

02.03.2020 День 1

Я ознакомилась с инструктажем по технике безопасности в бактериологической лаборатории «КГБУЗ Краевая клиническая больница».

Инструктаж СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней».

Общие требования

1. Работу с ПБА III-IV групп могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием.

2. При приеме на работу, связанную с использованием ПБА III-IV групп, персонал должен проходить предварительный медицинский осмотр.

3. Все сотрудники бактериологической лаборатории, привлекаемые к работам с ПБА III-IV групп, должны проходить периодические медицинские осмотры, в соответствии с нормативными документами.

4. У сотрудников лабораторий, проходящих ПЦР исследование исследования на гепатиты В и С, ежегодно проводятся контрольные исследования на наличие соответствующих антигенов (антител) в сыворотке крови.

5. Сотрудники, работающие с кровью (сывороткой, плазмой крови), должны быть иммунизированы против вирусных гепатитов.

6. В случае появления у сотрудника симптомов, характерных для инфекционного заболевания, сотрудник должен ставить об этом в известность заведующего бактериологической лабораторией.

7. Все жидкые отходы, образующиеся в процессе работы в «заразной» зоне, подлежат обязательному химическому или термическому обеззараживанию.

Требования к проведению работ в лаборатории

1. Доставка в лабораторию материала осуществляется в контейнерах, биксах или в сумках-холодильниках.

2. Прием и разработка доставляемого материала (проб) на все виды исследований должна проводиться с соблюдением мер предосторожности.

3. Первичная обработка материала на ПЦР исследования должна проводиться только в комнате приема БМ.

4. При пипетировании необходимо пользоваться только резиновыми грушами или автоматическими устройствами.

5. Бактериологическая петля должна быть замкнута в непрерывное кольцо и иметь плечо длиной не более 6 см.

6. Хранение ПБА, их учет, передача, транспортирование и уничтожение проводится в соответствии с требованиями действующих нормативных документов.

7. Использование материалов и средств личной гигиены, раздражающих кожу, не допускается.

8. Прием посетителей, хранение пищевых продуктов, прием пищи разрешается только в специально отведенных местах в «чистой» зоне.

9. В «заразной» зоне не допускается:

- пипетировать ртом, переливать жидкий инфекционный материал через край сосуда;
- хранить верхнюю одежду, обувь, зонты, косметику и т.п., а также продукты питания;
- курить, пить воду;
- оставлять рабочее место во время работы с ПБА;
- сливать жидкие отходы без предварительного обеззараживания.

Требования к порядку использования рабочей одежды и средств индивидуальной защиты (СИЗ)

1. Сотрудники лабораторий должны быть обеспечены рабочей одеждой.

2. Рабочая одежда и обувь должны быть индивидуальными.

3. При работе в боксированных помещениях производится смена медицинского халата на противочумный или хирургический.

4. Перемещение одежды из зоны в зону, категорически не допускается.

5. Смена рабочей одежды должна проводится по мере загрязнения, но не реже одного раза в неделю.

6. Перед сдачей в стирку защитная одежда должна быть обеззаражена.

03.03.20 День 2

Структура лаборатории.

Микробиологическая лаборатория – это учебное, научное или производственное учреждение, выполняющее экспериментальные, диагностические или производственные работы с патогенными биологическими агентами. Микробиологическая лаборатория располагается в отдельно стоящем здании. На окнах цокольного и первого этажей установлены металлические решетки.

Лаборатория имеет 2 входа: один – для сотрудников, другой – для доставки материала на исследование. Помещения лаборатории разделены на «чистую» и «заразную» зону.

К помещениям «чистой» зоны относятся:

- Средоварочная - здесь находятся весы, мерная посуда, pH метр, холодильники. После взвешивания, сухие питательные среды растворяют в дистиллированной воде, доводят до кипения, стерилизуют в автоклаве. Хранение питательных сред осуществляется в холодильниках, шкафах. Среды обязательно должны быть подписаны и указана дата приготовления.

- Автоклавная (стерилизационная) – это комната для проведения стерилизации приготовленных питательных сред. Она оборудована автоклавами.

- Моечная – это комната предназначена для мытья посуды. Она оборудована раковинами.

- Комната медицинского персонала

К помещениям «заразной» зоны относятся:

- Автоклавная – это комната, в которой проводится обеззараживание исследуемого материала.

- Кабинеты бактериологических исследований - предназначена для проведения исследований бактериологическим методом.

- Кабинет приема и регистрации биологического материала.

Рабочие помещения лаборатории светлые, просторные, теплые, снажены подводкой холодной и горячей воды, электричеством. Стены, потолки и пол имеют гладкую поверхность, легко моющуюся, устойчивую к дезинфектантам. Поверхности рабочих столов также водонепроницаемы, устойчивы к дезинфицирующим веществам.

04.03.20 День 3

Прием и регистрация биологического материала.

Регистрируют БМ в лабораторной информационной системе qMS.

ЛИС qMS обеспечивает полную автоматизацию технологических процессов современной медицинской лаборатории и поддержку всех видов лабораторных исследований, в том числе микробиологических и гистологических.

Используется ЛИС qMS как автономно, так и в составе полнофункциональной медицинской информационной системы qMS. Возможна организации работы нескольких лабораторий на единой базе ЦОД (Центр Обработки Данных).

Система масштабируется и легко адаптируется к медицинским лабораториям различного типа, профиля и организационной структуры.

В лаборатории принимают БМ на санитарно-бактериологическое исследование, ПЦР исследование, бактериологическое исследование.

Прием БМ: Медсестра приносит в специальном контейнере БМ с направлениями на анализ, дежурный лаборант сверяет данные в направлении и помещает БМ в контейнер отделения который указан в направлении.

05.03.20 День 4

В лаборатории я ознакомилась с методикой варки питательных сред:

- Физиологический раствор – на 1 литр дистиллированной воды добавляем 10 грамм соли.

- Тиогликоловая среда – 30 гр. среды растворяем в 1 литре дистиллированной воды.

- Бульон Сабуро – 10 гр. пептона смешиваем с 40 гр. глюкозы и добавляем к 1 литру дистиллированной воды.

- Олькеницкого - Препарат в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии размешивают в 1 л дистиллированной воды.

- 0,7% полужидкий агар – сухой питательный бульон (15гр.) и микробиологический агар(3гр.) растворить в 1 литре дистиллированной воды.

- Основа питательного агара – к 38 гр. препарата добавляем 1 литр дистиллированной воды.

- Мясопептонный бульон (МПБ) - мясной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% х. ч. натрия хлорида

- Данные среды нагревают до кипения и разливают по пробиркам (5- 7мл.), маркируют, стерилизуют и помещают в холодильные камеры.

06.03.20 День 5

Я варила среды, согласно методике:

- Кровяной агар - готовится из обычного мясопептонного агара. Агар расплавляют, охлаждают до 42—45°C, добавляют 5% кроличьей крови. Разливают над спиртовкой в чашки Петри равномерным слоем.

- ЖСА - Для приготовления желточно-солевого агара готовят МПА с содержанием 10% хлорида натрия. После разливают во флаконы по 100-200 мл.

- Эндо - МПА (100 мл) растапливают, прибавляют 1 г лактозы, предварительно растворенной в стерильной пробирке в небольшом количестве дистиллированной воды и прокипяченной. Разливают по чашкам Петри.

07.03.20 День 6

Методический день. Заполнение дневника.

09.03.20 День 7

Праздничный день.

10.03.20 День 8

Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний

Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний проводится в трех основных направлениях:

1) поиски возбудителя заболевания в материале, взятом у больного (испражнения, моча, мокрота, кровь, гнойное отделяемое и др.);

2) обнаружение специфических антител в сыворотке крови — серологическая диагностика;

3) выявление повышенной чувствительности организма человека к возбудителям инфекционных заболеваний — аллергический метод.

1. Для выявления возбудителя инфекционного заболевания и его идентификации (определения вида возбудителя) используют три метода: микроскопический, микробиологический (бактериологический) и биологический.

- Микроскопический метод позволяет обнаружить возбудителя непосредственно в материале, взятом у больного. Этот метод имеет решающее значение при диагностике гонореи, туберкулеза, заболеваний, вызываемых простейшими: малярии, лейшманиозов. Возможности микроскопического метода при этих инфекциях обусловлены значительными морфологическими различиями возбудителей данных заболеваний. Однако микроскопический метод не позволяет поставить диагноз при таких инфекциях, как, например, брюшной тиф и паратифы, дизентерия. Для того чтобы различить сходные между собой по морфологии микроорганизмы, их надо получить в чистой культуре и идентифицировать, что можно сделать с помощью микробиологического метода исследования.

- Микробиологический метод заключается в посеве исследуемого материала на питательные среды, выделении чистой культуры возбудителя и его идентификации.

- Биологический метод осуществляют путем выделения возбудителя заболевания или его токсина при заражении лабораторных животных, восприимчивых к данному заболеванию. Идентификацию выделенного возбудителя проводят до вида (типа), используя бактериологический метод. Биологический метод используют также при определении вирулентности возбудителей.

2. Серологические методы диагностики инфекционных заболеваний основаны на выявлении специфических иммунных антител в сыворотке крови больного. Для этого используют различные иммунологические реакции: реакцию агглютинации при брюшном тифе (Видаля), реакцию Райта при бруцеллезе, реакцию связывания комплемента (Вассермана) при сифилисе, реакцию непрямой гемагглютинации при многих инфекционных заболеваниях, реакцию нейтрализации и торможения гемагглютинации при вирусных заболеваниях.

3. Аллергический метод позволяет поставить диагноз инфекционного заболевания с помощью аллергических проб — накожных и внутрикожных. Метод выявляет повышенную чувствительность замедленного типа, возникающую в организме при многих инфекционных заболеваниях. Введение аллергена накожно или внутрикожно используют для диагностики бруцеллеза, туляремии, токсоплазмоза и других заболеваний.

Для того чтобы правильно поставить диагноз инфекционного заболевания, чаще всего используют комплекс всех лабораторных методов: выделение возбудителя, определение антител в крови больного и выявление повышенной чувствительности замедленного типа.

11.03.20 День 9

Я производила Микробиологическую диагностику возбудителей инфекционных заболеваний.

12.03.20 День 10

Иммунодиагностика

1. Реакция агглютинации- склеивание корпукул (бактерий, эритроцитов и др.) антителами в присутствии электролитов - натрия хлорида. Развернутая реакция агглютинации с сывороткой крови. К разведениям сыворотки добавляют диагностикум.

- Агглютинация с О-диагностикумом (бактерии, убитые нагреванием, сохранившие О- антиген) происходит в виде мелкозернистой агглютинации.
- Агглютинация с Н - диагностикумом (бактерии, убитые формалином, сохранившие жгутиковый Н-антитела) - крупнохлопчатая и протекает быстрее.

2. Реакция преципитации - это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого преципитатом. Он образуется при смешивании антигенов и антител в эквивалентных количествах, избыток одного из них снижает уровень образования иммунного комплекса.

Реакцию преципитации ставят в пробирках (реакция кольцепреципитации), в гелях, питательных средах и др. Широкое распространение получили разновидности реакции преципитации в полужидком геле агара или агарозы двойная иммунодиффузия по Оухтерлони, радиальная иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез и др.

3. Реакция связывания комплемента (РСК) заключается в том, что при соединении друг другу антигенов и антител они образуют иммунный комплекс, к которому через Fc-фрагмент антител присоединяется комплемент (С), тем самым происходит связывание комплемента комплексом антиген - антитело. Если же комплекс антиген - антитело не образуется, то комплемент остается свободным. РСК проводят в две фазы 1-я фаза - инкубация смеси, содержащей антиген + антитело + комплемент, 2-я фаза (индикаторная) - выявление в смеси свободного комплемента путем добавления к ней гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана, и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним. В 1-й фазе реакции при образовании комплекса антиген - антитело происходит

связывание им комплемента, и тогда во 2-й фазе гемолиз сенсибилизированных антителами эритроцитов не произойдет (реакция положительная). Если антиген и антитело не соответствуют друг другу (в исследуемом образце нет антигена или антитела), комплемент остается свободным и во 2-й фазе присоединится к комплексу эритроцит - антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз (реакция отрицательная).

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

- Прямой метод РИФ основан на том, что антигены тканей или микробы, обработанные иммунными сыворотками с антителами, меченными флюорохромами, способны светиться в УФ-лучах люминесцентного микроскопа. Бактерии в мазке, обработанные такой люминесцирующей сывороткой, светятся по периферии клетки в виде каймы зеленого цвета.

- Непрямой метод РИФ заключается в выявлении комплекса антиген - антитело с помощью антиглобулиновой (против антитела) сыворотки, меченной флюорохромом. Для этого мазки из взвеси микробов обрабатывают антителами антимикробной кроличьей диагностической сыворотки. Затем антитела, не связавшиеся антигенами микробов, отмывают, а оставшиеся на микродах антитела выявляют, обрабатывая мазок антиглобулиновой (антикроличьей) сывороткой, меченной флюорохромами. В результате образуется комплекс микроб + антимикробные кроличьи антитела + антикроличьи антитела, меченные флюорохромом. Этот комплекс наблюдают в люминесцентном микроскопе, как и при прямом методе.

13.03.20 День 11

Иммунодиагностика

1. Реакция связывания комплемента (РСК). Сущность метода заключается в том, что при соответствии друг другу антигенов и антител они образуют иммунный комплекс, к которому через Fc-фрагмент антител присоединяется комплемент (C), т.e. происходит связывание комплемента комплексом антиген -

антитело. Если же комплекс антиген - антитело не образуется, то комплемент остается свободным. РСК проводят в две фазы:

- 1-я фаза - инкубация смеси, содержащей антиген + антитело + комплемент
- 2-я фаза (индикаторная) - выявление в смеси свободного комплемента путем добавления к ней гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана, и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним. В 1-й фазе реакции при образовании комплекса антиген - антитело происходит связывание им комплемента, и тогда во 2-й фазе гемолиз сенсибилизованных антителами эритроцитов не произойдет (реакция положительная). Если антиген и антитело не соответствуют друг другу (в исследуемом образце нет антигена или антитела), комплемент остается свободным и во 2-й фазе присоединится к комплексу эритроцит - антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз (реакция отрицательная).

2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - современный точный метод диагностики инфекционных заболеваний, опухолей, генетических аномалий. Сущность метода заключается в том, чтобы с помощью специального фермента ДНК-полимеразы в искусственных условиях увеличить в объеме определенную микробную среду. Для этого многократно преумножают имеющийся ДНК-материал. Таким образом, при наличии патогенного микроорганизма в образце его количество будет увеличено за счет биохимических лабораторных манипуляций, и бактерию не составит труда обнаружить в микроскоп.

14.03.20 День 12

Методический день. Заполнение дневника.

16.03.20 День 13

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха

Среди факторов окружающей среды, влияющих на жизнь человека, воздух занимает ведущее место. Наука, изучающая микрофлору воздуха, называется аэромикробиологией.

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 клоstrидий, грибов и другие, могут длительно сохраняться в воздухе.

В воздухе городов микроорганизмов больше, чем в воздухе лесов и полей.

Количество микроорганизмов в помещениях обычно больше, чем в воздухе открытых мест.

ГОСТ не нормирует методы проведения исследования воздуха. Раньше большое внимание уделялось определению гемолитических стрептококков как показателей загрязнения воздуха закрытых помещений микрофлорой, находящейся в носоглотке человека. В настоящее время больше внимания уделяют непосредственному обнаружению в воздухе патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Санитарно-бактериологическое исследование воздуха проводят в плановом порядке: в больницах, операционных, детских учреждениях и др.

При санитарно-бактериологическом исследовании определяют:

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

Выявление микроорганизмов в воздухе проводится при помощи специальных приборов и специальных сред (диагностических и дифференциально-диагностических).

29.05.18 День 13

Санитарно-бактериологическое исследование 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. При этом происходит распыление находящейся в приборе жидкости. После окончания просасывания жидкость, через которую был пропущен воздух, засевают по 0,1-0,2 мл на МПА в чашках Петри. При необходимости использовать элективные среды посевную дозу увеличивают (0,3-0,5 мл). Полученная в приемнике жидкость может быть использована для заражения животных (например, при исследованиях, проводимых для выявления вирусов, риккетсий и т. д.).

Прибор Дьяконова также основан на улавливании бактерий в жидкости, через которую пропущен воздух.

Прибор ПАБ-1 предназначен для бактериологического исследования больших объемов воздуха в течение короткого промежутка времени. Получение проб воздуха производят со скоростью 125-150 л/мин. Принцип работы прибора основан на улавливании микроорганизмов на электрод противоположного заряда. Большая скорость отбора проб воздуха в этом приборе и возможность

посева его на различные питательные среды имеет значение для обнаружения патогенных и условно-патогенных бактерий (например, синегнойной палочки в хирургических отделениях и др.).

Аппарат Кротова. Действие основано на принципе удара струи воздуха на среду в чашках Петри. Аппарат состоит из трех частей: узла для отбора проб воздуха, ротаметра, электрической части питающего механизма.

Исследуемый воздух при помощи центробежного вентилятора, вращающегося со скоростью 4000-5000 об/мин, засасывается в щель прибора и ударяется о поверхность открытой чашки Петри со средой. Содержащиеся в воздухе микроорганизмы оседают на питательный агар. Для равномерного распределения микроорганизмов по всей поверхности столик с находящейся на нем чашкой вращается. Из прибора воздух выводится через воздухопроводную трубку, которая соединена с ротаметром, показывающим скорость протягивания воздуха через прибор.

Недостатком прибора Кротова является то, что он нуждается в электроэнергии, поэтому не во всех условиях может быть использован.

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.

Расчет. Например, за 10 мин пропущено 125 л воздуха, на поверхности выросло 100 колоний.

$$\text{Число микробов в 1 м воздуха} = 100 * 1000 / 125 = 800$$

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.

В детских учреждениях воздух проверяют на наличие сальмонелл. Для этого воздух засевают в чашку со средой висмут-сульфитный агар.

Выявление патогенных бактерий и вирусов в воздухе закрытых помещений проводят по эпидемиологическим показаниям. Для выявления возбудителей туберкулеза пользуются прибором ПОВ, в качестве улавливающей используется среда Школьниковой.

17.03.20 День 14

Санитарно-бактериологическое исследование смывов

Для оценки санитарно-гигиенического состояния предприятий общественного питания, предприятий пищевой промышленности, лечебнопрофилактических 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.

Исследования на патогенную микрофлору проводят только по эпидпоказаниям.

На предприятиях общественного питания и в детских учреждениях исследования обычно ограничивают выявлением БГКП (как показатель фекального загрязнения) и *S. aureus*.

В отделениях хирургического профиля (операционных, отделениях реанимации, интенсивной терапии и т. д.), кроме вышеуказанных показателей, определяют количественную обсемененность микроорганизмами, наличие синегнойной палочки и протея.

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 изготавливают 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. Далее 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 желточносолевой 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. Далее исследование ведут по общепринятой методике.

Определение общего числа бактерий

Первый день исследования

К 2 мл взятых смызов 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.

18.03.20 День 15

Утилизация, дезинфекция и стерилизация

Стерилизация – полная инактивация микробов в объектах, подвергающихся обработке.

Тепловая стерилизация основана на чувствительности микробов к высокой температуре. Для тепловой стерилизации применяют, в основном, сухой жар и пар под давлением.

Стерилизацию сухим жаром осуществляют в воздушных стерилизаторах («сухожаровые шкафы»), которые представляют собой металлический плотно закрывающийся шкаф, нагревающийся с помощью электричества и снабженный термометром. Обеззараживание материала в нем производят, как правило, при 1600С в течение 120 мин. Стерилизуют сухим жаром лабораторную посуду и другие изделия из стекла, инструменты, силиконовую резину. Обработку паром под давлением в паровых стерилизаторах (автоклав) является наиболее универсальным методом стерилизации. Поскольку кроме высокой температуры на микробы оказывает воздействие и пар, споры погибают уже при 1200С. Наиболее распространенный режим работы парового стерилизатора: 2атм – 121⁰С – 15- 20 мин. Стерилизуют в автоклаве большую часть предметов: перевязочный материал, белье, питательные среды, растворы, инфекционный материал. В настоящее время применяют еще один метод тепловой стерилизации, предназначенный специально для молока –

ультравысокотемпературный (молоко обрабатывают в течение нескольких секунд при 130-1500С.

Дезинфекция – процедура, предусматривающая обработку загрязненного микробами предмета с целью их уничтожения до такой степени, чтобы они не смогли вызвать инфекцию при использовании данного предмета. При дезинфекции погибает большая часть микробов (в том числе все патогенные), однако споры и некоторые резистентные вирусы могут остаться в жизнеспособном состоянии.

Если отсутствует возможность подвергнуть предмет стерилизации, проводится дезинфекция. Например, нельзя простилизовать бокс, в котором ведутся работы с заразным материалом, операционный стол, руки хирурга или оптиковолоконные микроскопы. После дезинфекции нет необходимости защищать продезинфицированный материал от попадания микробов извне. Различают 3 основных метода дезинфекции: тепловой, химический, УФ-облучение.

Утилизация – это комплекс мер, направленных на переработку отходов. Изначально этот процесс нацелен на то, чтобы отделить сырье, пригодное для повторного использования, от ненужного мусора. Дальше отходы сжигают или отправляют на полигоны для захоронения.

Классификация медицинских отходов:

Класс А – эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам.

Класс Б – эпидемиологически опасные отходы.

Класс В – чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы.

Класс Г – токсикологически опасные отходы 1-4 классов опасности.

Класс Д – радиоактивные отходы.

Химическая дезинфекция – это обработка оборудования, комплектующих, а также прочих элементов с помощью хлора или других подобных веществ. Этот метод утилизации сочетается механическим измельчением, чаще всего с целью достичь растворения «мусора».

Инсинерация – это сжигание мусора, можно без специальной сортировки. Процесс полностью контролируется оператором. Однако требуется работа очистных сооружений на предмет улавливания вредные газы.

19.03.20 День 16

Дисбактериоз. Этапы исследования

Дисбактериоз — это состояние, при котором изменяется состав микроорганизмов, населяющих кишечник (полезных бактерий становится меньше, а вредных, соответственно, больше), что приводит к нарушению работы желудочно-кишечного тракта.

Методика исследования кала на дисбактериоз.

Исследуются испражнения больных (5-10 г), которые собирают в стерильные баночки. Консервант к испражнениям не добавляется. Собранный материал следует немедленно доставить в лабораторию и до посева хранить в холодильнике, но не более 4 ч. Особенno важно сбор материала проводить до начала антибактериального лечения.

Для выявления анаэробной микрофлоры рекомендуется разводить испражнения физиологическим раствором в 10 раз. Из этого основного разведения делают ряд последующих (1: 100, 1: 1000, 1: 10000, 1: 100000). Из последнего разведения делают посевы по 0,1 мл на среды Эндо, Левина, Сабуро, Плоскирева, кровяной агар и др. Количество кишечной палочки и других микробов в 1 г фекалий определяют по числу колоний, выросших на соответствующей питательной среде с пересчетом на количество посевного материала и степень его разведения.

На 5% кровяном агаре учитывают процентные соотношения между колониями, обладающими и не обладающими гемолизирующими свойствами. Палочку протея легко обнаружить в посеве на агаре по Шукевичу (Н-форма) или среде Ресселя с мочевиной - окрашивание в фиолетово-коричневый цвет при индикаторе тимоловый синий с добавлением кислого фуксина. Чашки со средой Сабуро выдерживают в термостате в течение 3-5 дней, затем плотные колонии пересевают в среду с солодовым суслом и также помещают в термостат на 3-4

дня. При исследовании нативного препарата можно видеть длинные или короткие нити мицелия, характерные для патогенных дрожжеподобных грибов.

20.03.20 День 17

Я варила среды, согласно методике:

- Кровяной агар - готовится из обычного мясопептонного агара. Агар расплавляют, охлаждают до 42—45°C, добавляют 5% кроличьей крови. Разливают над спиртовкой в чашки Петри равномерным слоем.
- Тиогликолевая среда – 30 гр. среды растворяем в 1 литре дистиллированной воды.
- Бульон Сабуро – 10 гр. пептона смешиваем с 40 гр. глюкозы и добавляем к 1 литру дистиллированной воды.
- Мясопептонный бульон (МПБ) - мясной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% х. ч. натрия хлорида.
- Эндо - МПА (100 мл) растапливают, прибавляют 1 г лактозы, предварительно растворенной в стерильной пробирке в небольшом количестве дистиллированной воды и прокипяченной. Разливают по чашкам Петри.

21.03.20 День 18

Сдача дневников.