

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Фармацевтический колледж

Дневник

преддипломной практики
по разделу «Теория и практика лабораторных микробиологических и
иммунологических исследований»

Саксоновой Валерии Игоревны

ФИО

Место прохождения практики КГБУЗ КККОД им.А.И. Крыжановского

(медицинская организация, отделение)

с « 11 » мая 2020 г. по « 06 » июня 2020 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) _____

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) _____

Методический – Ф.И.О. (его должность) _____

Красноярск, 2020

Содержание

1. Цели и задачи практики
2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики
3. Тематический план
4. График прохождения практики
5. Инструктаж по технике безопасности
6. Содержание и объем проведенной работы
7. Манипуляционный лист (Лист микробиологических исследований)
8. Отчет (цифровой, текстовой)

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 клинико-диагностических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в КДЛ.

Программа практики

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.

По окончании практики студент должен представить в колледж следующие документы:

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Характеристику, заверенную подписью руководителя практики и печатью ЛПУ.
3. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
4. Выполненную самостоятельную работу.

В результате преддипломной практики обучающийся должен:

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 микробиологической лаборатории;
- основные методы и диагностическое значение исследований протеолитических, сахаролитических, гемолитических свойств микроорганизмов, антигенной структуры.

Тематический план

№	Наименование разделов и тем практики	Всего часов
	Проведение лабораторных микробиологических исследований	144
1	Ознакомление с правилами работы в бак лаборатории	6
2	Подготовка материала к микробиологическому исследованиям: прием , регистрация биоматериала	6
3	Приготовление питательных сред общеупотребительных, элективных, дифференциально-диагностических для выделения возбудителей гнойно-воспалительных, кишечных и нозокомиальных инфекций.	12
4	Иммунодиагностика : РА, РП, РСК, РИФ, ПЦР	12
5	Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (гнойно-воспалительных, кишечных)	36
6	Микробиологическая диагностика возбудителей госпитальных инфекций.	36
7	Дисбактериоз. Этапы исследования.	12
8	Санитарно – бактериологическое исследование воздуха, смывов.	12
9	Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.	6
10	Дифференцированный зачет	6
Вид промежуточной аттестации		Дифференцированный зачет

График прохождения практики

№ п/п	Дата	Часы	Оценка	Подпись руководителя
1	11.05.2020	6		
2	12.05.2020	6		
3	13.05.2020	6		
4	14.05.2020	6		
5	15.05.2020	6		
6	16.05.2020	6	Методический день	
7	18.05.2020	6		
8	19.05.2020	6		
9	20.05.2020	6		
10	21.05.2020	6		
11	22.05.2020	6		
12	23.05.2020	6	Методический день	
13	25.05.2020	6		
14	26.05.2020	6		
15	27.05.2020	6		
16	28.05.2020	6		
17	29.05.2020	6		
18	30.05.2020	6	Методический день	
19	01.06.2020	6		
20	02.06.2020	6		
21	03.06.2020	6		
22	04.06.2020	6		
23	05.06.2020	6		
24	06.06.2020	6	Методический день	

Техника безопасности

К работе в бактериологической лаборатории допускаются лица не моложе 18 лет, не имеющие медицинских противопоказаний, обученные безопасным методам работы, прошедшие инструктаж по охране труда.

Обязанности при работе:

- 1) Соблюдение правил внутреннего трудового распорядка, требований должностной инструкции;
- 2) Немедленное извещение заведующей отделением о ситуации, угрожающей жизни и здоровью;
- 3) Выполнение требований нормативных документов, инструкций по охране труда, правил пожарной безопасности;
- 4) Выполнение требований личной гигиены, содержание в чистоте рабочего места;
- 5) Необходимо руководствоваться принципом, что все пациенты потенциально инфицированы.
- 6) При работе в лаборатории необходимо использовать специальную одежду, сменную обувь, шапочку, средства индивидуальной защиты (фартук прорезиненный, перчатки, нарукавники, очки защитные, маска). После любой процедуры двукратно тщательно моют руки и дезинфицируют их.

При транспортировке биоматериала соблюдают следующие правила:

- 1) Емкости с биоматериалом плотно закрывать пробками;
- 2) Биоматериал транспортировать в штативах, поставленных в контейнеры, биксы или пеналы (на дно помещают салфетку);
- 3) Не вкладывать бланки и другую документацию в пробирки.

Запрещено:

- 1) Работать с неисправным оборудованием;
- 2) Оставлять включенным в сеть приборы, за исключением некоторых, которые могут находиться в круглосуточном режиме работы;
- 3) Есть в неположенном месте;

- 4) Пипетировать ртом;
- 5) Переливать кровь, сыворотку через край пробирки.

По окончании работы инструменты и перчатки поместить в контейнер для обеззараживания, поверхности столов обработать дезсредством, провести влажную уборку кабинета, кварцевание и проветривание.

Утилизация отходов происходит согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами: в 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 - желтый пакет). Контейнеры для утилизации маркируются.

Подпись общего руководителя _____

Подпись студента _____

Печать лечебного учреждения

1 день (11.05.2020)

Правила поведения и работы в бактериологической лаборатории/

- 1) К работе в бактериологической лаборатории допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинский осмотр, инструктаж по охране труда и пожарной безопасности;
- 2) К работе допускают сотрудников только после ознакомления с правилами поведения и режимом работы;
- 3) Все работники подвергаются профилактическим прививкам, главным образом против кишечных инфекций;
- 4) Каждый сотрудник имеет халат и шапочку; в лаборатории носят сменную обувь;
- 5) Каждый сотрудник обязан строго соблюдать личную гигиену, содержать в чистоте рабочее место;
- 6) Поступающий в лабораторию материал регистрируют в специальный журнал, присваивают свой штрих-код и маркируют;
- 7) Весь поступающий материал для исследования считают инфицированным (заразным). Его ставят на специальный поднос, а емкость с материалом протирают дезинфицирующим раствором снаружи;
- 8) Переливать исследуемый материал из одной емкости в другую следует над дезинфицирующим раствором;
- 9) При попадании исследуемого материала на руки, стол или другие предметы их обрабатывают дезинфицирующим раствором;
- 10) По окончании работы инструменты и перчатки поместить в контейнер для обеззараживания, поверхности столов обработать дезсредством, провести влажную уборку кабинета, кварцевание и проветривание. Генеральная уборка проводится 1 раз в 7 дней в боксе и стерилизационной, 1 раз в месяц – в остальных помещениях лаборатории. Культуры обезвреживают или, при необходимости, сохраняют в

холодильнике. Материал, требующий продолжения исследования, ставят в термостат;

11) В лаборатории категорически запрещается принимать пищу и курить.

Утилизация отходов происходит согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами: в 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). Контейнеры для утилизации маркируются.

При загрязнении перчаток биоматериалом убрать загрязнения тампоном с дез.раствором. Снять перчатки и погрузить их в дез.раствор, затем утилизировать. Руки вымыть и обработать антисептиком.

В случае порезов или уколов снять перчатки, сбросить в дез.раствор, вымыть руки с мылом, обработать руки 70% спиртом, кожу вокруг раны 5% раствором йода.

При попадании биоматериала на кожные покровы обработать 70% спиртом, обмыть проточной водой с мылом и повторно обработать 70% спиртом.

При попадании биоматериала на слизистую носа – слизистую промыть водой, не тереть и закапать 1% раствор проторгола; на слизистую глаз – обильно промыть водой, не тереть, закапать 20% сульфацила натрия; на слизистую рта - промыть рот большим количеством воды и прополоскать 70% раствором этилового спирта.

При попадании биоматериала на одежду – снять ее и погрузить в дез.раствор или бикс для автоклавирувания.

План ликвидации аварий при работе с патогенными биологическими агентами:

Все случаи аварий, микротравм и травм и принятые меры подлежат регистрации в специальном журнале.

1. Авария с разбрызгиванием ПБА:

Это аварии с образованием аэрозоля (бой пробирок, флаконов, колб с жидкой культурой, бой чашек и пробирок с культурами на агаре с конденсатом, разбрызгивание бактериальной суспензии из пипетки и другие).

Порядок действий:

- 1) Всем лицам в помещении прекратить работу, задержав дыхание, выйти из помещения, плотно закрыть дверь, сообщить руководителю подразделения;
- 2) Руки обработать дезраствором, незащищенное лицо обильно обработать 70% этиловым спиртом;
- 3) Слизистые глаз, носа и рта обработать препаратами из аварийной аптечки;
- 4) Защитную одежду снять, погрузить в дезраствор;
- 5) Открытые части тела протереть антисептиком;
- 6) Принять душ, надеть чистую рабочую одежду.

Проведение дезинфекционных мероприятий:

Применяют дез.раствор, эффективный в отношении возбудителя;

Через 2 ч после первичной обработки собирают тампонами с дез.редством осколки посуды и погружают их в емкость с дез.раствором, посуду с посевами погружают в емкость с дез.раствором или обтирают салфеткой с дез.раствором и погружают их в емкость для автоклавирования;

Воздух и поверхности обеззараживают бактерицидными лампами;

Сотрудник, проводивший дезинфекцию, выходит в коридор, снимает одежду, помещает ее в дезраствор;

- 7) Через 2 ч. убирают помещение, после чего работа возобновляется.

2. Авария без разбрызгивания ПБА

К ней относится касание петель с инфицированным материалом края чашки, пробирки, трещина на чашке Петри, пробирке с биоматериалом, падение на стол твердой частицы при обжигании петли после посева, касание поверхности посева на твердой питательной среде и др.

Порядок действий:

- 1) Наложить тампон с дез.средством на место контаминации ПБА поверхности объекта;
- 2) Вызвать руководителя подразделения и продолжить дез.обработку места;
- 3) По окончании обработки выйти из помещения, снять и погрузить одежду в дез.раствор;
- 4) Открытые части тела обработать дезраствором или кожным антисептиком;

Авария, связанная нарушением целостности кожных покровов;

Порядок действий:

- 1) Прекратить работу, руки обработать дез.раствором, снять перчатки, выдавить из ранки кровь в дез.раствор;
- 2) На место ранения поставить на 4-5 мин компресс из дез.раствора или кожного антисептика;
- 3) При работе с вирусами кровь выдавить в сухую стерильную салфетку и обработать ранку 5% настойкой йода, не применяя дез.раствор.

Была ознакомлена с правилами работы в бактериологической лаборатории. Вся работа в бактериологической лаборатории проводится согласно СанПиН 2.1.3.2630-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность", СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

2 день (12.05.2020)

Изучила приём биоматериала. Приём биоматериала проводится через специальное окно (Рисунок 1), где его складывают в контейнер, который находится в «заразной» зоне. При этом доставленный материал должен сопровождаться направлением по данному образцу.



Рисунок 1 – Окно приёма биологического материала

3 день (13.05.2020)

Приготовление питательных сред.

Сухие питательные среды и ингредиенты для приготовления питательных сред, если условия их хранения не указаны в сопроводительных документах или маркировке, необходимо хранить в сухом, защищенном от света месте с температурой воздуха от +20°С до +25°С в упаковке организации-поставщика, исключая отрицательное воздействие условий окружающей среды.

Питательные среды являются основой микробиологической работы, и их качество нередко определяет результаты всего исследования. Среды

должны создавать оптимальные условия для жизнедеятельности микробов (Таблица 1).

Таблица 1 - Классификация сред

По плотности:	– Жидкие; – Плотные; – Полужидкие.
По природе:	– Естественные; – Искусственные
По составу:	– Простые; – Сложные.
По назначению:	– Универсальные; – Элективные; – Селективные; – Накопительные; – Дифференциально-диагностические.

Посуда для приготовления сред не должна содержать посторонних веществ. Большие количества среды готовят в специальных варочных котлах или реакторах. Перед использованием посуду необходимо тщательно вымыть, прополоскать, высушить. Новую стеклянную посуду предварительно кипятят 30 мин в 1 – 2% растворе хлороводородной кислоты или погружают в этот раствор на ночь, после чего в течение часа прополаскивают в проточной воде.

Основные питательные бульоны готовят на мясной воде или на различных переварах, полученных при кислотном или ферментативном гидролизе исходного сырья. Бульоны из переваров в 5 – 10 раз экономичнее, чем из мясной воды. Среды на переварах богаче и следовательно, питательнее, обладают большей буферностью.

Этапы приготовления:

- 1) Варка;
- 2) Установление оптимальной pH;
- 3) Осветление;
- 4) Фильтрация;

- 5) Разлив;
- 6) Стерилизация;
- 7) Контроль.

Все среды готовят строго по инструкции указанной на банке.

Перед приготовлением питательных сред организуют рабочее место. Подготавливают дистиллированную воду, мерные стаканы, посуду для варки сред определенного объема (эмалированную или алюминиевую), электронные весы.

Выделяют этапы приготовления сред: 1) варка, 2) установление оптимальной величины pH, 3) фильтрация, 4) разлив, 5) стерилизация, 6) контроль.

Все среды приготавливают согласно инструкции, указанной на упаковке. Взвешивают установленное количество грамм среды на электронных весах и размешивают в небольшом количестве дистиллированной воды, доливают оставшийся объем воды и ставят на печь. Варят, следуя инструкции (до вскипания, 2 мин, 10 мин после вскипания и др.). Разливают среды в чистые сухие пробирки (3-5 мл или 10 мл), флаконы, колбы, стерильные чашки Петри не более чем на 2/3 емкости. Посуду закрывают ватно-марлевыми пробками, поверх надевают бумажные колпачки. Маркируют посуду со средами, указывая название среды, дату приготовления.

Стерилизация сред зависит от состава и указана в ее рецепте, возможна стерилизация автоклавированием.

Для контроля готовых сред их ставят в термостат на 2 суток и просматривают: при отсутствии роста их считают стерильными.

Хранят готовые среды в холодильниках.

Приготовление скошенного агара: пробирки с 4-5 мл стерильной расплавленной среды укладывают в наклонном положении так, чтобы среда не заходила за 2/3 пробирки.

4 день (14.05.2020)

Реакция агглютинации

Реакция агглютинация (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. 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.

Реакцию агглютинации для серодиагностики широко применяют при брюшном тифе, паратифах (реакция Видаля), бруцеллезе (реакция Райта) и др. Антителом при этом является сыворотка больного, а антигеном - известный микроб.

При идентификации микробов или других клеток антигеном служит их взвесь, а антителом - известная иммунная сыворотка. Эту реакцию широко применяют при диагностике кишечных инфекций, коклюша и др.

Подготовка ингредиентов:

- 1) получение сыворотки;
- 2) приготовление антигена.

Взвесь живых микробов должна быть гомогенной и соответствовать (в 1 мл) примерно 30 ед. мутности по оптическому стандарту ГИСК. Для ее приготовления обычно используют 24-часовую культуру, выращенную на скошенном агаре. Культуру смывают 3-4 мл изотонического раствора, переносят в стерильную пробирку, определяют ее густоту и, если нужно, разводят.

Применение взвеси убитых микробов - диагностикумов - облегчает работу и делает ее безопасной. Обычно пользуются диагностикумами, приготовленными на производстве.

Постановка реакции. Существует два метода проведения этой реакции: реакция агглютинации на стекле (иногда ее называют ориентировочной) и развернутая реакция агглютинации (в пробирках).

Реакция агглютинации на стекле. На обезжиренное предметное стекло наносят 2 капли специфической (адсорбированной) сыворотки и каплю изотонического раствора. Неадсорбированные сыворотки предварительно разводят в соотношении 1:5 - 1:25. Капли на стекло наносят так, чтобы между ними было расстояние. Восковым карандашом на стекле помечают, где какая капля. Культуру петлей или пипеткой тщательно растирают на стекле, а потом вносят в каплю изотонического раствора и в одну из капель сыворотки, размешивая в каждой до образования гомогенной взвеси. Капля сыворотки, в которую не внесена культура, является контролем сыворотки.

Внимание! Нельзя переносить культуру из сыворотки в каплю изотонического раствора, которая является контролем антигена.

Реакция протекает при комнатной температуре в течение 1-3 мин. Контроль сыворотки должен оставаться прозрачным, а в контроле антигена должна наблюдаться равномерная муть. Если в капле, где культура смешана с сывороткой, появятся хлопья агглютината на фоне прозрачной жидкости, результат реакции считают положительным. При отрицательном результате реакции в капле будет равномерная муть, как в контроле антигена.

Реакция отчетливее видна, если ее рассматривать на темном фоне в проходящем свете. При ее изучении можно пользоваться лупой.

Развернутая реакция агглютинации. Готовят последовательные, чаще всего двукратные разведения сыворотки. Сыворотку больного обычно разводят от 1:50 до 1:1600, иммунную - до титра или до половины титра. Титр агглютинирующей сыворотки - ее максимальное разведение, в котором она агглютинирует гомологичные клетки.

Разведение сыворотки:

1) ставят в штатив нужное количество пробирок одинакового диаметра, высоты и конфигурации дна;

2) на каждой пробирке указывают степень разведения сыворотки, кроме того, на 1-й пробирке пишут номер опыта или название антигена. На пробирках контролей пишут "КС" - контроль сыворотки и "КА" - контроль антигена;

3) во все пробирки наливают по 1 мл изотонического раствора;

4) в отдельной пробирке готовят исходное (рабочее) разведение сыворотки. Например, для приготовления рабочего разведения 1:50, в пробирку наливают 4,9 мл изотонического раствора и 0,1 мл сыворотки. На пробирке обязательно указывают степень ее разведения. Исходное разведение сыворотки вносят в первые две пробирки и в пробирку контроля сыворотки;

5) готовят последовательные двукратные разведения сыворотки.

Внимание! Во всех пробирках должен быть одинаковый объем жидкости.

После того как сделаны разведения сыворотки, во все пробирки, кроме контроля сыворотки, вносят по 1-2 капли антигена (диагностикума или свежеприготовленной взвеси бактерий). В пробирках при этом должна появиться небольшая равномерная муть. Контроль сыворотки остается прозрачным.

Пробирки тщательно встряхивают и помещают в термостат (37° С). Предварительный учет результатов реакции производят через 2 ч, а окончательный - спустя 18-20 ч (выдерживая при комнатной температуре).

Учет результатов как всегда начинают с контролей. Контроль сыворотки должен оставаться прозрачным, контроль антигена - равномерно мутным. Просматривают пробирки в проходящем свете (очень удобно на темном фоне) невооруженным глазом, с помощью лупы или агглютиноскопа.

Агглютиноскоп - прибор, состоящий из полый металлической трубки, укрепленной на подставке. Сверху на ней расположен окуляр с регулирующим винтом. Под трубкой прикреплено вращающееся зеркало. Пробирку с изучаемой жидкостью вставляют сбоку в отверстие трубки на такое расстояние, чтобы находящаяся в ней жидкость была под окуляром. Установив с помощью зеркала освещение и сфокусировав окуляр, определяют наличие и характер агглютината.

При положительном результате реакции в пробирках видны зерна или хлопья агглютината. Агглютинат постепенно оседает на дно в виде "зонтика", а жидкость над осадком просветляется (сравните с равномерно мутным контролем антигена).

Для изучения величины и характера осадка содержимое пробирок слегка встряхивают. Различают мелкозернистую и хлопьевидную агглютинацию. Мелкозернистая (О-агглютинация) получается при работе с О-сыворотками. Хлопьевидная (Н) - при взаимодействии подвижных микроорганизмов со жгутиковыми Н-сыворотками.

Хлопьевидная агглютинация наступает быстрее, образующийся при этом осадок очень рыхлый и легко разбивается.

Интенсивность реакции выражают следующим образом:

++++ все клетки осели, жидкость в пробирке совершенно прозрачна.

Результат реакции резко положительный.

+++ осадок меньше, нет полного просветления жидкости. Результат реакции положительный.

++ осадок еще меньше, жидкость мутная. Результат реакции слабо положительный.

+ незначительный осадок, жидкость мутная. Сомнительный результат реакции.

- осадка нет, жидкость равномерно мутная, как в контроле антигена.

Отрицательный результат реакции.

Возможные ошибки при постановке реакции агглютинации.

1. Спонтанная (самопроизвольная) агглютинация. Некоторые клетки, особенно микробы в R-форме, не дают однородной (гомогенной) взвеси, быстро выпадают в осадок. Во избежание этого следует пользоваться культурой в S-форме, которая не дает спонтанной агглютинации.

2. В сыворотке здоровых людей имеются антитела к некоторым микроорганизмам (так называемые "нормальные антитела"). Титр их невысок. Поэтому положительный результат реакции в разведении 1:100 и выше говорит о ее специфичности.

3. Групповая реакция с близкими по антигенному строению микробами. Например, сыворотка больного брюшным тифом может также агглютинировать бактерии паратифа А и Б. В отличие от специфической групповая реакция идет в более низких титрах. Адсорбированные сыворотки не дают групповой реакции.

4. Следует учесть, что специфические антитела после перенесенной болезни и даже после прививок могут сохраняться длительное время. Они называются "анамнестическими". Чтобы отличить их от "инфекционных" антител, образующихся в течение текущей болезни, реакцию ставят в динамике, т. е. исследуют сыворотку больного, взятую повторно через 5-7 дней. Повышение титра антител говорит о наличии болезни - титр "анамнестических" антител не повышается, а может даже снизиться.

5 день (15.05.2020)

Реакция преципитации

В реакции преципитации (Рисунок 3) происходит выпадение в осадок специфического иммунного комплекса, состоящего из растворимого антигена (лизата, экстракта, гаптена) и специфического антитела в присутствии электролитов.

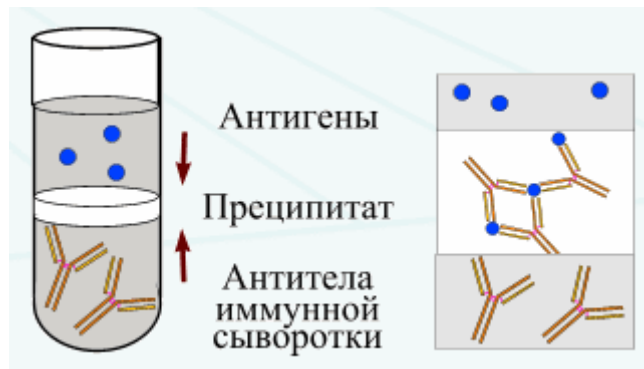


Рисунок 3 – Схема реакции преципитации

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.); в судебной медицине - для определения видовой принадлежности крови, спермы и др.; в санитарно-гигиенических исследованиях - при установлении фальсификации продуктов; с ее помощью определяют филогенетическое родство животных и растений. 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).

Внимание! Все компоненты, участвующие в реакции преципитации, должны быть совершенно прозрачными.

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.

Реакцию сопровождают рядом контролей. Очень важна последовательность внесения в пробирку ингредиентов реакции. Нельзя наслаивать сыворотку на антиген (в контроле - на изотонический раствор), так как относительная плотность сыворотки больше, она опустится на дно пробирки, и граница между жидкостями не выявится.

Примечание. + наличие "кольца"; - отсутствие "кольца".

Учет результатов производят через 5-30 мин, в некоторых случаях через час, как всегда начиная с контролей. "Кольцо" во 2-й пробирке свидетельствует о способности иммунной сыворотки вступать в специфическую реакцию с соответствующим антигеном. В 3-5-й пробирках "колец" не должно быть - там нет соответствующих друг другу антител и антигенов. "Кольцо" в 1-й пробирке - положительный результат реакции - говорит о том, что испытуемый антиген соответствует взятой иммунной сыворотке, отсутствие "кольца" ("кольцо" только во 2-й пробирке) свидетельствует о их несоответствии - отрицательный результат реакции.

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 токсинообразования у возбудителя дифтерии.

6 день (16.05.2020)

Методический день. Заполнение дневника.

7 день (18.05.2020)

Реакция связывания комплемента

Реакция связывания комплемента (РСК) (Рисунок 2) основана на том, что специфический комплекс антиген - антитело всегда адсорбирует на себе (связывает) комплемент.

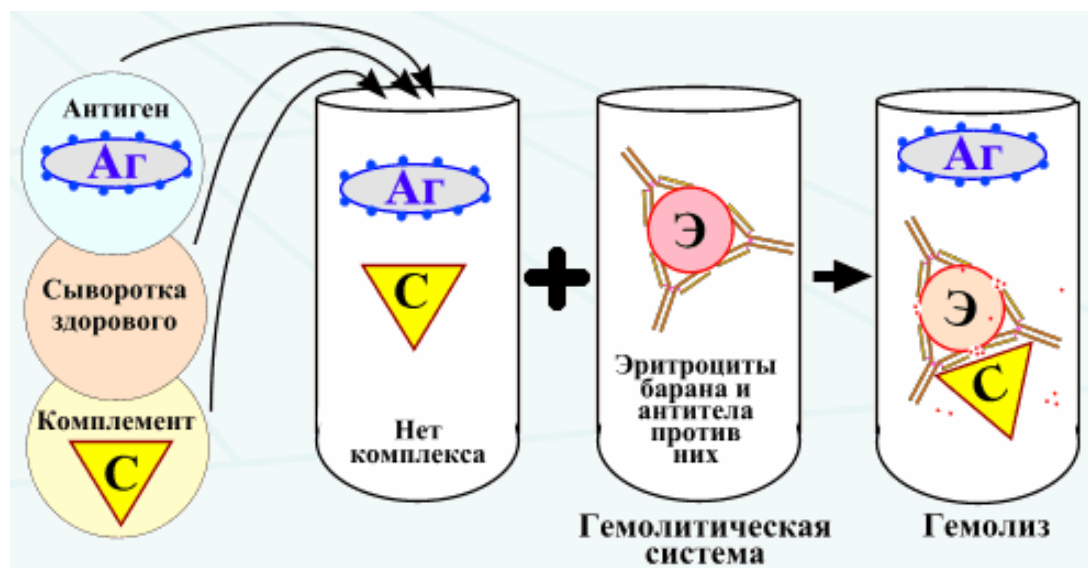


Рисунок 2 – Схема реакции связывания комплемента

Эту реакцию широко применяют при идентификации антигенов и в серодиагностике инфекций, особенно заболеваний, вызванных спирохетами (реакция Вассермана), риккетсиями и вирусами.

РСК - сложная серологическая реакция. В ней участвуют комплемент и две системы антиген - антитело. По существу, это две серологические реакции.

Первая система - основная состоит из антигена и антитела (один известный, другой нет). К ней добавляют определенное количество комплемента. При соответствии антигена и антитела этой системы они соединятся и свяжут комплемент. Образовавшийся комплекс мелкодисперсный и не виден.

Об образовании этого комплекса узнают с помощью второй системы гемолитической или индикаторной. В нее входят эритроциты барана (антиген) и соответствующая им гемолитическая сыворотка (антитело), т. е. готовый иммунный комплекс. В этой системе лизис эритроцитов может произойти только в присутствии комплемента. Если комплемент связан первой системой (при соответствии в ней антигена и антитела), то во второй системе гемолиза не будет - так как нет свободного комплемента. Отсутствие гемолиза (содержимое пробирки мутное или на дне ее осадок эритроцитов) регистрируют как положительный результат РСК.

Если в первой системе антиген не соответствует антителу, то иммунный комплекс не образуется и комплемент останется свободным. Оставшийся свободным, комплемент участвует во второй системе, вызывая гемолиз, - результат РСК отрицательный (содержимое пробирок прозрачно - "лаковая кровь").

Ввиду того что в РСК участвует большое количество сложных компонентов, они должны быть предварительно оттитрованы и взяты в реакцию в точных количествах и в равных объемах: по 0,5 или 0,25, реже по 0,2 мл. Соответственно весь опыт проводят в объемах 2,5, 1,25 или 1,0 мл (большие объемы дают более точный результат). Титрование компонентов реакции проводят в том же объеме, в каком ставят опыт, заменяя недостающие ингредиенты изотоническим раствором.

8 день (19.05.2020)

Реакция иммунофлюоресценции

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*. Метод высокочувствителен, прост, не требует выделения чистой культуры (можно обнаружить микроорганизмы непосредственно в материале от больного: кале при холере, мокроте при коклюше, мозговой ткани при бешенстве). Результат можно получить через полчаса после нанесения на препарат люминесцирующей сыворотки. Поэтому РИФ широко применяют при экспресс(ускоренной)-диагностике ряда инфекций.

Для приготовления препаратов предметное стекло с фиксированным мазком (отпечатком, срезом) помещают во влажную камеру. Камеру готовят следующим образом. На дно чашки Петри кладут влажную фильтровальную бумагу. На нее параллельно укладывают две стеклянные палочки (можно использовать широкую часть пастеровских пипеток). На них мазком вверх помещают предметное стекло.

Внимание! Не забудьте мазок с обратной стороны обвести восковым карандашом.

На мазок наносят каплю люминесцирующей сыворотки. Закрывают чашку и помещают в термостат или оставляют при комнатной температуре на 20-30 мин. После инкубации промывают забуференным изотоническим раствором (рН 7,4), ополаскивают дистиллированной водой, высушивают,

наносят каплю забуференного глицерина, накрывают покровным стеклом (не толще 0,17 мм!) и рассматривают в люминесцентном микроскопе. Если в препарате есть микробы, гомологичные антителам люминесцирующей сыворотки, они ярко светятся на темном фоне. Этот метод называется прямой (рис. 36). Неудобство прямого метода РИФ состоит в том, что для его постановки необходимы люминесцирующие сыворотки к каждому определяемому антигену, готовить которые сложно, а полного набора готовых люминесцирующих сывороток к любому антигену нет. Поэтому пользуются часто непрямым методом. Он заключается в том, что на первом этапе препарат обрабатывают нелюминесцирующей иммунной специфической сывороткой к искомому антигену. В случае, если в препарате имеются искомые антигены (микробы), то образуется комплекс антиген - антитело, который увидеть нельзя. После высушивания, на втором этапе препарат обрабатывают люминесцирующей сывороткой, содержащей антитела не к искомому антигену, а к глобулинам того вида животного, от которого получена специфическая сыворотка. Например, если первая сыворотка получена при иммунизации кролика, то вторая должна содержать антитела к кроличьим глобулинам. Эти антитела соединяются с глобулинами специфической сыворотки, которые адсорбировались на искомом антигене, и комплекс светится при рассматривании препарата в люминесцентный микроскоп.

9 день (20.05.2020)

Полимеразная цепная реакция

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – метод амплификации ДНК *in vitro*, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и

размножить определённую последовательность ДНК в миллиарды раз. Возможность получения огромного количества копий одного строго определённого участка генома значительно упрощает исследование имеющегося образца ДНК.

В основе метода ПЦР лежит природный процесс – комплементарное достраивание ДНК матрицы, осуществляемое с помощью фермента ДНК-полимеразы. Эта реакция носит название репликации ДНК.

Естественная репликация ДНК включает в себя несколько стадий:

- 1) Денатурация ДНК (расплетение двойной спирали, расхождение нитей ДНК);
- 2) Образование коротких двухцепочечных участков ДНК (затравок, необходимых для инициации синтеза ДНК);
- 3) Синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей).

10 день (21.05.2020)

Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний

Одной из основных групп возбудителей инфекционных заболеваний, которую исследуют в лаборатории, является семейство энтеробактерий (Enterobacteriaceae). Его представители вызывают острые кишечные инфекции. Все кишечные бактерии – Гр(-) палочки, факультативные анаэробы, хорошо растущие на простых питательных средах.

Выделяют:

1. Условно-патогенные бактерии (37 видов различных родов): клебсиеллы, протей, синегнойная палочка и др.
2. Патогенные бактерии: ЭПКП, возбудители дизентерии, сальмонеллеза, брюшного тифа, иерсиниозов и др.

Семейство Enterobacteriaceae, род Escherichia, вид Энтеропатогенная кишечная палочка(ЭПКП):

Исследуемый материал – испражнения, рвотные массы.

– Короткие Гр (-) подвижные палочки, хорошо растущие на простых питательных средах при 37°C и рН 7,2-7,8. Иногда образуют капсулу, спор не образуют.

– Факультативные анаэробы. На МПА – мутноватые, выпуклые влажные колонии, на МПБ – равномерное помутнение.

– Дифференциально-диагностические среды – Эндо 37°C -24ч (малиново-красные колонии), ЭМС (темно-фиолетовые колонии).

Ферментативные свойства:

Вид	Тест							
	Серо водо род	Уреаза	Лактоза	Глюкоза	Индол	Симмонс цитрат	Подви жность	Ацетатный агар
ЭКП	-	-	-	КГ	+	-	+	+

Семейство Enterobacteriaceae, род Shigella:

Исследуемый материал – испражнения.

– Небольшие неподвижные Гр(-) палочки с закругленными концами, спор и капсул не имеют.

– Факультативные анаэробы, не прихотливые к питательным средам. Рост на МПА и МПБ при 37°C и рН 7,2-7,4. Элективные и дифференциально-диагностические среды – Эндо, Плоскирева, ЭМС.

– Образуют полупрозрачные сероватые круглые колонии.

– Среда обогащения – селенитовый бульон, магниевая среда.

Ферментативные свойства:

Вид	Тест								
	Лак	Гл	Сахар	Ман	Мальт	Мол	Жела	Инд	Серовод

	тоза	юкоза	оза	ит	оза	око	тин	ол	ород
Григорьева-Шиги	-	К	-	-	К	К	-		-
Флекснера	-	К	-	К	К	К	-	+/-	+/-
С Бойда	-	К	-	К	К	К	-	-	-
D Зонне	К	К	К	К	К	К	-	-	-

Семейство Enterobacteriaceae, под Salmonella:

Исследуемые материалы – испражнения, кровь, моча, дуоденальное содержимое.

- Мелкие подвижные Гр(-) палочки с закругленными концами, спор и капсул не образуют.
- Факультативные анаэробы, не требовательные к питательным средам.
- Хороший рост на МПА и МПБ при 37°C , рН 7,2-7,4. На МПА – нежные.
- Полупрозрачные выпуклые блестящие колонии, на МПБ – равномерное помутнение. На висмут-сульфитном агаре – колонии черного цвета. На дифференциально-диагностических средах Эндо, ЭМС, Плоскирева – бесцветные колонии. Среда обогащения – селенитовый бульон, среда Мюллера. Элективные среды: желчь (10-20%), среда Раппопорт.

Ферментативные свойства:

Вид	Тест								
	Лактоза	Глюкоза	Сахароза	Манит	Мальтоза	Индола	Сероводород	Лакмусовое молоко	Желатина
S.typhi	-	К	-	К	К	-	+	К	-

11 день (22.05.2020)

Ознакомилась с микробиологической диагностикой возбудителей госпитальных инфекций.

Микробиологические методы имеют решающее значение в постановке этиологического диагноза госпитальных инфекций, в выработке рациональной схемы терапии и в предупреждении развития вторичных случаев заболевания.

Микробиологические исследования при заболеваниях, вызванных УПМ, направлены на выделение не одного, а нескольких основных микробов, находящихся в исследуемом материале, а не на индикацию одного специфического патогена, как это принято при заболеваниях, вызванных патогенными микробами.

Основным методом микробиологической диагностики госпитальных инфекций является бактериологический метод, заключающийся в посеве на искусственные питательные среды материала от больного для выделения и идентификации чистых культур возбудителей.

При использовании этого метода следует учитывать:

- в материале от больного, как правило, присутствует ассоциация микробов, в которую входят как возбудители заболевания, так и заносные из других органов и внешней среды виды, а также микробы, которые могут попасть в материал при его заборе и доставке;
- количественный и видовой состав микрофлоры варьирует у разных больных и меняется в процессе болезни, особенно при использовании антибактериальных препаратов.

Достоверность бактериологического исследования зависит от: правильного забора материала от больного; применения эффективного набора дифференциально-диагностических и селективных питательных сред; использования количественного посева материала; этапности идентификации выделенных чистых культур (семейство, род, вид и, в необходимых случаях,

вариант); определения свойств, указывающих на патогенность культур и их принадлежность к госпитальным штаммам.

Обязательным должно быть определение чувствительности культур к антибиотикам и другим антимикробным химиотерапевтическим препаратам, а также свойств культур, необходимых для эпидемиологического анализа (эпидемиологических меток) — фаговара, серовара, резистенсвара и др.

С целью определения смены возбудителей и изменения их свойств исследования материала следует проводить через каждые 5-7 дней.

Микроскопический метод позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания из-за близости морфологии бактерий дает возможность только ориентировочно судить о возбудителе, относя его к крупным таксонам (палочки, кокки, спирохеты, грамположительные или грамотрицательные и т. п.). Результаты микроскопии могут быть использованы при выборе питательных сред для дальнейшего выделения возбудителя. В редких случаях микроскопически удастся определить род или даже вид возбудителя, если он имеет характерную морфологию (клостридии, фузобактерии).

Серологический метод имеет вспомогательное значение. С помощью его не удастся установить спектр и уровень активности антимикробных препаратов по отношению к возбудителю болезни и провести внутривидовое типирование. Возможности серологического метода ограничивает выраженная мозаичность антигенной структуры многих УПМ, наличие к ним антител у здоровых людей и слабая выраженность иммунного ответа на антигены УПМ. Тем не менее при затяжных и хронических формах болезни серологический метод иногда позволяет установить этиологию болезни.

Биологический метод обычно не используется из-за неспецифичности клинической картины, вызываемой УПМ у лабораторных животных, и содержания в патологическом материале микробных ассоциаций, которые при заражении животных претерпевают изменения.

Аллергологический метод в связи с отсутствием сенсibilизации или ее малой специфичностью, не используется.

12 день (23.05.2020)

Методический день. Заполнение дневника.

13-14 день (25-26.05.2020)

Исследование дисбактериоза.

Дисбактериоз – это состояние, при котором происходит нарушение количественного состава или нормального микробного состава кишечника.

Оценку состояния микрофлоры кишечника проводят согласно «Методическим рекомендациям по бактериологической диагностике дисбактериоза кишечника», Москва 1977г.; Отраслевому стандарту. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». МЗ РФ от 09.06.03г

Этапы лабораторного исследования:

1 этап. В первую очередь кал обрабатывают специальными средствами, измельчают и затем делают посев на среду с питательными веществами. Посевы ставят в термостат на 24 часа при температуре 37 гр.

2 этап. Через сутки среды изымают, окрашивают средствами и внимательно изучают под микроскопом.

Каждую колонию отдельно перемещают вновь на отдельные среды для накопления и выделения чистой культуры, а затем помещают в термостат на 24 часа.

3 этап. Выделив чистые культуры, можно начинать проводить специальные исследования. Таким образом, анализ кала на дисбактериоз биохимический и анализ кала на дисбактериоз на антибиотики проводят только на третьи сутки после поступления материала в лабораторию.

Биохимический анализ на дисбактериоз, позволяет определить способность бактерий использовать в собственных метаболических целях ряд

веществ: углеводы, белки, а также способность выделять газы (индол и др.), разрушать эритроциты, вырабатывать ряд ферментов, которые смогут разрушить стенку органов ЖКТ или вызвать токсический эффект.

Все эти данные позволяют не только более точно определить вид патогенного или условно-патогенного микроорганизма, но и предположить дальнейшее течение болезни и необходимость в проведении более интенсивной терапии.

Тест на чувствительность к антибиотикам, позволяет разрабатывать более эффективные фармакологические средства. Исследование проводится в два этапа параллельно или последовательно для того, чтобы определить не только эффективные антибиотики, но и необходимую терапевтическую дозу.

15-16 день (27-28.05.2020)

Санитарно-бактериологические исследования воздуха.

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

Объектами санитарно-бактериологических исследований являются:

- воздушная среда;
- объекты окружающей среды
- спецодежда;
- руки персонала.

Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды проводят в помещениях лечебных организаций в зависимости от их функционального назначения на санитарно-микробиологические показатели:

- общее количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха (КОЕ/м³);
- количество колоний *S. aureus* в 1 м³ воздуха (КОЕ/м³);
- количество плесневых и дрожжевых грибов в 1 м³ воздуха.

Пробы воздуха в лаборатории берутся аспирационным методом с помощью аспиратора «ПУ-1Б» (Рисунок 2).



Рисунок 2 – Аспиратор ПУ-1Б

Исследования проводят с помощью двух чашек Петри с МПА (для определения общего количества микроорганизмов в 1 м³ воздуха) и ЖСА (для определения *S. Aureus*). Через МПА пропускают 100 литров воздуха, через ЖСА 250 литров чашки маркируются и убирают в термостат.

17 день (29.05.2020)

Санитарно-бактериологические исследования смывов с объектов.

Смывы с объектов внешней среды, берутся методом «квадрата» 10x10, Взятие смывов производят стерильными ватными тампонами, вмонтированными в пробирки. Для увлажнения тампонов в пробирки наливают по 2,0 мл стерильной 0,1 % пептонной воды с добавлением нейтрализаторов дезинфицирующих средств. Пробирки так же маркируются и убирают в термостат 37С° (МПА-24ч, ЖСА- 48ч).

Все результаты исследования заносятся в журнал регистрации.

18 день (30.05.2020)

Методический день. Заполнение дневника.

19-20 день (01-02.06.2020)

Внутрилабораторный производственный контроль стерильности.

Внутрилабораторный производственный контроль стерильности – это смывы с поверхностей лабораторного оборудования и рабочих поверхностей в бактериологическом отделе КДЛ на санитарные исследования.

1. Отбор проб производится с объектов (предметов и поверхностей) в режимных помещениях после завершения процедуры дезинфекции.
2. Для проведения смыва с поверхностей можно использовать:
3. Стерильный тампон на держателе, вмонтированный в пробирку со стерильной жидкостью (0,9% раствором хлорида натрия, 0,1% пептонной водой).
4. Тампон увлажняют стерильной жидкостью из пробирки, делают смыв с объекта и помещают в ту же пробирку.
5. При контроле мелких предметов смывы отбирают с поверхности всего предмета.
6. Одним тампоном можно производить смыв с нескольких однородных мелких предметов
7. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят с площади не менее 100 см² (квадрат 10*10 см), тщательно протирая поверхность.
8. Необходимо обращать внимание на места, труднодоступные для мытья и дезинфекции.
9. Емкости с пробами маркируются в соответствии с нумерацией, указанной в сопроводительной документации.
10. После доставки в бактериологический отдел лаборатории лабораторной посуды с отобранными на них пробами, персонал санитарно-бактериологического раздела должен зарегистрировать, принять в работу и проводить дальнейшие исследования проб в установленном порядке.

11. Для санитарно-бактериологических исследований качества гигиенической обработки рук в учреждениях здравоохранения могут быть использованы питательные среды лабораторного и промышленного приготовления, расходные материалы, биологические препараты, указанные в Методических указаниях МУК 4.2.2942-11.

21-22 день (03-04.06.2020)

В целях профилактики внутрибольничных инфекций (далее - ВБИ) в лечебно-профилактической организации) осуществляются дезинфекционные и стерилизационные мероприятия, которые включают в себя работы по профилактической и очаговой дезинфекции, обеззараживанию, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

Для проведения дезинфекционных и стерилизационных мероприятий ООМД (организация, осуществляющая медицинскую деятельность) должны регулярно обеспечиваться моющими и дезинфицирующими средствами различного назначения, кожными антисептиками, средствами для стерилизации изделий медицинского назначения, а также стерилизационными упаковочными материалами и средствами контроля (в том числе химическими индикаторами)

Дезинфекция – это комплекс мероприятий, направленных на уничтожение определенного вида патогенного или условно-патогенного микроорганизма в объектах внешней среды с помощью химических антисептиков, физических, биологических воздействий.

1. Химический метод дезинфекции: основан на применении разнообразных химических веществ, вызывающих гибель микроорганизмов. Его используют с целью обеззараживания различных объектов внешней среды, воздуха, биологических субстратов. При работе в

микробиологической лаборатории допускаются дез. растворы, разрешенные к применению на территории РФ.

2. Физический метод дезинфекции: обеспечивает удаление микроорганизмов с объектов путем воздействия физических факторов: высокой температуры горячего воздуха, пара под давлением, ультрафиолетовых лучей.

- Контроль стерильности в автоклаве – для проверки стерильности материала и работы автоклава используют химические индикаторы. При объёме автоклава до 100 литров используют 5 индикаторов, если объём автоклава больше 100 литров используют 11 индикаторов. Закладки производятся при каждом цикле.

- Термический контроль: проводят раз в полгода. Для контроля используют проверенный максимальный термометр с ценой деления не более 1 °С и диапазоном измерений, превышающим контролируемую температуру. Термометр размещают в пяти точках совместно с химическими индикаторами. После окончания цикла стерилизации и остывания термометра до комнатной температуры, снимают показания. Для определения истинного значения максимальной температуры цикла стерилизации к снятому с термометра показанию прибавляют соответствующую поправку, указанную в паспорте на данный термометр.

- Биологический контроль: этот вид контроля проводят 2 раза в год. Для этого используют биотесты, предназначенные для конкретного вида паровой или суховоздушной стерилизации.

23 день (05.06.2020)

Дезинфекция и стерилизация в Бактериологической лаборатории.

В целях профилактики внутрибольничных инфекций осуществляются дезинфекционные и стерилизационные мероприятия, которые включают в себя работы по профилактической и очаговой дезинфекции,

обеззараживанию, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

Для проведения дезинфекционных и стерилизационных мероприятий ООМД (организация, осуществляющая медицинскую деятельность) должны регулярно обеспечиваться моющими и дезинфицирующими средствами различного назначения, кожными антисептиками, средствами для стерилизации изделий медицинского назначения, а также стерилизационными упаковочными материалами и средствами контроля (в том числе химическими индикаторами).

Дезинфекция – это комплекс мероприятий, направленных на уничтожение определенного вида патогенного или условно-патогенного микроорганизма в объектах внешней среды с помощью химических антисептиков, физических, биологических воздействий.

В микробиологической лаборатории используют два метода дезинфекции:

1. Химический: основан на применении разнообразных химических веществ, вызывающих гибель микроорганизмов. Его используют с целью обеззараживания различных объектов внешней среды, воздуха, биологических субстратов. При работе в микробиологической лаборатории допускаются дез. растворы, разрешенные к применению на территории РФ.

2. Физический метод: обеспечивает удаление микроорганизмов с объектов путем воздействия физических факторов: высокой температуры горячего воздуха, пара под давлением, ультрафиолетовых лучей.

Контроль работы стерилизатора:

Для проверки стерильности материала и работы автоклава используют химические индикаторы. При объеме автоклава до 100 литров используют 5 индикаторов, если объем автоклава больше 100 литров используют 11 индикаторов. Закладки производятся при каждом цикле.

Термический контроль: проводят раз в полгода. Для контроля используют поверенный максимальный термометр с ценой деления не более

1 °С и диапазоном измерений, превышающим контролируемую температуру. Термометр размещают в пяти точках совместно с химическими индикаторами. После окончания цикла стерилизации и остывания термометра до комнатной температуры, снимают показания. Для определения истинного значения максимальной температуры цикла стерилизации к снятому с термометра показанию прибавляют соответствующую поправку, указанную в паспорте на данный термометр. Биологический контроль проводят 2 раза в год. Для этого используют биотесты, предназначенные для конкретного вида паровой или суховоздушной стерилизации. Пронумерованные пакеты с биотестами (содержат споры микроорганизмов) размещают в контрольных точках стерилизатора. После проведенной стерилизации в пробирки с биотестами вносят 0,5 мл цветной питательной среды, начиная со стерильной пробирки для контроля питательной среды и заканчивая контрольным тестом, не подвергавшимся стерилизации (контроль культур). Далее пробирки инкубируют. После чего проводят учет изменения цвета питательной среды. В контроле (стерильная проба) цвет среды не изменяется. В пробирке с контролем культуры цвет среды должен измениться на цвет, указанный в паспорте, что свидетельствует о наличии жизнеспособных спор. Работа считается удовлетворительной, если цвет питательной среды во всех биотестах не изменился (роста нет!). Результаты заносят в журнал и регистрируют.

Лабораторную посуду стерилизуют:

а) Сухим жаром при температуре 180°С 60 минут, паром под давлением 134°С 5 минут.

б) В автоклаве при давлении 1,6 атм. в течение 60 минут (126° С), для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм. (132°С). В форвакуумном автоклаве при 134°С 5 минут.

Стерилизация бактериальных петель. Бактериальные петли, сделанные из нихромовой проволоки, стерилизуют в пламени спиртовой или

газовой горелки. Такой способ стерилизации получил название прокаливания или фламбирования.

Подготовка к стерилизации и стерилизация бумаги, марли и ваты. Вату, марлю, фильтровальную бумагу стерилизуют в сухожаровой печи при температуре 160°C в течение часа от момента показания термометром данной температуры или в автоклаве при давлении 1 атм. в течение 30 минут. Перед стерилизацией бумагу и марлю нарезают кусочками, а вату сворачивают в виде шариков или тампонов нужной величины. После этого каждый вид материала в отдельности по одной или несколько штук заворачивают в плотную бумагу. При разрыве пакета стерилизованный материал следует стерилизовать повторно, так как стерильность его нарушается. Пробка ватно-марлевая для пробирок – нестерильный расходный материал, предназначенный для укупорки пробирок. Применяется в диагностических, исследовательских, аналитических лабораториях санитарного либо медицинского назначения при проведении микробиологических исследований и контроля органических сред. За счет фильтрующих свойств пробка ватно-марлевая для пробирок обеспечивает в лабораторную емкость доступ воздуха, лишённого посторонней микрофлоры, для возможности поддержания жизнедеятельности микроорганизмов.

Обеззараживание патогенных культур микробов. Пробирки и чашки, содержащие культуры микробов, не нужные для дальнейшей работы, складывают в контейнер с крышкой и сдают на обеззараживание. Культуры патогенных микробов убивают в автоклаве при давлении 1,6 атм. в течение 60 минут (126°C), для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм. (132°C). В форвакуумном автоклаве при 134°C 5 минут.

24 день (06.06.2020)

Сдача дневника.

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.		20		16			9			25			10			15		16	111
Изучение культуральных, морфологических св-в		5			9			10				8			12		7		51
Изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитической активности				6		5		7				8		11			6		43
Серодиагностика РА			3				2			6			5			4			20
РП				4					2			7			3			1	17
РСК					4			1						1					6
РИФ			1							5			1						7
РНГА																			7
Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;			30					40			70				50				190
участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований				1					3			4			2				10
Санитарная микробиология исследование воздуха		2					3					1	4		1				11

Санитарная микробиология исследование смывов с рук и объектов окружающей среды			3					1		1				2			1		8
--	--	--	---	--	--	--	--	---	--	---	--	--	--	---	--	--	---	--	---

ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ (ПРЕДДИПЛОМНОЙ) ПРАКТИКЕ

Ф.И.О. обучающегося Саксонова Валерия Игоревна

Группы 405 специальности Лабораторная диагностика

Проходившей преддипломную практику
с 11.05 по 06.06 2020 г.

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

Текстовой отчет

1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики:

Владение нормативно-правовой документацией.

2. Самостоятельная работа:

Теоретически изучила нормативные документы регламентирующие деятельность микробиологической лаборатории. Изучила классы медицинских отходов, способы их дезинфекции и утилизации. Ознакомилась с этапами приготовления питательных сред и контроля их стерильности. Изучила принципы проведения РП, РСК, РИФ, РНГА и РА. Ознакомилась с документацией связанной с санитарно-микробиологическим контролем в онкологическом диспансере.

3. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей:

Оказана в полном объеме.

4. Замечания и предложения по прохождению практики:

Нет.

Общий руководитель практики _____

(подпись)

(ФИО)

М.П.организации