

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

К работе в бактериологической лаборатории допускаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинский осмотр, инструктаж по охране труда и пожарной безопасности.

Обязанности при работе:

- Соблюдение правил внутреннего трудового распорядка;
- Соблюдение режимов труда и отдыха;
- Немедленное извещение заведующей отделением о ситуации, угрожающей жизни и здоровью;
- Выполнение требований нормативных документов, инструкций по охране труда, правил пожарной безопасности;
- Выполнение требований личной гигиены, содержание в чистоте рабочего места;

Необходимо руководствоваться принципом, что все пациенты потенциально инфицированы.

При работе в лаборатории необходимо использовать специальную одежду, сменную обувь, шапочку, средства индивидуальной защиты (фартук прорезиненный, перчатки, нарукавники, очки защитные, маска). После любой процедуры двукратно тщательно моют руки и дезинфицируют их.

При транспортировке биоматериала соблюдают следующие правила:

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

Заполняют всю документацию на чистом столе.

Запрещено:

- Работать с неисправным оборудованием;
- Оставлять включенным в сеть приборы, за исключением некоторых, которые могут находиться в круглосуточном режиме работы;
- Есть в неположенном месте;
- Пипетировать ртом;
- Переливать кровь, сыворотку через край пробирки.

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

Утилизация отходов происходит согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами: в лаборатории утилизируют отходы класса А (неопасные отходы, не контактировавшие с больными - белый пакет или другого цвета, кроме желтого и красного) и отходы класса Б (опасные отходы с возможным инфицированием - желтый пакет). Контейнеры для утилизации маркируются.

Подпись студента _____

Подпись заведующего КДЛ _____

День 1 Микробиологическое исследование сердечно-сосудистой системы, глаз, ушей

Микробиологическое исследование при заболеваниях сердечно-сосудистой системы:

Правила забора и хранения образца приведены в таблице:

Вид исследования	Емкость для взятия	Температурный режим хранения	Сроки хранения (доставки)	Правила взятия
Кровь на стерильность (аэробная микрофлора)	Флакон для гемокультуры Bact/Alert Aerobic (аэробный)	Комнатная T=18-20 °C	2 суток	Взятие материала в коммерческие флаконы Bact/Alert с максимальным соблюдением условий асептики.
Кровь на стерильность (анаэробная микрофлора)	Флакон для гемокультуры Bact/Alert Anaerobic (анаэробный)			Взятие перед началом подъема T или на высоте лихорадки. На фоне АБ терапии- во время наименьшей концентрации препарата. Каждая проба инокулируется в 2 флакона (аэробный и анаэробный) в количестве 8-10 мл.

Оценка результатов: Анализатор BACT/ALERT 3D обеспечивает непрерывный мониторинг с визуальным и звуковым оповещением для положительного флакона. Таким образом, нет необходимости делать высевы из всех флаконов, высев делается целенаправленно из положительного флакона.



Bact/ALERT 3D использует колориметрический метод, в основе которого лежит способность некоторых красителей менять цвет при

изменении pH. Такой сенсор находится в основании каждого флакона. Присутствующие в образце микроорганизмы во время роста на питательной среде выделяют углекислый газ, который диффундирует через избирательно проницаемую мембрану и взаимодействует с сенсором. Изменение pH в ходе этого взаимодействия приводит к смене цвета сенсора с темно-зеленого на желтый.

Малейшее изменение цвета улавливается высокочувствительными датчиками (измерение проводится каждые 10 минут), установленными в основании каждой ячейки с флаконами, преобразовывается в электрический сигнал, усиливается и передается в компьютер для анализа.

При появлении роста колоний далее их идентифицируют по общепринятым в бактериологии правилам. При отсутствии роста микроорганизмов дается окончательный ответ - посев крови стерilen. Исследование проводится в течение 5 дней.

Микробиологическое исследование отделяемого глаз:

Вид исследования	Материал для исследования	Емкость для взятия	Температурный режим хранения	Сроки хранения (доставки)	Специальные условия	Правила взятия
Конъюнктивальная флора (аэробы) / Конъюнктивальная флора (аэробы) с антибиотикопрограммой	Мазок с конъюнктивы	Пробирка с транспортной средой Эймса	Хранение при комн. Т (не замораживать)	3 суток	В направлении на исследование указывается дата и время взятия пробы	Пробы собирают увлажненным тампоном двумя-тремя круговыми движениями с конъюнктивы. Тампон помещают в пробирку со средой.

Исследование микрофлоры глаз: Пробы на исследование отбирают с пораженных мест в разгар воспалительного процесса с соблюдением правил асептики стерильным ватным тампоном. Не менее чем за 5-6 часов до исследования отменяют все медикаменты и процедуры. Материал засеивается на КА в автоматической станции для посевов Previ Isola. При наличии роста на КА проводят качественную и количественную оценку бактериального роста. Идентифицируют возбудителя с помощью масс-спектрометрии. При отсутствии роста в первые сутки посева оставляют в термостате, ежедневно

просматривают их. В случае отсутствия роста через 48 часов выдается отрицательный ответ.

Оценка результатов: При интерпретации результатов микробиологического исследования отделяемого глаз необходимо учитывать контингент обследованных больных, анамнез, клинические проявления болезни.

I степень	Очень скудный рост	Единичные колонии до 10^3 КОЕ/тампон
II степень	Небольшое количество	До 20 колоний (10^3 КОЕ/тампон)
III степень	Умеренное количество	21-100 колоний (10^4 КОЕ/тампон)
IV степень	Большое количество	Более 100 колоний ($>10^5$ КОЕ/тампон)
I и II степень – возможно загрязнение или носительство		
I и IV степень – этиологически значимый МО		

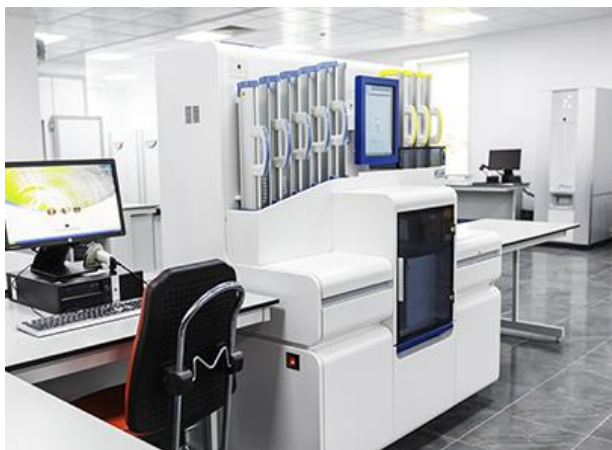
Микробиологические методы исследования отделяемого ушей Правила забора, транспортировки и хранения материала:

Вид исследования	Материал для исследования	Емкость для взятия	Температурный режим хранения	Сроки хранения (доставки)	Специальные условия	Правила взятия
Ухо на грибы рода <i>Candida spp</i>	Мазок из уха	Пробирка с транспортной средой Эймса	Хранение при комнатной температуре, (не замораживать)	3 суток	В направлении на исследование обязательно указывается дата и время взятия пробы	Кожу обрабатывают 70° спиртом, затем промывают физиологическим раствором и проводят взятие тампоном круговыми движениями. Тампон помещают в пробирку со средой.
Ухо на аэробы / Ухо на аэробы с антибиотикограммой						

Производят посев материала на КА, шоколадный агар, ЖСА, Сабуро с помощью автоматической станции Previ Isola.

Система производит посев на агар по кругу при помощи широкого, одноразового, пластикового аппликатора. Аппликатор обеспечивает хороший

контакт с поверхностью агара и его максимально эффективное использование с высокой изоляцией колоний и воспроизводимостью результатов.



Характеристики системы:

- Производительность: до 180 чашек в час
- Рассев образца на 1–10 различных сред
- Единовременная загрузка до 150 чашек с агаром пяти разных типов (в пяти кассетах для загрузки)
- Использование одноразовых расходных материалов (наконечников для внесения образца в чашку и аппликаторов для распределения образца по агару) исключает возможность перекрестной контаминации
- Автоматическая маркировка чашек

В анализатор загружают пластиковые чашки Петри, пробирки с биоматериалом; в ЛИС вводят данные об образце, типе питательной среды и запускают посев.

При поражениях среднего и внутреннего уха исследуют пунктаты материал, полученный во время оперативных вмешательств, собранный в стерильную посуду.

Термостатирование проводят при 37°C 24 часа, кровяной агар инкубируют в CO₂ инкубаторе. Посев на Сабуро выдерживают при 22-25°C не менее 5 суток.

На второй день просматривают сделанные накануне посевы. При появлении роста на питательных средах изучают выросшие колонии, проводят качественную и количественную оценку бактериального роста, выделяют чистую культуру предполагаемого возбудителя.

Проводят дальнейшее изучение с целью идентификации и определения чувствительности к антибиотикам.

Оценка результатов: Когда процесс вызывается условно-патогенными бактериями, необходимо применение количественных критериев оценки.

Преобладающий в мазке нативного материала, окрашенного по Граму, вид микроба, массивность роста однотипных колоний, повторность выделения культур дают возможность сделать заключение о возможном возбудителе процесса.

I степень	Очень скудный рост	Единичные колонии до 10^3 КОЕ/тампон
II степень	Небольшое количество	До 20 колоний (10^3 КОЕ/тампон)
III степень	Умеренное количество	21-100 колоний (10^4 КОЕ/тампон)
IV степень	Большое количество	Более 100 колоний ($>10^5$ КОЕ/тампон)
I и II степень – возможно загрязнение или носительство		
I и IV степень – этиологически значимый МО		

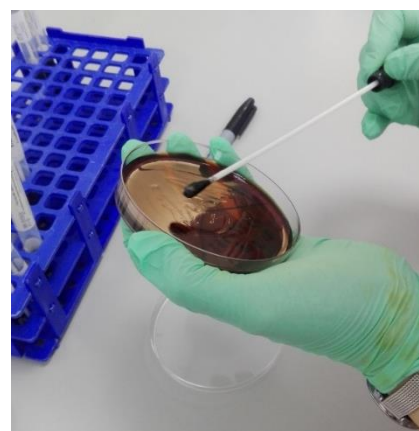
Посев материала на стафилококки

Отделяемое слизистой зева, носа засевают тампоном на ЖСА. Посевы инкубируют в термостате при 37°C 48 ч. Выделяют чистые культуры микроорганизмов, проводят их идентификацию на масс-спектрометре.

Посев материала на дифтерию

Отделяемое со слизистой зева или носа засевают тампоном на среду КБА. Посевы помещают в термостат при 37°C . Посевы просматривают после 24-48-часовой инкубации.

Учитывают количество выросших колоний, соотношение отдельных ассоциатов, описывают характер колоний. Выделяют чистые культуры микроорганизмов, проводят их идентификацию на масс-спектрометре.



День 2 Микробиологическое исследование пищеварительной системы

Исследование на дисбактериоз

Для определения качественного и количественного содержания микрофлоры кишечника производится бактериологическое исследование. Материал исследования - кал. Для забора материала используется стерильный контейнер, куда собираются фекалии. Проба должна быть доставлена в лабораторию не позднее 2 часов с момента забора (допускается более поздняя доставка при условии охлаждения пробы при температуре $2-4^\circ\text{C}$). После определения количества фекалий в эту же посуду добавляют девятикратное к

весу фекалий количество растворителя (0,85% раствора NaCl или фосфатно-буферного раствора), соотношение материала и растворителя - 1:10. Получают исходное разведение 10^1 (1:10). После тщательно эмульгируют материал, в течение 5 мин дают осесть нерастворившимся частицам и из основного разведения делают ряд последующих (1:100; 1:1000; 1:10000 и т. д. до разведения 10^8 – 10^{10}). Каждое разведение кала готовят стерильной пипеткой. Из соответствующих разведений делают посеvy на среды Эндо, Сабуро с теллуридом (инкубация в термостате 72 ч), ЖСА, КА (24 ч), Энтерококк агар, ЖСС (культивирование клостридий, 48 ч), Лактобакагар (48 ч), Бифидум агар (24-48ч). После термостатирования выявляют рост колоний. Определяют чувствительность к антибиотикам диско-диффузным методом либо с помощью автоматического анализатора Vitek 2.

Оценка результатов: Дается количественная оценка всех выделенных представителей. Оценивается содержание микроорганизмов в сравнении с референсными значениями.

Интерпретация проводится с учётом предрасполагающих факторов, клинических проявлений и анамнеза заболевания. Согласно ОСТ 91500.11.0004-2003 принято выделять 3 степени дисбиотического процесса в толстой кишке:

I степень — незначительное снижение количества бифидобактерий и/или лактобактерий на 1 - 2 порядка, снижение или повышение содержания кишечных палочек с появлением небольших титров измененных форм (с гемолитическими свойствами или лактозонегативные штаммы);

II степень — наличие одного вида УПМ в концентрации не выше 10^5 КОЕ/г или ассоциации УПБ в небольших титрах: E. coli lac (-), E.coli hem (+) , Proteus sp., Clostridium sp., Klebsiella sp., Pseudomonas sp., Enterococcus sp., Acinetobacter sp;

III степень — высокий титр УПБ как одного вида, так и в ассоциациях.

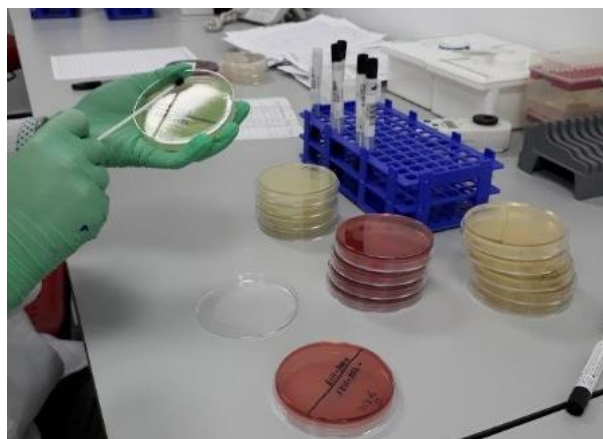
Посев кала на сальмонеллез и дизентерию

Забор, хранение и транспортировку материала проводят согласно требованиям:

Вид исследования	Материал для исследования	Емкость для взятия	Температурный режим хранения	Сроки хранения (доставки)	Правила взятия
Кал на дизентерию и	Кал / Ректальный мазок	Стерильный контейнер - для кала с завинчивающ	Кал в контейнере - холодильник 4-8°C;	Кал в контейнере - доставка в день взятия.	С помощью тампона, вводимого в прямую

сальмо неллез		ейся крышкой / Пробирка с транспортной средой Эймса – для ректального мазка	Ректальный мазок в среде Эймса – хранение при комнатной температуре, ограничений по температурному режиму транспортировки нет (не замораживать)	Ректальный мазок в среде Эймса - 72 часа	кишку на глубину не менее 2 см. Тампон помещают в пробирку со средой.
------------------	--	--	---	---	---

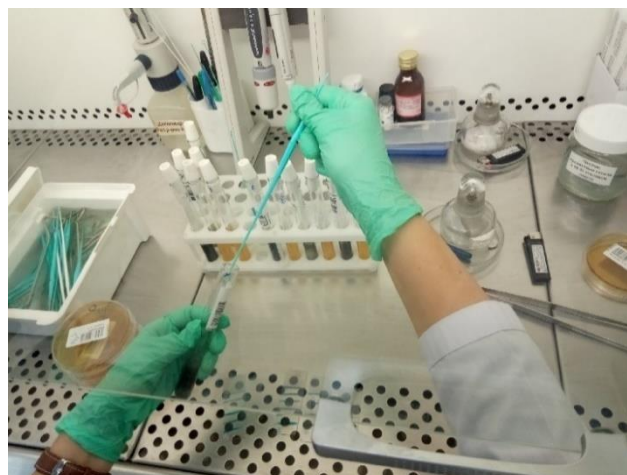
Производят посев материала на чашки с ВСА и SS-агаром (тампоном делают площадку, стерильной пластиковой петлей растирают площадку и проводят 2 линии ниже площадки, бактериологическую петлю помещают в контейнер с дезраствором).



Чашки Петри ставят в термостат, через 24 ч. просматривают рост колоний на SS-агаре, ВСА просматривают через 48 ч. Проводят оценку бактериального роста. Подозрительные колонии отбирают для дальнейшей масс-спектрометрии. При обнаружении сальмонелл методом масс-спектрометрии проводят РА с сыворотками O9 и H-gm.

Приготовление мазков, их фиксация и окраска по Граму

Приготовление мазков: в пламени горелки обжечь предметное стекло, хранящееся в спирте. Нанести на стекло пластиковой стерильной бактериологической петлей каплю физраствора, сбросить петлю в контейнер с дезраствором. Внести в каплю другой петлей культуру, сбросить эту петлю в контейнер с дезраствором. Дать мазку высохнуть на воздухе. Зафиксировать мазок над пламенем горелки, быстро проведя стеклом над ним.



- Окраска по Граму: 1. Внести кювету с мазком в контейнер с генцианвеолетом (5 мин)
2. Перенести кювету в контейнер с раствором Люголя (1 мин)

3. Налить 96% спирт на 30-60 сек
4. Промыть водой
5. Внести кювету с мазком в контейнер с фуксином (5 мин)
6. Промыть водой, высушить

День 3 Микробиологическое исследование отделяемого дыхательной системы и ЦНС

Микробиологическое исследование отделяемого дыхательной системы
Правила взятия, транспортировки и хранения биоматериала:

+Вид исследования	Материал	Емкость для взятия	Т режим хранения	Сроки хранения (доставки)	Правила взятия
Зев на флору (аэробы)	Мазок со слизистый зева	Пробирка с т/с Эймса	Хранение - при комнатной температуре. (не замораживать)	3 суток	Натощак или через 3-4 ч после приема пищи. Перед манипуляцией не полоскать рот. Язык прижимают шпателем. Мазок берут одним тампоном с задней стенки глотки, миндалин и воспаленных участков, не касаясь язычка мягкого неба, внутренней поверхности щек. Помещают в пробирку со средой.
Зев на грибы <i>Candida spp</i>					
Зев на стрептококк группы А (<i>S.pyogenes</i>)					
Зев на стафилококк (<i>S.aureus</i>)					
Зев на дифтерию	Мазок со слизистый рото- и носоглотки				Натощак (утренний туалет полости рта не проводят) или через 2 ч после приема пищи. Перед манипуляцией не полоскать рот. Язык прижимают шпателем. Мазок берут тампоном с миндалин, дужек мягкого неба, небного язычка, при необходимости - с задней стенки глотки; при наличии налетов с границы пораженных и здоровых тканей, слегка нажимая на них тампоном. Тампон помещают в пробирку со средой.
Задняя стенка рото- и носоглотки на менингококк (<i>N.meningitidis</i>)					Шпателем надавливают на корень языка для открытия глоточного отверстия. Тампон вводят за мягкое небо в носоглотку и проводят 2-3 раза по задней стенке. Помещают в пробирку со средой.
Задняя стенка глотки на коклюш (<i>B.pertussis</i>)	Мазок со слизистый задней стенки глотки		Комнатная температура 18-20°C		Натощак или через 2 ч после приема пищи. Перед манипуляцией не полоскать рот. Шпателем фиксируют корень языка. Тампон вводят в полость рта за корень языка, не касаясь щек, языка и миндалин. Кончиком тампона проводят по задней стенке глотки справа

+Вид исследования	Материал	Емкост ь для взятия	Т режим хранения	Сроки хранения (доставк и)	Правила взятия	
		Пробирк а с т/с Эймса		3 суток	налево 2 - 3 раза. Помещают в пробирку со средой.	
Нос на дифтерию	Мазок из носа		Хранение - при комнатной температуре. (не замораживать)			Перед манипуляцией не промывать носовые ходы. Тампон, вводят на 2-2,5 см сначала в один, а потом в другой носовой ход. Материал собирают вращательными движениями со стенок и перегородки носа. Помещают в пробирку со средой.
Нос на стафилококк (S.aureus) / Нос на стафилококк (S.aureus)						
Нос на флору (аэробы)	Назальн ый смыв	Стериль ный контейн ер с завинчи вающейс я крышко й	Холодильник 4-8°С	6 часов	Перед манипуляцией не надо промывать носовые ходы. Голову пациента помещают в положение вверх-назад под углом приблизительно 70°. В каждую ноздрю вводят по 5 мл стерильного физиологического раствора. Через 3-5 сек отпускают голову пациента вперед, чтобы жидкость вылилась из ноздрей в стерильный контейнер или аспирируют резиновым дренажем.	
	Мазок из носа	Пробирк а с транспо ртной средой Эймса	Хранение - при комнатной температуре. (не замораживать)	3 суток	Перед манипуляцией не надо промывать носовые ходы. Тампон, вводят на 2-2,5 см сначала в один, а потом в другой носовой ход. Материал собирают вращательными движениями со стенок и перегородки носа. Тампон помещают в пробирку со средой.	

Исследование микрофлоры верхних дыхательных путей (глотка, нос, ротовая полость)

Материал засевают с помощью автоматической станции Previ Isola на чашки Петри с КА, шоколадным агаром, ЖСА. После инкубации в термостате просматривают чашки, при обнаружении роста колоний их идентифицируют на масс-спектрометре.

Исследование микрофлоры нижних дыхательных путей

Мокроту выливают в чашку Петри, выбирают 2-3 гнойных комочка, которые однократно отмывают в физиологическом растворе, после чего засевают на КА, ЖСА, шоколадный агар, Эндо и Сабуро в станции Previ Isola. После инкубации в термостате просматривают чашки, при обнаружении роста колоний их идентифицируют на масс-спектрометре.

Микробиологическое исследование при заболеваниях ЦНС

СМЖ инокулируют во флаконы BacAlert, которые помещают в анализатор BactAlert. При обнаружении роста колоний через определенное время анализатор издает звуковой и световой сигнал. Данные колонии идентифицируют с помощью масс-спектрометра.



Посев грибов на хромогенный агар

Подозрительные колонии были посеяны на хромогенный агар для выделения Кандид. Через 24 ч инкубирования в термостате при 22-25°C обнаружен рост *C. albicans* (зеленые колонии).



Идентификации микроорганизмов 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
временипролетной 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



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.

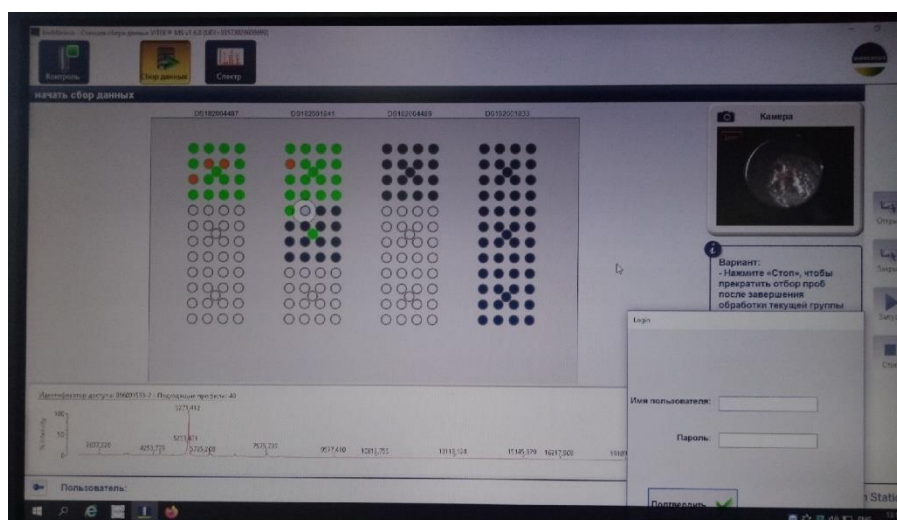
Проведение пробоподготовки:

Ставят контрольные пробы с калибровочным штаммом *Escherichia coli* ATCC 8739 и матриксом СНСА.

Отбирают исследуемую колонию стерильной пластиковой бактериологической петлей, наносят ее в лунку на металлический слайд и растирают тонким слоем по поверхности. Далее наносят 1 мкл матрикса СНСА (α -циано-4-гидроксикоричная кислота). При исследовании грибов на образец сначала наносят 1 мкл матрикса FA (феруловая кислота) до полного высыхания, а затем 1 мкл СНСА. Слайд содержит 48 лунок.



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



День 4 Микробиологическое исследование отделяемого мочеполовой системы

Взятие материала: Исследованию подлежит средняя порция свободно выпущенной мочи, взятой в количестве 3-5 мл в стерильную посуду после тщательного туалета наружных половых органов. Катетеризация мочевого

пузыря для рутинного исследования не применяется, так как она может привести к инфицированию мочевых путей. К катетеризации мочевого пузыря прибегают в некоторых случаях для уточнения локализации инфекции - в мочевом пузыре или в почках. С этой целью мочевой пузырь опорожняют катетером и промывают раствором антибиотика, после чего с интервалом в 10 минут берут пробы мочи для исследования. Если инфекция локализуется в почках, микроорганизмы содержатся во всех порциях мочи. При инфекции мочевого пузыря моча остается стерильной. В отдельных случаях делают надлобковую пункцию мочевого пузыря, при которой получают наиболее достоверные результаты.

Материал для исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или в интервалах между курсами лечения. Содержащиеся в моче микробы быстро размножаются при комнатной температуре, что может дать ложные результаты при определении степени бактериурии. В связи с этим от момента взятия пробы мочи до начала ее исследования в лаборатории должно проходить не более 1-2 часов при хранении при комнатной температуре и не более суток - при хранении в холодильнике.

Посев материала проводят автоматически в системе Previ Isola.

Метод секторных посевов (по Голду) Платиновой петлей, диаметром 2 мм, емкостью 0,005 мл, производят посев мочи (30-40 штрихов) на сектор А чашки Петри с простым питательным агаром. После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор I и аналогичным образом - из сектора I во II и из II в III. Чашки инкубируют при 37°C 18-24 часа, после чего подсчитывают число колоний, выросших в разных секторах. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний производят согласно таблице.

Метод секторных посевов позволяет не только определить степень бактериурии, но и выделить возбудителя заболевания в чистой культуре.

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

Микробиологическое исследование инфицированных ран

Экссудаты и пунктаты засевают в автоматической станции Previ Isola на чашки с КА, шоколадным агаром.

Оценка результатов: При обнаружении роста производят масс-спектрометрию. В ответе лаборатории указывают, какие виды микроорганизмов выделены, в каком количестве (слабый, умеренный или обильный рост на плотной питательной среде).

Количественная оценка микробного роста при прямом штриховом посеве тампонов раневого содержимого:

I степень роста (очень скудный рост) – рост только в жидких средах на плотных питательных средах рост отсутствует;

II степень роста (небольшое количество) – единичные колонии до 10;

III степень роста (умеренное количество) – на плотной среде рост от 11 до 100 колоний;

IV степень роста (большое количество) – рост на плотной среде свыше 100 колоний.

Уровень обсеменения тканей 10^5 КОЕ/г является критическим и указывает на вероятность развития гнойной инфекции.

Постановка антибиотикограммы

При определении чувствительности диско-диффузионным методом на поверхность агар в чашке Петри наносят бактериальную суспензию определенной плотности (эквивалентную стандарту мутности 0,5 по McFarland) не позже, чем через 15 минут после приготовления. Инокулом наносят равномерно штриховыми движениями стерильным тампоном на всю поверхность агар таким образом, чтобы штрихи плотно прилегали друг к другу. Затем наносят необходимые диски с АМП с помощью диспенсера, обработанного антисептиком, на поверхность среды. Чашки инкубируют в термостате при 35°C 24 ч.



Оценка результатов: Измеряют линейкой зоны подавления роста вокруг дисков с АМП в отраженном свете (под углом 45°) на фоне темной матовой поверхности. Регистрируют в журнале наименование возбудителя, названия АМП и соответствующие диаметры зоны задержки роста.

Также производится *автоматическое определение чувствительности к антибиотикам* с помощью автоматического анализатора VITEK 2. Он способен автоматически идентифицировать, определять чувствительность к антимикробным препаратам и выявлять фенотипы резистентности.

После первичной изоляции микроорганизма необходимо провести простую процедуру по приготовлению стандартизированного инокулята. Размещают суспензию с инокулятом на штативе. Карта VITEK 2 и образец связываются с помощью штрих-кода. Когда кассета загружена, прибор автономно проводит инкубацию и считывание.



Для Грам(-) микроорганизмов:

- Карты содержат от 18 до 20 антибиотиков в концентрациях, соответствующих 5-7 разведениям;
- Минимальное время до получения результата: 5 ч, максимальное: 15 ч, среднее: 6 ч 30 мин;

Для Грам(+) микроорганизмов:

- Карты содержат от 19 до 22 антибиотиков в концентрациях, соответствующих 5-7 разведениям;
- Минимальное время до получения результата: 5 ч, максимальное: 15 ч, среднее: 7 ч (для пневмококков 8 часов);
- Определение минимальных ингибирующих концентраций;

Метод считывания:

1. Турбидиметрия - чувствительность;
2. Колориметрия - идентификация.

Регистрация результатов исследований в ЛИС qMS

На вкладке сортировка сканируется штрих код образца, выбирают вид исследования, вводят результаты посева (отрицательный; положительный - выбирают вид выявленного возбудителя, указывают количество КОЕ/мл; при

регистрации результатов антибиотикограммы вводят значения зоны задержки роста для каждого АМП. Записывают результаты, при необходимости авторизуют и распечатывают бланки результатов.

День 5 Проведение дезинфекции и стерилизации использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты; утилизация отработанного материала.

Сбор, временное хранение, обеззараживание, обезвреживание, транспортирование отходов в ООО «ЦЛТ АБВ» проводится в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

Организованная система сбора, временного хранения и удаления отходов состоит из следующих этапов:

- сбор, дезинфекция и хранение на отделах;

Норматив заполнения пакетов: не более $\frac{3}{4}$ объема, максимальная вместимость до 10 кг.

- транспортировка в помещение №37 первого этажа для утилизации;

- обеззараживание, сбор и загрузка в специальные контейнеры за пределы здания.

Обеззараживание биологического материала проводится в установке для обеззараживания и утилизации медицинских отходов «Стеримед», а также в установке микроволновой для обеззараживания медицинских отходов.

Циклы утилизации отходов обязательно фиксируются в Журнале.



Автоклавирование: Автоклавируют медицинские инструменты, лабораторную посуду, питательные среды, изделия из текстиля, отработанный биоматериал.

Режимы автоклавирования

Показатель манометра, атм	Температура, °С	Время выдержки, мин
0.5	110	20/30

1	121	15
1	121	30
2	132	45

Контроль стерилизации проводят с помощью индикаторных бумаг ВИНАР и СанИС. Они содержат красители, изменяющие свой цвет, что свидетельствует об успешном процессе.

Индикаторы предназначены для контроля условий стерилизации внутри упаковок и стерилизуемых изделий в паровых стерилизаторах всех типов при всех режимах. Помещаются внутрь стерилизуемых изделий и упаковок.