

УДК 577(075.32)

ББК 28.072я723

КТК 188

П89

Л. М. Пустовалова, заслуженный профессор Ростовского государственного медицинского университета, профессор Российской Академии естествознания, доцент, кандидат медицинских наук

Рецензенты:

А. Е. Губарева — доцент кафедры биохимии Московской государственной медицинской академии им. И. М. Сеченова, кандидат медицинских наук;

А. В. Ткачев — зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней Ростовского государственного медицинского университета, профессор, доктор медицинских наук.

Пустовалова Л. М.

П89 Практика лабораторных биохимических исследований / Л. М. Пустовалова. — Ростов н/Д ; Феникс, 2014. — 332, [1] с. — (Среднее профессиональное образование).

ISBN 978-5-222-21488-6

Учебное пособие предназначено для студентов и преподавателей медицинских колледжей по специальности 060604 «Лабораторная диагностика» и является второй частью учебного пособия «Теория лабораторных биохимических исследований».

Учебное пособие позволит проводить по программе профессионального модуля ПМ.03. лабораторные работы, практические занятия и самостоятельную работу обучающихся.

ISBN 978-5-222-21488-6

УДК 577(075.32)

ББК 28.072я723

© Пустовалова Л. М., 2013

© Оформление; ООО «Феникс», 2014

ч.



Содержание

Предисловие.....	3
Введение в практикум.....	6
Теория и практика лабораторных биохимических исследований в рамках профессионального модуля ПМ.ОЗ.....	6
Основные методы, используемые в лабораторно-биохимических исследованиях.....	6
Лабораторное оборудование: приборы и посуда.....	11
Мытье лабораторной посуды.....	12
Подготовка воды для лабораторных биохимических исследований ...	13
Общие правила работы с наборами для лабораторных биохимических исследований.....	14
Калибровка мерной посуды, пипеток, бюреток.....	16
<i>Контрольные вопросы</i>	18
Тест-контроль по теме «Введение в практикум по методам лабораторных биохимических исследований».....	19

РАЗДЕЛ 1

Химия биоорганических соединений.....	27
1.1. Химия белков, пептидов, аминокислот.....	27
1.1.1. Лабораторная работа «Реакции обнаружения аминокислот в растворах».....	27
Опыт 1. Реакции аминокислот в водных растворах.....	27
Опыт 2. Нингидриновая реакция.....	28
Опыт 3. Ксантопротеиновая реакция.....	29
Опыт 4. Реакция Фоля на серосодержащие аминокислоты....	30
Опыт 5. Современные методы анализа аминокислотного состава белков и пептидов. Разделение и количественное определение аминокислот в аминокислотном анализаторе...	31
1.1.2. Тест-контроль по теме «Химия аминокислот».....	32
1.1.3. Белки сыворотки, плазмы, спинномозговой жидкости.....	34
1.1.4. Лабораторная работа «Белки, пептиды».....	35
Опыт 1. Обнаружение белков и пептидов в растворах биуретовой реакцией.....	35
Опыт 2. Разделение белков сыворотки крови методом высаливания. Выделение у-глобулинов.....	36

Опыт 3. Разделение белков сыворотки крови методом электрофореза.....	37
Опыт 4. Определение изоэлектрической точки желатина по мутности (по коагуляции).....	40
Опыт 5. Определение изоэлектрической точки казеина по мутности (коагуляции).....	40
Опыт 6. Устойчивость растворов ВМС.....	40
Опыт 7. Защитное действие растворов высокомолекулярных соединений.....	40
Опыт 8. Количественное определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом.....	41
1.1.5. Клинико-диагностическое значение определения содержания белков в сыворотке крови.....	43
1.1.6. Тест-контроль по теме «Химия пептидов и белков»....	44
<i>Контрольные вопросы</i>	46
1.2. Химия углеводов.....	47
1.2.1. Лабораторная работа «Химия углеводов».....	47
Опыт 1. Доказательство восстанавливающей способности у глюкозы и отсутствие ее у фруктозы. Качественные реакции на глюкозу.....	47
Опыт 2. Открытие фруктозы (р. Селиванова).....	49
Опыт 3. Доказательство отсутствия восстанавливающей способности сахарозы.....	50
Опыт 4. Доказательство восстанавливающей способности лактозы.....	50
Опыт 5. Качественное обнаружение крахмала.....	51
Опыт 6. Кислотный гидролиз крахмала.....	51
Опыт 7. Экспресс-методы определения глюкозы в биологических жидкостях человека.....	51
1.2.2. Клинико-диагностическое значение определения глюкозы в сыворотке крови.....	52
1.2.3. Тест-контроль по теме «Химия углеводов».....	53
<i>Контрольные вопросы</i>	56
1.3. Химия липидов (жиров).....	56
1.3.1. Лабораторная работа «Химия липидов».....	58
Опыт 1. Определение непредельности высших жирных кислот (ВЖК).....	58
Опыт 2. Омыление жиров.....	58
Опыт 3. Экстракция липидов сыворотки крови.....	59

ПРАКТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 4. Исследование состава общих липидов методом тонкослойной хроматографии.....	60
Опыт 5. Разделение фосфолипидов печени ТСХ на силуфол.....	62
1.3.2. Клинико-диагностическое значение определения липидов в сыворотке крови человека.....	63
1.3.3. Тест-контроль по теме «Химия липидов (жиров)».....	64
<i>Контрольные вопросы</i>	68
1.4. Химия нуклеиновых кислот.....	69
1.4.1. Лабораторная работа «Химия нуклеиновых кислот».....	69
Опыт 1. Изучение химического состава рибонуклеопротеинов дрожжей.....	69
Опыт 2. Спектрофотометрическое количественное определение нуклеиновых кислот в сыворотке крови (в основе метод А. С. Спирина).....	71
Опыт 3. Количественное определение РНК колориметрическим методом.....	72
Опыт 4. Количественное определение ДНК колориметрическим методом.....	73
1.4.2. Тест-контроль по теме «Химия нуклеиновых кислот».....	73
<i>Контрольные вопросы</i>	76

РАЗДЕЛ 2

Ферменты.....	77
2.1. Лабораторная работа «Определение активности ферментов».....	79
Опыт 1. Количественное определение активности а-амилазы в сыворотке крови унифицированным методом по Каравею.....	79
Опыт 2. Определение каталитической активности аланинаминотрансферазы (АлАТ или АЛТ) в сыворотке крови.....	82
Опыт 3. Определение каталитической активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ или АСТ) в сыворотке крови.....	84
Опыт 4. Унифицированный метод определения каталитической активности у-глутамилтрансферазы (у-глутамилтранспептидазы, у-ГТФ или ГГТ) в сыворотке крови.....	87
Опыт 5. Определение каталитической активности	

креатинфосфокиназы в сыворотке крови (КФК).....	90
Опыт 6. Определение каталитической активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови (ЛДГ).....	94
Опыт 7. Унифицированный метод определения общей активности ЛДГ по оптимизированному оптическому тесту...	97
Опыт 8. Определение активности фосфатазы в сыворотке крови.....	99
2.2. Тест-контроль по теме «Ферменты».....	107
<i>Контрольные вопросы</i>	11 5
2.3. Обмен веществ и энергии в организме человека.....	116
2.3.1. Лабораторная работа «Обмен веществ и энергии».....	117
Опыт 1. Количественное определение макроэргических соединений мышц (АТФ и креатинфосфата).....	117
Опыт 2. Количественное определение пировиноградной кислоты в крови колориметрическим методом (поУмбрайту).....	119
2.3.2. Тест-контроль по теме «Обмен веществ и энергии в организме человека».....	121
<i>Контрольные вопросы</i>	130
2.4. Регуляторы обмена веществ и энергии.....	130
2.4.1. Витамины.....	130
2.4.1.1. Лабораторная работа «Витамины».....	130
Опыт 1. Реакция с диазореактивом на тиамин (витамин В ₁).....	130
Опыт 2. Реакция восстановления рибофлавина (витамина В ₂).....	131
Опыт 3. Реакция на витамин РР (антипеллагрический) ..	131
Опыт 4. Реакция на пиридоксин (витамин В ₆).....	132
Опыт 5. Количественное определение витамина С методом йодиметрического титрования.....	132
Опыт 6. Количественное определение аскорбиновой кислоты (витамина С) в шиповнике с 2,6-дихлорфенолиндофенолом.....	133
2.4.1.2. Тест-контроль по теме «Витамины».....	135
<i>Контрольные вопросы</i>	140
2.4.2. Гормоны.....	1 40
2.4.2.1 .Лабораторная работа «Гормоны».....	140
Опыт 1. Обнаружение инсулина биуретовой реакцией ...	140
Опыт 2. Обнаружение инсулина реакцией с сульфосалициловой кислотой.....	141

□ ПРАКТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт 3. Обнаружение инсулина реакцией Фолы.....	141
Опыт 4. Качественные реакции обнаружения адреналина.....	142
Опыт 5. Количественное определение адреналина по Фолину.....	143
Опыт 6. Реакция на гормоны щитовидной железы (тироксин).....	144
Опыт 7. Качественное обнаружение 17-кетостероидов в моче с помощью т-динитробензола.....	144
Опыт 8. Качественная реакция на кортизол.....	144
Опыт 9. Качественная реакция на фолликулин (эстрон) с концентрированной серной кислотой.....	145
Опыт 10. Качественная реакция на ароматическую группу фолликулина.....	145
2.4.2.2. Тест-контроль по теме «Гормоны».....	145
<i>Контрольные вопросы</i>	149

РАЗДЕЛ 3

Обмен углеводов в норме и патологии.....	150
3.1. Лабораторная работа «Обмен углеводов».....	153
Опыт 1. Определение концентрации глюкозы в крови	1 53
Опыт 2. Исследование функции поджелудочной железы методом сахарной нагрузки.....	155
3.2. Тест-контроль по теме «Обмен углеводов в норме и патологии».....	157
<i>Контрольные вопросы</i>	164

РАЗДЕЛА

Обмен белков в норме и патологии.....	165
4.1. Лабораторная работа «Обмен белков».....	167
Опыт 1. Количественное определение общего белка сыворотки крови с помощью биуретовой реакции с использованием диагностического набора «ЭКОлаб» (Россия).....	167
Опыт 2. Определение мочевины в сыворотке крови и в моче по цветной реакции с диацетилмокооксимом (можно использовать готовые диагностические наборы).....	172
Опыт 3. Количественное определение креатинина	

СОДЕРЖАНИЕ [J

в биологических жидкостях методом на основе реакции Яффе с депротеинизацией с использованием диагностического набора ООО «Ольвекс диагностикум» (Россия, г. Санкт-Петербург).....	176
Опыт 4. Спектрофотометрическое определение мочевой кислоты в сыворотке крови.....	180
Опыт 5. Определение общего, «прямого» и «непрямого» билирубина в сыворотке крови.....	181
Опыт 6. Качественное обнаружение «прямого» и «непрямого» билирубина в сыворотке крови.....	183
4.2. Тест-контроль по теме «Обмен белков в норме и патологии». 187	
<i>Контрольные вопросы</i>	206

РАЗДЕЛ 5

Обмен липидов в норме и патологии.....	208
5.1 Лабораторная работа.....	209
Опыт 1. Определение общего холестерина.....	209
Опыт 2. Количественное определение липопротеинов низкой плотности (ЛНП) в сыворотке крови.....	213
Опыт 3. Разделение липопротеинов сыворотки крови методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле	214
Опыт 4. Исследование состава фосфолипидов сыворотки крови методом тонкослойной хроматографии.....	216
Опыт 5. Качественные реакции на кетоновые тела в моче ..	217
Современные ферментативные методы исследования показателей обмена липидов в организме человека.....	218
Опыт 6. Определение концентрации триацилглицеринов (ТАГ) в сыворотке и плазме крови ферментативным колориметрическим методом (с набором реагентов ООО «Ольвекс Диагностикум». г Санкт-Петербург).....	218
Опыт 7. Определение концентрации общего холестерина в сыворотке и плазме крови ферментативным колориметрическим методом (с набором реагентов ООО «Ольвекс Диагностикум». г. Санкт-Петербург).....	221
5.2. Тест-контроль по теме «Обмен липидов в норме и патологии».....	224
<i>Контрольные вопросы</i>	234

РАЗДЕЛ 6

Водно-электролитный, минеральный, кислотно-основной обмен в норме и патологии.....	235
6.1 Лабораторная работа «Водно-электролитный. минеральный, кислотно-основной обмен».....	240
Опыт 1. Определение концентрации ионов натрия и калия в сыворотке крови с помощью ион-селективных электродов.....	240
Опыт 2. Определение концентрации железа в сыворотке или плазме крови колориметрическим методом без депротеинизации (Набор реагентов ООО «Ольвекс Диагностикум», г. Санкт-Петербург).....	243
Опыт 3. Определение общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) крови методом с карбонатом магния (с набором реагентов ООО «Ольвекс Диагностикум», г. Санкт-Петербург).....	245
6.2. Тест-контроль по теме «Водно-электролитный, минеральный. кислотно-основной обмен в норме и патологии».....	249
<i>Контрольные вопросы.....</i>	265

РАЗДЕЛ 7

Гемостаз.....	266
7.1 .Лабораторная работа «Определение показателей гемостаза»... 266	
Опыт 1. Активированное частичное [парциальное] тромбопластиновое время [АЧ[П]ТВ].....	266
Опыт 2. Активированное время рекальцификации плазмы.....	267
Опыт 3. Методы исследования антикоагуляционной активности крови. Определение тромбинового времени крови.....	267
Опыт 4. Протромбиновое время (ПВ) (протромбиновый индекс-ПИ).....	268
Опыт 5. Унифицированный колориметрический метод определения фибриногена в плазме.....	269
Опыт 6. Метод определения толерантности плазмы к гепарину.....	271
Опыт 7. Определение фибринолитической активности крови (ФАК).....	273
Опыт 8. Определение продуктов деградации фибриногена/фибрина (ГДФ) в сыворотке крови.....	274

СОДЕРЖАНИЕ

7.2. Тест-контроль по теме «Гемостаз».....	275
<i>Контрольные вопросы</i>	284

РАЗДЕЛ 8

Контроль качества лабораторных исследований	285
8.1. Контрольные материалы в клинико-биохимических исследованиях.....	285
8.2. Тест-контроль по теме «Контроль качества лабораторных исследований».....	288
<i>Контрольные вопросы</i>	293

РАЗДЕЛ 9

Лабораторные исследования при патологии	294
9.1. Лабораторная работа «Экспресс-диагностика инфаркта миокарда».....	294
Опыт 1. Экспресс-метод ранней диагностики инфаркта миокарда.....	294
9.2. Тест-контроль по теме «Лабораторные исследования при патологии».....	295
<i>Контрольные вопросы</i>	310

ПРИЛОЖЕНИЕ.....

I. Приготовление некоторых реактивов и препаратов.....	311
II. Примеры профессиональных задач по «Практике лабораторных биохимических исследований».....	318

Литература.....	325
-----------------	-----