

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого»
Институт медицинского образования

МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО
ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ**

ОП.06 ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

Специальность

31.02.01 Лечебное дело

Квалификация выпускника: фельдшер

Разработчик:

Л.В. Любомирова — преподаватель Медицинского колледжа ИМО
Новгородского государственного университета имени Ярослава Мудрого

ПРИНЯТО

Предметной(цикловой) комиссией преподавателей профессионального цикла
колледжа

Протокол « 1 » 31.08. 2023г.

Председатель ПЦК  Н.А. Павлова

Содержание

Перечень разделов	стр.
Титульный лист	1
1. Введение	5
2. Пояснительная записка	7
3. Тематический план и содержание учебной дисциплины	10
4. Перечень манипуляций по дисциплине	17
5. Перечень практических занятий	18
6. Техника безопасности и правила поведения на практических занятиях	19
7. Содержание практических занятий	20
7.1. Практическое занятие № 1	20
7.2 Практическое занятие № 2	32
7.3 Практическое занятие № 3	45
8. Информационное обеспечение обучения	57
9. Приложения	60
9.1 Приложение 1	60
9.2 Приложение 2	68
9.3 Приложение 3	74
9.4 Приложение 4	78
9.5 Приложение 5	81
9.6. Приложение 6. Перечень манипуляций по дисциплине	85
10. Алгоритмы манипуляций по дисциплине	86
10.1 Алгоритм № 1 Приготовление мазка с колонии на чашке Петри или скошенного агара	86
10.2 Алгоритм № 2 Окраска по Граму	68
10.3 Алгоритм № 3 Техника иммерсионной микроскопии	74
10.4 Алгоритм № 4 Характеристика микроорганизмов путем иммерсионной микроскопии микропрепаратов	78
10.5 Алгоритм № 5 Метод посева полосками на плотной питательной среде с помощью бактериальной петли	81
10.6 Алгоритм № 6 Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам (метод бумажных дисков)	85
10.7 Алгоритм № 7 Забор, хранение и транспортировка материала от инфекционного больного	91
10.8 Алгоритм № 8 Бракераж микробиологических препаратов	95
10.9. Алгоритм № 9 Хранение и транспортировка прививочных препаратов	96

10.10. Алгоритм № 10 Постановка серологического диагноза	97
10.11 Алгоритм № 11 Способы введения основных микробиологических препаратов (вакцин, анатоксинов, сывороток, иммуноглобулинов)	97
10.12 Алгоритм № 12 Введение чужеродных сывороток и гаммоглобулинов (метод Безредке)	98
10.13 Алгоритм № 13 Приготовление мазка и толстой капли крови на малярию	99
10.14 Алгоритм № 14 Порядок действий фельдшера (медсестры) при проведении прививок	100
11. Характеристика герпесвирусов человека и основных клинических форм инфекции	105
12. Список сокращений	106
13. Лист регистрации изменений	107

1. Введение

Инфекционные заболевания относятся к числу наиболее распространенных заболеваний человека.

Большинство из них при правильном и своевременном лечении заканчиваются полным выздоровлением, так как лекарственные препараты действуют непосредственно на причину болезни – микроорганизм.

В этой связи качество и оперативность диагностики инфекций приобретает особое значение. Актуальность роли отдельных возбудителей в патологии человека, стремительное развитие их устойчивости к антимикробным препаратам и растущие требования к сокращению сроков исследования диктуют необходимость применения современных методов диагностики инфекционных заболеваний и подразумевают оснащение микробиологических лабораторий высокотехнологичным оборудованием. Всё это требует от медицинского работника, быть профессионально компетентным и готовым к выполнению этих задач.

Знание основ микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической микробиологии необходимо всем медицинским работникам от медсестры до врача. Конечно, прежде всего, знания и умения, приобретенные на занятиях по дисциплине «Основы микробиологии и иммунологии», обеспечивают реализацию профессиональных компетенций при работе с инфекционной патологией.

Одна из особенностей диагностики инфекционных заболеваний заключается в том, что невозможно поставить окончательный диагноз без лабораторного подтверждения, т.е. без выявления возбудителя в материале пациента. Большое значение в проведении диагностического поиска имеют профессиональные компетенции фельдшера, основы которых закладываются изучением микробиологии и иммунологии.

В рамках профессиональных компетенций фельдшера должны уметь правильно собрать материал для лабораторного исследования у пациента, сохранить и правильно транспортировать его в лабораторию, грамотно подготовить пациентов для обследования, уметь объяснить больному, как себя вести, что делать.

Некомпетентное и непрофессиональное поведение медицинского работника оставит пациента недообследованным, что не позволит поставить окончательный диагноз, а значит, определить необходимое лечение, нужную этиотропную (направленную на возбудителя) терапию. В свою очередь это может привести к переходу заболевания в хроническую или скрытую форму инфекционного процесса, а также к возникновению внутрибольничной инфекции.

Микробиологические препараты широко используются для профилактики, лечения и диагностики инфекционных заболеваний. Прежде всего, необходимо выделить препараты для специфической профилактики инфекционной патологии, т.е. прививочные препараты.

Проведение специфической профилактики является основной мерой защиты от инфекций дыхательных путей, вирусного гепатита В, клещевого энцефалита, полиомиелита, столбняка и других инфекционных заболеваний. Фельдшер должны знать основы прививочного дела, основные прививочные препараты, уметь их вводить, хранить, транспортировать, а также должны уметь дать профессионально грамотную информацию о препаратах пациентам в рамках своей компетенции.

Учитывая рост иммунодефицитных состояний, онкологических заболеваний, аутоиммунных и аллергических заболеваний, высокие показатели и рост ВИЧ-инфекции, вопросы основ иммунологии и клинической иммунологии являются актуальными в работе специалистов. Поэтому фельдшер должны уметь увидеть иммунокомпроментированных пациентов, оценивать их иммунограмму, давать профессионально грамотные рекомендации в рамках своей компетенции.

Основное внимание в МУ уделено освоению обучающимися основных методов микробиологического исследования (иммерсионной микроскопии, посевов на жидкие и плотные питательные среды, идентификации микроорганизмов и определению чувствительности к антибиотикам).

Важной профессиональной компетенцией будущего медицинского работника является умение организовать здоровьесберегающую среду, проводить санитарно-гигиеническое просвещение населения. Для чего каждый обучающийся составляет беседу по профилактике актуального инфекционного заболевания и апробирует свой проект профилактической беседы сначала перед

студентами в группе, затем в школах, ЛПУ, учебных группах и других коллективах (справка из места проведения беседы).

В рамках дисциплины «Основы микробиологии и иммунологии» реализуется (с апреля 2011 года) проект «Арт-профилактика».

В проекте принимают участие студенты, имеющие достаточные знания дисциплины, творческий потенциал, обладающие навыками создания медиапродуктов (слайд-шоу, электронные презентации, видеоролики и т. п.) и желающие на добровольной основе участвовать в интерактивных театрализованных представлениях профилактического содержания.

Студенты дополнительно обучаются и работают по программе «Молодежь против химической зависимости и ВИЧ-инфицирования». Программа разработана совместно со специалистами центра «Хелпер» и НОНД «Катарсис». Участники проекта, начиная со 2-го курса, имеют возможность напрямую общаться со специалистами и базами центра «Хелпер», НОНД «Катарсис», центра «Подросток».

Проект позволяет набирать навыки интерактивного общения с аудиторией, способствует развитию культуры речи и с опережением формирует профессиональные компетенции медицинского работника.

Проект «Арт-профилактика» развивает интерес к будущей специальности, закрепляет навыки здорового образа жизни на подсознательном уровне, формируя здоровьесберегающую среду. Продукты профилактической направленности (видеоролики, слайд-шоу, электронные презентации, квилты и другие творческие работы), создаваемые студентами, используются в учебном процессе в рамках дисциплины, а также лечебно-профилактическими учреждениями для проведения просветительской работы.

2. Пояснительная записка

Методические рекомендации (далее МР) по практическим занятиям, являющиеся частью учебно-методического комплекса по дисциплине «Основы микробиологии и иммунологии» составлены в соответствии с:

1. Федеральным государственным образовательным стандартом по специальности 31.02.01 Лечебное дело (углубленная подготовка);

2. Рабочей программой учебной дисциплины «Основы микробиологии и иммунологии»;

3. Локальными актами НовГУ.

МР включают 3 практических занятий, предусмотренных рабочей программой учебной дисциплины в объеме 36 часов.

В результате выполнения практических заданий обучающийся должен уметь:

- проводить забор, транспортировку и хранение биоматериала для микробиологических исследований;
- соблюдать санитарно-эпидемиологические правила и нормативы медицинской организации
- проводить простейшие микробиологические исследования;
- дифференцировать разные группы микроорганизмов по их основным свойствам;
- осуществлять профилактику распространения инфекции, в том числе, иммунопрофилактику.

В результате освоения учебной дисциплины обучающийся должен знать:

- роль микроорганизмов в жизни человека и общества;
 - морфология, физиология и экология микроорганизмов;
 - методы лабораторных микробиологических и иммунологических методов исследования, медицинские показания к проведению исследований, правила интерпретации их результатов;
 - локализацию микроорганизмов в организме человека,
 - микробиологические основы химиотерапии и химиопрофилактики инфекционных заболеваний;
 - основные методы асептики и антисептики, принципы микробной деkontаминации различных объектов;
 - основы эпидемиологии инфекционных болезней, механизмы и пути заражения;
 - меры профилактики инфекций, в том числе, связанных с оказанием медицинской помощи;
- факторы иммунитета, его значение для человека и общества, принципы иммунодиагностики, иммунопрофилактики и иммунотерапии болезней человека

Перечень формируемых компетенций

Фельдшер должен обладать **общими компетенциями**, включающими в себя способность:

ОК 01. Выбирать способы решения задач профессиональной деятельности применительно к различным контекстам.

ОК 02. Использовать современные средства поиска, анализа и интерпретации информации, и информационные технологии для выполнения задач профессиональной деятельности организовывать собственную деятельность, выбирать типовые методы и способы выполнения профессиональных задач, оценивать их эффективность и качество.

ОК 04. Эффективно взаимодействовать и работать в коллективе и в команде ОК 5. Использовать информационно- Пользоваться профессиональной документацией на государственном и иностранных языках коммуникационные технологии в профессиональной деятельности.

ОК 09. Ориентироваться в условиях частой смены технологий в профессиональной деятельности.

Фельдшер должен обладать **профессиональными компетенциями**, соответствующими видам деятельности:

ПК 1.1. Осуществлять рациональное перемещение и транспортировку материальных объектов и медицинских отходов.

ПК 1.2 Обеспечивать соблюдение санитарно-эпидемиологических правил и нормативных документов.

ПК 2.1. Проводить обследование пациентов с целью диагностики неосложненных острых заболеваний и их обострений, травм, отравлений

ПК 4.2. Проводить санитарно-гигиеническое просвещение населения

ПК 4.3 Осуществлять иммунопрофилактику.

ПК 4.4 Организовывать среду, отвечающую действующим санитарным нормам и правилам

Каждое практическое занятие содержит требования к умениям и знаниям, помещен перечень оборудования и материалов, необходимых для его проведения, определены вопросы и задания для подготовки к занятию, составлены графологические структуры темы и отобран теоретический материал. В каждой теме определен порядок выполнения работы, составлены ситуационные задачи и задания, разработаны тестовые задания, определен глоссарий темы, итоговые контрольные вопросы, указана необходимая литература и интернет ресурсы, имеются приложения.

Итоговая аттестация в форме дифференцированного зачета проводится на 2 курсе в III семестре

Критерии оценки

Оценка за работу студента на практическом занятии выставляется на основании:

1. результатов вводного контроля,
2. решения проблемно-ситуационных задач,
3. отработки манипуляций по теме,
4. соблюдения правил личной гигиены, инфекционной безопасности и дисциплины.

Результаты вводного контроля

5 «отлично» - студент полностью владеет теоретическими знаниями по теме, не допускает ошибок.

4 «хорошо» - студент владеет теоретическими знаниями темы, но допускает одну или две незначительные ошибки.

3 «удовлетворительно» - студент имеет общее представление темы, но допускает существенные неточности в деталях.

2 «неудовлетворительно» - студент имеет недостаточное представление темы, допускает существенные ошибки и не может их исправить даже по требованию преподавателя.

Оценка тестовых заданий

5 «отлично» - выставляется, если студент ответил полностью на все вопросы теста или допустил одну ошибку (91-100% заданий).

4 «хорошо» - выставляется, если студент допустил 4-5 ошибок (76-90%).

3 «удовлетворительно» - выставляется, если студент выполнил правильно более половины тестовых заданий (50-75%)

2 «неудовлетворительно» - выставляется, если студент выполнил правильно менее половины тестовых заданий

Оценка практических умений

Оценка ставится на основании наблюдения за студентом и письменного отчета за работу.

5 «отлично» - работа выполнена полностью правильно, сделаны правильные наблюдения и выводы.

- Практическое задание выполнено по плану с учетом ТБ и правил работы с оборудованием, соблюдением правил асептики и антисептики, этики и деонтологии
- Проявлены организационно-трудовые умения (поддерживается чистота рабочего места и порядок на столе)

4 «хорошо» - работа выполнена правильно, сделаны наблюдения и выводы, при этом работа выполнена не полностью или допущены несущественные ошибки в работе.

3 «удовлетворительно» - работа выполнена правильно, но имеются существенные ошибки в ходе работы, в объяснении, в оформлении работы, в соблюдении правил ТБ, нарушены правила асептики и антисептики, которые исправляются по требованию преподавателя

2 «неудовлетворительно» - допущены 2 (и более) существенные ошибки в ходе работы, в объяснении, в оформлении работы, в соблюдении правил ТБ, нарушение правил асептики и антисептики, которые студент не может исправить даже по требованию преподавателя

Критерии оценки решения проблемно-ситуационной задачи

5 «отлично» - комплексная оценка предложенной ситуации; знание теоретического материала с учетом междисциплинарных связей, правильный выбор тактики действий; последовательное, уверенное выполнение практических манипуляций.

4 «хорошо» - комплексная оценка предложенной ситуации, незначительные затруднения при ответе на теоретические вопросы, неполное раскрытие междисциплинарных связей; правильный выбор тактики действий; логическое обоснование теоретических вопросов с дополнительными комментариями педагога; последовательное, уверенное выполнение практических манипуляций.

3 «удовлетворительно» - затруднения с комплексной оценкой предложенной ситуации; неполный ответ, требующий наводящих вопросов педагога; выбор тактики действий, в соответствии с ситуацией, возможен при наводящих вопросах преподавателя, правильное последовательное, но неуверенное выполнение манипуляций.

2 «неудовлетворительно» - неверная оценка ситуации; неправильно выбранная тактика действий, приводящая к ухудшению ситуации, нарушению безопасности пациента; неправильное выполнение практических манипуляций, проводимое с нарушением безопасности пациента и медперсонала.

**3. Тематический план и содержание учебной дисциплины
«Основы микробиологии и иммунологии»**

Наименование разделов и тем	Содержание учебного материала, практические занятия	Количество часов	Коды компетенций, формированию которых способствует элемент программы
Раздел 1.	Общая микробиология и иммунология	18	
Тема 1.1. Введение. Классификация микроорганизмов. Методы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний	<i>Содержание учебного материала</i> Предмет и задачи медицинской микробиологии и иммунологии. История развития микробиологии и иммунологии. Роль микроорганизмов в жизни человека и общества. Научные и практические достижения медицинской микробиологии и иммунологии. Прокариоты и эукариоты. Принципы классификации микроорганизмов на бактерии, грибы, простейшие, вирусы. Предмет и задачи бактериологии, микологии, паразитологии, вирусологии. Микроскопический, микробиологический, вирусологический, экспериментальный, иммунологический, молекулярно-генетический методы исследования. Этапы лабораторного микробиологического исследования; Преаналитический этап лабораторного микробиологического исследований, нормативные документы; Показания к проведению лабораторных микробиологических исследований; Подготовка пациента к лабораторным микробиологическим исследованиям; Правила сбора, сроки и условия хранения и транспортировки биологического материала для микробиологических исследований. Оформление сопровождающей документации; Систематика и номенклатура микроорганизмов.	2	ОК 01 ОК 02 ПК 1.1 ПК 1.2 ПК 2.1
Тема 1.2. Экология микроорганизмов.	<i>Содержание учебного материала</i> Понятие об экологии. Микробиоценоз почвы, воды, воздуха. Роль почвы, воды, воздуха, пищевых продуктов в распространении возбудителей инфекционных	2	ОК 02 ОК 04 ПК 1.1

Общие требования к организации работ с патогенными микроорганизмами	болезней. Влияние физических, химических и биологических факторов, механизм их действия на микроорганизмы. Понятие о стерилизации и дезинфекции. Профилактическая и текущая дезинфекция. Средства дезинфекции, их выбор в зависимости от объекта. Понятие об асептике и антисептике. Микробиологические основы химиотерапии инфекционных заболеваний. . Классификация микроорганизмов по степени их Опасности; Нормативные документы, регламентирующие работу микробиологической лаборатории; Устройство микробиологической лаборатории. Техника безопасности, правила поведения и работы в микробиологической лаборатории; Определение инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) и актуальность проблемы. Возбудители, источники, пути и факторы передачи ИСМП. Нормативные документы, Профилактика ИСМП. .Классификация медицинских отходов в зависимости от степени их эпидемиологической Опасности, их маркировка и способы утилизации.		ПК 1.2 ПК 2.1
Тема 1.3. Основные понятия об инфекционном процессе	<i>Содержание учебного материала</i> Понятия «инфекция», «инфекционный процесс», «инфекционное заболевание». Паразитарная форма взаимоотношений микро – и макроорганизмов. Факторы, влияющие на возникновение, течение и исход инфекционного процесса: количественная и качественная характеристика микроба – возбудителя, состояние макроорганизма, экологические факторы. Стадии инфекционного процесса. Характерные особенности инфекционных болезней: зависимость от вида патогенного микроорганизма, контагиозность, цикличность. Периоды инфекционной болезни. Формы инфекционного процесса.	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 1.1 ПК 1.2 ПК 2.1

Тема 1.4. Основные понятия об эпидемическом процессах	<i>Содержание учебного материала</i> Понятие об эпидемическом процессе. Влияние социальных и природных факторов на течение эпидемического процесса. Источник инфекции. Механизмы передачи возбудителей инфекции, соответствие механизма передачи возбудителя его локализации в организме человека. Пути передачи возбудителей инфекции. Природная очаговость инфекционных болезней. Восприимчивость коллектива к инфекции. Противоэпидемические мероприятия (лечение, дезинфекция, дезинсекция, дератизация, иммунизация). Интенсивность эпидемического процесса. Эколого-эпидемическая классификация инфекционных болезней. Карантинные (конвенционные) и особо опасные инфекции	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 2.1 ПК 4.2 ПК 4.3 ПК 4.4
Тема 1.5 Учение об иммунитете Тема 1.5.1. Понятие об иммунитете и иммунной системе. Иммунная система организма человека. Гуморальный и клеточный иммунитет. Иммунный ответ.	<i>Содержание учебного материала</i> Понятие об иммунитете, его значение для человека и общества. Неспецифические и специфические факторы защиты, их взаимосвязь. Виды иммунитета. Иммунная система организма человека. Органы, ткани центральной и периферической иммунной системы. Иммуннокомпетентные и фагоцитарные клетки. Иммуноглобулины, их характеристика. Антигены. Серологическая и клеточная реакции. Гуморальный и клеточный иммунитет. Иммунный ответ. Формы иммунного ответа. Понятие об иммунологической памяти и иммунологической толерантности. Основные формы иммунного реагирования	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 4.3
Тема 1.5.2. Клиническая иммунология	<i>Содержание учебного материала</i> Иммунный статус. Патология иммунной системы. Первичные, вторичные иммунодефициты. Иммунодепрессивные факторы. Иммунопатологические состояния: инфекционный синдром, онкологические заболевания, аллергические и аутоиммунные заболевания. Понятие о СПИДе, его клинических проявлениях. Кожно-аллергические пробы. Иммунологические исследования, их значение.	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 2.1 ПК 4.2
Тема 1.5.3. Медицинские иммунобиологические препараты	<i>Содержание учебного материала</i> Медицинские иммунобиологические препараты: вакцины, иммуноглобулины и иммунные сыворотки, эубиотики, бактериофаги, иммуномодуляторы, диагностические препараты, их состав, свойства, назначение. Применение микробиологических препаратов в медицине	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ОК 09

	Характеристика препаратов для профилактики инфекционных заболеваний (способы, дозы, места введения). Действующий приказ Минздрава России от 06.12.2021 N 1122н "Об утверждении национального календаря профилактических прививок" Требования к хранению, транспортировке микробиологических препаратов. Понятие о холодовой цепи. Характеристика основных терапевтических препаратов. Механизм их действия. Характеристика диагностических препаратов. Практическое занятие № 1 Применение микробиологических препаратов в медицине.	4	ПК 4.2 ПК 4.3
	<i>В том числе практическая подготовка</i>	4	
Раздел 2	Бактериология	6	
Тема 2.1 Классификация бактерий. Морфология и физиология бактерий методы её изучения	Содержание учебного материала Классификация бактерий по Берджи. Принципы подразделения бактерий на группы. Особенности морфологии микоплазм, хламидий, риккетсий, актиномицетов. Формы бактерий: кокковидная, палочковидная, извитая, ветвящаяся. Структура бактериальной клетки: основные и дополнительные структуры, их химический состав и назначение. Микроскопические методы изучения морфологии бактерий: виды микроскопов, методы окраски. Дифференциация бактерий по морфологическим и тинкториальным свойствам. Химический состав бактериальной клетки. Ферменты бактерий. Питание, дыхание, рост и размножение бактерий. Питательные среды, их назначение, применение. Этапы микробиологического исследования. Условия культивирования бактерий. Выделение чистой культуры бактерий. Культуральные, биохимические и антигенные свойства бактерий, их значение для дифференциации бактерий. Особенности культивирования риккетсий и хламидий. Культивирование анаэробов. Практическое занятие № 2 Микроскопический и микробиологический методы исследования	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 1.1 ПК.1.2 ПК 2.1 ПК 4.4

	Изучение морфологии бактерий Приготовление препаратов из культуры микроорганизмов, окраска простыми и сложными методами, микроскопия в иммерсии, описание препарата. Культивирование бактерий, изучение культуральных свойств. Методы посева. Правила техники безопасности при проведении микробиологических исследований.	4	
	<i>В том числе практическая подготовка</i>	4	
Раздел 3	Микология и медицинская паразитология	2	
Тема 3.1 Классификация грибов. Строение и особенности физиологии грибов, методы их изучения	<i>Содержание учебного материала</i> Классификация грибов: низшие и высшие грибы, совершенные и несовершенные грибы. Морфология грибов. Особенности питания и дыхания грибов. Культивирование грибов, оптимальные условия для культивирования. Устойчивость грибов к факторам окружающей среды. Характерные клинические проявления.	1	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 1.1 ПК.1.2 ПК 2.1 ПК 4.4
Тема 3.2. Общая характеристика и классификация простейших и гельминтов, методы их изучения.	<i>Содержание учебного материала</i> Общая характеристика и классификация простейших. Особенности их морфологии и жизнедеятельности. Устойчивость простейших к факторам окружающей среды. Возбудители протозойных кишечных инвазий: амебиаза, лямблиоза, балантидиаза. Возбудители протозойных кровяных инвазий: малярии, лейшманиозов, трипаносомозов. Возбудители протозойных инвазий мочеполовых путей: трихомоноза Источники инвазии, пути заражения, жизненный цикл паразитов. Характерные клинические проявления. Возбудитель токсоплазмоза. источник инвазии, пути заражения, жизненный цикл паразита, основные проявления врождённых и приобретённых токсоплазмозов. Противопротозойные препараты. Особенности иммунитета при протозойных инфекциях. Микроскопический метод обнаружения простейших. Профилактика протозоозов. Общая характеристика и классификация гельминтов. Особенности морфологии и жизнедеятельности гельминтов: сосальщиков (трематод), ленточных червей (цестод)	1	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 1.1 ПК.1.2 ПК 2.1 ПК 4.4

	и круглых червей (нематод). Источники инвазии, пути распространения и заражения гельминтами. Устойчивость гельминтов к факторам окружающей среды. Характерные клинические проявления гельминтозов. Методы обнаружения гельминтов в биологическом материале		
Раздел 4.	Вирусология	4	
Классификация и структура вирусов. Культивирование и репродукция вирусов. Методы изучения вирусов Частная вирусология	Содержание учебного материала Особенности классификации вирусов, таксономия. Структура вирусов, просто и сложно устроенные вирусы. Формы вирионов. Изучение морфологии вирусов. Особенности физиологии вирусов как облигатных клеточных паразитов. Методы культивирования и индикации вирусов. Устойчивость вирусов к факторам окружающей среды. Репродукция вируса: продуктивный тип репродукции и его стадии, понятие об абортном и интегративном типах. Генетика вирусов и её значение для современной медицины. Бактериофаги, их свойства и применение в диагностике, профилактике и лечении инфекционных болезней Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций. Возбудители вирусных кишечных инфекций и гепатитов А и Е. Возбудители вирусных респираторных инфекций: гриппа, парагриппа, других острых респираторных вирусных инфекций, кори, краснухи, ветряной оспы, опоясывающего герпеса, натуральной оспы. Возбудители вирусных кровяных инфекций: иммунодефицита человека, гепатитов В, С, Д, G, геморрагической лихорадки, клещевого энцефалита. Возбудители вирусных инфекций наружных покровов: бешенства, простого вируса, цитомегалии. Практические занятия № 3 Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций. Постановка простейших серологических реакций и учёт результатов.	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК 1.1 ПК.1.2 ПК 2.1 ПК 4.4
	<i>В том числе практическая подготовка</i>	2	
Раздел 5.	Клиническая микробиология	6	

Тема 5.1. Микрофлора организма человека	<i>Содержание учебного материала</i> Микробиоциноз в условиях физиологической нормы организма человека. Понятие «нормальная микрофлора человека». Резидентная и транзитная микрофлора. Формирование микробиоциноза и его изменения в процессе жизнедеятельности человека. Нормальная микрофлора различных биотопов: кожи, слизистых оболочек рта, верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта, мочеполовой системы. Роль нормальной микрофлоры для жизнедеятельности и здоровья человека: защита организма от патогенных микробов, стимуляция иммунной системы, участие в метаболических процессах и поддержании их баланса. Дисбактериоз, причины, симптомы, методы исследования, корреляция.	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ПК.1.2 ПК 2.1 ПК 4.4
Тема 5.2. Сбор, хранение и транспортировка материала для микробиологических исследований Современные технологии, применяемые в клинической микробиологии	<i>Содержание учебного материала</i> Значение своевременного и адекватного взятия материала для микробиологических исследований. Меры предосторожности при сборе и транспортировке исследуемого материала. Предохранение от контаминации исследуемого материала нормальной микрофлорой. Правила взятия, сроки, температурные и другие условия транспортировки материала для бактериологических, микологических, паразитологических и вирусологических исследований, поддерживающие жизнедеятельность возбудителя, предотвращающие избыточный рост сопутствующей микрофлоры и обеспечивающие безопасность людей и окружающей среды. Количество отбираемого материала. Посуда, инструменты и химические реагенты, используемые для сбора материала, их перечень, подготовка к работе, утилизация. Оформление сопровождающих документов. <i>Практическое занятие № 3</i> Требования к сбору, хранению и транспортировке материала пациента для микробиологических исследований	2	ОК 01 ОК 02 ОК 04 ОК 09 ПК 1.1 ПК.1.2 ПК 2.1 ПК 4.2 ПК 4.4
	<i>В том числе практическая подготовка</i>	2	
Всего:		36	

4. Перечень манипуляций по дисциплине

1. Приготовить мазки из нативного материала и культуры микроорганизмов.
2. Окрасить мазки по Граму.
3. Провести иммерсионную микроскопию микропрепарата.
4. Дать характеристику основных форм микроорганизмов путем микроскопии готовых микропрепаратов.
5. Провести посев материала большого петлей, тампоном, шпателем.
6. Определить чувствительность микроорганизмов методом индикаторных дисков.
7. Собрать, сохранить и транспортировать материал от инфицированного больного в бактериологическую и иммунологическую лабораторию. Изучить требования к забору крови, хранению крови для серологических и иммунологических исследований.
8. Проводить бракераж микробиологических препаратов.
9. Хранение и транспортировка микробиологических препаратов (привычные препараты).
10. Поставить серологический диагноз.
11. Вводить основные прививочные препараты, сыворотки, иммуноглобулины, бактериофаги и др. микробиологические препараты (дозы, способы и места введения).
12. Вводить гетерогенные сыворотки и иммуноглобулины дробно.
13. Алгоритм действий фельдшера (медсестры) при проведении прививок (включает 8, 9, 11 пункт перечисленных манипуляций).
14. Аprobация проектов профилактических бесед студентами по темам:
 - «Профилактика бактериальных инфекций»
 - «Профилактика вирусных инфекций»,
 - «Профилактика протозоозов и гельминтозов»

**Зачетные манипуляции для специальности 31.02.01. Лечебное дело –
№ 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 14**

5. Перечень практических занятий

№ п/п	Название тем и содержание практических занятий	Кол-во часов
1	Тема 1. Микробиологические препараты для профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней. Методы иммунодиагностики и иммунопрофилактики инфекционных болезней.	4
2.	Тема 2. Микроскопический и микробиологический метод исследования. Изучение морфологии бактерий Приготовление препаратов из разного нативного материала и культуры микроорганизмов, окраска простым и сложными методами, микроскопия в иммерсии, описание препарата. Культивирование бактерий, изучение культуральных свойств. Определение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам Правила техники безопасности при проведении микроскопических исследований.	4
3.	Тема 3. Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций. Требования к сбору, хранению и транспортировке материала для микробиологических исследований. Сбор, хранение и транспортировка материала для микробиологических исследований Постановка простейших серологических реакций и учёт результатов. Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций. Профилактика вирусных инфекций (апробация проектов профилактических бесед студентами).	4
	Итого:	12

6. Техника безопасности и правила поведения на практических занятиях

1. Приходить в кабинет только в медицинском халате, колпаке и сменной обуви.
2. До начала занятий дежурные под руководством лаборанта накрывают столы, ставят микроскопы, препараты, штативы, дезинфицирующие растворы.
3. **Категорически запрещается:**
 - вносить в кабинет верхнюю одежду или входить в верхней одежде и уличной обуви;
 - пересаживаться или ходить по кабинету без разрешения преподавателя;
 - брать пробирки с посевами, чашки Петри, микроскопы без разрешения преподавателя;
 - пить, курить, принимать пищу, пользоваться косметикой.
4. В случае аварии (разбилась пробирка, чашка, разлилась жидкость с выросшей культурой микроорганизмов и т.д.) необходимо немедленно сообщить преподавателю и под его руководством сразу же провести дезинфекцию рабочего места и обязательно обработку рук.
5. **Окончив занятие, студент обязан:**
 - убрать свое рабочее место;
 - удалить остатки материала и реактивов;
 - выключить осветитель, протереть объективы микроскопов, поставить их в нерабочее положение (контролируют эту работу дежурные).
7. Перед окончанием работы дежурные убирают микроскопы в шкаф, убирают стаканы с петлями, проводят обработку столов под контролем лаборанта, остаются на своих местах.
8. Все учащиеся после работы с культурой обрабатывают руки тампоном, смоченным антисептиком, затем моют их с мылом в санитарной комнате.

NB!

На все практические занятия необходимо приходить подготовленными, для чего см. вопросы или карту самоподготовки к занятию.

7. Содержание практических занятий

7.1 Практическое занятие № 1 (4 часа)

Раздел 1.Общая микробиология

Тема 1.5.3.Медицинские иммунобиологические препараты

Тема практического занятия

«МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ».

Цель занятия:

Ознакомиться с основными микробиологическими препаратами для профилактики, лечения и диагностики инфекционных заболеваний.

Студент должен уметь:

- проводить бракераж препаратов;
- хранить и транспортировать прививочные и другие микробиологические препараты;
- вводить гетерогенные сыворотки и иммуноглобулины дробно (метод Безредке);
- вводить вакцины, анатоксины, иммуноглобулины, сыворотки, интерфероны, бактериофаги.

Студент должен знать:

- основные микробиологические препараты для специфической профилактики, лечения и диагностики инфекционных заболеваний. Показания для применения, способы введения, механизмы их действия и возможные побочные реакции;
- условия хранения и транспортировки микробиологических препаратов;
- дозы, способы и места введения вакцин и анатоксинов для специфической профилактики по возрасту всем здоровым детям по приказу № 1122н от06.12.2021 года об организации и проведении прививок;
- поствакцинальные реакции, их характеристика, алгоритм действий фельдшера (медсестры);
- алгоритм действий фельдшера (медсестры) при проведении прививок;
- правила иммунизации.

Оснащение:

- набор микробиологических препаратов для профилактики, лечения и диагностики инфекционных заболеваний, муляжи «Рука для в/в введения, для в/к, п/к введений», «Для в/м введения», лотки, пинцеты, шприцы для в/к, п, аннотации к микробиологическим препаратам/к, в/м введений, набор ситуационных и проблемно-ситуационных задач, набор тестовых заданий, набор таблиц, электронные презентации, видеоматериал, манипуляционные алгоритмы;

-приказ 1122н от06.12.2021 года об организации и проведении специфической профилактики, национальный прививочный календарь.

Краткое содержание темы:

Проведение бракеража микробиологических препаратов. Работа с алгоритмами манипуляций. Работа с аннотациями микробиологических прививочных препаратов, заполнение таблиц. Обсуждение приказа № 125н от 21 марта 2014года об организации и проведении прививок. Просмотр и обсуждение видеоматериала о поствакцинальных осложнениях. Демонстрация и обсуждение введения гетерогенных сывороток и иммуноглобулинов. Решение ситуационных и проблемно-ситуационных задач. Работа с тестами.

Вопросы и задания для самоподготовки обучающихся к практическому занятию

1. Дайте определение понятия об иммунитете.
2. Назовите виды иммунитета.
3. Как формируется иммунный ответ?
4. Что лежит в основе гуморального иммунитета?
5. Что лежит в основе клеточного иммунитета?
6. Что такое антигены, дайте им характеристику?
7. Каковы понятия об антимикробном и антитоксическом иммунитете?
8. Каковы понятия об антителах?
9. Дайте характеристику пяти классам иммуноглобулинов?
10. Дайте определение вакцинам и анатоксинам. Назовите их виды.
11. Назовите способы получения вакцин, анатоксинов.
12. Дайте определение сывороток и иммуноглобулинов.
13. Каковы способы получения сывороток и иммуноглобулинов для экстренной профилактики и лечения?
14. Каковы показания для вакцинации?
15. Назовите действующий приказ по организации и проведению прививок.
16. От каких инфекционных заболеваний защищают всех здоровых людей по возрасту в соответствии с национальным календарем?
17. Что такое иммунизация активная и пассивная? Назовите известные вам микробиологические препараты.
18. Когда возникает и как долго держится иммунитет после активной и пассивной иммунизации?
19. Что такое аллергены, где их применяют?
20. Что такое бактериофаги, где их применяют.
21. Каковы дозы способы введения, места введения прививочных препаратов от туберкулеза, ВГВ, дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита, кори, краснухи, эпидемического паротита, гриппа, гемофильной инфекции?
22. Что такое «холодовая цепь»?
23. Назовите условия хранения прививочных препаратов.
24. Что такое поствакцинальная реакция?
25. Какие бывают поствакцинальные реакции? Какова тактика?

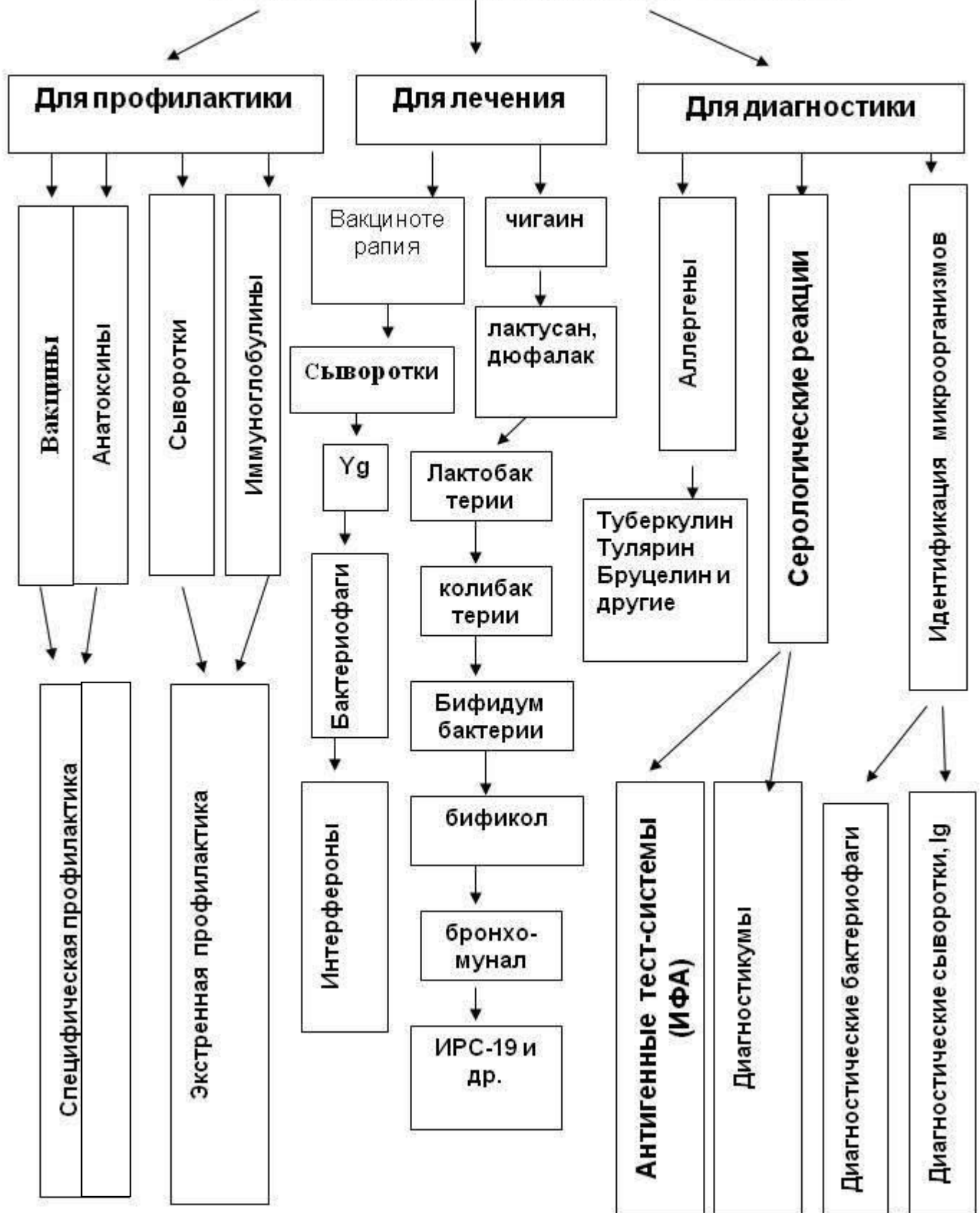
Задания на самоподготовку

Темы для самоподготовки	Источники, литература	Вопросы для самоконтроля
1. Виды иммунитета и иммунизации 2. Препараты для активной и пассивной иммунизации	1. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: практикум/ сост. Л.В.Любомирова, Г.С.Архипов. – Великий Новгород, 2008, стр. 122-123, 140. 2. Лекция по теме: «Применение иммунологических препаратов в медицине» 3. Алгоритм манипуляций, алгоритм № 14 - «Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии»: практикум/ сост. Л.В.Любомирова, Г.С.Архипов. – Великий Новгород, 2008. – 101-107, (перенести в «манипуляционную» тетрадь)	Какой иммунитет получает ребенок от матери через плаценту или с грудным молоком? Вакцины – это антигенные или антительные препараты? Сыворотки – это антигенные или антительные препараты? Когда возникает иммунитет после введения вакцин и анатоксинов? Как долго он держится? Что такое АКДС? БЦЖ-М, БЦЖ: доза, способ, место введения Какие препараты из обязательных вводятся в дозе 0,5 мл? Какие прививочные препараты из обязательных вводятся подкожно?
3 Иммунотерапевтические препараты	1) Мальцев, В. Н. Основы микробиологии и иммунологии : учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2020. — 319 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-11566-6. — Текст : электронный // ЭБС Юрайт [сайт]. — URL: https://www.biblio-online.ru/bcode/445639 2. Лекция по теме: «Применение иммунологических препаратов в медицине»	Где в прививочном кабинете хранят вакцины и анатоксины? Температура их хранения Какой препарат является самым термолабильным? Требования к его хранению Какие многодозные прививочные препараты после вскрытия хранению не подлежат? Какие будут действия? Как инактивируются препараты, неиспользованные и с истекшим сроком годности?
5. Серологические реакции	1 Мальцев, В. Н. Основы микробиологии и иммунологии : учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Издательство	До какого возраста туберкулин не вводится вообще? При каком условии вводят БЦЖ после 2-х месяцев жизни?

	Юрайт, 2020 2. Алгоритм манипуляции № 7, стр.88 – 94, практикум «Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии», 2008г.	Как будем вводить Jg человеческий? Как вводится противодифтерийная сыворотка больному?
6. Терминология	Глоссарий темы	Сыворотки и Jg чаще вводят для профилактики, лечения или для диагностики инфекционных заболеваний? При каких заболеваниях назначается лейкоцитарный интерферон, когда, как вводится? Бактериофаги – это иммунные препараты? Как спускается кровь из шприца? В пробирку через иглу, без иглы по краю пробирки или не касаясь пробирки? Сыворотка не должна быть хилёзной, проросшей, а кровь гемолизированной. Что это значит? Какие отличия серологических методов исследования от иммунологических? Что такое диагностикум? Что такое бактериофаги? Что такое вакцины?

ГРАФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ



Порядок выполнения работы

№ п/п	Этапы занятия	Способы выполнения
1	Определение цели, требования к ПК	1.В дневнике записать тему, цели занятия, умения и знания. 2.Прочитать теоретический материал.
2	Вводный контроль знаний	Ответить на тесты вводного контроля с последующим само- или взаимоконтролем и обсуждением
3	Обсуждение графологической структуры темы, определение плана самостоятельной работы	Перенести графструктуру темы в дневник
4	Знакомство с приказом № 1122н от 06.12.2021 г., с действующим национальным прививочным календарем.	В дневнике заполнить таблицу «Инфекционные заболевания и прививочные препараты» с учетом национального календаря.
5	Проведение бракеража микробиологических препаратов	1. Изучить правила проведения бракеража (см. перечень манипуляций, алгоритм № 8). 2. Провести бракераж любого прививочного препарата из набора и записать в дневник выявленные причины непригодности, составить акт на списание препарата.
6.	Работа с аннотациями к прививочным препаратам. Знакомство с вакцинами: БЦЖ; БЦЖ-М, пероральной полиомиелитной вакциной (ОПВ); инактивированной полиомиелитной вакциной (ИПВ), АКДС, АДС, АДС-М, АД-М; вакцина против кори; вакцина против эпидемиологического паротита; вакцина против краснухи; вакцина против вирусного гепатита В (энджерикс-В, эувакс-В, эбербиовак-НВ), превинар 7, превинар 13, гриппол и туберкулином	1. Изучить одиннадцать прививочных препаратов (в соответствии с национальным календарем), их название, цель применения, дозу, способ введения, место введения, схему введения (см. перечень манипуляций, алгоритм № 14). 2. Заполнить таблицу (см. прил. 2), взяв из набора один из одиннадцати прививочных препаратов, прочитать аннотацию, определить состав, внешний вид, физиологическую поствакцинальную реакцию, дозу, способ, место введения, схему введения.
7.	Работа в группе. Обсуждение хранения препаратов, понятия «холодовая цепь».	1.Бригада делится на 2 группы, каждая получает на бумаге имитацию холодильника и набор прививочных препаратов. 2. Разложить в «холодильнике» препараты по полкам с учетом всех требований 3.По выбору преподавателя дать полную характеристику 3-4 препаратам.
8	Знакомство сыворотками и иммуноглобулинами. Обсуждение способа введения гетерогенных препаратов подробно по Безредка.	1.Прочитать алгоритм манипуляционный № 12 2. Демонстрация преподавателем за манипуляционным столом введение гетерогенной сыворотки с обсуждением.
9	Решение ситуационных задач	По выбору решать не менее 2 ситуационных задач с последующим обсуждением и записью в дневник.

10	Анализ и оценка выполнения заданий	Ответить на контрольные вопросы темы. Контроль дневников Итоговая оценка выставляется на основании: -оценки за вводный контроль -оценка за активную работу в ходе экскурсии и обсуждения, составление вопросника -оценка за заполнение таблиц и решение ситуационных задач -оценка за соблюдение правил личной гигиены, ТБ и дисциплины
----	------------------------------------	--

Ситуационные задачи и задания

Ситуационные задачи и задания имеют три степени сложности

* - базовый уровень

** - средней степени сложности

*** - повышенной сложности

1. ** Для лечения лептоспироза используют воловой лептоспирозный иммуноглобулин.
Когда вводится от начала заболевания? Как вводится, покажите на фантоме.
2. ** В стационар поступает пациентка с жалобами на резкое ухудшение зрения, двоение в глазах; зрачок широкий, левосторонний частичный птоз (опущение века), жидкая пища выливается из носа, затруднено глотание, дыхание. Два дня назад ела консервированные грибы, купленные на базаре. Диагноз: ботулизм.
Какова первая помощь в стационаре? Выполнить на фантоме.
3. ** У пациента дисбактериоз. Какие препараты можно назначить:
 - для ребёнка грудного возраста;
 - для взрослого человека?
4. * У ребенка аденовирусный конъюнктивит. Глаза инъецированы, слезятся, гнойное отделяемое. Какие бактериологические препараты можно назначить?
5. * В инфекционное отделение поступает пациент с диагнозом дифтерия.
Когда вводить противодифтерийную сыворотку от начала заболевания? Показать способы её введения.
6. * Показания для назначения бактериофагов.
7. * С какой целью вводятся иммуноглобулины? Как получают эти препараты? Как вводятся?
8. * Пациент с кишечной инфекцией получал антибиотики широкого спектра действия через рот. Какие осложнения могут развиваться и какие лечебные препараты нужно назначить?
10. ** Какую сыворотку лаборатория не возьмет на серологическое исследование? Указать причины непригодности.

11. ** У пациентки с подозрением на брюшной тиф кровь на РНГА забрана 10.01. Больна с 08.01. Оценить правильность назначения.
12. *** Доярке введён бруцелин. Реакция положительная.
С какой целью сделано введение бруцелина? Способ, место введения. Действия фельдшера.
13. ** Пациенту назначен забор крови на серологическое исследование.
Соберите необходимое оснащение. Подготовьте пациента и медика для забора.
14. * Объясните, почему кровь на серологические исследования (метод парных сывороток) забирается у пациента 2 раза и почему первый раз – с 5–7 дня от начала заболевания.
15. * Почему кровь на серологические исследования спускается осторожно по краю пробирки без иглы?
16. *** Пациентка 15-ти лет. Заболела 01.03. Поступила 06.03 в инфекционный стационар с лихорадкой неясной этиологии. Температура 39–38 °С в течение 5 дней; явления интоксикации; никаких других изменений в состоянии пациента не выявлено.
Назначьте план обследования. Соберите все необходимое для забора на гемокультуру. Подготовьте пациента и медика для забора.
17. ** Кровь на серологию забрали у пациента после завтрака в чистую, влажную пробирку. Забранная кровь поставлена на окно в процедурном кабинете, доставлена в лабораторию через 8 часов. Оцените работу медсестры.
18. *** После введения паротитной вакцины у ребёнка на 12-й день поднимается температура выше 37,9°, слабость, недомогание. Диагноз, действия фельдшера.
19. *** Ребёнку 3 месяца, здоров. Сделайте прививки, соответствующие возрасту.
Соберите всё необходимое для введения препаратов. Сделайте прививки нафантоме.
20. *** Ребёнку трех лет сделана реакция Манту. Результат: инфильтрат – 19 мм.
Действия фельдшера. С какой целью была сделана реакция? Способ, место введения? Выполните нафантоме.
21. *** У ребёнка ОРВИ, первый день заболевания, нос заложен.
Какие микробиологические препараты можете назначить? Куда их и как вводить? Покажите нафантоме.
22. ** В детском саду случай бактериальной дизентерии.
Какие микробиологические препараты назначите контактным в группе?
23. *** После прививки от кори у ребёнка на 15-й день поднимается температура до 38,7°, на коже ног пятнисто-папулёзная сыпь; слабость, недомогание, конъюнктивит; плохо спит.
Поставьте диагноз. Действия фельдшера.
24. * Летом фельдшер ФАПА транспортирует из ЦРБ на участок вакцину против кори.
Что нужно сделать, чтобы не инактивировать прививочный препарат?
25. *** У ребёнка был медицинский отвод от прививок на 6 месяцев. Медицинский отвод снят.
Сделайте ему БЦЖ нафантоме.

26. ** Ребёнок прививался против кори по возрасту. Возраст ребенка 6 лет, в семье корью заболел отец. Решить вопрос, нужно ли прививать ребёнка против кори.

27. *** Ребёнку семи лет сделана реакция Манту. Результат – папула 12 мм.
Действия фельдшера. С какой целью сделана реакция Манту? Способ, место введения, доза. Сделайте нафантоме.

28. ** Наблюдается неблагополучная эпидемиологическая ситуация по дифтерии.
Каким препаратом будете прививать взрослых? Соберите все необходимое для прививки. Сделайте прививку нафантоме.

29. ** Какие прививочные препараты, куда и как вводятся детям в дозе 0,1 мл, 0,5 мл, 1,0 мл?

30. ** Введите нафантоме вакцину против эпидемического паротита.

31. *** Ребёнок родился крупным, на 1 месяц дан медицинский отвод от всех прививок. Через месяц отвод снят. Как будете делать БЦЖ? Соберите всё необходимое для этого. Сделайте прививку нафантоме.

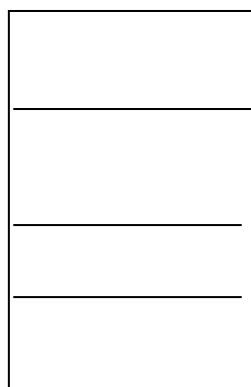
32. ** Назвать, какие прививочные препараты из обязательных по Приказу № 1122н от 06.12.2021 года. вводим:

- внутрикожно
- подкожно
- внутримышечно

33. *** Медицинская сестра прививочного кабинета детской поликлиники сделала ребёнку в 12 месяцев прививку против кори. Какой препарат, как и куда вводится? Проведите его бракераж. Что медицинская сестра должна сказать родителям по поводу поствакцинальных реакций? Действия в отношении ребёнка в случае поствакцинального осложнения.

34. *** Расскажите, как вы разложите нижеприведенные прививочные препараты в холодильнике. БЦЖ, полиомиелитная вакцина, коревая вакцина, эпидпаротитная вакцина, краснушная вакцина, АКДС, АДС-М, эувакс-В, энджерикс-В, эбербиовак-НВ. Что необходимо иметь для контроля холодовой цепи?

Холодильник



морозильная камера



1 полка



2 полка



Проверьте себя!
Тестовые задания

Выбрать правильный ответ:

I. Выбрать номер правильного ответа:

1. Для проведения серологических исследований нужны

- а) кровь больного и диагностикум;
- б) кровь больного и диагностическая сыворотка;
- в) материал от больного и питательная среда.

2. В материале пациента при серологических исследованиях определяют

- а) общее количество лейкоцитов;
- б) иммуноглобулины;
- в) антигены.

3. При идентификации микроорганизма для определения серовара нужно

- а) культура микроорганизма и диагностическая сыворотка;
- б) кровь больного и диагностикум;
- в) питательная среда и материал от больного.

4. Для искусственной активной иммунизации используют

- а) вакцины, анатоксины;
- б) сыворотки;
- в) иммуноглобулины.

5. Иммуитет после введения вакцин и анатоксинов формируется

- а) через 7 дней;
- б) через 2–3 недели;
- в) через месяц.

6. Искусственный активный иммунитет держится

- а) месяц;
- б) годами;
- в) пожизненно.

7. Вакцинация против полиомиелита проводится

- а) в/м;
- б) п/к;
- в) через рот на корень языка, в/м;
- г) через рот на корень языка

8. При введении АКДС-М создается иммунитет против

- а) коклюша, дифтерии, столбняка;
- б) столбняка, дизентерии, менингококковой инфекции
- в) кори, дифтерита, столбняка.

9. На приеме ребенок 3-х месяцев. При осмотре перед прививкой температура 37,2°.

Жалоб нет. Объективный осмотр ничего не выявил.

Действия в отношении вакцинации

- а) можно прививать;

- б) не прививать, наблюдать за ребенком;
- в) отправить на консультацию к иммунологу.

10. После введения АКДС у ребенка на другой день температура 37,5°, недомогание, в месте введения – гиперемия 2 см, паховые лимфатические узлы не пальпируются. Оценить поствакцинальную реакцию

- а) слабая, не требует лечения;
- б) пороговая реакция, необходимо лечение, консультация педиатра и иммунолога;
- в) общая реакция слабая, местная сильная.

11. Больной 57 лет. После лечения антибиотиками широкого спектра действия нужно назначить

- а) бификол;
- б) бактериофаг;
- в) интерферон.

12. Гомогенные сыворотки, гамма-глобулины вводятся

- а) в/м или в/в по Безредка;
- б) в/м или в/в сразу;
- в) п/к.

13. Вакцины и анатоксины – это

- а) антигены;
- б) антитела;
- в) лейкоциты.

II. Установить соответствие:

Специфическая профилактика

Прививочные препараты	Дозы и способы введения
1) БЦЖ	а) 0,5 в/м или 1,0 в/м
2) АКДС	б) 0,5 п/к
3) Эувакс-В	в) 0,1 в/к
4) Коревая вакцина	г) 0,5 в/м
	д) 1,0 мл п/к

Ответ: 1____, 2____, 3____, 4____.

Ответы

I. 1. а); 2. б); 3. а); 4. а); 5. б); 6. б); 7. в); 8. а); 9. б); 10. а); 11. а); 12. б); 13. а).

II. 1в, 2г, 3а, 4б.

Глоссарий темы

Анатоксины – это антигенные прививочные препараты, полученные из токсинов микроорганизмов, которые после специальной обработки утратили свои токсические свойства, но сохранили антигенные, поэтому после их введения интоксикация не возникает, а иммунитет формируется.

Бактериофаги – это вирусы бактерий. Специфичны. Механизм их действия – лизис бактериальной клетки.

Вакцинация – это метод создания активного иммунитета путем введения вакцинальных препаратов.

Вакцины – это антигенные прививочные препараты, полученные из микроорганизмов, которые после специальной обработки утратили свои вирулентные свойства, но сохранили антигенные, поэтому после их введения заболевания не возникает, а иммунитет формируется.

Гуморальный – относящийся к жидким средам.

Диагностикум – это диагностический антигенный препарат, взвесь известных антигенов, микроорганизмов или антигенная вытяжка из микроорганизмов. Используются в серологических реакциях для поиска в сыворотке крови больного неизвестных антител.

Диагностический титр – это константа, титр, говорящий о том, что у больного имеет место специфический инфекционный процесс, т.е. пациент болен.

Иммунизация – создание искусственного иммунитета: активного – при введении вакцин и анатоксинов; пассивного – при введении сывороток и иммуноглобулинов.

Иммуноглобулины – это антительные препараты, гамма-глобулины – белки сыворотки крови.

Интерферон – низкомолекулярный видоспецифический белок, синтезируемый в организме и культурах клеток, подавляющий репродукцию вирусов.

Рекомбинантные вакцины – это вакцины, полученные с помощью генной инженерии.

Сыворотки – это антительные препараты, которые получили из крови гипериммунизированных животных или людей.

Титр сыворотки больного – это то максимальное разведение сыворотки, где она еще положительная, т.е. $\begin{array}{|c|c|c|c|} \hline + & + & + & + \\ \hline \end{array}$ или $\begin{array}{|c|c|c|c|} \hline + & + & + & + \\ \hline \end{array}$

Литература:

1. Мальцев В. Н. Основы микробиологии и иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 319 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-11566-6. — Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/475968> (дата обращения 31.08.2021).
2. Любомирова Л.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: практикум. 2 -е изд., переработанное и доп; НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Великий Новгород, 2008. - 146с.

7.2 Практическое занятие № 2(4 часа)

Раздел 2. Бактериология

Тема 2.1 Классификация бактерий. Морфология и физиология бактерий, методы её изучения

Тема практического занятия

«МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ»

Изучение морфологии бактерий Приготовление препаратов из разного нативного материала и культуры микроорганизмов, окраска простым и сложными методами, микроскопия в иммерсии, описание препарата. Правила техники безопасности при проведении микроскопических исследований. Культивирование бактерий, изучение культуральных свойств. Определение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам.

Цель занятия: овладеть техникой приготовления микропрепаратов для микроскопии, выработать навыки проведения иммерсионной микроскопии и методами посева на питательные среды и определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

Студент должен уметь:

- приготовить мазки из нативного материала и культуры микроорганизмов;
- окрасить мазки по Граму;
- провести иммерсионную микроскопию;
- определить основные формы микроорганизмов путем микроскопии и оценить их тинкториальные свойства, определить наличие чистой культуры микроорганизмов.
- проводить посев на жидкие и плотные питательные среды с помощью бактериальной петли, тампона, шпателя;

Студент должен знать:

- методы лабораторной диагностики инфекционного больного;
- технику безопасности и правила работы бактериологической лаборатории; технику безопасности и правила поведения на практических занятиях по микробиологии;
- микроскопический метод исследования;
- виды микроскопии;
- устройство светового микроскопа; особенности проведения иммерсионной микроскопии;
- микроскопическую характеристику микроорганизмов; морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов;
- метод окраски по Граму;
- основные диагностические методы для протозойных заболеваний, микозов, бактериальных и вирусных инфекций, риккетсиозов;
- краткую характеристику основных групп микроорганизмов, вызывающих заболевания человека.
- этапы микробиологического исследования микроорганизмов;
- свойства микроорганизмов, изучаемые в ходе идентификации;
- основные методы посева;
- требования к питательным средам, их состав; классификацию питательных сред;
- идентификацию микроорганизмов;
- антибиотики, механизм их действия, побочные действия; определение чувствительности к антибиотикам

Оснащение:

Микроскопы, бактериологические петли, спиртовки, чистые предметные стекла, лотки с саночками для окраски препаратов, раствор генцианвиолета, раствор Люголя, 96%-ный этанол, 0,1%-ный раствор фуксина или раствор Пфейфера, наборы пипеток с реактивами, микропрепараты для микроскопии с грамположительных и грамотрицательных бактериями и чашки Петри с исследуемым материалом, иммерсионное масло для микроскопии. набор оснащения «Стол бактериолога» (штативы с пробирками и мазками, стакан с бактериальной петлей и шпателем, пинцетом, спиртовка, чашки Петри, спиртовка, чашки Петри, набор питательных сред для отработки методов посева), чашки Петри с посевом материала и индикаторными дисками для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, набор ситуационных задач, тестовых заданий, манипуляционные алгоритмы № 5,6.

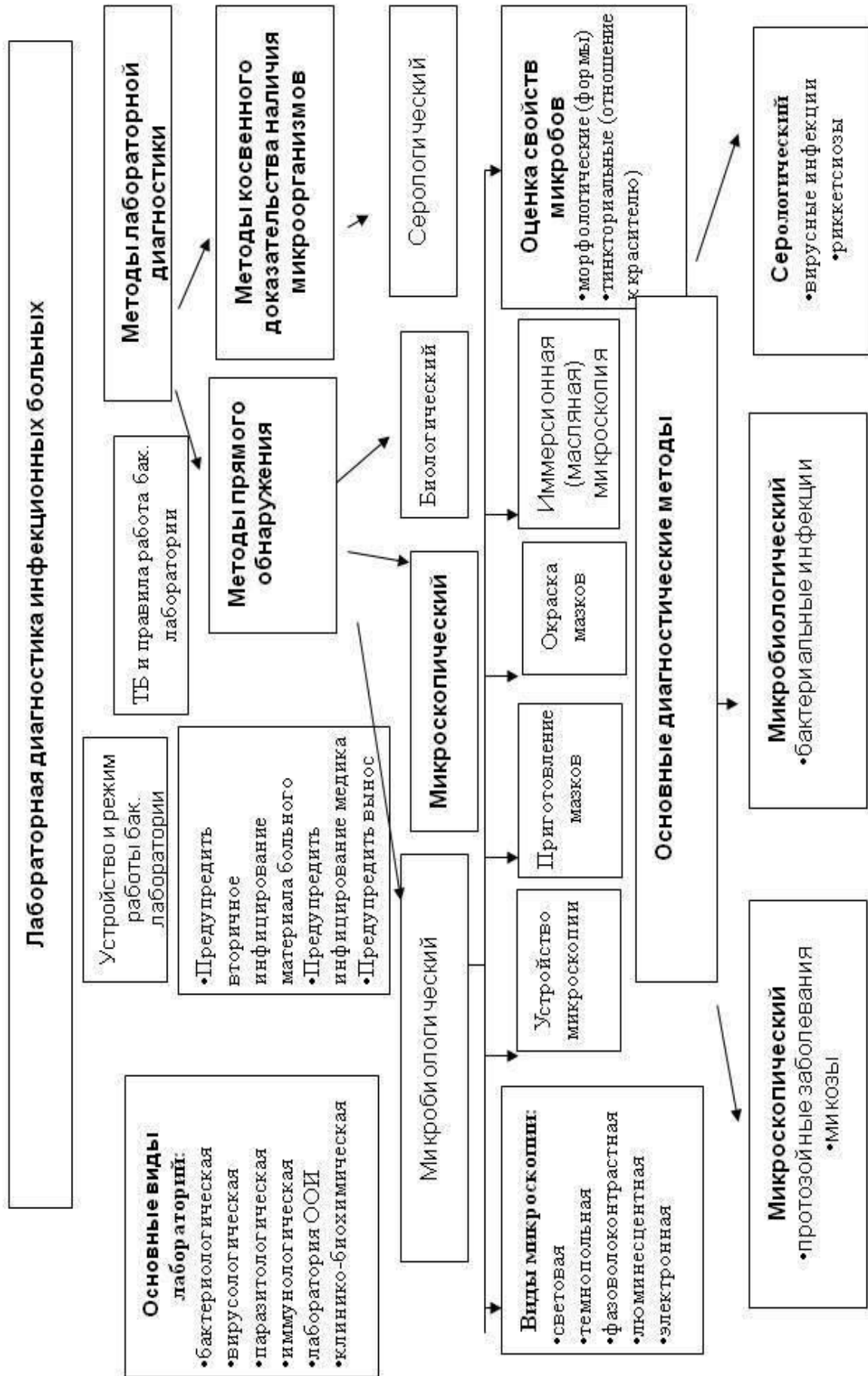
Краткое содержание темы:

Знакомство с техникой приготовления мазка из культуры, выросшей на плотной питательной среде и с техникой окраски мазков по Граму. Приготовление мазков и их окраска по Граму. Знакомство с техникой иммерсионной микроскопии. Проведение иммерсионной микроскопии. Культивирование микроорганизмов. Определение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам. Оработка манипуляции, фиксация в дневнике. Работа с тестами.

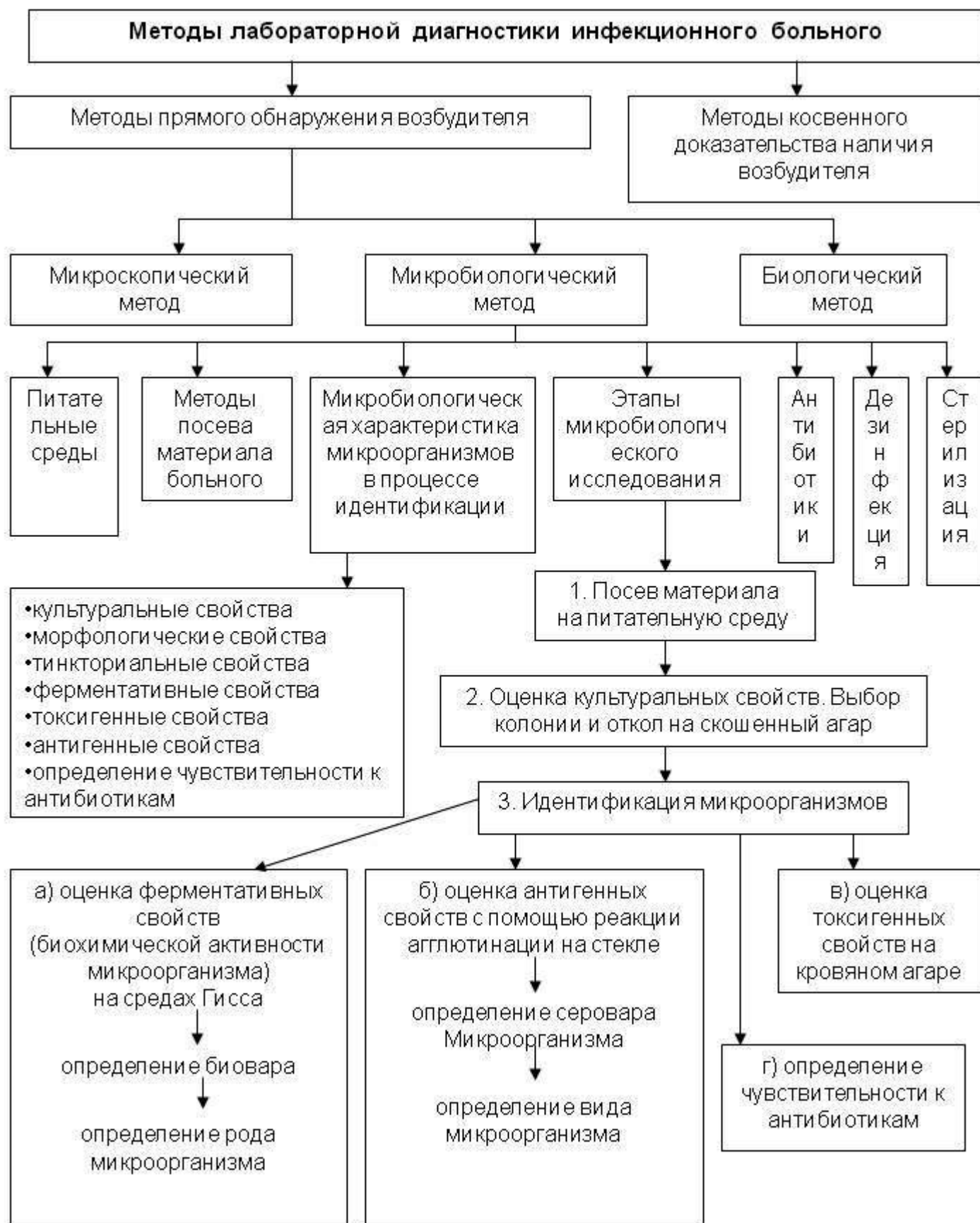
Вопросы и задания для самоподготовки обучающихся к практическому занятию

1. Микробиологические методы лабораторной диагностики инфекционного больного.
2. Методы прямого обнаружения возбудителя.
3. Методы косвенного доказательства наличия микроорганизмов.
4. Микроскопический метод исследования материалов больного.
5. Микробиологический метод исследования.
6. Серологические исследования. Какой материал берут у больного, когда, сколько раз. Что исследуют в материале больного?
7. Биологический метод.
8. Основные группы микроорганизмов, способных вызвать инфекционные заболевания человека.
9. Группы микроорганизмов – эукариоты, прокариоты и микроорганизмы, имеющие внеклеточную структуру.
10. Классификация бактерий по морфологии, типу питания, дыхания. Размножение бактерий.
11. Строение бактериальной клетки. Антагонизмы микроорганизмов (выделение антибиотиков, токсинов, ферментов).
12. Краткая характеристика бактерий. Бактериальные инфекции.
13. Правила работы в микробиологической лаборатории.
14. Виды микроскопии. Устройство светового микроскопа.
15. Каков состав питательных сред?
16. Перечислите требования к питательным средам.
17. Назовите классификацию питательных сред по консистенции, составу, назначению.
18. Как проводят стерилизацию сред?
19. Каковы основные этапы микробиологического исследования?
20. Что такое колония, штамм, чистая культура микроорганизма?
21. Что такое идентификация выделенной культуры микроорганизмов?
22. Что такое морфологические свойства, их оценка?
23. Что такое тинкториальные свойства микроорганизма, их оценка?
24. Что такое ферментативные свойства и их оценка?
25. Что такое биовар?
26. Что такое антигенные свойства микроорганизмов и их оценка?
27. Что такое серовар?
28. Назовите факторы, губительно действующие на микроорганизмы.
29. Что такое дезинфекция, ее методы, способы, средства?
30. Дайте определение стерилизации, каковы ее методы, способы, средства?
31. Что такое антибиотики? Механизм их действия.
32. Что такое бактериофаги? Применение их в медицине.

Графологическая структура



Графологическая структура



Порядок выполнения работы

№ п/п	Этапы занятия	Способы выполнения
1.	Определение цели, требования к ПК	1.В дневнике записать тему, цели занятия, умения и знания.
2.	Вводный контроль знаний	Ответить на тесты вводного контроля с последующим само- или взаимоконтролем и обсуждением
3.	Обсуждение графологической структуры темы, основных методов лабораторной диагностики инфекционных заболеваний и плана самостоятельной работы по теме.	1.Ознакомиться с графструктурами темы, которые касаются микроскопического и микробиологического методов исследования. 2. Ознакомиться с манипуляционными алгоритмами № 1,2,3,4(см. приложение 7)
4.	Знакомство с техникой приготовления мазков из культуры, выросшей на плотной питательной среде (см. алгоритм № 1, приложении 7).	Приготовить 1 мазок культур, выросших на разных чашках Петри. Оставить мазки сохнуть при комнатной температуре.
5.	Знакомство с техникой окраски мазков по Граму (см. алгоритм № 2, приложение 7)	1.Высохшие при комнатной температуре мазки необходимо зафиксировать под пламенем спиртовки и положить на саночки над лотком для окрашивания. 2.Окрасить 2 мазка по методу Грама.
6.	Знакомство с техникой проведения иммерсионной микроскопии и характеристикой микроорганизмов путем иммерсионной микроскопии микропрепаратов.	1.Приготовить микроскоп для иммерсионной микроскопии. 2.Приготовить микропрепарат для иммерсионной микроскопии. 3.Провести иммерсионную микроскопию 3 мазков. 4.Оценить наличие чистой культуры, морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов. 5.Увиденное фиксируем в дневнике после обсуждения с преподавателем.
7	Обсуждение состава питательных сред, требований к питательным средам и классификации питательных сред. Ознакомиться с основными питательными средами.	Демонстрация основных питательных сред
8	Обсуждение этапов микробиологического исследования	В дневнике составить алгоритм проведения исследования по дням в виде схем-рисунков
9	В дневнике составить алгоритм проведения исследования по дням в виде схем-рисунков	1.Прочитать алгоритм манипуляции № 5(см. Перечень манипуляции – приложение) 2. Отработать методы посева совместно с преподавателем 3.Работа малыми группами по 2 человека, отработать зачетные манипуляции в парах, оценить, выставить оценки.
	Проведение оценки чувствительности микроорганизма к антибиотикам	1. Работа малыми группами по 2 человека. Провести учет чувствительности к антибиотикам (измерение задержки роста микроорганизма вокруг индикаторных дисков).

		2.Определить перечень антибиотиков для лечения больного (см. перечень манипуляций, алгоритм № 6). 3.В дневнике зарисовать чашку Петри с индикаторными дисками, зонами задержки роста; дать заключение по чувствительности культуры к антибиотикам.
7.	Работа с тестовыми заданиями	Выполнить тестовые задания с последующим обсуждением и записью в дневник.
8.	Анализ и оценка выполнения заданий	Ответить на контрольные вопросы темы. Контроль дневников Итоговая оценка выставляется на основании: -оценки за вводный контроль -оценка за выполнение манипуляций -оценка за выполнение тестовых заданий -оценка за соблюдение правил личной гигиены, ТБ и дисциплины

NB! Основные положения темы

Микроскопический метод – это основной диагностический метод для протозойных заболеваний и микоза.

Микробиологический метод – это основной диагностический метод для бактериальных инфекций.

Серологический и иммунологический методы – это основные диагностические методы для вирусных инфекций и риккетсиозов.

Микроскопический метод оценивает:

- 1) морфологические свойства микроорганизмов;
- 2) тинкториальные свойства микроорганизмов;
- 3) наличие чистой культуры микроорганизмов.

С помощью иммерсионной микроскопии можно рассмотреть простейшие, патогенные грибы и бактерии, но диагноз с помощью микроскопии можно поставить только при протозойных заболеваниях и микозах.

Для иммерсионной микроскопии нужен микроскоп и микропрепарат.

Основной краситель по Граму – генциан виолет (фиолетовый).

Грамположительные микроорганизмы окрашиваются в синий цвет, грамотрицательные микроорганизмы – в красный.

NB! Основные положения темы

Микробиологический метод – это основной диагностический метод для бактериальных инфекций.

Посев крови на стерильность проводится на сахарный бульон у больных с диагнозом – лихорадка неясной этиологии.

Посев крови на гемокультуру (на тифопаратифозную группу микроорганизма) проводится на желчный бульон у больных с диагнозом – лихорадка неясной этиологии.

Посев мазков на менингококк из носоглотки проводится на сывороточный агар сразу после забора у постели больного.

Посев мазков на BL (дифтерийную палочку) проводится на кровяной агар с тейлуридом калия

Вне работы лаборатории забор кала на посев на кишечную группу проводится в кишечный буфер.

Вне работы лаборатории забор кала на посев на иерсиниозную группу проводится в иерсиниозный буфер.

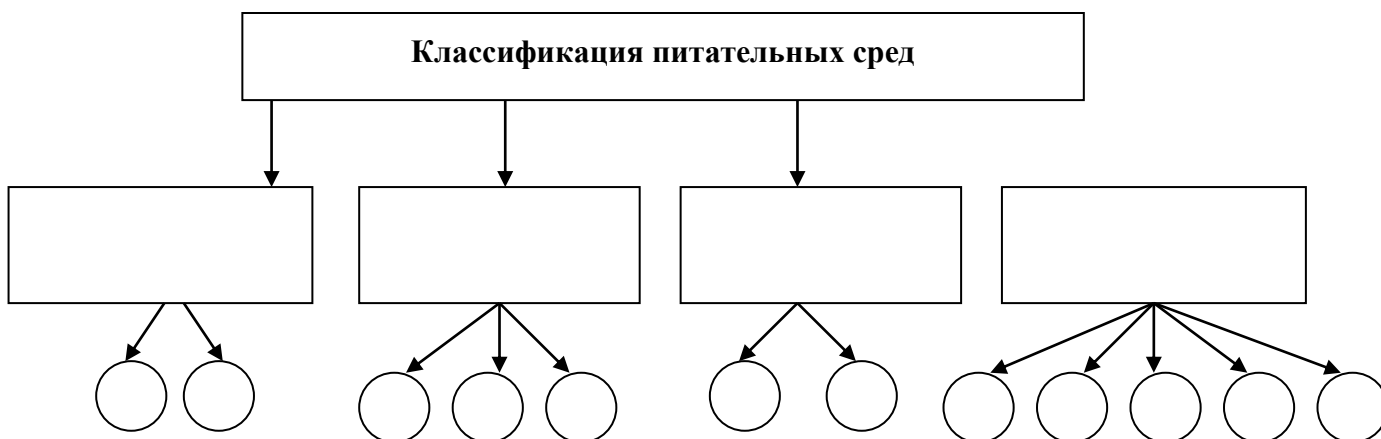
Вне работы лаборатории забранный от больного материал – кровь на посев, мазки на менингококк, мазки на BL – хранятся в стационаре в термостате до 12 часов после забора.

Вне работы лаборатории кал на посев хранится в стационаре в холодильнике (+4 °C до 12 часов).

Кровь на серологические исследования хранится при комнатной температуре не более 2–3 часов, в холодильнике (+4 °C) – до 12 часов, сыворотка крови – в холодильнике до 6–7 суток.

Ситуационные задачи и задания

1. Заполнить «немую» графологическую структуру «Классификация питательных сред»

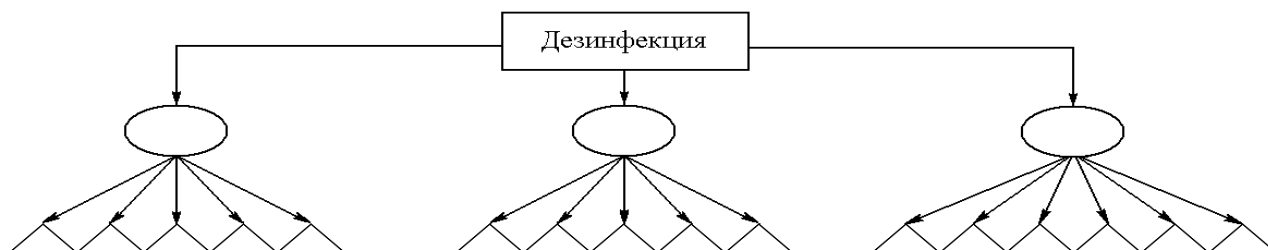


2. Что такое питательные среды, дайте определение.

3. Каков состав питательных сред? Что такое органогены?

4. Перечислите основные требования к питательным средам.

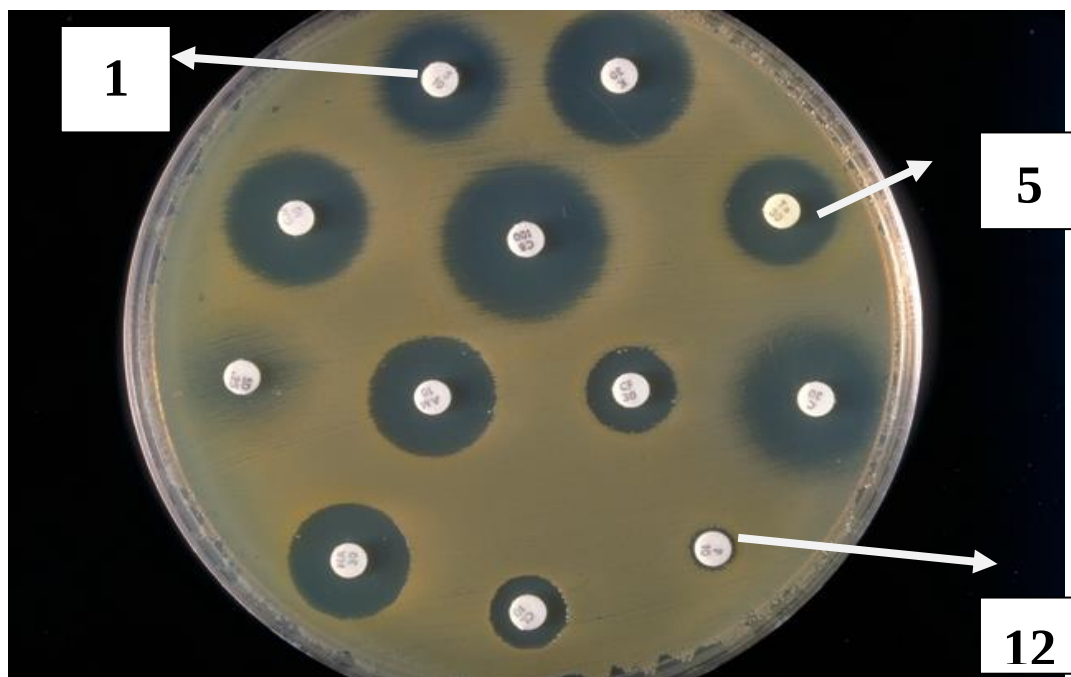
5. Заполнить «немую» графологическую структуру «Способы и средства дезинфекции»



6. Какие свойства микроорганизмов можно оценить с помощью микробиологического метода?

7. Как проводится оценка токсигенных свойств микроорганизмов?

8. Оцените чувствительность к антибиотикам. Определите чем лечить пациента?



Зоны отсутствия роста

1 диск – 15мм, 2диск – 19мм, 3диск – 18мм, 4диск – 22мм, 5диск – 13мм, 6диск -0мм,
7диск -16мм, 8диск – 10мм, 9диск – 17мм, 10диск – 15мм, 11диск – 8мм, 12диск 0мм.

до 12 часов, сыворотка крови – в холодильнике до 6–7 суток.

Проверьте себя! Тестовые задания №1

I. Дополнить:

1. Основной метод диагностики шигеллёза – это _____.
2. Основной метод лабораторной диагностики дифтерии это _____.
3. Для микроскопического метода исследования нужны _____ и _____.

II. Выбрать номер правильного ответа

1. С помощью световой микроскопии можно изучить свойства микроорганизмов

- а) культуральные;
- б) тинкториальные;
- в) морфологические;
- г) антигенные.

2. Основной метод лабораторной диагностики малярии

- а) микробиологический;
- б) микроскопический;
- в) иммунологический;
- г) серологический.

3. С помощью иммерсионной микроскопии можно увидеть

- а) простейшие;
- б) патогенные грибы;
- в) риккетсии;

- г) вирусы;
- д) бактерии;
- е) спирохеты.

4. С помощью иммерсионной микроскопии можно поставить диагноз при

- а) бактериозах;
- б) вирусных инфекциях;
- в) протозойных заболеваниях;
- г) микозах;
- д) риккетсиозах.

5. Основной краситель по Граму

- а) фуксин;
- б) люголь
- в) генциан фиолетовый.

6. Стафилококк при иммерсионной микроскопии может быть в виде

- а) цепочки кокков синего цвета;
- б) виноградной грозди красного цвета;
- в) виноградной грозди синего цвета.

7. Клостридии – это

- а) палочки спорообразующие;
- б) палочки, спорообразующие строгие аэробы;
- в) палочки, спорообразующие строгие анаэробы.

8. Грамположительные микроорганизмы имеют окраску

- а) синюю;
- б) красную;
- в) чёрную.

9. Энтеробактерии – это

- а) грам+;
- б) грам–.

10. Стафилококки – это

- а) грам+;
- б) грам–.

Ответы к тесту

- I. 1. Микробиологический. 2. Микробиологический. 3. Микроскоп и микропрепарат.
II. 1. б), в); 2. б); 3. а), б), д); 4. в), г); 5. в); 6. в); 7. в); 8. а); 9. б); 10. а).

Тестовые задания №2

I. *Выбрать номер правильного ответа:*

1. Микробиологический метод исследования является основным диагностическим для:
- а) вирусных инфекций;
 - б) бактериальных инфекций;
 - в) риккетсиозов;

г) протозойных заболеваний.

2. Идентификация – это определение:

- а) рода, вида, чувствительности микроорганизма к антибиотикам;
- б) выделение чистой культуры микроорганизма;
- в) посев материала больного на питательные среды.

3. Культуральные свойства микроорганизмов на плотной питательной среде – это:

- а) способность окрашиваться;
- б) характеристика колоний;
- в) формы микроорганизмов.

4. Оценка антигенных свойств определяет:

- а) род;
- б) вид;
- в) чувствительность к антибиотикам.

5. Кровь на посев берется:

- а) из пальца – 5 мл;
- б) из вены – 5 мл;
- в) из вены 1:10 (кровь: бульон);
- г) мазок крови из пальца на предметном стекле.

6. Забор кала на посев в стационаре производится:

- а) только из горшка;
- б) только из горшка (слизь, гной обязательно);
- в) только из горшка (слизь, гной, кровь обязательно);
- г) из прямой кишки стеклянной палочкой;
- д) из прямой кишки деревянной палочкой.

II. Установить соответствие:

1. Микробиологическое исследование

Материал пациента

- 1) кровь на посев
- 2) кал
- 3) мазок на BL
- 4) мазок на менингококк

Подготовка больного

- а) сразу при поступлении до специфической терапии
- б) на подъеме температуры с ознобом
- в) натошак

Ответ: 1____; 2____; 3____; 4____.

2. Микробиологическое исследование

Метод исследования

- 1) кровь на гемокультуру
- 2) кровь на стерильность
- 3) мазок на BL
- 4) мазок на менингококк

Питательная среда

- а) среда Эндо
- б) желчный бульон
- в) сахарный бульон
- г) сывороточный агар
- д) кровяной агар с тейлурином калия

Ответ: 1 ____; 2 ____; 3 ____; 4 ____.

3. Лабораторное исследование

Метод исследования крови

- 1) на посев
- 2) на серологические исследования
- 3) на иммунологические исследования
- 4) мазок на предметном стекле

Поиск

- а) антител
- б) возбудителя
- в) токсина микроба

Ответ: 1 ____; 2 ____; 3 ____; 4 ____.

4. Особенности спуска из шприца

Метод исследования

- 1) микробиологический (на посев)
- 2) серологический
- 3) иммунологический

Кровь спускают из шприца

- а) по краю пробирки без иглы
- б) по краю пробирки через иглу
- в) не касаясь края флакона без иглы над спиртовкой
- г) по краю флакона через иглу

Ответ: 1. ____; 2. ____; 3. ____.

5. Особенности транспортировки материала больного

Материал от инфекционного больного

- 1) кровь на посев
- 2) кровь на серологические исследования
- 3) кровь на иммунологические исследования

Транспортировка в лабораторию

- а) на грелке (+37°)
- б) в контейнере на грелке (+37°)
- в) в контейнере

Ответ: 1. ____; 2. ____; 3. ____.

6. Количество забираемой крови

Вид исследования

- 1) кровь на посев
- 2) кровь на серологические исследования
- 3) кал на посев

Количество материала

- а) 2–3 мг
- б) 5 мл
- в) 10 мл
- г) 1:10 (кровь: бульон)

Ответ: 1. ____; 2. ____; 3. ____.

7. Особенности хранения материала больного

Вид исследования

- 1) кровь на посев
- 2) кровь на серологию
- 3) мазок на ВЛ
- 4) мазок на менингококк
- 5) кал на посев

Условия хранения в стационаре (вне работы лаборатории)

- а) в холодильнике +4° – до 12 часов
- б) в термостате +37° – до 12 часов
- в) на кровяной агар с тейлуритом калия + мазки в полужидком агаре
- г) на сывороточном агаре + мазок в

полужидком агаре
д) кровь при комнатной температуре – 2–3 часа; кровь при температуре +4° (холодильник) – до 12 ч; сыворотка +4° – до 6–7 суток

Ответ: 1. _____; 2. _____; 3. _____; 4. _____; 5. _____.

Ответы к тесту

I. 1. б); 2. а); 3. б); 4. б); 5. в); 6. б).

II. 1. 1б, 2а, 3а, 4а; 2. 1б, 2в, 3д, 4г; 3. 1б, 2а, 3а, б, 4б; 4. 1в, 2а, 3а; 5. 1б, 2в, 3в; 6. 1г, 2б, 3а; 7. 1б, 2д, 3в, 4г, 5а.

Глоссарий темы

Биологический метод – введение материала больного лабораторным животным для определения вирулентности и токсигенности микроорганизмов.

Грамотрицательный микроорганизм – микроорганизм, окрашенный фуксином в красный цвет.

Грамположительный микроорганизм – микроорганизм, окрашенный генциан виолетом в синий цвет.

Генциан виолет – основной краситель по Граму.

Иммерсионная микроскопия – это масляная микроскопия, объектив микроскопа (МИ-90) работает в капле иммерсионного масла.

Иммерсионное масло – масло, полученное из хвойных деревьев; лучшим является кедровое масло, плотность которого близка к плотности стекла.

Микозы – это заболевания, вызываемые патогенными грибами.

Микробиологический метод – обнаружение микроорганизмов в ходе идентификации, т.е. определение рода, вида и чувствительности к антибиотикам.

Микропрепараты для микроскопии – это окрашенный мазок материала пациента на предметном стекле.

Микроскопический метод – обнаружение микроорганизмов с помощью микроскопа.

Морфологические свойства микроорганизмов – это определенная форма микроорганизмов.

Протозойные заболевания – это заболевания, вызываемые простейшими микроорганизмами.

Серологический метод – обнаружение антител (специфических белков – иммуноглобулинов), которые синтезируются иммунной системой в ответ на попадание в организм антигенов (микробов и их токсинов).

Тинкториальные свойства микроорганизмов – способность микроорганизмов окрашиваться определенными красителями.

Агглютинация – склеивание.

Антибиотики – биологически активные вещества, выделяемые микроорганизмами, высшими растениями, животными, или синтетически полученные, способные избирательно подавлять рост и вызывать гибель микроорганизмов и раковых клеток.

Антигены микроорганизма – это антигены, находящиеся в микробной клетке. Н (жгутиковый) – термолабильный антиген, связанный со жгутиками. К (капсульный) – связан с капсулой и оболочкой микробной клетки. О (соматический) – антиген липополисахаридного слоя в клеточной стенке микробной клетки. Vi (поверхностный) – полисахаридный антиген некоторых грамотрицательных микроорганизмов.

Бактериостатическое действие антибиотиков – действие, замедляющее размножение микроорганизмов.

Бактерицидное действие антибиотиков – действие, вызывающее гибель микроорганизмов.

Биовар – биохимический вариант микроорганизмов определяется при оценке их ферментативных свойств на среде Гиса, указывает на род микроорганизма.

Гемолиз – разрушение эритроцитов.

Дезинфекция – частичное уничтожение микроорганизмов, после чего могут оставаться их споровые формы и некоторые вирусы.

Дисбактериоз – количественные и качественные нарушения нормальной микрофлоры в организме.

Идентификация – определение рода микроорганизмов, вида, чувствительности к антибиотикам.

Колония микроорганизмов – это группа микроорганизмов, выросшая на плотной питательной среде из одной микробной клетки.

Нормальная микрофлора человека – это совокупность микробных видов, характерных для определенных органов и полостей организма, сложившаяся в процессе эволюции человека.

Серовар – серологический вариант микроорганизмов, определяется при оценке антигенных свойств с помощью реакции агглютинации на стекле, указывает на вид микроба.

Стерилизация – полное уничтожение микроорганизмов.

Чистая культура микроорганизмов – это культура, содержащая микроорганизмы одного вида.

Штамм – чистая культура микроорганизмов, выделенная из определенного источника микроорганизмов в определенное время.

Литература:

1. Мальцев В. Н. Основы микробиологии и иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 319 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-11566-6. — Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/475968> (дата обращения 31.08.2021).
2. Любомирова Л.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: практикум. 2 -е изд., переработанное и доп; НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Великий Новгород, 2008. - 146с.

7.3 Практическое занятие № 3 (4 часа)

Раздел 4. Вирусология

Раздел 5. Клиническая микробиология

Тема 4.1 Классификация и структура вирусов. Культивирование и репродукция вирусов.

Методы изучения вирусов

Тема 5.2. Сбор, хранение и транспортировка материала для микробиологических исследований

Современные технологии, применяемые в клинической микробиологии

Тема практического занятия

«МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ. ТРЕБОВАНИЯ К СБОРУ, ХРАНЕНИЮ И ТРАНСПОРТИРОВКИ МАТЕРИАЛА ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»

Сбор, хранение и транспортировка материала для микробиологических исследований

Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций. Серологический метод исследования. Постановка простейших серологических реакций и учёт результатов.

Профилактика вирусных инфекций (апробация проектов профилактических бесед студентами).

Цель занятия:

- Овладеть требованиями к забору, транспортировке и хранению материала пациента для микробиологических исследований и ознакомиться с методами микробиологической диагностики вирусных инфекций

Студент должен уметь:

- забирать, транспортировать и хранить материал пациента для микробиологических исследований;
- ставить серологический диагноз;
- проводить беседы о профилактике вирусных инфекций.

Студент должен знать:

- требования к сбору, транспортировке и хранению материала пациента для микробиологических исследований;
- методы микробиологической диагностики вирусных инфекций;
- механизм основных серологических реакции (непрямой гемагглютинации (РНГА) и иммуноферментный анализ (ИФА) на тест-системах)
- требования к забору и транспортировке крови, хранению сыворотки на серологические исследования;
- принципы профилактики вирусных инфекций.

Оснащение:

шпатели, пинцеты, спиртовка, чашки Петри, набор питательных сред для отработки методов посева,

флаконы с бульонами, лотки, штативы с пробирками, муляж «Голова для забора мазков из зева и носа», муляжи «Рука для в/в, п/к, в/к», планшет с луночками, тест-системы, шприцы, набор для посева кала, судно, жгуты, бланки направлений, набор ситуационных задач, тестовых заданий, манипуляционные алгоритмы.

Краткое содержание темы:

демонстрация и отработка манипуляций по забору материала. Решение ситуационных задач. Обсуждение и демонстрация простейших серологических реакций. Обсуждение методики ИФА.

Постановка серологического диагноза. Решение ситуационных задач и выполнение тестовых заданий.

Вопросы и задания для самоподготовки обучающихся к практическому занятию.

1. Поиск чего ведется при серологическом методе исследования?
2. Какие основные серологические реакции существуют?
3. Каковы требования к забору крови на серологическое исследование?
4. Что такое хилёзная и проросшая сыворотка, причины их возникновения?
5. Каковы причины возникновения гемолиза крови?
6. Какие существуют требования к сыворотке пациента для серологического исследования?
7. Почему серологические исследования называют парными сыворотками?
8. Когда забирают кровь для серологического исследования при бактериозах от начала заболевания? Почему так?
9. Когда забирают кровь для серологического исследования при вирусозах от начала заболевания? Почему так?
10. В чем заключается подготовка пациента при посеве крови на гемокультуру?
11. Какое количество крови забирается при посеве на стерильность?
12. В чем заключается подготовка пациента при заборе мазка на менингококк?
13. Откуда берется мазок на менингококк?
14. В чем заключаются особенности спуска крови из шприца при серологическом исследовании? Почему?
15. Какое количество крови забирается при исследовании на ВИЧ-инфекцию?
16. Кровь на посев забрана вне работы баклаборатории. Каковы условия её хранения?
17. Назовите методы лабораторной диагностики вирусозов? Какие используются чаще?
18. Что такое титр сыворотки больного?
19. Что такое диагностический титр?

Теоретический материал

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСОВ

- Молекулярно-генетические методы (полимеразноцепная реакция (ПЦР) и другие)
- Иммуноферментный анализ (ИФА) с поиском АГ
- Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) с поиском АГ
- Серологический метод (поиск АТ)
 - Реакция гемагглютинации(РГА)
 - Реакция задержки гемагглютинации(РЗГА)
 - Реакция непрямой гемагглютинации(РНГА)
 - Реакция связывания комплемента(РСК)
 - Реакция нейтрализации вирусов в культуре тканей
 - Иммуноферментный анализ(ИФА)
 - Реакция иммунофлюоресценции(РИФ)

- Гистологический метод (выявление внутриклеточных включений – телец Бабеша-Негри при бешенстве или телец Пашена при оспе и др.)
- Электронная микроскопия
- Вирусологический метод – культивирование вирусов на культуре тканей и куриных эмбрионах.

Сбор и транспортировка проб биологических материалов для бактериологического исследования

Общие положения

- ❖ Взятие материала предпочтительно проводить до начала антибактериальной терапии.
- ❖ На фоне антибактериальной терапии материал забирают перед очередным введением antimicrobных препаратов, то есть в момент, когда их концентрация в организме минимальна.
- ❖ При взятии пробы следует строго соблюдать правила асептики, во избежание ее случайной посторонней контаминации.
- ❖ Для взятия проб следует использовать стерильные инструменты, а для их транспортировки стерильные пробирки или контейнеры. Использование нестерильных сухих, чистых пробирок допускается только для отбора и транспортировки крови на серологические исследования.
- ❖ Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования.
- ❖ Транспортировка материала должна осуществляться в максимально короткие сроки: как правило, не более 1,5 — 2 часов.
- ❖ Всегда следует стремиться использовать транспортные системы со средой (консерванты), что позволяет пролонгировать время транспортировки до 24 часов и более или осуществлять посев непосредственно у постели больного (кровь, ликвор и др.);
- ❖ Материал для исследования на неспорообразующие анаэробы, доставляемый без использования транспортных систем со средой (консервантов) должен транспортироваться:
 - в специальном герметично закрытом флаконе, заполненном инертным газом, в который проба вносится путем прокола крышки иглой шприца;
 - в одноразовом шприце, из которого удален воздух, и кончик которого закрыт либо стерильной резиновой пробкой, либо иглой, с надетым на нее штатным защитным колпачком.
- ❖ Все образцы должны иметь четкую маркировку, обеспечивающую их безошибочную идентификацию. К каждому образцу прикладывается направление.

Правила биологической безопасности

- ❖ К работе по взятию и транспортировке биологического материала допускается медицинский персонал, прошедший специальный инструктаж по технике работы и мерам безопасности.
- ❖ При взятии биологического материала должны использоваться средства защиты: медицинские халаты, шапочки, сменная обувь, резиновые (латексные, виниловые) перчатки, а при необходимости — дополнительно марлевые маски (респираторы), очки, клеенчатые фартуки.
- ❖ Работать с исследуемым материалом следует в резиновых (латексных, виниловых) перчатках, все повреждения кожи на руках должны быть закрыты лейкопластырем или напальчником.
- ❖ Следует избегать уколов и порезов.
- ❖ В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биологическими жидкостями следует немедленно обработать их промыть водой, обработать тампоном, смоченным 70% спиртом, вымыть под проточной водой с мылом и вытереть индивидуальным тампоном. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным дезраствором, 6% раствором перекиси водорода.
- ❖ При подозрении на попадание крови на слизистые оболочки, их немедленно обрабатывают струей воды и затем:
 - слизистые носа промыть обильно водой;
 - рот и горло прополаскивают 70% спиртом
 - слизистые глаз промыть обильно водой (не тереть!!!)

- ❖ Для транспортировки образцов следует использовать преимущественно пластиковую одноразовую тару, герметично закрытую пластмассовыми, резиновыми пробками или завинчивающимися крышками.
- ❖ Запрещается использовать стеклянную посуду со сколами, трещинами и т.п.
- ❖ При транспортировке сосудов, закрытых целлюлозными (ватными) пробками, следует исключить их увлажнение.
- ❖ Транспортировка биоматериала осуществляется в специальных закрытых переносках (контейнерах), желательны - термостабильных, выдерживающих дезинфекцию.
- ❖ Сопроводительная документация помещается в предназначенный для нее карман переноски (укладки), а в случае его отсутствия — кладется в переноску в отдельном полиэтиленовом пакете.
- ❖ При хранении биологического материала в холодильнике каждый образец упаковывается в отдельный полиэтиленовый пакет. Для этой цели выделяется отдельный холодильник, хранение в котором пищевых продуктов и лекарственных препаратов не допустимо.

Требования к заборам, хранению и транспортировке материала от инфекционных больных

ПОСЕВ КРОВИ

1. **Подготовка медицинских работников**
 - вымыть руки перед забором
 - резиновые перчатки
 - маска
2. **Подготовка пациента**
 - забор крови на подъеме температуры (38–39 °С – фебрильная с ознобом)
3. **Подготовка оснащения**
 - стерильный флакон с бульоном подогреть на водяной бане до 38–40 °С или в термостате
 - стерильный лоток, жгут
 - спиртовка, спички
4. **Особенности забора и спуска**
 - кровь из вены 1:10 (кровь : бульон)
 - спуск
 - ❖ над спиртовкой,
 - ❖ без иглы,
 - ❖ не касаясь края

МАЗОК НА МЕНИНГОКОКК

1. **Подготовка медицинского работника**
 - маска
 - вымыть руки перед забором
 - резиновые перчатки
2. **Подготовка пациента**
 - сразу при поступлении до специальной терапии
 - после лечения – утром натощак, до еды не чистить зубы, не полоскать рот, не курить, не принимать лекарства
3. **Оборудование и материалы**
 - стерильная палочка с мазком (металлическая палочка)

- пробирка с полужидким сывороточным агаром
 - чашка Петри с сывороточным агаром
 - Всё перед забором подогреть (38–40 °С.
4. Особенности забора:
- берется из носоглотки
 - сеется на сывороточный агар около постели больного, независимо от работы лаборатории
 - мазок опускается в пробирку с полужидким агаром

МАЗОК НА VL

1. Подготовка медицинского работника

- маска
- вымыть руки перед забором
- резиновые перчатки

2. Подготовка пациента

- сразу при поступлении до специальной терапии;
- после лечения – утром натощак, до еды не чистить зубы, не полоскать рот, не курить, не принимать лекарства.

3. Оснащение

Если лаборатория РАБОТАЕТ при поступлении пациента
(сообщить о заборе в бактериологическую лабораторию, чтобы питательную среду (кровяной агар с тейлуридом калия) поставили в термостат)

При тонзиллярном синдроме

- ❖ 2 стерильные пробирки для забора мазков с деревянными палочками (из носа и зева);

При диагнозе дифтерия дыхательных путей

- ❖ одну пробирку с деревянной палочкой (из носа)и
- ❖ одну пробирку с металлической палочкой (из ротоглотки).

Если лаборатория НЕ РАБОТАЕТ при поступлении пациента

При тонзиллярном синдроме

- ❖ 2 стерильные пробирки для забора мазков с деревянными палочками (из носа и зева)
- ❖ чашку Петри с кровяном агар с тейлуридом калия
- ❖ пробирку с полужидким агаром

Все подогреть до температуры 38–40 °С.

При диагнозе дифтерия дыхательных путей

- ❖ одну пробирку с деревянной палочкой (из носа)
- ❖ одну с металлической палочкой (из ротоглотки)
- ❖ чашку Петри с кровяном агар с тейлуридом калия
- ❖ пробирку с полужидким агаром.

Все подогреть до температуры 38–40 °С.

4. Особенности забора:

- забор из зева на границе здоровой и больной ткани;
- никогда не берется с налетов.

КАЛ НА ПОСЕВ

1. Подготовка медицинского работника

- резиновые перчатки
- руки вымыть

2. Подготовка пациента

КАЛ БЕРЕТСЯ

- сразу при поступлении до специальной терапии
- перед выпиской после специальной терапии

3. Подготовка оснащения

- судно промыть (очистить от дезинфицирующих средств);
- стеклянную стерильную палочку в стерильной пробирке
- кишечный буфер (если лаборатория не работает при поступлении пациента).

4. Особенности забора

- всегда из горшка
- никогда из прямой кишки
- 2–3 грамма из разных мест
- всегда слизь, гной
- никогда кровь

КРОВЬ НА СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Подготовка медицинского работника

- резиновые перчатки;
- маска (если инфекция дыхательных путей).

2. Подготовка пациента

- забор производится утром натощак.

3. Особенности забора и спуска

- кровь из вены – 5 мл;
- спускать осторожно
 - ❖ по краю пробирки
 - ❖ без иглы.

**Кровь не должна быть гемолизированной!!
Сыворотка не должна быть хилезной и проросшей!!!**

Порядок выполнения работы

№	Этапы занятия	Способы выполнения
1.	Определение цели, требования к ПК	1.В дневнике записать тему, цели занятия, умения и знания. 2.Прочитать теоретический материал.
2.	Вводный контроль знаний в виде фронтального опроса или любой другой формы контроля	Ответить на вопросы фронтального опроса с последующим само- или взаимоконтролем и обсуждением
3.	Обсуждение методов лабораторной диагностики вирионов	1. Составить графологическую структуру методов лабораторной диагностики, разделив их на 2 группы с поиском АГ и поиском АТ. 2. Выделить основной метод и методы, которые используются чаще в клинической практике. 3. Записать графструктуру в дневнике.
4.	Обсуждение требований к забору, хранению и транспортировке материала от инфекционных больных при серологическом методе исследования	1.Преподаватель демонстрирует за манипуляционным столом требования к подготовке пациента, медицинского работника, оснащения, особенности забора, спуска крови, хранения и транспортировки материала при серологическом исследовании. 2.Каждый обучающийся получает карточку- задание со схемой серологического исследования, где необходимо оценить соблюдение требований. 3. Контроль выполнения задания проводится в малых группах по 2 человека с последующим обсуждением результатов взаимоконтроля.
5.	Обсуждение проведения серологических реакций и постановки серологического диагноза	1.Демонстрация преподавателем проведения серологической реакции (РНГА). 2. Обсуждение механизма реакции и её оценки с фиксацией студентами в виде схемы в дневнике.
6.	Решение ситуационных задач по постановки серологического диагноза.	1. Преподаватель разбирает одну задачу с обучающимися. Условия задачи и решение фиксируются в дневнике. 2.Каждый обучающийся получает индивидуальный бланк серологического лабораторного исследования пациентов, по которому он должен поставить серологический диагноз. 3.Условия задачи и её решение записать в дневнике, индивидуально ответить преподавателю и получить оценку.
7.	Обсуждение требований к забору, хранению и транспортировке материала от инфекционных больных при посеве крови, мазков на менингококк, мазков на BL, кала на посев.	1. Преподаватель демонстрирует за манипуляционным столом требования к подготовке пациента, медицинского работника, оснащения, особенности забора, спуска крови, хранения и транспортировки материала при посеве крови, мазков на менингококк, мазков на BL, кала на посев. 2. Решение ситуационных задач с последующим

		само- или взаимоконтролем, обсуждением и выставлением оценок.
8.	Анализ и оценка выполнения заданий	1. Ответить на контрольные вопросы темы. 2. Контроль дневников 3. Выставление итоговой оценки на основании: - оценки за вводный контроль - оценка за постановку серологического диагноза - оценка за профилактический проект - оценка за решение ситуационных задач - оценка за соблюдение правил личной гигиены, ТБ и дисциплины

NB!

Основные положения темы

Микробиологический метод – это основной диагностический метод для бактериальных инфекций.

Посев крови на стерильность проводится на сахарный бульон у больных с диагнозом – *лихорадка неясной этиологии*.

Посев крови на гемокультуру (на тифопаратифозную группу микроорганизма) проводится на желчный бульон у больных с диагнозом – *лихорадка неясной этиологии*.

Посев мазков на менингококк из носоглотки проводится на сывороточный агар сразу после забора у постели больного.

Посев мазков на BL (дифтерийную палочку) проводится на кровяной агар с тейлуридом калия.

Вне работы лаборатории забор кала на посев на кишечную группу проводится в кишечный буфер.

Вне работы лаборатории забор кала на посев на иерсиниозную группу проводится в иерсиниозный буфер.

Вне работы лаборатории забранный от больного материал – кровь на посев, мазки на менингококк, мазки на BL – хранятся в стационаре в термостате до 12 часов после забора.

Вне работы лаборатории кал на посев хранится в стационаре в холодильнике (+4 °C до 12 часов).

Кровь на серологические исследования хранится при комнатной температуре не более 2–3 часов, в холодильнике (+4 °C) – до 12 часов, сыворотка крови – в холодильнике до 6–7 суток.

Ситуационные задачи и задания

ЗАДАНИЯ: ОЦЕНИТЬ, УСТРАНИТЬ ОШИБКИ.

1. Кровь на посев забирается из пальца во флакон. Флакон перед забором хранится в холодильнике (+4°). Количество забираемой крови – 5 мл.
2. Кровь на посев забирается из вены в количестве 5 мл и сбрасывается через иглу по краю флакона и транспортируется в лабораторию через 4 часа.
3. Мазок на менингококк забирается из носа и проводится посев на сывороточный агар около постели больного.
4. Кал забирается из прямой кишки. Транспортируется через 4 часа в бактериологическую лабораторию (на грелке).
5. Кал на посев забирается в количестве 50–60 мл. Из разных мест берётся слизь, гной и кровь.

6. Кровь на посев забирается во флакон на бульон. Если лаборатория не работает, хранится в термостате до 6 часов, через 6 часов – в бактериологическую лабораторию.
7. Вне работы бактериологической лаборатории мазок на ВЛ после забора помещают в холодильник до 12 часов, а утром мазки из носа и зева транспортируются в бактериологическую лабораторию.
8. Вне работы бактериологической лаборатории кал на посев забирается в стерильную пробирку, хранится в термостате и утром на грелке транспортируется в бактериологическую лабораторию.
9. Кровь на серологические исследования забирается утром натошак в количестве 10 мл из вены и спускается в пробирку через иглу, не касаясь края пробирки.
10. Кровь на иммунологические исследования хранится в термостате 12 часов, утром отправляется в иммунологическую лабораторию.
11. Кровь на посев забирается утром натошак в количестве 10 мл.
12. Вне работы лаборатории кал на иерсиниозную группу забирается в количестве 2–3 г в пробирку сразу при поступлении больного до этиотропной терапии. Вне работы лаборатории хранится в холодильнике до 12 часов, утром в контейнере транспортируется в лабораторию.

Тестовые задания

Выбрать правильный ответ:

1. Основной метод лабораторной диагностики вирусозов

- а) микробиологический
- б) биологический
- в) серологический
- г) микроскопический

2. При серологическом исследовании в крови ведется поиск

- а) микроорганизма
- б) токсина
- в) антигена
- г) антител

3. При проведении ИФА кала в материале ищем

- а) токсины
- б) антитела
- в) возбудителя
- г) иммуноглобулины

4. При заборе крови на ВИЧ в материале ищем

- а) возбудителя
- б) антитела
- в) антиген
- г) токсины

5. Кровь на посев берется:

- а) из пальца – 5 мл;
- б) из вены – 5 мл;
- в) из вены 1:10 (кровь: бульон);
- г) мазок крови из пальца на предметном стекле.

6. Забор кала на посев в стационаре производится:

- а) только из горшка;
- б) только из горшка (слизь, гной обязательно);
- в) только из горшка (слизь, гной, кровь обязательно);
- г) из прямой кишки стеклянной палочкой;
- д) из прямой кишки деревянной палочкой.

II. Установить соответствие:

1. Микробиологическое исследование

Материал пациента

- 1) кровь на посев
- 2) кал
- 3) мазок на BL
- 4) мазок на менингококк

Подготовка больного

- а) сразу при поступлении до специфической терапии
- б) на подъеме температуры с ознобом
- в) натощак

Ответ: 1 ____; 2 ____; 3 ____; 4 ____.

2. Микробиологическое исследование

Метод исследования

- 1) кровь на гемокультуру
- 2) кровь на стерильность
- 3) мазок на
- 4) мазок на менингококк

Питательная среда

- а) среда Эндо
- б) желчный бульон
- в) сахарный бульон
- г) сывороточный агар
- д) среда Клауберга

Ответ: 1 ____; 2 ____; 3 ____; 4 ____.

3. Лабораторное исследование

Метод исследования крови

- 1) на посев
- 2) на серологические исследования
- 3) на иммунологические исследования
- 4) мазок на предметном стекле

Поиск

- а) антител
- б) возбудителя
- в) токсина микроба

Ответ: 1 ____; 2 ____; 3 ____; 4 ____.

4. Особенности спуска из шприца

Метод исследования

- 1) микробиологический (на посев)
- 2) серологический
- 3) иммунологический

Кровь спускают из шприца

- а) по краю пробирки без иглы
- б) по краю пробирки через иглу
- в) не касаясь края флакона без иглы над спиртовкой
- г) по краю флакона через иглу

Ответ: 1. ____; 2. ____; 3. ____.

5. Особенности транспортировки материала больного

Материал от инфекционного больного

- 1) кровь на посев
- 2) кровь на серологические исследования
- 3) кровь на иммунологические исследования

Транспортировка в лабораторию

- а) на грелке (+37°)
- б) в контейнере на грелке (+37°)
- в) в контейнере

Ответ: 1. _____; 2. _____; 3. _____ .

6. Количество забираемой крови

Вид исследования

- 1) кровь на посев
- 2) кровь на серологические исследования
- 3) кал на посев

Количество материала

- а) 2–3 мг
- б) 5 мл
- в) 10 мл
- г) 1:10 (кровь: бульон)

Ответ: 1. _____; 2. _____; 3. _____ .

7. Особенности хранения материала больного

Вид исследования

Условия хранения в стационаре (вне работы лаборатории)

- 1) кровь на посев
- 2) кровь на серологию
- 3) мазок на BL
- 4) мазок на менингококк
- 5) кал на посев

- а) в холодильнике +4° – до 12 часов
- б) в термостате +37° – до 12 часов
- в) на кровяной агар с тейлуридом калия + мазки в полужидком агаре
- г) на сывороточном агаре + мазок в полужидком агаре
- д) кровь при комнатной температуре – 2–3 часа; кровь при температуре +4° (холодильник) – до 12 ч; сыворотка +4° – до 6–7 суток

Ответ: 1. _____; 2. _____; 3. _____; 4. _____; 5. _____ .

Эталонные ответы

I. 1. б); 2. а); 3. б); 4. б); 5. в); 6. б).

II. 1. 1б, 2а, 3а, 4а; 2. 1б, 2в, 3д, 4г; 3. 1б, 2а, 3а, б, 4б; 4. 1в, 2а, 3а; 5. 1б, 2в, 3в; 6. 1г, 2б, 3а; 7. 1б, 2д, 3в, 4г, 5а.

Глоссарий тем

1. **Агглютинация** – склеивание.
2. **Гемолиз** – разрушение эритроцитов.
3. **Диагностикум** – это диагностический антигенный препарат, взвесь известных антигенов, микроорганизмов или антигенная вытяжка из микроорганизмов. Используются в серологических реакциях для поиска в сыворотке крови больного неизвестных антител.
4. **Диагностический титр** – это константа, титр, говорящий о том, что у больного имеет место специфический инфекционный процесс, т.е. пациент болен.
5. **Титр сыворотки больного** – это то максимальное разведение сыворотки, где она еще положительная, т.е.


 или
 

Литература:

3. Мальцев В. Н. Основы микробиологии и иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 319 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-11566-6. — Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/475968> (дата обращения 31.08.2021).
4. Любомирова Л.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: практикум. 2 -е изд., переработанное и доп; НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Великий Новгород, 2008. - 146с.

8. Информационное обеспечение обучения

а) Основная литература

Библиографическое описание издания (автор, наименование, вид, место и год издания, кол. стр.)	Кол. экз. в библ. НовГУ	Наличие в ЭБС
Электронные ресурсы		
Мальцев В. Н. Основы микробиологии и иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 319 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-11566-6. — Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: https://urait.ru/bcode/475968 (дата обращения 31.08.2021).		Юрайт

б) Дополнительная литература

Библиографическое описание издания (автор, наименование, вид, место и год издания, кол. стр.)	Кол. экз. в библ. НовГУ	Наличие в ЭБС
Печатные издания		
Зверев В.В. Основы микробиологии и иммунологии: учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 368 с. - ISBN 978-5-9704-3599-1 - Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента": [сайт].-URL: http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970435991 (дата обращения: 31.08.2019). — Режим доступа: по подписке	20	Консультант студента
Любомирова Л.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: практикум. 2 -е изд., переработанное и доп; НовГУ им. Ярослава Мудрого. – Великий Новгород, 2008. - 146с.	100	НовГУ
Электронные ресурсы		
Долгих В. Т. Основы иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Т. Долгих, А. Н. Золотов. — Москва: Издательство Юрайт, 2019. — 248 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-10473-8. — Текст: электронный // ЭБС Юрайт [сайт]. — URL: https://www.biblio-online.ru/bcode/430490 (дата обращения: 31.08.2019). — Режим доступа: по подписке		Юрайт

Лещенко М. В. Вакцинопрофилактика инфекционных болезней у детей и подростков: учебное пособие / М. В. Лещенко, Э. В. Айриян. — Москва: МПГУ, 2018. — 40 с. — ISBN 978-5-4263-0675-2. — Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. — URL: https://e.lanbook.com/book/122329 (дата обращения: 31.08.2019). — Режим доступа: для авториз. пользователей		Лань
Мальцев В. Н. Основы микробиологии и иммунологии: учебное пособие для среднего профессионального образования / В. Н. Мальцев, Е. П. Пашков, Л. И. Хаустова. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва: Издательство Юрайт, 2021. — 319 с. — (Профессиональное образование). — ISBN 978-5-534-11566-6. — Текст: электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: https://urait.ru/bcode/475968 (дата обращения 31.08.2021).		Юрайт

в) Программное обеспечение

Наименование программного продукта	Обоснование для использования (лицензия, договор, счёт, акт или иное)	Дата выдачи
ABBY FineReader PDF 15 Business. Версия для скачивания (годовая лицензия с академической скидкой) *	Договор №236/ЕП(Б)21-ВБ	26.10.2021
Zbrush Academic Volume License	Договор №209/ЕП(У)20-ВБ	30.11.2020
Academic VMware Workstation 16 Pro for Linux and Windows, ESD	Договор №211/ЕП(У)20-ВБ, 25140763	03.11.2020
Acronis Защита Данных для рабочей станции, Acronis Защита Данных. Расширенная для физического сервера	Договор №210/ЕП (У)20-ВБ, Ах000369127	03.11.2020
Антиплагиат. Вуз.*	Договор №3341/12/ЕП(У)21-ВБ	29.01.2021
**ЦОС Skyes University*	Договор №Д/СК/2021/10/196/ЕП(У)21-ВБ	30.09.2021
Adobe Acrobat	свободно распространяемое	-
Teams	свободно распространяемое	-
Skype	свободно распространяемое	-
Zoom	свободно распространяемое	-

2) Базы данных, информационно-справочные и поисковые системы

Наименование ресурса	Договор	Срок договора
Профессиональные базы данных		
База данных «Электронно-библиотечная система «ЭБС ЮРАЙТ» https://www.biblio-online.ru		
Электронная библиотечная система «IPRsmart» http://www.iprbookshop.ru **	Договор № 8658/21П от 24.03.2022	31.12.2022
Электронная база данных электронной библиотечной системы «Лань» https://e.lanbook.com *	Договор № 59/ЕП(У)21 от 17.12.2021	31.12.2022
Электронная база данных электронной библиотечной системы «Лань» https://e.lanbook.com	Договор № СЭБ НВ-283 от 09.11.2020	31.12.2023
База данных электронной библиотечной системы «Электронная библиотека технического ВУЗа» www.studentlibrary.ru * «Медицина. Здравоохранение ВО»	Договор № 58/ЕП(У)21 от 17.12.2021	31.12.2022
База данных Научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU https://elibrary.ru/	в открытом доступе	-
База данных электронно-библиотечной системы «Национальная электронная библиотека» https://нэб.рф	в открытом доступе	-
Информационные справочные системы		
Университетская информационная система «РОССИЯ» https://uisrussia.msu.ru	в открытом доступе	-
Национальный портал онлайн обучения «Открытое образование» https://openedu.ru	в открытом доступе	-
Портал открытых данных Российской Федерации https://data.gov.ru	в открытом доступе	-

*автоматический синтезатор речи для слабовидящих и незрячих студентов;

**версия сайта для слабовидящих, удовлетворяющая требованиям ГОСТ 52872-2012 «Интернет ресурсы. Требования доступности для инвалидов по зрению».

Ресурс	Содержание
Электронная база данных ЭБС «Лань» https://e.lanbook.com Договор № 59/ ЕП (У)21 от 17.12.2021	«Медицина»

Дезинфекция и стерилизация

Стерилизация – уничтожение вегетативных и споровых форм микроорганизмов.

Дезинфекция – уничтожение вегетативных форм микроорганизмов.

Существуют 3 способа дезинфекции – химический, физический, механический.

При *химическом способе* используют следующие средства:

- ❖ газ Cl₂;
- ❖ хлорную известь;
- ❖ хлорамин;
- ❖ гипохлорид кальция;
- ❖ формалин;
- ❖ фенол;
- ❖ лизол;
- ❖ перекись водорода;
- ❖ формальдегид;
- ❖ окись этилена;
- ❖ окись пропилена;
- ❖ бромистый метил и др.

При *физическом способе* средствами являются:

- высокая температура (прокаливание, кипячение, водяной пар, горячий воздух, водяная баня);
- низкая температура;
- ультразвук;
- УФО;
- ионизирующее излучение и др.

При *механическом способе* применяются такие средства:

- уборка;
- мытье;
- стирка;
- проветривание;
- вентиляция;
- фильтрование и др.

Таблица 1

Характеристика стерилизатора в зависимости от метода стерилизации

Тип метода	Метод	Стерилизующий агент
Физический (термический)	Паровой	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением
	Воздушный	Сухой горячий воздух
	Инфракрасный	Инфракрасное излучение
	Гласперленовый	Среда нагретых стеклянных шариков
Химический	Газовый	Окись этилена или ее смесь с другими компонентами
		Окись этилена или ее смесь с другими компонентами
		Окись этилена или ее смесь с другими компонентами
	Плазменный	Пары перекиси водорода в сочетании с их низкотемпературной плазмой
	Жидкостные	Растворы химических средств (альдегид-, кислород- и хлорсодержащие)

Таблица 2

Преимущества и недостатки различных методов стерилизации

Метод	Преимущества	Недостатки
Паровая стерилизация	Наиболее распространенный метод стерилизации в стационарах. Безопасен для окружающей среды и персонала. Короткая экспозиция. Не обладает токсичностью. Низкая стоимость. Не требует аэрации.	Качество стерилизации может быть нарушено при неполном удалении воздуха, повышенной влажности материалов и плохом качестве пара. Могут повреждаться изделия, чувствительные к действию температуры и влажности.
Воздушная стерилизация	Низкие коррозионные свойства. Глубокое проникновение в материал. Безопасен для окружающей среды. Не требует аэрации.	Длительная экспозиция. Очень высокая энергопотребляемость. Могут повреждаться термочувствительные изделия.
Стерилизация окисью этилена	Проникновение в упаковочные материалы и пластиковые пакеты. Можно использовать для стерилизации большинства медицинских изделий. Прост в обращении и контроле.	Требуется время для аэрации. Маленький размер стерилизационной камеры. Окись этилена токсична, является вероятным канцерогеном, легко воспламеняется.
Стерилизация плазмой перекиси водорода	Низкотемпературный режим. Не требует аэрации. Безопасен для окружающей среды и персонала. Конечные продукты нетоксичны. Прост в обращении, работе и контроле.	Нельзя стерилизовать бумажные изделия, белье и растворы. Маленький размер стерилизационной камеры. Нельзя стерилизовать изделия с длинными или узкими внутренними каналами. Требуется синтетическая упаковка.
Стерилизация парами раствора формальдегида	Пожаро- и взрывобезопасен. Можно использовать для стерилизации большинства медицинских изделий.	Необходимость отмывания поверхности от остатков формальдегида. Обладает токсичностью и аллергенностью. Длительная экспозиция. Длительная процедура удаления формальдегида после стерилизации.

Воздушный метод стерилизации используется в случае, если обработке подвергаются изделия или материалы, которые нельзя стерилизовать паром, например, **масла, порошки, а также изделия, выполненные из корродирующих металлов, стекла и термостойких пластиков (силиконовой резины).**

В ОСТ 42–21–2–85 приводятся режимы стерилизации изделий медицинского назначения с использованием сухого горячего воздуха:

- 1) 180°C при времени экспозиции 60 минут.
- 2) 160°C при времени экспозиции 150 минут.

Сотрудники ЛПУ осуществляют самоконтроль режима стерилизации с помощью химических тестов, например, термохимических индикаторов, выпускаемых НПФ “Винар”, которые меняют свой цвет в зависимости от способа и режима стерилизации.

Наиболее достоверно оценить эффективность работы стерилизатора позволяет бактериологический метод.

Микробиологическая лаборатория и правила работы.

В учебных заведениях не разрешается работать с живыми патогенными микроорганизмами. Необходимо помнить, что при посеве сапрофитных микроорганизмов из окружающей среды случайно может быть внесена и патогенная микрофлора.

Кроме того, работа с сапрофитными микроорганизмами в ряде случаев требует абсолютной стерильности для получения надежных результатов опыта.

В микробиологической практике используют главным образом чистые культуры микроорганизмов. Культуру, содержащую микроорганизмы одного вида, называют **чистой**. Если в культуре содержится более одного вида микроорганизмов, она носит название **смешанной**.

Микробиологическая лаборатория включает ряд помещений, где проводят работу с микроорганизмами или подготовку к ней.

Поверхность столов и пол всех лабораторных помещений покрывают легко моющимся материалом. В основном рабочем помещении находятся аппаратура, посуда и реактивы. Столы имеют подводку электроэнергии и снабжены газовыми горелками. Кроме основного рабочего помещения лаборатория имеет стерилизационную, где размещены автоклавы и сушильные шкафы, бокс, моечную, холодильную комнату, термостаты или термостатные комнаты для выращивания микроорганизмов, помещение для хранения культур и т.д.

При работе в **бактериологической лаборатории**, особенно с патогенными микроорганизмами, необходимо соблюдение следующих правил.

1. Все лица, находящиеся в **бактериологической лаборатории**, должны быть в халатах.
2. В помещении запрещается прием пищи и курение.
3. Каждый работник должен пользоваться только своим рабочим местом.
4. Все операции должны производиться с соблюдением правил стерильности: все посевы проводят вблизи пламени горелки, переливание зараженных жидкостей производят над лотком с дезинфицирующим раствором и т. п.
5. Весь инвентарь, находившийся в контакте с заразным материалом, подлежит стерилизации или уничтожению.
6. Все культуры, а также зараженные животные учитываются и регистрируются в журнале по специальной форме.

Посуда, используемая в баклаборатории, должна быть выщелочена в 1—2% растворе HCl и простерилизована при помощи высокой температуры. Посевы на плотных питательных средах производят при помощи стеклянных шпателей и бактериальной петли.

Выращивают бактерии в термостатах или термостатных комнатах.

Для соблюдения стерильности при работе с бактериальными культурами баклаборатории оснащаются специальными застекленными боксами.

Все питательные среды, бактериальные культуры, сыворотки хранят в холодильнике.

Каждая бактериологическая лаборатория должна иметь центрифугу, аппарат для встряхивания и микроскоп. Для большинства исследований пользуются микроскопом МБИ-1 с осветителем ОИ-7 и фазово-контрастным устройством.

Бактериологическая лаборатория должна быть оснащена аппаратурой для стерилизации: автоклав, аппарат Коха, печь Пастера, аппарат для свертывания сыворотки.

Для стерилизации жидких субстратов используют бактериальные фильтры.

В бактериологической лаборатории должны быть приспособления для розлива сред, наборы реактивов для проведения некоторых химических анализов, а также потенциометр для определения рН среды.

Работа с животными в **бактериологической лаборатории** проводится только в виварии.

Правила работы с культурами микроорганизмов

В лаборатории микроорганизмы выращивают в питательных средах, которые разливают в пробирки, колбы, матрацы и чашки Петри. Внесение микроорганизмов в стерильную среду называется **посевом**, или **инокуляцией**. Перед посевом следует тщательно надписать на пробирке (колбе или чашке Петри) название микроорганизма и дату посева. Надпись делают маркером на стекле или на наклеенной этикетке. Клетки микроорганизмов для посева или приготовления препаратов берут бактериологической петлей, если микроорганизмы выращены на плотной среде. В том случае, когда пересевают культуры микроорганизмов, выросшие в жидкой питательной среде, пользуются стерильной пипеткой. Использованную пипетку следует немедленно перенести в дезинфицирующий раствор, например 3 - 5%-ный водный раствор фенола или 2%-ный раствор хлорамина, не касаясь ею окружающих предметов.

Все манипуляции при посеве следует проводить около пламени горелки (но не в пламени). Нельзя делать резкие движения и ходить около лица, работающего с чистой культурой, так как движение воздуха увеличивает вероятность случайного ее загрязнения.

Методы стерилизации питательных сред и посуды

Стерилизация является одним из важнейших и необходимых приемов в микробиологической практике. Слово «стерилизация» в переводе с латинского означает обеспложивание. В практической работе под стерилизацией понимают методы, применяемые для уничтожения всех форм жизни как на поверхности, так и внутри стерилизуемых объектов.

Различают *термическую* и *холодную* стерилизацию.

Способы термической стерилизации:

- ❖ прокаливание в пламени и обжигание,
- ❖ сухожаровая стерилизация (горячим воздухом),
- ❖ стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование),
- ❖ дробная стерилизация (тиндализация).

Методы холодной стерилизации:

- ❖ стерилизация фильтрованием,
- ❖ газообразными средствами,
- ❖ ультрафиолетовыми лучами и другими видами излучений.

Стерилизация питательных сред насыщенным паром под давлением (автоклавирование)

Совместное действие высокой температуры и давления пара обеспечивает особую эффективность данного способа. При этом погибают и вегетативные клетки, и споры микроорганизмов. Установлено, что споры большинства микроорганизмов не выдерживают и 5-минутную экспозицию в насыщенном паре при 121 °С. Стерилизацию текучим паром под давлением осуществляют в автоклавах.

Автоклав представляет собой металлический двустенный резервуар, способный выдерживать высокое



давление, в который помещают стерилизуемый материал на специальную подставку. Предметы следует размещать не слишком плотно, так как пар должен проходить между ними, иначе они не нагреваются до нужной температуры и могут остаться нестерильными. По окончании времени стерилизации автоклав открывают, когда давление в нем сравняется с атмосферным.

Преждевременное открывание крана автоклава недопустимо, так как перегретые среды при резком снижении давления сразу же бурно закипают, смачивают и даже иногда выталкивают ватные пробки, что нарушает впоследствии стерильность материала.

К работе с автоклавом допускаются только подготовленные лица!

Подготовка сред к стерилизации.

При автоклавировании 3 - 5 % жидкости теряются в результате испарения, поэтому рекомендуется в приготавливаемые среды добавлять сверх объема примерно 5% дистиллированной воды. Тогда после стерилизации среда (раствор) будет иметь требуемую концентрацию. Среда обычно стерилизуют в пробирках, колбах, бутылках. Емкости заполняют средой не более чем на половину их высоты, чтобы предотвратить смачивание пробок. Сосуды со средами закрывают ватными пробками с бумажными колпачками. Стекланные, резиновые, корковые и другие пробки завертывают в двойной слой оберточной бумаги и стерилизуют привязанными к склянке, закрытой ватной пробкой.

Дробная стерилизация (тиндализация) и пастеризация

Тиндализация, дробная стерилизация, была предложена в 1877 году Тиндалем. Она применяется для сред, портящихся под действием температур выше 100 °С. Тиндализацию осуществляют текучим паром а автоклаве с незавинченной крышкой или в аппарате Коха. Среда прогревают несколько раз по 10 - 15 мин. Между прогреваниями среда ставят в термостат при температуре 30° С на 8-12ч для прорастания жизнеспособных спор. Среда, не выдерживающие нагревания при 100 °С, прогревают более осторожно при 60 - 80 °С через каждые 8-12ч 4-5 дней подряд.

Однократный прогрев материала при температуре ниже 100 °С известен под названием **пастеризация**. Этот метод, предложенный Пастером, предназначен для уничтожения только бесспоровых форм микроорганизмов. Следовательно, в подавляющем большинстве случаев он не обеспечивает стерильности.

Стерилизация фильтрованием

Фильтрованием стерилизуют синтетические среды строго определенного состава, которые содержат легкоразрушающиеся или летучие компоненты - витамины, аминокислоты (цистеин и цистин), белки, углеводы, антибиотики и др. Фильтрование жидкостей осуществляют через мелкопористые материалы, легко адсорбирующие клетки микроорганизмов: асбест, целлюлозу, фарфор, каолин и др.

Стерилизующими фильтрами теоретически считают такие, размер пор которых не превышает 0,20 мкм. Наиболее широкое распространение в микробиологической практике получили мембранные фильтры, которые в зависимости от величины пор применяют для фильтрования и стерилизации. Для стерилизации используют отечественные фильтры фирм «Влади-пор», «Владисарт» с диаметром пор 0,20 мкм.

Плотные диски, изготовленные из смеси асбеста с целлюлозой, называются фильтрами Зейтца. В зависимости от диаметра пор они обозначаются разными индексами. Стерилизующими являются СФ-3 и СФ-4.

Мембранные фильтры стерилизуют автоклавированием при 1 атм 15 мин или длительным кипячением.

Стерилизация стекланной посуды.

Основным способом стерилизации стекланной посуды является обработка ее сухим горячим воздухом при температуре не выше 180 ° в течение 1 - 3 ч. (см. таблица2) При этом погибают и вегетативные клетки, и споры микроорганизмов.

Стерилизацию осуществляют в специальных суховоздушных (сухожаровых) стерилизаторах и сушильных шкафах, приспособленных для стерилизации и обеспечивающих автоматическое поддержание необходимой температуры.

Таблица 3

<i>Время, необходимое для стерилизации стеклянной посуды сухим жаром</i> Температура, °С	Время, мин
140	180
150	150
160	120
170	60

Посуда перед стерилизацией должна быть тщательно вымыта и завернута в бумагу для сохранения стерильности после прогревания. После этого её загружают в стерилизатор (или в сушильный шкаф) не слишком плотно, чтобы обеспечить циркуляцию воздуха и равномерный надежный прогрев стерилизуемого материала. По окончании стерилизации шкаф не открывают до тех пор, пока температура в нем не упадет до 80 ° С, так как при резком охлаждении иногда нарушается стерильность материала, а сильно нагретое стекло может растрескаться.

Стерилизация инструментов и приборов.

Мелкие металлические инструменты - петли, иглы, пинцеты, ножницы, шпатели - стерилизуют прокаливанием в пламени (т.е. нагреванием докрасна) непосредственно перед использованием. На пламени кратковременно обжигают предметные и покровные стекла, стеклянные шпатели и палочки, фарфоровые ступки и пестики, горлышки колб, пробирок, бутылок, а также ватные пробки при посевах культур и разливе сред. В пламени погибают и вегетативные клетки, и споры микроорганизмов.

Таблица 4. Способы дезинфекции и стерилизации

№ п/п	Способы	Действующий фактор	Объекты дезинфекции	Объекты стерилизации
1.	Прокаливание	t – 200 °С	Бактериальные петли, иглы, предметные стекла	
2.	Стерилизация горячим воздухом	t – 170–180 °С 0,5–1 час Сухожаровой шкаф – 180 °С – 1 час	Направления, бланки	Пипетки, посуда, тампоны, шпатели, инструменты

3.	Горячий пар под давлением	t – 126 °С – 1,5 атм. t – 112 °С – 0,5 атмосфер t – 120 °С – 1,1 атмосфер – 45 мин t – 132 °С – 2,2 атмосфер – 20 мин автоклав – 1 час	Чашки с посевами, пробирки (убивка), матрацы, одеяла, верхняя одежда инфекционных больных в дезинфицирующей камере	Питательные среды с агаром, хирургический перевязочный материал, резиновые перчатки, раствор для инфузионной терапии
4.	Тиндализация	t – 56 °С – 5–6 дней подряд водяная баня по 20 мин		Сыворотки, некоторые лекарства
5.	Фильтрация	Бактериальные фильтры, свечи		Лекарства, не выносящие прогрева (применяется для получения чистых культур вирусов)
6.	Ультразвук	Ультразвуковые волны		Продукты пищевой промышленности и др.
7.	Кипячение	t – 100 °С – 1 час Стерилизаторы	Пипетки, шпатели, предметные стекла, инструменты	С последующим автоклавированием или в сухожаровом шкафу
8.	Ультрафиолетовые лучи	Бактерицидные лампы (по 30 минут)	Воздух, поверхность столов, стен, кровь, мягкие игрушки	

Работа с автоклавом

Загрузка автоклава

Показание: стерилизация операционного белья, перевязочного материала и резиновых предметов **медицинского назначения.**

Оснащение: автоклавы, биксы

Последовательность действий

1. Определить по бирке на биксе содержимое бикса (чтобы выбрать режим стерилизации).
2. Поместить во внутреннюю камеру автоклава приготовленные биксы с открытыми отверстиями.
3. Закрыть герметично крышку автоклава.
4. Налить в автоклав воду через воронку, уровень которой определяют по водомерному стеклу
5. Установить предохранительный клапан на деление, при котором предполагают проводить стерилизацию
6. Открыть кран, отводящий воздух и пар
7. Включить автоклав в сеть

8. Закрыть кран после выхода воздуха



9. Открыть кран вновь при давлении в 1 атмосферу
10. Выпустить остаток воздуха вместе с паром
11. Закрыть кран и довести давление до заданного
12. Начать отсчет времени при достижении заданного давления
13. Выключить подогрев
14. Осторожно выпустить пар через выпускной кран по

Разгрузка автоклава

1. Отвинтить винты и открыть крышку автоклава после падения давления до нуля (не ранее)
2. Закрыть отверстия в биксах и убрать из автоклава
3. Открыть выпускной кран И выпустить воду из автоклава по окончании стерилизации
4. Держать открытым автоклав при просушивании

Загрузка сухожарового шкафа

Показание: стерилизация хирургического

инструментария

Оснащение: суховоздушные аппараты различной конструкции, хирургические инструменты

Последовательность действий:

1. Разложить на металлические сетки хирургический инструментарий так, чтобы часть отверстий была открыта для циркуляции нагретого воздуха
2. Поместить в пяти точках индикаторы стерильности
3. Закрыть дверцу шкафа, включить рубильник
4. Прогреть стерилизационную камеру в течение 5-10 минут
5. Открыть дверцу сухожарового шкафа, установить сетку с хирургическими инструментами на полки шкафа
6. Закрыть дверцу сухожарового шкафа
7. Установить ручку реле времени на требуемую длительность стерилизации

При полуавтоматическом режиме работы шкафа медицинская сестра по окончании стерилизации отключает его от сети, выключив рубильник или выключатель.

Примечание. Контрольные тесты помещают на расстоянии не менее 5 см от стенок стерилизационной камеры.



Медицинские микробиологические препараты

Бактериальные, вирусные и сывороточные препараты входят в состав медицинских биологических препаратов (МБП), к которым относятся - вакцины, анатоксины, иммуноглобулины человека, сыворотки и иммуноглобулины гетерологичные, бактериофаги, эубиотики, аллергены. МБП предназначены для профилактики, лечения и алергодиагностики инфекционных заболеваний человека. Определенная группа аллергенов используется для диагностики и лечения аллергических заболеваний неинфекционной природы. Отличительной чертой всех вышеперечисленных видов препаратов (за исключением эубиотиков) является их специфичность, что отличает МБП от других лекарственных средств.

ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА

АКТИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ ДЕТЕЙ (плановые профилактические прививки)

Мировая практика борьбы с детскими инфекциями свидетельствует о том, что активная профилактическая иммунизация является самым надежным, действенным и экономически эффективным средством современной медицины.

Иммунопрофилактика туберкулеза

Иммунопрофилактика туберкулеза проводится **живой противотуберкулезной вакциной - БЦЖ**.

Вакцина БЦЖ была получена в 1920 году французскими учеными Кальметтом и Гереном из штамма *Mycobacterium tuberculosis bovinus*. Вакцина названа в честь авторов. BCG - *Bacillus Calmette - Gueren*.

Вакцина представляет собой высушенную живую культуру вакцинного штамма туберкулезных микобактерий бычьего типа. Имеет вид белой высушенной массы. Сухую вакцину разводят непосредственно перед употреблением стерильным 0,9% раствором натрия хлорида, приложенным к вакцине. Растворитель должен быть прозрачным, бесцветным и не иметь посторонних примесей. Календарь противотуберкулезной вакцинации: Первичная вакцинация БЦЖ-М: здоровых



Прививочные препараты

новорожденных прививают на 3 - 7-ой день жизни, ревакцинацию проводят детям БЦЖ в 7 и 14 лет, имеющих отрицательную реакцию Манту.

Реакция считается отрицательной при отсутствии инфильтрата и гиперемии. Вакцину БЦЖ вводят строго внутрикожно на границе верхней и средней трети наружной поверхности левого плеча в дозе 0,05 мг в объеме 0,1 мл (БЦЖ-М – в дозе 0,025мг в объеме 0,1мл). . БЦЖ-М используют для вакцинации не привитых в роддоме по медицинским противопоказаниям и подлежащим вакцинации в детской поликлинике.

Иммунопрофилактика полиомиелита

До 1 года жизни проводится инактивированной (убитой) вакциной полиомиелита Имовакс-полио (производитель «Санофи Пастер», Франция). Вводится внутримышечно в верхнюю боковую поверхность бедра в дозе 0,5мл, содержит убитые вирусы полиомиелита. Курс вакцинации состоит из 3 прививок с интервалом 1,5 мес.

Ревакцинацию против полиомиелита производят живой аттенуированной вакциной Сэбина (ЖВС), в которой содержатся три иммунологических типа вируса полиомиелита (тип 1,2 и 3), полученных на первичной культуре клеток почек африканских зеленых мартышек. Вакцину выпускают в жидком

виде по 2,0 мл (10 доз). Одна прививочная доза - 0,2 мл или 4 капли. Вакцина - прозрачная жидкость красновато-оранжевого цвета, без осадка, без посторонних включений. Вакцину закапывают в рот ребенка, после чего в течение 1 часа не разрешается его ни кормить, ни поить.

Иммунопрофилактика коклюша, дифтерии и столбняка

Для профилактики коклюша, дифтерии и столбняка применяют несколько различных препаратов. Для иммунизации против всех трех инфекций сразу используют адсорбированную коклюшно-дифтерийно-столбнячную вакцину - АКДС. Она состоит из взвеси убитых коклюшных микробов и очищенных дифтерийного и столбнячного анатоксинов, адсорбированных на гидроксиде алюминия. Препарат представляет собой суспензию белого или слегка желтоватого цвета, разделяющуюся при стоянии на прозрачную жидкую часть и рыхлый осадок, полностью разбивающийся при встряхивании.

Календарь прививок

Прививки АКДС-вакциной детям начинают с 3-х месячного возраста. Курс вакцинации состоит из 3 прививок с интервалом 1,5 мес. Прививки детям, переболевшим коклюшом, проводят АД-анатоксином. Ревакцинация АКДС-вакциной проводится однократно через 18 мес после окончания курса вакцинации.

Препарат вводят внутримышечно в верхнюю передне-наружную область бедра в дозе 0,5 мл (разовая доза). Перед прививкой ампулу необходимо тщательно встряхнуть до получения однородной взвеси.

АДС-М-анатоксин - с уменьшенным содержанием антигена вводится для профилактики дифтерии и столбняка у детей с 6-летнего возраста, подростков и взрослых.

АД-анатоксин применяется в качестве препарата для специфической профилактики дифтерии, а также для получения антитоксической дифтерийной сыворотки путем гипериммунизации лабораторных животных.

Иммунопрофилактика кори

Для иммунизации против кори применяют живую аттенуированную вакцину (ЖКВ) из штамма вируса кори Ленинград-16 (Л-16), получаемую методом культивирования в первичной культуре клеток эмбрионов японских перепелов.

Вакцина выпускается в форме лиофилизированного препарата желто-розового цвета.

Непосредственно перед использованием вакцину разводят прилагаемым растворителем по 0,5 мл растворителя на одну прививочную дозу вакцины. Вакцина должна полностью раствориться в течение 3-х минут.

Вакцину вводят подкожно в объеме 0,5 мл под лопатку или в область плеча (на границе между нижней и средней третью плеча с наружной стороны).

Календарь прививок

Вакцину вводят однократно в возрасте 12 месяцев и повторно перед поступлением в школу. Переболевшим корью прививки не проводят.

Иммунопрофилактика эпидемического паротита

Вакцина паротитная культуральная живая сухая готовится методом культивирования аттенуированного штамма вируса паротита Ленинград-3 (Л-3) на первичной культуре клеток эмбрионов японских перепелов. Вакцину разводят растворителем согласно инструкции и вводят подкожно в объеме 0,5 мл под лопатку или в область плеча. Растворенная вакцина используется немедленно и хранению не подлежит.

Календарь прививок

Вакцина предназначена для плановой и экстренной профилактики эпидемического паротита. Плановые прививки проводят двукратно в возрасте 12 месяцев и 6 лет детям, не болевшим эпидемическим паротитом.

Экстренную профилактику проводят детям с 12 месяцев, подросткам и взрослым, не болевшим эпидемическим паротитом и ранее не привитых против этой инфекции, а также имевшим контакт с

больным паротитом.

ВИЧ-инфицированные не являются противопоказанием к вакцинации.

Иммунопрофилактика гепатита В

Вакцина против гепатита В рекомбинантная дрожжевая жидкая отечественной фирмы «Комбиотех» представляет собой препарат на основе поверхностного антигена вируса гепатита В, полученного методом рекомбинации ДНК на культуре дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*), трансформированный путем включения в их геном гена, кодирующего поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), сорбированный на алюминия гидроксиде. Проведение курса вакцинации вызывает образование специфических антител к вирусу гепатита В более, чем у 90% вакцинированных.

Мутная жидкость при отстаивании разделяющаяся на два слоя: верхний - бесцветная прозрачная жидкость, нижний - осадок белого цвета, легко разбивающийся при встряхивании.

Вакцину вводят внутримышечно в дельтовидную мышцу взрослым в разовой дозе 20 мкг (1 мл), новорожденным и детям до 10 лет - 10мкг (0,5 мл) в передне-боковую сторону бедра. Введение в другие места нежелательно из-за снижения эффективности вакцинации. Перед употреблением вакцину встряхивают.

Календарь предусматривает прививку всех детей в первые часы жизни.

Курс вакцинации состоит из трех внутримышечных инъекций вакцины по двум схемам: стандартной схеме (0 - 3 - 6 мес) или экстренной схеме (0 - 1 - 2 - 12 мес). Для пациентов отделения гемодиализа вакцина вводится четырехкратно с месячным интервалом между прививками.

Иммунопрофилактика краснухи

В мире используют преимущественно тривакцину, состоящую из вакцинных штаммов кори, паротита и краснухи.

В России зарегистрированы три вакцины для профилактики краснухи: живая моновакцина Рудивакс фирмы Пастер Мерье Коннот (Франция), аналогичная вакцина института сывороток Индии (SII) и живая тривакцина MMR для профилактики кори, паротита и краснухи фирмы Мерк Шарп Доум (США). Все вакцины получены с использованием аттенуированного штамма Wistar RA 27/3, который культивируется на диплоидных клетках человека. Вакцины выпускаются в лиофилизированном виде.

Растворенный препарат вводят однократно подкожно с 12 месячного возраста.

Вакцинация против краснухи может быть эффективной при условии двукратного введения вакцины (на 2-м году и после 6 лет) и охвата 95% детей. В противном случае заболеваемость краснухой может увеличиться за счет населения старших возрастных групп.

СЕРОПРОФИЛАКТИКА И СЕРОТЕРАПИЯ

Пассивная иммунизация, основанная на введении в организм человека препаратов, содержащих специфические антитела, широко применяется при проведении экстренной профилактики тех инфекционных болезней, при которых ведущим фактором невосприимчивости является гуморальный иммунитет (антитоксический, противовирусный, антибактериальный), а также для специфической терапии этих заболеваний.

Пассивная иммунизация осуществляется двумя видами сывороточных препаратов:

иммуноглобулинами человека (ИГЧ) и гетерологичными сыворотками, полученными от

гипериммунизированных животных, в основном лошадей.

Экстренная профилактика сывороточными препаратами проводится лицам, не привитым против соответствующей инфекции и ранее не болевшим ею в возможно более ранние сроки после вероятного инфицирования.

По своим свойствам ИГЧ подразделяют на 2 группы - ИГЧ нормальный (старое название противокоревой



Препараты иммуноглобулинов

гамма-глобулин) и *специфические ИГЧ*.

Препараты гетерологичных сывороток используют в основном для экстренной профилактики и лечения токсинемических, а также некоторых вирусных и бактериальных инфекций.

Помимо вышеуказанных препаратов выпускаются иммунные сыворотки, нейтрализующие яд змей (гюрзы, эфы, кобры) и паука каракурта.

Для профилактики анафилактического шока перед введением любой лошадиной сыворотки обязательна постановка внутрикожной пробы с разведенной 1:100 лошадиной сывороткой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИГОДНОСТИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Проверка физических свойств иммунобиологических препаратов перед проведением прививок.

Проверить этикетку или маркировку препарата на коробке, ампуле (флаконе), прочесть данные о препарате, сроке годности, проверить целостность ампул, соответствие требованиям внешнего вида.

При отсутствии этикетки, истечения срока годности, нарушения герметичности ампул, изменения внешнего вида (цвета, наличия хлопьев, посторонних включений и т.п.) применять препараты нельзя.

Сухая вакцина в ампуле должна быть в виде порошка или однородной пористой таблетки.

Сморщивание таблетки, ее неоднородность, увлажнение, изменение цвета или образование неравномерной взвеси при добавлении растворителя указывают на проникновение воздуха и порчу вакцины. Такой препарат следует уничтожить. Убитые бактериальные вакцины и адсорбированные анатоксины - жидкие препараты, содержат прозрачную надосадочную жидкость и осадок.

Сыворотки и иммуноглобулины - прозрачные слегка опалесцирующие жидкости.

Неадсорбированные анатоксины, токсины, жидкие бактериофаги, инактивированная лептоспирозная вакцина, живая полиомиелитная вакцина прозрачны. Адсорбированные препараты перед использованием встряхивают для получения гомогенной взвеси - но если произошло замораживание и оттаивание адсорбированных на гидроокиси алюминия АКДС-вакцины, АДС-, АД- и АС-анатоксинов, то изменяется цвет, образуются неразбивающиеся хлопья. Вакцины утрачивают иммуногенность, вызывают сильные реакции при введении. Ампулы с вакциной вскрывают перед введением, предварительно протерев спиртом с препаратом и с растворителем.

Иммунизация – введение микробиологических препаратов с целью создания иммунитета

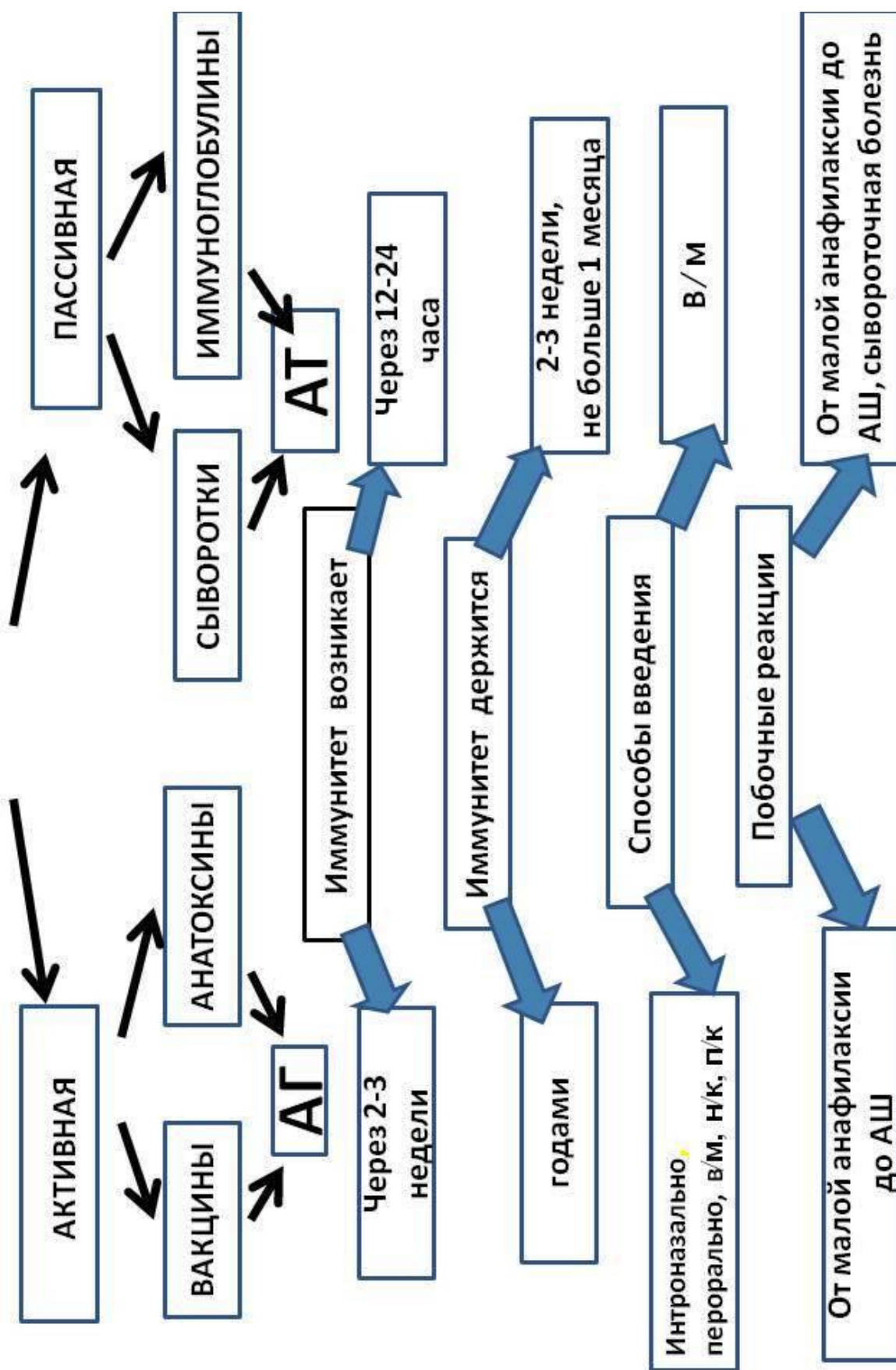


Таблица 1

Характеристика прививочных препаратов

Название препарата	Состав	Внешний вид	Доза	Способ и место введения	Схема прививки	Физиологические реакции на прививку	Цель применения препарата
Вакцина БЦЖ-М, живая сухая	Ослабленные микобактерии	Сухая пористая масса кремового цвета	0,025 мг сухого вещества 0,1 мл раствора	внутрикочно, верхняя треть плеча	V – первые 3–7 дней жизни R – 7 лет при отрицательной реакции Манту	1. Общие реакции отсутствуют 2. Местно: на 4 неделе – папула, к 3–4 мес. – инфильтрат с корочкой, на 4–6 мес. – рубчик	Создание активного иммунитета против туберкулеза

Таблица 2

Характеристика микробиологических лечебных препаратов

Название лечебного препарата	Состав	Внешний вид. Форма выпуска	Механизм действия	Показания к применению	Способ введения	Побочные действия
Лейкоцитарный интерферон Реаферон Чигаин Лактобактерин Колибактерин Бифидумбактерин Бификол и т. д.						

Микроскопические методы исследования морфологии бактерий и грибов ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Для приготовления препарата исследуемый материал берут из пробирки, колбы или чашки Петри бактериологической петлей или стерильной пипеткой.

Приготовление препарата для изучения микроорганизмов в нативном виде.

Метод «висячей капли». Препарат готовят на покровном стекле, в центре которого наносят одну каплю бактериальной культуры. Затем предметное стекло с лункой, края которой предварительно смазывают вазелином, прижимают к покровному стеклу так, чтобы капля находилась в центре лунки. Быстрым движением переворачивают препарат покровным стеклом вверх. В правильно приготовленном препарате капля должна свободно висеть над лункой, не касаясь ее дна или края. Для микроскопии вначале используют малый сухой объектив 8X, под увеличением которого находят край капли, а затем устанавливают объектив 40X и исследуют препарат.

Метод «раздавленной» капли. На поверхность обезжиренного предметного стекла наносят каплю исследуемого материала или суспензию бактерий и покрывают ее покровным стеклом. Капля должна быть небольшой, не выходящей за край покровного стекла. Микроскопируют препарат с объективом 40X.

Приготовление фиксированных препаратов-мазков.

Для приготовления препарата на обезжиренное предметное стекло наносят каплю воды или изотонического раствора хлорида натрия, в которую петлей вносят исследуемый материал и распределяют его таким образом, чтобы получить тонкий и равномерный мазок. При таком распределении материала в мазке при микроскопии можно увидеть изолированные бактериальные клетки. Если исследуемый материал содержится в жидком виде, то его непосредственно наносят петлей на предметное стекло и готовят мазок. Мазки высушивают на воздухе или в струе теплого воздуха над пламенем горелки, не давая капле закипать.

Для фиксации мазка предметное стекло (мазком вверх) медленно проводят 3 раза через пламя горелки. Микроорганизмы при фиксации погибают, плотно прикрепляясь к поверхности стекла, и не смываются при дальнейшей обработке. Более длительное нагревание может вызвать деформацию клеточных структур. Мазки крови, мазки-отпечатки органов и тканей и в некоторых случаях мазки из культур микроорганизмов фиксируют погружением на 15-20 мин. в метиловый или этиловый спирт, смесь Никифорова, сулемовый спирт и другие фиксирующие жидкости.

Рис. 1. Фиксация препарата-мазка пламенем



МЕТОДЫ ОКРАСКИ МАЗКОВ

Простой метод. Фиксированный мазок окрасить каким-либо одним красителем, например фуксином водным (1-2 мин) или метиленовым синим (3-5 мин), промыть водой, высушить и микроскопировать.

Сложные методы. Последовательно нанести на препарат определенные красители, различающиеся по химическому составу и цвету, протравы, спирты, кислоты и др. Это позволяет выявить определенные структуры клеток и дифференцировать одни виды микроорганизмов от других. Окрас методом Грама является сложным методом.

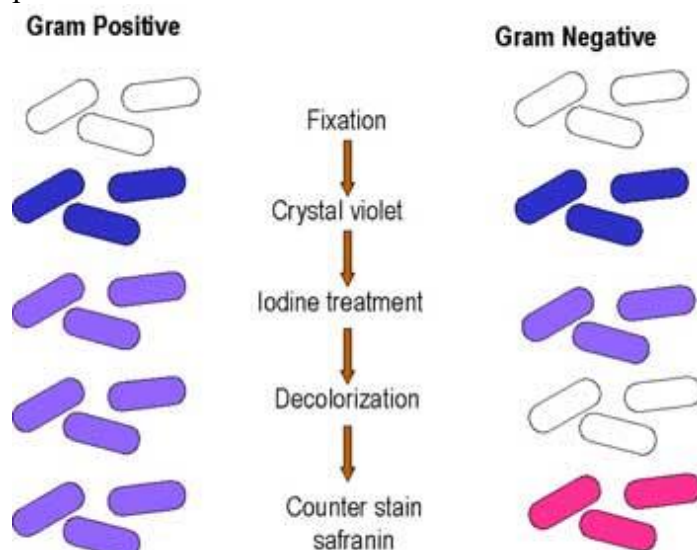


Рис.2. Окрас методом Грама (схема).

- На фиксированный мазок нанести карболово-спиртовой раствор генцианового фиолетового через полоску фильтровальной бумаги. Через 1-2 мин ее снять, а краситель слить.
- Нанести раствор Люголя на 1-2 мин.
- Обесцветить этиловым спиртом в течение 30-60 с до прекращения отхождения фиолетовых струек красителя.
- Промыть водой.
- Докрасить водным раствором фуксина в течение 1-2 мин, промыть водой, высушить и микроскопировать.

Грамположительные бактерии окрашиваются в **темно-фиолетовый цвет**, **грамотрицательные** - в **красный**.

ЗНАКОМСТВО С МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ТЕХНИКОЙ. РАБОТА С БИОЛОГИЧЕСКИМ МИКРОСКОПОМ.

Для микроскопических исследований используют несколько типов микроскопов (биологический, люминесцентный, электронный и другие) и специальные методы микроскопии (фазово-контрастный, темнопольный и др.).



Рис 3. Светооптический биологический микроскоп.

Рис. 3. Светооптический биологический микроскоп.

При микроскопии препаратов с иммерсионным объективом следует строго придерживаться определенного порядка в работе:

1. на приготовленный и окрашенный мазок на предметном стекле нанести каплю иммерсионного масла и поместить его на предметный столик, укрепив зажимами;
2. повернуть револьвер до отметки иммерсионного объектива X90;
3. осторожно опустить тубус микроскопа до погружения объектива в каплю масла;
4. установить ориентировочный фокус при помощи макрометрического винта;
5. провести окончательную фокусировку препарата микроскопическим винтом, вращая его в пределах только одного оборота.

Рис. 4. Иммерсионный объектив (с черной полосой) погружают в каплю масла на препарате-мазке.



По окончании работы с микроскопом необходимо вытереть масло с иммерсионного объектива и перевести револьвер на малый объектив x 8.

ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ ПО МОРФОЛОГИЧЕСКИМ И ТИНКТОРИАЛЬНЫМ ПРИЗНАКАМ

При микроскопии мазков изучают морфологические и тинкториальные свойства культур бактерий: форму, структуру и размер клеток, наличие спор, капсулы, жгутиков, пилей, расположение клеток относительно друг друга, цвет в соответствии с использованными методами окраски, наличие и

характер подвижности.

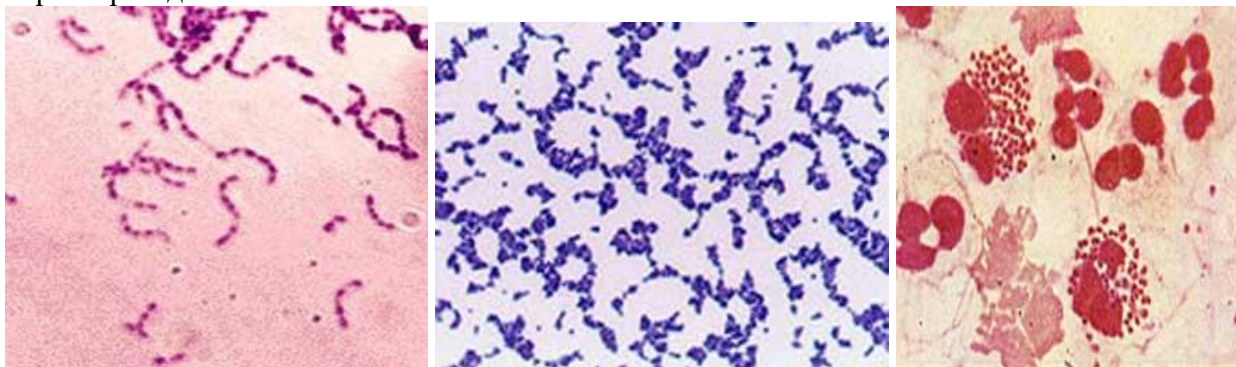


Рис. 5. Стрептококки (род *Streptococcus*), стафилококки (род *Staphylococcus*), менингококки (род *Neisseria*).

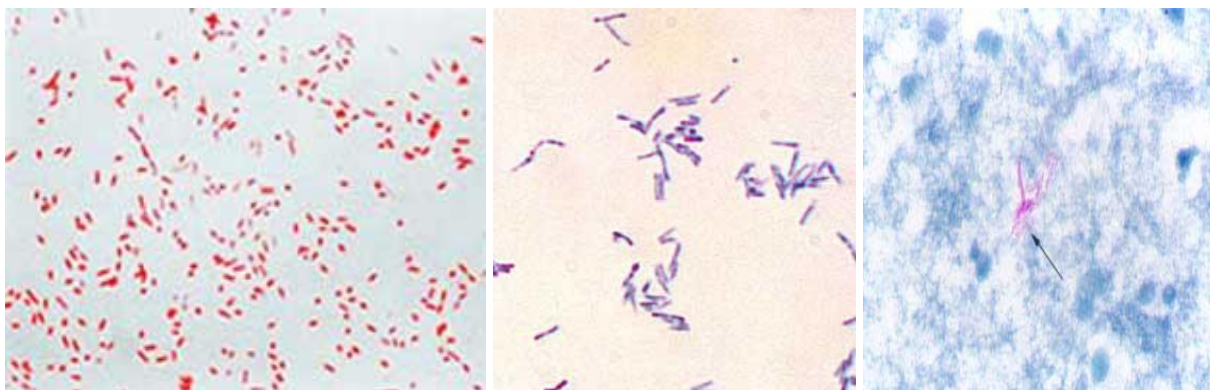


Рис. 6. Кишечная палочка (род *Escherichia*), дифтерийная палочка (род *Corynebacterium*), микобактерии туберкулеза (род *Mycobacterium*).

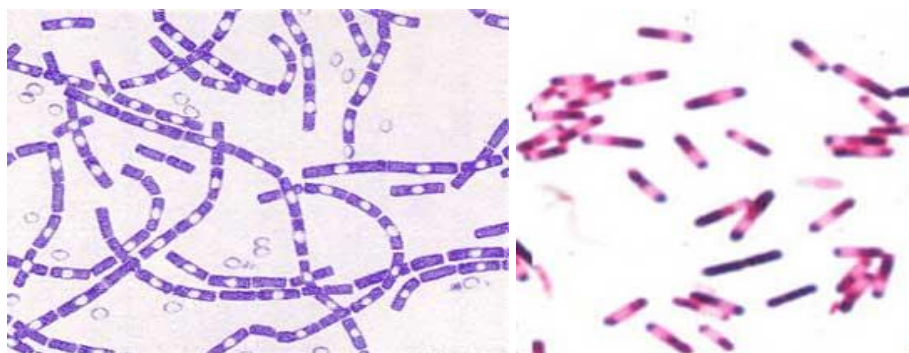


Рис. 7. Возбудитель сибирской язвы (род *Bacillus*), возбудитель газовой гангрены (род *Clostridium*).

NB!

САХАРНЫЙ БУЛЬОН – специальная среда, используется для посева крови на стерильность у больных с диагнозом лихорадка неясной этиологии.

ЖЕЛЧНЫЙ БУЛЬОН – элективная жидкая среда, используется для посева крови на гемокультуру (на тифо-паратифозную группу микроорганизмов) у больных с диагнозом – лихорадка неясной этиологии.

СЫВОРОТОЧНЫЙ АГАР – специальная среда, используется для посева мазков на менингококк из носоглотки.

КРОВЯНОЙ АГАР С ТЕЙЛУРИТОМ КАЛИЯ – дифференциальная диагностическая среда, используется для посева мазков на **BL** (дифтерийную палочку).

КИШЕЧНЫЙ БУФЕР – транспортная среда, используется для забора и хранения кала на посев на кишечную группу вне работы бактериологической лаборатории.

ИЕРСИНИОЗНЫЙ БУФЕР – транспортная среда, используется для забора и хранения кала на посев на иерсиниозную группу вне работы бактериологической лаборатории.

ЭТАПЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

I этап (1 день). Посев материала от больного на питательные среды: рост микроорганизмов в термостате 18–24 часа при +37 °С.

II этап (2 день). Оценка культурных свойств микроба, выбор колоний: откол культуры микробов (обязательно с изолированной колонии на скошенный агар, рост в термостате при +37 °С).

III этап (3 день). Идентификация микробов:

1) контроль чистой культуры (оценка морфологических и тинкториальных свойств микроорганизмов);

2) оценка ферментативных свойств (биохимической активности микроорганизмов, т.е. определение биовара) с помощью посева на среду Гисса – в «пестрый» ряд, рост в термостате при температуре +37 °С, через 18–24 часа определение рода микроорганизма на следующий день;

3) оценка антигенных свойств, т.е. определение серовара (серовариантов) с помощью реакции агглютинации на стекле со специфической сывороткой, соответствующей возбудителю (его виду) – определение вида микроорганизма;

4) оценка токсигенных свойств микроорганизмов с помощью посева на кровяной агар для определения гемолиза или заражение лабораторных животных с оценкой на следующий день;

5) определение чувствительности к антибиотикам и бактериофагам.

IV этап. Оценка роста на среде Гисса, определение биовара (рода микроорганизмов):

оценка токсигенных свойств на кровяном агаре по гемолизу;

2) оценка чувствительности к антибиотикам и определение фаготипа.

1)

Критерии оценки

Диаметр зоны	Степень чувствительности микроба	Назначение лечения
От 0 до 7 мм	Не чувствителен –	НЕ лечим
От 8 до 15 мм	Слабо чувствителен +	НЕ лечим

От 16 до 25 мм	Чувствителен ++	Можно лечить
	Высокочувствителен +++	Можно лечить
От 26 мм и более		

Примерный ответ бактериологической лаборатории.

Из исследуемого материала выделена культура шигелл Флекснера, серовар 3а, чувствительная к ципрофлоксацину, тетрациклину, гентамицину и нечувствительная к пенициллину.



Набор индикаторных дисков, пропитанных разными антибиотиками, для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам при микробиологическом исследовании

АНТИБИОТИКИ

Антибиотики – это биологически активные вещества, выделяемые микроорганизмами или вещества синтетического происхождения, способные подавлять рост микроорганизмов и раковых клеток.



Реакции связывания комплемента.

РИФ и ИФА.

РЕАКЦИЯ СВЯЗЫВАНИЯ КОМПЛЕМЕНТА

Реакция протекает в две фазы.

Первая фаза - взаимодействие антигена и антител при обязательном участии комплемента.

Вторая - выявление результатов реакции при помощи индикаторной гемолитической системы (эритроциты барана и гемолитическая сыворотка). Разрушение эритроцитов гемолитической сывороткой происходит только в случае присоединения комплемента к гемолитической системе. Если же комплемент адсорбировался ранее на комплексе антиген-антитело, то гемолиз эритроцитов не наступает.

Результат опыта оценивают, отмечая наличие или отсутствие гемолиза во всех пробирках.

Реакцию считают положительной при полной задержке гемолиза, когда жидкость в пробирке бесцветна и эритроциты оседают на дно, отрицательной - при полном лизисе эритроцитов, когда жидкость интенсивно окрашена («лаковая» кровь). Степень задержки гемолиза оценивают в зависимости от интенсивности окраски жидкости и величины осадка эритроцитов на дне (++++, +++, ++, +).

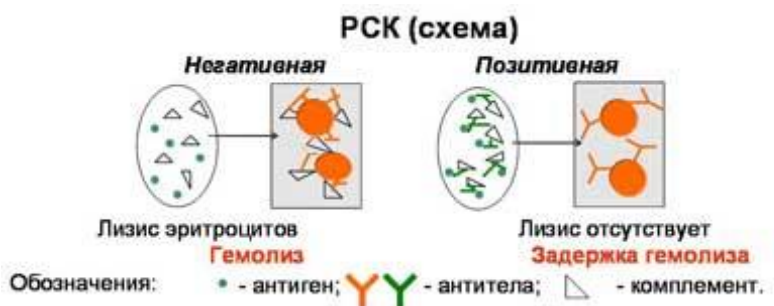


Рис. 1. Схема реакции связывания комплемента.

Основной опыт РСК

Фаза реакции	Ингредиенты, участвующие в реакции	Номера пробирок				
		1, опыт	2, КС	3, КА	4, КГ	5, КК
1.	1. Исследуемая сыворотка, мл	0,5	0,5	-	-	-
	2. Антиген в раб. дозе, мл	0,5	-	0,5	-	-
	3. Комплемент в раб. дозе, мл	0,5	0,5	0,5	-	0,5
	4. Изотонический раствор, мл	-	0,5	0,5	1,5	1,0
Инкубация при 37 С в течение 30 мин						
2.	5. Гемолитическая система, мл	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Инкубация при 37 С в течение 30 мин						
Результат:						
Условные обозначения:		(+) задержка гемолиза; (-) гемолиз.				

Рис. 2. Постановка и результат РСК.

Выводы: **В исследуемой сыворотке выявлены антитела.**

РСК позволяет выявить антитела к любому штамму одного и того же серотипа вируса.

Диагностическое значение имеет четырехкратное увеличение титра антител в парных сыворотках (в период эпидемии гриппа) и двукратное нарастание в сыворотках крови больных при характерной клинической картине.

**Результаты РСК с парными сыворотками крови больного (1 и 2)
при серодиагностике гриппа и других ОРВИ**

Диагностикум	Сыворотка №	Разведения сыворотки					Контроль сыворотки
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	
Вирус гриппа А (H3N2)	1	+	+	-	-	-	-
	2	+	+	+	+	-	-
Вирус гриппа В	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-
Аденовирус (поливалентный)	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-
РСВ	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-

Условные обозначения: + - задержка гемолиза
- - гемолиз



Рис. 3. Серодиагностика с парными сыворотками.

Выводы: **В парных сыворотках больного выявлено четырехкратное увеличение титра антител к вирусу гриппа А.**

МЕТОД ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ (МФА) или РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ (РИФ)

Иммунофлюоресцентный метод является методом выбора для быстрого выявления и идентификации неизвестного микроорганизма в исследуемом материале.

Аг + **АТ** + электролит = **светящийся в УФ - лучах комплекс**
Микроб сыворотка, меченная флюорохромом

Часто используют краситель **изотиоционат флюоресцина - ФИТЦ**

При исследовании этим методом используют **люминесцентный** микроскоп.

Постановка Р И Ф

- На мазок наносят 30 мкл раствора ФИТЦ-меченных антител.
- Помещают стекло во влажную камеру и выдерживают при комнатной температуре в течение 20-25 мин, или в термостате при 37° С в течение 15 мин.
- Промывают стекло в проточной водопроводной воде 2 мин, ополаскивают дистиллированной водой и высушивают на воздухе.
- На высушенный мазок наносят каплю монтирующей жидкости, мазок накрывают покровным стеклом и микроскопируют с использованием люминесцентного микроскопа или люминесцентной насадки к обычному оптическому микроскопу.



Рис. 4. Пневмококки, выявленные РИФ (люминесцентная микроскопия).

ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ (ИФА)

Иммуноферментный анализ или метод – выявление антигенов с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с ферментом-меткой. После соединения антигена с меченой ферментом иммунной сывороткой в смесь добавляют субстрат-хромоген. Субстрат расщепляется ферментом и **изменяется цвет продукта реакции** – интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител. ИФА применяют для диагностики вирусных, бактериальных и паразитарных болезней, в частности для диагностики ВИЧ-инфекций, гепатита В и др., а также определения гормонов, ферментов, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ, содержащихся в исследуемом материале.

Прямой твердофазный ИФА (схема)

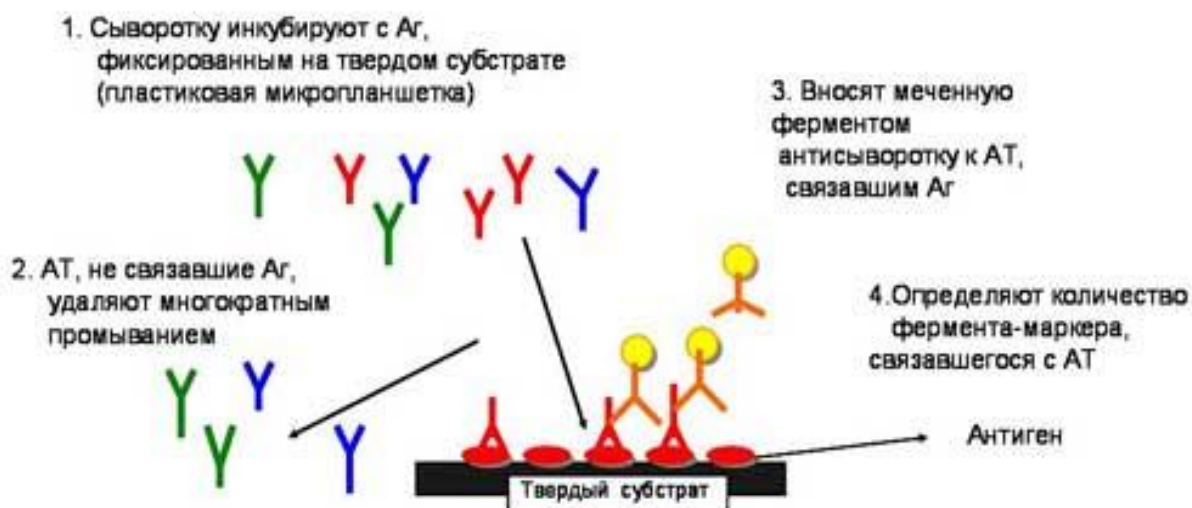


Рис. 5. Иммуноферментный анализ (ИФА) (схема).

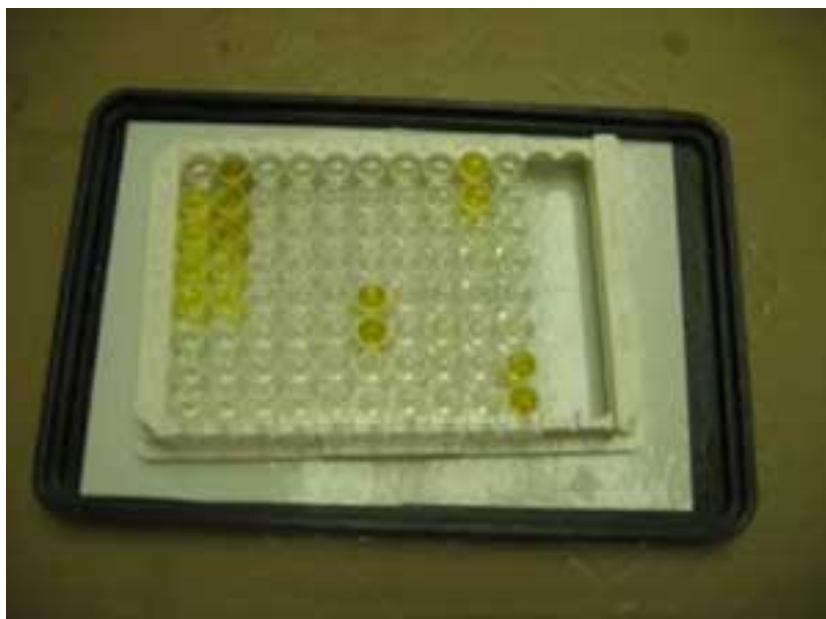


Рис. 6. Результат ИФА. Желтый цвет раствора в лунке является положительным результатом.

Алгоритмы манипуляций по дисциплине

9.6. ПЕРЕЧЕНЬ МАНИПУЛЯЦИЙ

1. Приготовить мазки из нативного материала и культуры микроорганизмов.
2. Окрасить мазки по Граму.
3. Провести иммерсионную микроскопию микропрепарата.
4. Дать характеристику основных форм микроорганизмов путем микроскопии готовых микропрепаратов.
5. Провести посев материала больного петлей, тампоном, шпателем.
6. Определить чувствительность микроорганизмов методом индикаторных дисков.
7. Собрать, сохранить и транспортировать материал от инфицированного больного в бактериологическую и иммунологическую лабораторию. Изучить требования к забору крови, хранению крови для серологических и иммунологических исследований.
8. Проводить бракераж микробиологических препаратов.
9. Хранение и транспортировка микробиологических препаратов (привычные препараты).
10. Поставить серологический диагноз.
11. Вводить основные прививочные препараты, сыворотки, иммуноглобулины, бактериофаги и др. микробиологические препараты (дозы, способы и места введения).
12. Вводить гетерогенные сыворотки и иммуноглобулины дробно.
13. Приготовить мазок и толстую каплю крови на малярию.
14. Алгоритм действий фельдшера (медсестры) при проведении прививок (включает 8, 9, 11 пункт перечисленных манипуляций).
15. Аprobация проектов профилактических бесед студентами по темам:
 - «Профилактика бактериальных инфекций»
 - «Профилактика вирусных инфекций»,
 - «Профилактика протозоозов и гельминтозов»
 - «Профилактика микозов»

**Зачетные манипуляции для специальности 31.02.01 Лечебное дело:
№ 3,4,5,7,8,9,11,15**

10. АЛГОРИТМЫ МАНИПУЛЯЦИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

Алгоритм № 1

Приготовление мазка с колонии на чашке Петри или скошенного агара

Цель. Подготовить мазок для окраски и микроскопии.

Показания. Микроскопия микропрепарата.

Подготовка оснащения. Предметные стекла, дистиллированная вода, бактериальная петля, пинцет, спиртовка, спички, чашка Петри с колониями, пробирки со скошенным агаром с культурой микроорганизма.

Схема ориентировочной основы действия (ООД)

Что делать?	Как делать?
Приготовить мазок	1. Предметное стекло подписать, рабочую поверхность стекла прокалить над пламенем спиртовки, нанести каплю дистиллированной воды 2. Бактериальную петлю прокалить над пламенем спиртовки 3. Открыв пробирку с культурой или чашку с колониями, набрать петлей материал, пробирку или чашку закрыть 4. На предметное стекло в край капли дистиллированной воды внести и хорошо размешать культуру микроорганизма 5. Равномерно распределить культуру по поверхности стекла, не выходя на край, чтобы получился тонкий овальный мазок 6. Петлю прокалить 7. Мазок высушить на воздухе, зафиксировать, проводя медленно над пламенем горелки 3 раза. Мазок готов к окраске

Алгоритм № 2

Окраска по Граму

Цель. Подготовить микропрепарат для иммерсионной микроскопии.

Показания. Для оценки морфологических и тинкториальных свойств микроорганизмов в ходе микроскопии.

Подготовка оснащения. Зафиксированный мазок на предметном стекле, полоски бумаги, пропитанные генцианом фиолетовым (по Синеву), дистиллированная вода, лоток с саночками, раствор Люголя, фуксина, спирт 96°, пинцет.

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Окрасить мазок на предметном стекле по Граму генциан фиолетовым (генциан виолетом)	1. Зафиксированный мазок укладывается на саночки над лотком 2. На фиксированный мазок помещают полоску бумаги, приготовленную по Синеву, смачивают водой, выдерживают 1–2 минуты 3. Снимают пинцетом бумагу. Не промывая препарата водой, стряхивают краситель и наносят раствор Люголя на 1 мин до полного почернения 4. Стряхивают раствор Люголя, не промывая водой, наносят спирт 96° на 20–30 секунд 5. Препарат тщательно промывают водой

	Докрашивают препарат фуксином Пфейффера в течение 1–2 минут. Краситель смывают водой, мазок высушивают, микропрепарат готов для микроскопии
--	---

Результат. Грамположительные микробы окрашиваются генциан фиолетовым в синий (фиолетовый) цвет, грамотрицательные окрашиваются фуксином в красный (розовый) цвет.

Алгоритм № 3 Техника иммерсионной микроскопии

Цель. Определить наличие чистой культуры микроорганизма. Оценить морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов.

Показания. Диагностика протозойных заболеваний и микозов.

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Приготовить микроскоп для иммерсионной микроскопии	1. При малом увеличении микроскопа с помощью зеркала добиться хорошей освещенности поля зрения 2. Перевести объектив МИ-90 в рабочее положение (над апертурой)
Приготовить микропрепарат для иммерсионной микроскопии	3. На предметный столик микроскопа положить окрашенный мазок с нанесенным иммерсионным маслом, закрепить зажимами 4. Опустить объектив в масло под контролем глаз до соприкосновения со стеклом, вращая макровинт от себя
Проводить иммерсионную микроскопию микропрепарата	5. Глядя в окуляр, медленно поворачивать макровинт на себя до получения изображения 6. Микровинтом установить четкое изображение, определить форму микроорганизмов, расположение, отношение к окраске, наличие чистой культуры или разных микроорганизмов

П р и м е ч а н и е. 1) Форма микроорганизмов, их расположение – это морфологические свойства.

2) Отношение к окраске – тинкториальные свойства.

Алгоритм № 4

Характеристика микроорганизмов путем иммерсионной микроскопии микропрепаратов

Цель. Оценить наличие чистой культуры микроорганизма.

Оценить морфологические свойства микроорганизма (группа, формы, строение, расположение микроорганизма).

Оценить тинкториальные свойства микроорганизма (Г+ микроорганизма – синий, Г– микроорганизма – красный).

Показания. Диагностика протозойных заболеваний и микозов.

Оценка наличия чистой культуры микроорганизмов, определение их морфологических и тинкториальных свойств перед идентификацией.

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Оценить наличие чистой культуры	Если микроорганизмы в микропрепарате все одинаковые – это чистая культура, если микроорганизмы разные – это нативный материал или произошло вторичное инфицирование чистой культуры
Оценить морфологические свойства микроорганизма	1. С помощью световой микроскопии можно рассмотреть следующие группы микроорганизмов: а) простейшие, б) грибы, в) бактерии. С помощью иммерсионной микроскопии диагноз можно поставить только при протозойных заболеваниях (простейшие) и микозах (патогенные грибы), т.к. <i>простейшие и грибы во много раз крупнее бактерий</i>. Диагностика протозойных заболеваний проводится в паразитологических лабораториях на базах ЦГСЭН 2. Выявив бактерии, определить форму микроорганизмов (палочковидную, кокковидную и извитую) 3. Оценить форму палочковидных бактерий (овоидной, цилиндрической или другой формы) 4. Определить расположение кокков друг к другу (стафилококки, стрептококки, диплококки и др.)
Оценить тинкториальные свойства микроорганизма	1. Если микроорганизмы окрасились в синий цвет генциан фиолетом, это Г+ 2. Если микроорганизмы окрасились в красный цвет фуксином, это Г–

Результат. 1. Для протозойных заболеваний и микозов основной метод лабораторной диагностики – микроскопический.

2. Для бактериозов путем микроскопии материала больного поставить диагноз нельзя, можно только оценить наличие чистой культуры микроорганизма, морфологические и тинкториальные свойства его. Основной метод лабораторной диагностики для бактериальных инфекций – микробиологический.

3. Основной метод лабораторной диагностики вирусных инфекций и риккетсиозов – серологический и иммунологический.

Алгоритм № 5

Метод посева полосками на плотной питательной среде с помощью бактериальной петли

Цель. Получение изолированных колоний.

Показания. Для откола микроорганизмов на скошенный агар и проведения идентификации в ходе микробиологического исследования.

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Забрать бактериальной петлей исследуемый материал	1. Прокалить петлю в пламени спиртовки 2. В левую руку взять пробирку с материалом, мизинцем правой руки открыть пробку пробирки, прижать ее к ладони (пробку на стол класть нельзя) 3. Бактериальной петлей забрать материал из пробирки, пробирку закрыть, поставить в штатив
Засеять исследуемый материал с помощью бактериальной петли полосками	1.левой рукой взять чашку Петри с агаром (крышкой вверх), приоткрыть ее 2. Правой рукой с помощью бактериальной петли внести материал в чашку Петри, нанося с края чашки частые полоски без отрыва от одного края до другого примерно на 1/3 поверхности 3. На оставшейся поверхности нанести полоски через 1–2 см с отрывом в одном направлении 4. Чашку закрыть, повернуть дном вверх, поставить на стол, затем убрать в термостат 5. Петлю прокалить и поставить в стакан

Результат оценивать через 18–24 часа.

Метод посева полосками на плотную среду с помощью тампона

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Посеять исследуемый материал на плотную питательную среду полосками	1.левой рукой взять пробирку с тампоном, правой рукой извлечь тампон, взяв его тремя пальцами, как карандаш 2. Пробирку поставить в штатив, левой рукой взять чашку Петри крышкой вверх, кончиками пальцев приоткрыть ее 3. Тампон внести в чашку и наносить материал от края чашки частыми штрихами без отрыва на 1/3 площади 4. На оставшейся поверхности чашки нанести полоски через 1–2 см с отрывом в одном направлении 5. Чашку закрыть, повернуть дном вверх, поставить на стол, а затем в термостат. Тампон поместить в пробирку с жидкой питательной средой

Результат оценивать через 18–24 часа.

Посев методом растирания шпателем на агаре

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Забрать бактериальной петлей исследуемый материал	1. Прокалить петлю в пламени спиртовки 2. В левую руку взять пробирку с материалом, мизинцем правой руки открыть пробку пробирки, прижать ее к ладони (пробку на стол класть нельзя) 3. Бактериальную петлю внести в пробирку с материалом, извлечь, пробирку закрыть, поставить в штатив
Перенести исследуемый материал петлей на агар	1.левой рукой взять чашку Петри с агаром, приоткрыть ее 2. Правой рукой внести каплю материала на поверхность агара с помощью бактериальной петли. Затем бактериальную петлю прокалить, поставить в стакан
Посев методом растирания шпателем	1. В правую руку взять стерильный шпатель и вращательными движениями растереть материал по поверхности агара 2. Шпатель сбросить в дезраствор, чашку Петри закрыть, поставить на стол дном вверх, затем убрать в термостат

Алгоритм № 6

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам (метод бумажных дисков)

Цель. Определить группу антибиотиков, с помощью которых можно лечить пациента.

Показания. Для назначения антибактериальной терапии, так как у бактерий вырабатывается устойчивость (резистентность) к антибиотикам при частом или длительном использовании препаратов или при самолечении больного.

Оснащение:

- чашка Петри с МПА;
- испытуемая культура микроорганизмов (материал больного);
- бактериальная петля;
- спиртовка, спирт, спички;
- прозрачная линейка;
- индикаторные диски, пропитанные антибиотиками;
- пинцет, шпатель.

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Определить чувствительность микроорганизма методом бумажных дисков	1. На чашку с МПА засеять испытуемую культуру микроорганизма (посев шпателем) 2. На поверхность засеянного агара разложить диски, пропитанные антибиотиками на расстоянии примерно 3 см друг от друга 3. Чашку поставить в термостат +37° на 18–24 часов На следующий день произвести учет результатов по диаметру зоны задержки роста (измеряют прозрачной линейкой со стороны дна чашки)

Результат оценивать по следующей таблице.

Критерии оценки

Диаметр зоны	Степень чувствительности микроба	
От 0 до 7 мм От 8 до 15 мм	Не чувствителен – Слабо чувствителен +	Не лечим
От 16 до 25 мм От 26 мм и более	Чувствителен ++ Высокочувствителен +++	Лечим

Алгоритм № 7

Забор, хранение и транспортировка материала от инфекционного больного

Микробиологический метод

Цель. Найти возбудителя в материале больного.

Показания. Основной диагностический метод для бактериальных инфекционных заболеваний.

Подготовка больного:

– сразу при поступлении до специфического лечения (кал на посев, мазки из носоглотки, мазки на ВЛ);

– перед выпиской после курса лечения;

– кровь на посев забирается в течение дня на подъеме температуры (38–39 °С).

Требования к забору, хранению и транспортировке материала от инфекционного больного для микробиологического исследования (на посев)

1. Забор материала у больного на посев производится сразу при поступлении до начала лечения, чем раньше от начала заболевания, тем вероятность находки возбудителя больше.

2. Перед забором необходимо заполнить направление.

3. Во время забора необходимо предупредить вторичное инфицирование материала больного:

1) сбор материала осуществляется в стерильную посуду, которая хранится в стационаре в холодильнике (t +4 °С) и получена из бактериологической лаборатории. Стерильную посуду и питательные среды перед забором подогреть до 30–37 °С в термостате 10–15 минут или в водяной бане, кроме посуды для забора кала на посев (хранится в заборном шкафу, при комнатной температуре, перед забором не подогревается). Забор проводится в перчатках;

2) забор материала производится чистыми руками, руки перед забором 2-кратно вымыть под проточной водой;

3) посуда для сбора материала не должна содержать дезинфицирующих веществ, горшок перед сбором кала хорошо промыть водой после дезинфекции.

4. Материал должен быть доставлен в бактериологическую лабораторию немедленно или не позднее 2–3 часов после забора в контейнере.

5. Вне работы лаборатории материал должен быть забран в транспортную среду и может храниться в отделении в термостате (+37 °С) или холодильнике (+4 °С) в течение 12 часов, а утром транспортировать в контейнере в бактериологическую лабораторию.

6. Если лаборатория работает:

1) Кровь на посев забирается из вены во флакон с бульоном в количестве 1:10 = кровь : бульон. Флакон с бульоном перед забором обязательно прогревается. Сам забор проводится в палате, которую перед этим кварцуют. Забор крови проводится в маске. Сброс крови во флакон осуществляется над спиртовкой, не касаясь краев флакона без иглы. Кровь забирается в течение дня на подъеме температуры. Транспортируется в контейнере на грелке (+37 °С) немедленно в лабораторию. Посев крови проводится двумя медработниками.

NB!

Особенности забора

- кровь забирается из вены 1:10 = кровь: бульон;
- сброс крови над спиртовкой без иглы, не касаясь края.

2) Мазки на посев собираются в стерильные подогретые пробирки. Транспортируются немедленно в контейнере на грелке (+37 °С) в бактериологическую лабораторию.

а) Мазки из носоглотки на менингококк забираются металлической палочкой, изогнутой под углом 135 градусов. Менингококк – неустойчивый микроорганизм, поэтому сразу после забора *посев на сыровороточный агар **всегда** около постели больного независимо от работы лаборатории.* – **NB!** Мазок помещают в полужидкий агар.

б) Мазки на BL (на дифтерийную палочку) забираются всегда из носа и из зева (или ротоглотки).

Если у больного ангина, то забор проводят из носа и из зева. *Из зева мазок берут на границе больной и здоровой ткани (никогда – с налета).* – **NB!**

Для этого нужны 2 пробирки с мазками на деревянных палочках.

Если у больного дифтерия дыхательных путей, забор проводят из носа и ротоглотки. Для этого нужны 2 пробирки, из них одна с мазком на деревянной палочке (для носа), а другая с мазком на металлической палочке (для ротоглотки).

в) Кал на посев забирается стеклянной палочкой всегда из горшка или судна больного, *никогда из прямой кишки* – **NB!**

Если у больного нет стула, необходимо сделать клизму и забрать материал из горшка. Материал забирается в количестве 2–3 г из разных мест, берется слизь и гной. *Никогда не забирается кровь* – **NB!**

Транспортируется в бактериологическую лабораторию в контейнере немедленно.

7. Работа вне лаборатории:

1) Кровь на посев забирается в бульон, хранится в термостате (+37 °С) на отделении до 12 часов, утром – в контейнере на грелке (+37 °С) транспортируется в бактериологическую лабораторию.

2) После забора мазков они немедленно засеваются в подогретую питательную среду, а сами мазки помещаются в питательный полужидкий агар и вместе с чашкой Петри ставятся в термостат до 12 часов, а утром на грелке (+37 °С) в контейнере отправляются в бактериологическую лабораторию.

3) Кал на посев собирается в кишечный буфер и хранится на отделении в холодильнике (+4 °С) до 12 часов, а утром в контейнере транспортируется.

Материалом на посев могут быть любые выделения больного, пунктаты, трупный материал.

При микробиологическом исследовании 100% высева (находки возбудителя) не бывает, так как количества микроорганизмов может быть недостаточно, не всегда соблюдаются правила забора или больной занимался самолечением. Для бактериальных кишечных инфекций процент находок примерно 40%, поэтому крайне важно соблюдать требования к забору, хранению и транспортировке материала на посев от инфекционного больного.

Серологический метод исследования

Цель. Найти антитела в сыворотке крови пациента.

Показания. Основной диагностический метод исследования для риккетсиозов и вирусных инфекций и дополнительный (неосновной) – для бактериальных инфекций.

Подготовка больного: забор утром натощак.

Всегда забирается для исследования кровь из вены в количестве 5 мл. Исследование называется методом парных сывороток, так как кровь для исследования забирается два раза *при бактериозах*:

1-й раз – через 5–7 дней от начала заболевания

2-й раз – через 7–10 дней от первого забора;

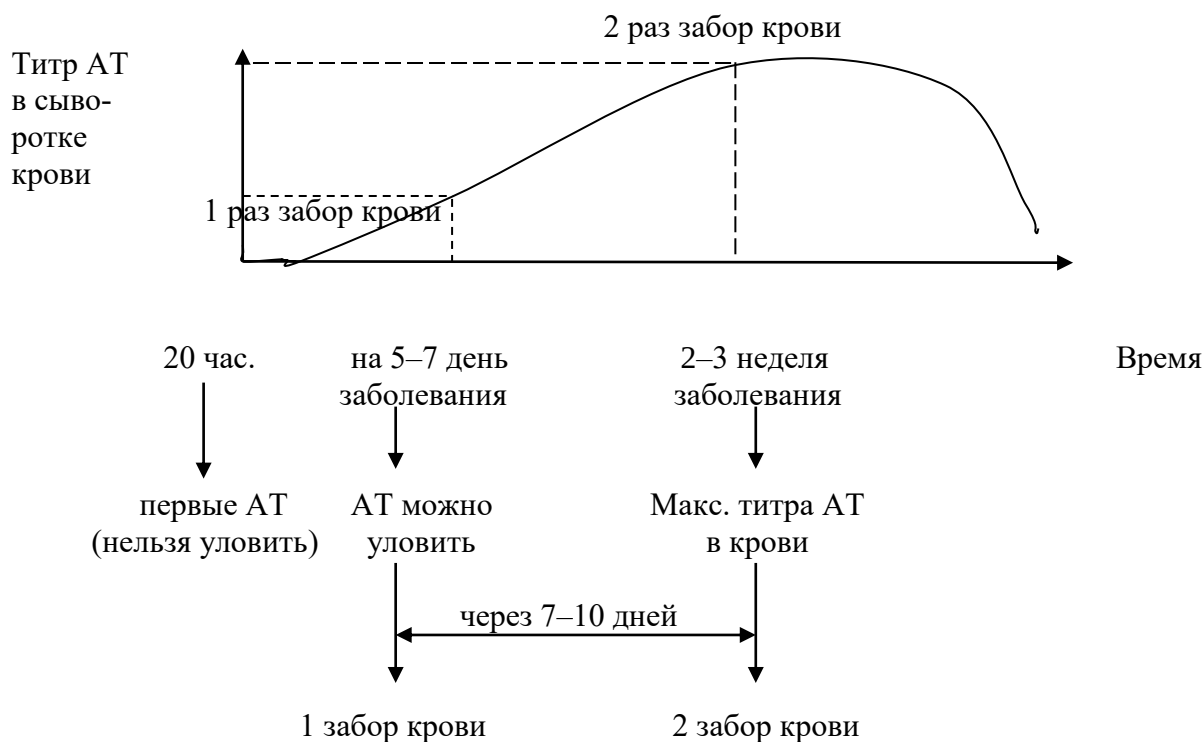
при вирусных инфекциях:

1-й раз – при поступлении

2-й раз – через 12 дней после первого забора.

Сравнивается первая сыворотка со второй и ставится серологический диагноз.

Динамика нарастания титра антитела в сыворотке крови



Должно быть нарастание титра АТ от первой сыворотки ко второй, и титр второй сыворотки больного должен быть равен и больше диагностического титра – серологический диагноз положительный (см. алгоритм № 10).

Титр сыворотки больного – это максимальное разведение сыворотки, где реакция еще положительная (на или). +++ +++

Диагностический титр – это титр, говорящий о том, что пациент инфицирован данной инфекцией. Для каждой инфекции диагностический титр свой и указан в наставлении к диагностикуму, это – константа.

Серологические реакции, используемые в практике РА, РСК, РГА, РН, РИФ и др., но чаще применяется РНГА.

*Правила забора, хранения и транспортировки крови
на серологические исследования*

1. Оформить направление, подписать пробирку.
 2. Кровь забирается у больного утром натощак из вены в количестве не менее 5 мл шприцом.
 3. Кровь спускается осторожно по краю пробирки, предварительно игла сбрасывается со шприца. Пробирка должна быть стерильной.
 4. Кровь в пробирках тщательно пакуется, направление помещается в отдельный полиэтиленовый пакет, пробирки – в другой, направление не должно соприкасаться с краями пробирки – **NB!** – для профилактики парентеральных вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции.
 5. Пробирка с кровью должна немедленно транспортироваться в контейнере в бактериологическую или в иммунологическую лабораторию.
 6. До начала лабораторного исследования кровь может храниться при комнатной температуре до 2–3 часов или в холодильнике при +4 °С до 12 часов (кровь на сгустке) или сыворотка (кровь без сгустка) – в холодильнике (+4 °С) до 6–7 суток. Кровь не должна быть гемолизированной. Для этого:
 - спускать осторожно по краю;
 - соблюдать режим хранения и транспортировки.
- Сыворотка перед титрованием на планшетку не должна быть:
- хилезной, для этого забор производится утром натощак;
 - проросшей, для этого забирать кровь в чистую пробирку и спускать из шприца без иглы.

В противном случае забор крови у больного необходимо повторить, так как результат исследования будет ложным.

Иммуноферментный анализ. Полимеразноцепная реакция
(ИФА на тест-системах – иммуноферментный анализ,
ПЦР – полимеразноцепная реакция)

Цель ИФА. Найти антитела или антигены в сыворотке крови больного с помощью антительной или антигенной тест-систем.

Показания. Основной диагностический метод исследования для вирусных и других инфекционных заболеваний (ВИЧ-инфекция, вирусный гепатит и др. инфекции).

Подготовка больного: утром натощак забор крови из вены.

Иммуноферментный анализ (ИФА)



Принципы тестирования

На поверхности лунок планшета для иммунологических реакций адсорбированы антигены микроорганизмов. При инкубации в лунках планшета исследуемых образцов антитела, специфичные к вирусам, взаимодействуют с адсорбированными антигенами, образуя иммунные комплексы.

После отмывки несвязавшихся антител в лунки добавляют конъюгат, который взаимодействует с комплексом – антиген+антитело.

После следующей отмывки связавшийся конъюгат выявляют с помощью раствора хромогена, который приобретает окраску от светло-желтого до оранжево-коричневого. Интенсивность окраски пропорциональна количеству антител к вирусу в образце. Затем результаты фиксируются с помощью спектрофотометра.

NB! Исследование образцов с выраженным гемолизом, бактериальным приростом может привести к получению ложных результатов. *Соблюдайте очередность внесения компонентов!*

Сыворотка для исследований не должна быть хилезной и проросшей.

Алгоритм № 8 Бракераж микробиологических препаратов

Цель. Определить пригодность микробиологического препарата.

Показания. Перед использованием микробиологических препаратов для профилактики (прививочные препараты), лечения (сыворотки, иммуноглобулины, интерфероны, бактериофаги и др.) и диагностики (аллергены, диагностикумы, диагностические сыворотки).

Схема ООД

Что делать?	Как делать?
Оценить этикетку на упаковке и ампуле или флаконе	1. На упаковке препарата найти предприятие-изготовитель, название препарата, дозу в 1 ампуле (флаконе), серию, контрольный номер, срок годности. Информация должна быть понятной, срок годности – не истекшим 2. Оценить информацию на ампуле (флаконе)
Оценить внешний вид препарата	Нужно знать требования к внешнему виду препарата, если вы не знаете, ознакомьтесь с требованиями из аннотации препарата
Оценить целостность препарата	Если упаковка повреждена, то пользоваться препаратом нельзя

Бракуют препараты:

- а) без этикеток;
- б) с частично заполненными этикетками;
- в) в поврежденной упаковке;
- г) с неразбивающимися хлопьями, с изменившимся цветом;
- д) при наличии посторонних включений;
- е) с истекшим сроком годности.

На забракованные препараты составляют акт (см. табл. ниже).

Акт бракеража бактериологического препарата					
Наименование	Количество	Серия	Контрольный номер	Срок годности	Причина негодности

Алгоритм № 9

Хранение и транспортировка прививочных препаратов

Цель. Сохранить пригодность препарата.

Показания. Строгое соблюдение холодовой цепи при хранении и транспортировке всех микробиологических препаратов от предприятия-изготовителя до потребителя.

Все микропрепараты хранят в холодильнике при температуре от 0 до +4°, в морозильную камеру помещают полиомиелитную вакцину. На каждой полке холодильника должен быть градусник (+4°) и график размораживания холодильника.

Вакцина БЦЖ хранится в биксе под замком!

Должна соблюдаться холодовая цепь!

Холодовая цепь – это люди, транспорт, оборудование, которые участвуют в хранении и транспортировке микробиологических препаратов от предприятия-изготовителя до прививаемого.

Оснащение. Микропрепараты, холодильник, термометр, график размораживания холодильника, журнал регистрации получения и использования микропрепаратов, сумка-холодильник или кружка-термос.

Хранение прививочных препаратов

Препарат	Закрытые ампулы, флаконы	Вскрытые ампулы, флаконы
БЦЖ (летом транспортируется в сумке-холодильнике)	При температуре не выше +4°, в биксе под замком (1 амп. = 20 доз)	Не хранятся. Помещаются в 5% раствор хлорамина на 1 час
Полиомиелитная вакцина (летом транспортируется в сумке-холодильнике)	При –20° – два года, при +4° – 6 мес., если в морозилке температура меньше –20°, то срок хранения 6 мес. (холодильники старой технологии не имеют в морозильной камере –20°)	До двух суток не выше +4°, под стерильным колпачком. Написать этикетку. Если не использовали, то в 3% раствор хлорамина на 1 час
АКДС, АДС, АД-М, АДС-М (зимой транспортируется в сумке-холодильнике)	От 0 до +8° при замораживании разрушаются, контроль – шейк-тест	Не хранятся. Поместить в 3% раствор хлорамина на 1 час
Коревая и эпидемиологическая паротитная, краснушная вакцина (летом транспортируется в сумке-холодильнике)	Не выше +4°, если нарушена температура, то пользоваться не более 10 дней (на срок годности не смотреть) – <i>термолабильные вакцины</i>	2–3 часа при температуре не выше +4° Написать этикетку (час вскрытия), закрыть стерильной салфеткой
Вакцина против ВГВ (Энджерикс-В, Эбербиовак-НВ, Эувакс-В)	Термостабильные вакцины не боятся высокой температуры, разрушаются при заморозке. Зимой транспортируются в сумке-холодильнике	Не хранятся

Постановка серологического диагноза

Цель. Поставить диагноз, выявить специфический инфекционный процесс определенной этиологии.

Показания. Основной метод диагностики для вирусных инфекций, риккетсиозов, спирохетозов. Дополнительный метод диагностики для бактериальных инфекций.

Использовать направление после серологического исследования из бактериологической лаборатории.

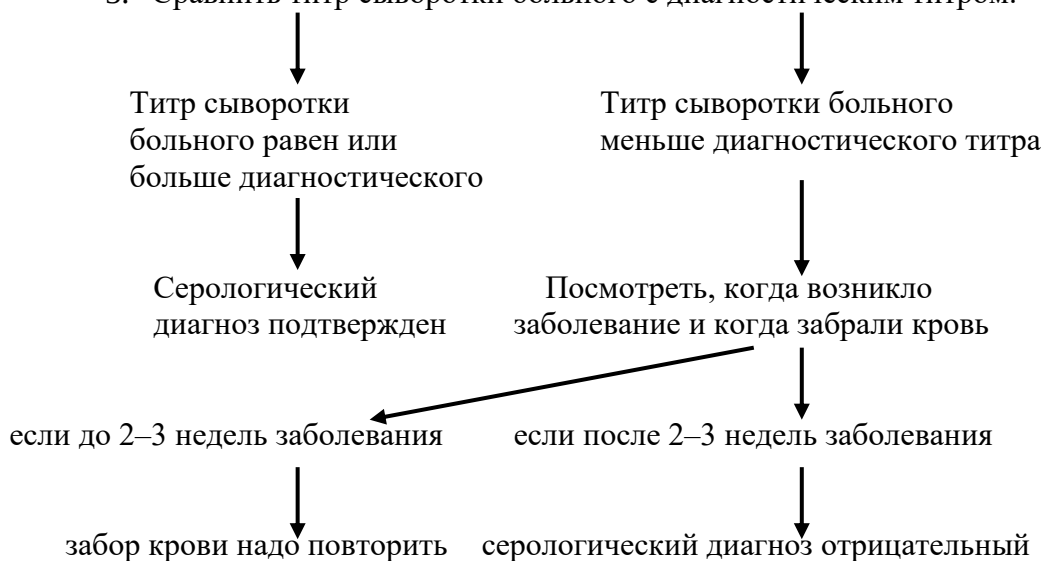
NB!

Титр сыворотки больного – это максимальное разведение, где реакция еще положительная (+ + + или + + + +).

Диагностический титр – это константа, для каждого заболевания своя; это титр антител, говорящий о специфическом инфекционном процессе, указывает, что человек болен данной инфекцией. Указан в аннотации к диагностикуму.

Алгоритм постановки серологического диагноза

1. Прочитать титр сыворотки данного больного.
2. Знать диагностический титр (это константа – см. аннотацию).
3. Сравнить титр сыворотки больного с диагностическим титром.



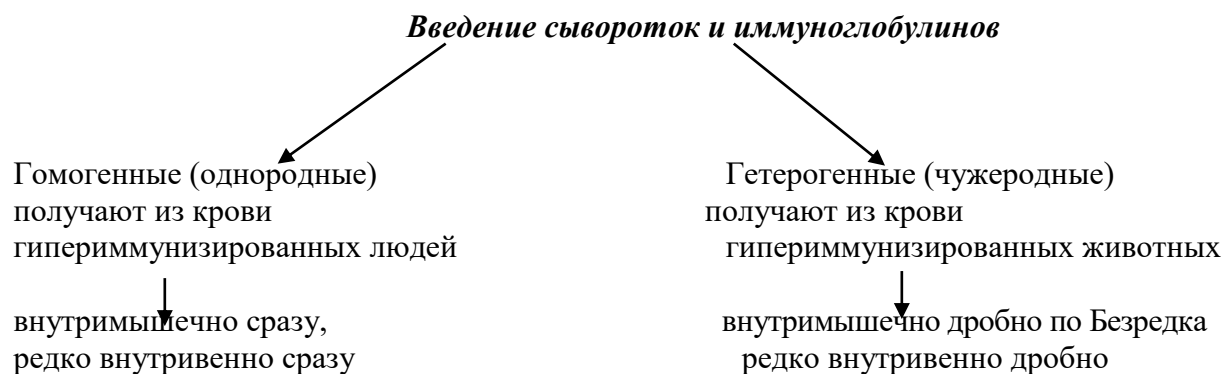
Способы введения основных микробиологических препаратов (вакцин, анатоксинов, сывороток, иммуноглобулинов)

Цели. 1. Вакцины и анатоксины вводят с целью специфической профилактики инфекционных заболеваний.

2. Сыворотки и иммуноглобулины вводят с целью экстренной профилактики инфекционных заболеваний, но чаще с лечебной целью.

Показания. Вакцины и анатоксины – для специфической профилактики. Сыворотки и иммуноглобулины – для лечения и экстренной профилактики.

Схема ООД



Алгоритм № 12

Введение чужеродных сывороток и гаммоглобулинов (метод Безредка)

Цель. Связать специфические токсины или микроорганизмы.

Показания. Ботулизм, дифтерия, сибирская язва, лептоспироз и др.

Подготовка. Проверить целостность ампулы, то есть провести бракераж препарата: наличие осадка, срок годности, дату приготовления, серию.

Схема ООД

Что делать?	Как делать?	Чем пользоваться?	Конечный результат
Введение сыворотки по Безредке	1. Измерить больному температуру, АД, подсчитать пульс, число дыханий 2. Среднюю треть ладонной поверхности предплечья обработать 70-градусным спиртом 3. Ввести внутрикожно инсулиновым шприцом 0,1 мл сыворотки или Jg, разведенной 1:100 4. Наблюдать за больным 20 мин (папула на месте введения должна быть не более 0,9 см – это отрицательная реакция). Оценка осуществляется в присутствии врача, записать в историю болезни 5. При отрицательной реакции подкожно в средней трети плеча вводят 0,1 мл неразведенной сыворотки и Jg 6. Наблюдать 30 мин (АД, пульс, температура, число дыханий, появление новых жалоб) 7. При отсутствии реакции ввести всю дозу сыворотки или Jg внутримышечно 8. Сделать записи в истории болезни (серия, дата изготовления, срок годности, завод-изготовитель)	Антитоксические сыворотки, шприцы, инсулиновые шприцы, иглы	Снять интоксикацию или нейтрализовать микроорганизмы

Примерная запись поэтапного введения сыворотки или Jg и результатов наблюдения за больными

11.20 – Температура 37,6 °С; АД – 120/70; число дыханий – 20, пульс – 92 уд/мин.

12.00 – Введение внутривенно 0,1 мл противоботулинической сыворотки типа А, разведенной 1:100. Серия – 12, контрольный номер – 0,5; срок годности до X 2003 г.

12.20 – Папула 0,7 см. Подпись медсестры и врача.

12.35 – Введено подкожно 0,1 неразведенной сыворотки.

13.05 – Температура 37,5 °С; АД – 120/70; пульс – 92 уд/мин.

13.10 – Введены внутримышечно сыворотки типа А 10 000 МЕ.

Алгоритм № 13

Приготовление мазка и толстой капли крови на малярию

Цель. Обнаружение малярийного плазмодия.

Показания. Подозрение на малярию.

Оснащение: игла «копье», предметные стекла, стерильные спиртовые шарики, бланк и резинка.

Схема ООД

1. Оформить направление.
2. Подписать стекло.
3. Кожу тылового фаланга четвертого пальца обработать спиртом и протереть сухим тампоном.
4. Иглой «копьем» разового пользования сделать прокол тыловой фаланги. Первую каплю крови снять сухим шариком.
5. Ко второй капле прикоснуться сухим обезжиренным стеклом в 2–3-х местах. Перевернуть стекло и взять в левую руку, а в правую руку взять другое предметное стекло, которым растереть каплю круговыми движениями до 10-копеечной монеты.
6. Оставляем толстую каплю на воздухе до высыхания.
7. Для приготовления тонкого мазка предметным стеклом коснуться капли крови, стекло перевернуть каплей вверх, переложить в левую руку, а правой рукой под острым углом приставить к капле другое предметное стекло и одномоментным движением размазать кровь по поверхности.
8. Отправить в паразитологическую лабораторию ЦГСЭН.

Алгоритм № 14

Порядок действий фельдшера (медсестры) при проведении прививок

1. Учет контингента.
2. Планирование прививок (медсестра-картотечница детской поликлиники или ЦРБ вместе с иммунологом).
3. Получение допуска к прививкам, запись в форме № 112 «История развития ребенка» (поликлиника) или в форме № 26 «Индивидуальная карта ребенка» (детский сад, школа). Допуск действителен один день.
4. Бракераж препарата (адрес, наименование, №, срок годности, внешний вид, целостность).
5. Разведение препарата (если он в сухом виде), его введение.
6. Занесение сделанной прививки в документацию: форма № 63 «Карта профилактических прививок» (детский сад, детская поликлиника, школа), форма № 112 «История развития ребенка» (детская поликлиника), форма № 26 «Индивидуальная карта ребенка» (детский сад, школа), форма № 64 «Журнал регистрации прививок» (поликлиника и ФАП).
7. Контроль поствакцинальной реакции, запись в формах № 112, № 26.

Порядок действий медсестры отличается тем, что она не имеет права давать допуск к прививкам, контролирует наличие допуска в форме № 112 или 26. Допуск к прививке имеет право давать врач или фельдшер. Детям группы риска – только врач.

Оценка поствакцинальной реакции

Оценка реакции	Общая реакция		Местная реакция	
	t, °C	Клиника	Размеры инфильтрата, см	Контроль инфильтрата, региональных лимфатических узлов
Слабая (физиология)	37,5	Головная боль, недомогание и другие клинические проявления	До 2,5	Гиперемия без инфильтрата
Средняя (физиология)	37,6–38,5	То же, но более выражено	2,6–5	Гиперемия с инфильтратом без лимфаденита
Сильная (пороговая)	38,6–40	Наиболее выраженные симптомы	Более 5	Гиперемия с инфильтратом с лимфаденитом
Чрезмерно сильная (осложнение)	Более 40	Наиболее выраженные симптомы	Более 5	Гиперемия с инфильтратом с лимфаденитом

Способы введения бактериологических препаратов

Характеристика бактериологического препарата	Инфекционное заболевание	Способ введения	Место введения	Доза	Примечание
БЦЖ – живая вакцина, порошок белого цвета, при растворении прозрачный	Туберкулез	Внутри кожно	Наружная поверхность верхней трети плеча	0,05 мг (0,1 мл) 1 ампл. = 1 мг = 20 доз	Проводят специально обученные люди в специально отведенное время. Хранится в холодильной камере при температуре не выше 4° в биксе под замком. Делают после 2 мес. только при отриц. реакции Манту; до 2 мес. без реакции Манту
Полиомиелитная живая вакцина, жидкая, прозрачная, малинового цвета, горькая на вкус	Полиомиелит	Через рот	На корень языка	2 или 4 капли	При –20° два года, при +4° 6 мес. Нераскрытый флакон хранится в морозильной камере, вскрытый – 2 сут. под стерильным колпачком при t не выше +4°
Коревая – сухая живая вакцина	Корь	Подкожно	Подлопаточная область	0,5 мл	Хранится при t не выше +4°. Самая термолабильная вакцина. При нарушении t хранения использовать в течение 10 дней
Туберкулин – аллерген	Для диагностики и иммунодиагностики и туберкулеза	Внутри кожно	Средняя часть внутренней поверхности предплечья	0,1 мл	Вводится туберкулиновым или инсулиновым шприцом. Проводят специально обученные люди; читается на 3 сутки: 0–2 мм – отриц., 3–4 мм – сомнит., 5–16 мм – положит., 17 мм – гиперположит.
АКДС при стоянии делится на две фракции: осадок (адсорбент) и прозрачную жидкость (антиген)	Коклюш Дифтерия Столбняк	Внутри мышечн о	Верхний квадрант ягодицы	0,5 мл	Перед введением встряхнуть. Детям из группы риска АКДС не вводится (м. б. «пороссячий визг», фебрильные и афебрильные судороги и др.)

АДС-М	Дифтерия Столбняк	Подкожно	Под лопатку	0,5 мл	Инактивируется при замораживании. Сделать шейк-тесты. Перед введением встряхнуть
Вакцина против ВГВ (Энджерикс-В, Эбербиовак-НВ, Эувакс-В и другие вакцины)	Вирусный гепатит В	Внутри мышечное	До 10 лет – в верхнюю боковую поверхность бедра, после 10 лет – в дельтовидную мышцу	0,5 мл (10 мг) до 10 лет, 1 мл (20 мг) – после 10 лет	Термостабильная, инактивируется при замораживании. Зимой транспортируется в сумке-холодильнике или термосе
Паротитная сухая живая вакцина	Эпидемический паротит	Подкожно	Под лопатку	0,5 мл	При t не выше +4°
АДМ	Дифтерия	Подкожно	Под лопатку	0,5 мл	Перед введением встряхнуть
Краснушная сухая живая вакцина	Краснуха	Подкожно	Под лопатку	0,5 мл	При t не выше +4°

Правила иммунизации

1. **ПРИВИВКИ ДЕЛАЮТ ТОЛЬКО ЗДОРОВЫМ ЛЮДЯМ**, допуск к прививкам дается фельдшером или врачом (форма № 112, № 26).

2. Прививки делаются в соответствии с действующим приказом (*действующий Приказ № 1122 от 06 декабря 2021 года.*).

3. Показания к проведению прививок:

- всем здоровым детям;
- группам риска, профессиональным и территориальным;
- по эпидемическим показаниям.

4. Используют только **одноразовые шприцы**, в шприц набирается только одна прививочная доза.

5. Собирается стол вакцинатора – набор шприцов и игл, спиртовые шарики, пинцет, шпатель, термометр, аптечка для оказания неотложной медицинской помощи, лотки.

6. **Бактериологические препараты перед введением бракируются!**

Причины непригодности бактериологических препаратов:

- отсутствие этикетки на ампуле и коробке;
- изменение внешнего вида препарата;
- нарушение целостности ампулы;
- истечение срока годности.

7. Помещение для прививок должно быть вымыто 2% мыльно-содовым раствором или 1% раствором хлорной извести или хлорамином, проветрено, про кварцовано, стол вакцинатора должен быть накрыт стерильной простыней.

8. Соблюдать правила асептики при проведении прививок.

9. Сделанная прививка должна быть отмечена в формах № 112, 63, 26, 64.

После прививок оценивают поствакцинальную реакцию.

11. При проведении прививок необходимо иметь аптечку для оказания неотложной помощи.

12. Все бактериологические препараты хранят в холодильнике при t от 0 до $+4^{\circ}$, в морозильную камеру помещают полиомиелитную вакцину.

13. Должен быть термометр и график размораживания холодильника.

14. Вакцина БЦЖ хранится в биксе под замком.

15. **Должна соблюдаться холодовая цепь!**

Холодовая цепь – это люди, транспорт, оборудование, которые участвуют в хранении и транспортировке микробиологических препаратов от предприятия-изготовителя до прививаемого.

Хранение прививочных препаратов

Препарат	Закрытые ампулы, флаконы	Вскрытые ампулы, флаконы
БЦЖ (летом транспортируется в сумке-холодильнике)	При температуре не выше $+4^{\circ}$, в биксе под замком (1 амп. = 20 доз)	Не хранятся. Помещаются в 5% раствор хлорамина на 1 час
Полиомиелитная вакцина (летом транспортируется в сумке-холодильнике)	При -20° – два года, при $+4^{\circ}$ – 6 мес., если в морозилке температура меньше -20° , то срок хранения 6 мес. (холодильники старой технологии не имеют в морозильной камере -20°)	До двух суток не выше $+4^{\circ}$, под стерильным колпачком. Написать этикетку. Если не использовали, то в 3% раствор хлорамина на 1 час
АКДС, АДС, АД-М, АДС-М (зимой транспортируется в сумке-холодильнике)	От 0 до $+8^{\circ}$ при замораживании разрушаются, контроль шейк-тест	Не хранится. Поместить в 3% раствор хлорамина на 1 час
Коревая и эпидемиологическая паротитная, краснушная вакцина (летом транспортируется в сумке-холодильнике)	Не выше $+4^{\circ}$, если нарушена температура, то пользоваться не более 10 дней (на срок годности не смотреть) – <i>термолабильные вакцины</i>	2–3 часа при температуре не выше $+4^{\circ}$. Написать этикетку (час вскрытия), закрыть стерильной салфеткой
Вакцина против ВГ (Энджерикс-В, Эбербиовак-НВ, Эувакс-В)	Термостабильные вакцины не боятся высокой температуры, разрушаются при заморозке. Зимой транспортируются в сумке-холодильнике	Не хранится

Контроль поствакцинальной реакции

Прививочный препарат	Время контроля	Клинические проявления
БЦЖ	8–10 недель	Измеряется рубчик, если его нет, то

		нужна консультация фтизиатра. Общих реакций не бывает
Полиомиелитная вакцина	Ареактогенный препарат	Единичные случаи парезов и параличей конечностей
АКДС, АДС, АД-М, АДС-М	На следующий день	АКДС – самый реактогенный. М. б. общая реакция, температура до 38,5°, ухудшение самочувствия и аппетита, явление держится 3–5 дней, лечения не требует. Температура выше 38,5° и выраженные клинические проявления в виде «поросычьего визга», фебрильных и афебрильных судорог (патологическая реакция). М. б. местная реакция: инфильтрат до 5 см без лимфаденита, инфильтрат более 5 см и региональный лимфаденит – это пороговая реакция
Паротитная вакцина	На 6–18 день	Высокая температура до 38,5°, увеличение околоушных желез, симптомы острого живота
Коревая вакцина	На 6–18 день	Высокая температура, конъюнктивит, сыпь на коже, катаральные явления

Характеристика герпесвирусов человека и основных клинических форм инфекции

Герпесвирусы	Обозначен	Основные заболевания, ассоциированные с данным герпесвирусом
Вирус простого	ВПГ-1	Лабиальный герпес. Герпес кожи и слизистых.
Вирус простого	ВПГ-2	Генитальный герпес. Неонатальный герпес
Вирус ветряной	ВВО-ОГ	Ветряная оспа. Опоясывающий герпес
Вирус Эпштейна-	ВЭБ	Инфекционный мононуклеоз. Назофарингиальная
Цитомегаловирус	ЦМВ	Врожденные поражения ЦНС. Ретинопатии.
Вирус герпеса	ВГЧ-6:	Лимфотропные вирусы (предполагают этиологическую
		с синдромом хронической усталости)
<i>Вирус герпеса</i>	<i>ВГЧ-8</i>	Саркома Капоши у ВИЧ-серонегативных людей. Саркома Капоши, ассоциированная с ВИЧ-инфекцией и СПИД

Список сокращений

а/б – антибиотики
РА – реакции агглютинации
РНГА – реакция непрямой гемагглютинации
ИФА – иммуноферментный анализ
АКДС – адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина
DS – диагноз
ГЧНТ – гиперчувствительность немедленного типа
ГЧЗТ – гиперчувствительность замедленного типа
ООД – ориентированная основа действия
МИ-90 – иммерсионный объектив
МПА – мясопептонный агар
РСК – реакция связывания комплимента
РГА – реакция гемагглютинации
РН – реакция нейтрализации
РИФ – реакция иммунофлюоресценции
ПЦР – полимеразноцепная реакция
ПМ – перечень манипуляций
ФАП – фельдшерско-акушерский пункт
ЦИС – центральная иммунная система
ПИС – периферическая иммунная система
МФ – макрофаги
АГ – антиген
АТ – антитело
Т_{цл} – цитотоксические лимфоциты
ИРИ – иммунорегуляторный индекс

5. ЛИСТ ВНЕСЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ

№	Номер и дата распорядительного документа о внесении изменений	Дата внесения изменений	Содержание изменений	Ф.И.О. лица, ответственного за изменение	Подпись