**Белова 263-978-754**

**Приложение №7**

**Самостоятельная работа студентов.**

**Манипуляции:**

1. Приготовление рабочих растворов: раствор субстрата, буферный

раствор, раствор активатора, раствор аденозинтрифосфата, раствор реактива;

1. Работа с термостатом;
2. Работа с центрифугой;
3. Работа с ФЭК;
4. Определение количества КФК по формуле;
5. Выписывать результат анализа на бланк;

**Алгоритм работы с центрифугой:**

1. Ставим пробирки в гнезда (четное число, пробирка против пробирки);
2. Закрываем;
3. Включаем в сеть;
4. Задаем режим;
5. Нажимаем на кнопку «ВКЛ»

**Алгоритмы работы с ФЭК:**

1. Готовим исследуемый раствор (опыт и контроль);
2. Включаем в сеть и открываем для нагрева;
3. Устанавливаем светофильтр;
4. Наливаем в кюветы исследуемый материал;
5. Ставим в кюветодержатель;
6. Закрываем кюветодержатель;
7. Проводим опыт;
8. Записываем результат.

 **Алгоритм определения креатинфосфокеназы (КФК)**

1. Берут 4 центрифужные пробирки (А1,А2,А3,А4)
2. В 1-ю пробирку наливают 0,5 мл раствора субстрата,0,2 мл раствора активатора и 0,05 мл сыворотки крови
3. Во 2-ю пробирку наливают 0,5 мл буферного раствора, 0,05 мл сыворотки крови и 0,2 мл бидистилированной воды
4. в 3-ю пробирку наливают 0,5 мл раствора субстрата, 0,05 мл реактива №1 и 0,2 мл бидистилированной воды
5. В 4-ю пробирку наливают 0,5 мл буферного раствора и 0,25 мл бидистилированной воды
6. Перемешивают и предварительно икубируют 5 минут при t=37
7. Во все пробирки добавляют по 0,1 мл раствора АТФ
8. Перемешивают и инкубируют 60 минут при t=37
9. Во все пробирки добавляют по 0,3 мл реактива №4 (ТХУ кислота)
10. Перемешивают и центрифугируют 5 минут при 3000 об/мин
11. В чистые пробирки отмеряют по 0,6 мл надосадочной жидкости и 0,8 мл раствора реактива
12. Перемешивают 5 минут
13. Измеряют оптическую плотность всех растворов против воды:

А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 390-410 нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету поочередно наливают пробы и фотометрируют

**Алгоритм определения лактадегидрогеназы (ЛДГ)**

1. Берем 5 химических пробирок (А1,А2,А3,А4,А5)
2. В 1-ю пробирку наливают 0,2 мл реактива 3, 0,5 мл реактива 5 и 0,05 мл сыворотки крови
3. Во 2-ю пробирку наливают 0,2 мл реактива 3,0 ,5 мл реактива 6 и 0,05 мл сыворотки крови
4. в 3-ю пробирку наливают 0,2 мл реактива 3, 0,5 мл реактива 4 и 0,05 мл сыворотки крови
5. В 4-ю пробирку наливают 0,2 мл реактива 3, 0,5 мл реактива 5 и 0,05 мл эталонного раствора
6. В 5-ю пробирку наливают 0,2 мл реактива 3, 0,05 мл эталонного раствора
7. Перемешивают и икубируют 10 минут при t=37
8. Во все пробирки добавляют по 0,2 мл раствора НС1
9. Перемешивают и икубируют 10 минут при t=37
10. Во все пробирки добавляют по 3 мл раствора НС1
11. Перемешивают и измеряют оптическую плотность растворов во всех 5-ти пробирках против воды:

 А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 500-530 нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету поочередно наливают пробы и фотометрируют

**Алгоритм определения щелочной фосфатазы (ЩФ)**

1. Берут химическую пробирку (опытная проба)
2. Наливают 0,6 мл субстратно- буферного раствора
3. Греют в течение 5-ти минут до t=37
4. Добавляют 0,02 мл сыворотки крови
5. Икубируют 10 минут при t=37
6. Добавляют 0,6 мл окислительного раствора
7. Через 5 минут определяют оптическую плотность:

 А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 560нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету поочередно наливают пробы и фотометрируют

1. Берут другую химическую пробирку холостая проба)
2. Ставят как опытную пробу, но сыворотку добавляют перед фотометрированием

**Алгоритм определения альфа- амилазы в моче.**

1. Берут 2 пробирки (опыт и контроль)
2. Наливают в обе пробирки по 2 мл крахмального буфера
3. Ставят на водяную баню на 5 минут при t=37
4. НЕ вынимая пробирок, в 1-ю пробирку добавляют 0,1 мл разбавленной мочи (0,1 мл мочи +0,9 мл физиологического раствора)
5. Ставят в термостата 6 минут при t=37
6. Помещают в ледяную воду и добавляют 10 мл 0,1н НС1 ил 0,2 мл 0,01н раствора йода
7. Перемешивают и измеряют оптическую плотность против воды:

 А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 560нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету поочередно наливают пробы и фотометрируют

**Алгоритм определения альфа- амилазы в сыворотке крови**

1. Берут 2 пробирки (опыт и контроль)
2. Наливают в обе пробирки по 1 мл крахмального буфера
3. Ставят па водяную баню на 5 минут при t=37
4. Не вынимая пробирок, в 1-ю пробирку добавляют 0,01 мл сыворотки
5. Ставят в термостат на 5 минут при t=37

6.Помещают в ледяную воду и добавляют 10 мл 0,1н НС1 иил 0,2 мл 0,01н раствора йода

7. Перемешивают и измеряют оптическую плотность против воды

**Алгоритм определения гаммаглутаминтранспептидазы (ГГТ)**

1. Берут 2 химических пробирки (проба и контроль)
2. Наливают в обе пробирки по 0,25 мл раствора субстрата
3. Икубируют 5 минут при t=37
4. В 1-ю пробирку добавляют 0,025 мл сыворотки крови
5. Икубируют 15 минут при t=37
6. Во 2-ю пробирку добавляют 1,5 мл 10% уксусной кислоты и 0,025 мл сыворотки крови
7. Измеряют оптическую плотность пробы и контрольного раствора против воды:

А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 400-430нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету наливают сначала опыт, затем контроль и фотометрирую

**Алгоритм определения кислой фосфатазы (КФ)**

1. Берут 4 химические пробирки(проба1, проба2, контроль, стандарт)
2. В первые 3 пробирки наливают по 0,5 мл реактива2
3. Во 2-ю пробирку наливают 0,2 мл реактива 3
4. Икубируют 5 минут при t=37
5. В 1-ю и 2-ю пробирки добавляют по 0,05 мл сыворотки крови
6. Икубируют 30минут при t=37
7. Во все пробирки добавляют по 2мг ингибитора
8. В контроль добавляют 0,05 мл сыворотки крови
9. В стандарт добавляют по 0,05 мл реактива 4
10. Перемешивают 30 минут и измеряют оптическую плотность против воды:

А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 405-420нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету наливают сначала пробы, затем контроль и фотометрируют

**Алгоритм определения аспартат -аминотрансферазы и аланин –аминотрансферазы (АсАТ и АлАТ)**

1. Берут 2 химических пробирки (опыт и контроль)
2. В 1-ю пробирку наливают 0,025 мл реактива 4
3. Во 2-ю пробирку наливают 0,25 мл реактива 4 и 0,05 мл физиологического раствора
4. Икубируют 5 минут при t=37
5. В 1-ю пробирку добавляют 0,05 сыворотки крови
6. Икубируют 60минут при t=37
7. В обе пробирки добавляют по 0,25 реактива2
8. Перемешивают и оставляют стоять 20 минут при комнатной t
9. В обе пробирки добавляют по 2,5 мл раствора NaOH
10. Перемешивают и спустя 10 минут измеряют оптическую плотность:

А. ФЭК включают за 30 минут до исследования

Б. Длина волны 500-530нм, кювета на 1 см

В. Промывают кюветы дистиллированной водой

Г. В одну кювету наливают воду

Д. В другую кювету наливают сначала опыт, затем контроль и фотометрируют