**Методическая разработка**

**практического занятия для студента**

**Тема занятия:** **«**Лабораторные микробиологические исследования**»**

**Значение темы**:

**Микробиология** (от греч. micros- малый, bios- жизнь, logos- учение, т.е. учение о малых формах жизни) - наука, изучающая организмы, неразличимые (невидимые) невооруженным какой-либо оптикой глазом, которые за свои микроскопические размеры называют микроорганизмами (микробами). К ним относятся простейшие, спирохеты, грибы, бактерии, вирусы. Величина микроорганизмов измеряется в микрометрах (мкм). Микроорганизмы заселяли Землю еще 3-4 млрд. лет назад, задолго до появления высших растений и животных. Микробы представляют самую многочисленную и разнообразную группу живых существ. Микроорганизмы чрезвычайно широко распространены в природе и являются единственными формами живой материи, заселяющими любые, самые разнообразные субстраты (среды обитания), включая и более высокоорганизованные организмы животного и растительного мира. Микроорганизмы окружают нас повсюду. Они живут в почве, воде, организме человека и животных. С помощью одних микроорганизмов происходит круговорот веществ в природе - очищение окружающей среды (гниющие органические отбросы под влиянием микроорганизмов превращаются в неорганические вещества, которые усваиваются растениями); другие вызывают заболевания человека и животных.

**Предметом** изучения микробиологии является морфология, физиология, генетика, систематика, экология микроорганизмов и их взаимоотношения с другими формами жизни. Микробиология рассматривает широкий круг вопросов и подразделяется на ряд дисциплин. **Общая микробиология** изучает строение и жизнедеятельность микроорганизмов, их распространение в природе, наследственность и изменчивость. **Медицинская микробиология** изучает микроорганизмы, вызывающие заболевания человека, и процессы, происходящие в организме при внедрении болезнетворных микроорганизмов. **Санитарная микробиология** - занимается изучением микроорганизмов и процессов, вызываемых ими в окружающей среде (воде, воздухе, почве, пищевых продуктах и т.д.).

**Задачи медицинской микробиологии:**

1. Установление этиологической (причинной) роли микроорганизмов в норме и патологии.

2. Разработка методов диагностики, специфической профилактики и лечения инфекционных заболеваний, индикации (выявления) и идентификации (определения) возбудителей.

3. Бактериологический и вирусологический контроль окружающей среды, продуктов питания, соблюдения режима стерилизации и надзор за источниками инфекции в лечебных и детских учреждениях.

4. Контроль за чувствительностью микроорганизмов к антибиотикам и другим лечебным препаратам, состоянием микробоценозов (микрофлоры) поверхностей и полостей тела человека.

Таким образом, чтобы достигнуть успеха в деле снижения и ликвидации инфекционных болезней, необходимо хорошо знать экологию и биологию их возбудителей, особенности взаимодействия микроорганизмов с организмом хозяина (человека, животного) и закономерности распространения инфекций. Такие знания позволяют создавать систему мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения инфекционных болезней. Успех этих мероприятий в значительной мере обеспечивается деятельностью среднего медицинского персонала, а качество работы фельдшеров, лабораторных техников, медицинских сестер зависит от их знаний и подготовки в области медицинской микробиологии.

**Цели обучения**:

**Общая цель:**

Студент должен овладеть **общими компетенциями**:

ОК 1. Понимать сущность и социальную значимость своей будущей профессии, проявлять к ней устойчивый интерес.

ОК 2. Организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 4. Осуществлять поиск и использование информации, необходимой для эффективного выполнения профессиональных задач, профессионального и личностного развития.

ОК 7. Брать на себя ответственность за работу членов команды (подчиненных), за результат выполнения заданий.

ОК 9. Ориентироваться в условиях частой смены технологий в профессиональной деятельности.

Студент должен овладеть **профессиональными компетенциями**

ПК 1.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных общеклинических исследований.

ПК 1.2. Проводить лабораторные общеклинические исследования биологических материалов; участвовать в контроле качества.

**Знать:** современные методы микроскопических исследований (темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная, электронная микроскопия); устройство микроскопа; устройство бактериологической лаборатории и правила работы в ней; санитарно-эпидемиологический режим лаборатории и меры безопасности.

Уметь: организовывать рабочее место, проводить микроскопию в иммерсионной системе;

**Оснащение занятия**:

ламинарный бокс; мультимедийное оборудование (экран, проектор, компьютер); наборы реактивов для лабораторных исследований;  наглядные пособия (презентации);

**Контроль исходного уровня знаний:**

1. Дайте определение понятию «микробиология».
2. Что изучает микробиология?
3. Назовите разделы микробиологии.
4. Назовите задачи медицинской микробиологии.
5. Назовите помещения бактериологической лаборатории. Их назначение и оборудование.
6. Назовите материал для микробиологического исследования. Правила его транспортировки.
7. Назовите методы микробиологической диагностики.
8. Назовите основные части микроскопа.
9. Правила работы с иммерсионной системой микроскопа.
10. Охарактеризуйте виды микроскопии, их применение.

**Содержание темы**

Микробиологические исследования проводятся в специализированных лабораториях, которые организуются при больницах, поликлиниках и центрах государственного санитарно-эпидемиологического надзора (ЦГСЭН).

Задача бактериологической лаборатории **-**диагностика инфекционных болезней. Для этого проводят выделение возбудителя и определение иммунного ответа организма на внедрение микроорганизмов (серологиче­ская диагностика). Кроме того, проводят выявление носи­телей патогенных (болезнетворных) микроорганизмов. Имеются лаборатории, в которых проводят вирусологиче­ские исследования. В специальных санитарно-бактериологических лабораториях проводят исследования с целью выявления степени микробного загрязнения вне­шней среды и различных объектов.

Работа в микробиологической лаборатории с заразным материалом делает обязательным размещение ее в изолированном помещении. Для выполнения всех правил работы с заразным материалом и проведения микробиологических исследований лаборатория должна иметь несколько помещений:

1. Лабораторные комнаты
2. Бокс с предбоксником
3. Помещение для приготовления питательных сред
4. Моечная
5. Препараторская
6. Стерилизационная
7. Регистратура
8. Виварий

**Лабораторная комната** предназначена для проведения микробиологических исследований. В лабораторной комнате оборудуют: рабочие столы для врача и лаборанта, место для окраски препаратов, термостат, холодильник, центрифугу, микроскопы, шкафы, раковину с подводкой горячей и холодной воды, газовые горелки (при отсутствии газа работают со спиртовыми горелками).

Число лабораторных комнат определяется объемом работы лаборатории. В крупных лабораториях выделяют отдельные комнаты для работы с различными видами возбудителей.

**Бокс** - строго изолированное помещение для проведения микробиологической работы в условиях, требующих особой стерильности. Обеспложивание воздуха проводят с помощью бактерицидных ламп.

**Видеофильм Ламинарный бокс**

[**https://www.youtube.com/watch?v=1nf-ALc6lW0**](https://www.youtube.com/watch?v=1nf-ALc6lW0)

**Помещение для приготовления питательных сред** должно находиться рядом с моечной и стерилизационной.

**Моечная** - комната для мытья и обработки посуды.

**В стерилизационной** находятся приборы для стерилизации чистой посуды, питательных сред и обеззараживания отработанного материала: автоклавы, сухожаровый шкаф и др.

**В регистратуре**, или части помещения ее заменяющей, принимают и регистрируют материал, поступающий для исследования, и выдают заключения микробиологического исследования.

**Виварий** - помещение для содержания экспериментальных животных, имеется только в больших лабораториях.

**Видеофильм Лаборатория Инвитро**

[**https://www.youtube.com/watch?v=3YlITrllwwU**](https://www.youtube.com/watch?v=3YlITrllwwU)

**Материалом для микробиологических исследований** служат чаще всего выделения человека (испражнения, моча, рвотные массы, мокрота, отделяемое ран), а также кровь, желчь, спинномозговая жидкость, промывные воды желудка, бронхов, трупный (секционный) материал и др.

Большое значение для микробиологического исследования имеет техника взятия исследуемого материала и способ доставки его в лабораторию. Любой материал должен быть собран в стерильную посуду с соблюдением условий, предохраняющих его от загрязнения посторонней микрофлорой. На пробирку, банку, флаконы с материалом для исследования наклеивают этикетку, на которой указаны фамилия, имя, отчество, возраст пациента и дата взятия материала. В направлении повторяют сведения, приведенные на этикетке, и дополнительно сообщают: характер материала, учреждение, направившее материал, клинический диагноз, цель исследования и фамилию врача, направляющего материал.

Доставку исследуемого материала в лабораторию производят в кратчайший срок в специальных металлических биксах, контейнерах, пеналах, при пониженной температуре. Материал, содержащий микроорганизмы, малоустойчивые во внешней среде, переносят в специальных сосудах, в которых поддерживается температура 37° С, при доставке вирусного материала используют термосы со льдом для создания низкой температуры.

**Внимание!** Правильный сбор и транспортировка исследуемого материала обеспечивают эффективность микробиологических исследований.

Диагностика инфекционных заболеваний почти всегда предусматривает использование комплекса лабораторных методов. В современных условиях диагностика инфекционных заболеваний сохраняет все свои традиционные черты, сформировавшиеся за последние десятилетия. В то же время она характеризуется непрерывным совершенствованием уже найденных приемов и методов и поисками новых, более эффективных, в том числе экспрессных.

СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденных постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 (зарегистрировано Минюстом России 15.02.2021, № 62500), с изменениями, внесенными постановлениями Главного государственного санитарного врача РФ от 11.02.2022 № 5 (зарегистрировано Минюстом России 01.03.2022, № 67587); от 25.05.2022 № 16 (зарегистрировано Минюстом России 21.06.2022, № 68934).

**Видеофильм Расходные материалы для микробиологической лаборатории**

[**https://www.youtube.com/watch?v=bR1ps-MAFa4**](https://www.youtube.com/watch?v=bR1ps-MAFa4)

**Различают следующие методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций:**

**Микроскопический метод** (бактериоскопический) используется для изучения окрашенных мазков и мазков из нативного материала в микроскопе и позволяет характеризовать морфологию (форму) возбудителя, его отношение к различным красителям, подвижность. С помощью этого метода можно подтвердить клинический диагноз гонореи, дифтерии, возвратного тифа, сифилиса и некоторых других болезней.

**Бактериологический (культуральный)** - применяют для выделения и изучения чистой культуры возбудителя, т. е. для установления этиологии заболевания. Лабораторная диагностика большинства инфекционных болезней (брюшной тиф, дизентерия, холера, коклюш и др.) основана на применении этого метода.

**Серологический метод** (иммунологический) (от лат. serum - сыворотка) выявляет в сыворотке крови вещества, образующиеся в ответ на внедрение возбудителя в организм человека (антитела). С его помощью подтверждают диагноз бруцеллеза, туляремии, брюшного тифа и др.

**Биологический (экспериментальный) метод** - введение подопытным животным чистой культуры микроорганизмов, ядов ими выделяемых (токсинов) или исследуемого материала с целью получения характерных для данной инфекции изменений. Этот метод дает возможность воспроизвести инфекционное заболевание. Его применяют с целью постановки диагноза ботулизма, столбняка, токсико-инфекций и др.

**Лабораторно-диагностическое исследование подразделяется на 3 этапа:**

**Преаналитический**– подготовка пациента, назначение исследования, регистрация и взятие биоматериала, транспортировка в лабораторию, сортировка образцов.

**Аналитический**– непосредственное проведение лабораторного исследования, включая проведение мероприятий по контролю качества.

**Постаналитический**– оценка достоверности полученного результата исследования врачом лаборатории, лабораторное заключение, выдача результата пациенту или лечащему врачу и решение на основе результатов исследования клинической задачи.

Для обнаружения и исследования микроорганизмов применяют микроскопы. Световые микроскопы предназначены для изучения микроорганизмов, которые имеют размеры не менее 0,2 мкм (бактерии, простейшие и т. п.), а электронные - для изучения более мелких микроорганизмов (вирусы).

Современные световые микроскопы, позволяющие не только увидеть микроорганизмы, но и изучить их структуру, это сложные оптические приборы, обращение с которыми требует определенных знаний, навыков и большой аккуратности.

В микроскопе различают **механическую и оптическую части.**

* К механической части относится штатив (состоящий из основания и тубусодержателя) и укрепленные на нем тубус с револьвером для крепления и смены объективов, предметный столик для препарата, приспособления для крепления конденсора и светофильтров, встроенные в штатив механизмы для грубого (макромеханизм, макровинт) и тонкого (микромеханизм, микровинт) перемещения предметного столика или тубусодержателя.
* Оптическая часть микроскопа представлена объективами, окулярами и осветительной системой, которая в свою очередь состоит из расположенных под предметным столиком конденсора Аббе, а также отдельного или встроенного осветителя с низковольтной лампой накаливания и трансформатором. Объективы ввинчиваются в револьвер, а соответствующий окуляр, через который наблюдают изображение, устанавливают с противоположной стороны тубуса.

В зависимости от среды, которая находится между объективом и препаратом, различают **«сухие»** объективы малого и среднего увеличения (до 40×) и **иммерсионные** с максимальной апертурой и увеличением (90-100×).

Особенностью иммерсионных объективов является то, что между фронтальной линзой такого объектива и препаратом помещают иммерсионную жидкость, имеющую показатель преломления такой же, как стекло (или близкий к нему), что обеспечивает увеличение числовой апертуры и разрешающей способности объектива.

Увеличение микроскопа можно определить, умножая увеличение объектива на увеличение окуляра (обычно увеличение объектива и окуляра указано на оправе: объектива до 100×, окуляра - 4×, 5×, 7×, 10×, 12,5×, 15× и 20×).

Устройство микроскопа



1. Окуляр

2. Монокулярная насадка

3. Револьвер

4. Объектив

5. Предметный столик

6,7. Конденсор

8. Осветитель с линзой

9. Основание

10. Штатив

11, 12, 13. Держатель препарата

14. Макровинт

15. Микровинт

16, 17. Препаратоводитель

18. Выключатель

19. Регулировка интенсивности освещения

**Правила работы с иммерсионной системой**

1. Поставить микроскоп перед собой.
2. Поднять конденсор до уровня предметного столика.
3. Открыть ирис-диафрагму.
4. Включить освещение микроскопа.
5. Установить иммерсионный объектив.
6. На предметный столик поместить препарат с каплей иммерсионного масла.
7. Закрепить препарат клеммами.
8. Макровинтом опустить тубус до соприкосновения линзы иммерсионного объектива (х90) с маслом. Осторожно погрузить линзу в масло (под контролем глаз с боку).
9. Глядя в окуляр, макровинтом медленно поднимать тубус до появления изображения в поле зрения. Иммерсионные объективы имеют короткое фокусное расстояние (до 2,3 мм) поэтому наводить на резкость следует путем поднимания объектива, а не опускания его, так как при небольшом рабочем расстоянии можно раздавить препарат и повредить фронтальную линзу.
10. Вращая микровинт, не более чем на пол-оборота, добиться четкого изображения.
11. После просмотра препарата привести микроскоп в исходное состояние: выключить освещение, макровинтом поднять тубус, снять препарат, закрыть ирис диафрагму, опустить конденсор, установить малое увеличение и снять масло с объектива салфеткой.

**Видеофильм Техника микроскопии**

[**https://www.youtube.com/watch?v=z\_j1i6bMGG4**](https://www.youtube.com/watch?v=z_j1i6bMGG4)

**Самостоятельная работа:**

1. Заполнить таблицу «Устройство микроскопа»

|  |  |
| --- | --- |
| Оптическая часть | Механическая часть |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

2. Промикроскопировать готовые микропрепараты с применением иммерсионной системы.

3. Определить морфологическую группу выявленных микроорганизмов. Результаты микроскопии зарисовать в рабочей тетради.

4. Соотнести группы микроорганизмов и заболевания, которые они вызывают. Заполнить таблицу «Возбудители инфекционных заболеваний»

|  |  |
| --- | --- |
| Микроорганизмы | Заболевания |
| Вирусы |  |
| Палочковидные бактерии |  |
| Шаровидные бактерии |  |
| Извитые бактерии |  |

Заболевания: корь, гепатиты А, В, туберкулез, грипп, сифилис, гонорея, ангина, дизентерия, пиодермия, пневмония, клещевой боррелиоз (Болезнь Лайма), коклюш, клещевой энцефалит, холера, энтероколит.

1. Решить ситуационные задачи:

1. Преподаватель дал задание студенту изучить морфологию бактерий в готовом препарате. Для выполнения задания он использовал объектив с увеличением х40, но четко рассмотреть микроорганизмы в препарате не удалось. 1. Укажите причины, не позволившие студенту рассмотреть морфологию бактерий. 2. Перечислите рекомендации по устранению ошибки.

2. В бактериологическую лабораторию поступил материал (испражнения) от пациента А. с подозрением на инфекционное заболевание. 1. Укажите цель доставки материала в лабораторию. 2. Назовите виды деятельности, выполняемые в преаналитический, аналитический и постаналитический этапы. 3. Перечислите методы микробиологической диагностики возбудителей инфекционных заболеваний.

3. Преподаватель дал задание студенту изучить морфологию бактерий в готовом препарате. 1. Объясните необходимость использования иммерсионной системы. 2. Укажите маркировку иммерсионного объектива микроскопа. 3. Перечислите правила, соблюдаемые при микроскопии с иммерсионной системой.

4. На занятии студент разбил пробирку с культурой микроорганизмов. Укажите дальнейшую тактику действия студента.

5. Лабораторный техник приготовил мазок культуры вируса гриппа. Какой метод микроскопии необходимо применить для его изучения?

**Подведение итогов.**

**Домашнее задание: «**Лабораторные иммунологические исследования**»**