**Ярославская Государственная Медицинская Академия**

**Кафедра пропедевтики внутренних болезней педиатрического факультета**

Учебно-методическое пособие для студентов III курса педиатрического факультета

**Лабораторные методы диагностики**

**( часть первая)**

**ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ**

**Ярославль,1997**

**Цель занятия:**

Овладение студентами методикой общего клинического анализа крови и клинической оценкой полученных данных.

**Порядок исследования:**

Морфологическое исследование крови состоит из:

- определения количества гемоглобина,

- определения количества эритроцитов и

- лейкоцитов в 1 ммЗ крови,

- подсчета лейкоцитарной формулы,

- цветового показателя, а также

- определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

Реже присоединяют подсчет ретикулоцитов, тромбоцитов.

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

*Техника взятия крови*

Исследования крови следует всегда производить в одно тоже время при одинаковых условиях, до приема пищи. Кровь берут из IV пальца левой руки. Перед уколом палец дезинфицируют и обезжиривают, протирая его ватой, смоченной спиртом, а затем

эфиром или их смесью. Прокол производят либо стерилизованным скарификатором, либо иглой Франка со сменными стерилизуемыми лезвиями. Укол обычно производится в верхушку мякоти первой фаланги на глубину 2,5 - 3 мм. Полученную после укола первую каплю снимают фильтровальной бумагой или ватой, смоченной эфиром. Кровь для исследования берут в определенном порядке: для

определения СОЭ, гемоглобина, затем - для подсчета лейкоцитов и эритроцитов; делают мазки. После взятия крови, мякоть пальца оборачивается смоченной эфиром или спиртом ватой и прижимается к ладони для того, чтобы остановить кровотечение.

*Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)*

**Оборудование и реактивы:**

1. Аппарат Панченкова.

2. Капилляры Панченкова.

3. 5% раствор лимоннокислого натрия (свежеприготовленный) .

4. Часовое стекло.

5. Игла Франка или скарификатор.

6. Вата.

7. Спирт.

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

**Ход исследования:**

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

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

**Оценка полученных данных:**

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

*Определение содержания гемоглобина*

**Оборудование и реактивы:**

1. Гемометр Сали.

2. Пипетка от гемометра Сали.

3. 0,1 N HCI.

4. Дистиллированная вода.

5. Пипетка.

6. Стеклянная палочка.

7. Игла Франка или скарификатор.

Для количественного определения гемоглобина пользуются обычно колориметрическим способом. Принцип определения заключается в превращении гемоглобина крови в солянокислый гематин и сравнении цвета полученного с имеющимся в приборе стандартом. Прибором для определения служит гемометр Сали. Он состоит из двух запаянных

пробирок со стандартной цветной жидкостью 1% раствор солянокислого гематина в глицерине), содержащей 16,67 г% гемоглобина (16,67 г на 100 мл крови). Между ними расположена градуированная пробирка, имеющая две шкалы. Одна - с делениями от 0 до 23 служит для определения гемоглобина в граммах на 100 мл крови, т. е. в грамм процентах; другая шкала с делениями от 0 до 140 показывает единицы гемоглобина (процент гемоглобина).

**Ход исследования:**

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

**Оценка полученных данных:**

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

*Определение количества эритроцитов и лейкоцитов*

**Оборудование и реактивы:**

1. смесители (меланжеры) или пробирки для подсчета эритроцитов и лейкоцитов.

2. 3% - раствор NaCl (для разведения эритроцитов) или жидкость Гайема.

3. 3% раствор уксусной кислоты.

1. Счетная камера.

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

При набирании крови до метки 0,5 она окажется разведенной в 200 раз, при набирании до 1,0 - в 100 раз. Для разведения эритроцитов применяют 3% раствор поваренной соли или жидкость Гайема, в которой лучше сохраняется форма эритроцитов. Смеситель для лейкоцитов имеет более широкий просвет капилляра и меньшую по величине ампулу. Нанесены три метки: 0,5 , 1,0 и 11. Это позволяет развести кровь в 10, либо в 20 раз (чаще разводят в 20 Раз). Для разведения лейкоцитов используют 3 - 50% раствор уксусной кислоты. Уксусная кислота растворяет эритроциты, что позволяет вести подсчет только лейкоцитов.

**Счетная камера.**

Для подсчета форменных элементов наиболее часто применяется камера типа Бюркера с выгравированной на ней сеткой Горяева. Счетная камера состоит из толстого предметного стекла с особым углублением. На дне углубления счетной камеры выгравирована сетка, в клетках которой и подсчитываются форменные элементы. По краям углубления имеются возвышения, куда накладывается покровное стекло. Между нижней поверхностью этого стекла и дном углубления образуется замкнутое пространство, которое и представляет собой счетную камеру. Глубина камеры соответствует 0,1 мм. Счетная камера типа Бюркера разделена пополам глубокой канавкой и имеет на каждой половине сетку Горяева, что позволяет сразу считать 2 капли, не заполняя вновь камеры. Сетка Горяева имеет 225 больших квадратов (15Х15), 25 из которых разделены на малые, по 16 в каждом; имеются также пустые квадраты, собранные в группы по 4 квадрата. Всего в сетке 100 больших пустых квадратов, собранных в 25 групп (5X5). Каждая сторона маленького квадратика равна 1/20 мм, а так как высота камеры составляет 0,10 мм, то объем равен 1/4000 ммЗ.

**Ход исследования:**

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

1-2 капли и выпускают последующую каплю на сетку.

*Для подсчета лейкоцитов* кровь из места укола набирают до метки 0,5, затем разводят 3% раствором уксусной кислоты до метки 11. Энергично встряхивают в течение 3 минут, после чего сливают

1-2 капли и заполняют счетную камеру. При работе с пробирками

для подсчета эритроцитов, наливают 4 мл 3% раствора поваренной соли или жидкости Гайема и в нее выпускают 0,02 мл. крови,

отмеренной пипеткой от гемометра Сали. Для подсчета белых кровяных элементов в пробирку наливают 0,4 мл 3 - 5% раствора

уксусной кислоты и 0,02 мл крови. Энергично встряхивают пробирки, затем в жидкость опускают пипетку из гемометра Сали и,

набрав содержимое, заполняют счетную камеру.

**Заполнение счетных камер:**

Хорошо вымытое и вытертое шлифованное покровное стекло накладывают на выступающие боковые края. Мякотью больших пальцев покровное стекло притирают, двигая вверх и вниз, все время плотно прижимая, пока не появятся, так называемые, Ньютоновы кольца. Перед заполнением камеры вновь энергично встряхивают смесители. выпускают 2 капли на фильтровальную бумагу, а третьей заполняют щелку между камерой и покровным стеклом. Жидкость по капиллярности засасывается между ними и заполняет пространство над сеткой. Жидкость при заполнении камеры не должна затекать в желобки, если это стучится, то ее удаляют фильтровальной бумагой.

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

Чтобы не сбиться со счета, придерживаются определенной

последовательности счета: передвигая из квадрата в квадрат по

горизонтали один ряд слева направо, следующий - справа налево. Считают, помимо находящихся внутри квадрата, все эритроциты, лежащие на двух линиях, например, на левой и верхней, и пропускают все лежащие справа и снизу. Считать эритроциты надо в 5 больших квадратах, т. е. в 80 маленьких.

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

Количество эритроцитов в 1 ммЗ (искомое) вычисляют следующим образом: единицей счета всегда, при всяком подсчете, в любой сетке служит малый квадрат. Объем его, как было указано, равен 1/4000 мм3. Сосчитав эритроциты в 5 больших квадратах (80 малых квадратов), делят это количество на 80 и умножают на 200 (степень разведения крови) и на 4000 (чтобы получить количество

клеток во всем кубическом миллиметре);практически, следовательно, полученное число умножают на 10000 (прибавляют четыре нуля).

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

480\*4000\*200

------------ =4 800 000

80

*Подсчет лейкоцитов.* Для получения достаточно точного результата при подсчете лейкоцитов необходимо сосчитать не менее 100 больших квадратов (=1600 малых). Количество лейкоцитов в 1 мм3 получается следующим образом: число, сосчитанное в3100 больших квадратах, делят на 1600 (приводят к 1 малому квадрату) и умножают на 20 (степень разведения) и на 4000; практически, сокращая постоянные цифры формулы, количество сосчитанных лейкоцитов (при разведении в 20 раз) умножают на 50.

**Пример:** в 100 больших квадратах сосчитано 120 лейкоцитов.

Следовательно, количество лейкоцитов в 1 ммЗ равно

120\*4000\*20

-----------=6000

1600

**Оценка полученных данных:**

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

**Вычисление цветового показателя:**

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

Для вычисления цветового показателя пользуются следующей формулой:

найденное количество Нв найденное число эритроцит.

------------------------ : -------------------------

нормальное количество Нв нормальное число эритроцит.

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

**Приготовление мазков:**

Мазок крови делают обычно вслед за наполнением обоих смесителей. Вытирают палец и пользуются свежевыступившей каплей крови. Кровь берут на предметное стекло, которое должно быть тщательно обезжирено. Затем шлифованным предметным стеклом,

или толстым покровным стеклом, которое ставят на первое предметное стекло под углом 45' в непосредственной близости от капли крови, чтобы она растекалась тонким слоем по ширине шлифованного стекла, делают на нем мазок. Хорошо сделанный мазок желтоватого цвета, просвечивает. Вслед за этим мазок фиксируют.

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

0крашивание мазка производится, как правило, при помощи смеси нескольких красок. Наиболее широко применяется окраска мазка по Романовскому - Гимзе. Перед употреблением краску разводят дистиллированной водой из расчета 1 - 2 капли на 1 мл воды. Мазки укладывают на мостики из стеклянных палочек, опирающихся на края кюветы, и заливают красителем в максимальном количестве, которое может удержаться на стекле. Продолжительность окраски 30 минут. После окраски краситель смывают струей воды, а мазки ставят вертикально на фильтровальную бумагу для просушки.

**Окраска ретикулоцитов:**

1. Предметные стекла (обезжиренные).

2. 1% раствор бриллианткрезилблау (спиртовой).

3. Шлифовальное предметное стекло.

4. Чашка Петри.

5. Фильтровальная бумага.

6. Стеклянная палочка.

7. Иммерсионное масло.

**Методика окрашивания:**

На обезжиренное абсолютно чистое предметное стекло наносят стеклянной палочкой каплю 1% алкогольного раствора краски бриллианткрезилблау. Шлифовальным предметным стеклом

эту каплю размазывают так же, как при приготовлении обычного

мазка крови. После подсыхания красителя на него наносят каплю

крови и делают тонкий мазок, который сразу помещают во влажную камеру (чашка Петри с вложенным в нее кусочком мокрой фильтровальной бумаги). Через 3-5 минут мазок вынимают, высушивают на воздухе и исследуют под микроскопом с иммерсией.

Под микроскопом эритроциты при этой окраске желтовато-зеленоватого цвета; в отдельных же эритроцитах замечается синяя

сеточка, иногда скудная и нежная, иногда обильная, зернистая -

это и есть ретикулоциты.

**Подсчет ретикулоцитов производится так:**

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

**Подсчет лейкоцитарной формулы:**

Лейкоцитарной формулой называют процентное соотношение

отдельных форм лейкоцитов крови. Для более точного ее вычисления необходимо просмотреть не менее 200 лейкоцитов. Так как различные виды лейкоцитов распределяются по мазку неравномерно,

необходимо соблюдать следующие правила: проводить подсчет по

верхнему и нижнему краю мазка, передвигая мазок по зигзагообразной линии. Считают три поля по самому краю в горизонтальном направлении, затем - три поля, направляясь к середине мазка, и т. и. Следовательно, в каждом из четырех участков насчитывают 50 клеток, а всего - 200. Для подсчета лейкоцитарной формулы используют специальный клавишный счетчик, на каждом клавише которого отмечается начальная 6yква названия лейкоцитов. Результаты подсчета лейкоцитарной формулы записываются в виде лейкограммы, имеющей в норме примерно следующий вид:

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

**Микроскопическая картина крови:**

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

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

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

**Базофилы** - клетки размером 12 - l4 микрон, с ядром неопределенной формы. Протоплазма содержит многочисленные крупные зерна, окрашивающиеся в фиолетовый цвет. Количество клеток не превышает 0,5-1%.

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

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

Протоплазма слегка розоватая с мелкой зернистостью красновато-

фиолетового цвета. Ядро состоит из 2-х, 4-х и более сегментов, соединенных между собой тоненькими мостиками, окрашивается основными красками в сине-фиолетовый цвет. Сегментоядерные нейтрофилы составляют от 50 до 68%. В менее зрелых клетках ядро

вытянуто в виде палочки, так называемые палочко-ядерные нейтрофилы 1-4%. Еще реже, около 1%, встречаются нейтрофилы с

круглым ядром - юные формы. Увеличение числа палочко-ядерных, появление юных, вплоть до миелоцитов, носит название сдвига влево, или регенеративного сдвига. Сдвигом в право называется изменение формулы лейкоцитов в сторону увеличения более зрелых клеток.

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

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

*Определение длительности кровотечения по Дуке*

**0борудование и реактивы:**

1. Игла Франка или скарификатор.

2. Фильтровальная бумага.

3. Секундомер.

**Ход исследования:**

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

**Оценка полученных данных:**

Нормальная продолжительность кровотечения 2 - 4 минуты.

*Определение времени свертываемости крови по способу Бюркера*

**Оборудование и реактивы:**

1. Часовое стекло.

2. Чашка Петри с влажной фильтровальной бумагой на дне.

3. Тонкая стеклянная палочка или игла.

4. Игла Франка или скарификатор.

5. Дистиллированная вода.

6. Секундомер

**Ход исследования:**

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

**Оценка полученных данных:**

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

**Ярославская Государственная Медицинская Академия**

**Кафедра пропедевтики внутренних болезней педиатрического факультета**

Учебно-методическое пособие для студентов III курса педиатрического факультета

**Лабораторные методы диагностики**

**( часть вторая)**

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ**

**Ярославль,1997**

**Цель:** овладение студентами методикой лабораторного исследования мочи и клинической оценкой полученных данных.

**Порядок исследования**

1. Забор материала.

2. Исследование физических свойств.

3. Исследование химических свойств.

4. Микроскопическое исследование осадка.

5. Бактериологическое исследование.

*Забор материала*

Лабораторное исследование мочи должно производиться у всех больных независимо от характера их заболевания. Для клинического анализа необходимо 100 - 200 мл первой утренней мочи, которую собирают в чистую сухую стеклянную посуду. Перед забором мочи необходим туалет наружных половых органов или взятие мочи катетером. На посуду с мочой наклеивают этикетку с указанием фамилии и инициалов больного, номера палаты и отделения, диагноза и характера исследования (общий анализ, исследование на сахар

и ацетон и т. д.). Количественное определение составных частей мочи (например, сахара при сахарном диабете) производят из суточного количества мочи. Мочу собирают за сутки в один сосуд, измерив общее количество, направляют на исследование 100 - 150 мл мочи.

Для бактериологического исследования достаточно 10 мл мочи, собранной в стерильную пробирку, стерильным катетером.

Для выявлении лейкоцитурии (метод Каковского - Аддиса) мочу собирают за 10 - 12 часов, т. е. с 21 часа до 9 часов. Собранную мочу тщательно размешивают и измеряют ее количество. На исследование направляют количество, выделенное за 12 минут, которое определяют по формуле:

Y

X=----------------- ,

t\*5

где:

Х - количество мочи за 12 минут,

Y - объем мочи, измеренной в мл,

t - время, за которое собрана моча, 1/5 часа - 12 минут.

Проба по 3имницкому. При обычном питьевом режиме мочу собирают в течение суток за каждые 3 часа, первая порция мочи в 6 часов утра выливается. На каждую бутылочку наклеивается этикетка с указанием фамилии, палаты, номера порции и

промежутка времени, за который собрана порция (6 ч. - 9 ч., 9 ч. - 12 ч., и т. д.). Все 8 порций направляют на исследование.

*Исследование физических свойств*

Исследование физических свойств мочи включает в себя определение количества, цвета, прозрачности, запаха и удельного веса мочи. **Количество** выделяемой за сутки мочи (диурез) в норме составляет в среднем 50 - 80% выпитой жидкости и колеблется от

1000 до 2000 мл. Измерение производят с помощью мерной посуды по нижнему мениску (уровню жидкости). **Цвет** мочи в норме колеблется от светло-желтого до насыщенного желтого и обусловлен содержащимися в ней пигментами: урохромом А, урохромом Б, уроэтрином, урорезином и др. Определяют цвет простым осмотром, после предварительного отстаивания в проходящем свете на белом фоне.**3апах** свежевыпущенной мочи здорового человека своеобразный , слабый ароматический, который, как считают,

зависит от содержания в ней минимальных количеств летучих эфирных кислот. При длительном стоянии, в результате щелочного брожения, моча приобретает резкий неприятный аммиачный запах. Запах гниющих яблок при наличии в моче ацетоновых тел. Прием некоторых пищевых продуктов и лекарств придают моче свой запах.

**Прозрачность (мутность)** . Нормальная свежевыпущенная моча прозрачна. Мутность может быть вызвана: солями, клеточными элементами, бактериями.

**Посуда, оборудование и реактивы:**

- цилиндр на 10 - 15 мл.

- химические пробирки.

- горелка.

- 10% раствор уксусной кислоты, раствор щелочи ( NaОН ).

**Ход исследования:**

В цилиндр емкостью 10 - 15 мл наливают мочу, отстаивают и через слой мочи читают печатный текст. Степень мутности обозначают следующим образом: прозрачная

моча - печатный текст читается легко; слабая степень мутности - легко читается средний и крупный печатный текст; умеренная - буквы различаются нечетко; большая - буквы неразличимы. Причину помутнения определяют следующим образом. В пробирку наливают 2-3 мл мочи, нагревают. Исчезновение помутнения указывает на наличие уратов; усиление - на наличие фосфатов. Последние растворяются после добавления 2-3 капель 10% уксусной кислоты, Исчезновение помутнения от добавления нескольких капель щелочи говорит о присутствии кристаллов мочевой кислоты. Удельный вес зависит от количества растворенных в моче плотных веществ. В норме удельный вес мочи 1012 - 1025.

**Посуда и оборудование:**

- цилиндр емкостью в 50 - 100 мл,

- урометр с делениями от 1000 до 1050 ...

**Ход исследования:**

Мочу наливают в цилиндр, избегая образование пены. Если пена образуется, то ее следует удалить фильтровальной бумагой. Осторожно погружают урометр в жидкость; верхняя часть урометра должна быть сухой и урометр не должен касаться стенок цилиндра. Когда урометр перестал погружаться, его слегка толкают сверху, иначе он опускается меньше, чем следует. После прекращения колебаний по нижнему мениску жидкости по шкале урометра отмечают удельный вес. При малом количестве мочи, ее следует развести дистиллированной водой (1 мл мочи +1 мл воды - разведение в 2 раза, 1 мл мочи +2 мл воды - в 3 раза и т.д.) . Определив удельный вес, две последние цифры удельного веса умножают на степень разведения. Необходимо при определении удельного веса учитывать температуру окружающей среды, так как урометры выверены при температуре 15'С. Измеряя удельный вес, следует вносить поправку: на каждые 3' выше 15' необходимо прибавить 0,001, и на каждые 3' ниже 15' вычитать 0,001.

**Реакция мочи** в норме при смешанной пище кислая или слабокислая. Ориентировочный способ определения реакции мочи при помощи синей и красной лакмусовой бумажек. В кислой моче синяя лакмусовая бумага краснеет, в щелочной - красная синеет; в нейтральной обе бумажки не меняют своего цвета.

**Исследование химических свойств:**

Прежде чем приступить к химическому исследованию, необходимо профильтровать мочу.

Химическое исследование включает в себя определение в моче белка, сахара, ацетона и ацетоуксусной кислоты, желчных пигментов и уробилина.

**Определение белка:**

Качественные реакции на белок основаны на его осаждении реактивами или нагреванием. При наличии белка в моче образуется большая или меньшая степень помутнения. Условия определения белка: 1) - моча должна иметь кислую реакцию. Щелочную мочу подкисляют, добавляя 2 - 3 капли уксусной кислоты. 2) - моча должна быть прозрачной. Помутнение

устраняется фильтрованием через бумажный фильтр. Качественную пробу следует проводить в двух пробирках, од на - контроль.

**0ценка:** В норме белка в моче не содержится.

*Качественные пробы*

**Проба с сульфосалициловой кислотой**

**Реактивы:**

- 20% раствор сульфосалициловой кислоты.

**Ход исследования:**

В пробирку наливают 4 - 5 мл мочи и добавляют 8 - 10 капель реактива. При наличии белка в моче, в зависимости от количества его, может быть помутнение или выпадает хлопьевидный осадок. Проба считается одной из самых чувствительных, положительна при наличии белка в моче в количестве - 0,015%.

**Проба с уксусной кислотой**

**Реактивы:**

- 10% раствор уксусной кислоты.

**Ход исследования:**

В пробирку наливают 8 - 10 мл мочи, нагревают верхний слой мочи до кипения и прибавляют 8 - 10 капель уксусной кислоты. При наличии белка в нагретой части мочи образуется помутнение или хлопья свернувшегося белка.

**Количественное определение белка. (способ Робертса - Стольникова):**

**Принцип метода:** Если при наслаивании мочи на азотную кислоту на границе двух жидкостей образуется тонкое белое кольцо между 2-й и 3-й минутами, то в исследуемой моче содержится 0,033%o белка.

**Реактивы:**

- концентрированная азотная кислота,

**Ход исследования:**

В пробирку наливают 1 - 3 мл азотной кислоты и осторожно по стенке наслаивают такое же количество мочи. Замечают время после наслаивания. Если кольцо на границе жидкостей (рассматривать его следует на черном фоне) образуется сразу или раньше 2-х минут после наслаивания, мочу необходимо развести водой. После чего производят повторное определение белка в разведенной моче. Разведение производят до тех пор,

пока белое кольцо при наслаивании на азотную кислоту разведенной мочи не появится между 2-й и 3-й минутами. Количество белка вычисляют путем умножения 0,033%o на степень разведения.

*Определение сахара (глюкозы)*

**Качественная проба (проба Гайнеса)**

Проба основана на свойстве глюкозы восстанавливать гидрат окиси меди в гидрат закиси меди (желтый цвет) или закись меди (красный цвет).

**Реактивы:**

реактив Гайнеса (смесь растворов сернокислой меди, едкого натра и глицерина).

**Ход исследования:**

В пробирку наливают 3 - 4 мл раствора Гайнеса, прибавляют 8 - 10 капель мочи и нагревают до кипения. При наличии сахара цвет мочи изменяется от коричневато-зеленого до красного, в зависимости от количества сахара.

**0ценка:** В норме сахара в моче нет.

**Количественное определение сахара мочи**

**Поляриметрический метод:**

Принцип метода заключается в использовании свойства глюкозы вращать плоскость поляризации вправо. По углу вращения поляризованного луча можно определить количество глюкозы.

**Ход определения:**

Моча должна быть прозрачной, не содержать белка, кислой реакции. Для этого мочу подкисляют слабой уксусной кислотой, кипятят, охлаждают и фильтруют. Трубку

поляриметра заполняют профильтрованной мочой без пузырьков воздуха, накрывают шлифованным стеклом, завинчивают плотно, насухо вытирают и помещают в аппарат.

Определение производят спустя 2 - 3 минуты после заполнения трубки, так как колебание частиц жидкости мешает исследованию. Оптически активный раствор глюкозы, отклоняя луч, меняет интенсивность света в окуляре; восстановить освещенность можно, повернув анализатор на определенный угол. Угол отклонения выражается в градусах шкалы прибора. Угол отклонения в 1 градус соответствует 1 % глюкозы при длине трубки 18,94; если длина 9,47 - полученный результат умножить на 2.

**Определение ацетоновых тел (проба Ланге)**

К ацетоновым телам относятся ацетон, ацетоноуксусная кислота и оксимасляная кислота. В моче встречаются совместно, поэтому раздельное их определение клинического значения не имеет. В норме в моче не содержатся.

**Реактивы:**

- смесь нитропрусидного натрия с сернокислым аммонием;

- раствор аммиака.

**Ход определения:**

В пробирку насыпают немного, так чтобы было покрыто дно нитропрусидной смеси, и приливают 5 мл мочи, взбалтывают и осторожно наслаивают 2 мл аммиака. Фиолетово-красное кольцо, появившееся на границе двух жидкостей, свидетельствует о наличии в моче ацетона.

**Определение билирубина (проба Розина)**

Качественная реакция основана на превращении билирубина под воздействием окислителей (йода) в биливердин зеленого цвета.

**Реактивы:**

- раствор Люголя или 1% спиртовой раствор йода.

**Ход определения:**

На 3 - 4 мл мочи осторожно наслаивают 1 - 2 мл 1% спиртового раствора йода или раствора Люголя. При наличии желчных пигментов (билирубина) на границе жидкостей появляется зеленое кольцо.

**0ценка:** В норме билирубин в моче не содержится.

**Определение уробилина (проба Флоренса)**

**Реактивы:**

- концентрированная серная кислота;

- эфир;

- концентрированная соляная кислота.

**Ход определения:**

К 10 мл мочи добавляют 3 - 4 капли концентрированной серной кислоты, смешивают, приливают 2 - 3 мл эфира, пробирку закрывают резиновой пробкой и осторожно

смешивают, не взбалтывая. В другую пробирку наливают 2 мл концентрированной соляной кислоты. Пипеткой отсасывают из первой пробирки эфирный слой и наслаивают его на соляную кислоту. На границе жидкостей при наличии уробилина образуется красно-фиолетовое кольцо различной интенсивности.

*Микроскопическое исследование*

**Приготовление препарата:**

В центрифужную пробирку наливают 10 - 15 мл мочи и центрифугируют при 1000 - 1500 об/мин. 10 минут. После центрифугирования пробирку быстро опрокидывают для удаления надосадочной жидкости, затем переводят в исходное положение, чтобы осадок остался на дне. Пастеровской пипеткой осадок размешивают, небольшую каплю осадка помещают на предметное стекло и накрывают покровным. Микроскопия производится сначала под малым, а затем под большим увеличением.

**Элементы мочевого осадка**

Различают организованный (эритроциты, лейкоциты, эпителиальные клетки, цилиндры) и неорганизованный осадок (соли).

**Организованный осадок:**

Эритроциты могут быть неизмененные в виде дисков желтовато-зеленоватого цвета, содержащих гемоглобин, и измененные (выщелоченные), свободные от гемоглобина, бесцветные, имеющие вид одноконтурных или двухконтурных колец. В норме содержатся

единичные эритроциты в препарате. Лейкоциты обнаруживаются в моче в виде небольших зернистых клеток правильной округлой формы серого цвета. Лейкоциты в моче представлены нейтрофилами и содержатся в небольшом количестве в нормальной моче до 2000000 в сутки). Видоизмененные лейкоциты, так называемые клетки Штернгеймера- Мальбина. Для выявления их после центрифугирования к осадку прибавляют 1 - 2 капли краски, предложенной Штернгеймером и Мальбиным, размешивают, каплю берут на предметное стекло, покрывают покровным и микроскопируют. Клетки Штернгеймера-Мальбина в 2-3 раза больше обычных лейкоцитов, бледно-синие с бледно-синим или бледно-фиолетовым ядром, в цитоплазме заметно движение гранул.

**Клетки эпителия:**

Плоский эпителий - большие (в 3 - 4 раза больше лейкоцитов), широкие полигональные клетки с одним ядром и мелкозернистой цитоплазмой. Встречаются группами и пластами. Наличие этих клеток в моче не имеет особого диагностического значения.

**Клетки круглого эпителия** - довольно крупные, правильной округлой или овальной формы с гомогенной или мелкозернистой протоплазмой и небольшим ядром. В нормальной моче - единичные.

**Почечный эпителий** - небольшие круглые или кубические клетки с большим пузыриковидным ядром и слегка зернистой протоплазмой. В нормальной моче не обнаруживаются.

**Цилиндры** - белковые или клеточные образования канальцевого происхождения, имеют цилиндрическую форму. В нормальной моче может быть небольшое количество только гиалиновых цилиндров (2000 за сутки).

**Гиалиновые цилиндры** - слепки белка, нежные, бледные, почти прозрачные образования, прямые и извитые, концы их закруглены или неправильно обломаны.

**Зернистые цилиндры** - короткие широкие - состоят из зерен различной величины, имеют темный, часто желто-коричневый цвет.

**Восковидные цилиндры** - очень толстые, короткие с желтоватым цветом воска, хорошо контурированы.

**Эпителиальные цилиндры** имеют четкие контуры, состоят из клеток почечного эпителия.

**Эритроцитарные цилиндры** - желтого цвета, состоят из массы эритроцитов. Цилиндроиды похожи на гиалиновые цилиндры, но не имеют продольной исчерченности, контуры их неправильные, концы раздваиваются.

Кроме того, в осадке могут быть: сперматозоиды, бактерии, дрожжевые и другие грибки.

**Неорганизованный осадок:**

В **кислой** моче встречаются:

Мочевая кислота - кристаллы разнообразной формы (ромбической, шестигранной, в виде бочонков, брусков и др.), окрашенные в красно-бурый или желтовато-бурый цвет. Микроскопические кристаллы в осадке мочи имеют вид золотистого песка.

Ураты - аморфные мочекислые соли - мелкие желтоватые, часто склеенные группами зернышки. Микроскопически ураты имеют вид плотного кирпично-розового осадка.

Оксалаты - бесцветные кристаллы в форме почтовых конвертов - октаэдров.

Сернокислая известь - тонкие, бесцветные иглы или розетки. В щелочной и нейтрального моче встречаются:

Фосфаты - аморфные массы солей сероватого цвета (мелкозернистые). Микроскопически - осадок белого цвета.

Трипельфосфаты - бесцветные яркие кристаллы в виде гробовых крышек или длинных призм.

Мочекислый аммоний - желтые непрозрачные шары с шипами на поверхности.

*Функциональные пробы почек и количественный метод определения форменных элементов*

**Проба по Зимницкому**

В каждой из 8-ми полученных порций замеряют количество мочи с помощью мерного цилиндра в определяют удельный вес по ранее разобранной методике. В норме количество мочи за сути - 1000 - 1500 мл, количество мочи в каждой порции 70 - 250 мл; дневной диурез - 2 части, ночной - 1 часть; колебания удельного веса - 1012 - 1025.

**Проба по Каковскому - Аддису**

Принцип исследования заключается в определении числа форменных элементов (эритроцитов, лейкоцитов, цилиндров) в суточном количестве мочи с помощью

счетной камеры.

**Посуда и оборудование:**

Счетная камера.

Градуированная центрифужная пробирка.

Мерная посула.

Микроскоп.

**Ход исследовании:**

Количество мочи, соответствующее объему, выделенному за 1/5 часа (за 12 минут), наливают в центрифужную пробирку и центрифугируют при 2000 об/мин. в течение 5 минут. Пипеткой отсасывают надосадочную жидкость, оставляя 0,5 мл осадка. Осадок смешивают и пипеткой заполняют счетную камеру Горяева. Считают отдельно лейкоциты, эритроциты, цилиндры. Исследуемый осадок можно смешать с 1-2 каплями краски

Штернгеймера в Мальбина для выявления наличия в моче клеток Штернгеймера - Мальбина. Подсчет клеток производится под большим увеличением в 100 любых больших квадратах. Полученное количество клеток 1 ммЗ умножают на 60 000, узнают количество

форменных элементов, выделенных с мочой за сутки. Для нормаль ной мочи количество эритроцитов до 1 млн.; лейкоцитов до 2 млн., цилиндров до 2000.

*Бактериоскопическое исследование*

Бактериоскопическое исследование производят, главным о6 разом, с целью обнаружения микобактерий туберкулеза.

Ход исследования:

Утреннюю порцию мочи, собранную в стерильную посуду, отстаивают. Образовавшийся осадок собирают пипеткой в центрифужную пробирку и центрифугируют. Из осадка

приготавливают мазки, хорошо высушивают, фиксируют над пламенем и окрашивают по Цилю Нильсену (см. раздел <Исследование мокроты>) и затем микроскопируют.

**Микобактерии туберкулеза**, имеющие вид палочек, окрашены в красный цвет и отчетливо выделяются на синем фоне препарата.