

Лабораторная работа №11

Тема: Определение количества гемоглобина, свёртываемости крови и влияния на неё различных факторов.

Цель работы: Проведите опыты по определения количества гемоглобина, скорости свертывания крови.

Время выполнения работы: 2 часа

Место проведения работы: учебная аудитория, лаборатория.

Дидактическое и методическое обеспечение: обезжиренные лабораторные пробирки, гемометр Сали, предметные стекла, иглы для взятия крови, животные, вата, спирт, йод, пипетки, дистиллированная вода, 0,1%-ный раствор соляной кислоты, 1%-ный раствор NaCl, физраствор, инструкционные карты, задания для индивидуального письменного опроса.

Порядок и последовательность выполнения работы

I. Внеурочная подготовка

- 1.1. Самостоятельно подготовьтесь к лабораторной работе по конспекту и основному учебнику А.П.Елисеева стр.269-271.
- 1.2. Изучите инструкции по охране труда при работе в лаборатории анатомии.

II. Работа в лаборатории

- 2.1. Вопросы для самоконтроля:
 1. Назовите соединения гемоглобина.
 2. Классификация лейкоцитов?
 3. Свертывание крови, его значение?
 4. Перечислите фазы свертывания крови.
- 2.2. Подготовьте рабочее место к выполнению работы (раздать иглы кровопускательные, цилиндры, палочки стеклянные, настойку йода, вату, лимоннокислый Na, гемоглобинометр ГС-3, глазные пипетки, 0,1 р-р HCl, дистиллированную H₂O, спирт, дефибринированную кровь).
- 2.3. Выполните задания:
 1. Определите количество гемоглобина.
 2. Определите скорость свертывания крови и влияние на нее различных факторов.
 3. Получите цитратную кровь и дефибринированную кровь.
- 2.4. Уберите рабочее место.
- 2.5. Оформите и сдайте отчет.

Методические указания по выполнению работы

Задание 1. Определение количества гемоглобина.

Количество гемоглобина определяют колориметрическим способом, основанным на том, что исследуемую кровь путем разбавления доводят до окраски, одинаковой со стандартным раствором. Прибор для определения количества гемоглобина в крови называется гемоглобинометром. Две крайние пробирки в штативе запаяны, они содержат стандартный раствор солянокислого гематина: соединение гемоглобина с соляной кислотой. Средняя градуированная пробирка предназначена для исследуемой крови. Она имеет деления, которые показывают количество гемоглобина в граммах на 100 мл крови, то есть концентрацию гемоглобина в граммах-процентах (г/%). К прибору приложены пипетка на 0,02 мл и тонкая стеклянная палочка. Количество гемоглобина устанавливают следующим образом. В среднюю пробирку наливают раствор децинормальной соляной кислоты до нижней метки с цифрой 2 г/%.

У животного (корова, собака, кролик) дезинфицируют спиртом или эфиром кожу уха и прокалывают ушную вену, расположенную под кожей наружной поверхности ушной раковины. В капиллярную пипетку набирают 0,02 мл крови путем осторожного всасывания ее через трубку с мундштуком. Обтирают ватой кровь с наружной поверхности кончика пипетки, опускают пипетку в пробирку раствором соляной кислоты так, чтобы ее кончик погрузился в нижний слой соляной кислоты, и осторожно выдувают кровь. После этого, не вынимая из пробирки, пипетку промывают путем двух-трехкратного всасывания соляной кислоты из верхнего прозрачного слоя. Затем пипетку вынимают из жидкости, прикасаются ею к стенке пробирки и выдувают из пипетки содержимое; пипетку удаляют.

Смесь крови с соляной кислотой тщательно перемешивают, слегка ударяя пальцем по дну пробирки. После перемешивания кровь гемолизируется, жидкость в пробирке становится прозрачной.

Пробирку помещают в штатив прибора и оставляют стоять на 5 мин. За это время красный цвет жидкости переходит в коричневый (цвет крепкого чая). Гемоглобин крови под воздействием 0,1 н раствора соляной кислоты превращается в соляно-кислый гематин. Спустя 5 мин в пробирку прибавляют по каплям дистиллированную воду до тех пор, пока цвет раствора будет одинаковым с цветом стандарта. Добавляя воду, раствор перемешивают стеклянной палочкой. Уровень раствора (по мениску) после разведения показывает количество (содержание) гемоглобина в исследуемой крови в грамм-процентах (г/%).

В последнее время количество гемоглобина выражают не в г/%, а в единицах СИ - в граммах на литр (г/л). Для перевода г/ % в г/л найденное количество гемоглобина умножают на 10 и получают величину в г/л.

Примечание. В связи с тем, что кровь в капиллярной пипетке быстро

сворачивается, можно использовать свежую дефибринированную кровь.

Задание 2. Определение времени свертывания крови.

1. Из яремной вены лошади или коровы берут по 2 мл крови в три пробирки. В 1-ю пробирку добавляют 4 капли 10 %-ного раствора хлористого кальция, во 2-ю - 4 капли 5 %-ного раствора лимоннокислого натрия, 3-я пробирка служит контролем. Пробирки ставят в штатив и замечают время. Через каждую минуту наклоняют пробирки в одну сторону примерно на 45°, следя за движением крови. Отмечают момент, когда перестанет стекать по стенке пробирки и в пробирке образуется сгусток свернувшейся крови.

2. На обезжиренное и покрытое слоем парафина предметное стекло наносят каплю крови, полученной из вены уха кролика. Замечают время нанесения капли. Спустя полминуты с одного края вводят щетинку или тоненькую проволочку, проводят ее до центра и вынимают из капли. Щетинку сразу же моют, сушат и через каждые полминуты процедуру повторяют. Отмечают время, через которое за щетинкой начинают тянуться нити фибрина. Время появления первых нитей фибрина - это начало свертывания крови. Превращение же капли в плотный кровяной сгусток, который при наклоне стекла на 45-60° остается неподвижным, считают окончанием свертывания крови.

Влияние различных факторов на скорость свертывания крови. Нумеруют пять часовых стекол. Стекло №1 ставят на стакан со льдом, стекло №2 оставляют при комнатной температуре, стекло №3 ставят на стакан с теплой водой (температура 38-40°C). На часовое стекло №4 наливают 1-2 капли 5%-ного раствора лимоннокислого натрия. Вогнутую поверхность стекла №5 покрывают тонким слоем парафина (4 и 5 стекла тоже оставляют при комнатной температуре). На каждое часовое стекло наносят по капле крови, которую берут из вены уха кролика. Замечают время нанесения капель крови. Через каждые 30с наклоняют стекла на 45° и наблюдают за формой капли при наклоне стекла. При наступлении свертывания капля крови не меняет формы. Отмечают время свертывания крови.

Задание 3. Из яремной вены лошади или коровы берут 15-20 мл крови в толстостенный цилиндр и 10-15 мин помешивают стеклянной палочкой. На палочке формируется сгусток фибрина белого цвета. Его удаляют и получают дефибринированную кровь, потерявшую способность свертываться. В другой цилиндр предварительно вносят несколько кристалликов лимоннокислого натрия. Берут кровь из яремной вены и осторожно помешивают стеклянной палочкой. Получают цитратную кровь, которая не свертывается.

Вопросы выходного контроля:

1. Что влияет на скорость свертывания крови?
2. Как предупредить свертывание крови?

3. Как получить дефибринированную кровь?
4. Практическое использование цитратной крови?
5. Опишите сущность определения гемоглобина.
6. Опишите сущность свертывания крови.
7. Опишите сущность получения дефибринированной и цитратной крови.

Задание на дом: А.П. Елисеева «Анатомия и физиология с/х животных»
с. 253-268.