Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра профилактической медицины

М.В. Фомина, О.А. Науменко, Н.В. Малышева

ПРАВИЛА РАБОТЫ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет» в качестве методических указаний для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология, профиль «Биохимия»

Оренбург
2012

УДК577.1:(076)
ББК 28.072я7
Ф76

Рецензент - кандидат биологических наук, доцент О.В. Баранова

Фомина, М.В.

Ф76 Правила работы в биохимической лаборатории: методические указания к учебно-ознакомительной, специальной (распределённой практике) и преддипломной практике / М.В.Фомина, О.А. Науменко, Н.В. Малышева; Оренбургский гос. ун-т. — Оренбург: ОГУ, 2012.-32 с.

Основное содержание: организации лабораторных работ, правила техники безопасности в биохимической лаборатории, методы забора и подготовки биологических материалов для лабораторных исследований.

Методические указания предназначены для прохождения учебно-ознакомительной, специальной (распределённой практики) и преддипломной практики студентами, обучающимися в соответствии с федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология, профилю подготовки Биохимия, утвержденного приказом Министерства образования и науки Российской Федерации 4 февраля 2010 г. № 101.

УДК 577.1(076)
ББК28.072я7

© Фомина М.В.
Науменко О.А.
Малышева Н.В.
© ОГУ, 2012

Содержание

Введение 4
1 Общие положения 5
2 Правила безопасности при работе в биохимической лаборатории 6
2.1 Общие сведения 6
2.2 Техника безопасности при работе в биохимической лаборатории 6
2. 3 Требования безопасности перед началом работ 8
2.4 Меры безопасности при работе с кислотами и щелочами 10
2.5 Меры безопасности при работе с электрооборудованием и электроприборами 12
2.6 Обращение с нагревательными приборами 12
2.7 Обращение со стеклом 13
2.8 Обращение с реактивами 13
2.9 Противопожарные мероприятия 16
2.10 Первая медицинская помощь 16
3 Методы подготовки исследуемых образцов для биохимических исследований 17
3.1 Правила забора крови для исследований 17
3.2 Хранение и транспортировка крови 21
3.3 Получение плазмы и сыворотки крови 23
3.4. Получение и подготовка тканей лабораторных животных к исследованию 25
3.5 Приготовление гомогената из растительных и животных тканей 26
3.6 Выделение субклеточных фракций печени крысы 29
3.7 Отбор проб молока и молочных продуктов для биохимических исследований 30
3.8 Методики приготовления для исследования растительных образцов 30
4 Литература, рекомендуемая для изучения темы 31

Введение

Введение ФГОС ВПО нового поколения смещает приоритеты в профессиональном образовании с формирования знаний на формирование компетенций, опыта практической деятельности студента.

Настоящие указания представляют собой информативное руководство, предназначенное для учебно-ознакомительной, специальной (распределённой практики) и преддипломной практики, разработанное в. соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология, профилю «Биохимия» утвержденного приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 04.02.2010 г. № 101.

В предлагаемых указаниях изложены основные подходы к организации работы в биохимической лаборатории, правила техники безопасности при работе с реактивами, ядовитыми, взрывчатыми и горючими веществами, электрооборудованием; правила эксплуатации лабораторного оборудования; методы подготовки биологических образцов для биохимических исследований.

1 Общие положения

Важнейшими условиями эффективной работы в биохимической лаборатории являются:

1) целесообразное устройство лаборатории, т.е. рациональное размещение рабочих мест и расстановка необходимого оборудования;

2) тщательный подбор соответствующего инструментария, химической посуды, реактивов и контрольно-измерительных приборов;

3) грамотное планирование эксперимента, включая экономное использование биологического материала и реактивов;

4) соблюдение общих правил безопасной работы с реактивами, ядовитыми, взрывчатыми и горючими веществами, электрооборудованием;

5) тщательное изучение устройства, принципа работы и правил эксплуатации используемых приборов;

6) соблюдение чистоты и порядка в лаборатории, поддержание оборудования в рабочем состоянии.

2 Правила безопасности при работе в биохимической лаборатории

2.1 Общие сведения

Запрещается вход в лабораторию в верхней одежде. Работа в биохимической лаборатории допускается только в специальном халате, так как вероятна возможность загрязнения, порчи одежды при попадании на нее едких реактивов.

2.2 Техника безопасности при работе в биохимической лаборатории

Для обеспечения безопасности труда сотрудников биохимической лаборатории следует руководствоваться международными стандартами надлежащей лабораторной практики общегосударственными законами и ведомственными документами по технике безопасности при проведении работ в лаборатории, которые включают следующие правила:

- во время работы в лаборатории следует неукоснительно соблюдать правила техники безопасности;
- для ознакомления с правилами безопасного проведения работ организуется регулярное проведение инструктажа сотрудников по технике безопасности, сведения, о проведении которого, заносятся в специальный журнал;
- курить в лаборатории запрещается;
- во время работы необходимо соблюдать правила личной гигиены;
- помещения лаборатории должны быть оборудованы специальными контейнерами для сбора мусора и производственных отходов. Утилизация отходов должна проводиться регулярно в соответствии со специальными требованиями по утилизации отходов.
- помещения лаборатории должны быть оборудованы местами хранения повседневной и спецодежды, индивидуальных средств защиты, а также специально выделенными местами для переодевания;
- все помещения лаборатории должны быть оборудованы аптечками для оказания первой (неотложной) помощи;
- в каждой лаборатории должны быть хорошая вентиляция, горячий и холодный водопровод, проводка технического тока, канализация, установки для дистилляции воды;
- в качестве спецодежды в лаборатории используются лабораторные халаты и перчатки;
- халаты должны быть достаточно длинными и застегиваться

полностью, при этом быть закрытыми спереди, рукава должны плотно охватывать запястья;

- перчатки должны быть удобными и достаточно длинными;
- защита глаз обеспечивается защитными очками с противоударными стеклами и защитными масками различной конструкции;
- в случае необходимости для защиты органов дыхания используют респираторы различного типа (в зависимости от степени опасности);
- одноразовые средства защиты должны удаляться сразу после загрязнения.

Таблица 1 - Классификация химических реактивов в биохимической лаборатории

Группа	**Общие свойства**	**Перечень веществ**	**Условия хранения**
1	2	3	4
I	Взрывчатые вещества	нитроглицерин	-
II	Вещества, выделяющие при взаимодействии с водой легковоспламеняющиеся газы	литий, натрий, кальций металлические; кальция карбид	В сейфе или в шкафу под замком
III	Самовозгорающиеся вещества	-	-
IV	Легковоспламеняющиеся жидкости (температура воспламенения ниже 61 °С)	диэтиловый эфир, ацетон, этанол	В металлическом ящике или в специальной заводской укладке
V	Легковоспламеняющиеся твердые вещества	сера, фосфор красный	В сейфе или в шкафу под замком
VI	Окисляющие (воспламеняющие) реактивы	калия перманганат, азотная кислота (конц.), нитраты щелочных металлов	В шкафу под замком, отдельно от реактивов IV и V групп
VII	Вещества повышенной физиологической активности (ядовитые)	бром, аммиак, бария нитрат, свинца(П) оксид	В сейфе или в шкафу под замком
VIII	Малоопасные и безопасные вещества	натрия хлорид, сахароза, магния сульфат	нет особых условий хранения

Все химические вещества (реактивы), используемые в биохимической лаборатории, подразделяются на *8 групп хранения* в зависимости от степени их опасности. Особенности правил безопасной работы с определенными реактивами и требования к их хранению зависят от отнесения вещества к той или иной группе хранения (см. таблицу 1).

Не допускается совместное хранение химических веществ (реактивов), способных к активному взаимодействию друг с другом.

Ядовитые и сильнодействующие вещества (включая лекарственные препараты списков А и Б) следует хранить в сейфе или специальном шкафу под замком и пломбой.

Вся посуда, содержащая реактивы и готовые реагенты, должна быть маркирована соответствующими этикетками.

Хранить химические вещества (материалы) и готовые реагенты в таре без этикеток или с надписями сделанными стеклографом на стекле, запрещается. Если этикетка утеряна, а идентифицировать содержимое не представляется возможным, содержимое подлежит уничтожению в соответствии с требования правил утилизации химических веществ (материалов).

Сосуды с химическими веществами, обладающими потенциально опасными свойствами, должны в обязательном порядке содержать маркировку в соответствии с требованиями стандарта:

- легковоспламеняющиеся вещества;
- взрывоопасные вещества материалы;
- едкие вещества;
- ядовитые вещества.

2. 3 Требования безопасности перед началом работ

Не рекомендуется работать в лаборатории в одиночку, поскольку при несчастном случае некому будет оказать помощь пострадавшему и

ликвидировать последствия возможной аварии.

Перед началом работ необходимо проверить исправность оборудования, вентиляции, газовой сети, водопровода, системы электропитания. В случае выявления неисправностей, создающих повышенную опасность, работу в лаборатории запрещается проводить до их устранения.

Меры безопасности при работе с огнеопасными и легковоспламеняющимися жидкостями.

Легковоспламеняющиеся вещества должны храниться в специально приспособленном для этого хранилище и использоваться только по мере надобности.

Запрещается хранить в лаборатории петролейный эфир, серный эфир, ацетон, метиловый спирт, бензол, толуол и другие жидкие углеводороды с температурой кипения ниже 150 °С в количестве, превышающем суточную потребность.

Общее количество горючих веществ в лабораторной комнате с одним вытяжным шкафом не должно превышать 5 л. Эти вещества следует сохранять в специально предназначенных железных ящиках, которые располагают на полу, с удобным подходом к ним, вдали от входной двери и радиаторов отопления.

Категорически запрещается:

1) держать горючие вещества на рабочем столе при включенных плитках с открытой спиралью;

2) держать горючие вещества в вытяжном шкафу во время работы с плитками с открытой спиралью или включенными приборами;

3) хранить горючие жидкости в тонкостенных колбах емкостью более 200 мл, а также легко воспламеняющиеся жидкости рядом с сильными окислителями (азотной кислотой, бромом, перекисью водорода, перекисью натрия, перекисью магния и ртутного серебра);

4) сливать горючие вещества в раковину; остатки загрязненных растворителей из отгонных проб должны сливаться в приспособленную тару, установленную в специально отведенном месте;

5) при работе с эфиром применять переносные электрические лампы.

В случае, если разобьется емкость с легковоспламеняющимся веществом, следует немедленно выключить все нагревательные приборы с открытой спиралью, включить вытяжную вентиляцию. Все дальнейшие действия должны выполняться только с использованием средств индивидуальной защиты (резиновые перчатки, респиратор или противогаз). Необходимо засыпать песком разлитую жидкость и затем собрать песок и осколки посуды веником или деревянной лопатой. Применять металлический совок для сбора песка и осколков посуды с каменного, плиточного или цементного пола строго запрещается, так как при этом может образоваться искра и произойти взрыв.

2.4 Меры безопасности при работе с кислотами и щелочами

При проведении лабораторных работ часто используют концентрированные кислоты и щелочи или их растворы. В случае попадания на кожу они могут вызвать тяжелые ожоги, а в глаза — потерю зрения. Поэтому концентрированные кислоты и щелочи следует хранить только в толстостенной посуде под вытяжным шкафом.

Разливают концентрированные кислоты только под тягой при максимально прикрытых дверцах шкафа. При этом лаборант (студент) должен иметь средства индивидуальной защиты (резиновые перчатки, халат). Держать склянку следует осторожно, за горловину и дно. Стекающие по горловине капли снимают кусочками асбеста, а затем вытирают насухо бумагой или тряпкой. Такого же осторожного обращения требуют концентрированные растворы щелочей.

Особую осторожность следует соблюдать при работе с плавиковой кислотой (фтористоводородной). Попадание кислоты на кожу, особенно под

ногти, вызывает сильную боль и трудно заживающие раны. Вдыхание ее паров приводит к воспалению верхних дыхательных путей и порче зубов. Поэтому работать с плавиковой кислотой следует в респираторе.

При работе с дымящейся азотной кислотой удельного веса 1,52-1,51, а также с олеумом кроме очков и резиновых перчаток следует надевать длинный фартук из прорезиненной ткани или полиэтиленовой пленки.

Разлив концентрированных кислот производится в защитных очках и резиновых перчатках.

Раскалывание крупных кусков щелочей выполняют, предварительно обернув их тканью или бумагой, в средствах индивидуальной защиты (очки и перчатки).

При разбавлении серной кислоты следует лить кислоту в воду, а не наоборот. Необходимо строго соблюдать это правило, так как плотность концентрированной серной кислоты выше плотности воды, поэтому при добавлении серной кислоты к воде она будет растекаться по дну сосуда, что предотвратит появление брызг. Если наливать воду в серную кислоту, то произойдет ее растекание по поверхности серной кислоты. В месте контакта воды с серной кислотой резко повышается температура, что является причиной появления брызг, которые при попадании на кожу способны вызвать ожог.

Категорически запрещается:

- применять в работе резиновые и полимерные шланги в качестве сифонов для переливания концентрированных кислот;
- набирать концентрированные щелочи и кислоты ртом;
- применять серную кислоту в вакуумэксикаторах в качестве водопоглощающего средства;
- выполнять работы с кислотами и щелочами без предохранительных очков.

2.5 Меры безопасности при работе с электрооборудованием и электроприборами

Лабораторные работы проводятся при наличии исправного электрооборудования. При обнаружении дефектов в изоляции проводов, неисправности пускателей, рубильников, штепселей, розеток, вилок, а также заземления следует немедленно сообщить об этом преподавателю.

Категорически запрещается:

- работать вблизи открытых токопроводящих частей приборов и оборудования;
- загромождать подступы к электрическим устройствам;
- вешать на штепсельные розетки, выключатели и электропровода различные вещи, укреплять провода веревкой или проволокой;
- заменять перегоревшие предохранители пучками проволоки;
- переносить включенные приборы и ремонтировать оборудование под током;
- включать и выключать приборы без разрешения преподавателя.

2.6 Обращение с нагревательными приборами

На практических занятиях по биохимии часто приходится пользоваться спиртовками. Зажигать спиртовку нужно только спичкой. Перед тем, как зажечь спиртовку - убедитесь, что поблизости нет горючих жидкостей (спирт, эфир и др.). Нельзя нагревать вещества в толстостенной посуде. В пробирке можно нагревать только небольшие количества вещества, жидкость должна занимать не более 1/3 объема пробирки. Отверстие пробирки при нагревании в ней жидкости следует направлять в сторону от себя и рядом находящихся людей. Нельзя наклоняться над спиртовкой. Вначале пробирку с веществом

следует слегка прогреть всю, а затем нагревать в нужном месте, не вынимая из пламени спиртовки. Нельзя нагревать пробирку долго в одной точке, так как теплопроводность стекла низкая, жидкость быстро закипит и выплеснется из пробирки. Нагревать пробирку нужно ниже уровня жидкости в ней. После нагревания следует сразу погасить спиртовку, накрыв пламя фарфоровым колпачком. Работа с водяной баней осуществляется только под тягой. Перегоревшие электроплитки нужно сразу же выключить, вынув вилку из штепсельной розетки. При неосторожной работе могут быть ожоги нагретой стеклянной посудой.

Закончив работу, привести рабочее место в порядок.

2.7 Обращение со стеклом

Химическая посуда - в большинстве случаев тонкостенная и хрупкая - поэтому при небрежном обращении с ней ее можно разбить и порезаться. Посуду следует держать в руках осторожно, не сжимая сильно пальцами. Химическую посуду нельзя резко ставить на стол.

2.8 Обращение с реактивами

2.8.1 Все концентрированные кислоты и щелочи должны находиться в вытяжном шкафу.

2.8.2 Все опыты с концентрированными кислотами, щелочами и легкоиспаряющимися веществами следует проводить только в вытяжном шкафу.

2.8.3 Наливать или насыпать реактивы следует только над столом. Не следует оставлять открытыми банки с реактивами.

2.8.4 Пролитые или рассыпанные реактивы нужно немедленно удалить со стола, вытерев стол тряпкой и обмыв водой. Пролитые концентрированные кислоты следует засыпать песком, а затем собрать песок дощечкой. Облитое место необходимо обмыть раствором соды и вытереть тряпкой.

2.8.5 При работе с органическими растворителями (спирты, эфиры, ацетон, бензин, дихлорэтан и др.) нельзя определять вещества по запаху, так как может произойти отравление их парами.

2.8.6 Наполнение пипеток растворами органических растворителей, кислот, щелочей проводят только при помощи груши, так как при набирании этих веществ ртом они могут попасть в ротовую полость и вызвать ожоги или даже отравление.

2.8.7 При работе с химическими веществами *нельзя* пробовать их на вкус.

2.8.8 Вся применяемая посуда должна быть тщательно вымыта и, если необходимо, высушена. Посуду моют ёршиком моющими средствами. Затем хорошо моют водопроводной водой и ополаскивают дистиллированной водой.

2.8.9 Сухие вещества берут чистым шпателем или стеклянной лопаткой. Нельзя брать одним и тем же шпателем разные реактивы. Шпатель следует класть на чистый лист бумаги.

2.8.10 Жидкие реактивы следует осторожно наливать из склянок; при этом склянки следует держать этикетками вверх так, чтобы ладонь закрыла этикетку.

2.8.11 Склянки с растворами реактивов после употребления необходимо сразу закрывать пробкой, чтобы не перепутать пробки от разных склянок, и ставить на то же место, откуда они были взяты.

2.8.12 Реактивы общего пользования, а также реактивы из вытяжного шкафа нельзя уносить на свои рабочие места; не следует брать реактивы с соседних столов.

2.8.13 При проведении опытов берите небольшое количество реактивов. Реактив, взятый в избытке, нельзя выливать обратно в склянку, избыток реактива выливают в специальные склянки (или раковину).

2.8.14 Растворы, содержащие соли серебра или ядовитые вещества, следует после опыта сливать в специально предназначенную посуду.

2.8.15 Все опыты, связанные с выделением ядовитых и неприятно пахнущих веществ, газов, паров, дыма, проводят только в вытяжном шкафу.

2.8.16 При разбавлении водой концентрированных кислот, концентрированных растворов щелочей следует приливать их тонкой струей в холодную воду при одновременном перемешивании стеклянной палочкой.

2.8.17 Нельзя выливать растворы концентрированных кислот и щелочей в раковину. Надо предварительно их нейтрализовать или вылить в специальную посуду в вытяжном шкафу.

2.8.18 При нагревании на горелке жидкостей в пробирках следует держать пробирку пробиркодержателем отверстием от себя и людей, работающих рядом.

2.8.19 Чтобы определить (узнать) по запаху выделяющийся газ, следует нюхать его осторожно, издали направлять газ движением руки от сосуда к себе.

2.8.20 При работе с горячими и легко воспламеняющимися веществами (эфир, ацетон и т.п.) следует следить за тем, чтобы рядом не было огня.

2.8.21 Выполнение опыта в пробирке проводится следующим образом. Используют чистую пробирку. Не закрывать пальцем пробирку. Перемешивание реакционной системы в пробирке проводят с помощью стеклянной палочки. Не следует класть стеклянную палочку на лабораторный стол, её опускают в пробирку с дистиллированной водой.

2.8.22 При работе с капельницами, закрытыми пробками с пипеткой, следует их брать из «штатива-вертушки» за капельницу, а не за пробку. Не касаться пипеткой стенок пробирки, добавляя реагент по каплям из пипетки в пробирку.

2.8.23 При необходимости добавить несколько капель кислоты или щелочи в пробирку следует использовать капельницы. Опускать пипетки в склянки с растворами нельзя.

2.8.24 Категорически запрещается принимать в лаборатории пищу, пользоваться лабораторной посудой для питья.

2.9 Противопожарные мероприятия

2.9.1 Каждый работающий в лаборатории должен знать, где расположены средства пожаротушения, и уметь ими пользоваться.

2.9.2 При пожаре необходимо отключить все нагревательные приборы и газовые горелки. Пламя необходимо засыпать песком или закрыть кошмой (асбестовое полотно), которые имеются в каждой лаборатории, или погасить с помощью огнетушителя.

2.9.3 При загорании одежды необходимо закрыть пострадавшего кошмой; облить водой; дышать через влажную ткань (полотенце и т.п.), закрыв ею нос и рот (дыхательные пути).

2.9.4 При утечке газа пользоваться газовыми горелками до устранения неисправности запрещается.

2.10 Первая медицинская помощь

Работающий в лаборатории должен знать где находится аптечка первой помощи, в которой должны быть бинты, гигроскопическая вата, 3 % раствор йода, 2 % раствор борной кислоты, 3 % раствор уксусной кислоты, 3-5 % раствор двууглекислого натрия (питьевая сода), коллодий или БФ-6.

При ранениях стеклом необходимо удалить из раны крупные осколки, обработать кожу вокруг раны йодом и наложить асептическую повязку.

При термических ожогах первой и второй степени обожженное место можно присыпать двууглекислым натрием (питьевой содой). Хорошо помогают примочки из свежеприготовленных растворов 2 % питьевой соды или 5 % марганцевокислого калия. Лучшим средством для примочек является абсолютный или 96 % этиловый спирт, он оказывает одновременно и обеззараживающее действие.

При ожогах кислотами и щелочами пораженный участок кожи быстро промывают большим количеством воды. Затем на обожженное место накладывают примочку: при ожогах кислотой — из 2 % раствора питьевой соды, при ожогах щелочью — из слабого (0,5 %) раствора уксусной кислоты.

При попадании химических реактивов на лицо или в глаза необходимо сразу промыть их большим количеством воды, а затем, если необходимо,

обратиться за медицинской помощью.

При ожогах водяным паром, горячими предметами, брызгами горячей воды и т.д. смазывают пораженное место 5-10 % раствором перманганата калия $KMnO_4$, борным вазелином.

При более тяжелых или обширных ожогах пострадавшего необходимо немедленно отправить к врачу.

3 Методы подготовки исследуемых образцов для биохимических исследований

В практике клинико-биохимических исследований исход аналитической части в большей степени зависит от правильного выполнения отбора биологического материала, его хранения и транспортировки. В качестве биологического материала чаще всего используют биологические жидкости - сыворотку и плазму крови, клеточные элементы крови (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты), ткани убойных животных.

3.1 Правила забора крови для исследований

Для исключения общих факторов, влияющих на результаты лабораторных исследований, следует соблюдать следующие условия подготовки пациентов:

- взятие крови (венозной и капиллярной) осуществляется после 15-минутного отдыха обследуемого;
- курение и прием алкоголя непосредственно перед исследованием исключаются;
- взятие крови осуществляется натощак, как правило, в утренние часы (8-10 ч), пациент во время взятия крови сидит или лежит.

Методика забора венозной и капиллярной крови у человека,

Существует два основных способа взятия крови для лабораторного

исследования:

1) пункция вены (локтевой, подключичной и других) - для получения венозной крови;

2) пункция мягких тканей (ладонной поверхности пальцев, мочки уха, пятки у младенцев) - для получения капиллярной крови.

Условия получения венозной крови. Венозную кровь, как правило, забирают из локтевой вены, в случае необходимости - из любой вены (запястья, тыла ладони., подключичной и др.). *У* новорожденных и грудных детей кровь обычно берется из лобной, височной или яремной вены. При взятии крови из вены необходимо избегать: мест шрамов, гематом; вен, используемых для переливания растворов; ножных вен (у больных диабетом, при нарушениях периферического кровотока, ангиопатиях).

Оборудование. Для венепункции можно использовать три варианта пункционных систем:

1) одноразовые пластмассовые системы (контейнеры), состоящие из контейнера с навинчивающейся на него одноразовой иглой и пробирки с плотно прилегающей пробкой и вакуумом внутри;

2) одноразовые шприцы с достаточным объемом и подходящим диаметром иглы;

3) иглы с внутренним диаметром от 0,55 до 0,65 мм.

Для взятия проб венозной крови наиболее предпочтительно использовать вакуум-содержащие системы, позволяющие предотвратить любой контакт исследователя с кровью. Тщательно дозированный объем вакуума обеспечивает точное соотношение кровь/реагент в пробирке. После наполнения пробирки кровью следует сразу же аккуратно перемешать с антикоагулянтом посредством медленного вращения пробирки вокруг продольной оси в горизонтальной плоскости. Следует избегать взбалтывания, встряхивания, размазывание по стенкам пробирки, вспенивание, загрязнение, которые спровоцируют гемолиз.

Дополнительное оборудование: манжета сфигмоманометра или жгут для пережатия руки; спирт 70 %; ватные или марлевые тампоны; бинт; пластырь;

резиновые или одноразовые перчатки.

Взятие крови необходимо проводить в резиновых или одноразовых перчатках; в тех случаях, когда это невозможно, перед каждым взятием перчатки следует обрабатывать 70 % спиртом. Все оборудование для взятия крови, включая одноразовые системы, шприцы, иглы, бинты, ватные и марлевые тампоны, пластыри должно быть стерильным.

Положение пациента должно быть удобным. Человек либо сидит, либо лежит, рука свободно вытянута вперед и прочно лежит на подушке. Вены пережимаются манжетой на время не более 30 секунд (проверить, чтобы пережатие не коснулось артерий - пульс должен прощупываться). Место пережатия должно быть выше места прокола на 8—10 см. После наложения манжеты кисть руки пациента должна быть сжата "в кулак", после этого проводится протирание тампоном со спиртом места прокола. После высыхания кожи (несколько секунд) левой рукой оператора обхватывается рука пациента, большим пальцем придерживается вена (кожа должна быть натянута против касания), а правой рукой в вену вводится игла вакуумной пробирки или шприца. Игла острием направлена вниз, заточенной стороной - вверх. Кожа прокалывается под углом 20°. Кровь должна литься свободно. Пережатие освобождается после правильной установки иглы. После получения необходимого количества крови, тампоном со спиртом накрывается место взятия, игла осторожно удаляется, а место пункции прижимается тампоном на несколько минут.

Примечание - Если после пункции кровь не появилась, проводится повторная пункция. При "плохих" венах рекомендуется многократное сжимание и разжимание кулака обследуемого, согревание места взятия, легкое похлопывание, опускание руки вниз. При "катающихся" венах необходимо придерживать вену большим пальцем руки, при тонких — использовать более тонкие иглы. У больных с цианозом следует использовать иглы большого диаметра (вязкость крови выше), у больных гемофилией или с антикоагулянтной терапией желательно делать только одну венепункцию

тонкой иглой, после взятия обязательна давящая повязка.

Методика получения капиллярной крови.

Капиллярная кровь происходит из артериол, венул и капилляров и содержит как артериальную, так и венозную кровь и межклеточную жидкость. Артериальная часть в капиллярной крови преобладает. Капиллярную кровь у взрослых получают, как правило, из ладонной поверхности пальцев рук, мочки уха, у детей - из боковой поверхности пятки или подошвенной поверхности большого пальца ноги, или мочки уха. Глубина прокола 2—3 мм.

Оборудование: одноразовые ланцеты или специальные иглы для взятия капиллярной крови; пробирки со специальным силиконовым покрытием или антикоагулянтом; предметные стекла; пипетки; капилляры; ватные или марлевые тампоны; спирт 70 %.

Положение пациента - сидя, либо лёжа, рука или другое место забора крови должно быть стабилизировано. Вначале тампоном со спиртом тщательно протирается поверхность кожи для того, чтобы удалить грязь и частицы, которые могут быть сосчитаны как фрагменты клеток крови. После высыхания кожи (несколько секунд) и восстановления кровообращения кожа прокалывается ланцетом или специальной иглой для взятия крови. Первая капля крови удаляется сухой стерильной ватой, так как содержит кусочки поврежденной ткани. Вторая капля используется для исследования. Пункция должна быть такой, чтобы формировалась свободно натекающая капля. Кровь не должна выдавливаться. Во время взятия строго соблюдаются правила асептики.

Существуют четыре способа забора капиллярной крови:

1) после прокола кожи пальца несколько капель крови (не менее 3—4) помещают на индивидуальное предметное стекло или гнездо пластикового планшета, перемешивают и используют для работы;

2) кровь набирают в индивидуальные, стерильные, предварительно выверенные пипетки или капилляры непосредственно с поверхности кожи проколотого пальца больного;

3) кровь в количестве 40 мкл набирают стерильным индивидуальным капилляром Панченко, предварительно смоченным стерильным раствором цитрата натрия (соотношение крови и цитрата 4:1 по объему);

4) после прокола кожи б—8 капель крови осторожно спускают в пластиковую пробирку с предварительно помещенной в нее 1 каплей (4-7 мкл) 7,5 % раствора (Na_2ЭДТА). Содержимое пробирки тщательно перемешивают, вращая ее между ладонями.

После получения необходимого количества крови, необходимо протереть поверхность кожи тампоном, смоченным спиртом, оставив затем чистый тампон на пальце (или другой поврежденной поверхности) на 1—2 минуты до полной остановки кровотечения.

Примечание- Глубина прокола должна быть достаточной (2—3 мм). Более глубокая пункция болезненна, поверхностная же может оказаться недостаточной и приведет к повторной манипуляции.

3.2 Хранение и транспортировка крови.

Стабилизация крови. Кровь вне сосудистого русла сворачивается и становится непригодной для биохимических исследований. С целью сохранения жидкого состояния крови в лабораторной практике используются: щавелевокислый натрий (калий или аммоний), лимоннокислый натрий, фтористый натрий, гепарин, ЭДТА.

Выбор коагулянта.

Гепарин - наилучший антикоагулянт для определения осмотической резистентности эритроцитов и функциональных исследований лейкоцитов, в том числе и для иммунохимического анализа. Однако его применение не предотвращает агрегацию тромбоцитов, что обуславливает артефакты автоматического анализа. При использовании 1 % раствора гепарина (1мл содержит 5000 МЕ) вносят препарат из расчёта 1-2 капли (2 мг) на 10 мл крови (гепаринизированная кровь).

Цитрат натрия (лимоннокислый натрий, тринатрийцитрат) является антикоагулянтом выбора, то есть он используется при исследовании свертывающей системы крови и тромбоцитов. Цитрат натрия, также как и гепарин, не предотвращает агрегацию тромбоцитов, что обусловливает артефакты автоматического анализа. Для предупреждения свёртывания крови применяется лимоннокислый натрий из расчёта 0,01 - 0,02 г на 10 мл крови (цитратная кровь).

ЭДТА (этилендиаминтетраацетат, или трилон Б) - наиболее распространенный антикоагулянт при использовании автоматических гематологических анализаторов. При этом предпочтительнее использовать K_2ЭДТА и K_3ЭДТА (дву- или трикалиевый ЭДТА) из расчёта 1,5-2,2 мг/мл крови ввиду хорошей его растворимости в крови. Недостатком ЭДТА является формирование микросверткoв, повышение осмотического давления и, как следствие сморщивание форменных элементов крови.

Для предупреждения свёртывания крови так же используются: щавелевокислый натрий (калий или аммоний) - 0,01-0,02 г на 10 мл крови (оксалатная кровь), фтористый натрий - 0,01 г на 10 мл крови.

Ввиду того, что антикоагулянты влияют на форменные элементы крови, исследование следует проводить либо не позже 0,5 часа, либо спустя 6 часов от момента забора крови для исключения спонтанной агрегации тромбоцитов, вызванной действием антикоагулянта. Выбор этого времени обусловлен адаптацией тромбоцитов к антикоагулянту, происходящей в эти сроки.

При необходимости проведении анализа крови в более поздние сроки (спустя 6 часов после взятия) пробы крови следует хранить при температуре от 4 до 8 °С но не более 1 суток. Более длительное хранение крови приводит к набуханию клеток и, как следствие, к артефициальному изменению параметров, связанных с их объемом.

Кровь, хранившуюся при пониженной температуре (от 4 до 8 °С), перед исследованием следует предварительно прогреть до комнатной температуры.

В случае необходимости транспортировки образцов крови для

последующего их исследования, следует использовать герметичные пробирки и специальные транспортные изотермические контейнеры для проб крови.

3.3 Получение плазмы и сыворотки крови

Основной принцип выделения компонентов в различии их плотности. *Плазма крови* представляет собой кровь, лишенную клеточных элементов, но содержащую фибриноген и факторы свертывания крови. Забор крови производят в стеклянные центрифужные пробирки с добавлением раствора гепарина (25 ЕД/мл) или 3,8 % раствора цитрата натрия (1 мл на 10 мл крови), центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 минут. Клетки крови - эритроциты и лейкоциты осаждаются, и в верхней части гемоконтейнера остается надосадочная жидкость светло-жёлтого цвета (супернатант, центрифугах), являющийся плазмой, обогащенной тромбоцитами. За счет выбора времени и скорости центрифугирования удается регулировать состав выделяемого компонента. Плазму крови отбирают пастеровской пипеткой или дозатором (V=l мл) и хранят в холодильнике при +4 ˚С.

Сыворотка крови представляет собой кровь, лишенную клеточных элементов и фибриногена (предшественника фибрина). Кровь набирают в стеклянные центрифужные пробирки без антикоагулянта и помещают в термостат при +37 ˚С на 1 час. Образовавшийся сгусток отделяют от стенок стеклянной палочкой, иногда достаточно встряхивания пробирки. После этого кровь центрифугируют 10-15 мин при 1000-1500 об/мин (пластмассовые пробирки можно центрифугировать при 2000-3000 об/мин меньшее время). После чего отбирают надосадочную жидкость - сыворотку и переносят в чистую пробирку. Сыворотку крови хранят в холодильнике при +4 ˚С.

Хранение проб. Образцы крови, хранящиеся при комнатной температуре, должны подвергаться исследованию на протяжении 4 ч (метаболиты, ферменты, электролиты). При 4 ˚С образцы крови могут храниться до 3-7 сут. Следующие показатели требуют срочного определения: аммиак (до 2 ч.), креатинкиназа (до

14 ч), креатинин, глюкоза, сорбитдегидрогеназа, ванилилминдальная кислота. Замораживание сыворотки крови при минус 20 °С позволяет проводить исследования ряда показателей через неделю (щелочная фосфатаза, амилаза, хлориды, глутаматдегидрогеназа, АсАТ, АлАТ, глутаминилтранспептидаза, общий белок), 1-3 месяца (фетопротеин, холестерин, холинэстераза, ферритин, иммуноглобулины, инсулин, фосфолипиды, тироксин, трансферрин, мочевина, мочевая кислота и др.) и позже (липаза, кальций). При исследовании лактатдегидрогепазы недопустимо замораживание сыворотки крови.

При исследовании крови, полученной не натощак, а также при некоторых типах дислипопротеинемий возможен выход липемической сыворотки. В такой сыворотке нельзя определять ряд биохимических показателей (креатинин, глутаматдегидрогеиаза, общий белок, триглицериды и др.). Иногда можно использовать для исследования липемическую сыворотку после предварительной подготовки: путем разведения изотоническим раствором хлорида натрия; центрифугированием при 10 000g 20 мин; отстаиванием сыворотки 24 ч при 4 °С (всплывание хиломикронов); осаждением липопротеинов низкой и очень низкой плотности гепарином в присутствии хлорида магния.

При хранении цельной крови или клеток следует учитывать, что за счет гликолиза возможно изменение концентраций глюкозы, лактата и сдвиг pH. Поэтому рекомендуется депротеинизация образцов сразу же после получения образцов крови, введение ингибиторов (фторида натрия) или хранение образцов при низкой температуре (от 0 °С до 4 °С). Кровь и сыворотку крови содержат в темноте, если предстоит количественное определение билирубина и порфиринов.

Разделение компонентов крови. Существует два пути получения компонентов крови:

• центрифугирование цельной крови и дальнейшее фракционирование (разделение);

• селективный аферез - получение компонентов аппаратными методами заготовки.

Приготовление суспензии эритроцитов и гемолизатов.

После отделения плазмы крови осадок эритроцитов ресуспендируют в 10 мл охлажденного физиологического раствора или забуференного 0,01М трис-HCl буфером pH 7,4 раствора 0,15М NaCl, затем центрифугируют 10 мин при 3000 об/мин. Осадок трижды промывают физиологическим раствором, из полученного плотного осадка эритроцитов готовят суспензии необходимой концентрации на забуференном pH 7,4 физиологическом растворе. Разведение суспензии эритроцитов производят в соответствии с концентрацией общего белка.

Для получения гемолизатов к 0,1 мл осадка отмытых эритроцитов приливают 10 мл холодной дистиллированной воды и энергично встряхивают. Через 30 мин - 1 час в гемолизатах определяют содержание гемоглобина и активность ферментов.

Реактивы.

1. Забуференный 0,01М трис-HCl буфером pH 7,4 раствор ОД 5М NaCl:

а) приготовление 0ДМ трис-HCl буфера pH 7,4: 50 мл 0ДМ трис(гидроксиметил)аминометана (12,114 г/л) + 42 мл 0ДМ HC1, разбавляют водой до 100 мл;

б) 10 мл 0ДМ трис-HCl буфера разбавляют 50 мл H_2O, добавляют 0,89 г NaCl. После растворения соли раствор разводят водой до 100 мл.

3.4 Получение и подготовка тканей лабораторных животных к биохимическому исследованию

При проведении биохимических исследований на экспериментальных животных (крупный, мелкий рогатый скот, птица, мыши, крысы, морские свинки, кролики) в качестве биологического материала может использоваться как кровь, так и гомогенаты тканей, субклеточные фракции тканей, моча, молоко крупного рогатого скота.

Кровь у животного рекомендуется брать лучше утром в одни и те же часы

(до кормления и водопоя), после отдыха и успокоения животного. Для получения микроколичеств крови достаточно сделать прокол соответствующего участка кожи специальной иглой, предварительно протерев поверхность спиртом (например, краевая вена уха кролика, хвостовая вена у крыс и мышей). Первую выступившую каплю крови вытирают ватой, смоченной раствором антикоагулянта и затем приступают к её отбору с помощью пипетки (стеклянного капилляра). Большие количества крови берут из поверхностно расположенных вен.

От исследуемой туши крупного рогатого скота или ее части отбирают три куска мышц массой не менее 200 г каждый в области зареза напротив 4—5-го шейного позвонка, в области лопатки и из группы заднебедренных мышц. Каждую пробу заворачивают в пергаментную бумагу или целлюлозную пленку.

3.5 Приготовление гомогената из растительных и животных тканей

Подготовительный этап исследования тканей - измельчение. После предварительного взвешивания для гомогенизации тканей с низкой влажностью (от 5 % до 15 %) используются механические мельницы. Разрушение тканей с высокой влажностью (от *65* % до 90 %) проводят на гомогенизаторах. Ткани со средней влажностью (от 15 % до 65 %) обычно предварительно высушивают в сушильных шкафах с вакуумом при низкой температуре (от 60 °С до 70°С), что обеспечивает максимальную сохранность в них функционально активных веществ. Полученную однородную массу центрифугируют. Надосадочную жидкость (супернатант) используют для биохимических исследований.

С использованием методов экстракции достигается извлечение ФАВ из растительных тканей в раствор. Качественный и количественный состав ФАВ зависит от вида растений, сроков их сбора, места произрастания, а также от способов заготовки и условий хранения, собранных образцов растений и др. Перед экстракцией анализируют природу ФАВ для определения состава экстракционной среды. Экстракцию проводят при оптимальных условиях, с

учетом следующих показателей: температура, pH, ионная сила, время экстракции, природа и концентрация растворителя. Экстракцию ФАВ из тканей лучше всего проводить при постоянном перемешивании смеси и температуре О °С. Низкая температура среды позволяет исключить протекание химических процессов в гомогенатах ткани. По окончании экстракции удаляют не полностью разрушенные клетки и ядра путем центрифугирования или фильтрования. После центрифугирования надосадочную жидкость осторожно сливают, а осадок отбрасывают. Исследованию подвергаются вещества, содержащиеся в надосадочной жидкости.

Перед началом экстракции ФАВ из разрушенных и растений необходимо правильно подобрать растворитель. Экстракцию полярных, заряженных соединений проводят используя полярные растворители (вода, 50 %-ный раствор этанола). Экстракцию гидрофобных компонентов гомогената тканей проводят с использованием неполярных растворителей (гексан, хлороформ, диэтиловый эфир и др.) или водных растворов с детергентами (тритоны: Х-45, Х-100, Х-114, Х-102, Х-165, Х-305; бридж: 35, *56,* 58; луброл РХ и WX; твин: 20, 40, 60, 80 и др. Для полного разрушения растительных и животных тканей используют ультразвук.

Как видно из таблицы 2, использование 50 % этанола обеспечивает максимальную экстракцию полярных БАВ из растительных тканей.

Свежую ткань печени или мышц крысы предварительно многократно промывают 0,9 % раствором NaCl (физиологический раствор), охлажденным до 0 °С с целью удаления крови, а затем обсушивают фильтровальной бумагой и измельчают ножницами. На весах взвешивают измельченную ткань и помещают в стакан для гомогенизирования.

Таблица 2

Реагент	Время экстракции, час	
	1	2
Этанол 50%-ный	340(100)	400(100)
Хлороформ	146(43)	118(29)
Диэтиловый эфир	26(8)	60(15)
Ацетон	77(23)	70(17)

В случае, если используется стеклянный гомогенизатор, зазор между стенкой и пестиком должен быть от 0,2 до 0,3 мм; скорость вращения пестика не должна превышать 800 об/мин. Время измельчения тканей: печень — 30-40 секунд, мышцы — до 60 секунд. Если используют механический гомогенизатор, скорость вращения ножей можно доводить до 900 об/мин. Все работы необходимо проводить на холоде, помещая стакан гомогенизатора в чашку со льдом с последующим добавлением (порциями) необходимого объема (10 мл) соответствующего буфера (например, 0,01М трис-HCl буфер, pH 7,4) или забуференного 0,01М трис-HCl буфером pH 7,4 физиологического раствора.

Разбавление при гомогенизировании должно проводиться с учетом содержания определяемого биологически активного вещества.

Полученный тканевый гомогенат центрифугируют при 7000 g в течение 10-15 мин (t = 0 °C). Надосадочную жидкость (супернатант) подвергают биохимическим исследованиям.

3.6 Выделение субклеточных фракций печени крысы

К субклеточным фракциям тканей относятся митохондриальная, микросомальная (образуется из мембран эндоплазматического ретикулума), ядерная, из нервной ткани выделяют миелиновую фракцию.

Первым этапом фракционирования органелл клеток является

гомогенизация - разрушение всех клеток, находящихся в гомогенизаторе, без повреждения их субклеточных структур. С этой целью чаще используют растворы сахарозы различной концентрации, которые способны сохранять интактными большую часть субклеточных структур гомогенатов тканей. Большое значение для успеха фракционирования субклеточных частиц имеет pH среды. Показано, что степень загрязнения гомогената целыми клетками и их оболочками резко возрастает, если pH среды меньше 7,0. В интервале pH от 7,4 до 7,8 число неразрушенных клеток минимально.

Печень крысы промывают раствором холодной 0,25М сахарозы, приготовленной на 0,01М трис-HCl буфере pH 7,4. Затем делают навеску ткани и переносят ее в охлажденный стакан гомогенизатора и добавляют раствор сахарозы из расчета 1 : 9 (вес:объем). Кусочки ткани осторожно разминают тефлоновым пестиком в течение 1 мин до тех пор, пока они не начинают свободно продавливаться между пестиком и стенками стакана гомогенизатора. Затем соединяют пестик с моторчиком и продолжают гомогенизацию в течение 1 мин при 800-1200 об/мин при постоянном движении пестика вниз и вверх. Вся процедура проводится на холоду в погруженном в ледяную ванну стакане гомогенизатора. Приготовленный подобным образом гомогенат содержит не более 5 % неразрушенных клеток и мало поврежденные субклеточные структуры.

3.7 Отбор проб молока и молочных продуктов для биохимических исследований

Перед отбором проб из фляг молоко и сливки тщательно перемешивают специальными мутовками. Для полного лабораторного анализа проба молока должна составлять не менее 250 мл, сливок и сметаны—100 мл. Сливки и сметану перед лабораторным исследованием подогревают до температуры 30—35 °С, перемешивают и охлаждают до 20 °С. Творог растирают в ступке до получения однородной консистенции.

3.8 Методики приготовления для исследования растительных образцов

Растения для аналитических исследований собирают в сухую погоду в дневные часы, когда растения обсохнут от дождя и росы. Заготовку корней и корневищ (подземных органов) производят независимо от погодных условий. Максимальное количество активных веществ содержится в растении в период цветения (цветки и листья), и в период созревания плодов (корни, клубни и корневища). Надземные части собирают в начале цветения. У высоких растений срезают только цветущие верхушки (20-30 см), а толстые стебли, лишенные листьев, не трогают (содержание в них биологически активных веществ невелико). Цветки и соцветия обрывают вручную во время цветения. В этот период цветы содержат больше действующих веществ, меньше осыпаются при хранении, лучше выдерживают сушку. Собранные растения тщательно сортируют, определяют видовой состав и затем сушат.

Заготовленное *сырье сушат* в помещении при комнатной температуре, раскладывая ровным слоем в 1-2 см, расправляя листья. Корни и корневища отряхивают от земли, обрезают надземные части, тонкие корни, отмершие и поврежденные участки и промывают в холодной воде. Промытое сырье раскладывают тонким слоем на чистую подстилку и подсушивают, при этом сырье часто перемешивают. Сушку производят до максимальной потери влаги собранными растениями (корни и стебли ломаются с характерным треском, листья, цветки и соцветия легко растираются в порошок). Хранение сырья производят в бумажных пакетах, маркируя образцы, куда заносят данные по видовому составу, указывая место и сроки сбора растения.

Экстракция биологически активных веществ из растительных тканей.

Органы растений - листья, стебли, корни - предварительно разрезанные на мелкие части, измельчают на механической мельнице в порошок с размером частиц в 1-2 мм. Вытяжку готовят путем настаивания порошка в 50 % этаноле в соотношении 1:20 (1 г растительного порошка настаивают на 20 мл 50 %

этанола). Экстракцию проводят в течение 24 ч при температуре воздуха +4 °С. Удаление неразрушенных частиц, клеток, ядер и прочего проводят путем фильтрования тканевого гомогената или центрифугированием при 7000 g в течение 10-15 мин при температуре от 2 °С до 4 °С. Затем прозрачный раствор (фильтрат или супернатант) подвергают химическим исследованиям.

4 Литература, рекомендуемая для изучения темы

1 Антипова, Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов/ Л.В. Антипова, И.А. Глотова, И.А. Рогов. - М.: Колос, 2001. - 571 с.

2 Биохимия растительного сырья: учеб. Для вузов/ В. Г. Щербаков [и др.]; под ред. В. Г. Щербакова. - М.: Колос, 1999. - 376 с: ил. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов).

3 Биохимия: учебник/ под ред. Е.С. Северина. — 3-е изд., испр. - М.: ГЭОТАР-Медия, 2005. - 784 с.: ил. - ISBN 5-9704-0012-2.

4 Биохимия: руководство к практическим занятиям : учебное пособие/ под ред. Проф. Н.Н. Чернова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 240 с: ил. - ISBN 978-5-9704-1287-9.

5 Биохимия: учеб. Для студентов мед. вузов/ под ред. Е. С. Северина.- 5-е изд. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 766 с. : ил. - Прил.: с. 735-760. - Предм. Указ.: с. 748-760. - ISBN 978-5-9704-1195-7.

6 Зубаиров, Д.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии/ Д.М. Зубаиров, В.Н. Тимербаев, В.С. Давыдов - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. - 392 с: ил. - ISBN 5-9704-0007-6.

7 Комов, В. П. Биохимия : учеб. Для вузов/ В. Т. Комов, В. Н. Шведова .- 3-е изд., стер. - М.: Дрофа, 2008. - 640 с. - (Высшее образование: Современный учебник). - Предм. указ.: с. 620-630. - ISBN 978-5-358-04872-0.

8 Клиническая биохимия; учеб. Пособие для студентов мед. вузов/ под ред. В. А. Ткачука .- 3-е изд., испр. И доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 462 с. : ил.. - Библиогр.: с. 430. - Предм. указ.: с. 451-454. - ISBN 978-5-9704-0733-2.

9 Кольман, *Я.* Наглядная биохимия/ Я. Кольман, К.-Г. Рём: пер. с нем. - 3-е изд. - М.: Мир; БИОНОМ. Лаборатория знаний, 2009. - 469 с: ил. - ISBN 978-5-9963-0126-3 (БИОНОМ. ЛЗ); ISBN 978-5-03-003811-7 (Мир).

10 Практикум по биохимии: учеб. Пособие/ под ред. СЕ. Северина, ГА. Соловьевой .- 2-е изд., перераб. и доп. - М.: МГУ, 1989. - 509 с: ил. - ISBN 5-211-00406-Х.

11 Принципы надлежащей лабораторной практики. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009. Москва: Стандартинформ, 2010.

12 Международные правила надлежащей лабораторной практики, разработанные организацией экономического сотрудничества и развития/ А.Н. Мурашев, Т.А. Гуськова, О.Л. Верстакова, Р.Д. Сюбаев, О.Н. Хохлова, А.Я. Огай// Ведомости Научного Центра Экспертизы Средств Медицинского Применения. - 2007. - №2. - С. 71-79.