

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Методические рекомендации для
самостоятельной работы обучающихся по дисциплине**

Б1.В.ДВ.1.2 Исследование систем крови

Направление подготовки 36.06.01 Ветеринария и зоотехния

Направленность программы Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ	Стр.
1. Организация самостоятельной работы	3
2. Методические рекомендации по самостояльному изучению вопросов	4
3. Методические рекомендации по подготовке к занятиям.....	5

1. ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.1. Организационно-методические данные дисциплины

1. Организация самостоятельной работы

№ п.п.	Наименование тем	Количество часов по видам самостоятельной работы				
		подготовка курсовой работы (проекта)	подготовка рефератов	подготовка РГР	изучение отдельных вопросов	подготовка к занятиям
1	2	3	4	5	6	7
1	Тема 6 Исследование системы крови. Взятие крови, определение её физико-химических свойств: определение скорости свёртывания, ретракции кровяного сгустка, вязкости, СОЭ.				2	1
2	Тема 7 Определение содержания гемоглобина, гематокритного и цветового показателя	-	-	-	2	1
3	Тема 8 Исследование морфологического состава крови.	-	-	-	2	1
4	Тема 9 Приготовление, фиксация и окраска мазков крови, исследование окрашенных мазков крови, выведение лейкограммы.	-	-	-	2	1
5	Тема 10 Изменения эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов				2	1
6.	Тема 12 Биохимические методы исследования белкового обмена.				4	2
7.	Тема 13	-	-	-	4	

	Определение содержания общего кальция, неорганического фосфора и магния.					1
8	Тема 14 Биохимические методы исследования минерального обмена (макро и микроэлементов).				2	1
9	Тема 15 Определение активности ферментов (АсАТ и АлАТ).				2	1
	Итого				22	10

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО САМОСТОЯТЕЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ВОПРОСОВ

2.1 Анатомо-физиологические особенности системы кроветворения.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Кроветворение во взрослом организме и в эмбриогенезе Механизм кроветворения.
Функции органов кроветворения

2.2 Понятие о гемостазе. Знакомство с основными методами оценки свертывающей и антисвертывающей систем крови. Агрегатограммы.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Гомеостаз его определение. Методы оценки свертывающей и антисвертывающей систем крови. Последовательность составления агрегатограмм и умение их расшифровывать.

2.3 Понятие о пункции костного мозга, лимфоузла, трепанобиопсии. Их диагностическое значение.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности:
Понятие о трепанобиопсии. Освоить технику получения и методы исследования пунктата мозга. функции костного мозга. Освоить технику получения и методы исследования пунктата лимфоузлов, функции лимфоузлов в организме животных.

2.4 Общее представление о тромбофилиях и тромбоцитопении .

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, прогноз, лечение, профилактика при тромбофилиях и тромбоцитопении

2.5 Болезни системы крови. Классификация и синдромы. Анемии, геморрагические диатезы.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: Этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, прогноз, лечение, профилактика анемий и геморрагических диатезов. Классификация болезней системы крови, их синдромы.

2.6 Гемобластозы. Патология системы гемостаза.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, прогноз, течение, профилактика гемобластозов. Особенности патологии системы гемостаза.

2.7 Лимфогранулематоз.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, прогноз, лечение, профилактика лимфогрануломатозов.

2.8 Цитостатическая болезнь.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, лечение, профилактика цитостатической болезни.

2.9. Лучевая болезнь. Лейкопения и агранулоцитозы

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, лечение, профилактика лучевой болезни. Понятие о лейкопении и агранулоцитозах.

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ К ЗАНЯТИЯМ

3.1 Практическое занятие 1 (ПЗ-1). Исследование системы крови. Взятие крови, определение её физико-химических свойств: определение скорости свёртывания, ретракции кровяного сгустка, вязкости, СОЭ.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: функции крови; методы анализа крови. Система крови. Взятие крови, определение её физических свойств. Схемы лабораторного анализа крови и диагностическое значение его результатов. Освоить технику взятия крови, научиться определять время её свёртывания, вязкость и скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Объекты исследования и оборудование: коровы, лошади, свиньи, собаки, овцы. Иглы для взятия крови, ножницы, стерилизатор, глазные пипетки, предметные стёкла и часовые стёкла, растворы сульфата меди, цитрата натрия, трилон Б, гепарин, спирт, эфир, 5%-й спиртовой раствор йода, вата, аппараты Панченкова, эритроседиометр, вискозиметр ВК – 4.

3.2 Практическое занятие 2 (ПЗ-2). Определение содержания гемоглобина, гематокритного и цветового показателя.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: общие методы исследования крови. Лабораторное исследование крови. Объекты исследования и оборудование: микроскопы, счётчики, иглы, шприцы, ножницы, носовые шпепцы, грелки резиновые с горячей водой, стёкла предметные и шлифованные, спирт, эфир, 5%-й раствор йода, иммерсионное масло, вата.

3.3 Практическое занятие 3 (ПЗ-3). Исследование морфологического состава крови.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: функции лейкоцитов, функции эритроцитов. Общий клинический анализ крови. Подсчёт эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и выведение лейкограммы. Освоить методику подсчёта эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Объекты исследования и оборудование: кровь с антикоагулянтом, вата, микроскопы, счётные камеры Горяева, шлифованные

покровные стёкла, меланжеры для эритроцитов и лейкоцитов, лабораторные пробирки с пробками, градуированные пипетки на 1 и 5 л, пипетки от гемометра Сали, 0,85%-й раствор хлорида натрия, жидкость Тюрка, раствор трилона Б. Научиться дифференцировать форменные элементы крови по окрашенным мазкам, выводить лейкограмму. Объекты исследования и оборудование: окрашенные мазки крови животных разных видов, микроскопы, препаратороводители, счётчики, стеклянные палочки, иммерсионное масло, бензин, вата, спиртовые тампоны.

3.4 Практическое занятие 4 (ПЗ-4). Приготовление, фиксация и окраска мазков крови, исследование окрашенных мазков крови, выведение лейкограммы.

При подготовки к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты:

Приготовление мазков крови. Лучше мазки готовить из свежей, нативной крови. Из цитратной и оксалатной крови мазки можно приготовить до 6 ч после взятия ее, а из гепаринизированной – до 24 ч. Мазки крови готовят на предметных стеклах, которые нужно соответствующим образом подготовить.

Подготовка предметных стекол. Не бывшие в употреблении стекла промывают в водопроводной воде, а затем в дистиллированной, высушивают и закладывают в банку с притертой крышкой в смесь равных количеств этилового эфира и этилового спирта. Перед работой стекла извлекают пинцетом, протирают. При необходимости, подготовленные таким образом стекла складывают в пакеты, завертывают в бумагу и закладывают на хранение в полиэтиленовые мешочки, которые хорошо завязывают.

Техника приготовления мазков. Предметное стекло берут между большим и указательным пальцами левой руки. Отступая на 1 см от края стекла, лежащего ближе к указательному пальцу, наносят небольшую (диаметром 2 – 3 мм) каплю крови. Это делают обычно путем прикосновения поверхностью предметного стекла к капле крови на месте ее появления после прокола кожи. При изготовлении мазков из крови, взятой в пробирки, каплю ее наносят с помощью глазной или пастеровской пипетки или краем пробки. Затем правой рукой устанавливают вблизи от капли крови шлифованное стекло под углом 30 – 45° и осторожно продвигают его до соприкосновения края стекла с каплей крови. После этого, плавно и не очень быстро, продвигая, справа, налево шлифованное стекло по предметному, приготавливают мазок.

Фиксация мазков. Мазки крови необходимо в течение 2 дней после изготовления или зафиксировать, или окрасить. Нефиксированные мазки через месяц теряют способность правильно окрашиваться.

Для фиксации мазки погружают в метиловый спирт (5 мин), этиловый спирт (30 мин), этиловый спирт и этиловый эфир поровну (30 мин) или денатурированный спирт (30 мин). Мазки помещают в кюветы с фиксатором и закрывают крышкой. Мазки не должны соприкасаться. После фиксации мазки высушивают на воздухе.

Окраска мазков. Качество окраски мазков зависит от многих факторов, в том числе и от pH воды, применяемой для разведения красок.

Для нейтрализации воды с кислой реакцией по каплям добавляют 1 %-ный раствор натрия гидрокарбоната, пока розово-фиолетовая окраска не начнет появляться в течение 1 – 5 мин. Для нейтрализации щелочной воды добавляют 1 %-ный раствор уксусной кислоты.

Выявление лейкограммы (лейкоцитарной формулы).

Лейкограммой называется процентное соотношение между отдельными видами лейкоцитов в крови.

Окрашенные мазки крови исследуют под микроскопом с иммерсией, для чего используют объектив x 90 и иммерсионное масло, которое после исследования удаляют с препарата бензином, керосином, ксилолом или хлороформом.

В окрашенных мазках крови определяют величину, форму, характер окраски и структуру ядра, цитоплазмы и включений в нее, а также соотношение между различными формами отдельных видов клеток крови.

3.5 Практическое занятие 5 (ПЗ-5). Изменения эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: этиология, патогенез, клинические признаки, дифференциальный диагноз, лечение, профилактика.

При патологических процессах в периферической крови наблюдают изменения не только числа клеток, но также их качественных характеристик – формы, размера, структуры, окраски и др. Эти нарушения нередко служат отличительными признаками ряда заболеваний и имеют значение при дифференциальной диагностике.

Изменения эритроцитов. К ним относят анизоцитоз, пойкилоцитоз, анизохромию, появление незрелых форм в периферической крови, а также эритроцитов с остатками ядра.

Изменения лейкоцитов. Морфологические изменения в цитоплазме и ядре лейкоцитов могут происходить как при патологических, так и при физиологических состояниях организма, обуславливающих изменения функциональной деятельности того или иного ростка кроветворения.

Нейтрофилы в них нередко обнаруживают базофильно – окрашенную токсическую зернистость (крупную, грубую, глыбчатую), уменьшение зернистости, вакуолизацию цитоплазмы и ядра (появление бесцветных пятен), базофильную пунктуацию цитоплазмы (тельца Князькова — Деле в виде пятен светло-синего цвета), пикноз ядра (уплотнение базохроматина ядра, что проявляется темной гомогенной окраской без светлых промежутков), полисегментацию ядра (число сегментов превышает пять), отделение ядерных сегментов друг от друга (отсутствие мостиков между сегментами), анизоцитоз (сильное колебание в размере клеток, появление гигантских нейтрофилов), кариорексис (лопанье ядра), набухание ядра и др.

Изменения тромбоцитов. Часто отмечают плохую агглютинацию кровяных пластинок: в мазках они лежат отдельно друг от друга. Часть из них приобретает большие размеры (гигантские пластинки), тромбоциты могут значительно различаться по размерам, т.е. развивается анизоцитоз. Также нередки вакуолизация гиаломера, уменьшение или отсутствие грануломера.

3.6 Практическое занятие 6 (ПЗ-6). Биохимические методы исследования белкового обмена.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: определение резервной щёлочности крови, содержания общего белка и каротина; общий белок и его фракции. В ветеринарной широкое распространение получило биохимическое исследование крови. Биохимические показатели крови определяют с целью профилактики заболеваний или с диагностической целью. В современной лабораторной практике используют различного рода автоматические анализаторы, но в некоторых случаях применяют унифицированные методы биохимического исследования.

3.7 Практическое занятие 7 (ПЗ-7). Определение содержания общего кальция, неорганического фосфора и магния.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: клиническое значение определения общего белка сыворотки крови; гипопротеинемия.

Исследование белкового обмена. Определение содержания общего белка рефрактометрическим методом в сыворотке крови. Объекты исследования и оборудование сыворотка крови, фотоэлектроколориметры, градуированные пипетки на 1 и 2 мл,

бюретки на 5 и 10 мл, глазные пипетки, сдвоенные колбы общим объёмом около 80 мл и с отверстиями диаметром 16, 18 и 20 мм в зависимости от размера резиновых пробок.

3.8 Практическое занятие 8 (ПЗ-8). Биохимические методы исследования минерального обмена (макро и микроэлементов).

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: клинические аспекты нарушения водно-солевого обмена.

Исследование водно-солевого обмена организма. Определение микро- и макроэлементов на биохимическом анализаторе «Стат Факс»:

Определение цинка. Набор реагентов для определения концентрации цинка в сыворотке (плазме) крови и моче прямым колориметрическим методом без депротеинизации (хромоген 5-Вг-РАР8). Количество определений зависит от характеристик используемого биохимического анализатора и минимального рабочего объема кюветы. Согласно стандартной процедуре анализа набор рассчитан на 50 определений.

Определение меди в сыворотке крови. Набор реагентов для определения концентрации меди в сыворотке (плазме) крови прямым колориметрическим методом без депротеинизации (хромоген 3,5-ФВг-РАЕ8А). Количество определений зависит от характеристик используемого биохимического анализатора и минимального рабочего объема кюветы. Согласно стандартной процедуре анализа набор рассчитан на 50 определений.

Определение железа. Набор реагентов для определения концентрации железа в сыворотке или плазме крови колориметрическим методом без депротеинизации (хромоген №(го)-РАР5). Принцип метода: в кислой среде комплексы белка с железом диссоциируют, и железо переходит под действием восстановителя в Fe^{++} . Ионы двухвалентного железа связываются с хромогеном ($\text{No}_{\text{пч}}>\text{-РАР8}$), образуя окрашенный комплекс, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию железа в пробе.

3.9 Практическое занятие 9 (ПЗ-9). Определение активности ферментов (АсАТ и АлАТ).

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты: основные углеводные компоненты крови, гипергликемия, определение и классификация, гипогликемия, определение и причины.

Аспартатаминотрансфераза (АсАТ) и аланинаминотрансфераза (АлАТ) – близкие по действию ферменты, при участии которых в организме животного осуществляется межмолекулярный перенос аминогрупп с аминокислот на кетокислоты. Этот процесс называется переаминированием. Значение переаминирования состоит в синтезе и разрушении отдельных аминокислот в организме. Аминотрансферазы (АсАТ и АлАТ) являются внутриклеточными ферментами и их содержание в сыворотке крови животных невелико. Однако при повреждении или разрушении клеток, содержащих АсАТ и АлАТ (клеток печени, мышц сердца, скелетной мускулатуры и почек) происходит дополнительный выброс этих ферментов в кровяное русло, что приводит к повышению их активности в крови. АЛТ (АлАТ) присутствует в очень больших количествах в печени и почках, в меньших – в скелетных мышцах и сердце. АСТ (АсАТ) распределена во всех тканях тела. Наибольшая активность имеется в печени, сердце, скелетных мышцах и эритроцитах.