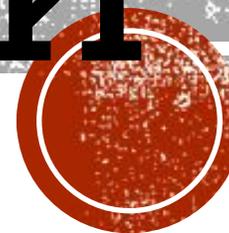


ЗНАКОМСТВО С ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКОЙ



ОБЩЕЕ ПОНЯТИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Лабораторная диагностика - совокупность физико-химических, биохимических и биологических методов диагностики, исследующих отклонения в составе и изменения свойств тканей и биологических жидкостей больного, а также выявляющих возбудителей болезней. Лабораторные анализы выполняются практически у всех больных, т.е. значительно чаще, чем другие дополнительные методы обследования больного (Обследование больного), включая методы визуализации патологического процесса (Рентгенодиагностика, Ультразвуковая диагностика, Эндоскопия и др.); среди диагностических исследований в мировой практике суммарная стоимость лабораторных исследований занимает первое место.



ТИПЫ ОСНОВНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- **общеклинические тесты** — самые распространенные. К ним относятся следующие виды анализов: общий анализ крови, общий анализ мочи, исследование мочи по методу Зимницкого, Нечипоренко, исследование суточной мочи на сахар, исследование желудочного и дуоденального содержимого, общий анализ кала, исследование кала на ко- программу, скрытую кровь, простейшие, яйца гельминтов, изучение состава биологических жидкостей (экссудата и др.), исследование мокроты и др.;
- **биохимические** — по определению содержания веществ белкового, углеводного, липидного, пигментного и других обменов веществ в организме человека, а также остаточного азота и его компонентов, образующихся в процессе биохимических реакций, активности ферментов в сыворотке, плазме крови и других биологических жидкостях. Виды анализов: определение общего белка, белковых фракций, мочевины, креатинина, мочевой кислоты, глюкозы, трансаминаз (АсТ, АлТ), общего холестерина, билирубина и их фракций, электролитов мочи и др.;



ТИПЫ ОСНОВНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- иммунологические — определяется степень защиты организма от определенных заболеваний, состояние иммунитета (иммуноферментативный анализ на ВИЧ-инфекцию и другие анализы);
- серологические — различные способы обследования антиген и антител в крови пациентов для установления конкретных вирусов и бактерий, вызывающих инфекционные заболевания. К этому способу относится и определение группы крови и резус-фактора;
- микробиологические — способы выявления возбудителей инфекционно-воспалительных процессов, определения их чувствительности к лекарственным препаратам и контроля эффективности лечения (исследование мочи на микрофлору и чувствительность к антибиотикам и др.);
- цитологические — выявление патологических изменений в структуре клеток организма, диагностика новообразований и другие типы исследований.



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Самым первым учёным, который вложил в развитие лабораторной диагностики, является Луи Пастер.
- Пастер сделал ряд выдающихся открытий. За короткий период с 1857 по 1885 г. он доказал, что брожение (молочнокислое, спиртовое, уксуснокислое) не является химическим процессом, а его вызывают микроорганизмы; опроверг теорию самозарождения; открыл явление анаэробноза, т.е. возможность жизни микроорганизмов в отсутствие кислорода; заложил основы дезинфекции, асептики и антисептики; открыл способ предохранения от инфекционных болезней с помощью вакцинации.



Луи Пастер, 1822 -1895
гг.



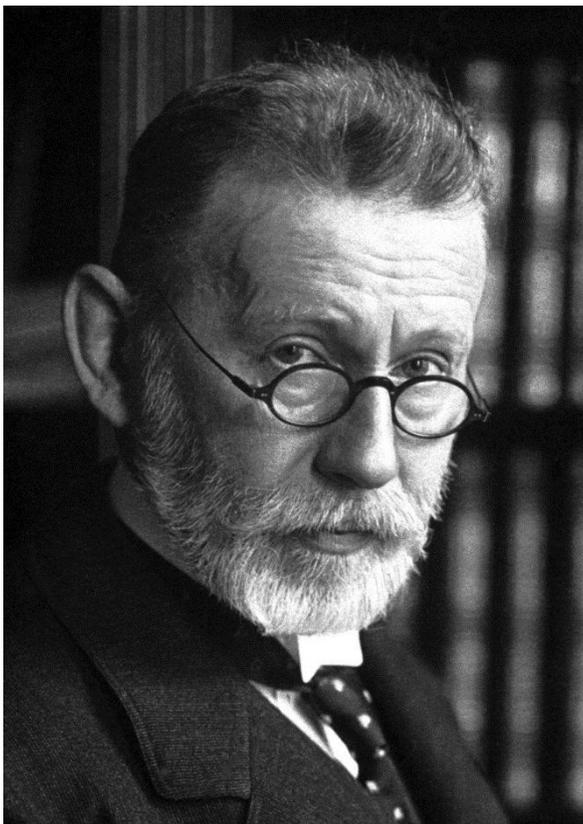
Лактобактерии
микроскопия



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Настоящим титаном лабораторной диагностики можно назвать другого младшего современника Пастера— немецкого учёного Пауля Эрлиха.

Им были осуществлены фундаментальные теоретические исследования, приведшие, например, к формулированию, практически параллельно с клеточной теорией иммунитета Мечникова, теории гуморального иммунитета с основой во взаимодействии антиген-антитело. Сам термин «антитело» придуман Эрлихом. Также ему принадлежит ряд научно-практических открытий и изобретений: первичная дифференцировка лейкоцитов (лейкоцитарная формула), классификация лейкоemий, дуалистическая теория кроветворения (с разделением красного и серого потоков), определение роли красного костного мозга, тучных клеток и ретикулоцитов. Создавал и расширял Эрлихи арсенал практических средств лабораторной диагностики, например, разработал ряд методов иммуноцитохимии и способов окраски препаратов биоматериала.



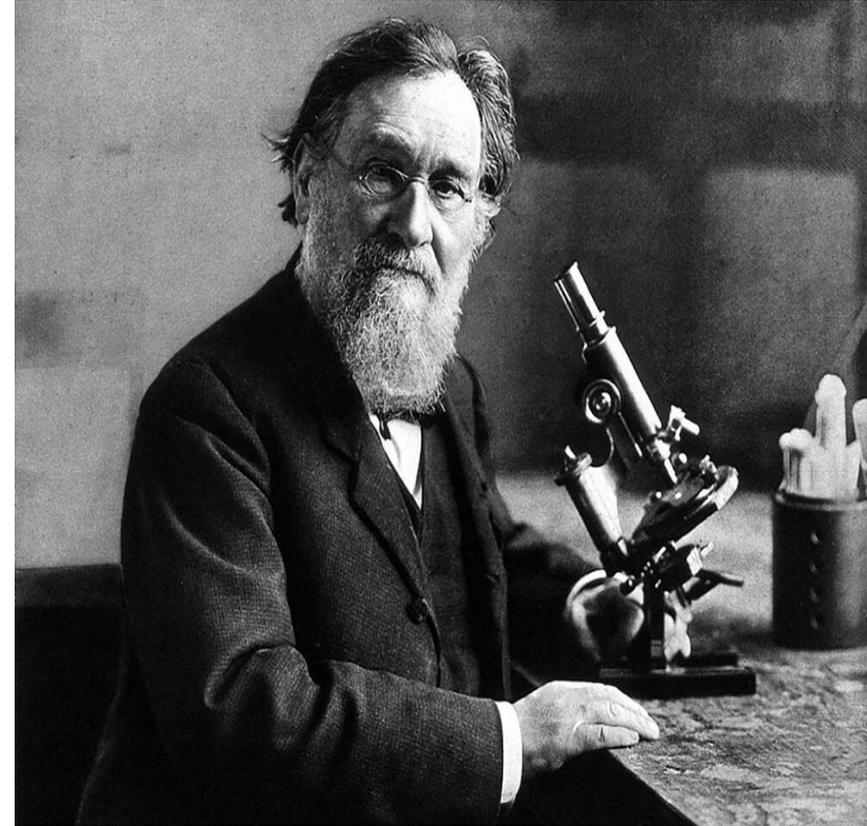
Пауль Эрлих ,1854—1915 гг.

МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛ ПОД АТОМНЫМ СИЛОВЫМ МИКРОСКОПОМ



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Очень заметный вклад в расширение возможностей лабораторной диагностики внесло появление и бурное развитие иммунологии. Возвращаясь к выходцам Пастеровской лаборатории, нельзя не вспомнить выдающегося русского учёного Илью Ильича Мечникова (1845—1916 гг.), оставившего глубокий след в истории ряда медицинских дисциплин, в том числе микробиологии, иммунологии, эмбриологии.

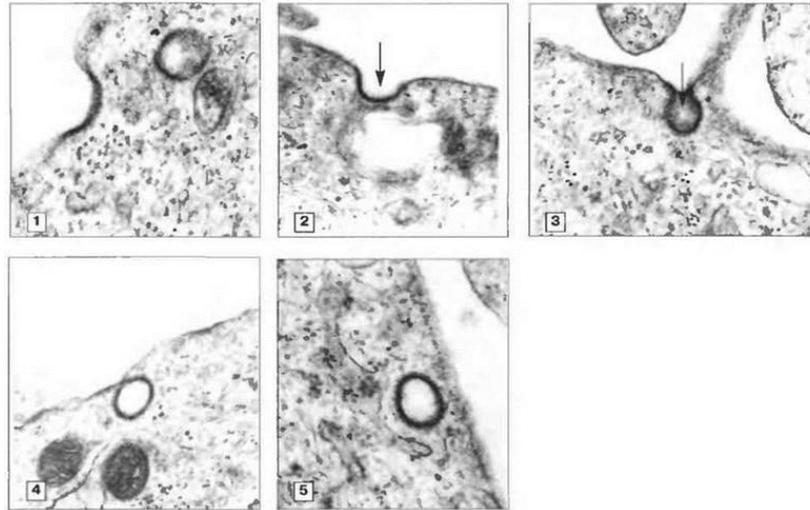


Илья Ильич Мечников, 1845-1916
гг.



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Мечников открыл явление фагоцитоза, создал теорию воспаления, клеточного иммунитета и аутоиммунных реакций. Им были открыты цитокины, цитолитические ферменты и высказано предположение о наличии «цитаз» (лизосом).

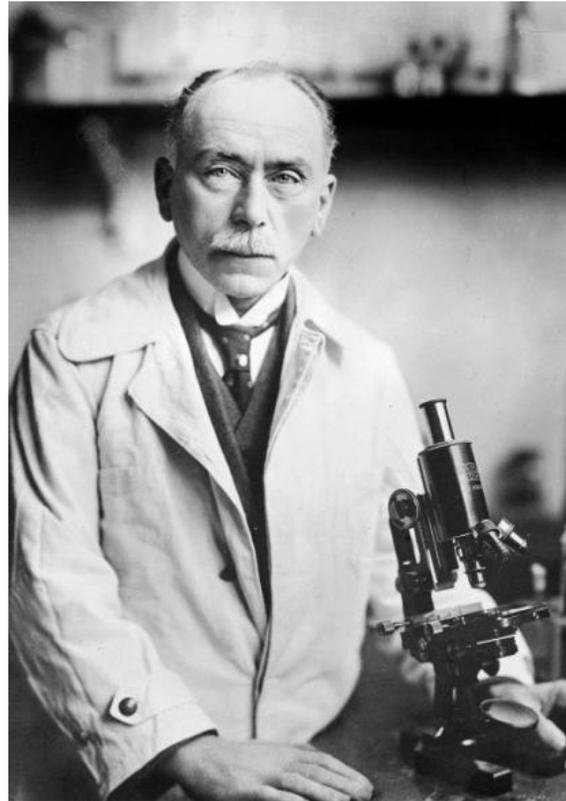


Фагоцитоз ФЭБ
микропрепарат



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Бельгийский микробиолог Жюль Жан-Батист Венсан Борде (1870—1961 гг.) установил, что в основе иммунных реакций лежат физико-химические процессы. Он открыл механизмы агглютинации, гемолиза, преципитации, выяснил роль комплемента, т.о. предложив серологические исследования и значительно увеличив их диагностическую ценность.
- Также учёный изучал механизмы анафилаксии, бактериофагии и разработал одну из первых теорий свёртывания крови. о наиболее известен Борде благодаря тому, что совместно с коллегой-соотечественником Октавом Жангу (1875—1959 гг.) разработал реакцию связывания комплемента (РСК), в частности, послужившую основой для метода диагностики сифилиса.



Жюль Борде, 1870-1961 гг.

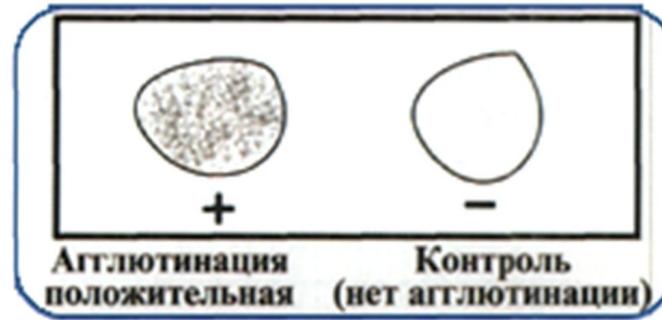


Октав Жангу, 1875—1959



РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ

- (от лат. agglutinatio - склеивание) - склеивание (соединение) антигеннесущих корпускулярных частиц молекулами специфических антител в присутствии электролитов, которое заканчивается образованием видимых невооруженным глазом хлопьев или осадка (агглютината).



Реакция агглютинации на предметном стекле в капле сыворотки - ориентировочная



Развернутая реакция агглютинации



НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

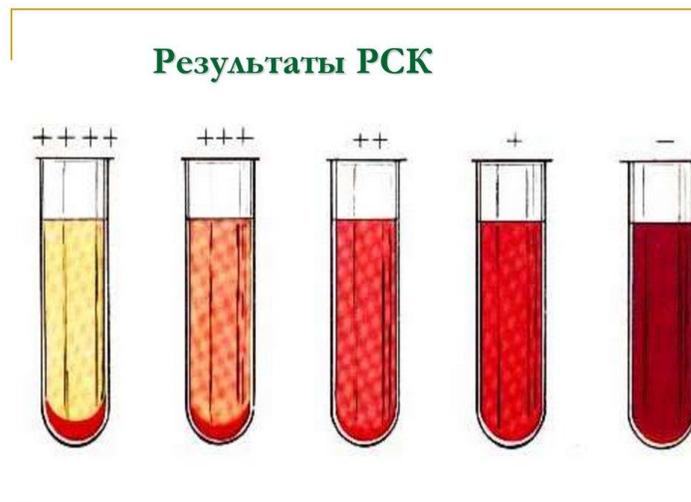
- Определение возбудителя, выделенного от больного: используют как агглютинацию на стекле, так и развернутую реакцию.
- Определение антител в сыворотке крови больного (развернутая реакция агглютинации)
- Реакция агглютинации для определения групп крови.



РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА (РСК)

Реакция, основанная на взаимодействии антигена и антитела с последующей активацией (связыванием) комплемента.

Если комплекс антиген-антитело не образуется, то комплемент остается свободным.



Реакция связывания комплемента (РСК) для серодиагностики

- Ставится в пробирках
- Компоненты:
 - **сыворотка больного** (в ней ищут АТ к определенному АГ)
 - **диагностикум**
 - **комплемент**
- Для учета реакции добавляют **индикаторную систему**, состоящую из **эритроцитов барана** и **гемолитической сыворотки**.
- Учет – визуальный:
 - при “+” реакции – **осадок из эритроцитов**
 - при “-” реакции – **гемолиз (“лаковая кровь”)**



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Очень серьёзным достижением в области иммунологии и иммунологической диагностики, послужившим началом для развития подраздела лабораторных исследований, называемых иногда «изосерологическими», стало открытие и описание в 1901 г. австрийским иммунологом Карлом Ландштайнером (1868—1943 гг.) метода выявления групповых антигенных и серологических отличий у людей, обладающих разным набором специфических белков крови (гемолизинов и гемагглютининов).
- Смешивая эритроциты одних лиц с нормальными сыворотками других, ему удалось выявить три группы крови: А, В и О. Группа АВ была определена в 1907 г. его соотечественником Яном Янски (1873—1921 гг.).



Карл Ландштейнер, 1868—1943 гг

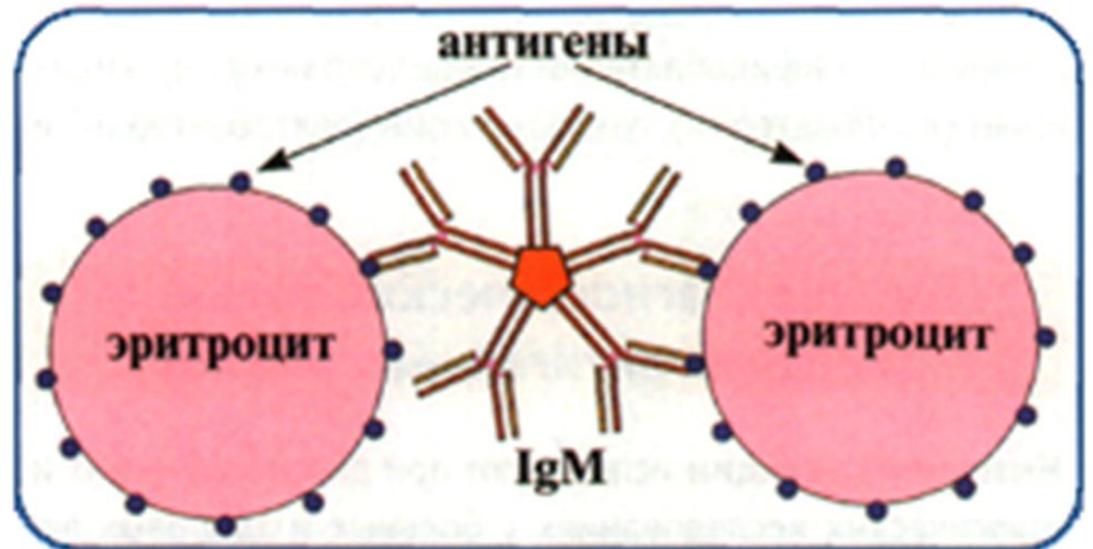


Ян Янский,
1873—1921 гг.



РЕАКЦИЯ НЕПРЯМОЙ (ПАССИВНОЙ) ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ (РНГА)

- склеивание эритроцитов антителами за счет антигенов, адсорбированных на поверхности эритроцитов
- РНГА ставят в пластиковых планшетах или в пробирках с разведениями сыворотки крови больного, к которым добавляют антигенный эритроцитарный диагностикум – эритроциты с адсорбированными на них антигенами



ПОСТАНОВКА И УЧЕТ РНГА.

- Реакция положительна, если образуется фестончатый осадок (“кружевной зонтик”).
- Реакция отрицательна при образовании осадка в виде пуговки.



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

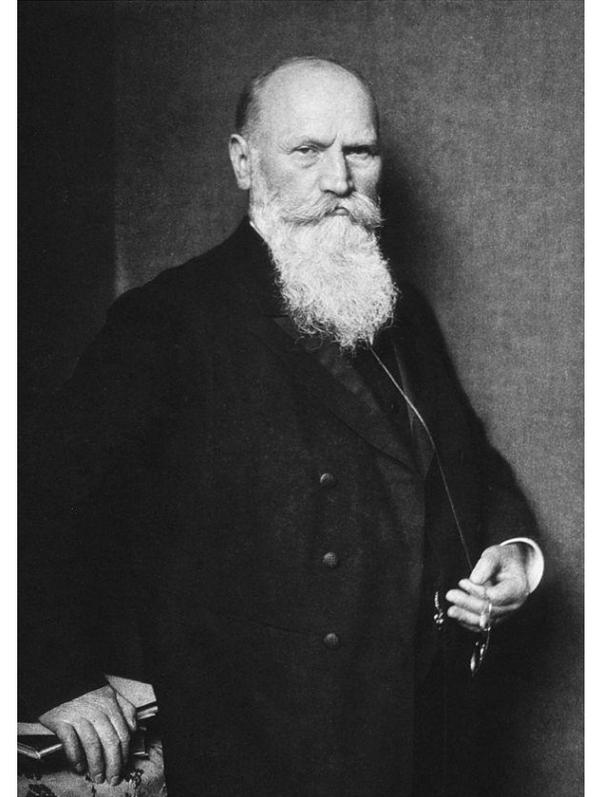
- Перебрасывая таким образом мостик к истории очередного раздела лабораторной диагностики — цитологическим исследованиям, можно упомянуть и известного французского дерматолога Эрнеста Бенье (1831—1909 гг.). Он первым во Франции создал при своём дерматологическом отделении гистологическую (микроскопическую) и бактериологическую лабораторию, активно пропагандировал метод биопсии для диагностики и предложил сам термин «биопсия».
- Можно сказать, что основы цитологической диагностики были заложены ещё в 1860-е годы. Немецкий анатом Генрих Вильгельм Готфрид фон Вальдейер-Гарц (1836—1921 гг.), занимавшийся классификацией различных клеток человеческого организма, высказал предположение, что новообразования могут развиваться из одной клетки и распространяться с током крови или лимфы. Он разработал гистологический метод и первые цитологические критерии диагностики онкологических заболеваний.

***Биопсия — диагностическая процедура, которую проводят с целью получения образца ткани (биоптата) из «подозрительного» места, например, опухоли или полипа.**

- Биопсия необходима для подтверждения диагноза при онкологических заболеваниях.



Эрнест Бенье, 1831—1909 гг



Генрих Вильгельм Готфрид фон Вальдейер-Гарц, 1836—1921 гг.,



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Активно и повсеместно цитологические исследования стали внедряться в практику с 1920-х годов. В 1927 г. советский гематолог Михаил Иннокентьевич Аринкин предложил методику стерильной пункции с последующим микроскопическим изучением состояния красного костного мозга.
- Большой вклад в продвижение цитологического метода в СССР, особенно для диагностики поражений костного мозга, лимфоузлов и селезёнки внёс Иосиф Абрамович Кассирский (1898—1971 гг.), известный также своими достижениями в изучении морфологии и цитохимии клеток крови.

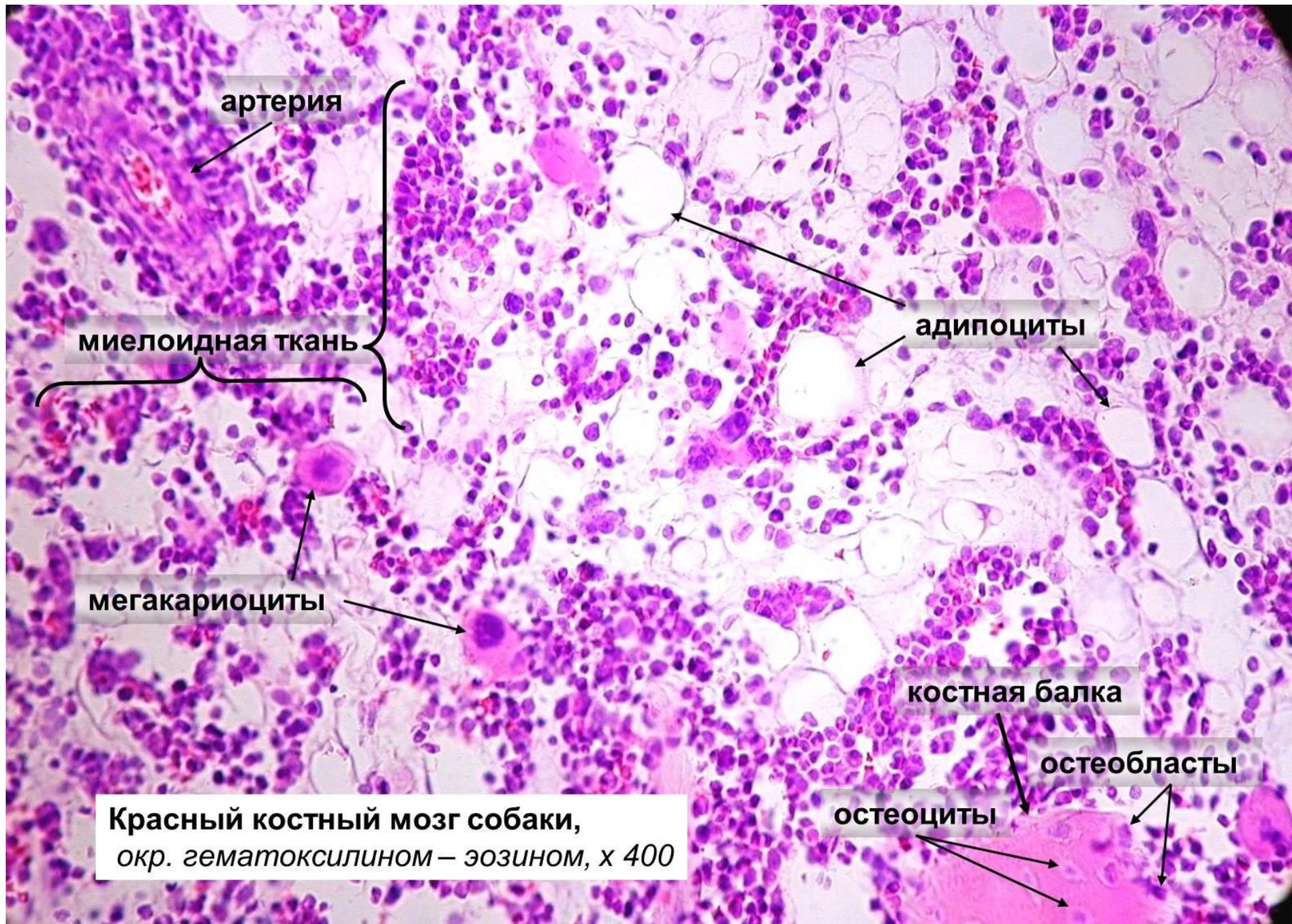


Михаил Иннокентьевич Аринкин,
1876- 1948 гг.



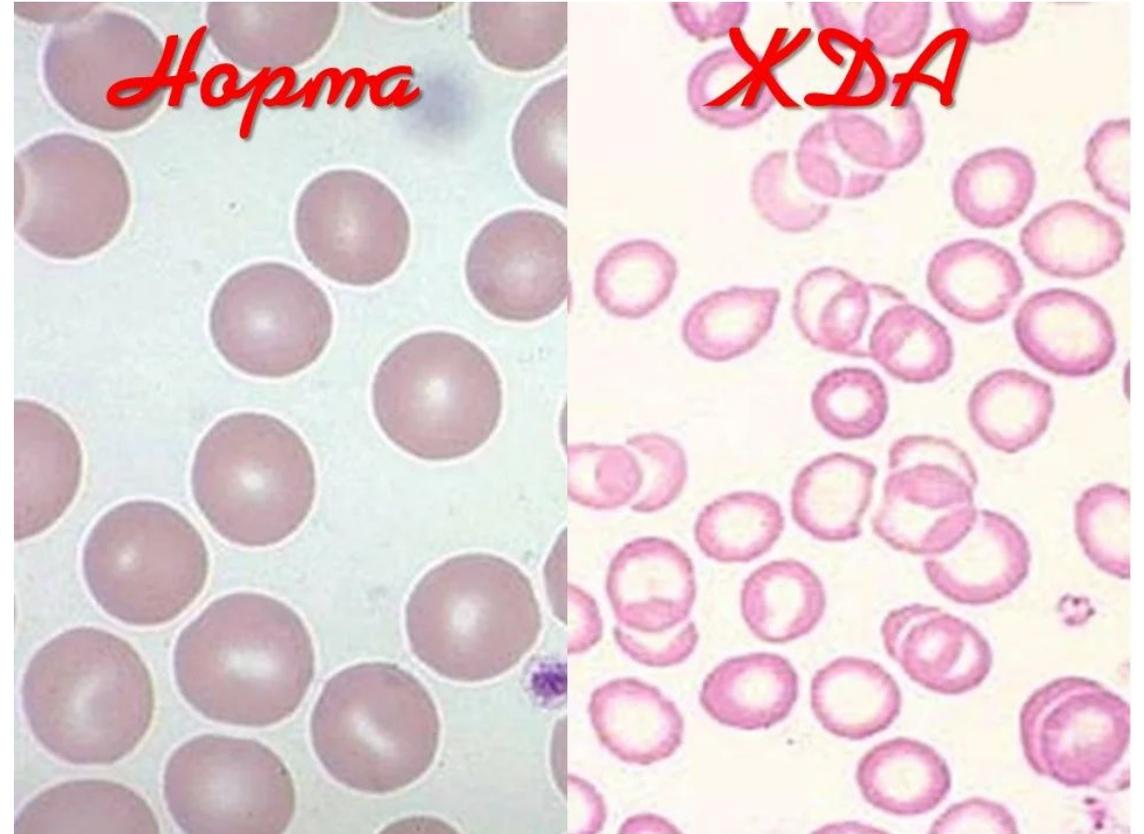
Иосиф Абрамович
Кассирский, 1898—1971 гг.





ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Самым «близким» к пациенту разделом лабораторной диагностики всегда были т.н. общеклинические исследования, включавшие самые разнообразные методы, в основном микроскопию и относительно несложные химические тесты.
- А самым широко используемым биоматериалом в лабораторной диагностике, бесспорно, является кровь. Общий анализ крови, как правило, бывает первым исследованием, назначаемым пациенту, а одним из важнейших его показателей, определяемых в цельной крови, является уровень гемоглобина.
- Впервые наличие поглощающего кислород белка выявил в 1840 г. немецкий химик Ф.Л. Хюнефельд.
- Его коллега Отто Хунке (1828—1879 гг.) смог выделить гемоглобин в кристаллическом виде.
- Роль гемоглобина в транспорте кислорода удалось установить ещё одному немецкому химику Феликсу Хоппе-Зейлеру (1825—1895 гг.), активно занимавшемуся химическим анализом не только крови, но и мочи, желчи, грудного молока.



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

- в 1959 г., т.е. позже, чем кажущаяся куда более сложной «расшифровка» ДНК, структура гемоглобина была определена британскими биохимиками — нобелевскими лауреатами: Джоном Коуэри Кендрю (1917—1997 гг.) и Максом Фердинандом Перуцем.



Джон Коуэри Кендрю, 1917—1997
гг.



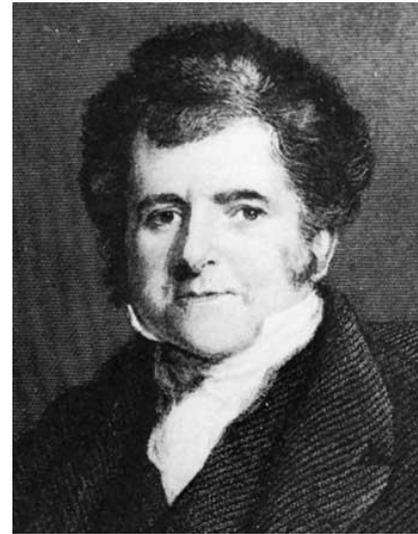
Макс Фердинанд Перуцем, 1914
-2002 гг.



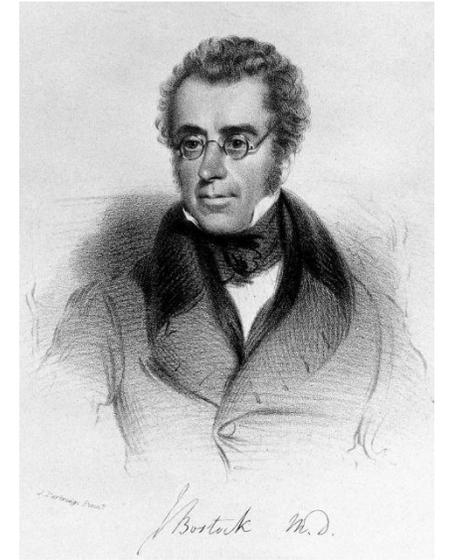
ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Какое значение такому биоматериалу, как моча, придавалось в средневековой медицине, сказано выше доклинические исследования стали проводиться только в XIX в. Одним ольно много, н о настоящие научно подкреплённые из первых в этой области являлся английский врач Ричард Брайт (1789—1858 гг.), носящий гордое имя Отца нефрологии. Брайт организовал маленькую пригоспитальную лабораторию, где с помощью химика Джона Бостока (1773—1846 гг.) осуществлял макроскопический, физический и химический анализ мочи. Применялась паровая баня для подогрева остывшей мочи. Изучая гломерулонефриты, Брайт часто определял в моче альбумин при помощи ложки, в которой нагревал мочу над свечой. Если в моче был альбумин, то он оседал при нагревании чуть ниже точки кипения в виде творожистого осадка. Правда, при столь серьёзном отношении к лабораторным методам в целом, Брайт мог претендовать и на сомнительную славу последнего известного клинициста, с успехом обходившегося «традиционной» уроскопией и не пользовавшегося микроскопом.

В 1850—1860 гг. комплексные исследования мочи, включавшие как микроскопию, так и химико-физический анализ с определением: хлоридов, сульфатов, фосфатов, мочевины и глюкозы, проводил другой английский врач Артур Хилл Хоссэл (1817—1994 гг.), известный своими гистологическими исследованиями тимуса. Учёным были отмечены значительные различия состава мочи в зависимости от пола, возраста и влияния разных патологических состояний.



Ричард Брайт, 1789—1858
гг.



Джон Босток, 1773—1846 гг.



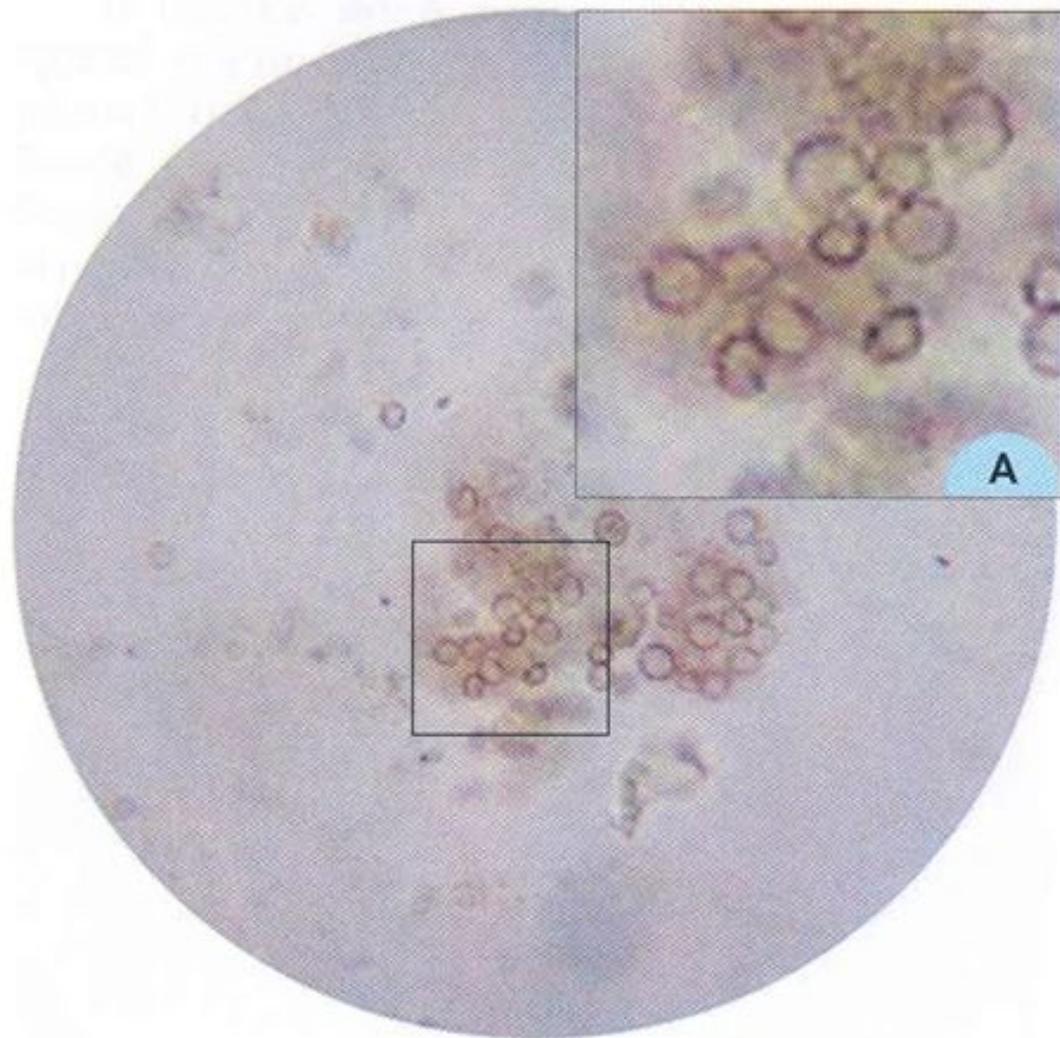
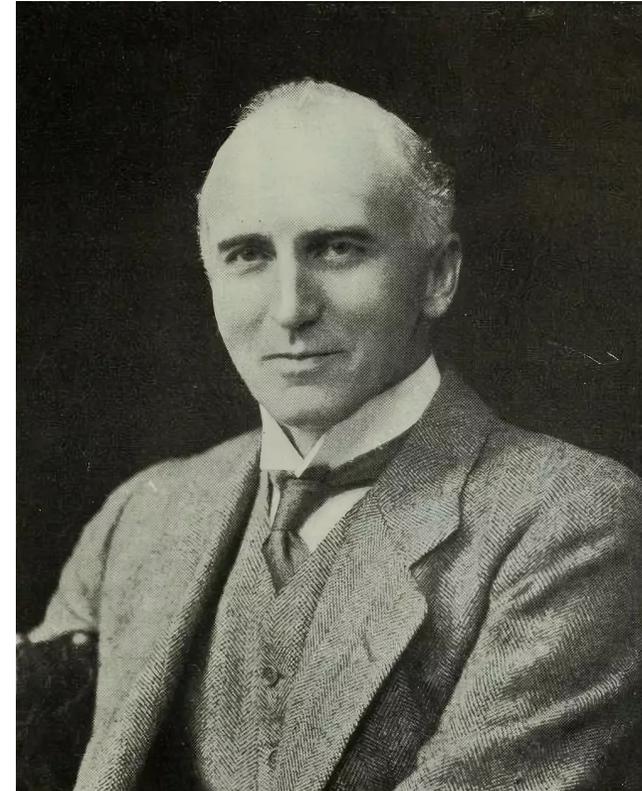


Рис. 183. Дисторфные эритроциты в осадке мочи больного острым гломерулонефритом. $\times 400$. **A** – дисторфные эритроциты. $\times 2500$



ИСТОРИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

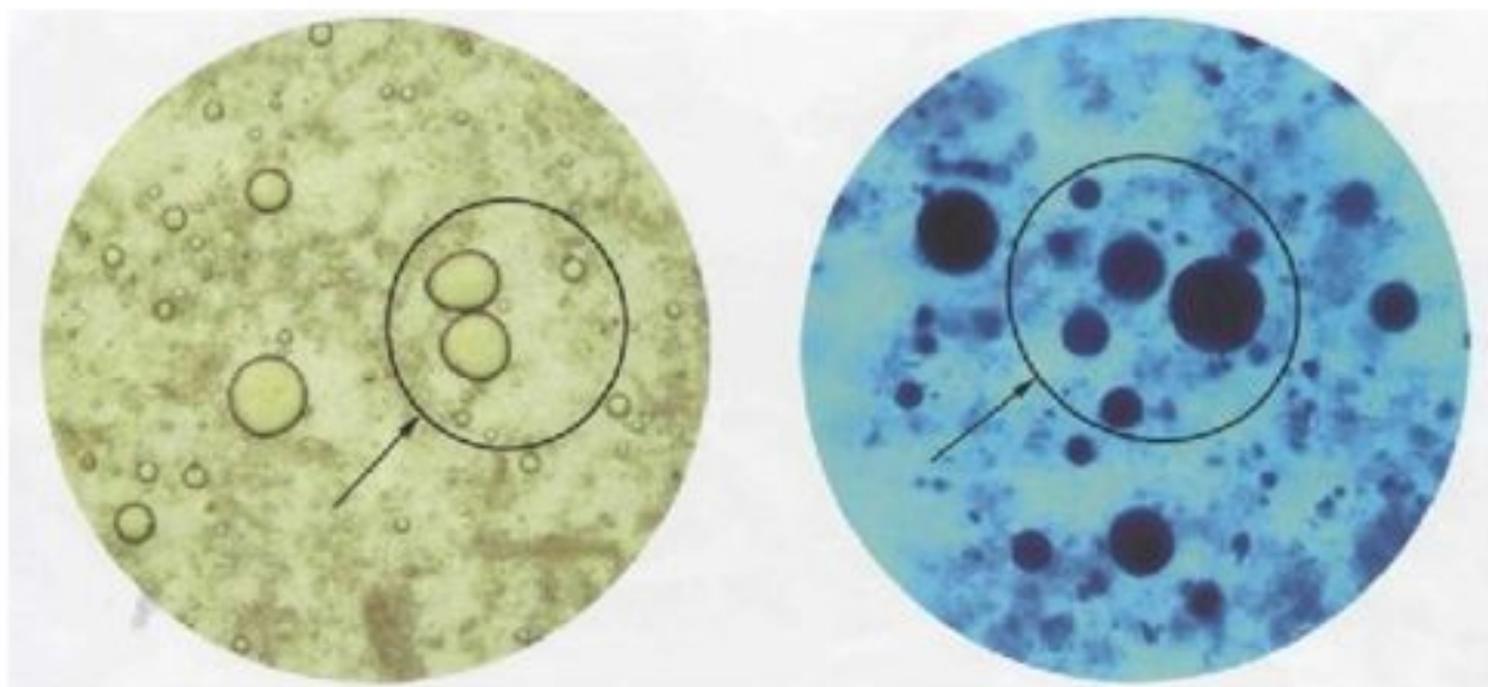
- Планомерное микроскопическое изучение кала началось лишь в XIX в. В 1836 г. во Франции были опубликованы первые микроскопические наблюдения над испражнениями тифозных больных. В 1842 г. впервые появились описания обнаруженных в кале различных растительных клеток и их конгломератов, а также капелек жира, кристалликов, клеток эпителия кишечных желез, кровяных и гнойных клеток. Санитарный врач и хирург, один из основоположников общественной гигиены в Англии Джон Саймон (1816—1904 гг.) в своем «Руководстве по медицинской химии» 1842 г. приводит описание имеющихся в кале пищевых остатков: мышечных волокон, связок, жира, а также элементов, выделяемых кишечной стенкой или образующихся в самом кишечном содержимом: капель холестерина, кристаллов трипельфосфатов и т.п. Он также обратил внимание на различный состав кала новорожденного, грудного ребёнка и взрослого. Там же можно найти описание многих кишечных заболеваний, при которых наблюдаются химические и микроскопические изменения кала. Саймон также упоминает об изменении цвета кала при кишечных кровотечениях — меле-не, и при желтухе — acholia, в кале желтушных больных он также отмечал кристаллы «маргарина», видимо, тугоплавких жирных кислот.



Англии Джон Саймон, 1816—1904
гг.



Микроскопическое исследование кала



Нативный препарат.
Капли жира

Окраска 0,5% водным
раствором метиленовой сини.
Капли жирных кислот

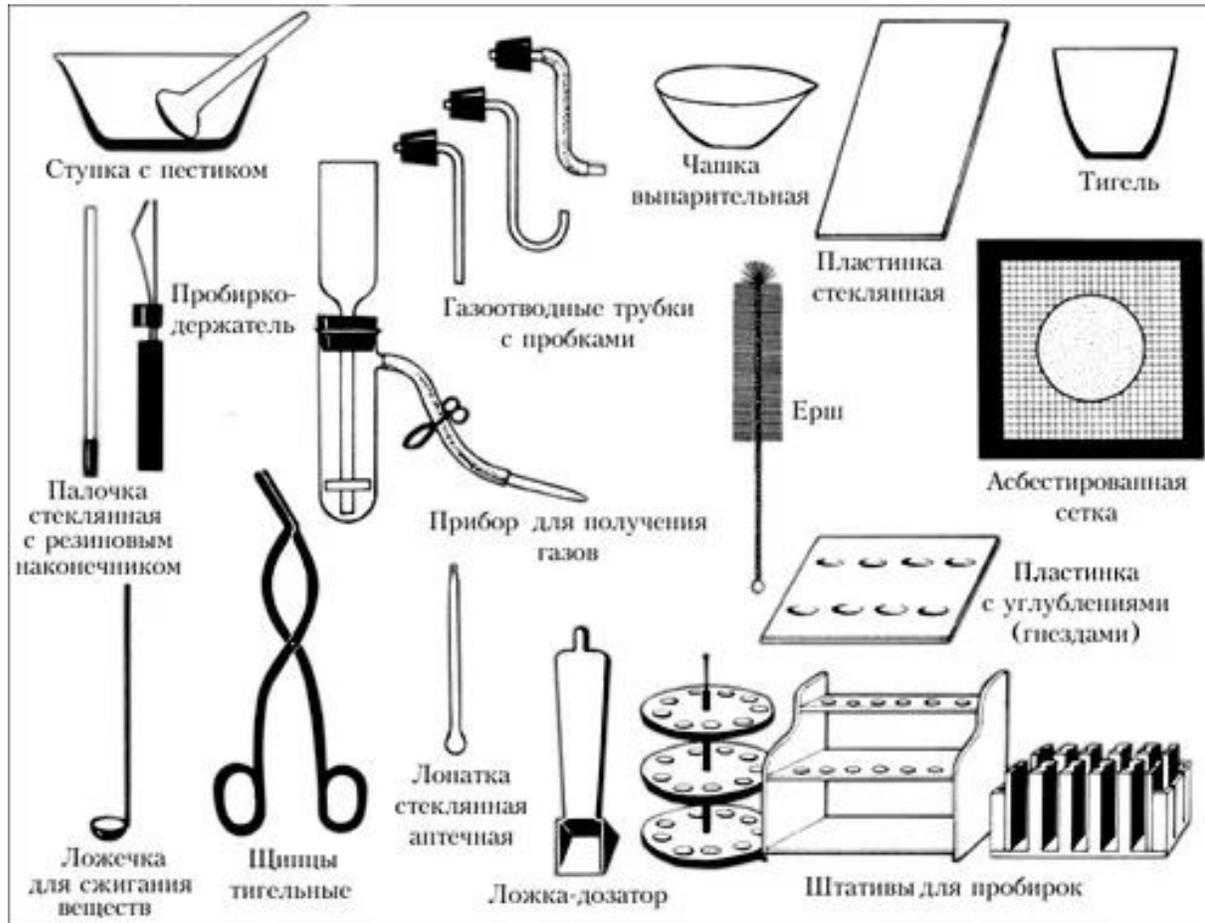


ИНСТРУМЕНТЫ И ПРИБОРЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

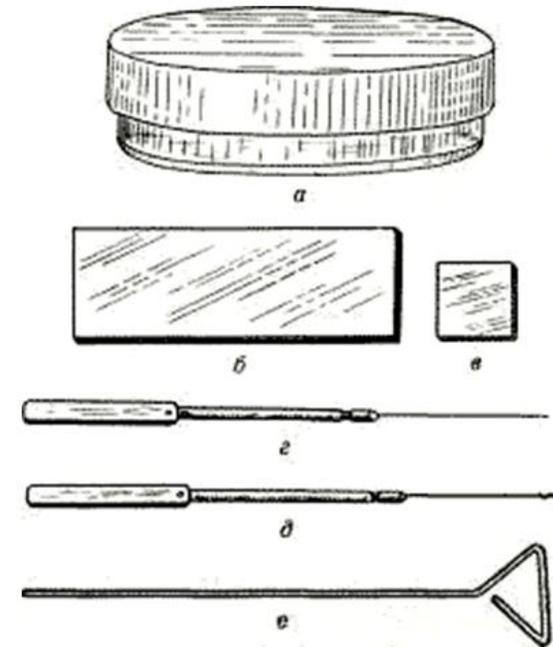
Для проведения лабораторной диагностики используются различные виды лабораторного оборудования:

- Нагревательное
- Термостатическое
- Низкотемпературное
- Стерилизационное
- Общелабораторное
- Весовая техника
- Оптические приборы
- Хроматография
- Инструментальный анализ





Посуда микробиологическая должна быть изготовлена из специального стекла, выдерживающего нагревание при высокой температуре, легко отмываться от загрязнений.



Микробиологическая посуда:

- а — чашка Петри;
- б — стекло предметное;
- в — стекло покровное;
- г — игла микробиологическая;
- д — петля микробиологическая;
- е — шпатель Дригальского.

Стекла предметные (белые стекла с отшлифованными краями размером 26 x 76 мм, толщиной 1,1—1,4 мм); стекла покровные (квадратные стекла размером 14 x 14 или 18 x 18, толщиной 0,15—0,17 мм); чашки Петри, состоящие из двух круглых плоских чашек — крышки и дна. Наиболее употребительны чашки диаметром 10 см, высотой 1,5 см.



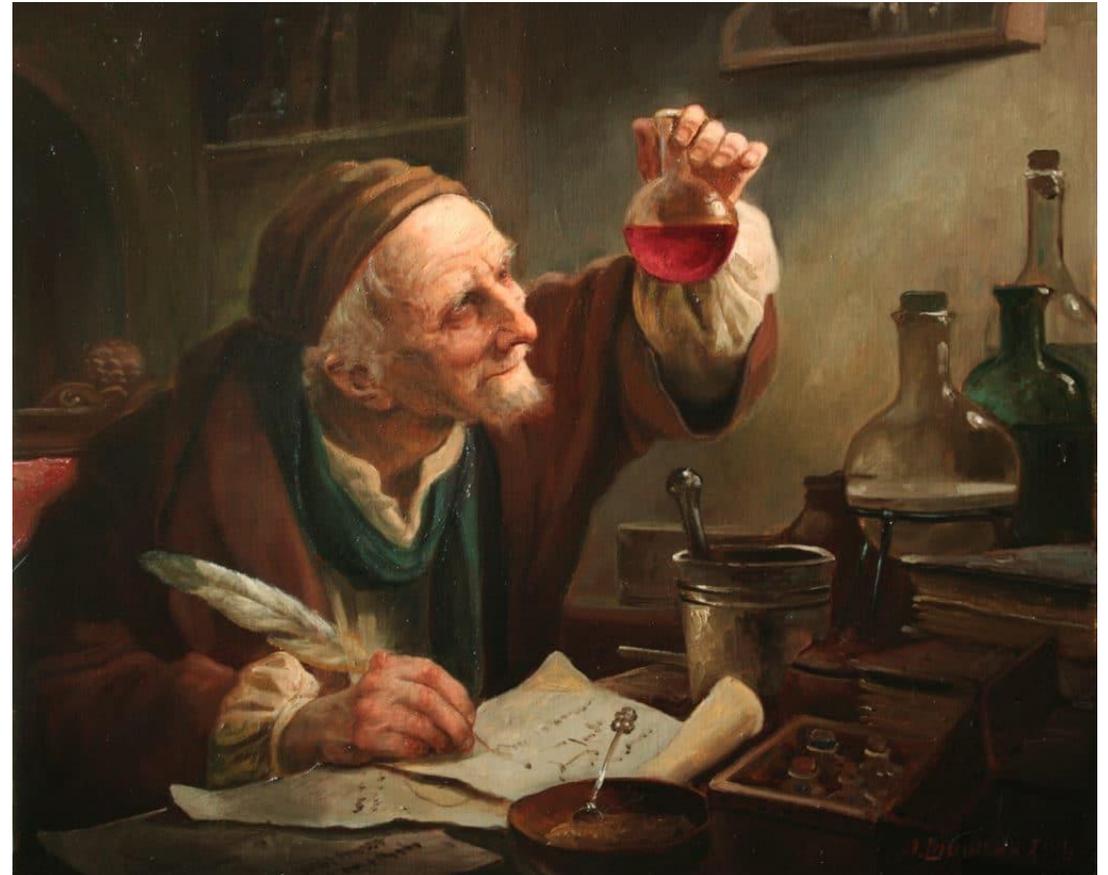
ПРОФЕССИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКОЙ

Лаборант или лабораторный техник – научно-технический сотрудник лаборатории медицинского, учебного или научного учреждения. Он выполняет практическую работу в области научных исследований, разработок и анализа. Достаточно часто лаборанты работают в тесном сотрудничестве с учеными-естествоиспытателями и инженерами в исследовательских, опытно-конструкторских и производственных лабораториях.



ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

- Историки подтверждают, что впервые лаборанты появились еще в средние века. В то время особенным авторитетом пользовались университеты Италии и Австрии, где ежедневно приходилось готовить аудитории к приему студентов медицинских факультетов.
- Эта тяжелая работа сбрасывалась на плечи лаборантов. Им приходилось не просто расставлять пробирки и инструменты для препарирования лягушек, а еще и искать материал для исследования, либо покупать его у местных жителей. Считается, что большинство античных мыслителей и прародителей различных биологических, геологических и химических теорий до XII предпочитали свои опыты ставить самостоятельно. При этом далеко не все историки согласны с таким стереотипом, так как во многих экспериментах, описывающихся в старых постулатах, участвовать одному для достижения нужного итога было попросту невозможно. Отсюда рождается теория, что уже тогда младшие сотрудники помогали великим творить знаменательные открытия, оставаясь в тени.



ВЫВОД

История лабораторной диагностики продолжает создаваться и методы лабораторной диагностики приобретают все большее значение как для практической так и для теоретической медицины.

