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»

Касаткиной Дарьи Андреевны

ФИО

Место прохождения практики Центр лабораторных технологий АБВ, микробиологическая лаборатория

(медицинская организация, отделение)

с «20» апреля 2019 г. по «17» мая 2019 г.

Руководители практики:

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

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

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

Красноярск, 2019

**Содержание**

1. Цели и задачи практики

2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики

3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Инструктаж по технике безопасности

6. Содержание и объем проведенной работы

7. Манипуляционный лист (Лист 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 | 20.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 2 | 22.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 3 | 23.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 4 | 24.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 5 | 25.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 6 | 26.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 7 | 27.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 8 | 29.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 9 | 30.04.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 10 | 01.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 11 | 02.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 12 | 03.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 13 | 04.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 14 | 06.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 15 | 07.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 16 | 08.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 17 | 09.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 18 | 10.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 19 | 11.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 20 | 13.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 21 | 14.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 22 | 15.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 23 | 16.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |
| 24 | 17.05.2019 | 9:00-15:00 |  |  |

**Инструктаж по технике безопасности**

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

1. Сотрудники лабораторий должны быть обеспечены рабочей одеждой: медицинскими халатами, пижамами (комбинезонами), шапочками, сменной обувью и средствами индивидуальной защиты в зависимости от характера выполняемых работ и в соответствии с действующими нормами.
2. Рабочая одежда и обувь должны быть индивидуальными, соответствовать размерам работающих и храниться отдельно от личной одежды.
3. При выполнении исследований в боксированных помещениях производится смена медицинского халата на противочумный или хирургический, доходящий до нижней трети голени. Дополнительно используются резиновые перчатки, тапочки и, при необходимости, респираторы (маски).
4. Смена рабочей одежды должна проводиться по мере загрязнения, но не реже 1 раза в неделю.
5. Перед сдачей в стирку защитная одежда должна быть обеззаражена.

***Требования к проведению дезинфекции различных объектов и уборке помещений. Средства и методы.***

1. Дезинфекцию различных объектов при работе с ПБА III - IV групп патогенности осуществляют физическим (кипячение, водяной насыщенный пар под избыточным давлением, сухой горячий воздух, УФ-облучение) и химическим (использование растворов дезинфицирующих средств) методами.
2. Для дезинфекции допускается использование только дезинфицирующих средств и оборудования (дезинфекционные камеры, паровые и воздушные стерилизаторы, распыливающие устройства, установки, бактерицидные облучатели, моечные машины, бактериальные фильтры, стерилизационные коробки и т.д.), разрешенных в установленном порядке к промышленному выпуску и применению в Российской Федерации.
3. Методы и средства обеззараживания определяются в каждом отдельном случае в зависимости от ПБА и характера обеззараживаемого материала.
4. При проведении дезинфекции предпочтение следует отдавать физическому методу вследствие его надежности и безопасности для персонала.
5. Дезинфекцию с использованием физического метода выполняют:

* способом кипячения в питьевой воде или в воде с добавлением натрия двууглекислого (сода пищевая) в дезинфекционном кипятильнике;
* паровым методом (в паровом стерилизаторе);
* воздушным методом (в воздушном стерилизаторе);
* паровоздушным методом (в дезинфекционной камере);
* УФ-облучением.

***Требования к порядку действий по ликвидации аварий при работе с патогенными биологическими агентами***

1. На случай аварии, при которой создается реальная или потенциальная возможность выделения патогенного биологического агента в воздух производственной зоны, среду обитания человека и заражения персонала, в подразделениях, где ведут работы с ПБА, должен быть план ликвидации аварии, запас дезинфицирующих средств, активных в отношении возбудителей, с которыми проводят исследования.

В подразделении, проводящем работу с ПБА, в специально отведенном месте хранят гидропульт (автомакс), комплекты рабочей (для переодевания пострадавших) и защитной (для сотрудников, ликвидирующих последствия аварии) одежды, аварийную аптечку.

В состав аварийной аптечки входит: спирт этиловый 70% (два флакона по 100 мл), 2 - 3 навески перманганата калия для приготовления 0,05% раствора (0,0125 г перманганата калия + 25 мл воды), стерильная дистиллированная вода, 5% настойка йода, ножницы с закругленными браншами, перевязочные средства (вата, бинты и пр.), жгут и нашатырный спирт.

Кроме выше перечисленного, в аптечке вирусологической лаборатории должны быть 1% раствор борной кислоты, интерферон или индуктор интерферона; в аптечке микологической лаборатории - 1% раствор борной кислоты или навески для приготовления раствора (0,25 г борной кислоты + 25 мл воды).

Ответственным за комплектование аптечки экстренной медицинской помощи является руководитель подразделения.

1. Объем мероприятий по ликвидации аварии зависит от характера выполняемой работы, вида и свойств возбудителя, масштабов аварии:

- авария с разбрызгиванием ПБА, т.е. с образованием аэрозоля (бой пробирок, флаконов или колб с жидкой культурой; бой чашек и пробирок с культурами на агаре с конденсатом; разбрызгивание бактериальной суспензии из пипетки или шприца; разбрызгивание тканевой жидкости при вскрытии трупов зараженных животных или больных людей; аварии на вакуумной установке в процессе сушки вирулентных культур, а также другие аварии, ведущие к контаминации воздуха или окружающих предметов, например, авария при транспортировании ПБА в автоклавную и между подразделениями);

- авария без разбрызгивания ПБА (касание петлей с инфицированным материалом края чашки, пробирки, флакона, кристаллизатора, трещина на чашке Петри, пробирке, флаконе с биологическим материалом, падение на стол твердой частицы при обжигании петли после посева, касание поверхности посева на твердой питательной среде и т.п.);

- авария, связанная с нарушением целостности кожных покровов.

1. Порядок действий сотрудников при аварии:

При аварии с разбрызгиванием ПБА:

- все находящиеся в помещении лица немедленно прекращают работу и, задержав дыхание, выходят из заразного помещения в предбокс, плотно закрывают дверь, включают аварийную сигнализацию и сообщают о случившемся руководителю подразделения;

- руки обрабатывают дезинфицирующим раствором или спиртом, если лицо не было защищено, то его обильно обрабатывают 70% этиловым спиртом;

- слизистые глаз, носа и рта обрабатывают препаратами из аварийной аптечки; рот и горло прополаскивают 70% этиловым спиртом, в нос закапывают раствор марганцовокислого калия 1:100 000 или 1% раствор борной кислоты, а при аварии с вирусами затем закапывают интерферон или индуктор интерферона;

- защитную одежду снимают, погружают в дезинфицирующий раствор или помещают в бикс (бак) для автоклавирования;

- открытые части тела протирают 70% этиловым спиртом;

- в глаза (можно и в нос) закапывают растворы антибиотиков или других средств, к которым чувствителен возбудитель;

- принимают гигиенический душ;

- надевают чистую рабочую одежду.

Порядок проведения дезинфекционных мероприятий:

- сотрудники, участвующие в ликвидации аварии, должны быть одеты в противочумный (хирургический) халат, косынку, галоши (пластиковые бахилы);

- при проведении дезинфекции способом орошения в качестве СИЗ органов дыхания используются респираторы марки РУ-60 М или РПГ-68 с патроном, соответствующим применяемому дезинфектанту, или противогаз типа ГП-5;

- для обработки используют дезинфицирующий раствор, эффективный в отношении соответствующего инфекционного агента;

- дезинфекцию помещения проводят, разбрызгивая из гидропульта (автомакса) дезинфицирующий раствор от входной двери и далее, продвигаясь по обработанной территории и орошая перед собой все предметы (пол, стены, потолок) и воздушную среду;

- через 2 часа после первичной обработки собирают тампонами, смоченными дезинфицирующим раствором, осколки разбитой посуды, погружая их в емкость с дезинфицирующим раствором; лабораторную посуду с посевами, находившуюся в момент аварии на рабочих поверхностях, погружают в емкость с дезинфицирующим раствором или обтирают салфеткой, смоченной дезинфицирующим раствором, и помещают в емкость для автоклавирования;

- по окончании дезинфекции воздух и поверхности в помещении обеззараживают бактерицидными лампами по режимам согласно нормативным документам;

- сотрудник, проводивший дезинфекционную обработку, выходит в предбокс или коридор, снимает защитную одежду, погружая ее в дезинфицирующий раствор;

- спустя два часа проводят уборку помещения, после чего работа может быть возобновлена.

При аварии без разбрызгивания ПБА:

- не выходя из помещения накладывают тампон с дезинфицирующим раствором на место контаминации ПБА поверхности объекта;

- включают аварийную сигнализацию, вызывают руководителя подразделения или лицо, его замещающее, и продолжают дезинфекционную обработку места аварии;

- после окончания дезинфекционной обработки сотрудник выходит из помещения, где произошла авария, снимает и погружает в дезинфицирующий раствор защитную одежду;

- открытые части тела обрабатывают дезинфицирующим раствором или 70% спиртом.

При аварии, связанной с нарушением целостности кожных покровов:

- работу прекращают;

- включают аварийную сигнализацию;

- руки обрабатывают дезинфицирующим раствором, снимают перчатку и выдавливают из ранки кровь в дезинфицирующий раствор;

- на место ранения ставят на 4 - 5 мин. компресс из дезинфицирующего раствора или 70% этилового спирта;

- при работе с вирусами кровь выдавливают в сухую стерильную салфетку и обрабатывают ранку 5% настойкой йода без применения дезинфицирующего раствора.

При аварии во время работы на центрифуге крышку медленно открывают только через 30 - 40 мин. (после оседания аэрозоля). Центрифужные стаканы и разбитое стекло помещают в дезинфицирующий раствор, поверхность крышки, внутренние части центрифуги, ее наружную поверхность дезинфицируют. Дезинфекция центрифуги проводится после отключения ее от электросети.

1. По сигналу "авария" любой сотрудник, принявший сигнал, немедленно извещает о случившемся руководителя подразделения или замещающего его специалиста.

Руководитель подразделения сообщает об аварии комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности и руководителю организации.

1. Руководитель подразделения и представитель комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности оценивают ситуацию, определяют объем мероприятий по локализации и ликвидации последствий аварии и докладывают руководителю организации, организуют и контролируют действия сотрудников, участвующих в ликвидации аварии.
2. О происшедшей аварии и проведенных мероприятиях руководитель лаборатории направляет докладную записку на имя руководителя организации и председателя комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности, в которой указывает час и дату происшедшей аварии, ее характер, перечисляет сотрудников, находившихся на месте аварии, в том числе лиц, проводивших дезинфекционные мероприятия, а также принятые меры.
3. Во всех подразделениях, работающих с ПБА, не реже одного раза в год проводят плановые тренировочные занятия по ликвидации аварий.

Подпись общего руководителя\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Подпись студента\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

м.п. орагнизации

**День 1 (20.04.19)**

Ознакомление с нормативными документами микробиологической лаборатории

1. СанПиН от 18 мая 2010 г. N58.2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».

2. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и возбудителям паразитарных болезней» от 28 января 2008.

3. СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов ЛПУ».

**День 2 (22.04.19)**

Прошла повторный инструктаж.

Работа с приемом, первичной сортировкой и регистрацией биоматериала:

Прием биоматериала:

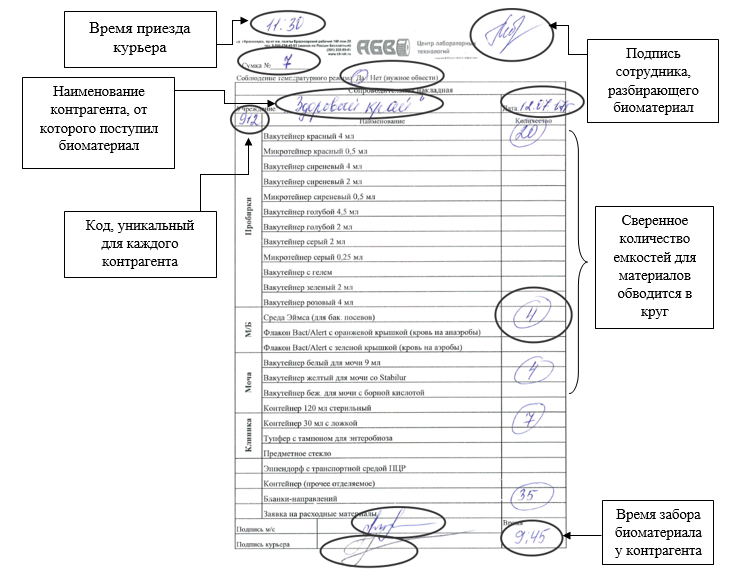
-курьер доставляет сумку с биоматериалом в «ЦЛТ АБВ» через входную дверь в помещение № 12 первого этажа (тамбур). Извещает о доставке биоматериала звонком, который находится на перегородке.

-сотрудник отдела разбора должен принять термоконтейнер с биоматериалом у курьера через окно для передачи биоматериала и начать разбор.

-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 (см. рисунок ниже). 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.

Образец правильно заполненной сопроводительной накладной Центра представлен на рисунке.



Сотрудник отдела разбора 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 для разбора биоматериала.

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.

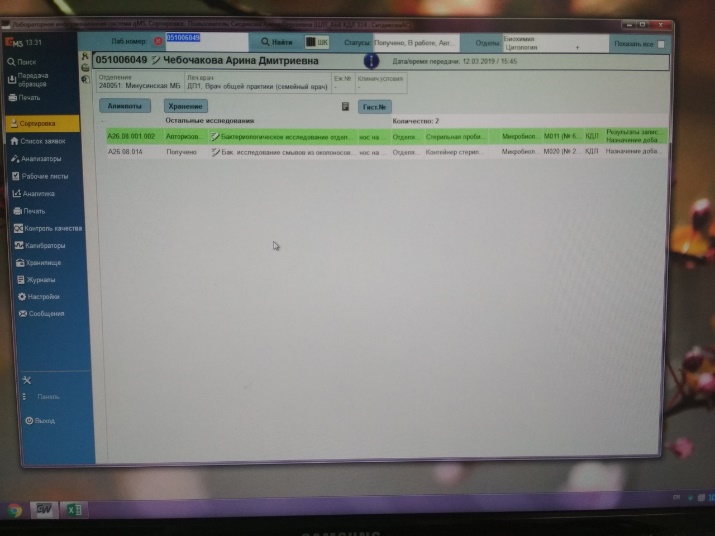
Рассортировать полученный биоматериал по отделам. При сортировке емкостей по лоткам отделов можно ориентироваться на исследования, отмеченные в направлениях.

**День 3 (23.04.2019)**

Регистрация биоматериала.

Регистрация бланков направлений в «ЦЛТ АБВ» проходит в помещении №13 первого этажа для регистрации.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

Подготовка материала к микробиологическим исследованиям.

**День 4 (24.04.19)**

Регистрация биоматериала.

Регистрация бланков направлений в «ЦЛТ АБВ» проходит в помещении №13 первого этажа для регистрации.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

Проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции:

Сбор, временное хранение, обеззараживание, обезвреживание, транспортирование отходов в «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 ¾ 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.

**День 5 (25.04.19)**

Регистрация биоматериала.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Приготовление среды Эндо.*

Приготовление питательной среды Эндо, предназначенная для выделения энтеробактерий. Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1 литр), и насыпала взвешенное количество агара (37 г), закрыла и задала параметры. Для каждой среды задала свои параметры (температура стерилизации - 100 град., время стерилизации – 3 минуты, температура розлива – 45 град..)

*Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.*

Основной целью определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным агентам (препаратам) является прогнозирование их эффективности при лечении инфекций у конкретных пациентов. Определение чувствительности также проводят при наблюдении за распространением резистентности среди микроорганизмов и в процессе изучения новых препаратов.

*Диско-диффузионный метод оценки чувствительности бактерий к АМП.*

Диско-диффузионный метод, будучи одним из старейших, остается наиболее распространенным методом оценки антибиотикочувствительности в практических бактериологических лабораториях. Этот метод подходит для исследования большинства бактериальных патогенов, в том числе и для наиболее распространенных бактерий со сложными питательными потребностями. Метод является универсальным для широкого круга антимикробных препаратов и не требует обязательного использования специального оборудования.

Для получения достоверных результатов, необходимо четко следовать описанной методике без каких-либо отступлений.

*Приготовление и хранение питательных сред.*

Для оценки чувствительности бактерий с обычными питательными потребностями используют агар Мюллера-Хинтон (MХА) без дополнительных добавок. Питательные среды, рекомендуемые для оценки антибиотикочувствительности отдельных групп бактерий, приведены в Таблице 1.1

**Таблица 1.1** Приготовление среды для опрделения чувствительности бактерий к антибиотикам.

|  |  |
| --- | --- |
| *Микроорганизм* | *Среда* |
| *Enterobacteriaceae* | МХА |
| *Pseudomonas spp.* | МХА |
| *Staphylococcus spp.* | МХА |
| *Enterococcus spp.* | МХА |
| *Acinetobacter spp.* | МХА |

*Необходимые реагенты*

- Готовая сухая питательная среда МХА.

*Приготовление чашек Петри с МХА*

Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1л), и насыпала взвешенное количество агара (38г), закрыла и задала параметры (температура стерилизации – 121 град., время стерилизации - 15 минут, температура розлива - 45 град.)

* Немедленно разлить в чашки Петри, таким образом, чтобы толщина агара составляла 4±0,5 мм
* Нельзя передвигать чашки Петри до полного застывания среды.
* Поверхность агара перед использованием должна быть сухой. На поверхности агара или на внутренней стороне крышки не должно быть видимых капель влаги. При необходимости чашки следует подсушить при 20-25°C в течение 16-20 ч или при 35°C с открытыми крышками в течение 15 мин. Нельзя пересушивать агар.

*Хранение чашек Петри с МХА*

* Чашки с агаром, приготовленные в лаборатории, должны храниться при 4-8°C.
* Процедура подсушивания, условия и длительность хранения чашек с агаром, приготовленным в лаборатории, должны быть определены программой внутрилабораторного контроля качества.

*Контроль качества МХА*

* С помощью поверхно-активного электрода следует убедиться в том, что pH среды находится в пределах 7,2-7,4.
* Проверить, что толщина агара составляет 4мм ±0,5 мм.
* Проверить, что среда обеспечивает надлежащий рост контрольного микроорганизма того же вида, для определения чувствительности которого она предназначается.
* Необходимо проверить соответствие диаметров зон подавления роста контрольных штаммов допустимым диапазонам для всех исследуемых комбинаций микроорганизм-антибиотик.

*Приготовление инокулята*

* Посмотреть плотность взвеси в Densi-La-Meter® II (в норме от 0,5 до 0,6).
* Для этого стерильной бактериологической петлей или ватным тампоном необходимо собрать несколько (если возможно) морфологически схожих колоний чистой 18-24-часовой культуры бактерий, выросшей на плотной неселективной питательной среде, чтобы избежать отбора атипичных вариантов, и суспендировать полученный материал в стерильном изотоническом растворе.
* Необходимо довести плотность бактериальной суспензии строго до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда путем добавления изотонического раствора или бактериальной массы. Использование суспензии более высокой или низкой плотности может приводить к формированию зоны подавления роста меньшего или большего диаметра, соответственно.

*Инокуляция чашек с МХА*

* Перед инокуляцией чашек необходимо убедиться, что чашки с агаром имеют комнатную температуру.
* Бактериальную суспензию следует нанести на агар не позже, чем через 15 минут, и всегда – не позже чем через 60 минут после приготовления.
* Погрузить стерильный ватный тампон в приготовленную суспензию.
* При исследовании Грамотрицательных бактерий необходимо удалить избыток суспензии, отжимая тампон о внутренние стенки пробирки, чтобы избежать нанесения избыточного количества инокулюма.
* При исследовании Грамположительных бактерий отжимать тампон о внутренние стенки пробирки не следует
* Если нужно инокулировать несколько чашек с агаром одной и той же суспензией, следует повторить шаги, описанные в предыдущем пункте для каждой чашки.
* Нанесение инокулюма может быть выполнено тампоном штриховыми движениями в трех направлениях или при помощи автоматического инокулятора. Инокулюм следует наносить равномерно штриховыми движениями на всю поверхность агара таким образом, чтобы штрихи плотно прилегали друг к другу.
* При нанесении инокулюма Грамположительных бактерий необходимо особенно тщательно следить за тем, чтобы между штрихами не оставалось свободного пространства.
* Диски на поверхность агара необходимо нанести не позднее, чем через 15 минут после инокуляции агара. Длительное нахождение инокулированных чашек при комнатной температуре может привести к началу роста бактериальной культуры и ложному уменьшению зоны подавления роста.

*Нанесение дисков с антибиотиками*

|  |  |
| --- | --- |
| Микроорганизм | Препарат |
| Pseudomonas spp | Пиперациллин;  Ticarcillin;  Колистин |
| Enterobacteriaceae | Колистин |
| Stenotrophomonas maltophilia |  |
| Acinetobacter spp | Триметоприм-сульфаметоксазол |
| Staphylococcus spp. | Рокситромицин (МПК) |
| Enterococcus spp. | Ампициллин-сульбактам  Амоксициллин  Амоксициллин-клавулановая кислота |

* Не следует открывать контейнеры или картриджи с дисками до достижения ими комнатной температуры. Это позволит предотвратить образования конденсата на дисках, что может привести к снижению активности некоторых антибиотиков.
* Диски с антибиотиками должны быть нанесены не позднее, чем через 15 минут после инокуляции чашек с агаром. Контакт диска с поверхностью агара должен быть плотным и полным. Нельзя перемещать диски после их нанесения, так как диффузия антибиотика в агар начинается очень быстро.
* Диски с антибиотиками наносятся на поверхность инокулированного исследуемой культурой и подсушенного агара. Контакт диска с агаром должен быть плотным. После нанесения на поверхность агара диски нельзя передвигать, так как диффузия антибиотика в среду начинается очень быстро.
* Количество дисков на одной чашке Петри должно быть ограниченным, для предотвращения перекрывания зон подавления роста, а также взаимодействия между антибиотиками. Максимальное количество дисков на одной чашке Петри зависит от вида микроорганизма и исследуемых антибиотиков. Обычно на одну чашку диаметром 90 мм следует помещать не более 6 дисков.

*Инкубация*

* Перед началом инкубации необходимо перевернуть чашки вверх дном и убедиться, что диски не падают с поверхности агара. Чашки Петри должны быть помещены в термостат не позднее, чем через 15 минут после нанесения дисков.
* Расположение чашек Петри в термостате (в частности, количество чашек в одной стопке) может привести к их неравномерному нагреву.
* Условия инкубации для различных групп бактерий представлены в табл. 1.3. Нельзя допускать увеличения периода инкубации сверх установленных пределов, так как это может привести к появлению роста внутри зоны и оценке изолята как ложно резистентного.

**Таблица 1.3** Условия инкубации при определении чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом

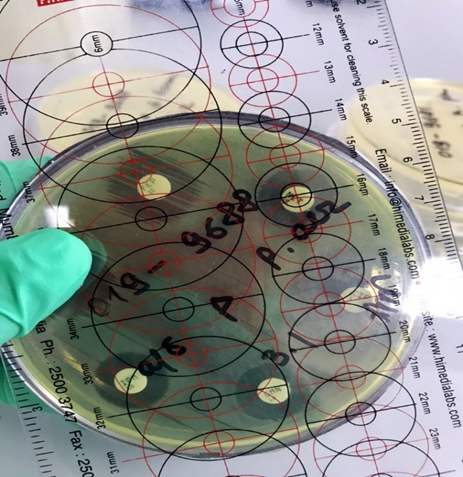
|  |  |
| --- | --- |
| Микроорганизмы | Условия инкубации |
| Enterobacteriaceae | 35±1°С, обычная атмосфера, 16-20 ч |
| Pseudomonas spp. | 35±1°С, обычная атмосфера, 16-20 ч |
| Stenotrophomonas maltophilia | 35±1°С, обычная атмосфера, 16-20 ч |
| Acinetobacter spp. | 35±1°С, обычная атмосфера, 16-20 ч |
| Staphylococcus spp. | 35±1°С, обычная атмосфера, 16-20 ч |
| Enterococcus spp. | 35±1°С, обычная атмосфера, 16-20 ч |

*Учет результатов определения чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом:*

Чем больше диаметр зоны задержки роста вокруг диска с антибиотиком, тем выше чувствительность возбудителя к этому препарату. Значит, назначение данного антибиотика будет эффективно в лечении заболевания.

Действие антибиотиков оценивают по зоне задержки роста вокруг диска. Диаметр зон задержки роста микробов вокруг дисков определяют с помощью линейки на черном фоне, включая диаметр самого диска.





После, результаты исследования записываются в рабочий журнал и вносят в систему ЛИС, где отражается чувствительность(S) или устойчивость(R) к антибиотикам. В конце работы, провели дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

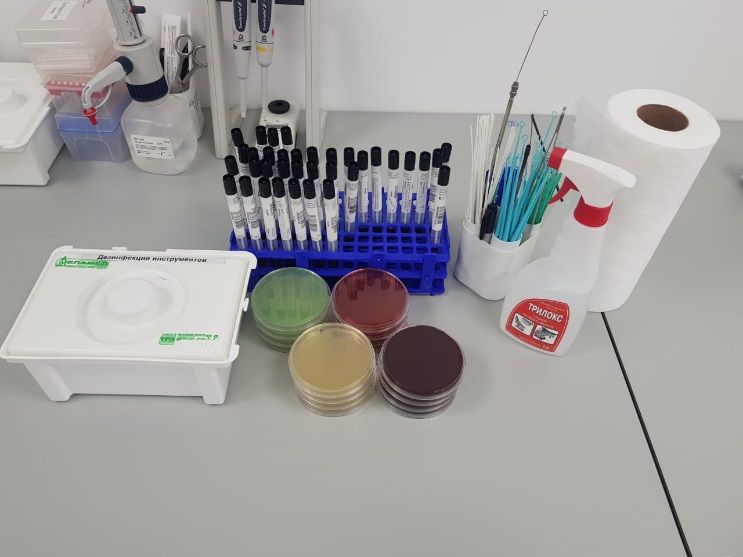
**День 6 (26.04.19)**

*Подготовка и посев кала для исследования на дисбактериоз кишечника.*

Кал в микробиологическую лабораторию поступает в стерильных контейнерах. Для посева на среды КА (кровяной агар), ЖСА (желточно-солевой агар), Сабуро с тиоритом, энтерококкагар, ЭНДО и лактоагар делаем разведение, добавляем физ. раствор 3 мл и кал. Засеваем дополнительно разведение на ЖСА - клостридии и бифидо. Сеем на чашку со средой стерильным тампоном и разносим культуру одноразовой петлей. Утилизируем петлю в дез. раствор, тампон в отходы класса «Б».

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.



**День 7 (27.04.19)**

Работа с дипломом.

**День 8 (29.04.19)**

*Работа с анализатором VITEK® 2 Systems*

Вход в систему

1. Ввожу ID пользователя и нажимаю Tab для перехода к следующему полю.
2. Ввожу пароль.
3. Нажимаю OK.

Завершение работы с программой (выход)

1. Нажимаю значок Вход в систему, чтобы закрыть приложение.
2. Нажимаю X в верхнем правом углу экрана.

Материалы:

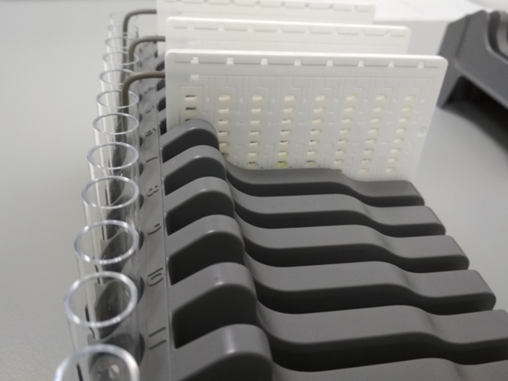
* Карта VITEK® 2
* Набор VITEK® 2 DensiCHEK Plus
* Набор стандартов VITEK® 2 DensiCHEK Plus
* Кассета VITEK® 2
* Стерильный солевой раствор (водный 0,45 – 0,50 % раствор хлорида натрия, pH 4,5-7,0)
* Прозрачные пластиковые одноразовые пробирки размером 12 х 75 мм
* Стерильные петли или тампоны
* Соответствующая твердая питательная среда

Дополнительные реактивы и материалы:

* Регулируемый диспенсер солевого раствора
* Петля
* Пробирки
* Пробки для пробирок
* Вортекс

Процедура:

1. Стерильно внесла 3,0 мл стерильного солевого раствора в прозрачную пластиковую пробирку.
2. Стерильным аппликатором или тампоном перенесла в пробирку с солевым раствором одну или несколько морфологически идентичных колоний. Приготовила гомогенную суспензию плотностью 0,50 – 0,63 единиц по Мак-Фарланду.
3. Поместила пробирку с суспензией и карту в кассету.
4. Ввела данные и загрузила кассету в анализатор.
5. Утилизировала отходы в соответствии с нормами и правилами утилизации инфекционных отходов.





**День 9 (30.04.19)**

*Подготовка и посев кала для исследования на дисбактериоз кишечника.*

Кал в микробиологическую лабораторию поступает в стерильных контейнерах. Для посева на среды КА (кровяной агар), ЖСА (желточно-солевой агар), Сабуро с тиоритом, энтерококкагар, ЭНДО и лактоагар делаем разведение, добавляем физ. раствор 3 мл и кал. Засеваем дополнительно разведение на ЖСА - клостридии и бифидо. Сеем на чашку со средой стерильным тампоном и разносим культуру одноразовой петлей. Утилизируем петлю в дез. раствор, тампон в отходы класса «Б».

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.

**День 10 – 13 (01.05.19 – 04.05.19)**

Работас дневником.

Ознакомление с нормативными документами микробиологической лаборатории

1. СанПиН от 18 мая 2010 г. N58.2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».

2. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и возбудителям паразитарных болезней» от 28 января 2008.

3. СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов ЛПУ».

**День 14 (06.05.19)**

Регистрация биоматериала.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Готовила среду Сабуро.* Сабуро представляет питательную среду для выращивания грибов различной природы (дрожжевых, плесневых). В практике выращивания ацидофильных бактерий, дрожжей и патогенных грибов среда Сабуро считается наиболее питательной средой, которая позволяет использовать их в лабораторных анализах и исследованиях.

Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1л), и насыпала взвешенное количество агара (76г), закрыла и задала параметры.

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА

**День 15 (07.05.19)**

Регистрация биоматериала.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Приготовление среды Эндо.*

Приготовление питательной среды Эндо, предназначенная для выделения энтеробактерий. Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1 литр), и насыпала взвешенное количество агара (37 г), закрыла и задала параметры. Для каждой среды задала свои параметры (температура стерилизации - 100 град., время стерилизации – 3 минуты, температура розлива – 45 град..)

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом.

**День 16 (08.05.19)**

Регистрация биоматериала.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Приготовление среды Эндо.*

Приготовление питательной среды Эндо, предназначенная для выделения энтеробактерий. Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1 литр), и насыпала взвешенное количество агара (37 г), закрыла и задала параметры. Для каждой среды задала свои параметры (температура стерилизации - 100 град., время стерилизации – 3 минуты, температура розлива – 45 град..)

*Подготовка и посев кала для исследования на дисбактериоз кишечника.*

Кал в микробиологическую лабораторию поступает в стерильных контейнерах. Для посева на среды КА (кровяной агар), ЖСА (желточно-солевой агар), Сабуро с тиоритом, энтерококкагар, ЭНДО и лактоагар делаем разведение, добавляем физ. раствор 3 мл и кал. Засеваем дополнительно разведение на ЖСА - клостридии и бифидо. Сеем на чашку со средой стерильным тампоном и разносим культуру одноразовой петлей. Утилизируем петлю в дез. раствор, тампон в отходы класса «Б».

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.

**День 17 - 19 (09.05.19-11.05.19)**

Работа с дневником.

**День 20 (13.05.19)**

Работа с анализатором VITEK® 2 Systems. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом.

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.

**День 21 (14.05.19)**

Приготовление питательных сред. Работа с анализатором VITEK® 2 Systems. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом.

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.

**День 22 (15.05.19)**

Регистрация биоматериала.

Регистрация бланков направлений в «ЦЛТ АБВ» проходит в помещении №13 первого этажа для регистрации.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Приготовление среды Эндо.*

Приготовление питательной среды Эндо, предназначенная для выделения энтеробактерий. Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1 литр), и насыпала взвешенное количество агара (37 г), закрыла и задала параметры. Для каждой среды задала свои параметры (температура стерилизации - 100 град., время стерилизации – 3 минуты, температура розлива – 45 град..)

*Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.*

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.

Работа на анализаторе PREVI Isola с новым, оригинальным методом микробиологического посева на чашки Петри разработана для того, чтобы:

* увеличить производительность лаборатории;
* оптимизировать рабочий процесс;
* освободить квалифицированных сотрудников от таких трудоемких и утомительных операций как подготовка образцов и рассев на чашки, чтобы они могли выполнять более важные задачи, где требуется их квалификация и опыт, и где их нельзя заменить машинами;
* стандартизовать метод микробиологического посева, чтобы добиться максимальной изоляции колоний и снизить количество пересевов.

Для растирания образца по агару используется инновационный, широкий, одноразовый пластиковый аппликатор, что обеспечивает хороший контакт с агаром, максимально эффективное использование поверхности агара и позволяет добиться прекрасной изоляции колоний и воспроизводимости.

Производительность: до 180 чашек в час. Рассев образца на 1–10 различных сред.

Единовременная загрузка до 114 образцов.

Единовременная загрузка до 150 чашек с агаром пяти разных типов (в пяти кассетах для загрузки).

Выгрузка чашек в три кассеты для выгрузки: сортировка в зависимости от требуемых условий культивирования.

Возможность работы как с коммерчески доступными готовыми средами в чашках, так и со средами, приготовленными и разлитыми в лаборатории.

Возможность работы с двухсекционными чашками.

Использование одноразовых расходных материалов (наконечников для внесения образца в чашку и аппликаторов для распределения образца по агару) исключает возможность перекрестной контаминации.

Автоматическая маркировка чашек.

Управление прибором через цветной сенсорный экран.

Универсальные штативы для загрузки образцов, совместимые со стандартными лабораторными пробирками и контейнерами.

Одновременная обработка образцов и пробирок/контейнеров разного типа.

Высокоэффективный воздушный HEPA-фильтр для предотвращения контаминации лаборатории.



**День 23 (16.07.19)**

Регистрация биоматериала.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Приготовление среды Эндо.*

Приготовление питательной среды Эндо, предназначенная для выделения энтеробактерий. Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1 литр), и насыпала взвешенное количество агара (37 г), закрыла и задала параметры. Для каждой среды задала свои параметры (температура стерилизации - 100 град., время стерилизации – 3 минуты, температура розлива – 45 град..)

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом.

**День 24 (17.05.19)**

Регистрация биоматериала.

Все назначения из направлений заносятся в автоматизированную лабораторную систему (ЛИС) qMS.

*Приготовление среды Эндо.*

Приготовление питательной среды Эндо, предназначенная для выделения энтеробактерий. Для этого в средоварку MasterClave®09 залила воды (1 литр), и насыпала взвешенное количество агара (37 г), закрыла и задала параметры. Для каждой среды задала свои параметры (температура стерилизации - 100 град., время стерилизации – 3 минуты, температура розлива – 45 град..)

*Подготовка и посев кала для исследования на дисбактериоз кишечника.*

Кал в микробиологическую лабораторию поступает в стерильных контейнерах. Для посева на среды КА (кровяной агар), ЖСА (желточно-солевой агар), Сабуро с тиоритом, энтерококкагар, ЭНДО и лактоагар делаем разведение, добавляем физ. раствор 3 мл и кал. Засеваем дополнительно разведение на ЖСА - клостридии и бифидо. Сеем на чашку со средой стерильным тампоном и разносим культуру одноразовой петлей. Утилизируем петлю в дез. раствор, тампон в отходы класса «Б».

Выполнила посевы на дизентерию, дифтерию и стафилококки.

Для посевов на дизентерию использовала чашки с питательной средой - ВСА (висмут-сульфит агар) и SS (сальмонеллезно-шигиллезный агар), для дифтерии – КБА, для стафилококка – ЖСА.