Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

### Дневник

производственной практики

по МДК 04.01. «Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований»

Мурадова Эльвира Вугаровна

ФИО

Место прохождения практики

«Красноярский краевой кожно-венерологический диспансер №1»

(медицинская организация, отделение)

с «09» мая 2022г. по «21» мая 2022г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) Попов В.Г. (заведующий КДЛ)

Непосредственный – Ф.И.О. (его должность) Климова Е.А. (заведующий бактериологической лаборатории)

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

Красноярск, 2022

## **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:**

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 микробиологических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в бактериологической лаборатории.

**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 производственной 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;

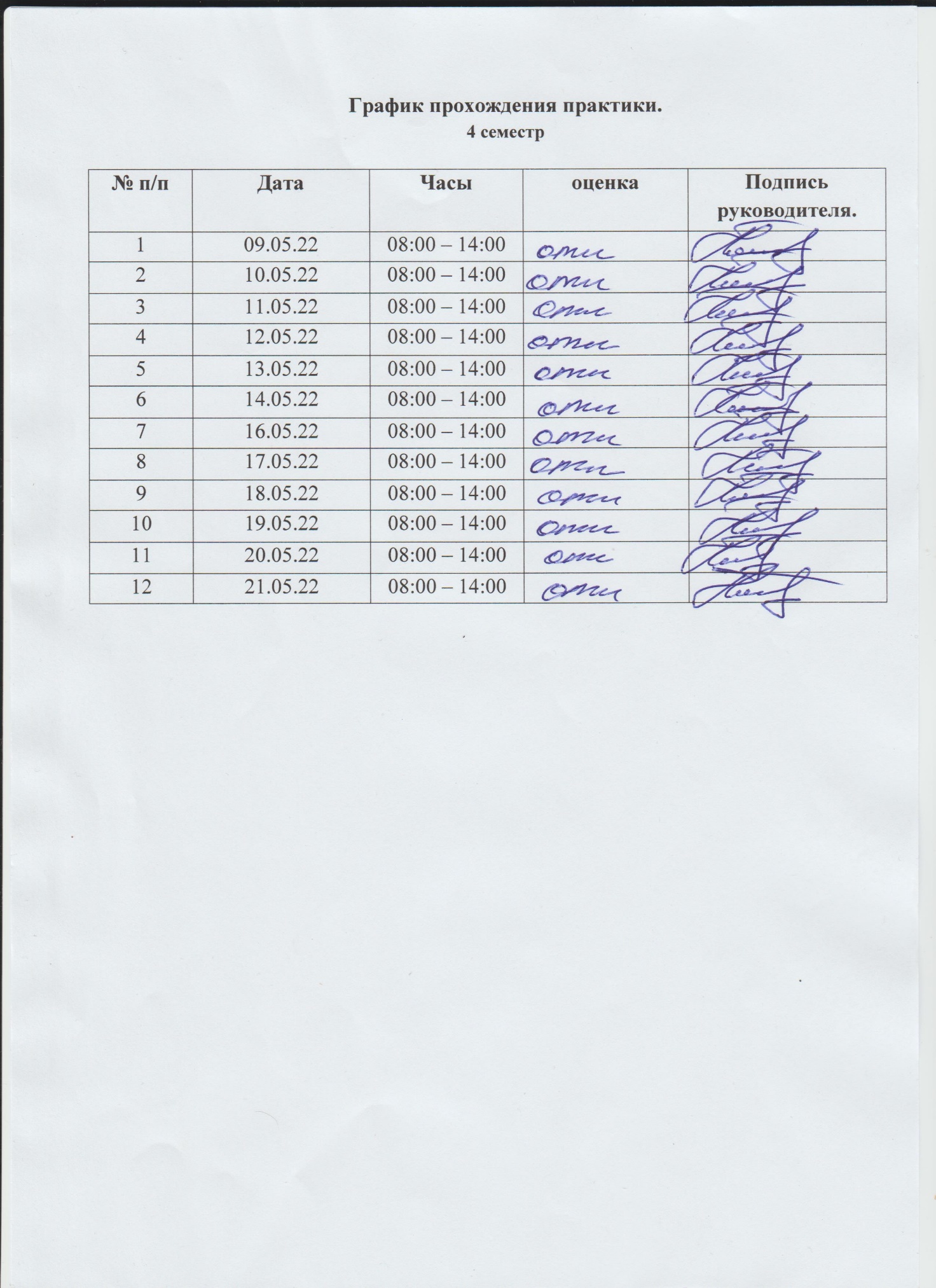
- основные методы и диагностическое значение исследований протеолитических, сахаралитических, гемолитических свойств микроорганизмов, антигенной структуры.

**Тематический план**

**Квалификация Медицинский технолог**

**4 семестр**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | | **Всего часов** |
| 1 | Ознакомление с правилами работы в бак лаборатории | | 6 |
| 2 | Подготовка материала к микробиологическому исследованиям: прием, регистрация биоматериала | | 3 |
| 3 | Приготовление питательных сред общеупотребительных, элективных, дифференциально-диагностических. | | 3 |
| 4 | Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (гнойно-воспалительных, кишечных) | | 20 |
| 5 | Дисбактериоз. Этапы исследования. | | 22 |
| 5 | Иммунодиагностика: РА, РП, РСК, РИФ | | 6 |
| 6 | Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. | | 6 |
| **Вид промежуточной аттестации** | | Дифференцированный зачет | 6 |
| **Итого** | | | **72** |



**Инструктаж по технике безопасности**

Общие требования безопасности

1. В химических и клинико-диагностических центрах к работе допускаются только лица с профильным образованием не моложе 18 лет.
2. Работники, вновь поступающие в лабораторию, должны пройти вводный инструктаж у инженера по охране труда с регистрацией в журнале вводного инструктажа по охране труда.
3. Каждый, вновь принятый на работу в лабораторию должен пройти первичный инструктаж по охране труда на рабочем месте. Повторный - инструктаж должен проводиться не реже одного раза в 6 месяцев с регистрацией в журнале инструктажа на рабочем месте.
4. В процессе работы персонал лаборатории обязан: соблюдать требования охраны труда; правильно применять средства индивидуальной и коллективной защиты; выполнять правила личной гигиены; проходить обучение безопасным методам и приемам выполнения работ, инструктаж по охране труда, стажировку на рабочем месте и проверку знаний требований охраны труда.

Требования безопасности до начала работы

1. Вентиляция в лаборатории должна включаться за 30 минут до начала работы.  
2. Перед началом работы персонал лаборатории должен надеть санитарно—гигиеническую одежду, приготовить средства индивидуальной защиты.  
3. Персонал лаборатории обязан подготовить свое рабочее место к безопасной работе, привести его в надлежащее санитарное состояние, при необходимости подвергнуть влажной уборке.

Требования безопасности во время работы

1. Персонал лаборатории во время работы не должен допускать спешки. Проведение анализов следует выполнять с учетом безопасных приемов и методов работы.   
2. С целью предупреждения инфицирования медицинскому персоналу лаборатории следует избегать контакта кожи и слизистых оболочек с кровью и другими биологическими материалами.  
3. Работать с исследуемым материалом в резиновых перчатках, избегая уколов и порезов.  
4. Транспортировка должна осуществляться в закрытых контейнерах, регулярно подвергающихся дезинфекционной обработке.  
5. Все повреждения кожи на руках должны быть закрыты лейкопластырем или напальчниками.  
6. При пипетировании следует использовать автоматические пипетки, а в случае их отсутствия — резиновые груши. Запрещается пипетирование ртом.  
7. При открывании пробок, бутылок, пробирок с кровью или другими биологическими материалами следует не допускать разбрызгивания их содержимого.  
8. Рабочие места для проведения исследований мочи и кала, должны быть оборудованы вытяжными шкафами с механическим побуждением.

**Санитарно-противоэпидемический режим в клинико-диагностической лаборатории**

Санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ — это комплекс санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий, препятствующих инфицированию медперсонала КДЛ и обследуемых больных. Сотрудники КДЛ подвергаются риску заражения ВИЧ, вирусным гепатитом, кишечными инфекциями и другими инфекционными заболеваниями, основным источником распространения которых является инфицированный биологический материал (кровь, мокрота, ликвор, сперма, кал и другие секреты, и экскреты).

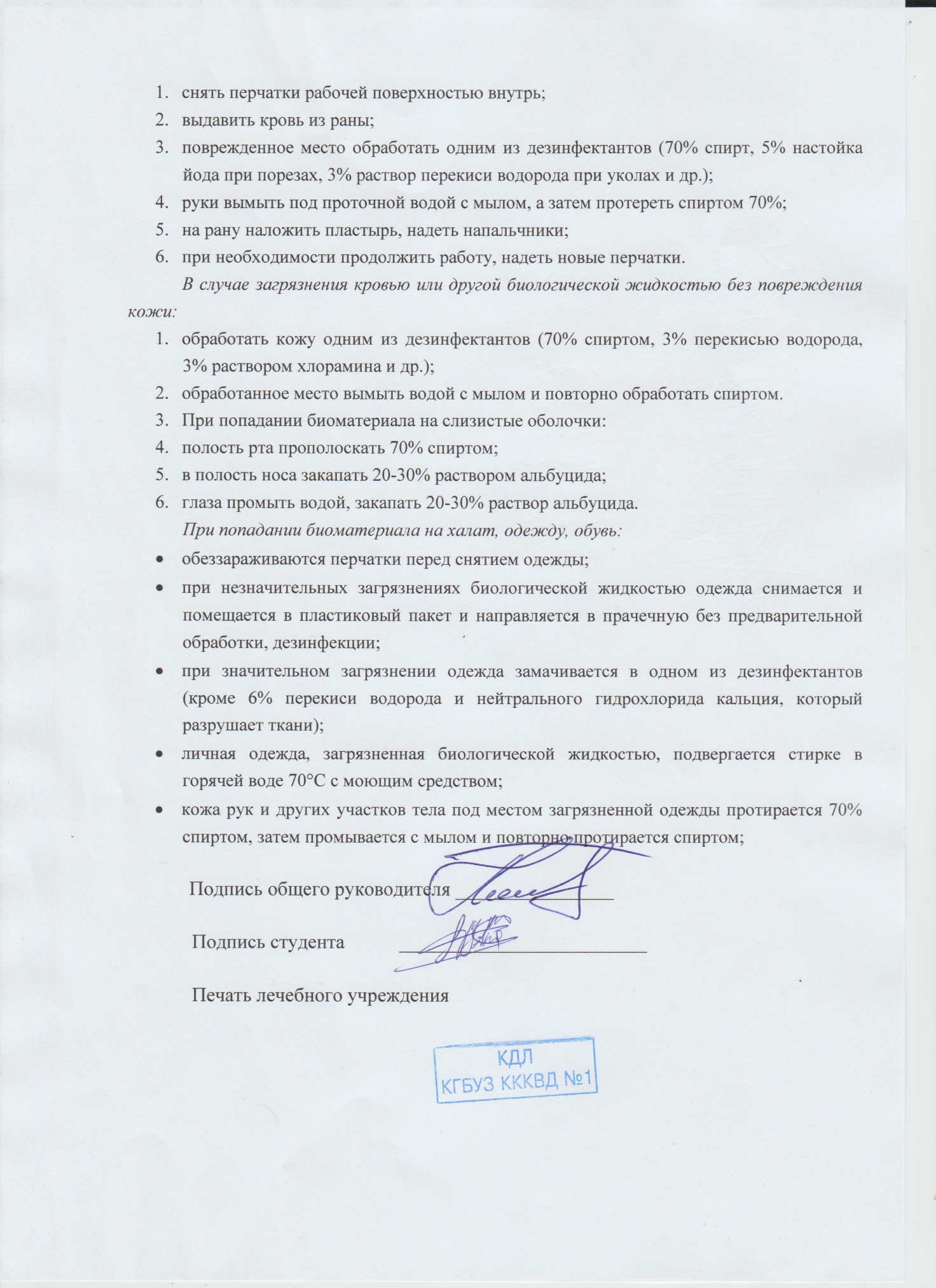
Ответственность за организацию и соблюдение противоэпидемического режима при работе с потенциально опасным материалом возлагается на руководителя КДЛ.

Контроль за выполнением санитарно-противоэпидемического режима в КДЛ учреждений здравоохранения осуществляют заведующий КДЛ, старший фельдшер-лаборант и специалисты центров гигиены и эпидемиологии.

*Медицинскому персоналу КДЛ следует избегать контакта кожи и слизистых с кровью и другими биологическими жидкостями, для чего необходимо:*

* Работать в халатах, шапочках, сменной обуви, а при угрозе забрызгивания кровью или другими биожидкостями - в масках, очках, клеенчатом фартуке.
* Работать с исследуемым материалом в резиновых перчатках, избегать уколов и порезов, все повреждения кожи должны быть закрыты лейкопластырем или напальчниками.
* Проводить разборку, мойку, прополаскивание лабораторного инструментария и посуды после предварительной дезинфекции.
* В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биожидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 мин. тампоном, смоченным 70 % спиртом, вымыть с мылом под проточной водой и вытереть индивидуальным полотенцем.
* При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина или 6% раствором перекиси водорода.
* При попадании крови на слизистые оболочки, их немедленно промывают водой, 1% раствором борной кислоты, слизистую носа обрабатывают 1 % раствором протаргола, рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором борной кислоты или 0,06% раствором марганцевокислого калия.
* Запрещается пипетирование крови ртом. Следует использовать автоматические пипетки, а при их отсутствии - резиновые груши.
* Запрещается принимать пищу, пить, курить и пользоваться косметикой на рабочем месте.
* Поверхность рабочих столов в конце каждого рабочего дня, а в случае загрязнения биологическим материалом, немедленно подвергаются дезинфекции.

*Если контакт с кровью или другими жидкостями произошел с нарушением целостности кожных покровов (укол, порез), пострадавший должен:*



**День 1 (09.05.2022г.)**

Праздничный день.

**День 2 (10.05.2022г.)**

Праздничный день.

**День 3 (11.05.2022г.)**

**Изучение нормативных документов**

1. **Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы Сан. Пи. Н 2.1.3.2630–10 «САНИТАРНОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОРГАНИЗАЦИЯМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ МЕДИЦИНСКУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ»**

***Общие положения и область применения***

1. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы (далее - санитарные правила) устанавливают санитарно-эпидемиологические требования к размещению, устройству, оборудованию, содержанию, противоэпидемическому режиму, профилактическим и противоэпидемическим мероприятиям, условиям труда персонала, организации питания пациентов и персонала организаций, осуществляющих медицинскую деятельность (далее - ООМД).

2. Санитарные правила предназначены для индивидуальных предпринимателей и юридических лиц независимо от их организационно-правовой формы и формы собственности, осуществляющих медицинскую деятельность, и обязательны для исполнения на территории Российской Федерации. Проектирование, строительство, реконструкция, капитальный ремонт, перепланировка, эксплуатация объектов здравоохранения осуществляются в соответствии с настоящими санитарными правилами.

3. Медицинская деятельность подлежит лицензированию в соответствии с законодательством Российской Федерации. Обязательным условием для принятия решения о выдаче лицензии является представление соискателем лицензии санитарно-эпидемиологического заключения о соответствии санитарным правилам зданий, строений, сооружений, помещений, оборудования и иного имущества, которые соискатель лицензии предполагает использовать для осуществления деятельности.

4. Надзор за выполнением настоящих санитарных правил проводится органами, уполномоченными осуществлять государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

5. Ответственность за соблюдение требований настоящих санитарных правил возлагается на индивидуальных предпринимателей, юридических и должностных лиц.

6. Медицинская техника, мебель, оборудование, дезинфекционные средства, изделия медицинского назначения, строительные и отделочные материалы, а также используемые медицинские технологии должны быть разрешены к применению на территории Российской Федерации в установленном порядке.

7. Администрация ООМД обязана организовать производственный контроль за соблюдением санитарно-гигиенического и противоэпидемического режимов с проведением лабораторно-инструментальных исследований и измерений в соответствии с действующими нормативными документами.

1. **Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы Сан. Пи. Н 2.1.7.2790-10 «САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОБРАЩЕНИЮ С МЕДИЦИНСКИМИ ОТХОДАМИ»**

***Область применения и общие положения***

1. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы (далее - санитарные правила) разработаны в соответствии с законодательством Российской Федерации.

2. Настоящие санитарные правила устанавливают обязательные санитарно-эпидемиологические требования к обращению (сбору, временному хранению, обеззараживанию, обезвреживанию, транспортированию) с отходами, образующимися в организациях при осуществлении медицинской и/или фармацевтической деятельности, выполнении лечебно-диагностических и оздоровительных процедур (далее - медицинские отходы), а также к размещению, оборудованию и эксплуатации участка по обращению с медицинскими отходами, санитарно-противоэпидемическому режиму работы при обращении с медицинскими отходами.

3. Настоящие санитарные правила предназначены для граждан, индивидуальных предпринимателей и юридических лиц, деятельность которых связана с обращением с медицинскими отходами.

4. Контроль (надзор) за соблюдением настоящих санитарных правил проводится органами, осуществляющими функции по контролю и надзору в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в соответствии с законодательством Российской Федерации.

***Классификация медицинских отходов***

Класс А - эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам (далее - ТБО).

Класс Б - эпидемиологически опасные отходы.

Класс В - чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы.

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

1. **Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08 «БЕЗОПАСНОСТЬ РАБОТЫ С МИКРООГАНИЗМАМИ III-IV ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ (ОПАСНОСТИ) И ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕХНЕЙ»**

***Область применения***

1. Настоящие санитарно-эпидемиологические правила (далее - санитарные правила) разработаны в соответствии с Федеральным законом от 30.03.1999 N 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения".

2. Санитарные правила устанавливают требования к организационным, санитарно-противоэпидемическим (профилактическим) мероприятиям, направленным на обеспечение личной и общественной безопасности, защиту окружающей среды при работе с патогенными биологическими агентами III-IV групп (далее - ПБА III-IV групп или ПБА) - патогенными для человека микроорганизмами и гельминтами, а также любыми объектами и материалами, включая полевой, клинический, секционный, подозрительными на содержание указанных ПБА.

3. Санитарные правила предназначены для юридических лиц независимо от организационно-правовых форм и форм собственности и индивидуальных предпринимателей, проводящих на территории Российской Федерации работы с объектами и материалами, содержащими или подозрительными на содержание ПБА III-IV групп.

4. Соблюдение требований санитарных правил является обязательным для юридических лиц независимо от организационно-правовых форм и форм собственности и индивидуальных предпринимателей, проводящих работу с ПБА:

*III группы:*

- диагностические с целью обнаружения и выделения возбудителя, экспериментальные и производственные работы;

- ПЦР-диагностику;

- диагностические исследования на холеру и ботулинический токсин, выполняемые с целью профилактики этих инфекций;

- иммунологические исследования с ПБА III группы;

- иммунологические исследования по обнаружению в крови людей антигенов микроорганизмов II группы патогенности (без накопления возбудителя) и/или антител к ним;

- экспериментальные и производственные работы с вакцинными штаммами возбудителей I-II групп патогенности, официально отнесенными к III группе;

- исследования по контролю объектов окружающей среды и качества продукции.

*IV группы:*

- диагностические с целью обнаружения и выделения возбудителя, экспериментальные и производственные работы;

- иммунологические исследования с ПБА III группы (без накопления возбудителя);

- исследования по контролю объектов окружающей среды и качества продукции на наличие санитарно-показательных микроорганизмов;

- ПЦР-исследования.

**День 4 (12.05.2022г.)**

**Подготовка материала к микробиологическому исследованиям: прием, регистрация биоматериала. Приготовление питательных сред.**

Все собранные пробы отправляют в микробиологическую лабораторию немедленно после получения, за исключением случаев использования емкостей с транспортировочными средами. Пробы хранят в холодильнике при температуре 2-8 °С. Если пробы собирают в специальные емкости для последующего исследования с двухфазной средой, их следует хранить при комнатной температуре (18-20 °С). Пробы ликвора хранят при комнатной температуре (18-20 °С), а при проведении в лаборатории вирусологических исследований - в термостате при 35-37 °С.

Прием биоматериала:

* Внесение в лабораторный журнал регистрации: при приеме проб принимается решение, какие анализы будут проведены, и проба заносится в лабораторный журнал регистрации.
* Маркировка проб: после того, как проба зарегистрирована в журнале, ее маркируют. Для того чтобы связать пробу с важными формами и журналами регистрации. Так, вся информация о пробе записывается должным образом.
* В журнале записывают все необходимые сведения о пациентах и результаты лабораторных анализов. Это дает возможность проверить результаты и провести контроль качества.
* Журнал регистрации проб/пациентов может вестись в бумажном или электронном виде.



**Приготовление питательных сред**

**Питательные среды** являются основой микробиологической работы, и их качество нередко определяет результаты всего исследования. Среды должны создавать оптимальные (наилучшие) условия для жизнедеятельности микробов.

**Классификация сред по назначению:**

* Основные (общеупотребительные) среды служат для культивирования большинства патогенных: микробов. Это вышеупомянутые МПА, МПБ, бульон и агар Хоттингера, пептонная вода;
* Специальные среды служат для выделения и выращивания микроорганизмов, не растущих на простых, средах. Например, для культивирования стрептококка к средам прибавляют сахар, для пневмо- и менингококков - сыворотку крови, для возбудителя коклюша - кровь;
* Элективные (избирательные) среды служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они благоприятствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Так, соли желчных кислот, подавляя рост кишечной палочки, делают среду элективной для возбудителя брюшного тифа. Среды становятся элективными при добавлении к ним определенных антибиотиков, солей, изменении рН.

Жидкие элективные среды называют средами накопления. Примером такой среды служит пептонная вода с рН 8,0. При таком рН на ней активно размножается холерный вибрион, а другие микроорганизмы не растут;

* Дифференциально-диагностические среды позволяют отличить (дифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности, например среды Гисса с углеводами и индикатором. При росте микроорганизмов, расщепляющих углеводы, изменяется цвет среды;
* Консервирующие среды предназначены для первичного посева и транспортировки исследуемого материала; в них предотвращается отмирание патогенных микроорганизмов и подавляется развитие сапрофитов. Пример такой среды - глицериновая смесь, используемая для сбора испражнений при исследованиях, проводимых с целью обнаружения ряда кишечных бактерий.

Посуда для приготовления сред не должна содержать посторонних веществ, например щелочей, выделяемых некоторыми сортами стекла, или окислов железа, которые могут попасть в среду при варке ее в ржавых кастрюлях. Лучше всего пользоваться стеклянной, эмалированной или алюминиевой посудой. Перед употреблением посуду необходимо тщательно вымыть, прополоскать и высушить. Новую стеклянную посуду предварительно кипятят 30 мин в 1-2% растворе хлороводородной кислоты или погружают в этот раствор на ночь, после чего в течение часа прополаскивают в проточной воде.

**Этапы приготовления** сред: 1) варка; 2) установление оптимальной величины рН; 3) осветление; 4) фильтрация; 5) разлив; 6) стерилизация; 7) контроль.

**Установление рН** сред ориентировочно производят с помощью индикаторных бумажек.

**Осветление** сред производят, если при варке они мутнеют или темнеют. Для осветления в среду, подогретую до 50° С, вливают белок куриного яйца, взбитый с двойным количеством воды, перемешивают и кипятят. Свертываясь, белок увлекает в осадок взвешенные в среде частицы. Таким же способом можно вместо яичного белка использовать сыворотку крови (20-30 мл на 1 л среды).

**Фильтрацию** жидких и расплавленных желатиновых сред производят через влажный бумажный или через матерчатые фильтры. Фильтрация агаровых сред затруднена, - они быстро застывают. Обычно их фильтруют через ватно-марлевый фильтр.

Разливают среды в пробирки (по 3-5 мл или по 10 мл), флаконы, колбы, матрацы и бутылки не более чем на 2/3 емкости, так как при стерилизации могут намокнуть пробки и среды утратят стерильность.

**Стерилизация**. Режим стерилизации зависит от состава среды и указан в ее рецепте.

**Контроль готовых сред**: а) для контроля стерильности среды ставят в термостат на 2 сут, после чего просматривают. Если на средах не появятся признаки роста, их считают стерильными и передают для химического контроля по нескольку образцов каждой серии; б) химический контроль: окончательно устанавливают рН, содержание общего и аминного азота, пептона, хлоридов (их количество должно соответствовать указанному в рецепте).

**Рецепт приготовления простой (основной) среды:**

**Мясопептонный бульон (МПБ).** К мясной воде прибавляют 1% пептона и 0,5% х. ч. натрия хлорида, кипятят на слабом огне 10-15 мин для растворения веществ, устанавливают нужный рН и снова кипятят 30-40 мин до выпадения осадка. Фильтруют, доливают до первоначального объема водой и стерилизуют 20 мин при 120° С.

**Проведение смывов с рук и объектов окружающей среды:**

* Смывы с оборудования и инвентаря производят перед началом работы либо после санитарной обработки в санитарные дни.
* Смывы с рук следует производить перед началом работы, после пользования туалетом. Взятие смывов с рук персонала, спецодежды, инвентаря и оборудования производят с помощью стерильных ватных тампонов на стеклянных (лучше металлических) палочках или марлевых салфеточек размером 5 х 5 см, завернутых в бумажные пакеты.
* Непосредственно перед взятием смывов увлажняют тампон или салфетку стерильной 0,1%-ной пептонной водой или физиологическим раствором, предварительно разлитым по 2 мл в стерильные пробирки. Салфетки при этом захватывают прокаленным пинцетом. После взятия смыва тампон или салфетку помещают в ту же пробирку, из которой проводили увлажнение.
* При взятии смывов с рук протирают тампоном ладони обеих рук, проводя не менее 5 раз по одной ладони и пальцам, затем протирают участки между пальцами, ногти и под ногтями.
* При взятии смывов с санитарной одежды протирают 4 площадки по 25 см2: нижнюю часть каждого рукава и две площадки с верхней и передней части спецовки.

Смывы исследуют на обнаружение бактерий группы кишечной палочки и определение наличия коагулазоположительных стафилококков.

**День 5 (13.05.2022г.)**

**Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (гнойно-воспалительных, кишечных)**

**Патогенные кокки**

Кокки — это обширная группа микроорганизмов, включающая патогенных, условно-патогенных и непатогенных представителей.

По классификации Берги патогенные кокки относятся к трем семействам:

1. Micrococcaceae - род Staphylococcus (стафилококки).

2. Streptococcaceae - род Streptococcus (стрептококки и пневмококки).

3. Neisseriaceae - род Neisseria (менингококки и гонококки).

Общим признаком для всех патогенных кокков является их способность вызывать гнойные процессы, поэтому они называются гноеродными (пиогенными).

Степень органотропности у кокков неодинакова, она наиболее выражена у пневмококков, менингококков и гонококков. Все патогенные кокки неподвижны, не образуют спор, пневмококки образуют капсулу.

По тинкториальным свойствам они делятся на грамположительные (стафилококки, стрептококки) и грамотрицательные (менингококки, гонококки). Патогенные представители гноеродной группы отличаются друг от друга по потребности в питательных веществах и биохимической активности. Наименее требовательны к средам, а биохимически более активны стафилококки, наиболее требовательны к средам и наименее биохимически активны - гонококки.

Для микробиологической диагностики производят сбор материала для дальнейших исследований:

1. Гной (фурункулы, карбункулы, абсцессы).

2. Слизь из зева (ангина).

3. Мокрота (пневмония).

4. Моча (пиелиты и циститы).

5. Дуоденальное содержимое (холецистит).

6. Кровь (подозрение на сепсис).

7. Рвотные массы, промывные воды желудка, пищевые продукты (пищевые отравления).

8. Слизь из носа (обследование на бактерионосительство).

|  |  |
| --- | --- |
| *Рис 1. Схема выделения и идентификации стафилококка* | *Рис 2. Схема выделения и идентификации стрептококка* |

|  |  |
| --- | --- |
| Рис 3. Окрашивание по Граму | Рис 4. Микроскопия |

В ходе исследования после проведения окрашивания (рис 3.) и микроскопирования (рис 4.) были выявлены стафилококки (рис 5.)

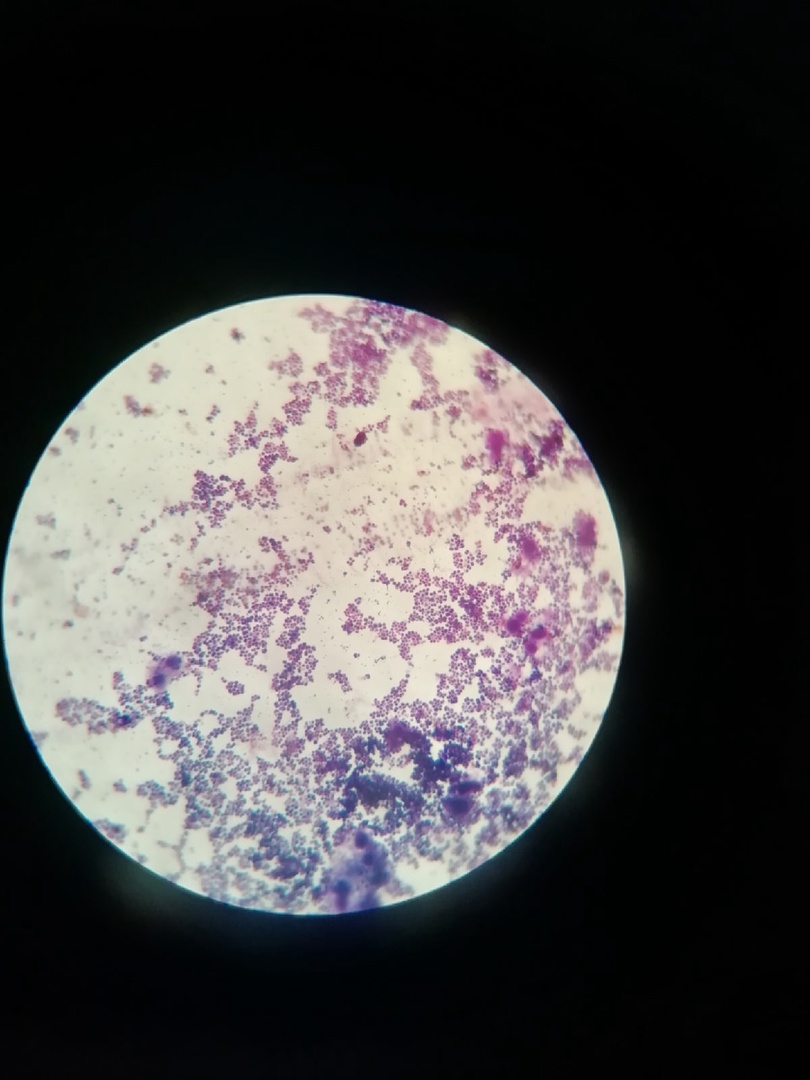


Рис 5. Стафилококки

**День 6 (14.05.2022г.)**

**Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (гнойно-воспалительных, кишечных)**

**Семейство кишечных бактерий**

К семейству энтеробактерий Enterobacteriaceae относят многочисленные микроорганизмы, сходные по морфологии, тинкториальным и культуральным свойствам. Они обитают в кишечнике человека и животных и могут быть обнаружены во внешней среде.

В настоящее время все кишечные бактерии делят на 12 родов, из которых будут рассмотрены следующие: Escherichia, Shigella, Salmonella, Proteus, Klebsiella, Yersinia.

Считается, что родоначальником всей этой группы микроорганизмов является кишечная палочка. В процессе эволюции разновидности кишечной палочки приспособились к паразитическому способу существования, приобрели патогенные свойства и являются в настоящее время возбудителями многих болезней человека и животных.

К патогенным представителям семейства кишечных бактерий относятся возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, токсикоинфекций, дизентерии. Многие кишечные бактерии постоянно обитают в кишечнике. При изменении условий существования (например, ослабление организма хозяина) они становятся возбудителями заболеваний. Это так называемые условно-патогенные бактерии.

Все кишечные бактерии грамотрицательные палочки. Они являются факультативными анаэробами. Хорошо растут на простых питательных средах.

Энтеробактерий отличаются ферментативной активностью, которая наиболее выражена у сапрофитов и уменьшается по мере усиления патогенности. Эту закономерность можно объяснить тем, что микроорганизмы, приспособляясь к паразитическому образу жизни, утратили ставшие ненужными ферменты.

**Микробиологическая диагностика возбудителей грибковой инфекции**

**Дрожжеподобные грибы**

Микроорганизмы рода Кандида входят в состав нормальной микрофлоры рта, влагалища и толстой кишки большинства здоровых людей. Заболевание обусловлено не просто наличием грибов рода *Candida*, а их размножением в большом количестве, и/или попаданием более патогенных штаммов гриба. Чаще всего кандидоз возникает при снижении общего и местного иммунитета.

Алгоритм лабораторной диагностики при кандидозе любой локализации включает микроскопию патологического материала или биоптата, выделение из данного материала чистой культуры возбудителя с последующей его идентификацией и в заключении определение чувствительности к антимикотическим препаратам.

Материалом для исследования при кандидозе полости рта являются соскобы, смывы, налёт со слизистой оболочки рта. Материалом для исследования при кандидозных вульвовагинитах являются налёт и слизь с задней и боковых стенок влагалища, собранные специальным одноразовым тампоном или стерильной петлёй. При глубоких формах кандидоза у больных следует собирать материал из всех локализаций, включая мокроту, мочу, кал. При кандидозе почек и мочевыводящих путей исследуют мочу, а в ряде случаев и кровь.

Последующая микроскопия в ряде случаев, например, когда исследуемым материалом являются чешуйки, корки, соскобы с ногтей, требует предварительного его просветления в щелочах высоких концентраций. В этом случае препарат помещают на предметное стекло в 2-3 капли 10-20% раствора едкой щёлочи, осторожно подогревают на пламени в течение 1 минуты или оставляют на 1-2 часа (в зависимости от материала) до полного просветления.

|  |  |
| --- | --- |
| Рис 6. Добавление щелочи в исследуемый материал | Рис 7. Нанесения материла на покровное стекло |

**Микроскопическое исследование**

Микроскопия считается полуколичественным методом диагностики, поэтому обнаружение возбудителя в количествах, достаточных для визуализации, уже свидетельствует о массивной колонизации или инфекции.

Положительным результатом микроскопческого исследования считается такой, при котором обнаруживается большое количество различных форм существования гриба в исследуемом материале. Грибы рода Candida могут существовать в виде круглых или овальных клеток - бластоспор, иногда почкующихся, а также в форме псевдомицелия или истинного мицелия.

Наиболее распространённой является окраска по Граму и различные её модификации, такие как окраска по Граму-Вейгерту в оригинальной прописи или Граму-Вейгерту-Боголепову.

|  |  |
| --- | --- |
| Рис 8. Окрашивание мазков по Граму | Рис 9. Грибы рода [Candida](https://translate.yandex.ru/translate?lang=en-ru&url=https%3A%2F%2Fen.wikipedia.org%2Fwiki%2FCandida_albicans&view=c) |

**Культуральные свойства**. Кандиды лучше растут на специальных питательных средах с добавлением углеводов (глюкозы), но могут размножаться и на простых. Оптимальная температура роста грибов +22- +36С; pH 5,8-6,5. Специальными средами для выращивания кандид являются глюкозо-пептонный агар, кукурузный питательный агар, среда Сабуро. Колонии на глюкозо-пептонной среде при +25С через 1-3 дня роста молочно-белые, беловато-кремовые с тусклым блеском; вначале гладкие, влажные, при дальнейшей инкубации могут стать морщинистыми.

**День 7 (16.05.2022г.), День 8 (17.05.2022г.), День 9 (18.05.2022г.)**

**Дисбактериоз. Этапы исследования.**

**Дисбактериоз** — это любые количественные или качественные изменения типичной для данного биотопа нормальной микрофлоры человека, возникающие в результате воздействия на макро– или микроорганизм различных неблагоприятных факторов.

**Причинами развития дисбактериоза могут быть:**

* Ятрогенный дисбактериоз кишечника
* Результат оперативного вмешательства
* Химиопрепараты, гормонотерапия, радиотерапия, воздействие радиации
* Острые или хронические кишечные инфекции
* Паразитарные заболевания кишечника (аскаридоз)
* Неправильное питание и др.

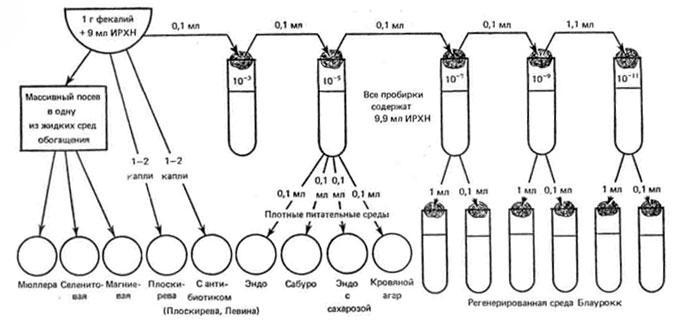
**Клинические проявления**

* Диспепсический синдром
* У многих возникают не характерные ранее аллергические реакции на продукты питания
* Синдром мальабсорбции – нарушение всасывания в кишечнике различных необходимых питательных веществ
* Интоксикация организма
* Снижение иммунитета

**Посев биоматериала на дифференциально-диагностические среды**

Материалом исследования служат испражнения. Разводят в 1 пробирку 1 мл кала с 9 мл физиологического раствора, в остальные 8 пробирок добавляют по 9 мл физиологического раствора. Титруют материал по 1 мл из 1 пробирки во 2, из 2 в 3 и тд.

Каждое разведение кала готовят стерильной пипеткой. Из соответствующих разведений делают посевы на среды Эндо, Плоскирева, Левина, Сабуро, желточносолевой агар (ЖСА), мясопептонный агар (МПА) с 5% крови и др., а также на свежескошенный агар по Шукевичу (для обнаружения роста вульгарного протея) и в среды накопления (например, магниевая, селенитовая), из которых через 24 ч инкубации в термостате делают последующие высевы на соответствующие среды. Для выделения анаэробов используют среды Блаурокка, Вильсона — Блера, молоко и др. Эндо, Плоскирева, Левина, МПА помещают в термостат при 37° С на 24 ч, на средах МРС, ЖСА, кровяном, Калины. Посевы просматривают через 48–72 ч. Наличие роста на средах Блаурокка и Сабуро может наблюдаться от 3 до 10 сут при хранении посевов при комнатной температуре и т. д.



*Рис 10. Титрование материла для исследования на дисбактериоз*

**Схема проведения анализа по дням исследования**

I день: приготовление разведений фекалий и засев материала на плотные элективные и дифференциальные питательные среды (Плоскирева, ЖСА, Эндо, Эндо кровяной, желчно-кровяной, Сабуро, скошенный МПА по Шукевичу), на среды Вильсона — Блера (2 пробы: гретая и негретая), Блаурокка, молоко. Параллельно с прямым посевом испражнений делают посев на среды обогащения. Мы рекомендуем для накопления сальмонелл магниевую среду. Производится подготовка чашки с глюкозной средой для определения антагонистической активности исследуемой флоры.

II день: просмотр чашек Петри, изучение выросших колоний, пересев подозрительных колоний со сред Эндо, Плоскирева на среду Клиглера; характеристика роста на скошенном МПА по Шукевичу (наличие или отсутствие ползучего роста), высев со среды накопления на плотные питательные среды (висмут-сульфитная среда); снятие подозрительных колоний с желчно-кровяного агара, с Эндо с кровью на кровяной агар; просмотр пробирок со средой Вильсона — Блера, пересев подозрительных колоний. Перейти к оглавлению Дисбактериоз кишечника (диагностика, коррекция)

III день: просмотр чашек со средами ЖСА (микроскопия, постановка тестов: плазма, маннит и др.), Сабуро (микроскопия; дальнейшая идентификация), кровяной агар (микроскопия, дальнейшая идентификация, биохимический ряд для идентификации энтерококков: молоко с синькой, маннит, ЭДДС, EF-агар), просмотр чашек на анаэробы, учет результатов роста на скошенной среде Клиглера (мазки, агглютинация), постановка пестрых рядов.

IV день: учет результатов биохимических тестов на стафилококки, энтерококки, энтеробактерии, анаэробы. Определение вида кандид. Постановка чувствительности к антибиотикам выделенных культур. Просмотр чашек с висмут-сульфитной средой, снятие подозрительных колоний на среду Клиглера. Посев на чашку с глюкозной средой музейных патогенных культур (S. typhi murium, Sh. sonnei, St. aureus и др.) для определения антагонистической активности исследуемой микрофлоры.

V день: просмотр пробирок со средой Блаурокка (микроскопия), титрование молока и количественный учет молочно-кислых палочек; учет чувствительности к антибиотикам выделенных культур; отбор подозрительных культур со среды Клиглера, агглютинация, постановка пестрых рядов, чувствительности к антибиотикам выделенных культур; просмотр среды Вильсона — Блера, при почернении среды с гретой культурой — постановка пестрого ряда (молоко с синькой, глюкоза, лактоза, маннит, сахароза, дульцит, мальтоза; МПА кровяной, ЖСА). Учет антагонистической активности.

VI день: идентификация выделенных культур, высеянных со среды накопления, учет чувствительности к антибиотикам выделенных культур. Идентификация клостридий по классическим методикам. Выдача окончательного ответа. Все штаммы, подозрительные по культуральным и биохимическим признакам в отношении принадлежности к патогенным энтеробактериям, должны быть идентифицированы серологически.

**Оценка результатов**

Диагноз дисбактериоза выставляется на основании данных бактериологических исследований (двух- и трехкратных), при наличии стойких отклонений от нормы, по качественным и количественным показателям и их сочетанием, например: – при отсутствии роста бифидобактерий в 10-6–10-8 разведении, молочно-кислых бактерий в 10-2 разведении; – при снижении количества типичной кишечной палочки до 104 и менее в 1 г фекалий;

**День 10 (19.05.2022г.)**

**Иммунодиагностика: РА, РП, РСК, РИФ**

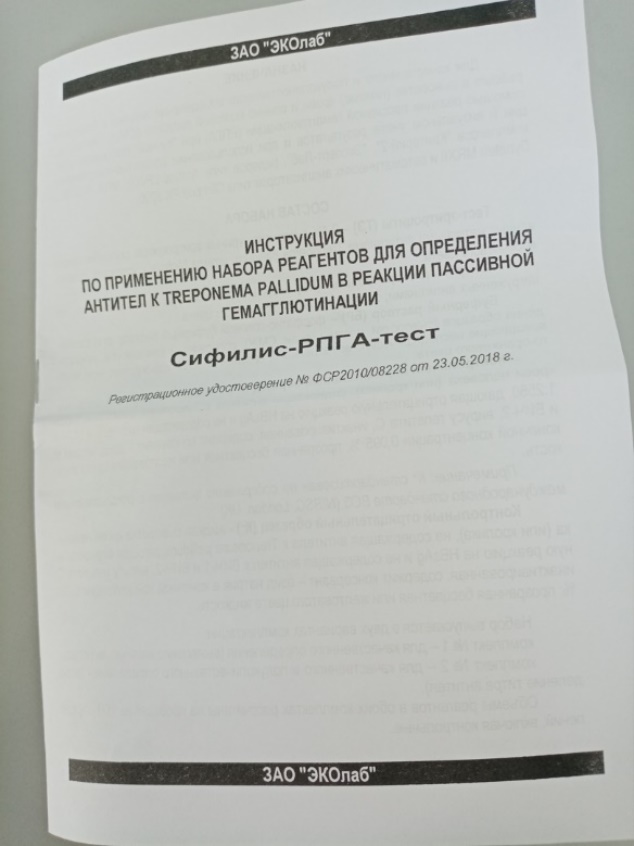


Рис 11. Изучение инструкции

**Принцип метода**

Тест основан на реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации. Антигенные компоненты Treponema pallidum сорбированы на поверхности формалинзированных куриных эритроцитов. При наличии в сыворотке (плазме) крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) специфических антител к T. pallidum, эритроциты слипаются, что приводит к появлению характерной картины реакции в ленках планшета. Суспензия эритроцитов содержит специальные добавки, предотвращающие неспецифическую агглютинацию.

**Состав набора**

1. Флакон с птичьими тест-эритроцигами (ТЭ), сенсибилизированными АГ T.pallidum (как правило, патогенного штамма Nichols). С целью предотвращения ложноположительных ответов РПГА в результате перекрестного взаимодействия ТЭ набора с АТ к непатогенным трепонемам в суспензию эритроцитов могут быть добавлены экстракты культуры Treponema Reiter.
2. Флакон с птичьими контрольными эритроцитами (КЭ), не сенсибилизированными АГ T.pallidum;
3. Буферный раствор для разведения;
4. Жидкую или лиофилизированную контрольную положительную сыворотку человека (K+), содержащую АТ к T.pallidum;
5. Жидкую или лиофилизированную контрольную отрицательную сыворотку человека (К–), не содержащую АТ к T.pallidum.

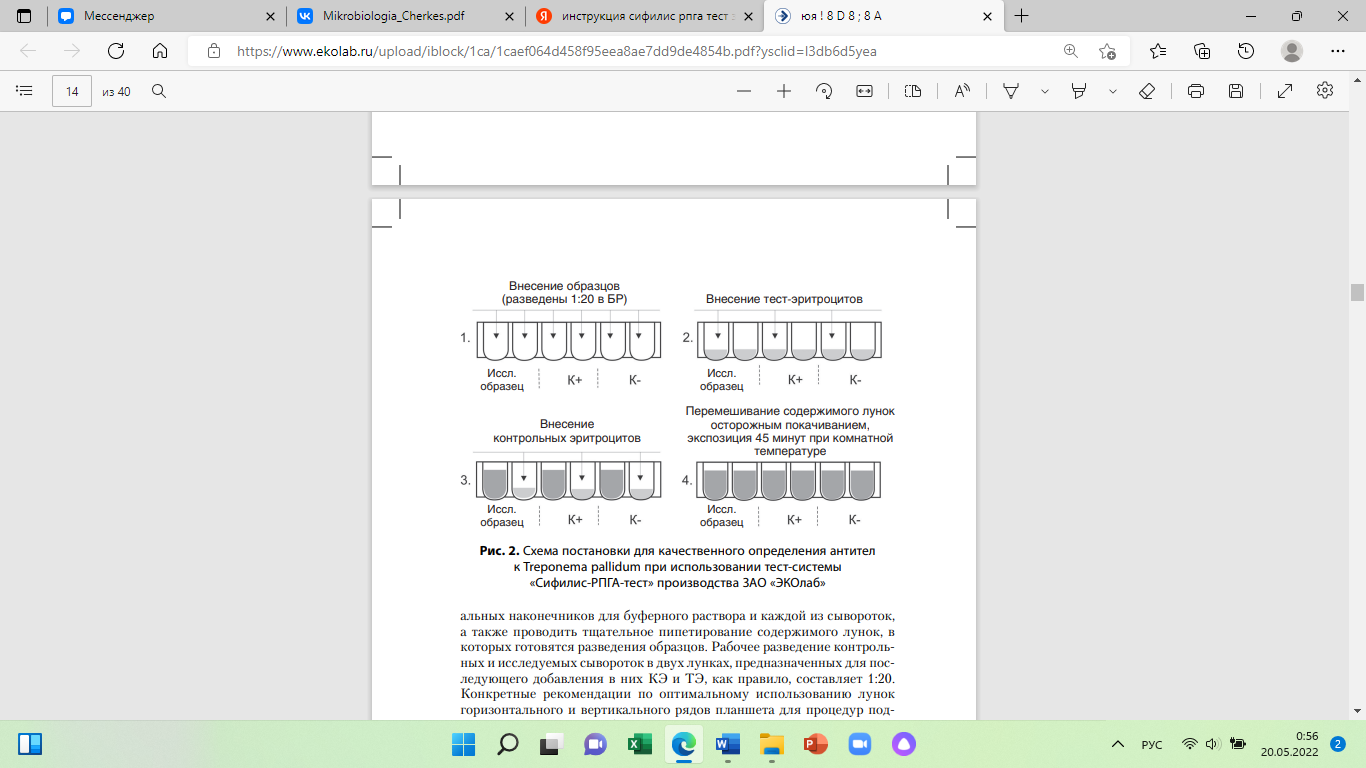
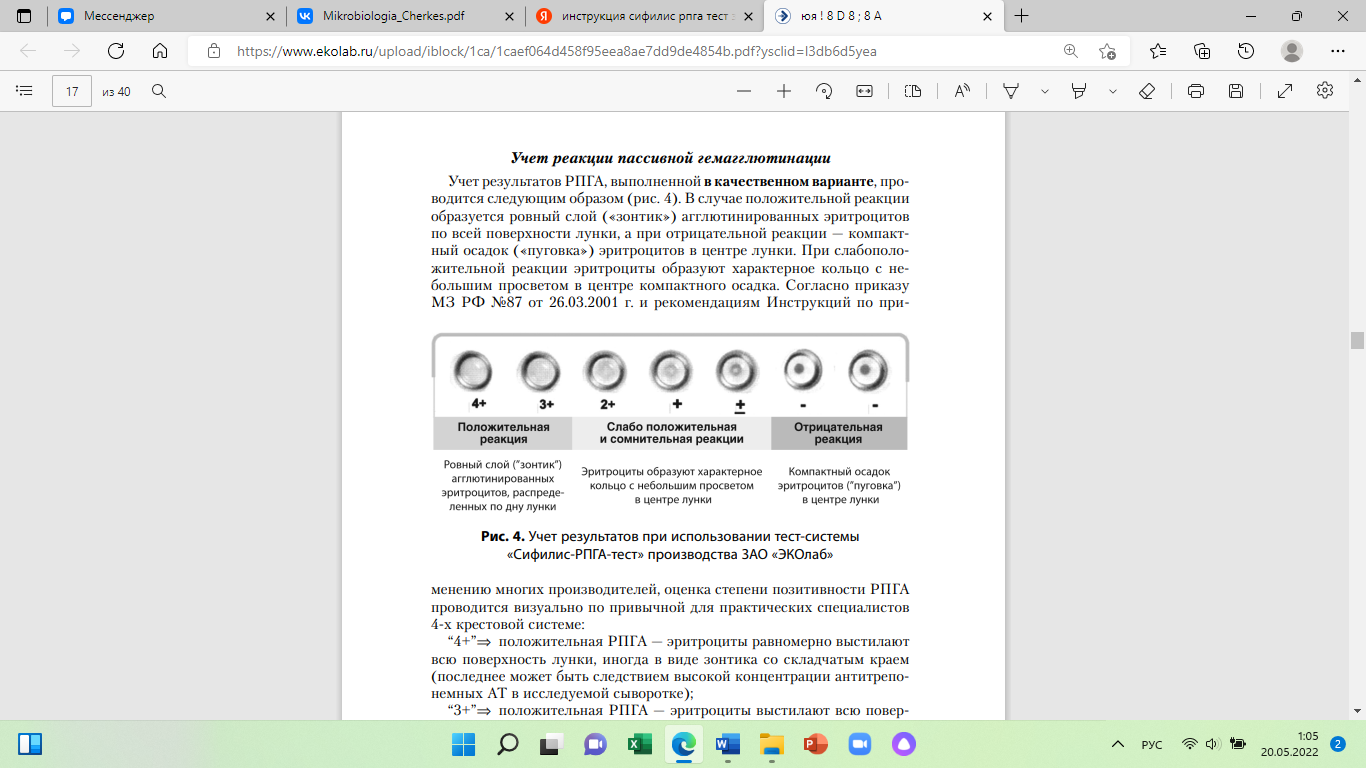


Рис 12. Схема постановки для качественного определения антител к T.pallidum при использовании тест-системы

|  |  |
| --- | --- |
| Рис 13. Взятие исследуемого образца | Рис 14. Работа на планшетах |

**Учет реакции**



“4+” ⇒ положительная РПГА — эритроциты равномерно выстилают всю поверхность лунки, иногда в виде зонтика со складчатым краем (последнее может быть следствием высокой концентрации антитрепонемных АТ в исследуемой сыворотке);

“3+” ⇒ положительная РПГА — эритроциты выстилают всю поверхность лунки, но часть их соскальзывает к центру, формируя тонкое кольцо по периферии образовавшегося «зонтика»;

“2+” ⇒ слабоположительная РПГА — эритроциты образуют характерное широкое кольцо с небольшим просветом в центре;

“1+” ⇒ эритроциты образуют плотное кольцо небольшого размера с незначительным просветом в центре; трактовка в подобных случаях требует особой осторожности, и наиболее правильным решением является установление сомнительного результата с рекомендацией повторного исследования пациента в том же РПГА-наборе через 1–2 недели.

**День 11 (20.05.2022г.)**

**Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты**

**Стерилизация** — это обеспложивание, т. е. полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор.

Стерилизацию производят различными способами:

1) физическими (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, использование бактериальных фильтров);

2) химическими (использование различных дезинфектантов, антисептиков);

3) биологическим (применение антибиотиков).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность использования того или иного способа стерилизации обусловлена особенностями материала, подлежащего стерилизации, его физическими и химическими свойствами.

**Физический способ**

Прокаливание в пламени горелки или фламбирование - способ стерилизации, при котором происходит полное обеспложивание объекта, так как погибают и вегетативные клетки, и споры микроорганизмов. Обычно прокаливают бактериологические петли, шпатели, пипетки, предметные и покровные стекла, мелкие инструменты. Не следует стерилизовать прокаливанием ножницы, скальпели, так как под действием огня режущая поверхность становится тупой.

**Дезинфекция** изделий медицинского назначения производится с целью профилактики внутрибольничных инфекций у пациентов и персонала учреждений здравоохранения. Дезинфекцию изделий осуществляют физическим или химическим методами. Выбор метода зависит от особенностей изделия и его назначения.

*Физический метод дезинфекции* наиболее надежен, экологически чист и

безопасен для персонала.

Дезинфекцию с использованием физического метода выполняют:

* способом кипячения в воде;
* воздушным методом в воздушном стерилизаторе (сухожаровом шкафу).

*Химический метод дезинфекции* является более распространенным и

общепринятым методом обеззараживания изделий медицинского назначения

в учреждениях здравоохранения. Для дезинфекции изделия погружают в контейнер с дезинфицирующим раствором сразу после применения, не допуская их подсушивания.

После дезинфекции изделия промывают водопроводной водой, высушивают

и применяют по назначению, а при наличии показаний подвергают

стерилизации с предварительной предстерилизационной очисткой.

Стирка спецодежды на дому категорически запрещается. Смена спецодежды должна осуществляться не менее 2 раз в неделю.

Перчатки после окончания работы обеззараживаются погружением в 3% раствор хлорамина или 6% раствор перекиси водорода на 1 час или кипячением в течение 30 минут.

Одноразовый инструментарий (плашки, наконечники автоматических пипеток и т.д.) обеззараживаются и утилизируются в паровом стерилизаторе при 2,0 кг/см2 (132С) – 60 минут.

**День 12 (21.05.2022г.)**

**Дифференцированный зачет**

**Лист лабораторных исследований.**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследования |  | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | Итог |
| Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ. |  |  |  | 2 |  |  | 3 |  |  |  |  |  | **5** |
| Изучение культуральных, морфологических св-в |  |  |  | 3 | 9 | 4 | 11 | 8 | 7 | 6 | 9 |  | **57** |
| Изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитической активности |  |  |  | 3 | 7 | 3 | 9 | 6 | 7 | 4 | 6 |  | **45** |
| Серодиагностика РА |  |  |  |  |  |  |  |  | 8 | 4 |  |  | **12** |
| РП |  |  |  |  |  |  |  |  |  | 1 |  |  | **1** |
| РСК |  |  |  |  |  |  |  |  |  | 1 |  |  | **1** |
| РИФ |  |  |  |  |  |  |  |  | 1 |  |  |  | **1** |
| РНГА |  |  |  |  |  |  |  |  |  | 7 |  |  | **7** |
| Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; |  |  | 24 | 20 | 11 | 19 | 15 | 21 | 29 | 18 | 22 |  | **179** |
| Участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований |  |  |  | 1 |  |  |  |  |  |  |  |  | **1** |
| Санитарная микробиология исследование воздуха |  |  |  |  |  |  | 1 |  |  |  |  |  | **1** |
| Санитарная микробиология исследование смывов с рук и объектов  окружающей среды |  |  |  |  |  | 1 |  |  |  |  |  |  | **1** |

**ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося \_Мурадова Эльвира Вугаровна \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

группы\_\_221\_\_ специальности Лабораторная диагностика

Проходившего (ей) производственную (преддипломную) практику

с \_9 мая \_по \_21 мая\_\_2022г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | Виды работ 4 семестр | **Количество** |
| 1. | - изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ: | 3 |
| 2. | - прием, маркировка, регистрация биоматериала. | 167 |
| 3. | Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ. | 5 |
| 4. | Изучение культуральных, морфологических свойств | 57 |
| 5 | Изучение сахаралитической, протеолитической, гемолитической активности | 45 |
| 6 | Серодиагностика РА | 12 |
| 7 | РП | 1 |
| 8 | РСК | 1 |
| 9 | РИФ | 1 |
| 10 | РНГА | 7 |
| 11 | Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; | 179 |
| 12 | участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований | 3 |

## 

