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»

Ломаевой Светланы Петровны

ФИО

Место прохождения практики \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ДО\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(медицинская организация, отделение)

с « \_ 12 » мая 2020г. по «\_\_08\_\_» \_\_\_\_июня\_\_\_\_2020г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Методический – Ф.И.О. (его должность) \_\_\_ Жукова Марина Васильевна\_\_\_

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 микробиологический лаборатории;

- основные методы и диагностическое значение исследований протеолитических , сахаралитических, 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 нозокоминальных 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 | 12.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 2 | 13.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 3 | 14.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 4 | 15.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 5 | 16.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 6 | 18.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 7 | 19.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 8 | 20.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 9 | 21.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 10 | 22.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 11 | 23.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 12 | 25.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 13 | 26.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 14 | 27.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 15 | 28.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 16 | 29.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 17 | 30.05.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 18 | 01.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 19 | 02.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 20 | 03.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 21 | 04.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 22 | 05.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 23 | 06.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |
| 24 | 08.06.2020 | 9:00-15:00 |  |  |

**День 1.**

Ознакомиласьс Бактериологическим отделом ООО «Центра лабораторных технологий АБВ» и прослушала инструктаж по техники безопасности.

Изучиларяд документов, на основании которых ведутся работы в Бактериологическом отделе КДЛ:

1. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней»;
2. СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемические требования к обращению с медицинскими отходами»;
3. ПРИКАЗ от 22 апреля 1985 г. N 535 ОБ УНИФИКАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ (БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ) МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В КЛИНИКО - ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ ЛЕЧЕБНО - ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ;
4. ТЕХНИКА СБОРА И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ БИОМАТЕРИАЛОВ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРИИ. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ. МУ 4.2.203905 (УТВ. ГЛАВНЫМ ГОСУДАРСТВЕННЫМ САНИТАРНЫМ ВРАЧОМ РФ 23.12.2005);
5. ГОСТ Р ИСО 15189-2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности».
6. ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

**Общие требования**

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

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

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

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

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

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

**Требования к проведению работ в лаборатории**

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

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

При пипетировании необходимо пользоваться только резиновыми грушами или автоматическими устройствами.

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

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

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

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

В «заразной» зоне не допускается:

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

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

1. Сотрудники лабораторий должны быть обеспечены рабочей одеждой.
2. Рабочая одежда и обувь должны быть индивидуальными.
3. При работе в боксированных помещениях производится смена медицинского халата на противочумный или хирургический.
4. Перемещение одежды из зоны в зону, категорически не допускается.
5. Смена рабочей одежды должна проводиться по мере загрязнения, но не реже одного раза в неделю.
6. Перед сдачей в стирку защитная одежда должна быть обеззаражена.

Подпись общего руководителя\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ *Жукова М.В.*\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Подпись студента\_\_\_\_\_\_\_\_\_*Ломаева С.П*.\_\_\_\_\_\_\_\_\_

м.п. орагнизации

**День 2. Прием биоматериала**

Курьер доставляет сумку-холодильник с биоматериалом в «Центр лабораторных технологий АБВ» через входную дверь в помещение № 12 первого этажа (тамбур). Затем сотрудник отдела регистратуры и разбора принимает термоконтейнер с биоматериалом у курьера через окно для передачи.

Содержимое термоконтейнера: хладоэлементы, термометр, в штатив установлены вакутейнеры с кровью и мочой, в пакете находятся контейнеры с калом и пробирки на энтеробиоз, в другом пакете находятся контейнеры с мочой, в контейнерах для транспортировки урогенитальных препаратов, маркированных кодом и наименованием контрагента, находятся предметные стекла, в контейнерах, маркированных кодом и наименованием контрагента, находятся эппендорфы с транспортной средой для молекулярно-биологических (ПЦР) исследований. В отдельных папках, маркированных кодом и наименованием контрагента, находятся направления на исследования, сопроводительная накладная, требование на расходные материалы (при необходимости). В сопроводительной накладной контрагент указывает количество отправляемых наименований емкостей с биоматериалом и количество бланков направлений. На сопроводительной накладной промаркирован трех- или четырехзначный код, уникальный для каждого контрагента, который соответствует первым цифрам штрих-кода, наклеенного на каждую емкость с биоматериалом и направление. Соотнесение биоматериала и принадлежности к отправившему его контрагенту основано на сопоставлении этого кода.

Сотрудник отдела разбора и регистрации должен достать из термоконтейнера термометр и записать температуру в «Журнале контроля температурного режима термоконтейнеров», согласно номеру термоконтейнера.

Первичная сортировка биоматериала

Все емкости с биоматериалами, штативы с пробирками из термоконтейнера сотрудник отдела разбора должен поместить на стол.

Открыть папку одного из контрагентов и достать из нее сопроводительную накладную, на которой поставить подпись для идентификации сотрудника, осуществившего прием и сортировку биоматериала, отметить время приезда курьера, как это показано на рисунке.

Пересчитать бланки направлений, просмотреть правильность их оформления (отмечены исследования, присутствуют штрих-кода и т.д.) и сверить с количеством, обозначенным в сопроводительной накладной, при совпадении обвести число вокруг; при несовпадении зачеркнуть и поставить фактически полученное число.

Пересчитать количество пробирок, транспортных сред Эймса, зондов, контейнеров с калом/мочой, транспортных сред ПЦР, предметных стекол, отправленных данным контрагентом. Сверить с количеством, обозначенным в сопроводительной накладной.

Рассортировать полученный биоматериал по отделам. При сортировке емкостей по лоткам отделов можно ориентироваться на исследования, отмеченные в направлениях.

**День 3-4. Приготовление питательных сред**

В отделе клинико – бактериологических исследований осуществляется: прием проб, регистрация, посев на питательные среды, приготовление мазков, микроскопия, постановка биохимических тестов и антибиотикограмм, заключение и запись в регистрационных журналах.

Для культивирования микроорганизмов применяются специальные субстраты – питательные среды, которые создают оптимальные условия для жизнедеятельности возбудителей. Выделяют следующие требования к ним: питательность сред, изотоничность, стерильность, обладание необходимым окислительно-восстановительным потенциалом, унифицированность.

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 рН;
3. осветление;
4. фильтрация;
5. разлив;
6. стерилизация;
7. контроль.

Все среды приготавливают согласно инструкции, указанной на упаковке. Взвешивают установленное количество грамм среды на электронных весах и размешивают в небольшом количестве дистиллированной воды, затем ставят на печь. Разливают среды в чистые сухие пробирки либо 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 и 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 по истечении времени их считают стерильными. Хранят готовые среды в холодильниках.

Варка питательных сред: среда Вильсона-Блера – содержит соли висмута, бриллиантовую зелень. Сальмонеллы растут на этой среде в виде колоний черного цвета. Другие виды бактерий на этой среде роста не дают. (74,75 г. навески взвешивается на элекронных весах марки «ВК-1» на 1 л дистиллированной воды); Среда Левина с эозин-метиленовым синим для выделения и дифференциации энтеробактерий (40 г навески на 1 л дистиллированной воды); Агар Плоскирева – ГРМ - Питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл (65,5 г навески на 1 л дистиллированной воды). Используются среды для исследований, рекомендованных в нормативной документации. Приказ от 22 апреля 1985 г. «ОБ УНИФИКАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ (БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ) МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ».

**День 5-8. Иммунодиагностика**

Выявление в биоматериале антигенов бактерий является одним из основных способов диагностики инфекционных болезней, а обнаружение специфических антигенов у изолятов микроорганизмов позволяет идентифицировать их на родовом, видовом и серотиповом уровнях. Наиболее широко применимы в лабораторной практике серологические реакции: реакция агглютинации (РА), реакция связывания комплемента (РСК).

**Реакция агглютинации (РА)**

Для реакции агглютинации необходимы следующие компоненты:

1. Антитела (агглютинины), которые находятся в сыворотке больного или иммунного животного.

2. Антиген - взвесь живых или убитых микробов, эритроцитов или других клеток.

3. Изотонический (0,9%) раствор хлорида натрия.

Реакцию агглютинации для серодиагностики применяют при брюшном тифе и паратифах (реакция Видаля), при бруцеллезе (реакция Райта и Хеддлсона), туляремии и т.д. 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 для диагностики кишечных инфекций, коклюша и др.

Реакция агглютинации на стекле. На обезжиренное предметное стекло наносят две капли специфической (адсорбированной) сыворотки и каплю изотонического раствора хлорида натрия. Неадсорбированные сыворотки предварительно разводят в соотношении 1:5 - 1:100. Культуру петлёй или пипеткой тщательно растирают на стекле, а потом вносят в каплю изотонического, раствора хлорида натрия и в одну из капель сыворотки, размешивая в каждой до образования гомогенной взвеси.

Внимание! Нельзя переносить культуру из сыворотки в каплю изотонического раствора хлорида натрия, которая является контролем антигена. Если контроль сыворотки остаётся прозрачным, в контроле антигена наблюдается равномерная муть, а в капле, где культура смешана с сывороткой, появляются хлопья агглютината на фоне прозрачной жидкости, результат реакции считается положительным.

«О» «К» Диагностическая Физиологический сыворотка +культура, раствор + культура.

**Реакция связывания комплемента и реакция преципитации**

**(РСК)** заключается в том, что при соответствии друг другу антигены и антитела образуют иммунный комплекс, к которому через Fc-фрагмент антител присоединяется комплемент (С), т. е. происходит связывание комплемента комплексом антиген—антитело. Если же комплекс антиген—антитело не образуется, то комплемент остается свободным.

РСК проводят в две фазы: 1-я фаза — инкубация смеси, содержащей три компонента антиген + антитело + комплемент; 2-я фаза (индикаторная) — выявление в смеси свободного комплемента путем добавления к ней гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана, и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним.

В 1-й фазе реакции при образовании комплекса антиген—антитело происходит связывание им комплемента, и тогда во 2-й фазе гемолиз сенсибилизированных антителами эритроцитов не произойдет; реакция положительная. Если антиген и антитело не соответствуют друг другу (в исследуемом образце нет антигена или антитела), комплемент остается свободным и во 2-й фазе присоединится к комплексу эритроцит — антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз; реакция отрицательная.

РСК применяют для диагностики многих инфекционных болезней, в частности сифилиса (реакция Вассермана).

**(РП)** - это иммунная реакция взаимодействия антител с антигенами в присутствии электролитов, причем антиген находится в растворимом состоянии.

Взаимодействие антигена и антитела происходит в плотной среде. Образующийся преципитат при взаимодействии токсина и антитоксина дает в толще среды мутную полосу (закругленные линии). Отсутствие полосы свидетельствует о несоответствии компонентов реакции. Реакция применяется при изучении токсинообразования у возбудителя дифтерии.

Методика: в чашки Петри разливают агар Мартена (12-15 мл), сохраняя прозрачность. После застывания агара накладывают полоску стерильной фильтровальной бумаги, смоченной противодифтерийной антитоксической сывороткой.

Испытуемую культуру засевают с помощью петли «бляшками» (d=0.8-1.0 см) на расстоянии 0,5-0,7 см от края бумаги. Между двумя бляшками испытуемой культуры засевают бляшки токсигенного штамма.

Испытуемую культуру считают токсигенной, если линии преципитации четки и сливаются с линиями преципитации контрольного (токсигенного) штамма. Если линии преципитации перекрещиваются с линиями контрольного штамма или отсутствуют, выделенную культуру считают нетоксигенной.

**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)**

Иммунофлюоресцентная реакция является непрямым вариантом серологического исследования.

Начинается реакция с подготовки растворов, затем сыворотки и их контрольные образцы подвергаются титрованию. Подготовленные ранее разведения и их контрольные образцы аккуратно наносятся на предметные стёкла с антигеном. Потом препараты подвергаются инкубации, затем следует их отмывание и высушивание на воздухе. На стёкла с антигеном тонким слоем наносится антисыворотка, после этого производится вторичная инкубация препаратов и, вся предыдущая цепь действий повторяется, завершаясь высушиванием препарата. В результате препарат на предметном стекле подвергается обработке глицерином и исследуется в люминесцентном микроскопе.

Результаты проведённой реакции оцениваются по четырёх бальной шкале, которая характеризуется интенсивностью поверхностного жёлто-зелёного свечения клеток антигенов:

«+» очень слабое свечение клетки, заметное только на её периферии;

«++» слабое свечение периферии клетки, но с явно заметным зелёным оттенком;

«+++/++++» яркое свечение зелёного цвета периферии клетки Титром реакции считается такое разведение сыворотки, где не менее 50 % клеток антигена проявляют чёткое поверхностное свечение, то есть результат реакции +++ или ++++. Значение тира реакции от 1/80 до 1/100.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**

Метод [молекулярной биологии](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F), позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты ([ДНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D0%9A)) в биологическом материале (пробе). Помимо [амплификации](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B8%D1%84%D0%B8%D0%BA%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F_(%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)) ДНК, ПЦР позволяет производить множество других манипуляций с нуклеиновыми кислотами (введение [мутаций](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D1%83%D1%82%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F), сращивание фрагментов ДНК) и широко используется в биологической и медицинской практике.

Метод основан на многократном избирательном копировании определённого участка нуклеиновой кислоты [ДНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D0%9A) при помощи [ферментов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82) в искусственных условиях. При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. В отличие от амплификации ДНК в живых организмах ([репликации](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B5%D0%BF%D0%BB%D0%B8%D0%BA%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F))), с помощью ПЦР амплифицируются относительно короткие участки [ДНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D0%9A). В обычном ПЦР-процессе длина копируемых ДНК-участков составляет не более 3000 пар оснований. С помощью смеси различных полимераз, с использованием добавок и при определённых условиях длина ПЦР-фрагмента может достигать 20—40 тысяч пар нуклеотидов. Это значительно меньше длины [хромосомной](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D1%8B) ДНК эукариотической клетки. Например, [геном человека](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BC_%D1%87%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D0%B5%D0%BA%D0%B0) состоит примерно из 3 млрд. пар оснований.

**День 9-12. Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (гнойно-воспалительных, кишечных)**

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, иерсинии энтероколитика, синегнойная палочка и др.
2. Патогенные бактерии: ЭПКП, возбудители дизентирии, сальмонеллеза, брюшного тифа и др.

***Семейство Enterobacteriaceae, род Escherichiа, вид Энтеропатогенная кишечная палочка (ЭПКП)***

Короткие Гр (-) подвижные палочки, хорошо растущие на простых питательных средах при 37°С 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 (малиново-красные колонии), ЭМС (темно-фиолетовые колонии).

*Ферментативные свойства:*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Серовод | Уреа | Лакт | Glc | Индол | Симмонса  цитрат | Подвижность | Ацетатный  агар |
| ЭПКП | - | - | - | КГ | + | - | + | + |

Исследуемый материал – испражнения, рвотные массы.

***Семейство Enterobacteriaceae, Род Salmonella, Вид S. enteritidis***

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°С, 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. Среды обогащения – селенитовый бульон, среда Мюллера. Элективные среды: желчь (10-20%), среда Раппопорт.

*Ферментативные свойства:*

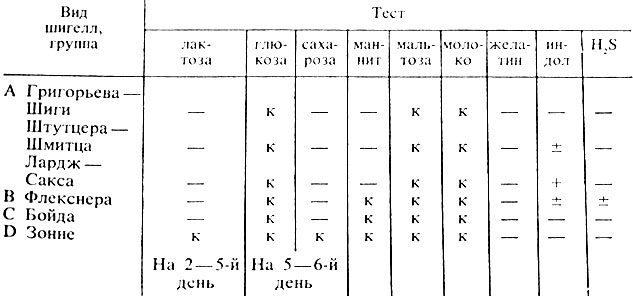
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вид | Тест | | | | | | | | | |
| Лакт | Glc | Сах | Маннит | | Мальт | Индо л | Серово дород | Лакмусовое молоко | Желатин |
| *S.*  *enteritidis* | - | К | - | К | К | | - | + | К | - |

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

***Семейство Enterobacteriaceae, Род Shigella, Вид S. dysenteriae***

Шигеллы - это небольшие (2-3 × 0,4-0,6 мкм) палочки с закругленными концами. Отличаются от остальных представителей семейства Enterobacteriaceae отсутствием жгутиков. Они не имеют спор и капсул. Грамотрицательны. Факультативные анаэробы. Неприхотливы к питательным средам. Размножаются на МПА и МПБ при температуре 37°С и рН 7,2-7,4. Элективными и дифференциально-диагностическими средами для них являются среды Плоскирева, Эндо, ЭМС. Растут в виде небольших, полупрозрачных, сероватых, круглых колоний, размером 15-2 мм в S-форме. Исключением являются шигеллы Зонне, которые часто диссоциируют, образуя крупные, плоские, мутные, с изрезанными краями колонии R-формы. В жидких питательных средах шигеллы дают равномерную муть, R-формы образуют осадок.

*Ферментативные свойства:*

****

Исследуемые материалы – испражнения, кровь.

Большинство гнойно - воспалительных заболеваний вызывают *кокки*, т.е. имеющие сферическую (шаровидную) форму микроорганизмы. Их делят на две большие группы - грамположительные и грамотрицательные. Внутри этих групп выделяют аэробные и факультативно - анаэробные кокки и анаэробные кокки.

Среди грамположительных аэробных и факультативно - анаэробных кокков наибольшее значение имеют микроорганизмы семейства Micrococcaceae (род Staphylococcus) и семейства Streptococcaceae (род Streptococcus), среди грамотрицательных аэробных и факультативно - анаэробных кокков - представители семейства Neisseriaceae (N.gonorrhoeae - гонококк и N.meningitidis - менингококк).

Представители семейства Micrococcaceae, способные вызывать заболевания у человека, относятся к родам Staphylococcus, Micrococcus и Stomatococcus.

***Род Staphylococcus***

В состав рода входит более 20 видов, из которых наибольшее значение имеют S.aureus (золотистый стафилококк), S.epidermidis, S.saprophyticus.

Морфология. Грамположительные кокки, для которых характерно взаиморасположение скоплениями в виде гроздей винограда, т.к. они делятся во взаимоперпендикулярных плоскостях. Имеют микрокапсулу, спор не образуют, жгутиков не имеют.

Культуральные свойства. Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы. Хорошо растут на простых питательных средах, в том числе на средах с 5- 10% NaCl. Температурный оптимум от +35 до +37оС, рН 6-8 (лучше слабощелочная реакция среды). На плотных средах образуют непрозрачные круглые (2-4 мм в диаметре) ровные колонии, окрашенные в цвет липохромного пигмента (кремовый, желтый, оранжевый). Кроме S- форм колоний могут образовывать R- формы. На жидких средах дают равномерное помутнение, затем выпадает рыхлый осадок.

Биохимические свойства. Обладают высокой биохимической активностью, образуют различные ферменты, во многом определяющие патогенность. Каталаза - положительны, оксидаза- отрицательны. Углеводы ферментируют до кислоты без газа, разжижают желатин с образованием воронки, образуют сероводород. По наличию коагулазы их делят на две группы - коагулаза- положительные и коагулаза- отрицательные. Среди патогенных видов коагулаза - положителен лишь S.aureus, остальные - отрицательны.

Антигенная структура сложная (более 50 типов антигенов). По специфичности антигены подразделяют на родовые (общие для стафилококков), перекрестнореагирующие (с изоантигенами эритроцитов, кожи и почки человека), видо- и типоспецифические.

Видоспецифическими антигенами являются тейхоевые кислоты, белок А золотистого стафилококка. Антигенными свойствами обладают токсины.

Факторы патогенности. К ним относят микрокапсулу, компоненты клеточной стенки (тейхоевые кислоты, белок А), ферменты и токсины.

1. Факторами адгезии являются высокие гидрофобные свойства поверхностных структур.
2. Компоненты клеточной стенки стимулируют развитие воспалительных реакций, основное значение в них имеют нейтрофилы.
3. Разнообразные ферменты стафилококков играют роль факторов агрессии и защиты.

Главным фактором является плазмокоагулаза, свертывающая сыворотку (плазму) крови и образующая тромбиноподобное вещество, обвалакивающее стафилококки и препятствующее действию защитных реакций организма. Кроме нее - фибролизин, ДНК- аза, лецитиназа, фосфатаза.

***Стрептококки***

В семейство Streptococcaceae входит семь родов, из которых для человека наибольшее значение имеют стрептококки (род Streptococcus) и энтерококки (род Enterococcus). Наиболее значимые виды - S.pyogenes (стрептококки группы А), S.agalactiae (стрептококки группы В), S.pneumoniae (пневмококк), S.viridans (зеленящие стрептококки, биогруппа mutans), Enterococcus faecalis.

Морфология. Стрептококки (от греч. streptos - цепочка и coccus - зерно) - грамположительные цитохромнегативные бактерии шаровидной или овоидной формы, растущие чаще в виде цепочек, преимущественно неподвижные, не имеют спор. Патогенные виды образуют капсулу (у пневмококка имеет диагностическое значение). Факультативные (большинство) или строгие анаэробы.

Культуральные свойства. Стрептококки плохо растут на простых питательных средах. Обычно используют среды с кровью или сывороткой крови. Чаще применяют сахарный бульон и кровяной агар, содержащий 5% дефибринированной крови. На бульоне рост придонно - пристеночный в виде крошковатого осадка, бульон чаще прозрачен. На плотных средах чаще образуют очень мелкие колонии. Оптимум температуры +37о С, рН - 7,2-7,6. На плотных средах стрептококки группы А образуют колонии трех типов:

* мукоидные (напоминают капельку воды) - характерны для вирулентных штаммов, имеющих капсулу;
* шероховатые - плоские, с неровной поверхностью и фестончатыми краями - характерны для вирулентных штаммов, имеющих М- антигены;
* гладкие - характерны для маловирулентных штаммов.

Предпочитают газовую смесь с 5% СО2. Способны образовывать L- формы.

Для дифференциации стрептококков используют различные признаки: рост при +10о и 45оС, рост на среде с 6,5% NaCl, рост на среде с рН 9,6, рост на среде с 40% желчи, рост в молоке с 0,1% метиленовым синим, рост после прогревания в течение 30 мин. при 60о С. Наиболее распространенный S.pyogenes относится к 1 группе (все признаки отрицательны), энтерококки (3 группа) - все признаки положительны.

Существует ряд классификаций стрептококков. Наиболее проста классификация, основанная на особенностях роста этих микроорганизмов на агаре с кровью барана (по отношению к эритроцитам).

*Бета - гемолитические стрептококки* при росте на кровяном агаре образуют вокруг колонии четкую зону гемолиза, *альфа - гемолитические -*частичный гемолиз и позеленение среды (превращение окси- в метгемоглобин), *гамма-* *гемолитические -* на кровяном агаре гемолиза незаметно. Альфа - гемолитические стрептококки за зеленый цвет среды называют S.viridans (зеленящими).

Антигенная структура. Серологическая классификация имеет практическое значение для дифференциации имеющих сложное антигенное строение стрептококков. В основе классификации - *группоспецифические полисахаридные антигены клеточной стенки*. Выделяют 20 серогрупп, обозначенных заглавными латинскими буквами. Наибольшее значение имеют стрептококки серогрупп А, В и D.

У стрептококков серогруппы А имеются типоспецифические антигены - белки М, Т и R. По М- антигену гемолитические стрептококки серогруппы А подразделены на серовары (около 100).

Стрептококки имеют перекрестно - реагирующие антигены с антигенами клеток базального слоя эпителия кожи, эпителиальных клеток корковой и медуллярной зон тимуса. В клеточной стенке стрептококков обнаружен также антиген (рецептор II), способный взаимодействовать с Fс- фрагментом IgG.

**День 13- 17. Микробиологическая диагностика возбудителей госпитальных инфекций**

Внутрибольничные инфекции (также госпитальные, нозокомиальные) — согласно определению ВОЗ, любые клинически выраженные заболевания микробного происхождения, поражающие больного в результате его госпитализации или посещения лечебного учреждения (ЛПУ) с целью лечения, либо после выписки из больницы (например, раневая инфекция), а также больничный персонал в силу осуществления им деятельности, независимо от того, проявляются или не проявляются симптомы этого заболевания во время нахождения данных лиц в стационаре.

Инфекция считается внутрибольничной, если она впервые проявляется через 48 часов или более после нахождения в больнице, при условии отсутствия клинических проявлений этих инфекций в момент поступления и исключения вероятности инкубационного периода.

**Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*)** — вид шаровидных грамположительных бактерий из рода стафилококков. Приблизительно 25—40% населения являются постоянными носителями этой бактерии, которая может сохраняться на кожных покровах и слизистых оболочках верхних дыхательных путей.

*S. aureus* может вызывать широкий диапазон заболеваний, начиная с лёгких кожных инфекций: угри, импетиго (может быть вызван также и *S.pyogenes*), фурункул, флегмона, карбункул, абсцесс, пневмония, менингит, остеомиелит, эндокардит, инфекционно-токсический шок и сепсис. Диапазон заболеваний от кожных, мягких тканей, респираторных, костных, суставных и эндоваскулярных до раневых инфекций. Он является одной из четырёх наиболее частых причин внутрибольничных инфекций, часто вызывая послеоперационные раневые инфекции.

**Синегнойная палочка** **(*Pseudomonas aeruginosa*)** — вид грамотрицательных подвижных палочковидных бактерий. Обитает в воде, почве, условно-патогенна для человека, возбудитель нозокомиальных инфекций. Лечение затруднительно ввиду высокой устойчивости к антибиотикам

P.aeruginosa обнаруживается при абсцессах и гнойных ранах, ассоциирована с энтеритами и циститами. Является одним из самых распространённых возбудителей нозокомиальных инфекций ввиду того, что P.aeruginosa особенно легко поражает лиц с ослабленным иммунным статусом. Факторами патогенности P.aeruginosa является наличие подвижности, токсинообразование, продукция гидролитических ферментов. Прогноз ухудшается высокой резистентностью к действию антибиотиков. P. aeruginosa устойчива к действию многих беталактамов, аминогликозидов, фторированных хинолонов.

Нозокомиальная пневмония, связанная с ИВЛ, — пневмония, развившаяся не ранее чем через 48 часов от момента интубации и начала проведения ИВЛ, при отсутствии признаков легочной инфекции на момент интубации. Однако во многих случаях у хирургических больных манифестация нозокомиальной пневмонии возможна и в более ранние сроки. Частота больничной пневмонии достигает 20% от числа всех больничных инфекций и наблюдается чаще у больных после операций на грудной или брюшной полости, у больных, которые находятся на искусственной вентиляции лёгких и у больных с иммунодефицитом.

**Klebsiella pneumoniae -** вид грамотрицательных факультативно-анаэробных палочковидных капсульных неподвижных бактерий, относящийся к роду клебсиелл. Встречается повсеместно в окружающей среде, в том числе в почве и поверхностных водах.

Может вызывать различные инфекции, включая пневмонию, сепсис, инфекции мочевыводящих путей, бактериемию, менингит и абсцессы в печени. Инфицированию обычными штаммами чаще подвержены люди с иммунодефицитами, однако обнаруживаются и гипервирулентные штаммы, поражающие здоровых людей.

Встречается на медицинских приборах и является частой причиной внутрибольничных инфекций. Бактерия приобрела известность благодаря обнаружению связанных с ней тяжёлых инфекций и увеличивающемуся дефициту способов лечения. Всё чаще встречаются штаммы, которые устойчивы к антибиотикам, применяемым в крайних случаях**.**

**Гемофильная палочка**, палочка Пфайффера, палочка инфлюэнцы (*Haemophilus influenzae*) — вид грамотрицательных неподвижных бактерий семейства *Pasteurellaceae*. Первоначально описана в 1892 году немецким бактериологом Рихардом Пфайффером как возбудитель инфлюэнцы (гриппа). Первый свободноживущий организм, чей геном был полностью отсеквенирован. Возбудитель так называемой гемофильной инфекции у человека.

**Mycoplasma pneumoniae —** вид бактерий рода *Mycoplasma*. Как и все бактерии этого рода, *M.pneumoniae* — мелкие микроорганизмы (0,3—0,8 мкм), не имеющие жёсткой клеточной стенки (в результате чего от внешней среды их отделяет лишь цитоплазматическая мембрана) и ярко выраженным полиморфизмом. Строгий аэроб. *M.pneumoniae* локализуется у людей в дыхательных путях, вызывая их воспаление, а также трахеобронхит и атипичную пневмонию. Чаще всего отмечается у детей.

*Legionella pneumophila* — грамотрицательная, подвижная палочковидная бактерия рода легионелл, возбудитель легионеллёза («болезнь легионеров»), название получила из-за вспышки заболевания в 1976 году среди делегатов съезда Американского легиона в гостинице, расположенной в Филадельфии. Возбудитель отнесён к III группе патогенности (до 2013 г. относился ко II группе патогенности, т.е. к группе возбудителей особо опасных инфекционных болезней).

**День 18-19. Дисбактериоз. Этапы исследования**

В человеческом организме присутствует множество разнообразных микроорганизмов. Основным местом их скопления у человека является кишечник. Их число оценивается в 1014 - 1018разнообразных микробов, а их объём занимает больше половины толстого кишечника. Это огромное число.

Учёными установлено, что в здоровом состоянии у человека микрофлора кишечника представляет сложную и сбалансированную систему из бифидобактерий, лактобактерий и кишечной палочкой с нормальными ферментными свойствами. Основной функцией микрофлоры, живущей в симбиозе с человеком, является защита организма от токсинов и вредных бактерий, выработка ферментов, необходимых для пищеварения, участие в обмене веществ, и защита от аллергенов проходящих через пищеварительный тракт.

Кроме полезных микробов в кишечнике присутствуют микроорганизмы, которые могут нанести вред здоровью человека в случае понижения иммунитета на фоне болезни или по иным причинам, их называют условно-патогенными (золотистый стафилококк, энтеробактерии). Другой группой, присутствующей в кишечнике, являются сапрофиты (энтерококки, дрожжи, эпидермальный и сапрофитный стафилококки и др.). Третья группа – транзитные микроорганизмы, попадающие в кишечник из внешней среды. Если человек здоров, то они покидают организм без следа.

В случае заболеваний можно столкнуться с разнообразными нарушениями микроэкологии кишечника – дисбактериозом, дисбиозом, микробиоценозом. В международной научной литературе и медицинской практике данные состояния называются - микроэкологическими нарушениями микрофлоры кишечника.

В Отраслевом стандарте "Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника" (ОСТ 91500.11.0004-2003), Министерства здравоохранения РФ дано определение дисбактериоза кишечника.

Его рассматривают как клинико-лабораторный синдром, возникающий при различных заболеваниях и клинических ситуациях, характеризующихся изменениями в составе нормальной микрофлоры и появлением других различных микроорганизмов, влияющих на метаболитические и иммунные функции организма.

Для полноценной диагностики и определения причин нарушений используется бактериологическое исследование на дисбактериоз.

Целью бактериологического посева на дисбактериоз является определение состава микрофлоры в месте исследования. Т.е. все присутствующие микроорганизмы разбиваются по родам и определяется их количество в объёме исследуемого материала.

Материалом для исследования служат фекалии.

После поступления в лабораторию материал проходит следующие этапы исследования:

1. Подготовка материала к посевам;
2. Посев фекалий в разнообразные, заранее подготовленные среды (девять различных сред), каждая из которых направлена на выращивание определённого вида микроорганизмов. В стандартное исследование входит определение: Кишечной палочки (нормальной, со сниженной ферментативной активностью, гемолизирующей), Лактозонегативных энтеробактерий: Родов Протей; Клебсиелла; Цитробактер; Энтеробактер; Гафния; Серрация; Псевдомонады. Патогенных энтеробактерий: Родов Шигелла; Сальмонелла. Кокковые формы: Родов Стафилококки; Энтерококки; Стрептококки. Дрожжеподобных грибов Candida. Бифидобактерий. Лактобактерии.;
3. Оценка количества и вида микроорганизмов проводится в течение 5 дней. Такой срок связан с необходимостью выделения и определения разных микроорганизмов в разный период, т.к. им нужны разные температуры и время для роста;
4. При обнаружении патогенных (вредоносных) и условно-патогенных микробов проводится дополнительное исследование на их восприимчивость к различным бактериофагам, антибиотикам и противогрибковым препаратам. Если у пациента не выделены микроорганизмы, требующие постановки чувствительности к бактериофагам, антибиотикам, противогрибковым препаратам, исследование не проводится;
5. После всех этих действий результаты анализа выдаются заказчику.

Т.к. бактериологический посев является многоэтапным исследованием, связанным со сроком выделения и определения различных микроорганизмов, то для проведения полноценного анализа требуется неделя.

**День 20 - 22. Санитарно – бактериологическое исследование воздуха, смывов**

**Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды**

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 отбирают аспирационным методом с помощью аппаратов и устройств, разрешенных к применению в установленном порядке.



Количество пропущенного воздуха должно составлять 100 дм3 для определения общего количества микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов и 250 дм3 для определения *S.aureus*. Исследование воздуха седиментационным методом не допускается.

Для определения общего количества микроорганизмов в 1 м3 воздуха забор проб проводят на питательный агар типа МПА, СПА, ГРМ-агар и другие, приготовленные согласно инструкции по применению. Посевы инкубируют при температуре 37°С в течение (48 ± 2)ч, подсчитывают количество выросших колоний и производят перерасчет на 1 м3 воздуха. При наличии роста колоний дрожжевых и плесневых грибов, их подсчитывают и делают пересчет на 1 м3 воздуха. В протоколе количество дрожжевых и плесневых грибов указывают отдельно.

При переносе аппаратов и устройств для отбора проб воздуха из одного помещения в другое их поверхность обрабатывают раствором дезинфицирующего средства. Столик, внутренние стыки, крышку и прочие части прибора с внутренней и внешней стороны протирают спиртом (70 %).

**Исследования микробной обсемененности объектов внешней среды**

Бактериологическое исследование микробной обсемененности объектов внешней среды предусматривает определение стафилококков, бактерий группы кишечных палочек, сальмонелл, синегнойной палочки. Отбор проб с поверхностей различных объектов осуществляют методом смывов. По эпидемиологическим показаниям номенклатура исследований микробной обсемененности объектов внешней среды может быть расширена.

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.

При контроле мелких предметов смывы забирают с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят в нескольких местах исследуемого предмета общей площадью примерно 100 см2.

Для обнаружения стафилококков делают высев 0,2—0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл 6,5% солевого бульона. Засеянные пробирки инкубируют при 37°С в течение (24 ± 2)ч, после чего делают высев на желточно-солевые среды на основе сред: элективно-солевой агар, стафилококкагар, манитолагар или среда № 10 по ГФ XII, агар Байд-Паркер. Для обнаружения бактерий группы кишечных палочек делают высев 0,2—0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл среды Кесслера. Засеянные пробирки инкубируют при 37°С в течение (24 ± 2)ч и делают пересев на среду Эндо. Выросшие колонии на среде Эндо подвергают дальнейшему изучению для установления их возможной принадлежности к патогенным энтеробактериям.

Для обнаружения сальмонелл делают высев 0,2—0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл одной из сред обогащения (магниевая, селенитовая или среда Раппапорта-Вассилиадиса). Засеянные пробирки инкубируют при 37°С в течение 18—20 ч, делают пересев на среду Эндо и висмут-сульфит агар с последующим отбором подозрительных колоний и их идентификацией.

Для обнаружения синегнойной палочки делают высев на среду № 8 (бульон для накопления стафилококков и синегнойной палочки) и среду № 9 (для определения синегнойной палочки по наличию пигмента пиоцианина) или питательные среды в соответствии с ГФ XII. Колонии, подозрительные на синегнойную палочку (колонии с ровными или слегка волнистыми краями, гладкой блестящей поверхностью с характерным запахом и пигментом, однако, следует учесть, что запах и пигмент могут сильно варьировать или вообще отсутствовать), пересевают на скошенный агар.

*P.aeruginosа* – грамотрицательная, подвижная, оксидазоположительная палочка, окисляющая, но не ферментирующая глюкозу, дающая рост при 42°С.

**Бактериологический контроль эффективности обработки рук персонала**

Смывы с рук персонала производят стерильными марлевыми салфетками размером 5×5 см, смоченной в нейтрализаторе. Марлевой салфеткой тщательно протирают ладони, околоногтевые и межпальцевые пространства обеих рук. После отбора проб марлевую салфетку помещают в широкогорлые пробирки или колбы с физиологическим раствором и стеклянными бусами, встряхивают в течение 10 мин. Жидкость засевают глубинным способом на 2 чашки Петри с мясопептонным агаром (по 0,5 мл) и в 2 пробирки с 0,5%-м сахарным бульоном (по 1 мл). Посевы инкубируют при температуре 37°С в течение 48 ч.

**День 23. Проведение дезинфекции, стерилизации и утилизация отработанного материала**

Правила обращения с утилизацией, разработаны в соответствии с требованиями санитарных правил и норм на основании: «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами СаНПиН 2.1.7.2790-10»

Класс А - эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам (далее – ТБО): мебель, инвентарь, неисправные приборы и оборудование, не содержащие токсических элементов; неинфицированная бумага, упаковочный материал.

Класс Б - эпидемиологически опасные отходы: отходы с микроорганизмами III-IV групп патогенности(опасности), упаковка и контейнеры из под проб.

Класс Г - токсикологически опасные отходы (отходы по составу близкие к промышленным) ртутьсодержащие предметы, приборы и оборудование (люминесцентные и бактерицидные ртутьсодержащие лампы, термометры).

Организационная в бактериологическом отделе система сбора, временного хранения и удаления отходов является частью общих утвержденных в организации мер и состоит из следующих этапов:

1. Сбор и хранение внутри подразделения;
2. Обеззараживания/обезвреживания отходов в бактериологическом отделе;
3. Транспортировка и загрузка в специальные контейнеры за пределы лаборатории;
4. Транспортировка за пределы учреждения (на основании договора вывоз отходов);
5. Организации обучения персонала правилам эпидемиологической безопасности при обращении с отходами.

В качестве тары для сбора мусора используют одноразовые пакеты с соответствующей маркировкой (цветовой и текстовой). Пакеты для отходов класса А – белого цвета, для отходов класса Б – желтого цвета. Норматив заполнения пакета не более ¾ объема, максимальная вместимость до 15кг. Для транспортировки используют тележки и закрывающиеся контейнеры.

Контейнеры для сбора каждого вида отходов должны быть однотипны, хорошо различимы от контейнеров для отходов другого типа, снабжены плотно закрывающимися крышками.

Вывоз отходов классов А и Б осуществляется ежедневно согласно договору со специализированным учреждением. Отходы класса Г (отработанные люминесцентные и бактерицидные лампы, термометры) вывозят по мере необходимости транспортом специального учреждения по договору. Отходы класса Б подлежат обеззараживанию в отделе химическим и (или) физическим способами. Для дезинфекции отходов класса Б химическим способом используют дезинфицирующие средства, зарегистрированные и разрешенные к применению на территории Российской Федерации, в концентрациях и времени экспозиции, указанных в соответствующих рекомендациях по их применению. Приготовление дезинфицирующих растворов, маркировка емкостей с дезинфицирующим раствором, соблюдение условий хранения и сроков годности контролируется в отделе ответственным лицом. Дезинфекция отходов класса Б физическим способом осуществляется водяным насыщенным паром с избыточным давлением (автоклавированием) с соблюдением режимов обеззараживания, указанным в Федеральных санитарно-эпидемиологических правилах «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. СП 1.3.2322-08». После аппаратного обеззараживания с применением насыщенного водяного пара и изменения внешнего вида отходов, отходы класса Б могут временно храниться, транспортироваться и захораниваться с отходами класса А. Упаковка обеззараженных медицинских отходов класса Б должна иметь маркировку, свидетельствующую о проведенном обеззараживании.



**День 24. Дифференциальный зачёт. Индивидуальное задание**

**Идентификация грибов рода Candida методом масс-спектрометрии.**

Система VITEK® MS основана на методе масс-спектрометрии – аналитической технологии, которая определяет элементный состав образца. Масс-спектрометр – прибор, способный в условиях вакуума разделять находящиеся в газовой фазе заряженные частицы вещества согласно отношению их массы к заряду. MALDI-TOF: анализатор времяпролетной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации. Для проведения идентификации анализируемый образец смешивают со специальным реагентом - матриксом. При нанесении смеси на металлическую пластину и лазерном облучении матрикс испаряется, и образец приобретает электрический заряд, далее измеряют соотношение 12 массы к этому заряду. При этом измеряется время, за которое ионы достигают датчика – время пролета, определяется спектр и сравнивается в базе данных. В итоге данный метод позволяет идентифицировать вид микроорганизма.



Проведение пробоподготовки: ставят контрольные пробы с калибровочным штаммом и матриксом. Отбирают исследуемую колонию стерильной пластиковой бактериологической петлей, наносят ее в лунку на металлический слайд и растирают тонким слоем по поверхности. При исследовании грибов на образец сначала наносят 1 мкл матрикса FA (феруловая кислота) до полного высыхания, а затем 1 мкл CHCA. Слайд содержит 48 лунок.



****

В ЛИС вводят № исследуемых образцов пациентов. Подготовленный слайд вставляют в адаптер анализатора, сканируют штрих-код слайда, запускают сбор данных.

**Лист лабораторных исследований.**

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

**ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ (ПРЕДДИПЛОМНОЙ) ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Ломаевой Светланы Петровны \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

группы \_\_\_\_\_\_\_407\_\_\_\_\_\_\_ специальности Лабораторная диагностика

Проходившего (ей) преддипломную практику

с « \_ 12 » мая 2020г. по «\_\_08\_\_» \_\_\_\_июня\_\_\_\_2020г.

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

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

# 2. Текстовой отчет

|  |
| --- |
| 1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики: приготовление питательных |
| сред; произведение посевов на чашки Петри, скошенный агар и высокий столбик агара; |
| изучение сахаралитических, протеолитических, гемолитических активностей |
| исследуемой культуры, серодиагностики РА, РП, РСК, РИФ, РНГА; изучение |
| культуральных и морфологических свойств исследуемой культуры; проведение сан-бак |
| исследований; диагностика ВБИ, гнойно-воспалительных и кишечных инфекций; |
| утилизация отработанного материала, дезинфекция, стерилизация. |
|  |
| 1. Самостоятельная работа: прием, маркировка, регистрация биоматериала; варка |
| питательных сред; произведение посевов; работа на масс-спектрометре VITEK® MS |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей: |
| Жуковой Марины Владимировны |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
| 1. Замечания и предложения по прохождению практики: |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |
|  |

Общий руководитель практики*Жукова М. В***.** Жукова М. В

*(подпись) (ФИО)*

М.П.организации

## **ХАРАКТЕРИСТИКА**

**Ломаева Светлана Петровна**

*ФИО*

обучающийся (ая) на 4 курсе по специальности СПО

**31.02.03 Лабораторная диагностика**

успешно прошел (ла) преддипломную практику по разделу:

«Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований»

в объеме\_\_\_144\_\_\_ часов с «12» мая 2020г. по «08 » июня 2020г.

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

*наименование организации, юридический адрес*

За время прохождения практики:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№ ОК/ПК** | **Критерии оценки** | **Оценка (да/нет)** |
| ПК 3.1, ОК13 | Быстро и правильно готовит рабочее место в соответствии с методикой. |  |
|  |
| ПК3.2  ОК 2 | Соблюдает методику при выполнении исследований.  Правильно интерпретирует результаты исследований. |  |
| ПК 3.3 | Соблюдает форму заполнения учетно-отчетной документации (журнал, бланки). |  |
| ПК 3.4,  ОК 11 | Проводит мероприятия по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.  Утилизирует отработанный материал в соответствии с инструкциями и СанПин. |  |
| ОК 1 | Демонстрирует интерес к профессии.  Внешний вид опрятный, аккуратный. |  |
| ОК 6 | Относится к медицинскому персоналу и пациентам уважительно, отзывчиво, внимательно. Отношение к окружающим бесконфликтное. |  |
| ОК 7 | Проявляет самостоятельность в работе, целеустремленность, организаторские способности. |  |
| ОК 9 | Способен освоить новое оборудование или методику (при ее замене). |  |
| ОК 10 | Демонстрирует толерантное отношение к представителям иных культур, народов, религий. |  |
| ОК 12 | Способен оказать первую медицинскую помощь при неотложных ситуациях |  |
| ОК14 | Соблюдает санитарно-гигиенический режим, правила ОТ и противопожарной безопасности. Отсутствие вредных привычек. Участвует в мероприятиях по профилактике профессиональных заболеваний |  |

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

Подпись непосредственного руководителя практики

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

Подпись общего руководителя практики

*Жукова М.В.* /ФИО, должность