

День 1 (02.03.2020)

В первый день прохождения практики в Красноярском краевом противотуберкулезном диспансере № 1 нас ознакомили с отделами бактериологической лаборатории и ее работниками.

Далее нас ознакомили с основными правилами техники безопасности:

1. Работать в лаборатории необходимо в халате, при работе с биоматериалом использовать перчатки и маски.
2. Каждый должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения преподавателя не допускается.
3. Рабочее место следует поддерживать в чистоте, не загромождать его посудой и побочными вещами.
4. Запрещается работать в лаборатории без присутствия преподавателя или лаборанта.
5. Пролитые на пол и стол вещества обезвреживают и убирают под руководством лаборанта (преподавателя) в соответствии с правилами.
6. При работе с оборудованием точно следовать инструкции.
7. Выполнять работу нужно аккуратно, добросовестно, внимательно, экономно, быть наблюдательным, рационально и правильно использовать время, отведенное для работы.
8. По окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, закрыть водопроводные краны, выключить электрические приборы, утилизировать отработанный материал.

День 2 (03.03.2020)

На второй день практики нам показали автоклав, в котором дезинфицируют все инструменты и бланки (рис.1).

Далее я красила мазки по методу Цилю-Нильсона (рис.2):

- Фиксированный мазок покрывают плоской фильтровальной бумагой и наливают на неё карболовый фуксин Циля.
- Мазок подогревают над пламенем горелки до появления паров, затем охлаждают. После охлаждения снимают фильтровальную бумагу и промывают препарат водой.
- Препарат обесцвечивают путём нанесения на него 25%-го раствора серной кислоты в течение 3-х минут, и промывают несколько раз водой.
- Окрашивают препараты водно-спиртовым раствором метиленового синего 1 минуту, промывают водой и высушивают (рис.3).



Рисунок 1



Рисунок 2

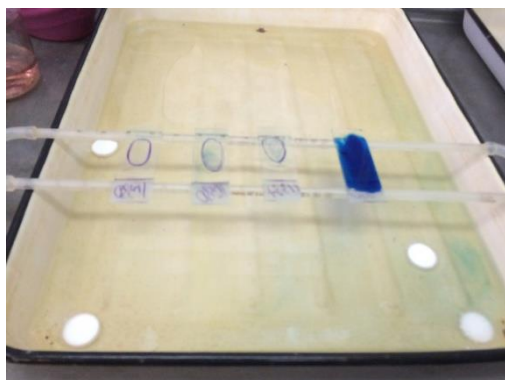


Рисунок 3

Также на второй день мы ознакомились с дезинфекцией и стерилизацией

Дезинфекция- комплекс мероприятий, направленных на уничтожение патогенных и условнопатогенных микроорганизмов в окружающей человека среде (идет уничтожение только вегетативных форм).

Основные виды дезинфекции:

1. Профилактическая- проводится с целью профилактики появления внутрибольничной инфекции;

2. Очаговая:

- текущая — осуществляется в очаге инфекции, у постели больного — многократно;
- заключительная — производится после изоляции, перевода в инфекционное отделение, выписки или смерти больного — однократно.

Методы дезинфицирования:

- Механические (влажная уборка помещений, покраска стен)
- Физические (УФ, кипячение, воздействие пара, сухого жара и тд)
- Химические (дезинфекция с помощью специальных дезинфицирующих средств- 0,5 % антибактерил, 0,033- неотабс, 0,022% СТГ- Премиум)

Стерилизация-уничтожение всех вегетативных и споровых, патогенных и непатогенных микроорганизмов.

Осуществляется:

- Воздушным методом (воздушный стерилизатор)
- Паровым методом (автоклавирование)
- Прокаливанием
- Кипячением (питательные среды)

ВОЗДУШНЫЙ МЕТОД СТЕРИЛИЗАЦИИ:

Стерилизация происходит горячим воздухом.

Режимы стерилизации:

- Режим-основной (180°C- 60 минут - предназначен для стерилизации изделий из металла)
- Режим-щадящий (160°C-150минут - предназначен для стерилизации изделий из силиконовой резины)

ПАРОВОЙ МЕТОД СТЕРИЛИЗАЦИИ (АВТОКЛАВИРОВАНИЕ)

В автоклаве питательные среды дезинфицируются: при 120°C- 15 минут, при 110°C- 20-30 минут. Посуда стерилизуется при 120°C 30 минут

ПРОКАЛИВАНИЕ

Является одним из наиболее надежных видов стерилизации. Осуществляется в тигельных печах нагреванием объекта до 500—800° или же его прокаливанием на голом огне. Применяется для стерилизации пинцетов, петель.

День 3 (04.03.2020)

На третий день практики я дезинфицировала весь кабинет, который нам отвели для исследования.

Далее я брала в пробирки со средой простого агара смывы на общее микробное число по методу конверта. Взятие производила с подоконника, стола, ручки двери и стула.

После взятия смывов, пробирки поставила в термостат на 24 часа при температуре 37°C.

Также на третий день практики нас ознакомили с утилизацией мед. отходов.

Сбор, хранение и транспортировка медицинских отходов осуществляется согласно: СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами"

В лаборатории образуются отходы классов:

- **А- (эпидемиологические безопасные отходы, по составу приближенные к ТБО).**

Отходы не имеющие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными. Канцелярские принадлежности, инвентарь, пищевые отходы.

Правила обращения: Отходы класса А собирают в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета (желательно белого), кроме желтого и красного. Одноразовые пакеты, помещают внутри многоразовых емкостей, промаркированных «Отходы. Класс А».

Многоразовую тару после сбора и опорожнения моют и дезинфицируют (2х кратным протиранием растворами дезинфицирующих средств, с интервалом 15 мин, ежедневно).

- **Б (эпидемиологические опасные отходы)**

Потенциально инфицированные отходы. Материалы и инструменты загрязненные кровью или другими биологическими жидкостями. Патологоанатомические отходы. Пищевые отходы из инфекционных отделений. Отходы с бактериологических, микробиологических и т.д. лабораториях.

Правила обращения: отходы класса Б собирают в одноразовую упаковку желтого цвета или имеющие желтую маркировку.

Острый инструментарий (иглы, скарификаторы) собирают отдельно в не прокалываемые контейнеры с иглосъемником и герметичной крышкой.

Отходы лабораторий дезинфицируют в соответствии с нормативным документом СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней» Обеззараженные отходы временно хранят с отходами класса А. Пакет заполняют на $\frac{3}{4}$ объема. Сотрудник, отвечающий за сбор отходов, должен быть в маске и резиновых перчатках, удаляя воздух, плотно завязывает и маркирует с указанием наименования больницы, даты и фамилии лица, ответственного за сбор отходов.

- **В (эпидемиологически опасные отходы)**

Третья группа чрезвычайно эпидемиологически опасных отходов - это отходы, загрязненные мокротой пациентов, отходы микробиологических лабораторий, осуществляющих работы с возбудителями туберкулеза. Исходя из положений п. 2.1. СанПиН 2.1.7.2790-10 эти отходы класса В могут образовываться исключительно в медицинских организациях фтизиатрического профиля, а также в микробиологических лабораториях, работающих с возбудителями туберкулеза.

- **Г (токсикологические опасные отходы).**

К данному классу относятся: ртутьсодержащие предметы, приборы и оборудования. Правила обращения: сбор отходов класса Г осуществляется в маркированные емкости (Отходы, класс Г) кроме желтого и красного цвета. Использованные люминесцентные лампы, ртутьсодержащие приборы, в т.ч. термометры собирают в закрытые контейнеры и хранят в специальных помещениях. Разбавленные дезинфицирующие средства сливают в канализацию.

День 4 (05.03.2020)

Приготовление питательных сред.

Для культивирования микроорганизмов применяют питательные среды. На средах микроорганизмы осуществляют все жизненные процессы (питаются, дышат, размножаются и т. д.), поэтому их еще называют средами для культивирования.

Требования, предъявляемые к средам:

- Должны быть питательными, т. е. содержать в легко усвояемом виде все вещества, необходимые для удовлетворения пищевых и энергетических потребностей
- Быть стерильными
- Быть прозрачными
- Быть изотоничными для микробной клетки

Классификация питательных сред по исходным компонентам:

- Натуральные (готовят из продуктов животного и растительного происхождения)
- Синтетические (готовят из определенных химически чистых органических и неорганических соединений, взятых в точно указанных концентрациях и растворенных в дважды дистиллированной воде)

II. По консистенции

- Плотные (применяют свернутую сыворотку крови, свернутые яйца, картофель, среды с селикагелем)
- Полужидкие (готовят из жидких, к которым для получения среды нужной консистенции прибавляют обычно агар-агар или желатин)
- Жидкие

III. По составу:

- Простые (относят мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), бульон и агар Хоттингера, питательный желатин и пептонную воду)
- Сложные (готовят, прибавляя к простым средам кровь, сыворотку, углеводы и другие вещества, необходимые для размножения того или иного микроорганизма)

IV. 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.
- элективные (избирательные) среды - служат для выделения определенного вида микробов, росту которых они благоприятствуют, задерживая или подавляя рост сопутствующих микроорганизмов. Среда становится элективной при добавлении к ним определенных антибиотиков, солей, изменении pH.
- дифференциально-диагностические среды - позволяют отличить (дифференцировать) один вид микробов от другого по ферментативной активности. 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.

На четвертый день практики я заполняла журнал и бланки результатов исследования (рис.4).

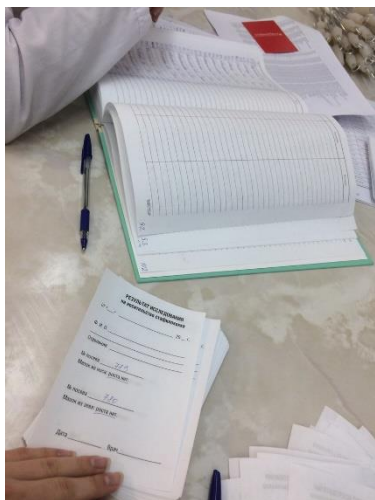


Рисунок 4

День 5 (06.03.2020)

ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ.

Морфологические свойства определяются путем бактериоскопии окрашенных мазков и изучения микробов в живом виде (висячая капля). При микроскопировании обращают внимание на форму микроба, его расположение, величину, наличие спор, капсул, отношение к методам окраски.

Размеры микроорганизмов колеблются от 0,4 до 10 мкм.

Различают 3 формы микроорганизмов:

- Шаровидные – кокки:
 - а) микрококки – деление и расположение беспорядочно;
 - б) диплококки – деление в одной плоскости, расположение по 2;
 - в) стрептококки – деление в одной плоскости, расположение цепочкой;
 - г) тетракокки – деление в двух взаимно перпендикулярных плоскостях, расположение по 4;
- Цилиндрическая или палочковидная форма:
 - а) диплобактерии и диплобациллы – делятся в одной плоскости и располагаются по 2;
 - б) стрептобактерии и стрептобациллы – делятся в одной плоскости и располагаются цепочкой;
 - в) большинство палочковидных форм делятся хаотично и располагается по одному.
- Извитые:
 - а) вибрионы – напоминают запятую или полумесяц
 - б) спириллы и спирохеты – имеют винтообразное строение.

Различают Грам «+», они окрашиваются в синий цвет и Грам «-» микроорганизмы, они окрашиваются в красный цвет.

Различают культуральные свойства:

- Размеры колонии. Она может быть очень мелкой, мелкой, средней и большой. Диаметр измеряется в миллиметрах и может находиться в диапазоне от 0,1 до 5 и более. Колонии, не превышающие 1 мм в диаметре, называются точечными.
- Цвет, а также способность к выделению красящего пигмента в окружающую среду.
- Поверхность. Здесь определяют, является ли она гладкой, шероховатой, бугристой или же вовсе складчатой.
- Профиль колонии: выпуклая, конусовидный или просто плоский.
- Структура колонии. Она может быть однородной, струйчатой, крупнозернистой или мелкозернистой.
- Оптические свойства: прозрачная, полупрозрачная, непрозрачная, флуоресцирующая, матовая или блестящая;
- Консистенция. Колония может быть вязкой или жидкой, тестообразной или пленчатой, маслянистой или хрупкой.
- Край колонии: ровный, лопастной, ризоидный, волнистый, зубчатый и т.д

День 6 (07.03.2020)

Методический день. Работа с дневником

День 7 (09.03.2020)

На седьмой день практики я брала мазок из зева тампоном-зондом (рис.5) и сеяла на чашки Петри с разными средами (рис.6): ЖСА, простой агар, Сабуру.

После я поставила чашки Петри в термостат на 24 часа при температуре 37°C



Рисунок 5



Рисунок 6

День 8 (10.03.2020)

На восьмой день практики я достала чашки Петри, на которые 28.11 посеяла мазок из зева и изучила культуральные и морфологические свойства колоний, которые там выросли: колонии были бежевого цвета, гладкие, с ровными краями, 0,2 мм.

ИММУНОДИАГНОСТИКА: РА, РП, РСК, РИФ.

Иммунодиагностика- диагностика инфекционных, иммунных и др. болезней, основанная на выявлении различий в гуморальном иммунитете у больного человека по сравнению с нормой.

Ведется в следующих направлениях:

- идентификация возбудителей болезней или их антигенов по реакции агглютинации с применением ранее полученных растворов антител (сывороток) – серодиагностика;
- выявление и оценка активности агентов гуморального иммунитета (комплемента, лизоцима, интерферонов, иммуноглобулинов, гемагглютининов и др.) обычно в крови, что свидетельствует о развитии заболевания в организме (напр., раннее определение раковых образований).

К реакциям иммунитета относятся реакция агглютинации (РА), реакция преципитации (РП), реакция связывания комплемента (РСК).

Реакция агглютинации

РА используют для серодиагностики (обнаружение антител в сыворотке крови больных) брюшного тифа и паратифа (реакция Видаля), бруцеллеза (реакция Райта), туляремии и лептоспироза.

РА используют для сероидентификации (определения вида возбудителя, выделенного от больного) при кишечных инфекциях, коклюше, холере и др.

Способы постановки РА:

Развернутая реакция агглютинации – проводится в пробирках. Вначале готовят 2-хкратные разведения сыворотки крови больного человека от 1:50 до 1:1600. В 6 пробирок наливают по 1 мл изотонического раствора хлорида натрия. В первую пробирку вносят 1 мл сыворотки крови больного в разведении 1:50, перемешивают и получают разведение 1:100, затем 1 мл разведения 1:100 переносят во вторую пробирку и получают разведение 1:200 и т.д. Две пробирки оставляют для контроля антигена и сыворотки. В контроль сыворотки добавляют только сыворотку в разведении 1:50, в контроль антигена – только антиген. Во все остальные пробирки добавляют

0,1 мл антигена - диагностикума (О- или Н-) и ставят все пробирки в термостат при 37°C на 18-20 часов. Учет результатов реакции проводят по характеру, количеству образовавшегося осадка (агглютината) и степени мутности. Учет проводят только при следующих результатах в контролях: контроль сыворотки – прозрачный, контроль антигена – мутный. О-антитела дают мелкозернистый осадок. Н-антитела – крупнозернистый. По последней пробирке, в которой еще видна реакция агглютинации, устанавливают диагностический титр.

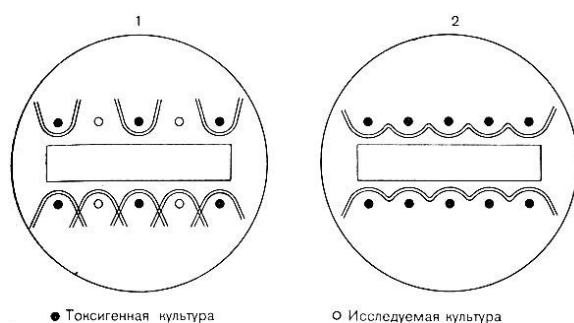
РА считается положительной, если агглютинация обнаруживается в разведении, близком к титру диагностической сыворотки.



Реакция преципитации.

Преципитация — это серологическая реакция, заключающаяся во взаимодействии растворимого антигена с антителом с последующим выпадением мелкозернистого осадка (преципитата).

РП применяют для обнаружения неизвестного антигена при ряде инфекционных заболеваний: при сибирской язве, туляремии, менингите, оспе.



Реакция связывания комплемента.

РСК используется чаще для серодиагностики (обнаружения антител к возбудителю заболевания в сыворотке крови больного) гонореи, сифилиса, коклюша, сыпного тифа и др. риккетсиозов и многих вирусных заболеваний. РСК также используется для сероидентификации.

Постановка РСК.

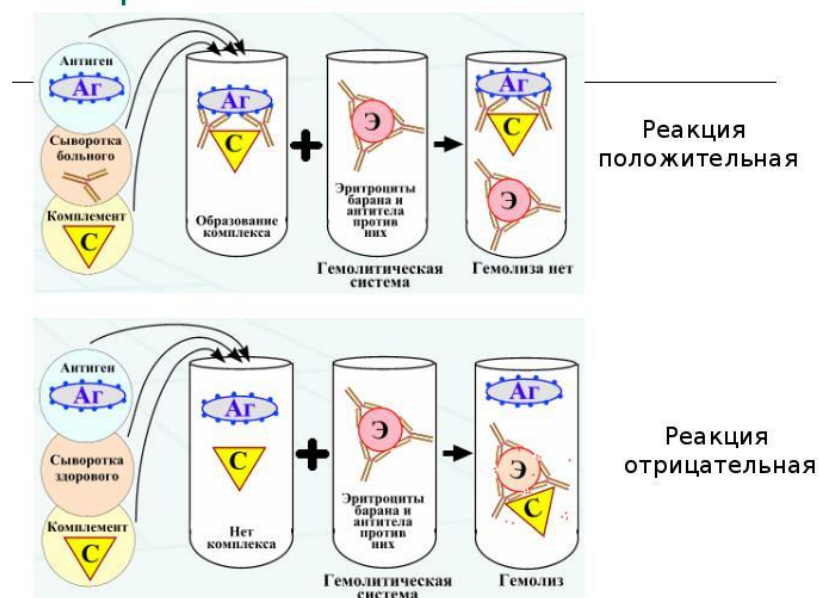
Перед постановкой опыта антиген, сыворотка больного, гемолитическая сыворотка и комплемент титруются (определяется их титр). Сыворотка больного прогревается при 56°C в течение 30 мин.

РСК проводят в 2 фазы:

- I фаза – специфическая. в одной пробирке готовят специфическую систему - смешивают равные количества известного антигена, сыворотки больного и комплемента, в другой пробирке готовят гемолитическую систему – смесь эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, пробирки ставят в термостат при 37°C на 30 мин.
- II фаза – индикаторная: в исходную смесь и во все контрольные пробирки добавляют одинаковые количества гемолитической системы и учитывают результаты реакции после выдерживания в термостате 30 мин.

Положительная реакция: в I фазе в специфической системе образуются комплексы антиген-антитело, с которыми связывается комплемент, после добавления гемолитической системы во II фазе гемолиз не наблюдается, так как комплемент связан 1-ой специфической системой. Видимый эффект – образование осадка эритроцитов.

Реакция связывания комплемента



День 9 (11.03.2020)

На девятый день практики я надевала пробки на металлические палочки (рис.7) для тампонов, которые предназначены для взятия смывов.

Далее я прошивала журнал для результатов исследований (рис.8).



Рисунок 7

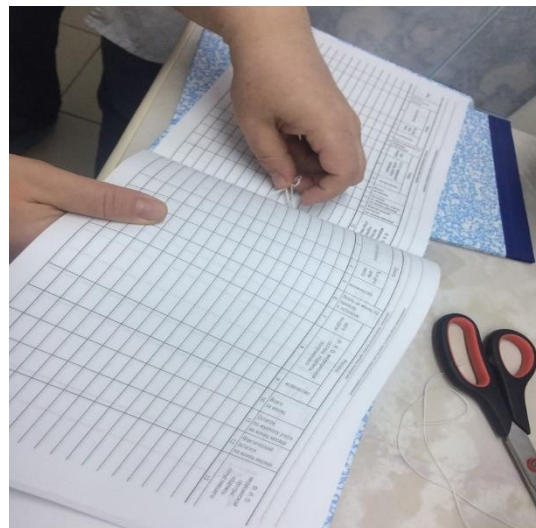


Рисунок 8

Методы отбора проб воздуха

Существуют два основных способа отбора проб воздуха для исследования:

- Седиментационный - основан на механическом оседании микроорганизмов;
- Аспирационный - основан на активном просасывании воздуха (этот метод дает возможность определить не только качественное, но и количественное содержание бактерий).

Седиментационный метод.

Чашки Петри с питательной средой (МПА, ЖСА) устанавливают в открытом виде горизонтально, на разном уровне от пола. Метод основан на механическом оседании бактерий на поверхность агара в чашках Петри. Чашки со средой экспонируют от 10 до 20 мин, в зависимости от предполагаемого загрязнения воздуха. Для выявления патогенной флоры используют селективные среды. Экспозиция в этих случаях удлиняется до 2-3 ч. После экспозиции чашки закрывают, доставляют в лабораторию и ставят в термостат на 24-48 ч при температуре 37° С. На следующий день

изучают выросшие колонии. Метод этот используют в основном в закрытых помещениях.

Аспирационный метод

Проводят с помощью специального аппарата ПУ- 1Б.

Аспиратор данного типа предназначен для отбора и измерения проб атмосферного воздуха населенных мест, воздуха рабочей зоны, воздуха жилых и общественных помещений и (или) газов от источников загрязнения атмосферы, газов - конечной продукции технологических процессов, с заданным объемным расходом через поглотитель для последующего аналитического контроля. Аспираторы позволяют отбирать пробу заданного объёма, например:

- МПА (100л)- 37°C на 24 часа.
- ЖСА (250л)- 37°C на 48 часов.

Посев производится на чашки Петри диаметром 90-100млм. Аспираторы автоматического отбора проб биологических аэрозолей воздуха ПУ-1Б предназначены для проведения санитарного контроля воздуха помещений в больницах, поликлиниках, медицинских научно- исследовательских институтах и других медицинских учреждениях.



Рисунок 9

День 10 (12.03.2020)

На десятый день практики меня ознакомили с аппаратом Bactec MGIT 960 (рис.10), который предназначен для выявления микобактерий и определения лекарственной чувствительности МБТ.

Bactec MGIT 960 используют для ускоренной диагностики туберкулеза.

В основе методики лежит изобретение индикаторной пробирки MGIT (рис.10). В дно встроен флуоресцентный кислородный датчик. 1 раз в час флуоресцентный сенсор считывает результаты тестирования:

- положительные: яркое оранжевое свечение на дне пробирки и оранжевое отражение в колене пробирки (O₂ мало);
- отрицательные: незначительное или полное отсутствие свечения (O₂ много)



Рисунок 10



Рисунок 11

День 11 (13.03.2020)

На одиннадцатый день практики мне показали термальную комнату – большой термостат (рис.12,13).

Там мне показали рост туберкулеза на среде Финна(рис.13).

После я надевала пробки на металлические палочки для тампонов, которые предназначены для взятия смывов.



Рисунок 12



Рисунок 13



Рисунок 14

День 12 (14.03.2020)

Методический день работа с дневником.

День 13 (16.03.2020)

На тринадцатый день практики я проводила метод определения чувствительности бактерий к антибиотикам. Для этого я использовала метод дисков:

- исследуемую бактериальную культуру засеяла газоном на питательный агар в чашке Петри;
- на засеянную поверхность пинцетом поместила на одинаковом расстоянии друг от друга стандартные диски, содержащие определенные дозы разных антибиотиков;

поставила чашку Петри в термостат на 24 часа при температуре 37°C.

День 14 (17.03.2020)

На четырнадцатый день практики я убиралась в кабинете. Поверхности обихода протирала дезинфицирующим раствором Ника (рис.15).

Далее я брала в пробирки со средой простого агара смывы на общее микробное число по методу конверта. Взятие производила с подоконника, стола, ручки двери и стула.



Рисунок 15

После взятия смывов, пробирки поставила в термостат на 24 часа при температуре 37°C.

День 15 (18.03.2020)

День практики начался с обработки дез.средством рабочих поверхностей лаборатории. Далее я прошивала журнал для результатов исследований.

День 16 (19.03.2020)

Обработка рабочих поверхностей лаборатории. Сегодня надевала пробки на металлические палочки для тампонов, которые предназначены для взятия смывов.

День 17 (20.03.2020)

День 18 (21.03.2020)

Методический день. Сдача дневников по практике.

