**1 День**

 **Техника безопасности**

1)В помещения бактериологической лаборатории нельзя входить без специальной одежды — халата и белой шапочки или косынки;

2) Нельзя вносить в лабораторию посторонние вещи;

3)Запрещается выходить за пределы лаборатории в халатах или надевать верхнюю одежду на халат;

4)В помещении бактериологической лаборатории категорически запрещается курить, принимать пищу, хранить продукты питания;

5)При исследовании инфицированного материала и работе с патогенными культурами бактерий необходимо строго соблюдать общепринятые в бактериологической практике технические приемы, исключающие возможность соприкосновения рук с инфицированным материалом;

6)Инфицированный материал и ненужные культуры подлежат обязательному уничтожению, по возможности в тот же день. Инструменты, использованные в работе с инфицированным материалом, тотчас после их употребления дезинфицируют, как и поверхность рабочего места;

7)При выполнении бактериологических работ нужно строго следить за чистотой рук: по окончании работы с инфицированным материалом их дезинфицируют. Рабочее место в конце дня приводят в порядок и тщательно дезинфицируют, а инфицированный материал и культуры бактерий, необходимые для дальнейшей работы, ставят на хранение в запирающийся рефрижератор или сейф

 **Дата:** 22.04.19

 **Подпись общего руководителя:**

 **2 День**

**Прием и регистрация поступившего материала**

Прием анализов должен проводиться в специально отведенном месте. Биксы/транспортировочные ящики с контейнерами должны открываться в вытяжном шкафу, биологическом шкафу безопасности или на специальном столе с соблюдением следующих требований.

Надеть одноразовые перчатки. Если бикс/ящик открывается не в шкафу биобезопасности, необходимо надеть антиаэрозольный респиратор.

Произвести внешний осмотр бикса. Проверить, не вылилась ли мокрота. В случае если обнаруживается загрязнение бикса, проавтоклавировать его или погрузить в дезинфицирующий раствор. Провести наружную обработку бикса соответствующим дезинфектантом.

Осторожно открыть бикс и проверить целостность контейнеров. Битые контейнеры обеззараживают путем погружения в дезинфектант, кипячения или автоклавирования. Материал из таких образцов не исследуется. В этом случае необходимо запросить новый образец на анализ.

Извлечь контейнер из бикса. Провести обработку дезинфектантом наружной поверхности всех контейнеров, находящихся в биксе. Продезинфицировать внутреннюю часть бикса.

Проверить соответствие номеров в сопроводительном списке и направлениях номерам, обозначенным на контейнерах.

Присвоить каждому образцу материала лабораторный номер – первый свободный номер по журналу регистрации исследований. Пометить соответствующим номером контейнер (на боковой стенке) и внести номер в бланк направления.

Снять перчатки и поместить их в контейнер для дезинфекции, а затем вымыть руки с мылом

 **3-4 день**

 **Приготовление Жидкая среда Кесслер**

16 г сухой среды Кесслер растворяют в 1 питьевой воды. Смесь размешивают и кипятят при помешивании 2-5 мин. Разливают в пробирки с поплавками по 5 или колбочки с поплавками по 40-50 и стерилизуют при (121±1) °С в течение (11±1) мин. Готовая для применения среда должна иметь темно-фиолетовый цвет. Допускается наличие небольшого осадка.

 **Приготовление среды Эндо**

40 г сухой среды вносят в 1 дистиллированной воды, тщательно размешивают, затем нагревают и кипятят в течение 3-5 мин, не допуская пригорания. После охлаждения до 40-50 °С среду разливают в стерильные чашки Петри и подсушивают в термостате

 **5-8 день**

 **Определение РИФ**

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)- Имеются два варианта постановки (РИФ) - прямая и непрямая реакции иммунофлюоресценции. Прямая РИФ - простая одноэтапная реакция, но так как для ее выполнения требуется наличие большого количества меченных антимикробных сывороток, то ставится она реже непрямой, постановка которой обеспечивается одной меченной антисывороткой.

Непрямая РИФ - двухэтапная реакция, в которой антиген вначале связывают немеченной видовой сывороткой, а затем образованный иммунный комплекс антиген - антитело обрабатывают меченной ФИТЦ антисывороткой, содержащей антитела против иммуноглобулина этого комплекса.

Подготовка образцов: Развести ультрасорбент в 5 мл . РБР Исследуемые образцы сыворотки ( плазмы ) крови и контрольные образцы К+слаб и Кнесп развести в 5 раз ультрасорбеном Кнесп и K + развести в 5 раз РБР Образцы СМЖ использовать без разведения.

Нанести: На лунки предметного стекла с фиксированным антигеном по 25 мкл подготовленных исследуемых и контрольных образцов или цельного ликвора

Инкубация: 30 мин , 37C , во влажной камере

Промыть:1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей , далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина

Нанести: На каждую лунку по 25 мкл ФИТЦ - конъюгата

Инкубация: 30 мин , 18-25 C во влажной камере в темноте

Промыть: 1 раз ОР с помощью емкости для промывания с канюлей , далее 3 раза по 5 мин в ОР в емкости Коплина

Нанести: Монтирующую жидкость , покровное стекло

Провести люминесцентную микроскопию ( 400x - 100x ).

 **Посев мочи на к/а и ураселект**

Петлёй набираем каплю мочи и делаем вертикальную полоску на кровяном агаре, после петлёй от начала и до конца чашки рассеиваем техникой посева « газонный».

После набираем каплю мочи петлёй и наносим на ураселект.

Ставим чашки с посевами в термостат на 24ч.

 **9-10 день**

**Посев на среды Эндо, Плоскирева и на накопительную магниевую среду**

Тампоном на средах расчерчиваем поле, после тампон опускаем в накопительную магниевую среду.

После того как мы расчертили поле, берём петлю и петлёй рассеиваю по всей чашке Петри.

Ставим в термостат на 24ч 37С



 **Посев на среду Висмут**

Через 24ч достаём из термостата накопительную магниевую среду с тампонами.

Тампоном расчерчиваем поле на среде Висмут, после берём петлю и петлёй рассеиваю по всей среде.

После ставим чашки в термостат на 24ч.

 **Санитарная микробиология и исследования воздуха**

**Первый день исследования**

Провели санитарно – бактериологические исследованиявоздуха в лаборатории, для этого мы взяли 3 среды: ЖСА, ПА и САБУРО заранее разлитых по чашкам Петри. Затем каждую чашку по очереди устанавливали в Аспиратор ПУ-1Б и задали для каждой среды нужный объём пробы, для ЖСА 250л, ПА и САБУРО 100л. При вынимании чашек Петри из Аспиратор ПУ-1Б можно увидеть нанесенный на них рисунок. Затем все 3 чашки ставим в термостат на 24-48 ч.

 **11 день**

**Санитарная микробиология и исследования воздуха**

**Второй день исследования**

Вынимаем из термостата чашки Петри со средами ЖСА, ПА и САБУРО на которые мы поставили исследование санитарного состояния воздуха в помещении лаборатории, и визуально их просматриваем (на средах не должно выть больше 300 колоний). В нашем случае всё в норме. Мы обратно убираем чашки в термостат ещё на 24 ч.

Так же из термостата мы достали наши смывы. Визуально их просмотрели и сделали пересев на чашки Петри со средами ЖСА и ЭНДО, которые поделили на сектора. И поставили в термостат на 24 ч.

 **Санитарная микробиология и исследование смывов**

**Первый день исследования**

Мы решили взять смывы с различных поверхностей кабинета лаборатории

Взятие смывов производится с помощью стерильных увлажненных хлопковых тампонов на пластиковых зондах с целлюлозными пробками. Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняют стерильной средой (1% пептонной водой), предварительно разлитой по 5 мл в стерильныепробирки .

Для ограничения поверхности используют шаблон (трафарет) площадью 25 см2, изготовленный из металла, накладывая его последовательно на 4 разных участка. Трафареты перед отбором смывов должны быть простерилизованы. Смыв с рук работников следует производить передначалом работы. При взятии смыва с рук протирают тампоном обе ладони рук, проводя не менее 5 раз по одной ладони и пальцам, затем протирают участки между пальцами, ногти и под ногтями. При взятии смывов с мелких инструментов обтирается вся поверхность предмета, при заборе смывов с тарелок протирают всю внутреннюю поверхность. При взятии смывов с мелких предметов одним тампоном протирают три одноименных объекта — три тарелки, три ложки и т. п. У столовых приборов протирают их рабочую часть.

После взятия смыва тампон помещают в ту же пробирку, из которой проводили увлажнение.

Мы брали смывы с:

1. Резинового коврика

2. Подоконника

3. Рук

4. Железного стола

5. Полотенца

6. Шкафа

7. Холодильника

8. Ручки двери

9. Наружной поверхности термостата

10. Внутренней части термостата

11. Батареи

И поставили все пробирки в термостат на 24 ч.

 **12 день**

**Санитарная микробиология и исследования воздуха**

**Третий день исследования**

Вынимаем из термостата чашки Петри со средами ЖСА, ПА и САБУРО на которые мы поставили исследование санитарного состояния воздуха в помещении лаборатории, и визуально их просматриваем, на чашках Петри имеется небольшой рост культуры (в пределах нормы), что говорит о соответствие санитарного состояния помещения в данной лаборатории.

 **Санитарная микробиология и исследование смывов**

**Второй день исследования**

Мы достали наши смывы. Визуально их просмотрели и сделали пересев на чашки Петри со средами ЖСА и ЭНДО, которые поделили на сектора. И поставили в термостат на 24 ч

 **13 день**

**Санитарная микробиология и исследование смывов**

**Третий день исследования**

Мы достаём из термостата чашки Петри на которые мы пересеяли смывы. Визуально делаем оценку: на ЖСА культура выросла на 1,2,3,4 секторе; на Эндо культура выросла на 4 секторе.

Далее мы делаем пересев на «пестрый» ряд для выделения чистой культуры из чашки со средой Эндо. Чашки Петри убираем снова в термостат.

**Проведение анализа**

· Исследования проводят с чистой культурой, а также с отдельными колониями непосредственно с чашек с дифференциально-диагностическими средами;

· Погружение дисков в пробирки производят обожженным пинцетом;

· Для получения четких результатов необходимо соблюдение температурного режима термостата (37±1) ˚С, pH применяемых сред и режима обработки посуды.

1. Определение утилизации углеводов и многоатомных спиртов.

В пробирке с 0,3 мл хлорида натрия 0,9%, суспендируют полную петлю культуры. Затем погружают СИБ-диск с соответствующим углеводом или многоатомным спиртом. Среда в пробирках в результате быстрой диффузии в нее индикатора становиться красной.

2. Определение индолообразования.

В пробирке с 0,3 мл хлорида натрия 0,9%, суспендируют полную петлю культуры. Полоску для определения индола складывают вдвое и пинцетом опускают на дно пробирки так, чтобы длинный бесцветный конец погрузился в суспензию культуры, а короткий окрашенный конец находился над поверхностью культуры.

3. Определение уреазной активности.

В пробирке с 0,3 мл хлорида натрия 0,9%, суспендируют полную петлю культуры. Затем в эту взвесь погружают СИБ-диск с мочевиной

4. Определение образования сероводорода.

СИБ-диск на сероводород помещают в бактериологическую пробирку на поверхность питательного агара, содержащего 0,5-0,7% микробиологического агара.

5. Определение утилизации цитрата и малоната натрия.

В пробирке с 0,3 мл стерильного фосфатно-солевого буферного раствора, суспендируют полную петлю культуры. Затем в эту взвесь помещают СИБ-диск с цитратом или малонатом натрия.

Убираем в термостат.

 **14 день**

**Санитарная микробиология и исследование смывов**

**Четвёртый день исследования**

Достаём «пёстрый» ряд из термостата и начинаем учитывать результат.

· Клиглера + лактоза,глюкоза

· Кристенсена +

· Симонса –

· Фенилаланин с добавлением FeCl3 +

· Хью-Лейфсона +

· Митил рот+?

· Подвижность-

· Ацетат-

· Кларка с добавлением МРОТ +

· Индол-

· Малона +

· Уриаза+

· Рпк +

· Манит+

· Хью-Лейфсона +

Из чего мы можем сделать вывод, что в данном мазке находится Стафилококк эпидермальный

Со средыЭндо и ЖСА мы сделали мазки и покрасили их по Граму

**Окраска по Граму**

· На фиксированный мазок наносим раствор генцианвиолета на 1 -2 минуты, смываем водой

· Наносим раствор Люголя на 1-2 минуты, смываем водой

· Наносим обесцвечивающий раствор спирта на 30-60 сек., смываем водой

· Наносим раствор фуксина на 2-3 мин

· Смываем всё водой и даём подсохнуть

Покрашенные мазки мы микроскопируем

 **Утилизация**

1. Отходы, содержащие ПБА, подвергаются обеззараживанию автоклавированием при 2 атм. В течение 1 часа.

2. Отходы, не содержащие ПБА, собираются в одноразовые пакеты красного цвета, расположенные в емкостях с крышками, по кабинетам.

3. Из кабинетов отходы собираются в бак на тележке с колесами, внутри которого расположен одноразовый пакет с надрезанными углами.

4. Перед проведением дезинфекции одноразовые пакеты надрезаются ножницами.

5. Дезинфекция проводиться в баке дезсредствами, рекомендованными для использования в противотуберкулезных учреждениях.

6. Все отходы после обеззараживания или дезинфекции собираются в одноразовую герметичную упаковку красного цвета.

7. Пакет заполнить на ¾, удалить воздух, загерметизировть. Все операции производятся в спецодежде, маске и резиновых перчатках.

8. Пакет маркируется надписью: «Опасные отходы класса В», указывается: название учреждения, подразделения, дата, вес, фамилия ответственного лица.

9. Санитарка выносит пакет с отходами в конце рабочего дня в мусорный бак для отходов класса В, расположенный на специальной площадке