

Практичне заняття

ДАТА

Тема: «Визначення кількості еритроцитів і вмісту Hb в крові»

Спеціальність «Сестринська справа»

Обладнання: таблиці, схеми, мікроскоп, лічильна камера Горяєва, змішувач для червоної крові, гемометр Салі, мазки крові.

Джерела інформації:

Основна: В. І. Філімонов « Фізіологія людини»

Допоміжна:

1. Г. М. Чайченко « Фізіологія людини»
2. І. С. Кучеров «Фізіологія людини»
3. С. А. Георгієва « Фізіологія»
4. <http://library.vsmu.edu.ua/>

Навчальні цілі:

Знати: Функції еритроцитів, механізми та шляхи регуляції еритропоезу..

Вміти: Підрахувати кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну у крові.

ХІД РОБОТИ

1. Співбесіда з теми
2. Аудиторна самостійна робота (згідно орієнтовній карті).
3. Відпрацювання практичних навичок.
4. Оформлення щоденників

I. Практична робота

Завдання 1.Інструкція для визначення кількості еритроцитів

Для роботи потрібні:

3% розчин натрію хлориду, гумова груша, 5% розчин цитрату натрію, пробірка, мікропіпетка місткістю 20 мкл.



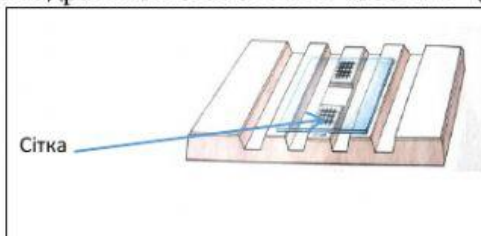
Камера Горяєва



Змішувач для еритроцитів



Еритроцити підраховують за допомогою лічильної камери Горяєва під мікроскопом. Сітка лічильної камери складається із 225 великих квадратиків із яких 25 розділені на 16 маленьких. Сторона одного маленького квадратика дорівнює $1/20$ мм, площа - $1/400$ мм², висота камери (відстань від дна до покривного скла) – $1/10$ мм. таким чином, об'єм камери над маленьким квадратиком становить $1/4000$ мм³ ($1/4000 \times 1/10$).



Сітка

Схема будова сітки а – великий квадрат, б – малий квадрат.



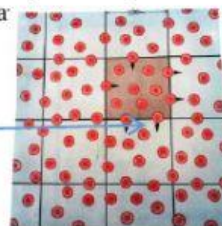
Кров для підрахунку еритроцитів розводять у спеціальних змішувачах – капілярних піпетках з ампульним розширювачем. На змішувачах для еритроцитів є спеціальні помітки 0,5 та 101. Помітка 0,5 означає, яку частину об'єму всього змішувача займає даний стовпчик капіляра, заповнений кров'ю, цей об'єм вміщує $1/200$ частину повного об'єму змішувача. Таким чином кров розбавляється у 200 разів. Розбавити кров у 200 разів можна й іншими методами. Наприклад: в пробірку налити 4 мл 5% розчину натрію цитрату й за

допомогти мікропіпетки додати туди 20 мкл крові. Обов'язково треба двічі сполоснути мікропіпетку в названому розчині, щоб уся кров потрапила в пробірку.

Хід роботи.

Покласти скло камери Горяєва під об'єктив мікроскопа і роздивитись сітку камери під великим та малим збільшенням. Накрити камеру покривним склом. Налити 1-1,5 мл розчину натрію хлориду у робочу пробірку. Занурити кінчик змішувача у ємкість з досліджуваною кров'ю й набрати крові до мітки 0,5. Занурити кінчик змішувача в 3% розчин хлориду натрію, що налитий у робочу пробірку, і за допомогою гумової груші набрати його в меланжер до помітки 101. Таким чином кров буде розведена у 200 разів. Обережно струшуючи змішувач, перемішати розчин крові в його ампулі. В ній для цього є маленька червона намистина. Перш 2 краплі розчину, що йдуть з капіляра меланжера, видути на вату, а наступні краплі з ампельного розчину помістити у камеру. Розчин зайде під покривне скло в камеру й заповнить її. Почекати 1-2 хв. щоб еритроцити осіли на дно камери.

При малому збільшенні мікроскопа знайти сітку камери. Перевести мікроскоп на велике збільшення, й почати підрахунок еритроцитів у 5 великих квадратиках, що розділені на маленькі. Найкраще лічити еритроцити у великих квадратах, що містяться по діагоналі поля зору. Під час підрахунку еритроцитів треба пам'ятати правило Бюржера: у маленьких квадратах рахувати ті клітини, що містяться посеред квадрата сітки, а також на його верхньому та лівому боках, це потрібно для того, щоб двічі не рахувати клітини, що містяться по боках суміжних квадратиків.



Малюнок, що пояснює правило Бюржера.

Рекомендації, щодо оформлення результатів роботи.

Кількість еритроцитів у 1 мкл крові розраховують за формулою

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot 200}{80}$$

Де X – кількість еритроцитів у 1 мкл;

a – кількість еритроцитів у 80 малих квадратиках;

80 – кількість підрахованих малих квадратів (5x16=80);

200 – ступінь розрідження крові;

4000 – множник, що приводить результат до об'єму 1 мкл крові, оскільки об'єм малого квадратика становить 1/4000 мкл.

Практично кількість еритроцитів визначають у 80 малих квадратах, одержаний показник множать на 10000. Для визначення кількості еритроцитів за CI – T (тера) в 1л- отриману цифру множать на 10⁶.

У висновках відповісти на питання, яка нормальна кількість еритроцитів у досліджуваній крові?

Завдання 2. Інструкція для визначення рівня гемоглобіну в крові.

Колориметричний метод визначення. Визначення рівня гемоглобіну у крові є обов'язковим при обстеженні будь-якої людини – як здорової, так і хворої.



Для роботи потрібні:

Гемометр Салі, мікропіпетка місткістю 20 мкл, скляна паличка, 0,1% розчин хлористоводневої кислоти, дистильована вода, 96% спирт етиловий, вата, гумова груша.

Хід роботи.

Для допомоги мікропіпетки налити в середню пробірку гемометра 0,1% розчин хлористоводневої кислоти до нижньої помітки. За допомогою мікропіпетки та гумової груші набрати 20 мкл крові. Обтерти ватою кінчик капіляра й зануривши його в 0,1% розчин хлористоводневої кислоти на дні пробірки гемометра, обережно, щоб не утворилась піна, видути кров і двічі сполоснути капіляр цим розчином.

Залишити гемометр на 4-5 хв. За цей час кислота, зруйнувавши оболонку еритроцитів, перетворить гемоглобін на хлористоводневокислий гематин, що має характерний коричневий колір. У середню пробірку додавати краплями дистильовану воду доти, доки колір розчину у середній пробірці не стане таким, як у стандартних пробірках. Зафіксувати рівень розчину у середній пробірці. Це й буде величина, що характеризує кількість гемоглобіну в крові в абсолютних одиницях. Гемометр містить у стандартних розчинах 167 г/л гемоглобіну.

Вкажіть нормальні величини гемоглобіну для жінок , чоловіків, новонароджених