Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

**Дневник**

производственной практики

по МДК 04.01. «Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований »

Усупбаевой Айтурган Ыманалиевны

ФИО

Место прохождения практики КГБУЗ « КМКБ Красноярская межрайонная клиническая больница № 4»

(медицинская организация, отделение)

с «03» июня 2021 г. по «23» июня 2021 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О.(его должность) Самоварова В.С. (Зав. Лаб. службы)

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) Веремей С.В. (фельд. лаборант)

Методический – Ф.И.О. (его должность) Жукова М.В. (преподаватель)

Красноярск 2021

СОДЕРЖАНИЕ

1. [Цели и задачи практики: 3](#_Toc74822195)

2. [Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики 4](#_Toc74822196)

3.[Тематический план 5](#_Toc74822197)

4. [График прохождения практики. 6](#_Toc74822198)

5. [ИНСТРУКТАЖ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ 7](#_Toc74822199)

6. [Лист лабораторных исследований. 55](#_Toc74822200)

7. [Отчет по производственной практике 56](#_Toc74822201)

8. [Текстовой отчет 57](#_Toc74822202)

9. [Характеристика 58](#_Toc74822203)

# Цели и задачи практики:

1. Закрепление в производственных условиях профессиональных умений и навыков по методам микробиологических и иммунологических исследований.
2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам микробиологических и иммунологических исследований.
3. Повышение профессиональной компетенции студентов и адаптации их на рабочем месте, проверка возможностей самостоятельной работы.
4. Осуществление учета и анализ основных микробиологических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в бактериологической лаборатории.

*В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:*

1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных исследований.
2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
6. Регистрировать проведенные исследования.
7. Вести учетно-отчетную документацию.
8. Пользоваться приборами в лаборатории.

# Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики

**Приобрести практический опыт:**

- приготовления питательных сред для культивирования различных групп микроорганизмов с учетом их потребностей

- техники посевов на чашки Петри, скошенный агар и высокий столбик агара.

**Освоить умения:**

- готовить материал к микробиологическим исследованиям;

- определять культуральные и морфологические свойства;

- вести учетно-отчетную документацию;

- производить забор исследуемого материала;

- принимать, регистрировать, материал;

- утилизировать отработанный материал.

**Знать:**

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологический лаборатории;

- основные методы и диагностическое значение исследований протеолитических, сахаралитических, гемолитических свойств микроорганизмов, антигенной структуры.

# Тематический план

**6 семестр**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Наименование разделов и тем практики** | **108** |
| 1 | Ознакомление с правилами работы в КДЛ изучение нормативных документов регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим КДЛ | 6 |
| 2  | Подготовка материала к микробиологическим исследованиям: прием, регистрация биоматериала. | 6 |
| 3 | *Организация рабочего места:*Приготовление питательных сред общеупотребительных, элективных, дифференциально-диагностических сред для выделения возбудителей воздушно-капельных инфекций и заболеваний передающихся половым путем. | 12 |
| 4 | *Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний*( воздушно-капельных, кишечных инфекций ) | 48 |
| 5 | *Иммунодиагностика:**РА, РП, РСК, РИФ, РСК, ПЦР.* | 12 |
| 6 | *Санитарно – бактериологическое исследование*воздуха, смывов. | 18 |
| 7 | *Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ:*Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. | 12 |
| 8 | Дифференцированный зачет  | 6 |
| **Итого** | **180**  |
| **Вид промежуточной аттестации** | Дифференцированный зачет |

# График прохождения практики.

**6 семестр**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Дата** | **Часы** | **оценка** | **Подпись руководителя.** |
| 1 | 03.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 2 | 04.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 3 | 05.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 4 | 07.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 5 | 08.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 6 | 09.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 7 | 10.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 8 | 11.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 9 | 12.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 10 | 14.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 11 | 15.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 12 | 16.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 13 | 17.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 14 | 18.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 15 | 19.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 16 | 21.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 17 | 22.06.2021 | 800-1400 |  |  |
| 18 | 23.06.2021 | Диф.зачёт |  |  |

# ИНСТРУКТАЖ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Производственную практику проходила на базе КГБУЗ «КМКБ Красноярская межрайонная клиническая больница№ 4» находящейся по адресу г. Красноярск, ул. Кутузова 71.

 Перед началом работы в бактериологической лаборатории необходимо ознакомиться с правилами техники безопасности.

**1. Общие требования безопасности**

К работе в микробиологической лаборатории допускаются врачи, средний и младший медицинский персонал в возрасте не моложе 18 лет, прошедшие специальную подготовку по охране труда, ознакомившиеся с инструктажами по техники безопасности и не имеющие противопоказаний по состоянию здоровья.

Сотрудники лаборатории обязаны соблюдать следующие правила:

1. Работать разрешается в специальной одежде – халате и шапочке. В боксе работают в стерильном халате, маске, шапочке, при необходимости надевают резиновые перчатки и очки. Обязательно меняют обувь.

2. Запрещается выходить за пределы лаборатории в халатах или надевать верхнюю одежду на халат.

 3. В лаборатории запрещается курить и принимать пищу.

 4. В случае попадания инфицированного материала на халат, руки, стол, обувь необходимо провести дезинфекцию и сообщить об этом заведующему лабораторией.

5. Зараженный материал обязательно уничтожают автоклавированием. Инструменты, а также поверхность рабочего стола после работы дезинфицируют.

6. Запрещается выносить из лаборатории оборудование, инвентарь, материалы без предварительной их дезинфекции.

7. Пипетки, предметные и покровные стекла и другую посуду, бывшую в употреблении, обеззараживают, погружая в дезинфицирующий раствор.

8. По окончании работы рабочее место приводят в порядок и тщательно дезинфицируют. Культуры микроорганизмов, необходимые для дальнейшей работы, убирают на хранение в холодильник.

9. Весь материал, поступающий в лабораторию на анализ, должен рассматриваться как инфицированный. Поэтому при распаковке материала необходимо соблюдать осторожность. Емкости следует обтирать снаружи дезинфицирующим раствором и ставить их на подносы или в кюветы.

**Требования безопасности во время работы:**

1. Распаковку материала, присланного в лабораторию для исследования, проводится с соблюдением мер предосторожности: банки и пробирки, содержавшие материал, обтирают дезинфицирующим растворам и ставят на металлический поднос или штатив.

2. Посев инфицированного материала в пробирки и чашки Петри проводят вблизи от огня горелки с обжиганием петли, пипетки, краёв пробирки.

 3. При работе со спиртовкой или его воспламеняющимися жидкостями необходимо иметь под рукой одеяло, плотную ткань и т,д для быстрого тушения огня в случае аварии.

4. Пипетировать химические реактивы ртом запрещено для этого нужно использовать резиновую грушу.

5. С целью контроля за загрязнённым воздухом в санитарно-гигиенических отделениях лабораторий следует периодически (не реже 1 раза в квартал и при подозрении) брать анализы на вредные вещества, в боксах бак. лабораторий – не менее раз в неделю на патогенные микроорганизмы.

**Требования безопасности по окончанию работы**

 1. По окончанию работы запрещается оставлять на рабочем столе нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с инфекционным материалом.

2. По окончанию работ персонал лаборатории обязан произвести дезинфекцию рабочего места и рук, бокса. В конце рабочего дня проводится влажная уборка всего помещения лаборатории. Полы моют с применением дезинфицирующих средств. Стены, двери, полы, подоконники, окна, шкафы и т. д дезинфицирующим раствором.

3. По окончанию рабочего дня термостаты, холодильники, шкафы или двери рабочей комнаты, где они находятся, необходимо пломбировать или запирать.

4. После окончания работы и уборки помещения облучают бактерицидными лампами.

Подпись общего руководителя \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Подпись студента \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Печать лечебного учреждения

**День 1 (03.06.21)
Ознакомление с правилами работы в бактериологической лаборатории.**

К работе в бактериологической лаборатории допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинский осмотр, инструктаж по охране труда и пожарной безопасности.

В лаборатории строго соблюдают ряд предосторожностей и поддерживают определенный режим. Работают в белых чистых халатах, шапочках или косынках. Пробирки и колбы с культурами микроорганизмов должны иметь четкие надписи чернилами по стеклу, емкости с реактивами и растворами — этикетки. Используемый спирт с эфиром (1:1) нельзя хранить вблизи горелки. При воспламенении ватных пробок на них не дуют, а вводят в пробирки, колбы или накрывают сверху полотенцем.

До и после работы тщательно моют и дезинфицируют поверхность стола, на котором проводится исследование микроорганизмов. Бактериальная масса не должна загрязнять руки, стол и окружающие предметы. Пролившуюся бактериальную взвесь обезвреживают, используя дезинфицирующие средства. Петли, пинцеты, скальпель, иглы прожигают в пламени горелки и ставят в специальный штатив. Посуду, загрязненную микроорганизмами, немедленно стерилизуют кипячением или автоклавированием, чтобы убить живые клетки, и только после этого ее можно мыть в резиновых перчатках.

Поверхность плотных сред с бактериями заливают дезинфицирующим раствором. Через сутки среды можно выбрасывать и мыть посуду. Использованные пипетки помещают в 3%-й раствор хлорамина, после чего моют и стерилизуют. Предметные и покровные стекла после работы помещают в дезинфицирующий раствор, затем тщательно моют в проточной воде.

При работе с бактерицидными лампами пользуются темными очками. Нельзя смотреть на свет лампы незащищенными глазами, так как это может привести к потере зрения. Строгого соблюдения правил предосторожности требует обращение с аппаратами, работающими под давлением, напряжением и при высокой температуре. Категорически запрещается выносить бактериальные культуры за пределы лаборатории.

*Изучение нормативных документов:*

Приказ от 22 апреля 1985г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

**День 2 (04.06.21)**

**Подготовка материала к микробиологическим исследованиям приём, регистрация и посев биоматериала**

**Требования к организации рабочего места.**

1. Лаборатория должна быть оснащена современной лабораторной мебелью, вытяжными шкафами. Для реактивов выделяют отдельные полки и шкафы.

2. Поверхность производственных столов для работы с биологическим материалом щёлочеустойчивого и индифферентного к действию дезинфектантов материала. Лабораторный стол следует содержать в порядке и чистоте.

3. Рабочее место должно быть хорошо освещено: недалеко от окон и иметь осветительные лампы.

4. Рабочий стол лаборатории должен быть приспособлен к условиям работы, оборудован водопроводными кранами и водостоком. Очень важно рационализировать свое рабочее место.

Около себя нужно иметь только самое необходимое, не создавая лишних запасов.

5. В начале работы одеть халат, чепчик. Вымыть руки и одеть перчатки, если на коже есть повреждения – заклеить их пластырем.

6. Подготовить реактивы и оборудование: Спиртовка, Бак.петля, штатив, чашки Петри, чистые пробирки, емкость с дез.раствором, плита для приготовления пит.среды, спирт, термостат, пинцет, черный маркер.

*Во второй день производила прием биологического материала и его регистрацию.*

**Правила приема биологического материала**

1. 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.

2. Произвести внешний осмотр бикса. Проверить, не вылился ли биологический материал. Провести наружную обработку бикса соответствующим дезинфектантом.

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

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

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

 6. 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.

 7. Снять перчатки и поместить их в контейнер для дезинфекции, а затем вымыть руки с мылом. Регистрация поступившего биологического материала производится в журналы регистрации. На направлении пишется индивидуальный номер и заносится в журнал.

**Регистрация результатов исследования**

Все получаемые результаты исследований отмечаются на бланке направления пациента, записываются в журналах регистрации или в электронной информационной базе «qMS».

Должны использоваться одни и те же формы (бланки результатов анализов) для регистрации полученных результатов.

Форма бланка должна содержать название лаборатории и медицинской организации; информацию о пациенте, достаточную для его идентификации; название биологического материала и всех исследуемых показателей; дату получения пробы и, если это необходимо, время получения; результаты исследования; Референтные интервалы; фамилию и подпись сотрудника, выполнившего исследование.

**Посевы на стерильность хирургического инструментария и перевязочного материала**

Посев исследуемого материала делают в две пробирки с тиогликолевой средой и в две пробирки с бульоном Сабуро. Посевы в тиогликолевой среде инкубируют в термостате при температуре 32,5±2,5℃, а в среде Сабуро - 22,5±2,5℃. Посевы выдерживают в термостате в течение 7 суток, просматривая их каждый. Материал считается стерильным при отсутствии роста во всех пробирках. Врач КДЛ просматривает каждые две пробирки данных сред на наличие роста в них в проходящем свете лампы. Затем фиксирует данные в журнал. Далее врач помещает посевы в термостат для последующей инкубации.

После этого проводят дезинфекцию рабочего стола, продезинфицировав перчатки и поместив их в ведро класса Б, моют руки по схеме и наносят на руки дезинфицирующее средство.

**День 3-6 (05-09.06.21)**

**Приготовление питательных сред общеупотребительных, элективных, дифференциально-диагностических.**

*Цели применения питательных сред:*

* Выделение м/о из организма больного или окружающей среды
* Накопление необходимого для исследования количества биомассы м/о
* Идентификация м/о по культуральным и биохимическим свойствам
* Хранение и транспортировка культур м/о

*Требования, предъявляемые к средам*

1. Быть питательными

2. Иметь оптимальную концентрацию водородных ионов – рН

3. Быть изотоничными – 0.9 % NaCl

4. Быть стерильными, так как посторонние микробы препятствуют росту изучаемого микроба

 5. Плотные среды должны быть влажными и иметь оптимальную для микроорганизмов консистенцию

 6. Желательно, чтобы среды были прозрачными - удобнее следить за ростом культур, легче заметить загрязнение среды посторонними микроорганизмами

*Этапы приготовления питательных сред:*

1. Расчет и взвешивание ингредиентов в соответствии с рецептурой

2. Варка питательных сред

 3. Розлив по пробиркам и чашкам Петри

4. Стерилизация

5. Контроль стерильности (в термостат на 2 суток при t 37 градусов)

*Классификация сред по консистенции*

* Жидкие – мясо-пептонный бульон МПБ, среды Гисса
* Полужидкие – (МПБ +1% агар-агара) – полужидкий агар
* Твердые или плотные (МПБ + 3-4% агара)- Мясопептонный агар МПА, среда ЭНДО, кровяной агар Классификация питательных сред по составу
* Простые – МПА, МПБ, пептонная вода
* Сложные – МПА или МПБ + дополнительные вещества – кровяной агар, сывороточный агар, сахарный агар и т.д.

**Приготовление общеупотребительных сред (МПА, МПБ)**

Их применяют для культивирования относительно неприхотливых микроорганиз­мов.

*Приготовление МПА:* к готовому бульону (до стерилизации или после нее) добавляют 2-3% измельченного агар-агара и кипятят, помешивая, на слабом огне до полного расплавления агара. МПА можно варить в автоклаве или аппарате Коха. Готовую среду, если нужно, осветляют, фильтруют и стерилизуют 20 мин при 120° С, разливают в стерильные чашки Петри и пробирки.

*Приготовление МПБ:* к мясной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% х. ч. натрия хлорида, кипятят на слабом огне 10-15 мин для растворения веществ, устанавливают нужный рН и снова кипятят 30-40 мин до выпадения осадка. Фильтруют, доливают до первоначального объема водой и стерилизуют 20 мин при 120° С, разливают в стерильные чашки Петри и пробирки.

**Приготовление среды Олькеницкого**

Среда предназначена для дифференциации энтеробактерий по способности сбраживать углеводы в присутствии индикатора и железосульфатного комплекса. Тифозная палочка разлагает глюкозу до кислоты (желтеет столбик агара), не ферментирует лактозу и сахарозу (цвет скошенной части не меняется), выделяет сероводород (почернение на границе столбика и скошенной части). Паратифозные бактерии ферментируют глюкозу до кислоты и газа (пожелтение и разрывы столбика агара).

**Элективная солевая среда (Агар)**

Среда предназначена для селективного выделения Staphylococcus aureus из клинических образцов. Микроорганизмы, сбраживающие манит, формируют на данной среде колонии желтого цвета. Высокая концентрация хлорида натрия ограничивает рост других бактерий.

**Агар Мюллера-Хинтон.**

Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам сухая.

**Среда Хью-Лейфсона**

Эту среду используют для определения ферментации углеводов (глюкозы) в аэробных и анаэробных условиях.

*Приготовление:*

Размешать 19,4 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть с частым помешиванием, прокипятить для полного растворения частиц. Разлить в две пробирки (для ферментации в аэробных и анаэробных условиях). Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°С) в течение 15 мин. Остудить пробирки в вертикальном положении.

**День 7-10 (10-14.06.21)**

**Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний**

**( воздушно-капельных, кишечных инфекций)**

**Микробиологическая диагностика стафилококка.**

Стафилококк относится к семейству Micrococcaceae, роду Staphylococcus, виду St. aureus, St. epidermidis, St. saprophyticus.

**Морфология:** стафилококки имеют вид круглых шаров диаметром 0,5-1,5 мкм. Размножаясь, образуют скопления в виде грозди винограда. Однако в гное встречаются единичные и парные кокки. Стафилококки неподвижны, не имеют спор, при специальных условиях культивирования образуют микрокапсулу, грамположительны.

**Культивирование:** стафилококки - факультативные анаэробы, однако лучше растут в присутствии кислорода. Растут и размножаются на обычных питательных средах, хорошо растут на средах с кровью, оптимальные условия - температура 37° С, рН 7,2-7,4.

Элективными средами являются желточно-солевой агар и солевой агар. На МПА колонии стафилококка выпуклые, круглые, непрозрачные, блестящие, размером 2-4 мм с ровными краями. При росте стафилококки образуют пигмент: золотистый, лимонно-желтый или белый. При росте некоторых штаммов стафилококка на агаре с кровью вокруг колонии образуется зона гемолиза. Рост на бульоне характеризуется равномерным помутнением и осадком на дне.

**Ферментативные свойства:** стафилококки вырабатывают сахаролитические и протеолитические ферменты. Сахаролитические ферменты расщепляют ряд сахаров: лактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу, глицерин и другие с образованием кислоты.

**Ферменты патогенности:** стафилококки продуцируют ферменты патогенности:

1) коагулазу (сворачивает плазму крови);

2) гиалуронидазу (фактор распространения);

3) лецитиназу (растворяет лецитин оболочки клеток);

4) фибринолизин (лизирует фибрин);

5) ДНКазу (деполимеризует ДНК).

Наличие плазмокоагулазы позволяет дифференцировать золотистый стафилококк от стафилококков других видов. Многие стафилококки вырабатывают пенициллиназу, разрушающую пенициллин.

**Методы исследования:**

микробиологический:

* микроскопический;
* бактериологический;
* серологический

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

**

Все посевы ставят в термостат на сутки.

*Второй день исследования:* посевы на плотных и жидких питательных средах вынимают из термостата и изучают. Подозрительные в отношении стафилококка колонии, выросшие на желточно-солевом агаре, отсевают на скошенный агар для получения и дальнейшего изучения чистой культуры. При этом учитывают наличие лецитиназы, которое проявляется в образовании радужного венчика вокруг колонии. Чашки с оставшимися колониями оставляют на 2-3 дня при комнатной температуре для выявления пигмента. Просматривают посевы на чашках с агаром, содержащим кровь. Колонии с четкой зоной гемолиза (просветление) вокруг них выделяют на скошенный агар. Посев крови в сахарном бульоне инкубируют 10 сут, производя через 2-3 дня высевы на агар с кровью и желточно-солевую среду. При отсутствии роста на плотных питательных средах делают высев из бульона с глюкозой на агар с кровью. Посевы ставят в термостат на сутки.

*Третий день исследования:* вынимают посевы из термостата. Из выделенных на скошенный агар культур делают мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют.

*Четвертый день исследования:* производят учет результатов (см таблицу 1).

Таблица 1 – Свойства золотистого стафилококка

**Микробиологическая диагностика стрептококка.**

Стрептококк относится к семейству Streptococcaceae, роду Streptococcus, виду Str. pyogenes, Str. pneumoniae (описание ниже), Str. viridans, Str. faecalis.

**Морфология:** стрептококки - это кокки, имеющие шаровидную форму. Диаметр каждого кокка в среднем 0,6-1 мкм, однако для них характерен полиморфизм: встречаются мелкие и крупные кокки, строго шаровидные и овальные. Стрептококки располагаются цепочкой. Длина цепочек разная. На плотной питательной среде цепочки обычно короткие, на жидких - длинные. Стрептококки неподвижны, не имеют спор. Свежевыделенные культуры иногда образуют капсулу. На ультратонких срезах видна микрокапсула, под ней расположена трехслойная клеточная стенка и трехслойная цитоплазматическая мембрана. Грамположительны.

**Культивирование:** стрептококки – факультативные анаэробы. Растут при температуре 37° С и рН среды 7,6-7,8. Оптимальными средами для их выращивания являются среды, содержащие кровь или сыворотку крови. На плотных питательных средах колонии стрептококков мелкие, плоские, мутные, сероватого цвета. Растут на кровяном агаре. На агаре с кровью некоторые разновидности стрептококков образуют гемолиз. Β-Гемолитические стрептококки образуют четкую зону гемолиза, α-гемолитические стрептококки образуют небольшую зеленоватую зону (результат перехода гемоглобина в метгемоглобин). Встречаются стрептококки, не дающие гемолиза.

На сахарном бульоне стрептококки растут с образованием пристеночного и придонного мелкозернистого осадка, бульон при этом остается прозрачным.

**Ферментативные свойства:** обладают сахаролитическими свойствами. Они расщепляют глюкозу, лактозу, сахарозу, маннит (не всегда) и мальтозу с образованием кислоты. Протеолитические свойства у них слабо выражены. Они свертывают молоко, желатин не разжижают.

**Ферменты патогенности:** гиалуронидаза, фибринолизин, дезоксирибонуклеаза.

Методы исследования:

микробиологический:

* микроскопический;
* бактериологический;
* серологический

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

**

*Второй день исследования:* вынимают чашки из термостата и просматривают. При наличии подозрительных колоний из части их делают мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. При обнаружении в мазке стрептококков часть оставшейся колонии пересевают в пробирки на агар с сывороткой для выделения чистой культуры и на бульон с кровью в пробирках. К концу дня 5-6-часовую культуру из бульона или агара пересевают на бульон Мартена с 0,25% глюкозы для определения серологической группы в реакции преципитации по Ленсфильд. Пробирки и флаконы помещают в термостат и оставляют до следующего дня.

*Третий день исследования:* вынимают посевы из термостата, проверяют чистоту культуры на скошенном агаре, делают мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. При наличии чистой культуры стрептококка производят посев на среды Гисса (лактозу, глюкозу, мальтозу, сахарозу и маннит), молоко, желатин, 40% желчь и ставят в термостат.

Просматривают бульон Мартена. При наличии специфического роста ставят реакцию преципитации по Ленсфильд для определения серологической группы.

*Четвертый день исследования:* производят учет результатов (см. таблицу 2).

Таблица 2 – Ферментативные свойства стрептококка

**Микробиологическая диагностика эшерихий**

Эшерихии относятся к семейству Enterobacteriaceae, роду Escherichia, виду E.coli.

**Морфология:** E. coli - короткие, в среднем 0,5-3,0 × 0,5-0,8 мкм палочки. Грамотрицательны. В большинстве случаев они подвижны, перитрихи. Однако некоторые варианты кишечной палочки неподвижны. Многие штаммы образуют капсулу. Спор не образуют.

**Культивирование:** факультативный анаэроб. Хорошо растет на простых питательных средах при 37° С и рН среды 7,2-7,8.

На МПА кишечная палочка образует мутноватые, слегка выпуклые влажные колонии с ровным краем. На МПБ дает равномерное помутнение. Культуры, имеющие капсулу, растут в виде слизистых колоний.

Для идентификации эшерихий используют дифференциально-диагностические среды: Эндо и агар с эозинметиленовым синим (ЭМС). На среде Эндо кишечная палочка растет в виде малиново-красных колоний с металлическим блеском или без него На среде ЭМС - в виде темно-фиолетовых колоний.

**Ферментативные свойства:** E. coli обладают значительной ферментативной активностью. Расщепляют лактозу, глюкозу, маннит, мальтозу, сахарозу и другие углеводы и спирты с образованием кислоты и газа. Протеолитические свойства: образуют индол. Желатин не расщепляют. Отдельные биовары не ферментируют лактозу и сахарозу

Таблица 3 – Ферментативные свойства эшерихий



**Токсинообразование:** обладают эндотоксином.

**Антигенная структура:** три типа антигена: О-антиген (более 170 групп), Н-антиген (50 типов), К-антиген (A, B, L, M).

**Материал для исследования:**

1. Испражнения.

2. Рвотные массы.

При необходимости исследует отделяемое из носа и зева, гной из уха, кровь, мочу, кусочки органов трупа.

Методы исследования:

микробиологический:

* микроскопический;
* серологический.
* бактериологический

**Микробиологическая диагностика сальмонелл**

Сальмонелла относится к семейству Enterobacteriaceae, роду Salmonella, виду S. typhi, S. paratyphi A, S. paratyphi B, S. typhymurium.

**Морфология:** все сальмонеллы мелкие, 1,0-3,0 × 0,6-0,8 мкм палочки с закругленными концами. Грамотрицательны. Подвижны, перитрихи. Спор и капсул не образуют.

**Культивирование:** факультативные анаэробы. Они не требовательны к питательным средам. Хорошо растут на МПА и МПБ при 37° С (от 20 до 40° С) и рН среды 7,2-7,4 (от 5,0 до 8,0). На МПА образуют нежные, полупрозрачные, слегка выпуклые, блестящие колонии, в МПБ - равномерное помутнение.

При первичном посеве материала от больных (кал, моча, рвотные массы, кровь, желчь) часто отмечают медленный рост сальмонелл. Для их накопления производят посев на среды обогащения: селенитовый бульон, среду Мюллера, среду Кауфмана. Используют также элективные (избирательные) среды: желчь (10-20%) и среду Раппопорт.

На дифференциально-диагностических средах Эндо, ЭМС, Плоскирева сальмонеллы растут в виде бесцветных колоний, так как не расщепляют лактозу, входящую в состав среды. На висмут-сульфитном агаре через 48 ч они образуют колонии черного цвета, оставляющие след после того, как их снимают петлей (кроме сальмонелл паратифа А) (см. рис. 24).

У свежевыделенных культур S. paratyphi В после инкубации в термостате в течение 18-20 ч и выдерживания при комнатной температуре в течение 1-2 сут на периферии колонии образуется слизистый вал.

**Ферментативные свойства:** сальмонеллы расщепляют глюкозу, маннит, мальтозу с образованием кислоты и газа. Исключением являются возбудители брюшного тифа (S. typhi), которые расщепляют эти сахара только до кислоты. Сальмонеллы не ферментируют лактозу и сахарозу.

**Антигенная структура:** О-антиген, Н-антиген.

**Токсигенность:** содержат эндотоксин-липополисахариднопротеиновый комплекс.

**Материал для исследования:** Кровь;Испражнения; Моча; Дуоденальное содержимое.

Методы исследования:

микробиологический*:*

* микроскопический;
* бактериологический;
* серологический.

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

Первый день исследования

**

*Второй день исследования:* вынимают чашки из термостата (инкубация 18-24 ч) и просматривают выросшие колонии невооруженным глазом и при помощи лупы. Несколько (5-6) подозрительных колоний выделяют на среду Олькеницкого или Рассела. Посев производят следующим образом: снятую колонию осторожно, не задевая края пробирки, вносят в конденсационную жидкость, затем штрихами засевают всю скошенную поверхность среды и делают укол в глубину столбика для выявления газообразования. Укол следует производить в центр агарового столбика.

Пробирки с посевами ставят в термостат. Если исследуемый материал был посеян на среду обогащения, то через 18-24 ч производят высев со среды обогащения на чашки с дифференциальными средами.

*Третий день исследования:* вынимают пробирки с посевами из термостата и просматривают характер роста.

В состав комбинированных сред входят лактоза, глюкоза, иногда мочевина и индикатор. Расщепление глюкозы происходит только в условиях анаэробиоза. Поэтому скошенная поверхность среды при расщеплении глюкозы не изменяется, а столбик окрашивается в цвет, соответствующий индикатору. Бактерии, расщепляющие лактозу и мочевину, изменяют цвет всей среды.

Если выделенные культуры сбраживают лактозу или расщепляют мочевину, меняя цвет всей среды, то они не являются сальмонеллами и можно дать отрицательный ответ.

Культуру, расщепляющую только глюкозу, подвергают дальнейшему изучению: делают мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют. При наличии в мазках грамотрицательных палочек изучают их подвижность и ферментативные свойства.

Подвижность можно определить в висячей капле или в раздавленной капле, а также по характеру роста в полужидкой среде Гисса или в 0,2% агаре. При наличии подвижности при посеве уколом рост на среде диффузный, среда мутнеет.

Для выявления ферментативной активности производят посев на среды Гисса, МПБ, пептонную воду. В пробирки с последними средами опускают (под пробку) индикаторные бумажки для определения индола и сероводорода. Делают также посев на лакмусовое молоко.

*Четвертый день исследования:* учитывают биохимическую активность по результату ферментации углеводных и других сред (см. табл. 4).

Таблица – 4 Ферментативные свойства сальмонелл

**

**Микробиологическая диагностика шигелл**

Шигеллы относятся к семейству Enterobacteriaceae, роду Shigella, виду Sh. dysenteriae, Sh.flexneri, Sh. boydii, Sh. sonnei.

**Морфология:** шигеллы - это небольшие (2-3 × 0,4-0,6 мкм) палочки с закругленными концами. Отличаются от остальных представителей семейства Enterobacteriaceae отсутствием жгутиков. Они не имеют спор и капсул. Грамотрицательны.

**Культивирование:** факультативные анаэробы. Неприхотливы к питательным средам. Размножаются на МПА и МПБ при температуре 37° С и рН 7,2-7,4. Элективными и дифференциально-диагностическими средами для них являются среды Плоскирева, Эндо, ЭМС. Растут в виде небольших, полупрозрачных, сероватых, круглых колоний, размером 15-2 мм в S-форме. Исключением являются шигеллы Зонне, которые часто диссоциируют, образуя крупные, плоские, мутные, с изрезанными краями колонии R-формы. В жидких питательных средах шигеллы дают равномерную муть, R-формы образуют осадок.

**Ферментативные свойства:** Ферментативные свойства шигелл менее выражены, чем у других представителей Enterobacteriaceae: они расщепляют углеводы без газообразования, не расщепляют лактозу и сахарозу. Исключением являются шигеллы Зонне, которые на 2-3-й сутки расщепляют эти углеводы.

Протеолитические свойства у шигелл мало выражены - образование индола и сероводорода непостоянно, молоко они свертывают, желатин не разжижают.

По отношению к манниту все шигеллы делятся на расщепляющие и нерасщепляющие маннит (см. табл. 11). В настоящее время шигеллы Зонне делят на четыре ферментативные типа. Различаются они по способности расщеплять рамнозу и ксилозу (см. табл. 5).

**Таблица 5- Ферментативные свойства шигелл

**Токсигенность:** обладают эндотоксином. Исключением являются шигеллы Шиги, которые помимо эндотоксина выделяют экзотоксин, оказывающий нейротоксическое действие.

**Антигенная структура:** шигеллы содержат соматические антигены, к которым относятся групповые и типовые антигены. По Международной классификации шигеллы подразделяют на четыре группы, обозначаемые латинскими большими буквами А, В, С, D.

**Материал для исследования:**

1. Испражнения;

2. Секционный материал;

3. Пищевые продукты.

Методы исследования:

микробиологический*:*

* микроскопический;
* бактериологический;
* серологический.

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

**

*Второй день исследования:* засеянные чашки вынимают из термостата, просматривают невооруженным глазом или через лупу. Подозрительные колонии (бесцветные) в количестве 4-6 отсевают на среду Рассела и маннит. Посев производят штрихами по скошенной поверхности и уколом в агаровый столбик. Засеянную среду Рассела помещают в термостат на 18-24 ч (параллельно делают пересев из селенитовой среды на дифференциальные среды).

*Третий день исследования:* вынимают посевы, сделанные на среду Рассела, из термостата. Культуры, не расщепившие лактозу, подвергают дальнейшему изучению: делают мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. При наличии грамотрицательных палочек производят посев на среды Гисса, бульон с индикаторными бумажками (для выявления индола и сероводорода) и на лакмусовое молоко. Засеянные среды ставят в термостат на 18-24 ч.

*Четвертый день исследования:* вынимают посевы из термостата и учитывают результат.

**Микробиологическая диагностика синегнойной палочки**

Синегнойная палочка относится к семейству Pseudomonadoceae, роду Pseudomonas, виду Pseudomonas aeruginosa.

**Морфология:** мелкие грамотрицательные палочки. Средний размер 1,5-3,0 × 0,5-0,8 мкм. Подвижны, лофотрихи. Спор не образуют. Иногда образуют капсулоподобную внеклеточную слизь.

**Культивирование:** строгие аэробы. Хорошо растут на простых питательных средах. Оптимальная температура роста 37° С, но могут расти и при 5-42° С. На МПА образуют колонии размером 2-5 мм, круглые, полупрозрачные, голубовато-серые с перламутровым оттенком; на МПБ дают помутнение и образуют пленку.

Характерным признаком P. aeruginosa является пигменто- и ароматообразование. Большинство штаммов образует сине-зеленый пигмент - пиоцианин, окрашивающий питательную среду. Пиоцианин растворим в воде. Он обладает антагонистическими свойствами в отношении многих бактерий, но токсичен и поэтому не используется с лечебной целью. Почти все штаммы P. aeruginosa имеют характерный запах жасмина.

**Ферментативные свойства:** ферментирует только один углевод - глюкозу. Протеолитическая активность хорошо выражена: разжижает желатин и свернутую сыворотку, свертывает молоко. Дает положительную реакцию на цитохромоксидазу.

**Антигенная структура:** обладает О- и Н-антигенами.

**Токсинообразование:** образует токсины, обладающие гемолитическим и цитотоксическим действием и лейкоцидин, лизирующий лейкоциты человека. Имеет эндотоксин.

Методы исследования:

микробиологический:

* микроскопический;
* бактериологический;
* серологический.

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

**

*Второй день исследования:* просматривают чашки и пробирки с посевами. Отбирают чашки, в которых среда окрашена в синевато-зеленоватый цвет и имеет запах жасмина (земляничного мыла). Дают ориентировочный ответ: "Выделена культура P. aeruginosa".

Выделяют колонии на пробирки с лактозой и на пробирки со скошенным агаром. Заливают вазелиновым маслом (создают анаэробные условия).

Если на чашках нет роста или сомнительный результат, отбирают пробирки с бульоном с признаками роста и высевают на чашки с питательным агаром. Просматривают флаконы, при наличии признаков роста делают высев на чашки с питательным агаром.

*Третий день исследования:* отбирают пробирки, в которых лактоза не расщеплена. Из культуры в пробирке со скошенным агаром делают мазок, окрашивают по Граму - наличие грамотрицательных палочек подтверждает выделение P. aeruginosa. Ставят пробу на цитохромоксидазу. Проба должна быть положительной.

По совокупности всех признаков: наличие сине-зеленого пигмента, запах жасмина, грамотрицательные палочки, отсутствие расщепления лактозы в анаэробных условиях, положительная проба на цитохромоксидазу выдают ответ: "Выделена культура P. aeruginosa".

**Микробиологическая диагностика протея**

Протей относится к семейству Enterobacteriaceae, роду Proteus, виду Pr. vulgaris, Pr. mirabilis, Pr. morganii, Pr. rettgeri.

**Морфология:** бактерии всех видов этого рода мелкие, полиморфные грамотрицательные палочки. Средний размер 0,4-0,6 × 1,0-3,0 мкм. Подвижны, перитрихи. Спор и капсул не образуют.

**Культивирование:** факультативные анаэробы, хорошо растут на простых питательных средах при 20-37° С. Некоторые виды дают ползучий рост на плотной питательной среде, а при посеве в конденсационную воду скошенного агара - рост по всей поверхности среды (способ выделения чистой культуры по Шукевичу). (см. рис. 30)

**Ферментативные свойства:** обладают сахаролитическими и протеолитическими ферментами.

Методы исследования:

микробиологический:

* микроскопический;
* бактериологический;
* серологический.

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

**

*Второй день исследования:* отмечают характер роста на питательных средах (роение - вуалеобразный налет).

Выделяют отдельные колонии или часть сплошного роста на комбинированную среду Рассела (с мочевиной) или среду Олькеницкого, делают посев в конденсационную воду пробирки со скошенным агаром (по Шукевичу).

*Третий день исследования:* делают мазок и окрашивают его по Граму. При наличии грамотрицательных мелких палочек учитывают характер роста на среде Рассела или Олькеницкого и наличие роста в пробирке с посевом по Шукевичу. Протей не ферментирует лактозу, сбраживает глюкозу с образованием газа, большей частью гидролизует мочевину.

В пробе по Шукевичу - рост по всей поверхности скошенного агара.

*Четвертый день исследования:* учитывают результаты посева: протей не ферментирует маннит (большинство штаммов), образует индол и сероводород, подвижен, разжижает желатин и образует фермент фенилаланиндезаминазу, изменяющую цвет в пробирке с аминокислотой фенилаланином. При указанных результатах можно отнести выделенную культуру к роду Proteus.

**Микробиологическая диагностика Клебсиеллы**

Они относятся к семейству Enterobacteriaceae, роду Klebsiella, виду Kl. pneumoniae, Kl. rinoscleromatis, Kl. ozaenae.

**Морфология:** клебсиеллы - короткие толстые палочки, размером 0,6-6,0 × 0,3-1,5 мкм с закругленными концами. Неподвижны. Образуют капсулу. В мазках располагаются одиночно, попарно или короткими цепочками.

**Культивирование:** факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах при 35-37° С. На плотных средах образуют куполообразные слизистые колонии, на бульоне - интенсивное помутнение.

**Ферментативные свойства:** ферментируют лактозу, расщепляют глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа, разлагают мочевину, не образуют индола и сероводорода.

**Антигенная структура:** содержат капсульные К и соматические О-антигены. Сочетание этих антигенов обусловливает принадлежность культур к определенным сероварам. В настоящее время известно 80 К- и 11 О-антигенов.

**Токсинообразование:** эндотоксин. Вирулентность их зависит от наличия капсулы - бескапсульные формы менее вирулентны.

**Материал для исследования:**

1. Мокрота;

2. Слизь из зева, гной из уха, отделяемое раны;

3. Испражнения;

4. Смывы с предметов окружающей среды.

Методы исследования:

микробиологический:

* микроскопический;
* серологический.

**Ход исследования**

*Первый день исследования:*

**

*Второй день исследования:* делают мазки, окрашивают по Граму. При наличии грамотрицательных палочек отбирают слизистые колонии (4-5) и пересевают их на скошенный агар и среду Ворфель - Фергюсона (для выделения чистой культуры) и на комбинированную среду Рассела (или среду с мочевиной) для определения ферментативных свойств и подвижности. В пробирку под пробку опускают полоски бумаги, пропитанные реактивами для определения индолообразования и сероводорода.

Делают высев из глюкозного агара на плотные питательные среды для проведения (если понадобится) дополнительного исследования.

*Третий день исследования:* при росте неподвижной культуры, ферментирующей лактозу, глюкозу, мочевину, не образующей индола и сероводорода, делают посев на среды с цитратом и малонатом и мазки для определения наличия капсулы. При наличии капсулы ставят реакцию агглютинации на стекле с агглютинирующими К-сыворотками. Просматривают дополнительный посев на плотные питательные среды. Можно выдать ориентировочный ответ: "Выделены клебсиеллы".

*Четвертый день исследования:* производят учет результатов посева на среду с цитратом, малонатом (рост) и другими углеводами (типа Рассела или Олькеницкого).

**День 11-12 (15-16.06.21)**

**Постановка антибиограммы**

Записала в журнал лабораторных исследований готовые результаты Затем внесла результаты в базу.

1. Достала посевы из термостата (Отделяемое женских половых органов, моча, антибиограммы).
2. Проводила учет определения чувствительности антимикробным препаратам.
3. Училась делать посевы для определения чувствительности микроорганизмов.

Выполняла методику исследования чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам

Сначала готовят микробную взвесь, на специальном приборе определяется концентрацию, если она соответствует, то тогда производят посев на чашку Петри газоном и в течении 15 минут раскладывают антибиотики.

В одноразовых пластиковых картриджах содержатся определенные антибиотики, их вставляют в специальный прибор- Диспенсер, этот прибор ставят на открытую чашку и сильным нажатием диски раскладываются на чашку.

**День 13-15 (17-19.06.21)**

**Иммунодиагностика: РА, РП, РСК, РИФ**

**Реакция агглютинации (РА)** - это склеивание и выпадение в осадок микробов или других клеток под действием антител в присутствии электролита (изотонического раствора натрия хлорида). Образовавшийся осадок называют агглютинатом.

Варианты: развернутая, ориентировочная, непрямая и др. Образуются хлопья или осадок (клетки, склеенные антителами, имеют 2 или более антигенсвязывающих центра).

**РА** используют для:

1) определения антител в сыворотке крови больного, например, при бруцеллезе (р.Райта, Хеддельсона), брюшном тифе и паратифах (р.Видаля) и др.

 Для реакции необходимы:

1. Антитела (агглютинины) – находятся в сыворотке больного или в иммунной сыворотке;

2. Антиген – взвесь живых или убитых микроорганизмов, эритроцитов или других клеток;

3. Изотонический раствор.

*Постановка реакции.* Существует два метода проведения этой реакции:

1) реакция агглютинации на стекле(иногда ее называют ориентировочной)**;**

2)развернутая реакция агглютинации(в пробирках).

**Реакция преципитации (РП)**

В реакции преципитации происходит выпадение в осадок специфического иммунного комплекса, состоящего из растворимого антигена (лизата, экстракта, гаптена) и специфического антитела в присутствии электролитов.

Образующееся в результате этой реакции мутное кольцо или осадок называют преципитатом. От реакции агглютинации эта реакция в основном отличается размером частиц антигена.

Реакцию преципитации обычно применяют для определения антигена при диагностике ряда инфекций (сибирская язва, менингит и др).

 Для реакции необходимы:

1. Антитела (преципитины) – иммунная сыворотка с высоким титром антител (не ниже 1:100000). Титр преципитирующей сыворотки устанавливают по наибольшему разведению антигена, с которым она дает реакцию. Сыворотку обычно применяют неразведенной или в разведении 1:5 – 1:10;

2. Антиген – растворенные вещества белковой или липоиднополисахаридной природы (полные антигены и гаптены);

3. Изотонический раствор.

Основные методы проведения реакции преципитации: реакция кольцепреципитации и реакция преципитации в агаре (геле).

**Реакция кольцепреципитации.** В преципитационную пробирку с помощью пастеровской пипетки вносят 0,2 – 0,3 мл (5-6 капель) сыворотки (сыворотка не должна попадать на стенки пробирки). На сыворотку осторожно наслаивают антиген в таком же объеме, наливая его тонкой пастеровской пипеткой по стенке пробирки. Пробирку при этом держат в наклонном положении. При правильном наслаивании между сывороткой и антигеном должна получиться четкая граница. Осторожно, чтобы не перемешать жидкости, пробирку ставят в штатив. При положительном результате реакции на границе антигена и антитела образуется мутное "кольцо" – преципитат.

 **Реакция преципитации в агаре (геле).** Особенность реакции в том, что взаимодействие антигена и антитела происходит в плотной среде, т. е. в геле. Образующийся преципитат дает в толще среды мутную полосу. Отсутствие полосы свидетельствует о несоответствии компонентов реакции. Эту реакцию широко применяют при медико-биологических исследованиях, в частности при изучении токсин образования у возбудителя дифтерии.

**Реакция связывания комплемента**

Реакция связывания комплемента (РСК) - широко используют для лабораторной диагностики венерических болезней, риккетсиозов, вирусных инфекций. Реакция протекает в две фазы. Первая фаза - взаимодействие антигена и антител при обязательном участии комплемента. Вторая - выявление результатов реакции при помощи индикаторной гемолитической системы (эритроциты барана и гемолитическая сыворотка). Разрушение эритроцитов гемолитической сывороткой происходит только в случае присоединения комплемента к гемолитической системе. Если же комплемент адсорбировался ранее на комплексе антиген-антитело, то гемолиз эритроцитов не наступает.

При наличии в исследуемой сыворотке антител, комплементарных антигену, образующийся комплекс антиген-антитело связывает (адсорбирует) на себе комплемент. При добавлении гемолитической системы гемолиза не происходит (задержка гемолиза), т.к. весь комплемент израсходован на специфическую связь комплекса антиген-антитело, а эритроциты остались неизменными.

При отсутствии в сыворотке антител, комплементарных антигену, специфический комплекс антиген-антитело не образуется и комплемент остается не связанным. Поэтому при добавлении гемолитической системы комплемент присоединяется к ней. Результатом реакции в данном случае будет гемолиз эритроцитов - в пробирках образуется так называемая «лаковая» кровь.

**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ).**

В реакции иммунофлюоресценции (РИФ) используют люминесцентную микроскопию для серологических исследований. Реакция основана на том, что иммунные сыворотки, к которым химическим путем присоединены флюорохромы, при взаимодействии с соответствующими антигенами образуют специфический светящийся комплекс, видимый в люминесцентном микроскопе. Такие сыворотки называются люминесцирующими.

Различают три разновидности метода: прямой, непрямой, с комплементом. РИФ является методом экспресс диагностики для выявления антигенов микробов или определения антител.

**День 16 (21.06.21)**

**Санитарно-бактериологическое исследование воздуха**

Воздух не является благоприятной средой для развития микроорганизмов, так как не содержит питательных веществ и находится в постоянном движении. Поэтому большинство микроорганизмов быстро исчезают из воздуха. Однако некоторые из них более устойчивые, например туберкулезная палочка, споры клостридий, грибов и другие, могут длительно сохраняться в воздухе.

При санитарно-бактериологическом исследовании определяют:

1. Общее количество бактерий в 1 м3 воздуха.

2. Наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в 1 м3 воздуха.

**Методы отбора проб воздуха**

Существуют два основных способа отбора проб воздуха для исследования:

1) седиментационный - основан на механическом оседании микроорганизмов;

 2) аспирационный - основан на активном просасывании воздуха (этот метод дает возможность определить не только качественное, но и количественное содержание бактерий).

**Седиментационный метод**

Чашки Петри с питательной средой (МПА) устанавливают в открытом виде горизонтально, на разном уровне от пола. Метод основан на механическом оседании бактерий на поверхность агара в чашках Петри. Чашки со средой экспонируют от 10 до 20 мин, в зависимости от предполагаемого загрязнения воздуха. Для выявления патогенной флоры используют элективные среды. Экспозиция в этих случаях удлиняется до 2-3 ч. После экспозиции чашки закрывают, доставляют в лабораторию и ставят в термостат на 24 ч при температуре 37° С. На следующий день изучают выросшие колонии. Метод этот используют в основном в закрытых помещениях.

**Аспирационный метод**

**Бактериоуловитель Речменского.** Перед работой прибор заполняют стерильной содой. Действие прибора основано на протягивании через него воздуха с помощью аспиратора

Первый день исследования

Отобранные пробы помещают в термостат при 37° С на 18-24 ч.

Второй день исследования

Чашку вынимают из термостата и производят подсчет колоний. Бактериальное загрязнение воздуха выражается общим числом микробов в 1 м3 его.

Для определения золотистого стафилококка забор производят на желточно-солевой агар. Чашки с посевами инкубируют в термостате при 37° С в течение 24 ч и 24 ч выдерживают при комнатной температуре для выявления пигмента. Колонии, подозрительные на S. aureus, подлежат дальнейшей идентификации.

**Санитарно-бактериологическое исследование смывов.**

Для оценки санитарно-гигиенического состояния предприятий общественного питания, предприятий пищевой промышленности, лечебно-профилактических и детских учреждений проводят исследование смывов с рук персонала и предметов окружающей обстановки.

В зависимости от цели исследования определяют:

1. Наличие БГКП.

2. Наличие S. aureus.

3. Общее количество бактерий.

**Отбор проб**. Взятие проб осуществляют методом смывов. Используют ватные тампоны (палочка с намотанной на нее ватой вставлена в пробирку) или салфетки 5×5 см, которые захватывают стерильным пинцетом. Тампоны и салфетки увлажняют, помещая их в пробирки с 2 мл изотонического раствора натрия хлорида.

**Примечание.** Марлевые салфетки, предварительно завернутые по одной в бумажные пакетики, и ватные тампоны, помещенные в пробирки, стерилизуют в стерилизационном шкафу 1 ч при 160° С.

*Смывы с рук* делают в следующей последовательности: начинают с левой руки, с участков меньшей загрязненности - протирают тыльную сторону руки от кисти к пальцам, затем ладонную сторону, между пальцами и под ногтевым ложем. Этим же тампоном в такой же последовательности производят смывы с правой руки.

*Смывы с предметов обихода* при контроле больших поверхностей делают из нескольких мест. Исследуемые участки ограничивают рамкой трафарета площадью 50×50 или 100×100 см2. Трафарет изготовляют из проволоки и перед употреблением прожигают над пламенем горелки.

**Примечание.** Смывы, как правило, берут с чистых, подготовленных к работе предметов, а с бывших в употреблении - только по эпидпоказаниям.

**Исследование на БГКП**

*Первый день исследования*

Взятые смывы засевают на среду Кода. При росте кишечной палочки среда изменяет цвет. При изменении цвета среды исследуемый материал пересевают на среду Эндо.

*Второй день исследования*

Изучают колонии на среде Эндо. Из подозрительных колоний делают мазки и микроскопируют. Дальше исследование ведут по обычной схеме.

**Выявление S. aureus**

Полученные смывы засевают на желточно-солевой агар в чашке Петри и параллельно на 6,5% солевой бульон (среда накопления). На желточно-солевой агар можно сделать посев тампоном. Бульон предварительно разливают в пробирки по 5 мл и в каждую засевают 0,2-0,3 мл смыва. Посевы инкубируют при 37° С в течение 24 ч. Дальше исследование ведут по общепринятой методике.

**Определение общего числа бактерий**

*Первый день исследования*

К 2 мл взятых смывов прибавляют 8 мл изотонического раствора натрия хлорида. Получается разведение 1:5. Тампоны тщательно отмывают встряхиванием. 1 мл засевают в чашку Петри и заливают 12 мл расплавленного и остуженного до 45°С агара. Чашки инкубируют в термостате при 37° С 24 ч.

*Второй день исследования*

Посевы вынимают из термостата, подсчитывают количество выросших колоний и делают пересчет на 1 см2 исследуемой поверхности.

**День 17 (22.06.21)**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.**

**Утилизация**

Утилизацияотработанного материала проводится по требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Согласно классификации, медицинские отходы делятся на 5 классов:

* класс А (неопасные) – отходы, не имеющие контакта с зараженными или условно зараженными ПБА I-IV групп патогенности (различная макулатура, упаковочный материал, негодная мебель, строительный мусор и др.);
* класс Б (опасные) – инфицированные и потенциально инфицированные отходы.
* Материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями. Патолого-анатомические отходы. Органические операционные отходы (органы, ткани и так далее);
* класс В (чрезвычайно опасные) – материалы, контактировавшие с больными инфекционными болезнями, которые могут привести к возникновению чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения и требуют проведения мероприятий по санитарной охране территории.
* класс Г – просроченные медицинские и иммунобиологические препараты, питательные среды с истекшим сроком годности, химические реактивы, ртутьсодержащие предметы, приборы, оборудование.

* В бактериологической лаборатории утилизируют отходы класса А (неопасные отходы, не контактировавшие с больными - белый пакет или другого цвета, кроме желтого и красного) и отходы класса Б (опасные отходы с возможным инфицированием - желтый пакет). Отходы следует наполнять в пакеты не более ¾ по объему. Контейнеры маркируют надписью класса отходов, пакеты – надписью класса отходов, наименованием медицинского учреждения, отделением, ответственным лицом и датой сбора.

**Дезинфекция**

Дезинфекция– уничтожение патогенных микробов в окружающей человека среде.

При выполнении различных видов дезинфекции применяют механические, физические и химические способы и средства. К первым относятся мытье рук с мылом и щеткой, влажная уборка помещений, стирка белья, проветривание помещений. Физические способы: кипячение, сжигание, обработка паром (текучим и под давлением) с использованием автоклава, приводят к уничтожению патогенных микробов. Применение химических дезинфицирующих средств целесообразно сочетать с механическими способами и действием физических факторов.

Средства защиты. Спецодежда у персонала из хлопчатобумажного материала, обувь из кожзама, для дальнейшей их обработки. Загрязнённые перчатки промывают водой с мылом, затем промывают Индисепт Изо и утилизируют в контейнер с дез. раствором. В случае загрязнения медицинскую одежду замачивают в дез. растворе. Перчатки после работы или по мере загрязнения снимают при помощи тампона, смоченного в спирте и замачиваем в дез.растворе и потом утилизируем. Средства индивидуальной защиты остаются в лаборатории и их обеззараживание происходит тут же.

**Стерилизация**

Стерилизация – обработка объектов, при которой достигается полное уничтожение всех микроорганизмов. В результате стерилизации объект становится свободным, как от патогенных, так и от сапрофитных микробов. Существуют различные методы и способы стерилизации, в основе которых лежит действие физических или химических факторов. Критерием гибели микроорганизмов является необратимая утрата способности к размножению, что можно оценить путем количественного подсчета числа колоний после высева смывов на чашки с питательными средами.

Стерилизацию производят различными способами:

1) Физический (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, использование бактериальных фильтров);

2) Химический (использование различных дезинфектантов, антисептиков);

3) Биологический (применение антибиотиков).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Способы стерилизации с помощью высокой температуры

1. Фломбирование

Эта стерилизация представляет собой прокаливание на пламени спиртовки. С помощью этого метода можно простерилизовать иглы и петли для посева, пинцет и др. Петлю или иглу поднести к пламени и держать до тех пор, пока она не покраснеет, после этого инструмент считается стерильным.

2. Стерилизация паром под давлением (автоклавирование).

При этой стерилизации происходит полное уничтожение спор, при температуре 120 градусов.

3. Дробная стерилизация. Это повторное кипячение через 24 часа.

4. Стерилизация сухим паром в сухожаровом шкафу.

Температура 160 градусов, стерилизация должна длиться 2 часа.

Лабораторную посуду стерилизуют:

а) Сухим жаром при температуре 180°С и 160°С соответственно 1 ч и 150 минут.

б) В автоклаве при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

 Стерилизация металлических инструментов. Металлические инструменты (ножницы, скальпели, пинцеты и пр.) стерилизуют в 2% растворе гидрокарбоната натрия, который предупреждает появление ржавчины и потерю остроты. Лезвия скальпелей и ножниц перед погружением в раствор рекомендуется обертывать ватой.

# Лист лабораторных исследований.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Исследования. |  | итог |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ.  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Изучение культуральных, морфологических св-в  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитичес кой активности |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Антибиограмма: диско-диффузный метод определения чувствительности бактерий к антибиотикам |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Серодиагностика РА; РП; РСК; РИФ; РНГА |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  Участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Санитарная микробиология исследование воздуха |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  Санитарная микробиология исследование смывов с рук и объектов окружающей среды |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

# Отчет по производственной практике

Ф.И.О. обучающегося Усупбаевой Айтурган Ыманалиевны

группы\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_307\_\_\_\_\_\_\_ специальности Лабораторная диагностика

Проходившего (ей) производственную (преддипломную) практику

с 03.06.21 по 23.06.21 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | Виды работ 6 семестр | **Количество** |
| 1. | - изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ: |  |
| 2. | - прием, маркировка, регистрация биоматериала. |  |
| 3. | Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ.  |  |
| 4. | Изучение культуральных, морфологических свойств исследуемой культуры. |  |
| 5 | Изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитической активности исследуемой культуры. |  |
| 6 | Серодиагностика РА |  |
| 7 | Антибиограмма: диско-диффузный метод определения чувствительности бактерий к антибиотикам |  |
| 8 | РП |  |
| 9 | РСК |  |
| 10 | РИФ |  |
| 11 | РНГА |  |
| 12 | Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; |  |
| 13 |  участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований |  |
| 14 | Санитарная микробиология исследование воздуха |  |
| 15 |  Санитарная микробиология исследование смывов с рук и объектов окружающей среды |  |

# Текстовой отчет

|  |
| --- |
| 1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики:
 |
| - Изучение нормативных документов; |
| - Прием, маркировка, регистрация и забор биоматериала; |
| - Организация рабочего места для проведении исследований; |
|  |
| 1. Самостоятельная работа:
 |
| - прием, маркировка, регистрация биоматериала;  |
| - приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ; |
| - изучение культуральных, морфологических свойств исследуемой культуры; |
| - изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитической активности исследуемой культуры; |
| - утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; |
| 1. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей:
 |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Замечания и предложения по прохождению практики нет. В ходе практики мною были хорошо усвоены и закреплены знания по дисциплине «Теория и практика микробиологических и иммунологических исследований»
 |
|  |

Общий руководитель практики **\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_** \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

*(подпись) (ФИО)*

М.П.организации

# Характеристика

**Усупбаевой Айтурган Ыманалиевны**

*ФИО*

обучающийся (ая) на \_3\_\_курсе по специальности СПО **060604Лабораторная диагностика**

успешно прошел (ла) производственную практику по профессиональному модулю: **Проведение лабораторных микробиологических исследований**

МДК **Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований**

в объеме 108 часов с «03»июня 2021г. по «23» июня 2021г.

в организации КГБУЗ Красноярская межрайонная клиническая больница № 4

*наименование организации, юридический адрес*

За время прохождения практики:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № ОК/ПК | Критерии оценки  | Баллы0-2 |
| ПК 4.1, ОК13, ОК 12,  | - Работа с нормативными документами и приказами. |  |
| ПК 4.1, ПК4.2, ОК1, 9 | - Организация рабочего места для проведения микробиологических исследований. |  |
| ПК 41 ,ОК13, ОК 12 | - Прием, регистрация биоматериала. |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,ОК13, ОК 12 | - Прием, регистрация биоматериала. |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,ОК13, ОК 12 | Приготовление общеупотребительных питательных сред, приготовление дифференциально - диагностических сред |  |
| ПК4.2, ОК1,2, 3, 6, 7, 8 | Техника посевов |  |
| ПК 4.1, ПК4.2, ОК1, 6, 9 | Изучение культуральных свойств м/о |  |
| ПК 4.1, ПК4.2, ПО, ОК1, 6, 9 | Изучение биохимических свойств м/о |  |
| ПК 4.2, | Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований биологических материалов, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов; участвовать в контроле качества |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,ОК13, ОК 11, 12 | - Регистрация результатов исследования. |  |
| ПК 4.1, ПК 4.4,ОК13, ОК 11, 12 | Проведение утилизации отработанного материала, дезинфекции и стерилизации использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. |  |

«\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_20\_\_ г.

Подпись непосредственного руководителя практики

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_/ФИО, должность

Подпись общего руководителя практики

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_/ФИО, должность

 м.п.

**Аттестационный лист производственной практики**

Студент (Фамилия И.О.) Усупбаевой Айтурган Ыманалиевны

Обучающийся на курсе по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика»

при прохождении производственной практики по

ПМ 04 Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований

МДК 04.01 Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований

с 03.06. 2021г. по 23.06. 2021г. в объеме 108 часов

в организации\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

освоил общие компетенции ОК 1 – ОК 14

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 освоил профессиональные компетенции ПК 4.1, ПК 4.2,ПК 4.3, ПК4.4

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № п/п | Этапы аттестации производственной практики | Оценка  |
|  | Оценка общего руководителя производственной практики |  |
|  | Дневник практики |  |
|  | Индивидуальное задание  |  |
|  | Дифференцированный зачет |  |
|  | **Итоговая оценка по производственной практике** |  |

Дата \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Ф.И.О. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(подпись общего руководителя производственной практики от организации)

МП организации

Дата методический руководитель \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Ф.И.О.\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 (подпись)

МП учебного отдела