозобензолу, 1% розчин натрію алізаринсульфонокислого, 0,1 нормальний NaOH, хімічні склянки, лійка, фільтри (марлеві), піпетки, 1% розчин фенолу, 10% розчин хлоридної кислоти, термостат, нормограми, дезрозчин, 10% розчин хлориду заліза, рукавички.

Хід визначення

У кожній порції шлункового вмісту визначаємо об'єм, колір, запах, домішки.

Об'єм визначаємо мірним циліндром, решту показників – органолептично. На об'єм шлункового вмісту можуть впливати домішки залишків пробного сніданку, слини, жовчі, секрету підшлункової залози. При значному збільшенні об'єму порції натще в першу чергу можна думати про порушення евакуаторної функції шлунка. Слід відзначити, що об'єм шлункового вмісту збільшується також при додаванні у їжу спецій, при емоційно-психічному збудженні, після прийому неконцентрованих розчинів алкоголю.

Колір шлункового вмісту в нормі злегка сіруватий. При дуоденогастральному рефлюксі, що супроводжується ахілією чи зниженою

Міністерство охорони здоров'я України	МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ ФОРМА № 21111/01 Затверджена наказом МОЗ України 01410112101011р.
Найменування закладу	
Лабораторія	

АНАЛІЗ СЕЧІ ЗА НЕЧИПОРЕНКОМ № _____

" _____ " _____ 200__ р.

(Дата взяття біоматеріалу)

Прізвище, ім'я, по батькові _____	Вік _____
Заклад _____	Відділення _____
Медична карта № _____	
Клінічний діагноз (профогляд) _____	

Найменування показників	Результат	Норма
Кількість лейкоцитів		до 2000/мл
Кількість еритроцитів		до 1000/мл
Кількість циліндрів		до 20/мл

" _____ " _____ 200__ р. Прізвище, І. Б. _____
підпис

кислотністю, колір жовтий, а при підвищеній кислотності – зелений. У разі внутрішньошлункової кровотечі та відсутності вільної хлоридної кислоти шлунковий вміст червоного кольору, а при наявності хлоридної кислоти – коричневого кольору, кольору кавової гущі – при раку шлунка.

Запах шлункового вмісту в нормі злегка кислуватий. При зниженні рівня хлоридної кислоти чи її відсутності й утворенні продуктів бродіння шлунковий вміст набуває запаху органічних кислот (масляної, молочної чи ацетатної). Гнилісний запах свідчить про розпад білка або пухлини.

Домішки – слиз знаходять у нормальному шлунковому вмісті в помірній кількості. Збільшення спостерігається при захворюваннях з пониженою кислотністю, ахілією чи гіпертрофією слизової оболонки. При атрофічному гастриті або при підвищеній кислотності кількість слизу знижена або відсутня. При патології можуть бути домішки крові, жовчі, їжі, тканинні грудки.

Хімічне дослідження шлункового вмісту

При дослідженні кислотоутворюючої функції шлунка визначаємо загальну кислотність, вільну хлоридну кислоту, зв'язану хлоридну кислоту (ту, що вступила в реакцію з гастромукопротеїном) і кислотний залишок, який складається з органічних кислот (масляної, молочної, ацетатної) та кислореагуючих фосфатів.

Для кількісного визначення кислотності використовуємо титраційні методи Міхаеліса і Тепфера, внутрішньошлункову рН-метрію та ін.

Для титрування використовуємо індикатори, які змінюють свій колір залежно від рН. Для визначення загальної кислотності шлункового вмісту застосовуємо індикатор фенолфталеїн, який у кислому середовищі безбарвний, а в лужному (при рН 8,2–8,5) набирає малинового кольору. Індикатор диметиловий жовтий (диметиламідозобензол) у присутності вільної хлоридної кислоти при рН 2,4–4,0 стає червоним, а при її відсутності – жовтим. Індикатор алізариновий червоний (алізаринсульфоновокислий натрій) у кислому середовищі набуває жовтого кольору, а при рН 4,3–6,3 – фіолетового.

Якщо диметиловий жовтий при додаванні до шлункового вмісту набуває червоного чи оранжевого кольору, то титрують за методом Міхаеліса, а якщо жовтого кольору – то за методом Тепфера.

При титруванні цими методами зміну кольорів можна трактувати помилково, що позначається на результатах дослідження. Щоб запобігти помилкам, використовуємо контрольне дослідження рН шлункового вмісту. Таким чином, контрольна рН-метрія включає об'єктивну оцінку зміни забарвлення шлункового вмісту і цим збільшує точність дослідження. Крім цього, за допомогою рН-метра можна визначити темп секреції Н-іонів. Темп стимульованої секреції у здорових людей коливається в межах від 5 до 20 ммоль/год, а для базальної секреції – менше (приблизно в 7,7 раза). При хронічному гастриті з атрофією залоз шлунка темп стимульованої секреції не перевищує 2 ммоль/год, а при кишковій метаплазії слизової оболонки шлунка він може бути не менше 0,01 ммоль/год.

Визначення кислотності за методом Міхаеліса

Хід визначення

Шлунковий вміст титруємо за методом Міхаеліса. Відмірюємо центрифужною пробіркою 5 або 10 мл фільтрату, виливаємо у хімічну склянку, додаємо 1–2 краплі фенолфталеїну і 1–2 краплі розчину диметилового жовтого. В бюретку титрувальної установки наливаємо розчин лугу і починаємо титрувати. При наявності у шлунковому вмісті вільної хлоридної кислоти рідина забарвлюється в червоний колір, тоді її титруємо за методом Міхаеліса. Відмічаємо початковий рівень NaOH і титруємо:

- а) до появи рожево-жовтого кольору (мітка 1);
- б) до появи лимонно-жовтого кольору (мітка 2);
- в) до появи стійкого малинового кольору (мітка 3).

Вираховуємо об'єм лугу, який витратили на титрування до кожної мітки.

За 1 міткою (індикатор диметиламідозобензол) визначаємо вільну хлоридну кислоту; об'єм лугу, який витратили, множимо на 20 (якщо для титрування брали 5 мл шлункового вмісту) або на 10 (якщо для титрування брали 10 мл шлункового вмісту), оскільки перерахунок проводимо на 100 мл шлункового вмісту.

За 3 міткою (індикатор фенолфталеїн) визначаємо загальну кислотність, перемноживши аналогічно.

Загальну хлоридну кислоту – визначаємо, додаючи другу мітку до третьої, ділимо на два і множимо на 10 або 20.

Зв'язану хлоридну кислоту визначаємо, віднявши від загальної хлоридної кислоти вільну хлоридну кислоту.

Кислотний залишок знаходимо, віднявши від загальної кислотності загальну хлоридну кислоту.

Приклад розрахунків:

Для титрування беремо 10 мл шлункового вмісту. В бюретці 0,1 N розчин луку на поділці "0":

– при появі рожево-жовтого кольору рівень луку на поділці 2,5 (1 мітка);

– при появі лимонно-жовтого кольору на поділці 3,5 (2 мітка);

– при появі стійкого рожевого кольору на поділці 5,5 (3 мітка).

Вільна хлоридна кислота: $2,5 \cdot 10 = 25$ ммоль /л.

Загальна хлоридна кислота: $\frac{3,5+5,5}{2} \cdot 10 = 45$ ммоль /л.

Зв'язана хлоридна кислота: $45-25 = 20$ ммоль/л.

Загальна кислотність: $5,5 \cdot 10 = 55$ ммоль/л.

Кислотний залишок: $55-45 = 10$ ммоль/л.

Визначення кислотності за методом Тенфера

Хід визначення

Титрування шлункового вмісту за Тенфером проводимо послідовно у двох скляночках. Для цього в кожен з них відмірюємо по 5 або по 10 мл профільтрованого шлункового вмісту. До першої порції додаємо 1–2 краплі фенолфталеїну та 1–2 краплі диметиламідозобензолу, до другої- 1–2 краплі алізаринсульфоновокислого натрію.

У першій скляночці титруємо до появи рожево-жовтого кольору (1 мітка), далі, пропускаючи лимонно-жовтий колір, – до стійкого малинового кольору (2 мітка).

У другій скляночці титруємо відразу до появи сіро-фіолетового кольору (3 мітка).

За даними титрування першої порції вираховуємо вільну хлоридну кислоту (по 1 мітці), загальну кислотність (по 2 мітці).

Різниця між 3 і 2 мітками, помножена відповідно на 20 або на 10, – це кислотореагуючі валентності, крім зв'язаної. Щоб вирахувати

зв'язану хлоридну кислоту, треба від загальної кислотності відняти всі кислотореагуючі валентності. Якщо від загальної кислотності відняти вільну і зв'язану хлоридну кислоту, то залишиться кислотний залишок.

Приклад розрахунків:

Для титрування беремо по 5 мл шлункового вмісту в дві скляночки:

– при появі рожево-жовтого кольору рівень 0,1 N розчину луку на мітці 2,0 мл (1 мітка);

– при появі малинового кольору на мітці 3,0 мл (2 мітка);

– при появі сіро-фіолетового кольору в другій порції шлункового вмісту на мітці 5,2 (3 мітка).

Вільна хлоридна кислота: $2,0 \cdot 20 = 40$ ммоль/л

Загальна кислотність: $3,0 \cdot 20 = 60$ ммоль/л

Всі регулюючі валентності, крім зв'язаної: $(5,2 - 3,0) \cdot 20 = 44$ ммоль/л

Зв'язана хлоридна кислота: $60-44 = 16$ ммоль/л

Кислотний залишок: $60 - (40 + 16) = 4$ ммоль/л.

Таблиця 3

Нормальні показники секреторної діяльності шлунка

Показник	Нагше	Базальна секреція	Послідовна секреція на подразник		
			харчовий	гістамін (субмакс.)	гістамін (макс.)
Об'єм, мл	до 50	50–100	50–100	110–140	150–200
Загальна кислотність, ммоль/л	до 40	40–50	40–60	90–100	100–200
Вільна хлоридна кислота, ммоль/л	до 20	20–40	80–40	65–85	80–100
Зв'язана хлоридна кислота, ммоль/л	до 10	10–15	10–15	15–20	14–16
Дебіт вільної хлоридної кислоти, мекв	–	1,0–4,0	1,0–4,5	5,6–12	16,24
Пепсин за Туголуковим, г/л	до 0,2	0,3–0,45	0,2–0,45	0,5–0,63	0,4–3,6

Визначення дебіту хлоридної кислоти

Для об'єктивнішої оцінки кислотоутворюючої функції шлунка запроваджено поняття дебіту хлоридної кислоти, яке характеризує абсолютну її кількість, виділену за одиницю часу (1 год), і виражене в мілімолях. При вирахуванні дебіт-часу хлоридної кислоти користуємося такою формулою:

$$Dч = V \cdot E \cdot 0,001 + V \cdot E \cdot 0,001 + V \cdot E \cdot 0,001 + V \cdot E \cdot 0,001,$$

де $Dч$ – дебіт-час хлоридної кислоти, ммоль;

V – об'єм порції шлункового вмісту, мл;

E – концентрація хлоридної кислоти, титрометричних одиниць.

0,001 – кількість хлоридної кислоти в 1 мл шлункового вмісту при її концентрації, яка дорівнює 1 титрометричній одиниці.

Оскільки величина дебіт-часу залежить від годинного напруження секреції, то слід намагатися найповніше відбирати шлунковий вміст при зондуванні.

У лабораторній практиці для полегшення визначення дебіт-часу користуються номограмою.

У нормі дебіт-час вільної хлоридної кислоти ВАО (базальна секреція) становить 1–4 ммоль/год, SAO – 6,5–12 ммоль/год, MAO (максимальна секреція) – 16–24 ммоль/год.

Величина ВАО у осіб з анацидним і гіпоацидним гастритом, раком шлунка становить 0–1 ммоль/год, у здорових людей і осіб з нормацидним гастритом – 1–4 ммоль/год, з виразкою шлунка або дванадцятипалої кишки – 4–5 ммоль/год, для виразки дванадцятипалої кишки характерна ВАО більше 5 ммоль/год, при синдромі Золінгера - Еллісона – 10–20 ммоль/год.

MAO = 0 – істинна ахлоргідрія спостерігається при атрофічному гастриті, раку шлунка. Від 1 до 18 ммоль/год- вказує на недостатню кислотну продукцію при гастриті чи раку шлунка; 18–20 ммоль/год – у здорових людей або в осіб з нормоцидним гастритом; 20–26 – при підвищеній кислотній продукції.

У здорових людей ВАО: MAO становить 1:6.

Вирахування дебіт-часу за формулою. Це складний процес, тому користуємося номограмою Калініченка (рис. 37а). З'єднуємо лінійкою цифри, що відповідають об'ємові та кислотності шлункового вмісту на протилежних гілках кривої. У місці перетину лінійки з вертикальною віссю знаходимо значення дебіту хлоридної кислоти.

Визначення молочної кислоти за методом Уффельмана

Крім хлоридної кислоти, у шлунковому вмісті можуть бути інші кислоти, із яких найбільше значення має молочна. Вона з'являється в результаті порушення обміну речовин при раку шлунка або при застійних явищах у шлунку, якщо відсутня вільна хлоридна кислота і присутні палички молочнокислого бродіння.

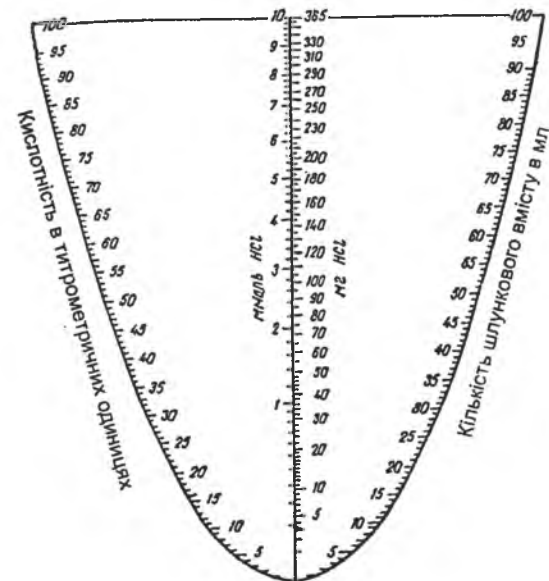


Рис. 37а. Номограма для визначення дебіту хлоридної кислоти за показниками кількості та кислотності шлункового вмісту

Хід визначення

На молочну кислоту досліджуємо порцію натще. В хімічну пробірку вносимо 2–3 мл розчину фенолу і додаємо 1–2 краплі розчину хлориду заліза. Одержаний темно-фіолетовий розчин розводимо водою до світло-фіолетового кольору. По краплі додаємо профільтрований шлунковий вміст. При наявності молочної кислоти суміш набуває лимонно-жовтого кольору.

Визначення ферментативної активності за методом Туголукова

Таблиця 4

В основі методу визначення ферментативної активності шлункового вмісту лежить вивчення перетравленого білка плазми крові. За кількістю перетравленого білка робимо висновок про кількість пепсину та його активність.

Матеріальне забезпечення: шлунковий вміст, штатив із пробірками, розчин плазми, термостат, 10% трихлорацетатна кислота, центрифуга, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Шлунковий вміст розводимо у 100 разів (до 0,1 мл відфільтрованого шлункового вмісту, додаємо 9,9 мл дистильованої води).

Частину розведеного у 100 разів шлункового вмісту кип'ятимо; беремо дві спеціальні пробірки (дослідну та контрольну). До дослідної пробірки додаємо 9,9 мл дистильованої води і 1 мл розведеного в 100 разів шлункового вмісту, до контрольної – 1 мл кип'яченого шлункового вмісту. До обох пробірок додаємо по 2 мл 2% розчину плазми, інкубуємо у термостаті при температурі 37 °С протягом 20 год. До обох пробірок додаємо по 2 мл 10% розчину трихлорацетатної кислоти, змішуємо і залишаємо на 2–3 хв. до повного згортання білка. Центрифугуємо протягом 10 хв. при 1500 об/хв. і вимірюємо величину осаду в кожній пробірці. Розраховуємо показник перетравлення за формулою:

$$M = (A - B) \cdot \frac{40}{A},$$

де M – показник перетравлення;

A – величина осаду в контрольній пробірці;

B – величина осаду в дослідній пробірці;

40 – постійна величина, встановлена експериментально.

Кількість пепсину від шлункового вмісту визначаємо за спеціальною таблицею (табл. 4).

Перерахунок показників перетравлення білкового субстрату на вміст пепсину в шлунковому вмісті і пепсиногену в сечі

Показник перетравлення, М	Вміст пепсину або уропепсину, г/л	Показник перетравлення, М	Вміст пепсину або уропепсину, г/л
1	0,005	20	0,08
2	0,008	21,5	0,09
3	0,01	22,5	0,1
4	0,015	23	0,12
5	0,017	24	0,16
6	0,02	25	0,2
7	0,025	26	0,27
8	0,027	27	0,34
9	0,03	28	0,42
10	0,035	29	0,50
11	0,037	30	0,59
12	0,040	31	0,68
13	0,045	32	0,77
14	0,047	33	0,86
15	0,05	34	0,96
16	0,055	35	1,06
17	0,062	36	1,2
18	0,067	37	1,5
19	0,075	-	-

Знаходимо відповідний показник перетравленого вмісту ферменту в досліджуваній біологічній рідині, виражений у грамах стандартного пепсину.

Наприклад: величина осаду в контрольній пробірці 2,5 мл, у дослідній – 1,0 мл. Показник перетравлення білка (M) буде:

Знаходимо в табл. 4 цю величину, вона відповідає 0,16 г пепсину в 1 л шлункового вмісту.

В нормі вміст пепсину в шлунковому вмісті після харчового подразника 0,21–0,45 г/л, після гістамінового – 0,5–0,65 г/л. Визначення активності пепсину можна проводити беззондовим методом за концентрацією уропепсиногену в сечі.

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 виливається в чашку Петрі, розглядаємо на чорному та білому фоні, шпателем і препарувальною голкою відбираємо на предметні скельця слизові, кров'яністі 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 відрізняти 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 ядерець. При раку шлунка іноді виявляють у щільних грудках і в слизі атипіві 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 – незмінені 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).

Беззондові методи дослідження шлункового вмісту

При деяких захворюваннях протипоказане зондування шлункового вмісту. Існують беззондові методи:

- десмоїдною пробєю Салі;
- ацидотестом;
- визначенням рівня уропепсину.

Десмоїдна проба за Салі

Хід визначення

Хворий натще ковтає гумовий мішечок із 0,1 г метиленового синього, зав'язаний кетгутотом № 5, а потім снідає. У шлунку хлоридна кислота і пепсин перетравлюють кетгут, і мішечок відкривається. Метиленовий синій всмоктується в кров і виводиться з сечею. За час дослідження збираємо 3 порції сечі через 3,5 і 20 год.

Оцінка результатів:

- при нормальній секреторній функції шлунка перша порція сечі забарвлюється через 5 год у синій колір, друга – в блідо-зелений колір, третя – в синьо-зелений колір;
- при гіперацидному стані всі три порції мають синє забарвлення;
- при гіпоацидному стані синього забарвлення набуває сеча, зібрана через 20 год;
- при анацидному стані колір усіх трьох порцій сечі не змінений.

Ацидотест

Хворий натще вранці спорожнює сечовий міхур. Потім приймає 1–2 таблетки білого кольору (кофеїну), запиваючи 100 мл води, через годину збирає сечу в посуд з написом “контрольна сеча”. Пізніше приймає 3 тест-драже жовтого кольору, не розжовуючи. Через 1,5 год збирає сечу в посуд з написом “1,5-годинна сеча”. Сечу надсилають

до лабораторії. Якщо зібрано сечі менше ніж 200 мл, то об'єм доводимо до цієї позначки водою. Беремо дві пробірки з діаметром 11–12 мм, в одну наливаємо 5 мл контрольної сечі, у другу – 5 мл 1,5-годинної сечі, до обох пробірок додаємо по 5 мл 25% розчину хлоридної кислоти, вміст пробірок змішуємо. Порівнюємо забарвлення, яке утворилося в пробірці з 1,5-годинною сечею, із забарвленням кольорової стандартної шкали.

Оцінка результатів:

- при нормальній кислотності в пробірці з'являється яскраво-червоне забарвлення, яке відповідає позначці “А” стандартної колірної шкали;
- при підвищеній кислотності з'являється найбільш виражене яскраво-червоне забарвлення;
- при зниженій кислотності з'являється забарвлення між позначками “А” і “В”;
- при відсутності хлоридної кислоти забарвлення відповідає позначці “В”.

Визначення рівня уропепсिनотену за методом Туголукова

Вміст уропепсिनотену визначаємо у сечі, зібраній за добу або натще. Дослідження проводимо за методом Туголукова, замість шлункового вмісту беремо сечу. Розрахунок вмісту уропепсिनотену ведемо так: за таблицею знаходимо кількість уропепсिनотену (в 1 мл сечі), множимо на об'єм добової сечі.

рН-метрія

Визначення концентрації іонів шлункового вмісту можна проводити за допомогою спеціальних приладів, наприклад, “Гастротест”.

Хворому натще вводимо зонд з двома або трьома електродами, які під'єднуємо до приладу, і визначаємо показники кислотності в тілі шлунка та в антральному відділі для базальної та стимулювальної секреції.

Результати реєструємо на спеціальному бланку аналізу – ацидограмі.

До стимуляції

“Корпус” норма	pH 1,5–2
Гіперацидний стан	pH > 1,5
Гіпоацидний стан	pH > 2 до 3
Поглиблений гіпоацидний стан	pH > 3
Анацидний стан	pH > 6
“Антрум” норма	pH 6–8

Після стимуляції

“Корпус” норма	pH 1,2–2
Гіперацидний стан	pH < 1,2
Гіпоацидний стан	pH > 2
Анацидний стан	pH 6
“Антрум” норма	pH > 5,2–8
Недостатня функція нейтралізації	pH 5,2

Цей метод найпоширеніший під час обстеження людей із захворюваннями шлунка.

Діагностику виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, запальних процесів слизової оболонки шлунка, спричинених бактеріями *Helicobacter pylori*, проводять із застосуванням спеціальних приладів або лабораторних методів.

Ацидограма

Лікувальна установа _____

Гр. _____

Відділення _____ палата _____

Подразник _____

pH	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Тіло шлунка												
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
Антральний відділ												
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												

Дата _____ Підпис _____

код форми за ЄДРПОУ
 Код закладу за ЗКПО

Міністерство охорони здоров'я України Найменування закладу	МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ ФОРМА № 21111/10 Затверджена наказом МОЗ України
Лабораторія	01410112101011р. № <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

АНАЛІЗ ШЛУНКОВОГО ВМІСТУ № _____
 " _____ " _____ 200__ р.
 (Дата взяття біоматеріалу)

Прізвище, ім'я, по батькові _____ Вік _____
 Заклад _____ Відділення _____ Медична карта № _____
 Клінічний діагноз: _____

Секречія натщесерце

К-ть соку в мл (норма до 50)	Титраційні одиниці (ммоль/л НСІ)			Дебіт-час загальної кислотності _____ (до 2 моль)
	загальна кислотність (норма – до 40)	вільна НСІ (норма – до 20)	зв'язана НСІ (норма – до 10)	Дебіт-час зв'язаної НСІ _____ (до 0,5 ммоль)
				Дебіт-час вільної НСІ _____ (до 1 ммоль)
				Дійсна дебіт-час НСІ _____ (до 2,3 ммоль)

Секречія до введення стимулятора (базальна)

№ порції	Кількість соку в мл (норма 500–100)	Титраційні одиниці (ммоль/л НСІ)				Слиз	Жовч	Кров	Пелески	Молочна кислота
		загальна кислотність (норма 40–60)	вільна НСІ (норма 20–40)	зв'язана НСІ (норма 10–15)	кислотний залишок					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0										
1										
2										
3										
4										

Дебіт-час загальної кислотності _____ (1,5–5,4 моль)
 Дебіт-час зв'язаної НСІ _____ (0,5–1,5 ммоль)
 Дебіт-час вільної НСІ _____ (1–4,0 ммоль)
 Дійсна дебіт-час НСІ _____ (3,3–8,2 ммоль)

Секречія після введення стимулятора (стимульована)

Стимулятор: _____ (вписати)

№ порції	Кількість соку в мл (110–140* або 150–200**) ¹	Титраційні одиниці (ммоль/л НСІ)				кислотний залишок	слиз	жовч	кров	пелески	молочна кислота
		(90–100* або 150–200**)	65–85* або 90–100**)	12–15* або 14–16**)							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
5											
6											
7											

¹ у цій графі і надалі в дужках вказані нормативні значення

Дебіт-час загальної кислотності _____ (8–14* або 8–26** моль)
 Дебіт-час зв'язаної НСІ _____ (0,6–1,5* або 0,7–1,6** ммоль)
 Дебіт-час вільної НСІ _____ (6,5–12* або 16–24** ммоль)
 Дійсна дебіт-час НСІ _____ (10,5–14,5* або 18,5–26,5** ммоль)

* Норма при субмаксимальній секретії

** Норма при максимальній секретії

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

ДІАГНОСТИКА ГЕЛІКОБАКТЕРНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Новий етап у розвитку вчення про ВХ розпочався у 80-х роках ХХ ст., коли австралійські дослідники В. Marshall і К. Warren виділили із слизової оболонки антрального відділу шлунка у хворих на хронічний гастрит, а потім і у хворих на ВХ спіралеподібні мікроорганізми, які назвали *Campylobacter pylori* (з 1994 р. *Helicobacter pylori*, *Hp*), оскільки вони нагадували мікроби, які заселяють тонку кишку (*Campylobacter jejuni*).

Для діагностики гелікобактерної інфекції застосовують інвазивні й неінвазивні методи. До інвазивних належать:

- морфологічний – визначення мікроорганізмів у препараті слизової оболонки при спеціальному забарвленні (за методом Гімзи, толуїдиновим синім, Генте, Вартину–Старрі) (мал. 4.8.4);
- мікробіологічний (бактеріологічний) – визначення штаму мікроорганізму, виявлення його чутливості до застосовуваних препаратів;

- біохімічний (швидкий уреазний тест);
- полімеразна ланцюгова реакція.

Неінвазивні методи:

- серологічний – виявлення антитіл до *Hp* (частіше застосовують метод імуноферментного аналізу);
- дихальний тест з реєстрацією продуктів життєдіяльності *Hp* (вуглекислий газ, аміак) у видихуваному повітрі;
- визначення антигену *Hp* у калі (експрес-діагностика).

ДОСЛІДЖЕННЯ ДОУДЕНАЛЬНОГО ВМІСТУ

Визначення фізичних властивостей жовчі, одержаної під час трифазового та фракційного методів дуоденального зондування

Матеріальне забезпечення: дуоденальний вміст, чашки Петрі, предметні та покривні скельця, препарувальні голки та шпатель, білий та чорний фон, мікроскопи, очна піпетка, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

У всіх порціях жовчі визначаємо їх кількість, колір, прозорість, консистенцію, реакцію, відносну густину.

Дослідження необхідно проводити відразу, тому що при стоянні жовч змінюється. При трифазному класичному дуоденальному зондуванні одержуємо порції А, В, С (рис. 40а).

Порція А – це дуоденальний вміст, що складається з жовчі загальної жовчної протоки, панкреатичного соку і секрету дванадцятипалої кишки. Порція В – це міхурова жовч. Порція С – жовч із печінкових ходів.

Фракційне зондування дає змогу точніше оцінити функціональний стан жовчних шляхів, жовчного міхура і таким чином встановити локалізацію патологічного процесу. При цьому враховуємо п'ять фаз зондування.

Перша фаза – вміст дванадцятипалої кишки.

Друга фаза – вміст закритого сфінктера печінково-підшлункової ампули.

Третя фаза – одержання порції А.

Четверта фаза – одержання порції В.

П'ята фаза – одержання порції С.

За допомогою фракційного дуоденального зондування можна діагностувати дискінезії жовчного міхура, сфінктера Одді, сфінктера Люткінса.

Фізичні властивості дуоденального вмісту

До фізичних властивостей дуоденального вмісту належать колір, прозорість, консистенція, реакція, відносна густина, кількість.

Колір – у нормі порції “А” і “С” світло-жовті, “В” – оливкова. Збільшення інтенсивності – при гемолітичних анеміях, порції “В” – при застійних і запальних процесах у жовчному міхурі. Світла жовч – при інфекційному гепатиті та цирозі печінки, слабо пігментована

порція "В" – при хронічних запальних процесах у жовчному міхурі з порушенням його концентраційної функції. Біла – при руйнуванні жовчних пігментів і утворенні лейкосполук при деяких холециститах. Зелена жовч прозора – при застої запального характеру, зелена мутна – при домішку хлоридної кислоти із шлункового вмісту.

Прозорість – у нормі всі порції прозорі. Помутніння часто виникає через домішки шлункового соку. При запальних процесах жовчовивідних шляхів – з'являються згустки слизу.

Консистенція "В" – в'язка, "А" і "С" – злегка в'язка.

Реакція рН 6,6 – 7,6 при інфекціях жовчного міхура, в порції "В" – 4,9–4,8.

Густина порції "А" 1,007–1,015; "В" 1,016–1,034; "С" 1,007–1,010. Збільшення густини порції "В" свідчить про застійні явища, зменшення – про зниження концентраційної здатності міхура при запаленнях, жовчнокам'яній хворобі, дискінезіях.

Кількість порції "А" – 15–20 мл, "В" – 35–50 мл, "С" – виділяється постійно і залежить від тривалості.

Збільшення об'єму жовчі, виділеної протягом I фази (45 мл і більше), пов'язане з гіперсекрецією, яку можна спостерігати при постхолецистектомічних станах. Зменшення виділення порції "А" (15 мл і менше) пов'язане з гіпосекрецією, його можна спостерігати при закупорці позапечінкових проток і загальної жовчної протоки, патології секреторної функції печінки.

Збільшення часу відкриття сфінктера Одді (II фаза – понад 10 хв.) свідчить про спазм сфінктера або жовчнокам'яну хворобу.

Рефлюкс жовчного міхура (IV фаза) може бути:

– відсутнім за наявності каменів у жовчному міхурі або міхуровій протоці, при атонії, спазмі сфінктера Люткінса;

– частковим, коли виділяється невеликий об'єм жовчі, що спостерігають при жовчнокам'яній хворобі, холециститі, спазмі сфінктера Люткенса та Одді;

– спонтанним, коли жовч порції "В" виділяється до введення подразника, що можна спостерігати при гіперкінетичній дискінезії жовчного міхура;

– різко позитивним, коли виділяється 50–100 мл порції "В".

Переривчасте виділення порції "В" може свідчити про дискінезію жовчного міхура, холецистит, жовчнокам'яну хворобу, спазм сфінктера Люткінса.

Повільне, з паузами виділення жовчі порції "С" (V фаза) може бути при захворюваннях печінки.

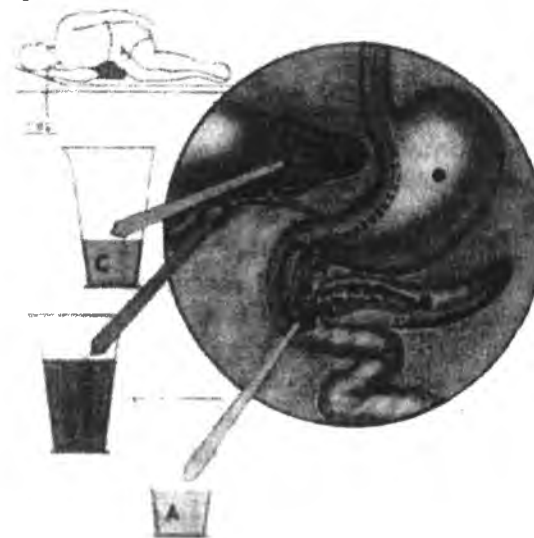


Рис. 40а. Одержання порцій жовчі А, В, С

Таблиця 5

Деякі показники дуоденального вмісту, отримані фракційним методом у нормі

Фаза	Час спостереження, хв	Об'єм виділеної жовчі, мл	Темп виділення жовчі, мл/хв
I фаза (порція "А") – суміш вмісту дванадцятипалої кишки, загальної жовчної протоки	20–40	20–36	1
II фаза (закрытого сфінктера Одді, секреторна пауза)	3–5	-	-
III фаза (від відкриття сфінктера Одді до появи порції "В")	Приблизно 4	4–5	-
IV фаза (порція "В", жовч жовчного міхура)	20–30	30–40 (за перші 10 хв – 15–30 мл, надалі об'єм поступово зменшується)	1,5–2
V фаза (порція "С", печінкова жовч)	10	10–15	1

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 виливається 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, лейкоцитойди), слиз, кристалічні утворення та паразитів.

Лейкоцити – мають діагностичне значення, якщо зустрічаються у грудочках слизу чи з в'їчастим 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.

Лейкоцитойди – 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).

КОПРОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження калу проводять з метою оцінки функціонального стану органів травного каналу. Воно має важливе діагностичне значення, особливо в гастроентерології.

Копрологічне дослідження включає макроскопічне, хімічне і мікроскопічне вивчення фекалій. Бактеріологічне та біохімічне дослідження проводиться за спеціальними вказівками.

Кал на копрологію досліджують після застосування хворим пробної дієти Шмідта чи Певзнера з дозованим вмістом білків, жирів, вуглеводів. При дослідженні калу на приховану кров призначають дієту, яка виключає з раціону хворого протягом 3–4 днів м'ясо, рибу, зелені овочі, помідори, яйця, лікарські препарати, що містять залізо, мідь, важкі метали.

Збирають кал при самостійній 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).

У клініко-діагностичній лабораторії проводять такі дослідження калу:

- загальноклінічний аналіз і копрограму;
- виявлення прихованої крові;
- гельмінтологічне.

Клінічний аналіз калу складається з макроскопічного, хімічного, мікроскопічного та бактеріологічного досліджень.

Макроскопічне дослідження калу

Матеріальне забезпечення: кал для дослідження, ступка, індикаторні папірці, чашки Петрі, шпатель та голки, чорний і білий фон, штатив із пробірками, предметні та покривні скельця, розчин Люголя, мікроскопи, 30% розчин ацетатної кислоти, 5% розчин метиленової синьки, дезрозчин, рукавички.

Дослідження калу проводять у витяжній шафі.

Макроскопічне дослідження калу включає визначення кількості, консистенції, форми, кольору, запаху, патологічних домішок, паразитів, залишків неперетравленої їжі.

Кількість – залежить від кількості спожитої їжі та функціонального стану слизової оболонки травного каналу. У здорової людини кількість калу за добу – 120–200 гр. При вживанні переважно рослинної їжі або порушення засвоєння їжі кількість калу збільшується, таке явище спостерігаємо при панкреатитах, ахіліях шлунка, ентериті.

Форма – при нормальній функції травного каналу ковбасоподібна. При пухлинах, геморої кал стрічкоподібний, при спастичних станах прямої та сигмоподібної кишок – олівецьподібний, при спастичних станах товстої кишки – “овечий” кал.

Консистенція – у нормі м'яка. При закрепах, голодуванні, атонії кишечника виділяється кал твердої консистенції. Рідкий неоформлений кал свідчить про запальний процес. Пінистий кал – при бродильних процесах у кишечнику. Мазеподібний в'язкий – при захворюванні підшлункової залози. Консистенція рисового відвару характерна для холерного проносу.

Колір – у нормі свіжовиділений кал коричневий, обумовлений наявністю в ньому стеркобіліну. Колір калу здорової людини залежить від характеру їжі. Якщо в раціоні харчування переважає м'ясо, то кал буде темніший, при рослинно-молочній дієті спостерігається світло-жовтий; при жовтяниці – сіруватий, мазеподібний (ахолічний) кал, при кровотечі в шлунку або дванадцятипалій кишці – чорний дьогтеподібний кал.

Запах калу характерний, але не різкий, зумовлений наявністю індоли і скатоли. При вживанні переважно м'ясної їжі запах калу різкіший, при рослинній дієті – кислуватий. При бродильних процесах – різко-кислий.

Домішки – можна розділити на дві великі групи: харчового та нехарчового походження. Розглядаючи кал неозброєним оком, можемо побачити харчові домішки – грубі частинки рослин (шкірки фруктів, ягід, кісточки і т. д.), кусочки хрящів.

Нехарчові домішки – це слиз, кров, гній. Слиз є нормальною складовою частиною калу. При запальних процесах кількість його збільшується. Кров може з'являтися при кровотечах із різних відділів травного каналу, гній – при дизентерії, туберкульозі, розпаді пухлин. Жовчні, панкреатичні і калові камені (копроліти) можуть бути різних розмірів.

Гельмінти. Можна виявити аскариди, волосоголовці, гострики, а також фрагменти гельмінтів (свинячого та бичачого ціп'яка, широкого стьожака).

Хімічне дослідження калу

У клінічно-діагностичній лабораторії найчастіше визначають рН калу, білірубін, стеркобілін, приховану кров, білок та муцин. Результати хімічного дослідження калу дають змогу уточнити характер ураження слизової оболонки шлунка та кишечника, порушення виділення жовчі, бактеріальної флори товстого кишечника.

Матеріальне забезпечення: кал для дослідження, ступка, 5% спиртовий розчин амідопірину, 30% ацетатна кислота, 3% перекис водню, 10% хлорид заліза, насичений розчин сулеми, 25% трихлор-ацетатна кислота, дистильована вода, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Реакція калу в нормі – нейтральна або слаболужна. Різколузну реакцію спостерігаємо при посиленому бродінні.

Визначаємо реакцію за допомогою індикаторного папірця, який змочуємо дистильованою водою і прикладаємо до калу. Відчитуємо, враховуючи зміну забарвлення, відповідно до шкали.

Виявлення крові в калі амідопіриновою пробою

Для визначення реакції на приховану кровотечу пацієнта потрібно спеціально підготувати. З його раціону на 3–4 дні виключаємо м'ясо, рибу, яйця, зелені овочі, помідори, а також лікарські препарати, які містять залізо, мідь, важкі метали. При кровоточивості ясен хворому не рекомендуємо чистити в цей час зуби. Визначаємо найчастіше пробою з амідопірином та експрес-тестами. Позитивні проби на кров вказують на кровотечу в якійсь із ділянок травного каналу (з ясен, варикозних вен, виразок і злоякісних пухлин стравоходу, шлунка, кишок).

Для проведення амідопіринової проби готуємо калову емульсію у розведенні 1:10. В хімічну пробірку вносимо 2–3 мл калової емульсії, 2–3 мл 5% спиртового розчину амідопірину, 10–12 крапель 3% розчину перекису водню і 10–12 крапель 30% ацетатної кислоти. Суміш старанно перемішуємо скляною паличкою. При наявності в кало-

вих масах крові протягом 2–3 хвилин вміст пробірки стає синьо-фіолетовим. Зміну забарвлення, яка виникла після 3 хвилин, не враховуємо. Чутливість проби – не менше 1% крові.

Реакція на приховану кров може бути позитивною при виразці шлунка і дванадцятипалої кишки, пухлинах шлунка, виразкових колітах, черевному тифі, варикозному розширенні вен стравоходу.

Експрес-методи

У клініко-діагностичній лабораторії використовуємо експрес-методи визначення крові в калі, застосовуючи порошок або паперові експрес-тести (ГЕМА-ФАН, ГЕМАСТІКС). Калову емульсію наносимо на порошок або на папірець, при позитивній реакції спостерігаємо появу синього чи синьо-зеленого кольору.

За допомогою експрес-методів у калі можна визначити кров'яний пігмент, білірубін, стеркобілін і білок.

Виявлення жовчних пігментів пробою Шмідта

Щодо жовчних пігментів, то в калі здорової людини міститься тільки стеркобіліноген, який на повітрі окислюється у стеркобілін. Визначаємо стеркобілін при ахолічному калі пробою Шмідта, а білірубін – найчастіше реакцією Фуше. Відсутність стеркобіліну вказує на obturацію жовчних шляхів (камінь, пухлина, спазм сфінктера печінково-підшлункової ампули, набряк слизової оболонки дванадцятипалої кишки). Білірубін можна виявити в калі при швидкій евакуації їжі по кишках, важкому дисбактеріозі, коли не відбувається відновлення білірубину. Одночасне виявлення білірубину і стеркобіліну вказує на часткове збереження нормальної бактеріальної флори в товстому кишечнику. Наявність чистого білірубину в калових масах грудних дітей у віці до 5–6 місяців є нормою.

Для виявлення стеркобіліну застосовуємо переважно реакцію Шмідта. Кусочок калу розміром з лісовий горіх розтираємо у фарфоровій ступці з 3–4 мл насиченого розчину сулеми. Залишаємо при кімнатній температурі на 18–20 год. або в термостаті на 4–5 год. При наявності в калі стеркобіліну чи стеркобіліногену рідина забарвлюється в рожевий колір, інтенсивність якого залежить від вмісту пігменту. При наявності білірубину рідина забарвлюється в зелений колір.

Визначення білка і муцину пробою Трибуле – Вишнякова

При додаванні до емульсії калу реактивів відбувається зсідання білка і муцину, утворюються пластівці, які адсорбують мікроорганізми та детрит. Пізніше пластівці осідають на дно і емульсія світлішає.

Матеріальне забезпечення: кал для дослідження, штатив із пробірками, насичений розчин сулеми, дистильована вода, 20% ацетатна кислота, 20% трихлорацетатна кислота, ступка, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

Для проведення реакції Трибуле – Вишнякова готуємо 3% калову емульсію – 1 г калу розтирають у ступці з 33 мл дистильованої води. Розливаемо по 7,5 мл в чотири пробірки: в першу пробірку додаємо 1 мл насиченого розчину сулеми, в другу – 1 мл 20% трихлорацетатної кислоти, в третю – 1 мл 20% ацетатної кислоти, а в четверту – 2 мл дистильованої води (це контроль). Вміст пробірок розмішуємо і залишаємо на 18–24 год, після цього відмічаємо просвітлення надосадової рідини в дослідних пробірках порівняно з контрольною. Просвітлення тільки в першій пробірці вказує на наявність у калі гниючого білка, в першій і другій – на наявність ексудату, в третій – на наявність слизу (муцину). Ступінь просвітлення відмічаємо за допомогою плюсів (+, ++, +++), або слів: “слабопозитивна”, “позитивна”, “різко позитивна”.

Проба Трибуле – Вишнякова використовується для діагностики прихованого запального процесу. Вона ґрунтується на виявленні в калі слизу, ексудату чи гниючого білка їжі. Наявність у калі ексудату і крові свідчить про запалення слизової оболонки кишечника, виразку, клітинний розпад; слизу (муцину) – про катаральне запалення слизової оболонки товстого кишечника. Виявлення гниючого травного білка вказує на порушення його протеолізу в шлунку і тонкому кишечнику внаслідок ферментопатії або прискореної евакуації хімуса. Від’ємні результати є відносними, оскільки навіть при вираженому запаленні шлунка і тонкого кишечника, але при тривалих закрепах білок ексудату повністю розщеплюється бактеріями (однак у цьому випадку реакція калу – лужна або різко лужна).

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 кишечникової 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 неперетравлених 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; розчи-

ном 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 пластинами 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 гелмінтозі 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, слабо-лужної 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.

Бактеріологічне дослідження калу

Це дослідження проводять для виявлення грампозитивної та грамнегативної флори – аеробної, анаеробної і мікобактерій туберкульозу. Для цього препарат забарвлюють за Грамом, Цілем – Нільсеном.

Виявлення йодофільної флори проводять шляхом забарвлення препаратів розчином Люголя. При цьому вона набуває синього, фіолетового та червоного кольору. Збільшену кількість йодофільної флори виявляють при бродильній диспепсії, дисбактеріозах.

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.

Визначення фізичних властивостей

Матеріальне забезпечення: чашка Петрі, шпатель та голки, чорний і білий фон, предметні та покривні скельця, мікроскопи, імерсійне масло, харкотиння для дослідження, мірний циліндр, газовий пальник, дезрозчин, рукавички.

Хід визначення

До фізичних властивостей харкотиння належать: кількість, запах, колір, характер, консистенція, домішки.

Харкотиння, яке доставили в лабораторію, переносимо у чашку Петрі, заповнюючи не більше 1/3 чашки, і поперемінно розглядаємо на білому та чорному фоні. Визначаємо колір, характер, консистенцію, форму і патологічні домішки.

Кількість харкотиння визначаємо мірним циліндром у тих випадках, коли його виділяється багато.

Кількість харкотиння – при запальних процесах за одне відкашлювання 2–3 мл, при бронхіті, трахеїті, при бронхіальній астмі – 10 мл і більше; при гангрені, абсцесі легень, кавернозному туберкульозі, бронхоектатичній хворобі – від 500 до 1000 мл.

Запах – свіжовиділене харкотиння запаху не має, гнилісний – при абсцесі, гангрені; смердючий – при розпаді легеневої тканини (раку).

Колір – залежить від кількості лейкоцитів, еритроцитів та від характеру харкотиння. Характер харкотиння повинен відповідати певному кольору (табл. 6).

Таблиця. 6

Характер	Колір
Слизистий	Сіруватий
Гнійний	Жовтуватий
Слизисто-гнійний	Сірувато-жовтий
Гнійно-слизистий	Жовтувато-сірий
Кров'янистий	Червоний, бурий
Серозний	Відсутній
Астматичний	Жовтуватий

Характер харкотиння залежить від його складу і може бути: слизистим, слизисто-гнійним, гнійно-слизистим, серозним, серозно-гнійним і т. ін.

Серозне харкотиння рідке, пінисте, характерне для легеневого набряку.

Слизисте – склоподібне, прозоре, синьо-білясте, може бути тягучим або рідким залежно від кількості слизу. Зустрічається при початкових бронхітах, бронхіальній астмі.

Гнійне – жовтого або жовто-зеленого кольору – при гнійних плевритах, емпіємі легень, бронхоекстазах, гангрені.

Кров'янисте – кров у вигляді прожилків – при бронхітах, у вигляді згустків – при туберкульозі, пухлинах, бронхоекстазах.

Консистенцію визначають за допомогою препарувальної голки, піднімаючи нею харкотиння над чашкою Петрі. Якщо все харкотиння тягнеться за голкою, то консистенція вважається тягучою. При в'язкій консистенції харкотиння тягнеться у вигляді товстої нитки, при помірно в'язкій – у вигляді тонкої нитки, яка швидко обривається.

Харкотиння студенистої консистенції над чашкою Петрі не піднімається. Харкотиння може мати клейку, напіврідку і рідку консистенцію.

Патологічні домішки – це шматочки тканини, спіралі Куршмана, зерна актиноміцетів, пробки Дітріха, рисоподібні зерна, плівчасті утворення, друзи актиноміцетів, фібрин.

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 голки 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 Куршмана – 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 просяне 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 гематоїдину – 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 пооди-

ноко 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 тисними 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, підігриваємо 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).

Характер – ексудат може бути серозним, серозно-фібринозним, серозно-гнійним, гнійним, гнилісним, геморагічним, хильозним, хілу-соподібним.

Транссудат завжди має серозний характер.

Колір – серозний ексудат блідо- або золотисто-жовтий, гнійний – сірувато-жовтий або жовто-зелений, гнилісний – бурий, геморагічний – рожевий, темно-червоний або бурий. Хильозний – нагадує колір розведеного молока.

Транссудати зазвичай мають блідо-жовтий колір.

Прозорість – серозний ексудат у нормі прозорий; серозно-гнійний, гнилісний, геморагічний ексудати мутні – мутність обумовлена великою кількістю лейкоцитів і еритроцитів. Хильозний і хілусоподібний ексудати мутні від наявності в них великої кількості жиру та детриту (розпад жироперероджених клітин).

Транссудат завжди прозорий, може бути з опалесценцією.

Запах – відсутній. Неприємний смердючий запах має тільки гнилісний ексудат.

Густина – в ексудатах коливається в межах 1,018–1,022, у транссудатах 1,006–1,012. Вимірюється урометром так само, як у сечі.

Консистенція – найчастіше рідка, гнійна та гнійно-гнилісна. Ексудати можуть бути напівв'язкі або в'язкі за рахунок великої кількості клітинних елементів і детриту.

Хімічне дослідження серозної рідини

Хімічне дослідження у серозних рідинах передбачає визначення білка у постановці реакції Рівальта.

Кількісне визначення білка проводиться за методом Брандберга-Робертса-Стольнікова та фотометричним методом (так само, як для сечі).

У зв'язку з тим, що у серозній рідині міститься білок, ми розводимо її у 64 рази (до 0,1 мл серозної рідини додаємо 6,3 мл води).

Кількість білка в транссудатах 5–25 г/л, в ексудатах 30–80 г/л.

Проведення реакції Рівальта

Для диференціації ексудатів і транссудатів проводимо пробу Рівальта, визначаючи тим самим, чи це ексудат, чи транссудат. В ексудаті, окрім білка, наявний серомуцин – мукополісахаридний комплекс, який згортається під впливом ацетатної кислоти. Диференціюємо також за густиною, рівнем білка, а також за клітинним складом.

Хід визначення

Реакція Рівальта. У циліндр наливаємо 100 мл дистильованої води, підкилюємо 2–3 краплями концентрованої ацетатної кислоти, тоді додаємо 1–2 краплі досліджуваної серозної рідини. Якщо крапля згортається і утворюється хмаринка, то це ексудат. Крапля транссудату не утворює помутніння.

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).

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 гонорейі у мазках багато лейкоцитів, гонококи розташовані внутрішньоклітинно та позаклітинно. При хронічній гонорейі 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 до-

сліджуваних 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.

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:

$$x = a \cdot 10^6 / л,$$

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 60–100 · 10⁶/л л. При гіперспермії – сперматозоїдів більше 120 · 10⁶/л; пріг олігоспермії – менше 60 · 10⁶/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 головкою, 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.

Лецитинові 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 гіоспермія, 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 *сперматограми* 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 базифільна, може бути вакуолізованою. Зі сперматидів утворюються сперматозоїди.

Дослідження секрету передміхурової залози

Збір 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 тільця, макрофаги, клітини пухлин, мікроорганізми.

код форми за ЄДРПОУ
 Код закладу за ЗКПО

Міністерство охорони здоров'я України Найменування закладу	МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ ФОРМА № 21111/10 Затверджена наказом МОЗ України 01410112101011р. № <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Лабораторія	

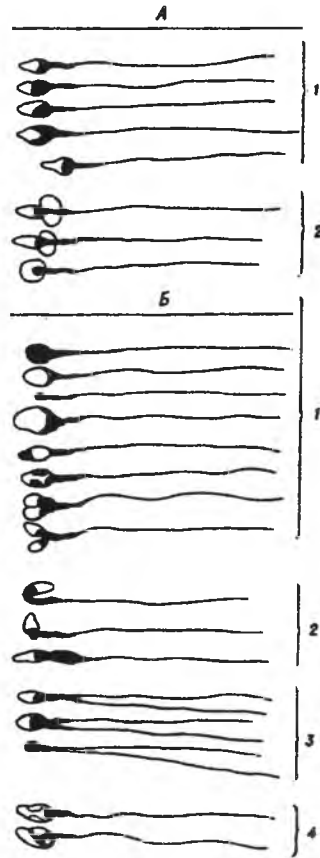
ІАПІЗ СІМ'ЯНОЇ РІДИНИ № _____
 (сперматограма)
 " _____ " _____ 200 ____ р.
 (Дата взяття біоматеріалу)

Прізвище, ім'я, по батькові _____ Вік _____
 Заклад _____ Відділення _____
 Медична карта № _____
 Клінічний діагноз (профогляд) _____

Найменування показників	Результат	Норма
Фізичні властивості:		
Кількість (у мл)		3,0–3,5
Колір		сірувато-білий
Прозорість		мутна
Запах		квітів каштану
Консистенція		через 20–30 хв. від моменту одержання – рідка
В'язкість (після повного розрідження)		довжина нитки 0,1–0,5 см
Реакція (рН)		7,2–7,6
Мікроскопічне дослідження		
Кількість сперматозоїдів в 1 мл		60–120 млн.
Кількість сперматозоїдів в еякуляті		> 150 млн.
Кінезисграма:		
активнорухливих (%)		80–90
слаборухливих (%)		10–12
нерухливих (%)		6–10
Фарбування за Блумом:		
живі (%)		80–90
мертві (%)		20–10

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
простаті		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. *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. кольров. 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.

Рис. 51. Схематичне зображення нормальних і патологічних форм сперматозоїдів:
А – нормоспермії: 1 – нормальні варіанти сперматозоїдів; 2 – юні форми з фрагментами цитоплазми;
Б – патоспермії: 1 – зміна головки; 2 – зміна шийки; 3 – зміна хвоста; 4 – старечі форми



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 нирок;
 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 – гематоїдин



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

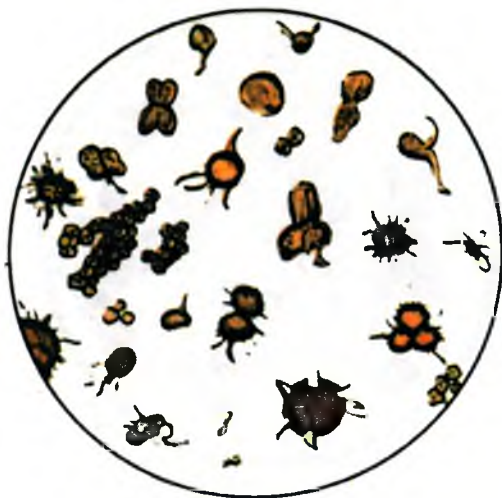


Рис. 35. Кристали кислого сечокислоного амонію



Рис. 36. Кристали нейтральних фосфатів



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 – мієлін; 11 – дріжджові гриби і крохмальні зерна, забарвлені розчином Люголя;
12 – палички молочнокислоного бродіння.

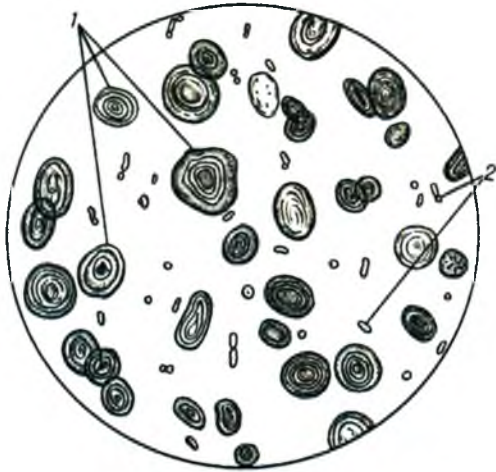


Рис. 38. Крохмальні зерна (1) і дріжджові гриби (2) у шлунковому вмісті

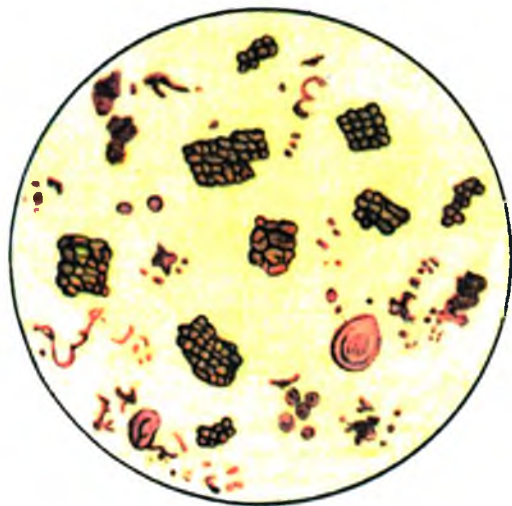


Рис. 39. Сарцини у шлунковому вмісті

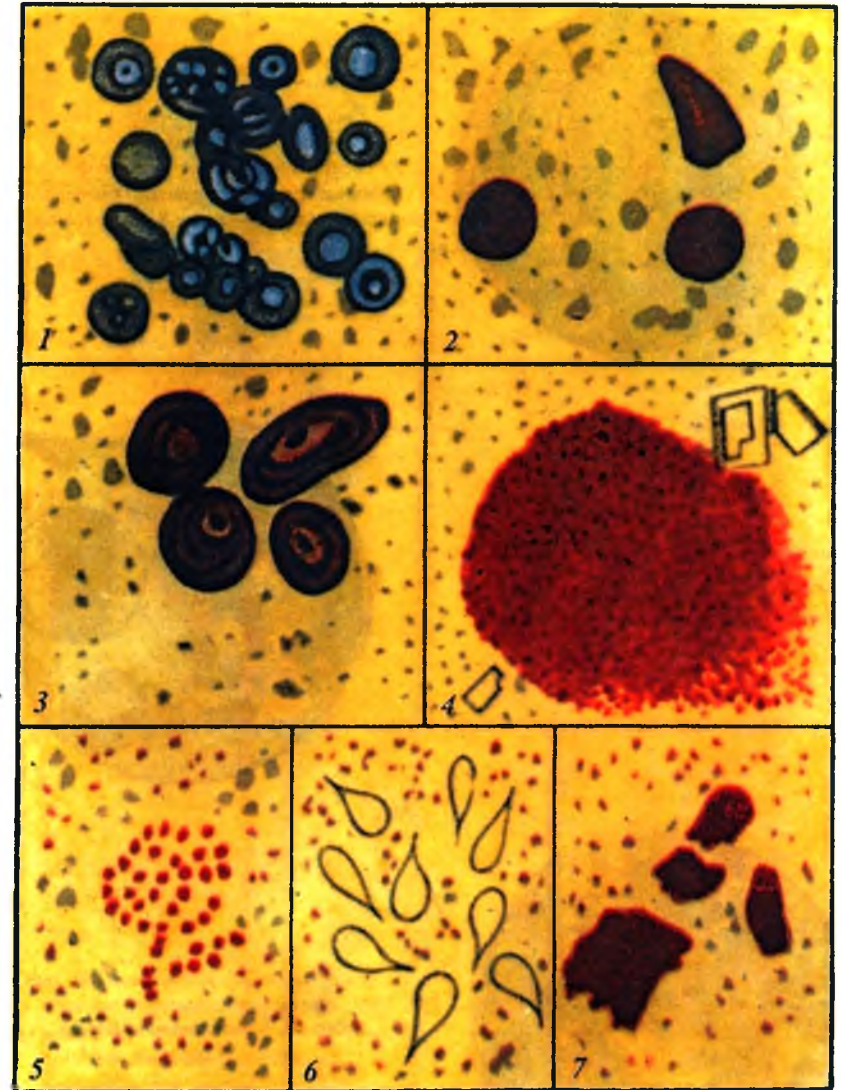


Рис. 40. Мікроскопічне дослідження дуоденального вмісту:
 1 – лейкоцитойди; 2 – мікроліти; 3 – сферомікроліти;
 4 – білірубінат кальцію і кристали холестерину;
 5 – жовчні кислоти; 6 – лямблій; 7 – коричневі півчасті утворення



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

Рис. 42. Спіралі Куримана
 1 – осьова нитка; 2 – мантія

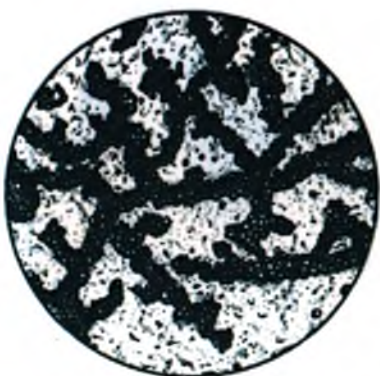


Рис. 43. Коралоподібні волокна

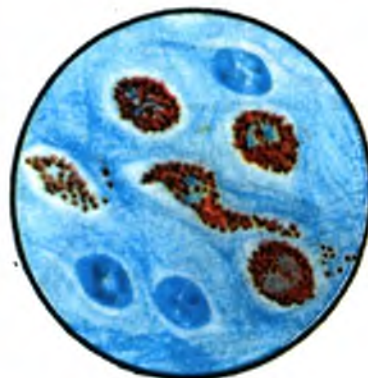
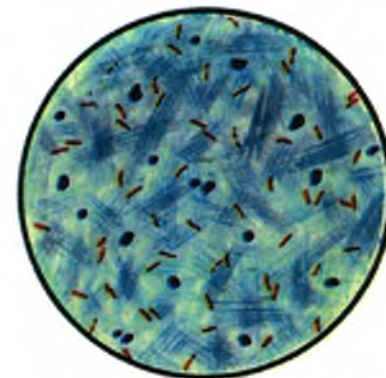


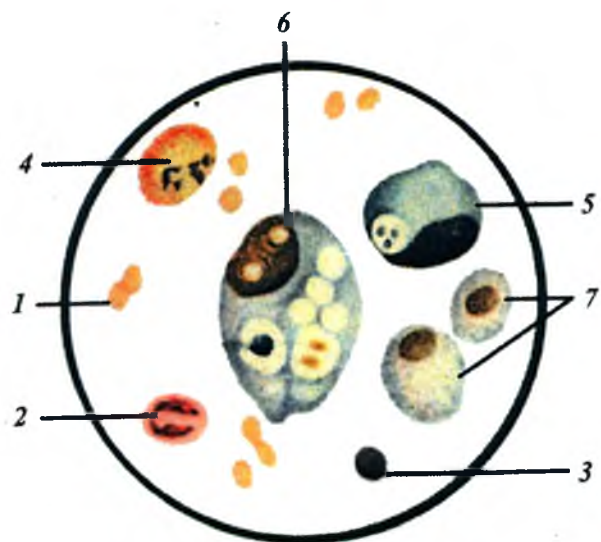
Рис. 45. Еозинофіли в харкотинні

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

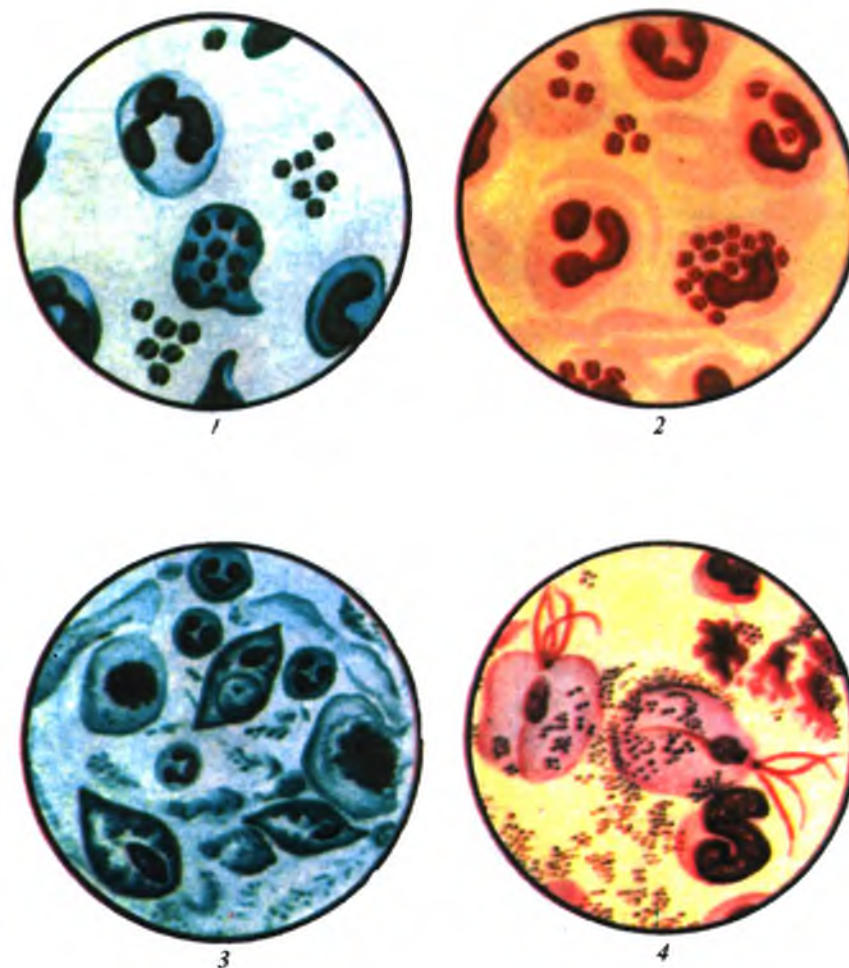


Рис. 44. Мікобактерії туберкульозу
 (забарвлення за методом Ціля – Нільсена)





*Рис. 47. Клітинний склад ексудатів:
1 – еритроцити; 2 – нейтрофіли; 3 – лімфоцити; 4 – еозинофіли; % – полібласти; 6 – макрофаги; 7 – мезотелій; 8 – пухлинні клітини*



*Рис. 48–49. Деякі мікроорганізми і найпростіші:
1 – гонококи (зabarвлення метиленовим синім); 2 – гонококи (зabarвлення за Грамом);
3 – трихомонади (зabarвлення метиленовим синім); 4 – трихомонади (зabarвлення за Цогікяном)*

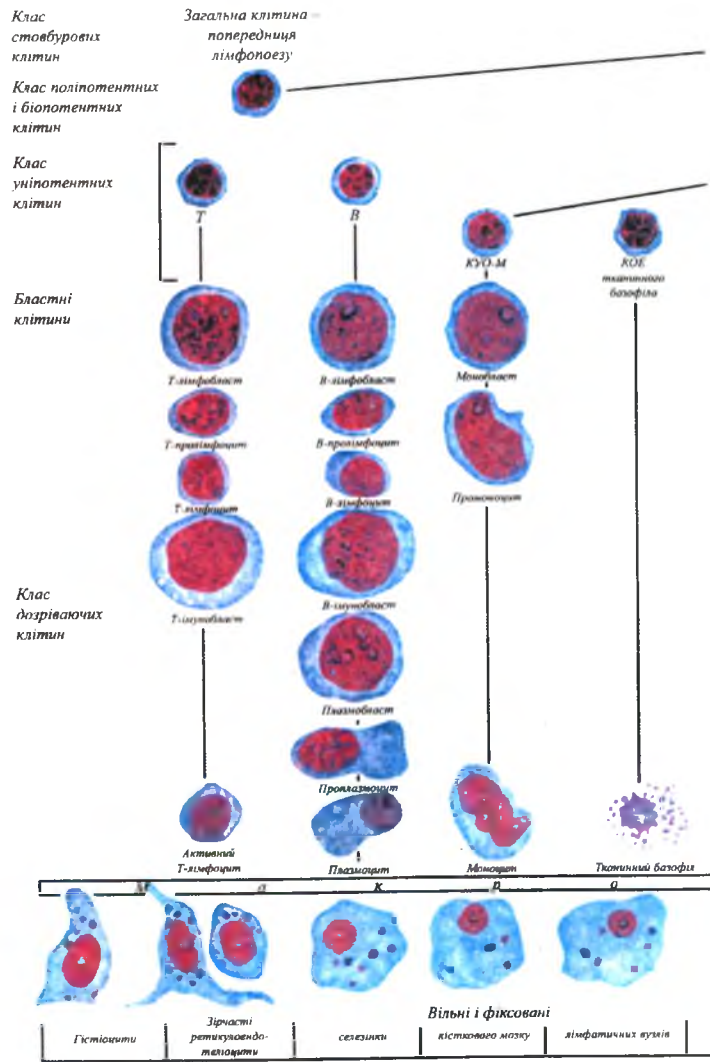
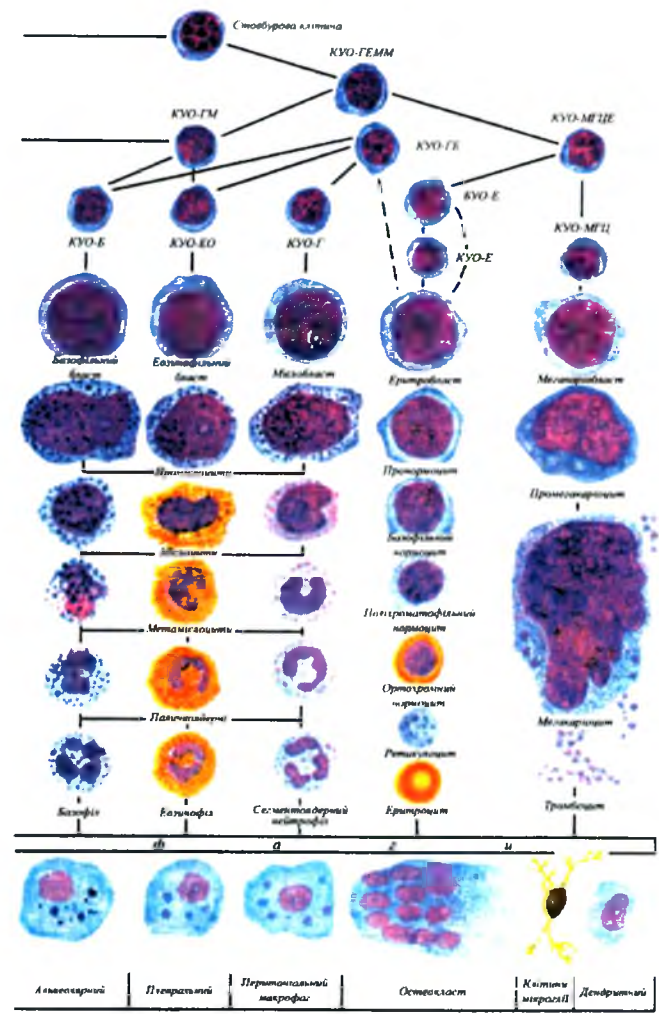


Рис. 49–50. Схема кровотворення

КУО-ГЕММ – колонісуюча одиниця гранулоцитарно-еритроцитарна (макрофагальна); **КУО-Е** – колонісуюча одиниця еритроцитарна; **КУО-МГЦЕ** – одиниця еритроцитарна; **КУО-ГЕ** – колонісуюча одиниця гранулоцитарно-еритроцитарна; **КУО-М** – колонісуюча одиниця моноцитарна; **КУО-Б** – колонісуюча одиниця гранулоцитарна; **КУО-Е** – колонісуюча одиниця еритроцитарна; **КУО-МГЦ** – колонісуюча одиниця мегакаріоцитарна; **КУО** – колонісуюча одиниця



(за О. І. Воробйовим, 1981):

загально) – мегакаріоцитарна; **КУО-ГМ** – колонісуюча одиниця гранулоцитарно-моноцитарна; **КУО-ГЕ** – колонісуюча одиниця гранулоцитарно-еритроцитарна; **КУО-М** – колонісуюча одиниця моноцитарна; **КУО-Б** – колонісуюча одиниця гранулоцитарна; **КУО-Е** – колонісуюча одиниця еритроцитарна; **КУО-МГЦ** – колонісуюча одиниця мегакаріоцитарна; **КУО** – колонісуюча одиниця

**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%)
Діаметр еритроцита	мк; мкм	мкм
Середній об'єм еритроцита	мкм ³	фл (фемтолітр)

Назва дослідження	Попереднє позначення	Позначення в одиницях СІ
Середня товщина еритроцита	мк; мкм	мкм
Цитоз цереброспінальної рідини	5 в 1 мм ³ ; 5 в 1 мкл	–
Вміст глюкози в сечі, цереброспінальній рідині	мг%; г/л	ммоль/л (мг% · 0,05551 – ммоль/л)
Відносна густина сечі	1,019	1,019
Кількість білка в ексудаті	%	%
Кількість білка в цереброспінальній рідині, сечі	г%; мг%; г/л	г/л
Вміст кетонових тіл у сечі	мг%	ммоль/л; мкмоль/л мг% 0,1722 – моль/л; мг% 172,2 – мкмоль/л
Вміст білірубину в крові, сечі	мг%	мкмоль/л (мг% · 17,10 – мкмоль/л)
Вміст індикану в крові, сечі	мг%	ммоль/л (ммоль/л · 34,93 – мг%)
Вміст уробіліну в сечі, калі	мг%, мг	мкмоль; мкмоль/л (мг · 1,693 – мкмоль; мкмоль · 0,059 – мкмоль/л)
Пепсин у шлунковому вмісті	мг%	г/л (1 мг% -0,01 – г/л)

Навчальне видання

**Анісія Володимирівна ВОРОБЕЛЬ,
Богдан Васильович ГРИЦУЛЯК,
Оксана Ярославівна ГЛОДАН,
Олександра Євгенівна ХАЛЛО**

ЦИТОЛОГІЧНА І ЛАБОРАТОРНА ТЕХНІКА ТА ДІАГНОСТИКА

Навчальний посібник

В авторській редакції

Головний редактор *Василь Головчак*
Комп'ютерна верстка *Лідія Курівчак*

ISBN 978-966-640-373-8

Підп. до друку 20. 11. 2013. Формат 60x84/₁₆.
Папір офсет. Гарнітура "Times New Roman".
Вид. арк. 9,6. Віддруковано на ризографі.
Тираж 300 пр. Зам. № 95.

Видавець і виготовлювач
Видавництво Прикарпатського національного університету
імені Василя Стефаника
76025, м. Івано-Франківськ,
вул. С.Бандери, 1, тел.: 71-56-22.
E-mail: vdvcit@pu.if.ua.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 2718 від 12.12.2006

