

На фиксированный мазок кладут полоску фильтровальной бумаги, наливают на нее достаточное количество раствора кристаллвиолета, карболового или же анилинового раствора генцианвиолета на 1—2 минуты. Затем краску сливают, удаляют полоску фильтровальной бумаги и, не смывая водой, наливают на мазок раствор Люголя на 1—2 минуты. Раствор сливают и обесцвечивают препарат в 96° спирте в течение 30—60 секунд, промывают водой и окрашивают дополнительно фуксином Пфейффера или разведенным сафранином в течение 2—3 минут. Затем краску смывают водой, а мазок высушивают чистой фильтровальной бумагой.

Микроскопическая картина: при правильной окраске мазков по Граму грамположительные микробы будут окрашены в темно-фиолетовый цвет, а грамотрицательные — в цвет дополнительной краски (например, в розовый цвет фуксина Пфейффера).

Особенно ответственным моментом в окраске по Граму является обесцвечивание мазка спиртом. При коротком воздействии спирта получаются переокрашенные препараты, а при длительном все микробы (в том числе и грамположительные) обесцвечиваются. На густой, толстый мазок (например, из агаровой культуры) время воздействия спиртом должно быть большим, нежели на тонкий мазок, особенно с жидких культур.

Стекла с отработанными мазками обеззараживал химическим методом в 0,5% дезрастворе "Ника-Экстра", экспозиция 60 минут.

Загружал автоклав емкостями с отработанными чашками с посевами для дезинфекции паровым методом.

Проводил регистрацию доставленного материала в рабочих журналах.

12 день (06.05.2022)

К практике приступил в 8 часов.

Санитарно-бактериологические исследования

Вода

Взятие пробы воды из водопровода, для этого берем три стерильные пластиковые баночки, подписываем их вход водопрода, середина водопровода и выход водопровода. отбираем пробу воды и транспортируем для посева на питательные среды.

Взятия пробы водопроводной воды, берем одну стерильную пластиковую баночку, перед забором включаем воду на 15 минут, затем отбираем пробу и транспортируем для посева.

Воздух

Забор и посев воздуха мы используем специальный прибор аспиратор ПУ-1Б. Для исследования воздуха мы останавливаем прибор так, что бы он находился вдали от окна и не близко к двери. Далее обрабатываем прибор и устанавливаем объем отбираемой пробы, затем устанавливаем чашку с питательной средой в держатели прибора, закрываем крышку и нажимаем на пуск, после установленного объема аспиратор выключается. После чего достаем чашку Петри, закрываем крышкой и ставим в термостат на 24 часа при 37С.

Смывы

Берут стерильные пробирки с ватным тампоном и питательной средой, перед взятием смывов ватный тампон увлажняют в среде и проводят забор. При взятии смывов с мелких инструментов производится полностью. При взятии смывов с санитарной одежды протирают 4 площадки по 25 см квадрата. Затем эти пробирки инкубируют в термостате 24 час при температуре 37С.

Проводи высеив со среды накопления, в которую лаборант отобрал смывы в отделении, на среду Эндо.

13-15 день (11.05.2022-13.05.2022)

К практике приступил в 8 часов.

Проводил микробиологическое исследование: выделение и идентификация протей.

Материалом для исследования служили:

- Испражнения;
- Рвотные массы;
- Моча;
- Слизь из зева, гной из уха, отделяемое раны;
- Секционный материал;
- Смывы с предметов окружающей среды.

Способы сбора материала

Испражнения	Собирают так же, как и при других кишечных инфекциях
Рвотные массы	Собирают так же, как и при пищевых токсикоинфекциях
Моча	Собирают стерильным катетером среднюю порцию в стерильную посуду (банку, пробирку, флакон)
Отделяемое раны, гной из уха, слизь из зева и носа, и другой патологический материал	Собирают стерильным тампоном в стерильные пробирки
Секционный материал	Стерильным инструментарием в стерильные банки или чашки Петри, предварительно прижигая поверхность тканей и органа, из которых берут образец
Смывы с предметов окружающей среды	Стерильными тампонами, помещенными в изотонический раствор натрия хлорида, делают смыв с поверхности

Основные методы исследования, которыми я воспользовался:

1. Микробиологический.
2. Серологический.

Первый день исследования

Отмечаю характер роста на питательных средах (роение - вуалеобразный налет).

Выделяю отдельные колонии или часть сплошного роста на комбинированную среду Рассела (с мочевиной) или среду Олькеницкого, делаю посев в конденсационную воду пробирки со скошенным агаром (по Шукевичу).

Второй день исследования

Делаю мазок и окрашивают его по Граму. При наличии грамтрицательных мелких палочек учитываю характер роста на среде Рассела или Олькеницкого и наличие роста в пробирке с посевом по Шукевичу. Протей не ферментирует лактозу, сбраживает глюкозу с образованием газа, большей частью гидролизует мочевины.

В пробе по Шукевичу - рост по всей поверхности скошенного агара.

Произвожу посев на дополнительные среды "пестрого ряда": маннит, бульон (для определения индолообразования и образования сероводорода вкладываю в пробирку бумажки, смоченные соответствующими реактивами), полужидкий агар, желатин. Делаю посев на среду с аминокислотой фенилаланином.

Третий день исследования

Учитываю результаты посева: протей не ферментирует маннит (большинство штаммов), образует индол и сероводород, подвижен, разжижает желатин и образует фермент фенилаланиндезаминазу, изменяющую цвет в пробирке с аминокислотой фенилаланином.

При указанных результатах можно отнести выделенную культуру к роду *Proteus*.

Заключительным этапом исследования является постановка реакции агглютинации на стекле с агглютинирующими сыворотками к бактериям рода *Proteus*. Сначала ставлю реакцию агглютинации с поливалентными O-сыворотками. При положительной реакции с одной из них повторяю реакцию агглютинации с каждой из типовых O-сывороток,

входящих в поливалентную. После определения O-группы провожу реакцию с H-сыворотками и определяю серовар. Выдаю ответ: "Выделены Proteus 09:H 1,2"

16 день (16.05.2022)

К практике приступил в 8 часов. Проводил первичный посев мочи.

Посев биологических материалов

Посев мочи: Мочу в лабораторию доставляют в стерильной баночке в количестве 3 - 5 мл. Подписываем на чашке номер, присвоенный в регистратуре. Сеется на кровяной агар по методу Голда. Мочу чуть взбалтываем, открываем и обожжённой петлёй (остудить) берём каплю. Наносим на середину чашки и несколько раз проводим по середине чашки, растирая каплю, затем неотрывными движениями делаем не менее 40 штрихов вверх и обжигаем петлю. Остужаем и наносим четыре штриха поперёк того сектора. Петлю обжигаем, остужаем и наносим ещё 4 штриха, не касаясь большого сектора, поперёк первых штрихов. Петлю обжигаем, остужаем и по вторым 4-м штрихам наносим 4 штриха, не касаясь большого поля. Петлю обжигаем, а чашку закрываем, убираем в термостат, баночку сбрасываем в 3% хлорамин.

Метод Голда

На внешней стороне дна чашки Петри с питательным агаром проводят разграничительные линии, разделяющие её на 4 сектора. Исследуемый материал вносят петлёй в первый сектор и проводят ею параллельные линии по всему сектору на расстоянии одна от другой около 5 мм. Этой же петлёй, не изменяя её положения по отношению к агару, проводят такие же линии на других секторах чашки. В том месте, где на агар попало большое количество микробных клеток, рост микроорганизмов будет в виде сплошного штриха. На секторах с небольшим количеством клеток микроорганизмы вырастают в виде отдельных колоний.

Посев кала: Материал для исследования петлей засеивается в жидкие питательные среды (бульоны) для накопления (выращивания) микроорганизмов. Ставят штатив со средами в термостат при температуре +37С на сутки. Далее, делают пересев из жидких сред на чашки с плотными средами, с помощью которых можно дифференцировать семейство и род микроорганизмов. Для выделения бактерий разных семейств существуют плотные питательные среды с различными составами, так как для каждого микроорганизма нужны

свои питательные вещества и условия для размножения. Чашки также ставят в термостат при + 37 гр. С еще на 18-24 часа. После этого оценивают выросшие колонии.

Посев из глаза и уха: На питательные среды кровяного агара и шоколад сеют биоматериал. На кровяной агар сеют по методу Голда, наносим на середину чашки и несколько раз проводим по середине чашки, растирая, затем неотрывными движениями делаем не менее 40 штрихов вверх и обжигаем петлю. Остужаем и наносим четыре штриха поперёк того сектора. Петлю обжигаем, остужаем и наносим ещё 4 штриха, не касаясь большого сектора. Петлю обжигаем, остужаем и наносим ещё 4 штриха, не касаясь большого сектора. Петлю обжигаем, остужаем и по вторым 4-м штрихам наносим 4 штриха, не касаясь большого поля. Петлю обжигаем, а чашку закрываем, убираем в термостат. На шоколад сеют обычно, провели полоску по середине чашки Петри и заштриховываем всю чашку. Убираем в термостат на 24 часа при температуре 37С.

17 день (17.05.2022)

К практике приступил в 8 часов.

Диско-диффузионный метод(антибиотикограмма)

Антибиотикограмма - это вид бактериологического исследования. Целью которого является определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Для проведения антибиотикограммы необходимо предварительно сделать посев биологического материала из очага воспаления на специальную питательную среду, с целью выделения возбудителя инфекции. Выделенного возбудителя идентифицируют и пересеивают на другую питательную среду, в максимально благоприятные условия для роста культуры микроорганизма. После чего на питательную среду наносят бумажные диски, пропитанные антибиотиками. Суть метода заключается в том, что чувствительные к антибиотикам микроорганизмы не могут расти в зоне действия препарата, а устойчивые возбудители спокойно растут колониями.

Проводил постановку теста чувствительности выделенных культур стафилококка и клебсиеллы.

- готовил суспензию микроорганизма 0,5 ед. по МакФарланду;
- стерильным тампоном, смоченным в суспензии, наносил культуру на чашку со средой Мюллер-Хинтона;
- наложил диски при помощи пинцета, максимально 6 шт на чашку диаметра 90мм;
- ставил чашки в термостат с температурой инкубации 35С 18-24 часа.

По характеру роста микроорганизма в зоне действия антибиотика, определяется его степень чувствительности к различным препаратам. Чем больше диаметр стерильной среды вокруг диска с антибиотиком, тем выше чувствительность возбудителя к этому препарату.

Так же я проводил первичный посев биоматериала на дифтерию.

Бактериологическое исследование

Бактериологическое исследование проводят с целью лабораторной диагностики для дифтерийной инфекции, выявления источников инфекции и наблюдения за распространенностью токсигенных коринебактерий дифтерии.

Взятие и доставка материала

- При исследовании на дифтерию обследуют ротоглотку и нос. При дифтерии редких локализаций помимо пораженных участков, следует брать материал также с миндалин и из носа.
- Взятие материала осуществляют с помощью стерильных ватных сухих тампонов. Для их приготовления используют металлические палочки, на один из концов которых плотно наматывается вата. Тампоны монтируют в пробирку с корковыми или ватными пробками так, чтобы конец тампона не доставал дна и не касался стенок пробирки, стерилизуют автоклавированием.
- Материал из ротоглотки и носа берет отдельными тампонами, натошак или не ранее, чем два часа после еды, при хорошем освещении, с использованием шпателя. Одним тампоном собирают материал с поврежденных участков ротоглотки - миндалин, при наличии налетов, материал следует брать с границы пораженных и здоровых тканей, слегка нажимая на них тампоном. Для взятия материала из носа используют другой тампон, который вводят сначала в один, а потом в другой носовой ход, не касаясь крыльев носа снаружи.
- Тампоны должны быть доставлены в лабораторию не менее 3-х часов с момента взятия материала. При проведении обследования в отдельных от бактериологических районах, рекомендуется засеивать материал на чашки с питательной средой.