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

# Дневник

Учебной практики
по МДК 07.06. «Клиническая микробиология»

Каер Кристины Александровны

ФИО

Место прохождения практики

КГБУЗ «Красноярский краевой противотуберкулезный диспансер №1», бактериологическая лаборатория

(медицинская организация, отделение)

с «02» декабря 2019 г. по «07» декабря 2019 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) Виноградова Е.В.

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) Скворцова А.А.

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

Красноярск, 2019

# 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 лабораторных / химических исследований)

8. Отчет (цифровой, текстовой)

## Цели и задачи практики:

Цель состоит в закреплении и углублении теоретической подготовки обучающегося, приобретении им практических умений, формировании компетенций, составляющих содержание профессиональной деятельности медицинского технолога.

Задачи:

1.Организация работы среднего медицинского персонала;
2.Формирование основ социально-личностной компетенции путем приобретения студентом навыков межличностного общения с медицинским персоналом и пациентами;
3. Учет и анализ микробиологических показателей;
4.Обучение студентов оформлению медицинской документации;
5.Закрепление навыков общения с больным с учетом этики и деонтологии в зависимости от выявленной патологии и характерологических особенностей пациентов.

## Программа практики.

В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно принимать, маркировать и регистрировать биоматериал
Готовить питательные среды, проводить подготовку оборудования и посуды для исследования.
Микробиологическое исследование сердечно-сосудистой системы, глаз, ушей, пищеварительной системы, дыхательной системы и ЦНС.
Микробиологическое исследование инфицированных ран и мочеполовой системы.

## По окончании практики студент должен представить в колледж следующие документы:

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

**В результате учебной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- применения техники бактериологических, вирусологических, микологических и иммунологических исследований.

**Освоить умения:**

- принимать, регистрировать, отбирать клинический материал
- готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических исследований;
- осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования;
- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры;

**Знать:**

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории;
-основы техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории; нормативно-правовую базу по соблюдению правил санитарно- эпидемиологического режима в микробиологической лаборатории;
- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в лаборатории микробиологических исследований;

# День 1 (02.12.19)

Производственную практику прохожу КГБУЗ ККПТД №1 Бактериологическая лаборатория, общий руководитель – И.О. главной медицинской сестры Виноградова Елена Витальевна, старший лаборант - Скворцова Анна Анатольевна провела знакомство с персоналом и документацией. Также был проведен инструктаж по технике безопасности в бактериологической лаборатории.

**Общие положения:**

1. На работу в бактериологическую лабораторию принимаются лица не моложе 18 лет.
2. С принимаемыми на работу лицами проводят вводный первичный инструктаж на рабочем месте по вопросам охраны труда и режима работы лаборатории. Инструктаж проводит руководитель лаборатории. При внедрении новых методов и приёмов работы, а также при освоении нового вида оборудования проводится дополнительный инструктаж. Повторный инструктаж по технике безопасности и противопожарной безопасности проводится 2 раза в год.
3. Все виды инструктажа и обучения должны проводится согласно «Инструкции о проведении инструктажа по безопасным приёмам и методам работы в учреждениях системы МЗ СССР» №494 от 20.06.1968 г. И согласованной ЦК профсоюза медработников 24.04.1968 г. протокол № 6.
4. Ознакомление с настоящими «Правилами» должно быть проведено под расписку каждого сотрудника в специальном журнале.
5. Сотрудники лаборатории должны проходить 2 раза в год диспансеризацию с обязательной флюрографией органов грудной клетки.

**Требования безопасности перед началом работы:**

1. Персонал, приступая к работе, должен соблюдать правила ТБ и безопасные методы работы.
2. Каждый сотрудник лаборатории должен иметь закреплённое за ним рабочее место. Перед началом работы следует одеть спецодежду, которая хранится в индивидуальных шкафчиках раздельно с верхней одеждой.
3. Проверить укомплектованность рабочего места необходимыми материалами, визуально проверить исправность оборудования, применяемого при работе.

**Требования безопасности во время работы:**

1. Распаковка материала, присланного в лабораторию для исследования, проводится с соблюдением мер предосторожности: банки и пробирки, содержащие материал, обтираю дезинфицирующим раствором и ставят на металлические подносы или штативы.
2. Посев инфекционного материала в пробирки и чашки Петри производят вблизи от огня горелки с обжиганием петли, пипетки, краев пробирки.
3. При посеве инфекционного материала делают подпись на пробирках, чашках с указанием номера анализа, дата посева, название материала.
4. Во время работы все чашки с посевами помещают в кюветы или на подносы, а пробирки – в штативы. Размещение посевов патогенных бактерий непосредственно на столах не допускаются.
5. При работе со спиртовкой или с легко воспламеняющимися жидкостями необходимо иметь под рукой одеяло, плотную ткань и т.д. для быстрого тушения огня в случае аварии.

6. Для предотвращения переутомления и порчи зрения при микроскопировании необходимо обеспечить правильное освещение поля зрения, не закрывать не работающий глаз работать попеременно то одним, то другим глазом и делать перерывы на 5 минут через пол часа работы.
7. Насасывание в пипетки растворов и жидкостей, содержащих возбудителей инфекционных заболеваний, производят с помощью резиновой груши насасывание ртом не допускается.

**Требования безопасности по окончанию работы:**

1. По окончанию работы запрещается оставлять на рабочих столах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с инфекционным материалом.
2. По окончании работы персонал лаборатории обязан произвести дезинфекцию рабочего стола и рук, боксы. В конце рабочего дня производится влажная уборка всего помещения в лаборатории. Полы моют с применением дезинфицирующего раствора. Стены, двери, полки, подоконники, окна, шкафы и т.д. – дезинфицирующим раствором. Помещения боксов не менее раза в неделю моют горячей водой с мылом, дезинфицирующим раствором.
3. По окончанию рабочего дня термостаты, холодильники, шкафы или двери рабочей комнаты, где они находятся, необходимо пломбировать или заперать.
4. После окончания работы и уборки помещения облучают бактерицидными лампами в течении 30 – 60 минут. Мощность облучения должна составлять 2,5 ват на 1м3.

**В лаборатории запрещается:**

1. Оставлять без присмотра зажженные горелки и другие нагревательные приборы, держать вблизи горящих горелок вату, марлю, спирт и другие воспламеняющиеся вещества.
2. Убирать случайно пролитые огнеопасные жидкости при зажженных горелках и включенных электронагревательных приборах.
3. Пробовать на вкус и вдыхать неизвестные вещества.
4. Наклонять голову над сосудом, в котором кипит или в который налито быстро испоряющаяся жидкость.
5. Хранить и применять реактивы без этикеток.
6. Хранить в рабочих помещениях какте либо вещества неизвестного происхождения.
7. Курить, хранить и принимать пищу, а также в боксах и комнатах, предназначенных для работ с инфекционным материалом, выращивать цветы в вазонах.
8. Работать без специальной или санитарной одежды и предохранительных приспособлений.

**Мероприятия при авариях и несчастных случаях:**

1. При авариях и несчастных случаях, связанных с ранением, ожогом, инфицированием или отравлением – немедленно сообщить зав.лаборатории.
2. В лаборатории должны находится укомплектованные аптечки на случай необходимости оказания медицинской помощи.

   В аптечке следует помещать: этиловый спирт, йод, сухой марганцево-кислый калий, перевязочные средства, сухие навески протаргола и азотно-кислого серебра, необходимый набор антибиотиков специфического действия с неистёкшим сроком годности.

_____

подпись

# День 2 (03.12.19)

Пришла на практику обязательно надеваем спецодежду (халат, чепчик, сменку, маску, перчатки), подготавливала рабочее место, обработав его дезраствором «Форсаж» 2%.

Проводили знакомство с отделами бактериологической лаборатории.

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.

В состав лаборатории входят производственные и вспомогательные помещения, лаборатория делится на «заразную» и «чистую» зоны. Общая площадь всех помещений составляет 327,74 кв.м.

**«Чистая» зона:**

1 этаж: кабинет заведующей лаборатории, материальная, стерилизационная, лаборантская, средоварочная, сан.пропускник, комната для мед.персонала, моечная, чистая автоклавная, кладовая уборочного инвентаря, санузел.

**Подвальное помещение:**

Гардероб для верхней одежды, гардероб для домашней одежды, архив, кладовая инвентаря, помещение установки вентиляции.

**«Заразная» зона:**

Кабинет для приёма проб, посевной кабинет с двумя боксами центрифуг, термальная с тамбуром, кабинет для описания и просмотра культур МБТ, кабинет для определения лекарственной чувствительности МБТ с боксом, кабинет для приготовления мазков с боксом, кабинет санитарной микробиологии с боксом, кабинет для изучения неспецифической микрофлоры с боксом, кабинет люминесцентной микроскопии, «заразная» автоклавная, кладовая дезинфицирующих средств, комната для приготовления дезинфицирующих растворов, комната для слива отработанного диагностического материала, кладовая уборочного инвентаря «заразной» зоны.

На границе «чистой» и «заразной» зон установлена изолирующая перегородка с дверью, обустроен санпропускник.

Варили питательные среды такие как:

***Среда Левенштейна - Йенсена***

Среда Левенштейна-Йенсена применяется во всем мире в качестве стандартной среды для первичного выделения возбудителя туберкулеза и определения его лекарственной чувствительности.

**Приготовление среды.** В большую стерильную емкость, соблюдая правила стерильности, помещают следующие растворы:

1. Раствор минеральных солей - 600 мл
2. Гомогенизированная яичная масса - 1000 мл
3. Тщательно перемешиваем и фильтруем через 4-хслойный стерильный марлевый фильтр.
4. Добавляем 20 мл раствора малахитового зеленого, тщательно перемешиваем, избегая образования пены, и в течение не более 15 минут разливаем в пробирки приблизительно по 5 мл, следя за тем чтобы в растворе не сформировался осадок. Для свертывания среды используются специальные аппараты-свертыватели типа "АСИС". Штативы устанавливают в свертыватель и проводят коагуляцию при 85°С в течение 45 минут. Приготовление питательной среды проводится в условиях соблюдения стерильности так как свертывание является не стерилизующей, а лишь коагулирующей процедурой.

***Среда Эндо***

Приготовление среды Эндо:

При изготовлении среды Эндо берем 5 г порошка на 100 мл дистиллированной воды, нагреваем до его растворения и кипятим 5 мин.

На этой среде можно легко отличить кишечную палочку, паратифозных бактерий.

***Кровяной агар*** - готовится из обычного мясопептонного агара. Агар расплавляем, охлаждаем до 42—45°С, добавляем 5% кроличьей крови. Разливаем над спиртовкой в чашки Петри равномерным слоем.

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

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

После средоварки разливали питательные среды по чашкам Петри и пробиркам.

Изготовленные среды помещают в холодильник.

После проделанной работы проводила уборку рабочего стола дезраствором, сняв перчатки и выкинув их в отходы класса «Б» после помыла руки и обработала их антисептиком.

**Микробиологическое исследование сердечно-сосудистой системы**

Точный диагноз устанавливают только при обнаружении возбудителей в крови пациентов. Важное условие — своевременный забор пробы. Для проведения анализа используют только венозную кровь, наиболее адекватные результаты получают при двух или трёхкратном заборе крови по 20-30 мл с интервалом 3-4 ч.

Кровь немедленно помещают в сосуд с питательной средой (не меняя иглы) в соотношении 1:10 и перемешивают. Отобранный материал быстро доставляют в лабораторию, сохраняя при комнатной температуре. Образцы крови замораживать нельзя. Для культивирования образцов используют обогащённые питательные среды.

При подозрении на конкретную инфекцию можно использовать соответствующие среды, например, среду для выращивания бруцелл. Посевы проводят в 2 сосуда (по 5 мл крови в каждом) для дальнейшего культивирования в аэробных и анаэробных условиях. Посевы инкубируют при температуре 35-37 °С и в течение 7 дней ежедневно осматривают. Помутнение среды указывает на рост бактерий; при отсутствии роста проводят повторное исследование на 14-й день. Факт циркуляции грибов в кровотоке устанавливают посевом крови больного на питательные среды. Для обнаружения простейших проводят микроскопию мазков крови, окрашенных по Романовскому -Гимзе или Райту.

На бактериемию или септицемию указывают следующие признаки. Повторное выделение одних и тех же микроорганизмов (в том числе и в больших

количествах) при заборе крови из разных мест. Обнаружение представителей кожной флоры (например, стафилококков или дифтероидов) в нескольких пробах, особенно при наличии сосудистых катетеров или протезов.

Выявление «ожидаемых» микроорганизмов (например, зеленящих стрептококков) при подозрении на эндокардит.

Обязательно выдерживают соотношение крови и среды 1:10. посевы помещают в термостат и инкубируют в течение 10 суток. Просмотр посевов проводят ежедневно. О наличии микроорганизмов свидетельствуют помутнение среды, осадок эритроцитов и хлопьевидный осадок на их поверхности, пленка на поверхности, гемолиз эритроцитов.

При наличии роста делают высевы на чашки с 5% -ным кровяным агаром. Затем изучают колонии, делают посев на скошенный агар для накопления и идентификации культуры, определяют чувствительность к антибиотикам.

**Интерпретация результатов:**

1. Анализ можно считать отрицательным, если по пришествии 10 дней после посева крови роста микроорганизмов не обнаружено, выделение патогенных видов свидетельствует об их этиологической роли в заболевании.
2. При выделении условно-патогенных микроорганизмов следует учитывая идентичность гемокультуры с культурами, выделенными из другого материала от этого больного.
3. Для определения истиной этиологической роли микроорганизмов необходимо учитывать следующие факторы:

-присутствие бактерий в материале из патологического очага в количестве не менее 105 КОЕ мл/г;
-обнаружение одного и того же микроорганизма в посевах двух и более проб крови;
-нарастание в 4 раза и более титра антител в сыворотке больного к аутоштамму.

**Микробиологическое исследование глаз:**

Первичные посевы на жидких питательных средах, присланные в лабораторию, помещают в термостат при 37°С. Материал, взятый тампоном, с обильным гнойным отделяемым засевают на чашки с 5% кровяным агаром и «среду для контроля стерильности». Термостатирование проводится при 37°С в эксикаторе со свечой. На второй день при появлении роста в бульоне изучают характер роста и проводят бактериологическое исследование с окраской по Граму. В зависимости от морфологии микроорганизмов делаются высевы на элективные питательные среды для выделения чистых культур с последующей идентификацией и определением чувствительности. При наличии роста на 5% кровяном агаре изучают тинкториальные свойства выросших колоний; морфологию бактериоскопическим методом с окраской по Граму. Проводят качественную и количественную оценку бактериального роста. Производят отсев отдельных колоний на элективные среды с целью их идентификации и определения чувствительности. При отсутствии роста в первые сутки посевы оставляют в термостате, ежедневно просматривают их. Окончательный ответ об отсутствии роста выдают через трое суток.

**Интерпретация результатов:**

При интерпретации результатов микробиологического исследования глаз необходимо учитывать контингент обследованных больных, анамнез, клинические

проявления болезни. Необходимо учитывать, что гонококки являются одной из частых причин острых гнойных конъюнктивитов у взрослых и особенно у детей.
Кератоконъюнктивитам, вызванным нормальной микрофлорой конъюнктивы, носоглотки, ротовой полости часто предшествует вирусная инфекция верхних дыхательных путей, аллергические риниты, травмы, оперативные вмешательства, а также использование промывных растворов, инфицированных госпитальными штаммами. Конъюнктивит наружных углов глаза (Кох-Уикса) часто вызывается микроорганизмами рода Moraxella lacunata. Слабая воспалительная реакция может быть вызвана и непатогенными микроорганизмами рода Corynebacterium, но в таких случаях наблюдается более обильный рост микроорганизмов, чем при исследовании нормальной конъюнктивы. Длительное местное применение антибиотиков приводит к выделению грибов рода Candida и Aspergillus.

**Микробиологическое исследование ушей:**

Бактериоскопия нативного материала. Проводят с целью обнаружения друз и элементов гриба при подозрении на микоз методом "раздавленной капли".

Во всех случаях исследования окрашивание мазков проводят по Граму. При подозрении на туберкулез - окрашивают методом Циль-Нильсена, на актиномикоз - по Романовскому-Гимзе. При положительных находках может быть дан ориентировочный ответ. Дальнейший ход микробиологического исследования определяется видом предполагаемого возбудителя. Так как хронические гнойные отиты вызываются различными микроорганизмами, в первый день исследования необходимо производить посев на несколько питательных сред: 5% кровяной агар, Среда Сабуро, Среда для контроля стерильности, Шоколадный агар (при грудных детях).

**Интерпретация результатов:**

При выявлении специфических возбудителей интерпретация результатов не вызывает трудностей. В других случаях, когда процесс вызывается условно-патогенными бактериями, необходимо применение количественных критериев оценки. Преобладающий в мазке нативного материала, окрашенного по Граму, вид микроба, массивность роста однотипных колоний, повторность выделения культур дают возможность сделать заключение о возможном возбудителе процесса. Необходимо иметь в виду, что в процессе лечения антибактериальными средствами нередко происходит замена бактериальной флоры на грибковую.

## День 3 (04.12.19)

Принимала и регистрировала биоматериал.

Регистрируют биоматериал в лабораторной информационной системе qMS.

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

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

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

Прием биоматериала: медсестра приносит в специальном контейнере с хладогентом биоматериал. Бланки направлений и сопроводительные листы транспортируются отдельно от диагностического материала, сверяем данные в направлении и помещаем биоматериал в контейнер отделения который указан в направлении.

**Микробиологическое исследование пищеварительной системы.**

Питательные среды для первичного посева: 5% кровяной агар, среда Эндо, "среда для контроля стерильности" или среда Тароцци, селенитовый бульон для накопления сальмонелл или шигелл.

Первый день: по 0,1 мл каждой порции желчи высевают на чашку с кровяным агаром; по 0,5 мл - на чашку со средой Эндо; в соотношении 1:9 - в селенитовый бульон (среда накопления). Для обеспечения роста анаэробов посев производят на "среду для контроля стерильности" или в две пробирки со средой Тароцци, одну из пробирок прогревают на водяной бане 20 минут при 80°С для уничтожения аэробной флоры. Посев и исходный материал (все порции сливают в одну пробирку) помещают в термостат при 37°С.

Второй день: учитывают результаты первичных посевов. В случае бактериального роста на кровяном агаре подсчитывают количество колоний каждого вида, пересчитывают на 1 мл исследуемого материала и после бактериоскопии окрашенных по Граму мазков проводят дальнейшую идентификацию культур и определяют чувствительность к антибиотикам. При подозрении на рост анаэробных культур посевы инкубируют в анаэростате, заполненном инертным газом. В случае выделения анаэробов проводят их дальнейшее изучение. При отсутствии роста на среде Тароши наблюдение ведут 5 дней. С целью выделения сальмонелл в последующие 3 дня делают высевы на элективные среды (висмут сульфитный агар) как со среды накопления, так и из нативной желчи, которая в течение трех дней выдерживается в термостате.

**Интерпретация результатов:**

Наиболее достоверным является исследование желчи, полученной вовремя операции. При дуоденальном зондировании возможна контаминация желчи микрофлорой ротовой полости и верхних отделов пищеварительного тракта. Необходимо проводить количественное определение каждого вида бактерий в 1 мл желчи, т.к. по степени микробного обсеменения можно судить о локализации воспалительного процесса и более объективно оценивать его динамику при повторных исследованиях. Выделение золотистого стафилококка в значительном количестве может свидетельствовать о наличии печеночного или диафрагмального абсцесса. Обнаружение в дуоденальном содержимом сапрофитных нейссерий и дрожжеподобных грибов свидетельствует о контаминации желчи микрофлорой ротовой полости.

## День 4 (05.12.19)

Проводили микробиологическое исследование возбудителя туберкулёза.

Материалом для исследования служила мокрота, которую собирают в широкогорлую стеклянную баночку с завинчивающийся пробкой.

Перед посевом центрифугируем мокроту 10 минут при 2000 об/мин.

Посев мокроты на жидкие и плотные питательные среды.

Микроскопическое и культуральное исследования должны производиться параллельно только из одной и той же пробы диагностического материала.

Перед процедурой посева подготавливаем пробирки с питательными средами, пронумеровываем их, согласно нумерации анализов, и последовательно располагаем в вертикальном штативе. Для исследования берутся пробирка MGIT, и 2 пробирки с яичной средой Левенштейна – Йенсена, Финн-2 и предметное стекло для микроскопии осадка, которым задаётся единый регистрационный номер. В стерильных условиях добавляем во флакон с лиофилизированными антибиотиками PANTA 15 мл обогатительной добавки OADS, перемешиваем. Переносим 0,8 мл полученной смеси PANTA/OADS в каждую пробирку MGIT. Вносим по 0,5 мл осадка диагностического материала в пробирку MGIT,

и параллельно производим посев на плотные питательные среды Левенштейна – Йенсена и Финн-2, 0,1 мл осадка диагностического материала перенесим на предметное стекло, после высыхания нужно произвести окраску флюрохормными красителями. Произвести загрузку пробирки MGIT в анализатор BACTEC MGIT 960. Для загрузки пробирок требуется следующее:

- Открыть один из ящиков прибора MGIT и нажать кнопку под иконкой «Загрузка пробирок», при этом должна загореться лампа сканера для считывания штрих-кода с пробирки.
- Поднести пробирку к сканеру и считать штрих-код. Установить пробирку MGIT с посевом в станцию, который указал прибор (нужная станция будет помечена зелёным свечением индикатора станции).
- Проверять ежедневно показания прибора на предмет наличия положительных и отрицательных результатов.
- Протокол исследования длится 6 недель.

Интерпретация результатов на жидких питательных средах:

О положительной пробирки прибор сообщает появлением красной индикации на наружной панели соответствующего ящика и значка «+», а также звуковым сигналом. При наличии индикации о положительном результате необходимо открыть указанный ящик, нажать клавишу под иконкой «извлечь положительные пробирки», извлечь пробирку из указанной прибором ячейки, считать штрих-код извлеченной пробирки. Следует просмотреть пробирку и визуально определить наличие роста микобактерий.

Обычно в жидкой среде микобактерии растут в виде своеобразное «зернистости или белых хлопьев, при этом прозрачность среды может почти не меняться. Как правило, рост микобактерий сосредоточен на дне пробирки. Сильное помутнение среды может свидетельствовать о наличии контаминации посторонней флоры.

*Анализатор BACTEC MGIT 960*

*Пробирки MGIT с исследуемым материалом*

*Пробирки MGIT без исследуемого материала*

Посев на плотные питательные среды Левенштейна – Йенсена и Финн-2 производится следующим образом: набираем стерильной градуированной одноразовой пипеткой 1,0-1,2 мл подготовленного осадка, вносим равные объемы набранного материала (примерно по 0,5-0,6 мл) в 2 пробирки с разными плотными питательными средами, соблюдая условия стерильности. Пробирки с питательной средой находятся в наклонном положении (под углом 40-45◦). Посевной материал наносим на верхнюю треть косяка питательной среды. Засеянные пробирки закрываем ватно-марлевыми пробками и помещаем в вертикальном положении в штатив таким образом, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей поверхности косяка питательной среды. Использованную для посева и приготовления мазка пипетку опускаем в ёмкость с дезинфицирующим раствором. Пробирки с плотной питательной средой ставим в термальную при температуре 37◦. Инкубацию проводят в течение 12 недель при обязательном еженедельном просмотре. При отсутствии роста посевы должны выдерживаться в термостате в течение 12 недель. Отрицательный результат культурального исследования может выдан по истечению этого срока инкубации.

**Микробиологическое исследование дыхательной системы:**

Основная питательная среда: 5% кровяной агар, желточно-солевой агар. Шоколадный агар. Среда Эндо. Среда Сабуро.

Мокроту выливают в чашку Петри. С помощью стерильных металлических толстых игл с утолщенными концами (типа зубного зонда) выбирают 2-3 гнойных комочка мокроты. С целью очистки комочков мокроты от наслоившихся обитателей верхних дыхательных путей и ротовой полости их трехкратно отмывают в стерильном физиологическом растворе, после чего засевают на питательные среды. Посевы помещают в термостат при 37°С.

Содержимое бронхов, полученное при бронхоскопии или при отсасывании через трахеостому, засевают как мокроту, но без предварительного отмывания гнойных комочков физиологическим раствором. При отсутствии комочков гноя и слизи производят посев материала, набирая его пастеровской пипеткой.

Материал из глотки, носа и ротовой полости засевают так же, как мокроту.

Посевы исследуемого материала просматривают после 18-24-часовой инкубации при 37°С. Учитывают количество выросших колоний, соотношение отдельных ассоциантов, описывают характер колоний. Выделяют чистые культуры микроорганизмов, проводят их идентификацию и определяют чувствительность к антибактериальным препаратам.

**Интерпретация результатов:**

При воспалительных процессах дыхательных путей, когда высеваются условно-патогенные микроорганизмы, интерпретация полученных результатов представляет определенные трудности. Следует учитывать, что наличие или отсутствие в исследуемом материале микроорганизмов не может иметь решающего значения для диагноза. Особое значение принадлежит количественной оценке роста различных видов микроорганизмов, выросших при первичном посеве на плотных питательных средах. Количественный метод обеспечивает выделение чистых культур микроорганизмов и дает возможность судить более точно об этиологической значимости выделенных микроорганизмов.

**Микробиологическое исследование ЦНС:**

Спинномозговую жидкость центрифугируют 5 минут при 3500 об/мин и из осадка делают мазки. Если присланная жидкость мутная, мазки готовят без центрифугирования.

Питательные среды для первичного посева: Сывороточный агар, 5% кровяной агар, «Среда для контроля стерильности», Шоколадный агар, Простой агар.

Первый день: проводят посев 2-4 капель гнойного ликвора на чашку со свежеприготовленным сывороточным агаром, на чашку с кровяным агаром, простым агаром, на среду для контроля стерильности. Капли материала слегка растирают подогретым шпателем на поверхности агара. После этого одну чашку с простым агаром помещают в термостат в обычной атмосфере при 37 градусах, а 2 другие инкубируют при повышенной концентраций $CO_2$. Для этого чашки помещают в эксикатор со свечой.

В пробирку, к оставшимся от посева и микроскопирования осадку, добавляют 5мл стерильного 0,1% полужидкого агара и помещают в термостат для накопления.

На второй день: просматривают сделанные накануне посевы спинномозговой жидкости. При появлении роста на плотных питательных средах изучают характер роста, морфологию выросших бактерий при окраске по Грамму.

У бактерий, выросших на плотных питательных средах, определяют чувствительность к антибиотикам, а также проводят отсевы на элективные среды для получения чистой культуры с последующей их идентификацией.

При отсутствии роста колоний на твердых средах делают высев из среды накопления на чашку с сывороточным агаром и кровяную чашку.

Твердые среды с посевами ликвора при отсутствии роста на протяжении 24 часов надо инкубировать в течении 3-6 дней. При отрицательных результатах высевы повторяют через 8-10 дней.

## День 5 (06.12.19)

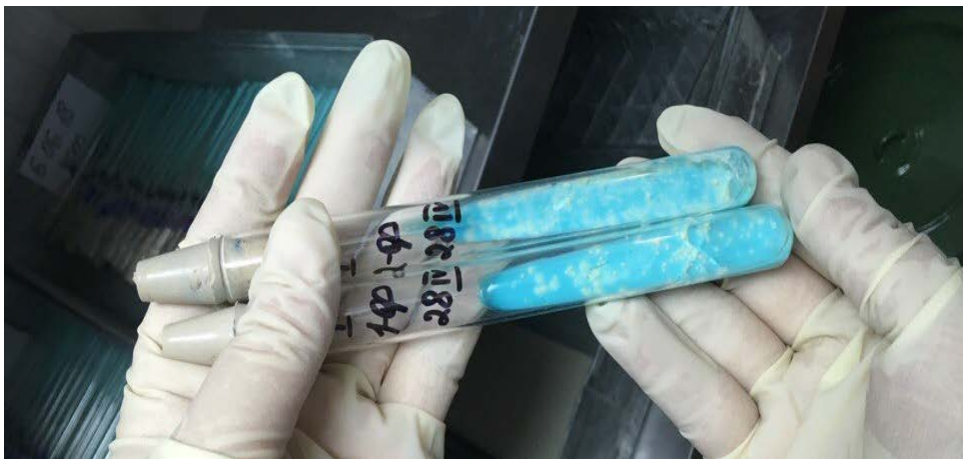
Из термальной брали пробирки засеянные биоматериалом (мокрота), проверяли рост туберкулёза, если рост был то брали на дальнейшее исследование, пробирки в которых роста нет ставят обратно в термальную, рост туберкулёза исследуют три месяца, пробирки без роста утилизируют.

Интенсивность роста обозначают по 3-балльной шкале:

- (1+)- 1-20 КОЕ (скудное бактериовыделение);
-(2+) - 21-100 КОЕ (умеренное бактериовыделение);
- (3+) – более 100 КОЕ (обильное бактериовыделение).

Окончательная величина КОЕ (число колониеобразующих единиц), регистрируемая как итоговый показатель интенсивности роста, высчитывается как суммарное по результатам подсчета числа колоний, выросших во всех пробирках.

*Термальная. Пробирки хранятся в ящиках либо в биксах с указанием месяца посева.*



*Рост туберкулеза*

Просматривали пробирки на биохимические свойства микобактерий. Микобактерии туберкулеза содержат различные ферменты. Ферменты эстеразы и липазы расщепляют жиры, что дает возможность микобактериям использовать их в качестве питательного материала. Дегидразы расщепляют органические кислоты, в том числе аминокислоты. Уреазы расщепляют мочевину, перигалоза – углеводы, каталаза – перекись водорода.

Протеолитические ферменты (протеазы) расщепляют белок.

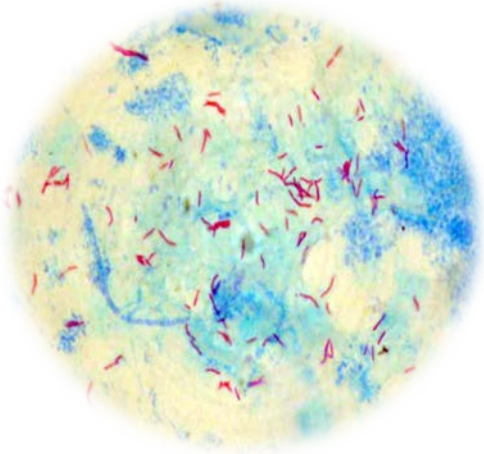
Изготавливали мазки, проводили окраску по Цилю-Нильсену и микроскопию мазков.

Готовили мазки в боксе биологической безопасности. Маркируем чистое, новое предметное стекло с одного края тем же номером, что и на контейнере с мокротой (лабораторный номер присвоенный данному образцу). Переносим требуемое количество исследуемого материала (мокроту) на предметное стекло, используя при этом:

деревянную палочку-аппликатор (перед использованием палочку-аппликатор разламываем пополам). Мокроту равномерно распределяем по предметному стеклу на площади примерно 2х1 см, толщина мазка должна позволять читать текст позади стекла (используем сломанный конец деревянной палочки для равномерного распределения мокроты на стекле). Оставляем мазки на воздухе для высыхания. Сбрасываем палочку-аппликатор в дезинфицирующий раствор и используем новые для изготовления каждого мазка.

1. Фиксированный на воздухе мазок покрываем полоской фильтровальной бумаги, наливаем на нее карболовый раствор фуксина и подогреваем над пламенем горелки; при появлении паров прекращаем нагревание и оставляем краску на препарате еще на несколько минут (3-5 минуты). Дав препарату остыть, удаляем пинцетом бумажку, скидывая ее в дез.раствор, обмываем мазок дистиллированной водой.
2. Обесцвечиваем препарат 25% раствором серной кислоты, добиваясь визуального эффекта полного обесцвечивания, продолжительность процедуры - 3 минуты, тщательно промываем проточной водой.
3. Мазок докрашиваем 0,3% метиленового синего в течение 60 секунд.
4. Снова промываем проточной водой.
5. Мазок высушиваем при комнатной температуре в вертикальном положении. Ни в коем случае не промокаем препарат.

*Окраска мазков по Цилю-Нильсену*



*Mycobacterium tuberculosis под микроскопом*

**Микробиологическое исследование мочеполовой системы:**

Выделение микроорганизмов из мочи (качественное исследование) не позволяет отдифференцировать бактериурию, возникающую в результате загрязнения мочи нормальной микрофлорой дистального отдела уретры, от бактериурии, развивающейся при инфекционных процессах в мочевыводящей системе, возбудителями которых являются условно-патогенные микроорганизмы. С этой целью применяют количественные методы исследования, основанные на определении числа микробных клеток в 1 мл мочи (степень бактериурии).

Метод секторных посевов: позволяет не только определить степень бактериурии, но и выделить возбудителя заболевания в чистой культуре. При латентном течении уроинфекции, а также после лечения антибактериальными препаратами рекомендуется производить посев по 0,1 мл цельной мочи на плотные питательные среды и в пробирку с 0,25% сахарным бульоном. Посевы инкубируют при 37°С 24 часа. При отсутствии роста на 5% кровяном агаре чашки выдерживают 3 суток в термостате, т.к. может наблюдаться замедленный рост стрептококков. Подсчитывают количество колоний, выросших на плотных питательных средах, и пересчитывают обсемененность на 1 мл мочи. Из сахарного бульона делают высев на чашку с 5% кровяным агаром. Колонии, выросшие на плотных питательных средах, отсевают в пробирки со скошенным агаром, выделенную чистую культуру идентифицируют и определяют ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

**Интерпретация результатов:**

Основной задачей при интерпретации полученных данных является доказательство этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов. Учитывают комплекс тестов: степень бактериурии, вид выделенных культур, повторность их выделения в процессе заболевания, присутствие в моче монокультуры или ассоциации микроорганизмов. Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой.

При трактовке результатов исследования следует учитывать повторность выделения одного и того же вида микроорганизмов: повторное выделение из мочи культуры одного вида, типа, варианта говорит о наличии инфекционного процесса. Учитывается также присутствие в моче монокультуры или ассоциации микроорганизмов. Монокультура чаще выделяется при острых воспалительных процессах и коррелирует с высокой степенью бактериурии. Ассоциации микроорганизмов чаще встречаются при хронических процессах и коррелируют с низкой степенью бактериурии. При окончательной трактовке результатов микробиологического исследования необходимо учитывать данные клиники и другие лабораторные анализы.

Принято различать четыре степени чистоты влагалищного содержимого.

**I степень чистоты**. В материале влагалищного содержимого под микроскопом можно увидеть влагалищные палочки Дедерлейна, клетки плоского эпителия. Реакция кислая.

**II степень чистоты**. Превалируют влагалищные палочки Дедерлейна, клетки плоского эпителия (количество их меньше, чем при I степени), встречаются единичные лейкоциты, кокки. Реакция кислая. I и II степени чистоты влагалищного содержимого считают нормальными.

**III степень чистоты**. Влагалищных палочек мало, прева-лируют другие виды бактерий, в основном кокки, много лейкоцитов, реакция слабокислая.

**IV степень чистоты**. Влагалищные палочки отсутствуют, много патогенных бактерий (кокков, трихомонад, гарднерел), множество лейкоцитов, эпителиальных клеток мало. Реакция слабо-щелочная.

Наличие III и IV степеней чистоты влагалища свидетельствуют о патологических изменениях в половом аппарате.

**Микробиологическое исследование инфицированных ран:**

Материал, взятый одним из стерильных ватных тампонов, "размазывают" по стерильному предметному стеклу, окрашивают по Граму и просматривают под микроскопом. При обнаружении микроорганизмов отмечают их морфологическую характеристику (грамположительные и грамотрицательные палочки, кокки и др.) и степень обсемененности. В соответствии с результатами микроскопии могут быть внесены коррективы в ход бактериологического исследования.

Питательные среды: 5% кровяной агар, сахарный бульон, среда для контроля стерильности.

Материал, взятый другим ватным стерильным тампоном из того же участка раны, засевают на чашку с 5% кровяным агаром, на «среду для контроля стерильности» и сахарный бульон, а твердые кусочки тканей (секвестры, кусочки кожи, мышц и пр.) засевают на «среду для контроля стерильности» и сахарный бульон. Посев на чашку с агаром производят методом «тампон-петля»: тампоном проводится «дорожка» по диаметру чашки, затем другой стороной тампона в обратном направлении засевается еще одна «дорожка», параллельная первой. После этого материал рассевают по чашке при помощи петли штрихами, перпендикулярными к «дорожкам». Такой посев позволяет выделить микроорганизмы в виде отдельных колониеобразующих единиц даже из ассоциации микроорганизмов. Засеянные жидкие и плотные питательные среды термостатируют при 37°С в течение 18-24 часов. При обнаружении роста производят отсев отдельных колоний на элективные среды с целью их идентификации. Отмечают, растут ли микроорганизмы в виде монокультуры или в ассоциации. При обнаружении ассоциации на плотной питательной среде отмечают преимущественный рост какого-либо представителя ассоциации (если это наблюдается). При отсутствии роста в первые сутки посевы оставляют в термостате, ежедневно просматривают и при визуальном обнаружении роста также производят соответствующие отсевы. Ответ об отсутствии роста выдают через 5 суток термостатирования

## День 6 (07.12.19)

**Дезинфекция поверхностей приборов**

Смачиваем салфетку дезсредством и тщательно протираем поверхности прибора.Через 10 минут салфеткой, смоченной в 70% спирте, повторно протираем поверхности прибора. Свежей салфеткой, смоченной в спирте, снова протираем поверхности.

**Утилизация отходов**

Автоклавирование: 1.5 кгс/см$^2$ (0.15 Мпа), 126+2°с, 60 минут.

Жидкие отходы (инфицированные жидкости, исследуемый материал, жидкие питательные среды, содержимое лотков для окраски мазков) обеззараживаются химическим методом, с использованием дезинфицирующих растворов, содержащих хлор или кислород при экспозиции не менее 60 минут. Дезинфекция проводится из расчета 1 объем инфицированного материала и 2 объема дезинфицирующего раствора. После дезинфекции обеззараженные жидки отходы сливаются в канализацию

Этапы утилизации

- Сбор отходов в местах первичного образования (кабинеты) в специальные ведра для автоклавирования или пакеты красного цвета
- Сбор пакетов в красный бак на транспортировочной тележке для транспортировки в автоклавную «грязной» зоны

- Дезинфекция емкостей после опорожнения
- Ведра, заполненные на 2/3 отходами, помещают в автоклав
- Обеззараживание медицинских отходов в автоклаве
- После завершения цикла обработки отходы транспортируют на специально отведенное место сбора отходов

*Стерилизатор воздушный автоматический ГП-320:*

Предназначен для стерилизации сухими горячим воздухом изделий, изготовленных из термостойких материалов. Может быть использован для дезинфекции и сушки медицинских изделий.

**Режимы: стерилизации 180 *С - 60 мин, дезинфекции 120 *С – 45 мин, сушки 85 *С.**