**День 1**

 **22.06.18 год**

**Техника безопасности в бактериологической лаборатории.**

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.

Особенностью бактериологических работ является постоянное соприкосновение сотрудников лаборатории с заразным материалом, культурами патогенных микробов, заражёнными животными, кровью и выделениями больного. Поэтому все сотрудники бактериологической лаборатории обязаны соблюдать следующие правила работы, которые обеспечивают стерильность в работе и предупреждают возможность возникновения внутрилабораторных заражений:

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. В рабочих помещениях лаборатории запрещается курить, принимать пишу, ходить без надобности между столами и открывать форточки, чтобы не допускать циркуляцию микроорганизмов с током воздуха. В лабораторию нельзя вносить посторонние вещи. Портфели и сумки складывают в специально отведенном месте.

3. На рабочем месте размещают только оборудование, необходимое для выполнения конкретной работы. Студенты приступают к работе только с разрешения преподавателя и всю работу проводят в строгом соответствии с изучаемой методикой.

4. При использовании спиртовок необходимо следить за их герметичностью, не вынимать фитиль из горящей спиртовки, не зажигать одну спиртовку от другой, не пользоваться спиртовкой вблизи легковоспламеняющихся жидкостей. Не оставлять без надобности горящую спиртовку, пламя гасить только колпачком.

5. Студенты не должны включать и пользоваться электрическими приборами без разрешения преподавателя.

6. Во время работы в лаборатории на руках не должно быть колец, перстней и накладных ногтей. Ногти должны быть коротко острижены.

7. Во избежание инфицирования рук работать только бактериологической петлей и пинцетом. Использованные инструменты и предметы необходимо прожигать над пламенем горелки или помещать в дезинфицирующий раствор.

8. Использованные при лабораторных исследованиях предметные стекла, пипетки, шпатели сразу же погружают на одни сутки в банки с дезинфицирующим раствором, затем моют и кипятят. Отработанные чашки Петри и пробирки с посевами микроорганизмов собирают в биксы и передаются преподавателю для автоклавирования. Зараженный материал и ненужные культуры подлежат обязательному уничтожению, желательно в тот же день.

9. Уборку помещений лаборатории проводить влажным способом. Перед работой в боксе и предбоксе необходимо включать бактерицидные лампы. Поверхность стола протираем дез раствором.

10. Не допускается вынос инфицированного материала за пределы помещений лаборатории. Культуры микроорганизмов, необходимые для дальнейшей работы, хранятся в сейфе. При необходимости хранения бактериальных культур в холодильнике последний должен опечатываться.

11. В конце работы студент должен привести в порядок рабочее место, вымыть руки. Необходимо иметь индивидуальное полотенце или салфетки для вытирания рук.

Нормативно-правовая документация в соответствии которой осуществляется работа в лаборатории :

* СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами"
* СанПиН 2.1.3.2630-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность
* СанПиН 1.3.2322-08 Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней

**День 2**

**23.06.18 год**

Работа с дневниками и изучение нормативно-правовой документации.

**День 3**

**25.06.18 год**

**Дезинфекция и стерилизация .**

Дезинфекция –система знаний и совокупность мероприятий по полному или селективному уничтожению патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, спор и выделяемых токсинов.

При дезинфекции происходит уничтожение лишь вегетирующих (растущих и размножающихся) форм микроорганизмов. В этом ее отличие от стерилизации, при которой уничтожаются и споровые формы.

Для проведения дезинфекции обычно используются химические дезинфицирующие средства. Основные виды дезинфекции: профилактическая, текущая и заключительная дезинфекция .

* Профилактическая (мытьё рук, окружающих предметов с использованием моющих и чистящих средств, содержащих бактерицидные добавки)
* Текущая
* Заключительная

**Методы дезинфекции :**

1. Механические- предусматривает удаление заражённого слоя:

* влажная уборка;
* покраска и побелка помещений;
* мытье рук.

2. Физические-заключается в высокотемпературной обработке:

* ультрафиолетовое излучение
* воздействие сухого жара;
* воздействие пара.

3. Химические- метод позволяет обрабатывать медицинские предметы:

* дезинфекция с помощью специальных дезинфицирующих средств:
* протирание;
* погружение объектов дезинфекции в рабочий раствор дез.средства.

В конце рабочей недели в лаборатории проводится дезинфекция поверхности. Под микробным обеззараживанием понимается комплекс мероприятий, средств и методов, обеспечивающих снижение воздушного и поверхностного загрязнения рабочих помещений до требуемых уровней.

В нашей микробиологической лаборатории используют :

1. Дезинфицирующее средство - МДС – 3

2. Дезинфицирующее средство - НД – 106

3. Дезинфицирующее средство - септолит ДХЦ

4. Дезинфицирующее средство - Монитор Окси

5. Дезинфицирующее средство - СТГ- Премиум

Когда готовят растворы на них прописывают: что это за дезинфицирующее средство, процентность, срок годности, дату приготовления и до какого числа годен тот или иной раствор.

Спецобработка помещений, оборудования и различных объектов лаборатории подразделяется на ежедневную (текущую) и периодическую (генеральную).

Стерилизация — полное освобождение различных веществ, предметов, пищевых продуктов от живых [микроорганизмов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D0%BE%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%BC).

Весь процесс стерилизации состоит из трех этапов:

1. Дезинфекция медицинских принадлежностей.

2. Проведение тщательной предстерилизационной очистки.

3. Непосредственно стерилизация.

Осуществляется:

* + Воздушным методом (воздушный стерилизатор) Стерилизация происходит горячим воздухом. Режимы стерилизации: 1. Режим -основной(180℃- 60 минут - предназначен для стерилизации изделий из метала ) 2. Режим -щадящий(160℃-150минут - предназначен для стерилизации изделий из силиконовой резины)
	+ Паровым методом (автоклавирование) В автоклаве питательные среды дезинфицируются : при 120℃- 15 минут, при 110℃- 20-30 минут. Посуда стерилизуется при 120℃ 30 минут
	+ Прокаливанием -применяется для стерилизации пинцетов, шпателей, петель.

**Медицинские отходы**

Сбор, хранение и транспортировка медицинских отходов осуществляется согласно : СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами"

Классы и классификация медицинских отходов

Отходы Класса А – неопасные отходы

* отходы, не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными, нетоксичные отходы;
* пищевые отходы всех подразделений всех отделений ЛПУ, кроме инфекционных (в т.ч. кожно-венерологических), фтизиатрических;
* мебель, инвентарь, неисправное диагностическое оборудование, не содержащие токсических элементов;
* неинфицированная бумага, смет, строительный мусор и т.д.

Сбор отходов класса А осуществляется в многоразовые емкости или одноразовые пакеты. Пакеты для сбора отходов класса А — должны иметь белую окраску если белой нету то другие цвета кроме желтого и красного . Отходы класса А могут быть захоронены на обычных полигонах по захоронению твердых бытовых отходов, могут быть подвергнуты термическому обезвреживанию или вывезены на специальные полигоны.

Класс Б – Опасные отходы

* Потенциально инфицированные отходы.
* Материалы и инструменты, загрязненные выделениями
* Патологоанатомические отходы.
* Органические операционные отходы (органы, ткани и т.п.).
* Все отходы из инфекционных отделений (в т.ч. пищевые).
* Отходы из микробиологических лабораторий, работающих с микроорганизмами 3-4 группы патогенности.
* Биологические отходы вивариев.

Все отходы, образующие в этих подразделениях, после дезинфекции собираются в одноразовую герметичную упаковку желтого цвета. Мягкая упаковка (одноразовые пакеты) закрепляется на специальных стойках (тележках).

Класс В – Чрезвычайно опасные отходы

* Материалы, контактирующие с больными особо опасными инфекциями.
* Отходы из лабораторий, работающих с микроорганизмами 1-4 групп патогенности.
* Отходы фтизиатрических, микологических больниц.
* Отходы от пациентов с анаэробной инфекцией
* Сбор отходов данного класса осуществляется в одноразовую упаковку красного цвета. Мягкая упаковка (одноразовые пакеты) должна быть закреплена на специальных стойках (тележках).

Класс Г – Отходы, по своему составу близкие к промышленным

* просроченные лекарственные средства;
* отходы от лекарственных и диагностических препаратов;
* дезсредства, не подлежащие использованию, с истекшим сроком годности;
* цитостатики и другие химпрепараты;
* ртутьсодержащие предметы, приборы и оборудование.

Класс Д – Радиоактивные отходы

Все виды отходов, содержащие радиоактивные компоненты.

Сбор, хранение, удаление отходов данного класса осуществляется в соответствии с требованиями правил работы с радиоактивными веществами и другими источниками ионизирующих излучений, нормами радиационной безопасности, и других действующих нормативных документов, которые регламентируют обращение с радиоактивными веществами.

На базе нашей лаборатории существует 2 класса отходов, это:

1. Отходы класса А

2. Отходы класса Б

Пакеты под медицинский мусор должны меняться в каждую смену, при этом они должны быть заполнены не более чем на ¾ части от их объема.

Лаборатория подразделяется на зоны:

1. Заразная

2. Чистая

**День 4-6**

**26.06.18 -28.06.18 год**

**Приготовление питательных сред**

Требования, предъявляемые к средам:

1) Должны быть питательными, т. е. содержать в легко усвояемом виде все вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей

2) Быть стерильными

3) Быть прозрачными

4) Быть изотоничными для микробной клетки

Классификация питательных сред:

I. По исходным компонентам

* Натуральные(готовят из продуктов животного и растительного происхождения)
* Синтетические(готовят из определенных химически чистых органических и неорганических соединений, взятых в точно указанных концентрациях и растворенных в дважды дистиллированной воде)

II. По консистенции

* Плотные(применяют свернутую сыворотку крови, свернутые яйца, картофель, среды с силикагелем)
* Полужидкие(готовят из жидких, к которым для получения среды нужной консистенции прибавляют обычно агар-агар или желатин)
* Жидкие

III. По составу:

* Простые(относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду)
* Сложные(готовят, прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма)

IV. По назначению

* основные (общеупотребительные) среды- служат для культивирования большинства патогенных микробов. Это вышеупомянутые МПА, МПБ, бульон и агар Хоттингера, пептонная вода;
* специальные среды- служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых средах.
* элективные (избирательные) среды - служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они благоприятствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Среды становятся элективными при добавлении к ним определенных антибиотиков, солей, изменении рН.
* дифференциально-диагностические среды - позволяют отличить (дифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности. При росте микроорганизмов, расщепляющих углеводы, изменяется цвет среды;
* консервирующие среды- предназначены для первичного посева и транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание патогенных микроорганизмов и подавляется развитие сапрофитов. Пример такой среды - глицериновая смесь, используемая для сбора испражнений при исследованиях, проводимых с целью обнаружения ряда кишечных бактерий.

Питательные среды готовятся по прописи на банках !

Перед началом работы я переодевалась в спец одежду, мыла руки и только после этого я могла приступать к работе.

В данные дни я готовила среды: ЭНДО, ВСА, ПЛОСКИРЕВА, ПИЗУ, и ГМФ-АГАР, после этого я разливала их по пробиркам и чашкам Петри. Так же я стерильно разливала мочевину по Преусу и среду Олькеницкого, скашивала уже готовый ацетатный агар.

**День 7**

**29.06.18год**

**Постановка развернутой реакции агглютинации и на стекле.**

**Реакция агглютинации на стекле.**

В данный день я проводила реакцию агглютинации на стекле с сальмонеллезной сывороткой.

Для идентификации микроорганзма на обезжиренное предметное стекло наносят раздельно каплю известной агглютинирующей сыворотки, и каплю физиологического раствора. Затем бактериологической петлей берут бактериальную массу изучаемой культуры из колонии в чашке Петри или с поверхности скошенного МПА в пробирке и суспендируют раздельно в иммунной сыворотке и физиологическом растворе до получения гомогенной взвеси. Результат учитывают через 2-4 мин.

Учет результатов: в контрольной пробе изменения должны отсутствовать. При специфическом соответствии культуры бактерий иммунной сыворотке появляются хлопья агглютината = что является положительной реакцией.

++++ крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, жидкость в капле полностью прозрачная

+++ крупнохлопчатый хорошо выраженный агглютинат, жидкость в капле не полностью прозрачна

++ агглютинат слабо выражен , жидкость в капле мутная

+ следы агглютината , жидкость в капле мутня

- отрицательный результат гомогенно мутная жидкость в капле

Исследуемую культуру относят к соответсвующей ОК-группе, если на стекле получена РА с сывороткой этого типа не ниже чем на 3(+)

**Развернутая реакция агглютинации**

Развернутая реакция агглютинации –проводится в пробирках. Вначале готовят 2-хкратные разведения сыворотки крови больного человека от 1:50 до 1:1600. В 6 пробирок наливают по 1 мл изотонического раствора хлорида натрия. В первую пробирку вносят 1 мл сыворотки крови больного в разведении 1:50, перемешивают и получают разведение 1:100, затем 1 мл разведения 1:100 переносят во вторую пробирку и получают разведение 1:200 и т.д. Две пробирки оставляют для контроля антигена и сыворотки. В контроль сыворотки добавляют только сыворотку в разведении 1:50, в контроль антигена – только антиген. Во все остальные пробирки добавляют 0,1 мл антигена - диагностикума (О- или Н-) и ставят все пробирки в термостат при 37°С на 18-20 часов.

Реакцию учитывают невооруженным глазом до встряхивания пробирок, а затем при их легком встряхивании пальцем правой руки. Опытные пробирки сравниваются с контролями:

КА - равномерное помутнение, исключается спонтанная агглютинация антигена. КС — содержимое прозрачное, отсутствие спонтанной агглютинации антител. При таких контролях результаты РА, положительные или отрицательные, будут достоверными. Интенсивность реакции выражается плюсами:

++++ 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 мутнее. Результат реакции сомнительный;

на дне пробирки незначительный осадок, жидкость мутная. Сомнительный результат реакции;

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

При постановке развернутой РА, получена РА—, которая опровергает диагноз сальмонеллез.



**День 8**

**30.06.18 год**

Работа с дневниками и изучение нормативно-правовой документации.

**День 9**

**02.07.18 год**

**ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ РНГА**

Я проводила постановку реакции РНГА с сальмонеллезным диагностикумом.

Серологическое исследование выявляет наличие в крови антител к соматическому О-антигену серо-группы Salmonella и позволяет диагностировать инфекционное заболевание пищеварительной системы - сальмонеллез.

Выполняя серологический анализ методом РНГА (реакцией непрямой гемагглютинации) в лунках лабораторного планшета титруем исследуемую сыворотку, начиная с 1:20 и далее с двукратным увеличением. Затем вносим пипеткой эритроцитарные сальмонеллезные О-антигенные (серии А, В, С-1, С-2, D, Е) диагностикумы. Оставляют при температуре +37°С на определенное время и учитывают итог скрининга: при положительном результате стандартные эритроциты склеиваются и выпадают в осадок.

Интенсивность реакции зависит от количества осаждённых эритроцитов на дне образованных лунок:

– отрицательная реакция, которая характеризуется осаждением эритроцитов на дно лунок в виде небольшого колечка с гладкими краями или «пуговки»

+ слабая интенсивность, для данной реакции характерны небольшие одиночные отложения на дне лунки. Неагглютинированные эритроциты образовывают «маленькое колечко» в центре лунки

++ средняя интенсивность, ей свойственно образование на дне лунки «широкого плотного кольца» из неагглютинированных эритроцитов

+++ интенсивная реакция, агглютинированные эритроциты образуют так называемые «зонтики», в центре которых, явно видны кольца, образованные осевшими неагглютинированными эритроцитами

++++ резко интенсивная реакция, в которой агглютинируются все эритроциты и, образуя «зонтики», выстилают дно лунок

**День 10**

**03.07.18год**

**ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ**

В начале рабочего дня я занималась разливом уже готовых сред: Эндо, ВСА и мочевины. Так же штамповала простиролизованные инструменты и проверяла прошли ли они стерилизацию.

После выполнения данной работы я ознкомилась и провела реакцию преципитации.

Реакция преципитации, предложенная для определения токсичности коринебактерий дифтерии, ставится на фосфатно-пептонном агаре в чашке Петри. Вдоль ее посередине помещают полоску стерильной фильтровальной бумаги, смоченной антитоксической сывороткой. После подсушивания на расстоянии 1 см от края полоски бляшками диаметром 10 мм подсевают выделенные культуры. В одной чашке можно сеять от 3 до 10 культур, одна из которых, контрольная, должна быть заведомо токсигенной. Посевы помещают в термостат.

Учет реакций проводят через 24-48-72 ч. Если культура токсигенная, на некотором расстоянии от полоски бумаги возникают линии преципитата, совпадающие с линиями преципитата контрольной культуры. Они имеют вид «стрел-усиков», которые хорошо видны в проходящем свете.

**День 11**

**04.07.18год**

По приходу в лабораторию я переоделась в спец одежду и помыла руки перед работой.

Для начала я приготовила среду ЭНДО, затем разлила ее по чашка петри. Затем Питательный агар ГМФ.

После окончания данной работы я изучита как производится изучение культуральных свойств бактерий.

**Культураньные свойства.**

Выращивание бактерий в искусственных условиях положило начало целому направлению их изучения – исследованию бактериальных культур и их свойств. Оказалось, что существуют выраженные видовые различия в [форме колоний](https://probakterii.ru/prokaryotes/raznoe/kolonii-bakterij.html) и типе [роста бактерий](https://probakterii.ru/prokaryotes/vital-functions/fazy-rosta-bakterij.html) при их выращивании на плотной и жидкой [питательной среде](https://probakterii.ru/prokaryotes/raznoe/pitatelnaja-sreda-dlja-bakterij.html).

 К культуральным свойствам относятся внешний вид и форма колоний (это называется морфологией колоний), способ роста на плотной и жидкой питательной среде, требования к ее составу, характеризующие потребность бактериальных колоний в субстратах и витаминах, аэробных или анаэробных условиях.

Культуральную характеристику роста бактериальных колоний на питательной среде дают после их визуального осмотра. Они могут иметь массу морфологических и культуральных различий, кроме того, способны меняться с течением времени. Молодые и старые колонии бактерий всегда описывают по культуральным свойствам отдельно:

1. Размеры колонии. Она может быть очень мелкой, мелкой, средней и большой. Диаметр измеряется в миллиметрах и может находиться в диапазоне от 0,1 до 5 и более. Колонии, не превышающие 1 мм в диаметре, называются точечными.

2. Цвет, а также способность к выделению красящего пигмента в окружающую среду.

3. Поверхность. Она бывает гладкой, шероховатой, бугристой или же вовсе складчатой.

4. Профиль колонии : выпуклая, конусовидный или плоский.

5. Структура колонии. Бывает однородной, струйчатой, крупнозернистой или мелкозернистой.

6. Оптические свойства : прозрачная, полупрозрачная, непрозрачная, флуоресцирующая, матовая или блестящая;

7. Консистенция. Колония может быть вязкой или жидкой, тестообразной или пленчатой, маслянистой или хрупкой.

8. Край колонии : ровный, лопастной, ризоидный, волнистый, зубчатый .

Посмотрела на примеры показанные мне попыталась определитьих культуральные свойства.

После этого я стирильно разлила мочевину по Преусу в пробирки и подписала их.

**День 12**

**05.07.18год**

Дифференцированный зачет.