**День 1**

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**

На второй день практики нам показалиавтоклав, 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](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BB) [фуксин](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D1%83%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%BD) 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](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B5%D1%80%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0)  в течение 3-х минут, и промывают несколько раз водой.
* Окрашивают препараты водно-спиртовым раствором [метиленового синего](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B9_%D1%81%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D0%B9) 1 минуту, промывают водой и высушивают (рис.3).



рис 1 рис 2

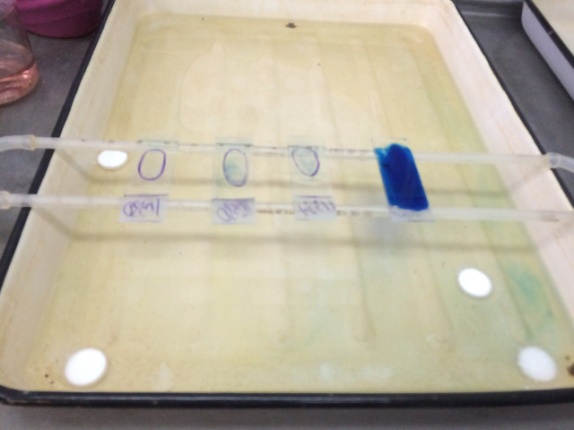


рис 3

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 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 СТЕРЕЛИЗАЦИИ:**

Стерилизация происходит горячим воздухом.

Режимы стерилизации:

* Режим-основной(180℃- 60 минут - предназначен для стерилизации изделий из метала)
* Режим-щадящий(160℃-150минут - предназначен для стерилизации изделий из силиконовой резины)

**ПАРОВОЙ МЕТОД СТЕРИЛЛИЗАЦИИ (АВТОКЛАВИРОВАНИЕ)**

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

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°С.

Также на третий день практики нас ознакомили с утилизаций 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 ¾ 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.

* 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**

**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

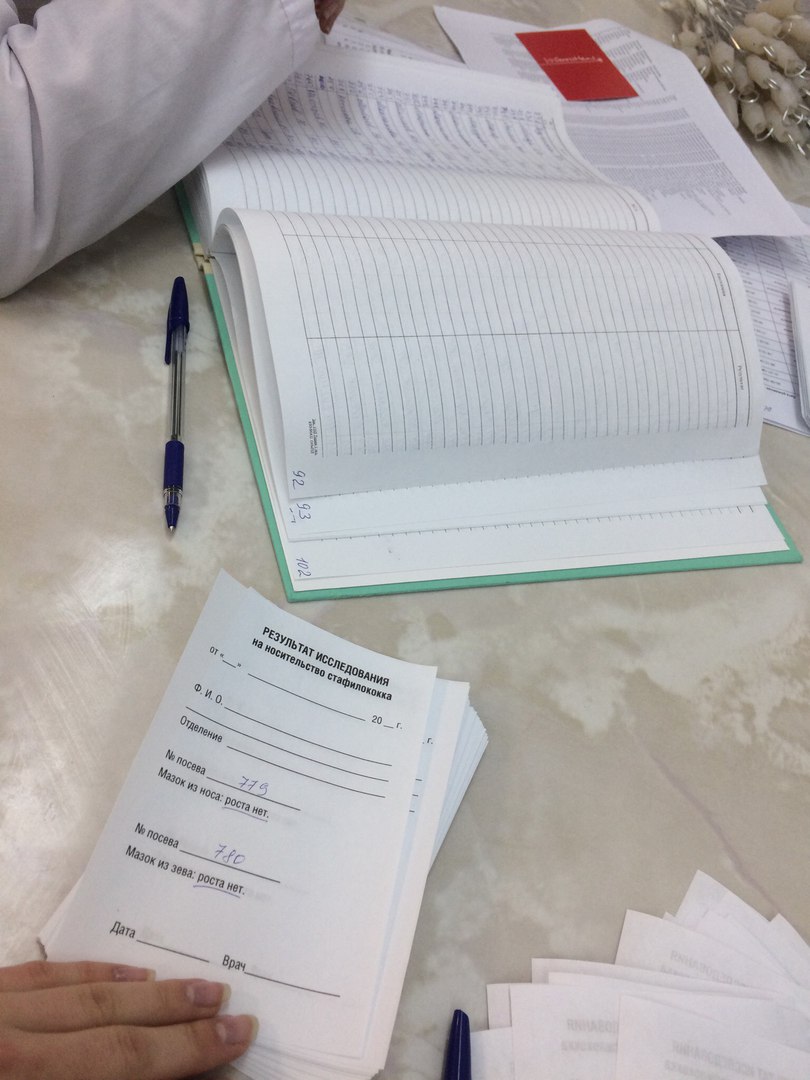
III. По составу:

* 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. Среды становятся элективными при добавлении к ним определенных антибиотиков, солей, изменении рН.
* 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).

 рис4

**День 5**

**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**

На шестой 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 термастат на 24 часа при температуре 37°С.



рис 5 рис 6

**День 7**

На седьмой 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

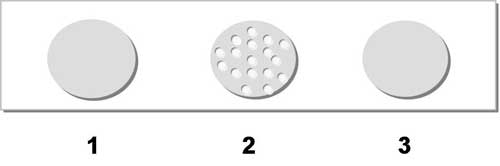
РА используют для серодиагностики (обнаружение антител в сыворотке крови больных) брюшного тифа и паратифа (реакция Видаля), бруцеллеза (реакция Райта), туляремии и лептоспироза.

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°С 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.

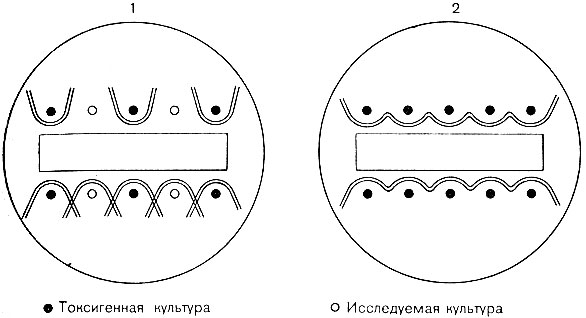
РА считается положительной, если агглютинация обнаруживается в разведении, близком к титру диагностической сыворотки.



Реакция преципитации.

Преципитация — это [серологическая реакция](http://www.medical-enc.ru/17/serologicheskie-issledovaniya.shtml), 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°С 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°С 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.

**День 8**

На восьмой 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).

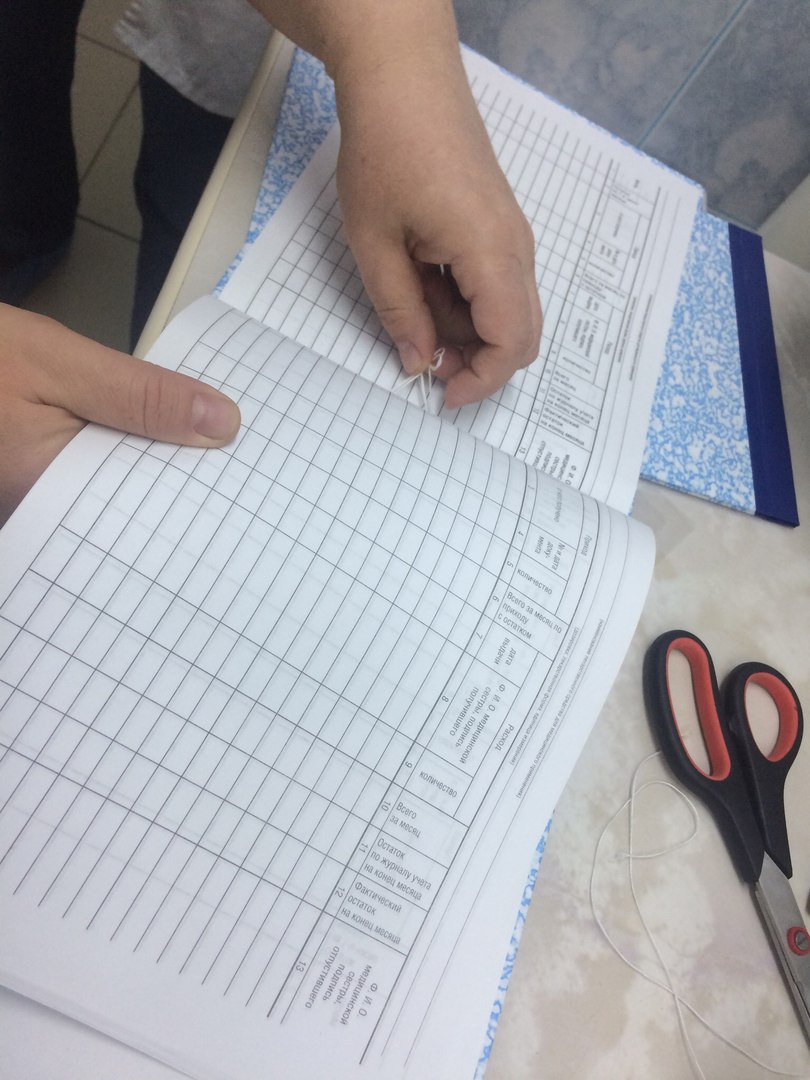
 

рис 7 рис 8

**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 элективные 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◦С на 24 часа.
* ЖСА (250л)- 37◦С 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.



**День 9**

На девятый день практики меня ознакомили с аппаратом Bactec MGIT 960 (рис.9), 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 (О2 мало);
* отрицательные: незначительное или полное отсутствие свечения (О2 много)

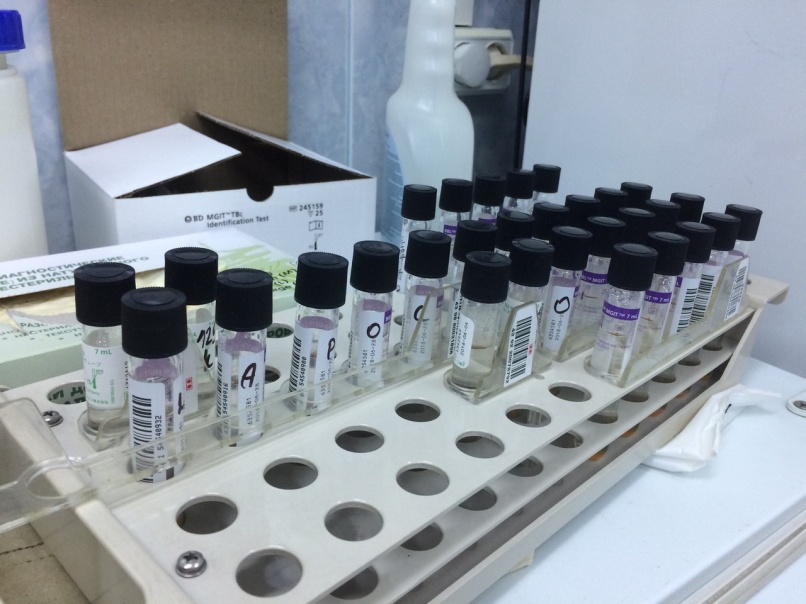
 

рис 9 рис 10

**День 10**

На десятый день практики мне показали термальную комнату – большой термостат (рис.11,12).

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

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

рис 11 рис 12



рис 13

**День 11**

На одиннадцатый 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°С.

**День 12**

На двенадцатый 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.

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

рис 14

Так же проводилась работа с дневниками .