

Министерство здравоохранения Удмуртской Республики
автономное профессиональное образовательное учреждение Удмуртской Республики
«Республиканский медицинский колледж имени Героя Советского Союза Ф.А. Пушиной
Министерства здравоохранения Удмуртской Республики»
(АПОУ УР «РМК МЗ УР»)

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ

К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

**ПМ.03. ВЫПОЛНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ ПЕРВОЙ И ВТОРОЙ КАТЕГОРИИ СЛОЖНОСТИ**

программы подготовки специалистов среднего звена
по специальности 31.02.03 «Лабораторная диагностика»
очная форма обучения

Ижевск
2023

Утверждено

на заседании МС

Протокол № 7от «17» 02 2013 г.

Зам. директора по учебной работе

 Мясникова С.Л.**Рассмотрено**

на заседании ЦМК преподавателей

Лабораторного дела

Протокол № 5От «06» 02 2013 г.Председатель  Бородулина И.Н.

Ф.И.О.

Методические рекомендации для студентов к выполнению практических занятий составлены на основе федерального государственного образовательного стандарта (далее – ФГОС) по специальности среднего профессионального образования (далее – СПО) 31.02.03 «Лабораторная диагностика» с учетом рабочей программы модуля ПМ.03 «Выполнение микробиологических лабораторных исследований первой и второй категории сложности»

Методические рекомендации подготовлены с целью повышения эффективности освоения учебного материала на практических занятиях. Включают в себя учебную цель, перечень образовательных результатов, заявленных во ФГОС СПО, задачи, обеспеченность занятия, краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме, вопросы для закрепления теоретического материала, задания для практического занятия и порядок его выполнения, образец отчета о проделанной работе.

Организация-разработчик: АПОУ УР «РМК МЗ УР»

Разработчик: Бородулина И.Н., преподаватель высшей квалификационной категории ВФ АПОУ УР «РМК МЗ УР»

СОДЕРЖАНИЕ

| № | Тема практического занятия | Стр. |
|----|--|------|
| 1 | Обеспечение и поддержание безопасной среды в бактериологической лаборатории | 6 |
| 2 | Морфология и структура бактерий. Окрашивание бактерий простым методом, по Граму, кислотоустойчивых бактерий по Циль-Нильсену. Выявление спор, капсул, жгутиков | 12 |
| 3 | Приготовление простых питательных сред | 17 |
| 4 | Приготовление сложных питательных сред | 20 |
| 5 | Контроль качества питательных сред | 23 |
| 6 | Изучение методов выделения и идентификации чистых культур микроорганизмов | 26 |
| 7 | Определение биохимической активности бактерий | 30 |
| 8 | Определение антибиотикочувствительности бактерий дискодиффузным методом | 34 |
| 9 | Постановка качественной и количественной реакции агглютинации | 38 |
| 10 | Проведение реакции преципитации и кальцепреципитации | 42 |
| 11 | Проведение микробиологической диагностики стафилококковых и стрептококковых инфекций | 45 |
| 12 | Проведение микробиологической диагностики менингококковой инфекции | 49 |
| 13 | Проведение микробиологической диагностики туберкулеза | 52 |
| 14 | Проведение микробиологической диагностики дифтерии | 56 |
| 15 | Проведение микробиологической диагностики коклюша | 59 |
| 16 | Проведение микробиологической диагностики эшерихиозов | 62 |
| 17 | Проведение микробиологической диагностики сальмонеллеза | 65 |
| 18 | Проведение микробиологической диагностики бактериальной дизентерии | 68 |
| 19 | Проведение микробиологической диагностики иерсиниозов, клебсиелл, протей | 71 |
| 20 | Проведение микробиологической диагностики кандидомикозов | 74 |
| 21 | Проведение микробиологической диагностики аспергиллеза | 77 |
| 22 | Проведение микробиологической диагностики дисбактериоза кишечника | 80 |
| 23 | Проведение микробиологической диагностики заболеваний бактериальной этиологии, передающихся половым путем | 84 |
| 24 | Проведение микробиологической диагностики инфекций, вызванных бактериями I-II группы патогенов | 88 |
| 25 | Проведение иммунологических исследований вирусных инфекций: реакции гемагглютинации, реакции торможения гемагглютинации, реакции нейтрализации вирусов | 91 |
| 26 | Проведение иммунологических методов диагностики полиомиелита, ЕСНО, Коксаки | 95 |
| 27 | Проведение иммунологических методов диагностики гриппа, ротавирусных и аденовирусных инфекций | 98 |
| 28 | Проведение иммунологических методов диагностики вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции | 101 |
| 29 | Проведение санитарно-бактериологического исследования воды, воздуха, пищевых продуктов | 105 |
| 30 | Бактериологическое исследование воздуха операционной | 109 |
| 31 | Проведение санитарно-бактериологического исследования бактериологического бокса методом смывов | 112 |
| 32 | Организация работы паразитологической лаборатории | 115 |

| | | |
|--------------------------|--|-----|
| 33 | Методы лабораторной диагностики гельминтозов. Исследование испражнений методом нативного мазка, толстого мазка, методом седиментации | 119 |
| 34 | Исследование испражнений методами обогащения, методом Бермана | 123 |
| 35 | Серологические и количественные методы диагностики гельминтозов | 127 |
| 36 | Исследование биологического материала методом нативного мазка | 130 |
| 37 | Исследование биологического материала методом окрашенного мазка Люголем и метиленовым синим | 132 |
| 38 | Исследование биологического материала методом обогащения | 135 |
| 39 | Исследование крови методами толстой капли и тонкого мазка | 138 |
| 40 | Методы сбора, учета и изучения членистоногих | 142 |
| 41 | Санитарная паразитология | 146 |
| Библиографический список | | 151 |
| Приложения №1 | | 153 |
| Приложения №2 | | 155 |
| Приложения №3 | | 157 |
| Приложения №4 | | 158 |

Введение

УВАЖАЕМЫЙ СТУДЕНТ!

Методические указания для выполнения практических занятий созданы Вам в помощь для работы на занятиях, подготовки к практическим занятиям, правильного составления отчетов.

Приступая к выполнению практического занятия, Вы должны внимательно прочитать цель и задачи занятия, ознакомиться с требованиями к уровню Вашей подготовки в соответствии с федеральным государственным стандартом (ФГОС СПО), краткими теоретическими и учебно-методическими материалами по теме практического занятия, ответить на вопросы для закрепления теоретического материала.

Все задания к практическому занятию Вы должны выполнять в соответствии с инструкцией, анализировать полученные в ходе занятия результаты по приведенной методике.

Отчет по практическому занятию Вы должны выполнить по приведенному алгоритму, опираясь на рекомендации.

Наличие положительной оценки по практическим занятиям необходимо для получения зачета по дисциплине, поэтому в случае отсутствия на занятии по любой причине или получения неудовлетворительной оценки за практическое занятие, Вы должны найти время для его выполнения или пересдачи.

Внимание! Если в процессе подготовки к практическим занятиям или при решении задач у Вас возникают вопросы, разрешить которые самостоятельно не удастся, необходимо обратиться к преподавателю для получения разъяснений или указаний в дни проведения дополнительных занятий.

Время проведения дополнительных занятий можно узнать у преподавателя.

Желаем Вам успехов!!!

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 1

Обеспечение и поддержание безопасной среды в бактериологической лаборатории

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений регистрировать, отбирать клинический материал, готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микробиологических исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды; - заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа. | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать клинический материал, готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для микробиологического исследования; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДПП-5)

до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

Общие требования

Биологический материал должен находиться в маркированных пробирках (контейнерах) и сопровождаться заполненным индивидуальным направлением в одном экземпляре.

Необходимо тщательно, разборчиво заполнить направление, указав следующие сведения: дату, № пробирки, наименование ЛПО, направившего на исследование биоматериал, фамилию врача, забравшего материал; ФИО, возраст и пол пациента, предварительный диагноз; при беременности – срок беременности.

Для получения достоверных результатов клинический материал для исследования должен забираться до назначения антибактериальных препаратов или через 2 недели после их отмены. Пробу следует передать в лабораторию не позднее 2 ч с момента сбора материала.

1. Сбор материала из слизистой оболочки зева проводится натошак или через 2 часа после еды и питья. Непосредственно перед забором нельзя пить, есть, полоскать рот и горло, чистить зубы, курить.
2. Сбор материала из носовых ходов производится стерильным тампоном. Перед исследованием запрещается закапывать капли в нос и сморкаться.
3. Перед взятием материала из уха запрещается применять мази, ушные капли.
4. При исследовании мочи, необходимо тщательно вымыть руки и провести туалет наружных половых органов теплой водой с мылом. Исследованию подлежит средняя порция свободно выпущенной утренней мочи. Пробу в количестве 20-50 мл (у детей — 10-15мл) необходимо собрать в стерильный пластиковый одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой. Запрещается касаться руками внутренней поверхности контейнера и крышки. У маленьких детей, после мочеиспускания необходимо провести тщательный туалет наружных половых органов, напоить ребенка и ожидать следующего мочеиспускания для забора мочи.
5. Для исследования собирают свободно откашливаемую мокроту (предпочтительно утреннюю), натошак. Пациент предварительно должен почистить зубы и сполоснуть рот и горло водой с целью механического удаления остатков пищи, эпителия и микрофлоры

ротовой полости. Нельзя собирать слюну и носоглоточное отделяемое. Мокроту собирают в стерильный пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой.

6. При исследовании грудного молока в день обследования утром женщина принимает душ и надевает чистое белье. Перед сцеживанием молока необходимо вымыть руки с мылом, одеть маску. Затем следует обмыть левую и правую грудную железу теплой водой с мылом и насухо вытереть чистым полотенцем. Поверхность сосков и околососковую область молочных желез необходимо обработать отдельными ватными тампонами, смоченными 70°С этиловым спиртом. Первая порция грудного молока выливается, последующие 3-4 мл сцеживаются из каждой железы в отдельную стерильную посуду (контейнер). 7. Взятие отделяемого глаз осуществляется не ранее 6 часов после отмены медикаментов и процедур. При взятии мазков с конъюнктивы, не рекомендуется умываться, необходимо с утра дня сдачи анализа отказаться от закапывания лекарственных препаратов в глаза.

8. В случае исследования раневого отделяемого, забор материала из раны проводится до перевязки.

9. Взятие мазка и кала на патогенную и условно-патогенную флору осуществляется на ранних этапах заболевания. Кал собирать в стерильный контейнер с крышкой и ложечкой.

Прием и регистрация материала для бактериологического исследования

РАБОЧИЙ ЖУРНАЛ

микробиологических исследований

Начат "... " _____ 20 .. г. Окончен "... " _____ 20 .. г.

1. В графу 3 "Регистрационный N" переписываются номера анализов регистрационного журнала. Анализ ведут на всех этапах под одним номером.
2. В графе 4 "Наименование среды и характер роста" отмечают название плотных питательных сред, на которые производят посев исследуемого материала, а также наличие или отсутствие подозрительных колоний. Для каждой среды используют отдельную горизонтальную строку.
3. Графы 6-26 "Тесты для идентификации" служат для характеристики биологических свойств микроорганизмов (ферментативная активность, антигенная структура, токсигенность и др.).
4. Расщепление углеводов рекомендуется отмечать следующими знаками:
кг - при образовании кислоты и газа;
к - при образовании кислоты без газообразования;
- - расщепление отсутствует.
5. Ферментативную активность в отношении других веществ, а также образование индола и сероводорода и т.д. целесообразно отмечать знаками:
(+) - реакция положительная;
(-) - реакция отрицательная.
6. В графе 27 "Результат исследования" указать вид выделенных микроорганизмов и массивность обсеменения.

Методы сбора материала и лабораторные исследования проводятся в соответствии со следующей нормативно - технической документацией (НТД перечислить):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

| Дата | N N п/п | Регистрацион ный N | Наименование среды и характер роста | Микроскопия | Тесты | | | | | | | |
|------|---------------|-----------------------|--|-------------|-------|---|---|---|----|----|----|----|
| | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |

продолжение (разворот)

| идентификации | | | | | | | | | | | | | Результат исследования | Дата окончания исследования. Подпись лица, проводившего исследование |
|---------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---------------------------|---|
| | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
| | | | | | | | | | | | | | | |

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Проведение стерилизации лабораторной посуды и инструментария:

Подготовка к стерилизации лабораторной посуды

1. Перед стерилизацией лабораторную посуду тщательно моют и сушат.
2. Пробирки, флаконы, бутылки, матрацы, колбы закрывают ватно-марлевыми пробками, поверх пробок (кроме пробирок) надевают бумажный колпачок.
3. Чашки Петри стерилизуют завернутыми в бумагу по 1— 5 штук или в пеналах.

4. Пастеровские пипетки по 3—5—10—15 штук заворачивают в плотную оберточную бумагу. В верхнюю часть каждой пипетки вкладывают кусочек ваты. Во время работы пипетки из пакета вынимают за верхний конец.

Лабораторную посуду стерилизуют:

- а) сухим жаром при температуре 150, 160 и 180°C соответственно 2 часа, 1 час и 30 минут.
- б) в автоклаве при давлении 1 атм. в течение 20—30 минут.

Стерилизация металлических инструментов: ножницы, пинцеты, бактериологические петли с пластиковой ручкой стерилизуют над пламенем спиртовки.

Работа с автоклавом:

1. Перед началом работы осматривают автоклав и контрольно-измерительную аппаратуру.
2. В автоклавах с автоматическим регулированием пара на электровакуумном манометре водопаровой камеры стрелки устанавливают в соответствии с режимом стерилизации: нижнюю стрелку ставят на 0,1 атм. ниже, верхнюю—на 0,1 атм. выше рабочего давления.
3. Водопаровую камеру заполняют водой до верхней отметки мерного стекла.
4. В период заполнения водой вентиль на трубе, по которой пар поступает в камеру, держат открытым для свободного выхода воздуха из котла.
5. Стерилизационную камеру автоклава загружают стерилизуемым материалом.
6. После этого крышку (или дверцу) автоклава закрывают, плотно закрепляя центральным затвором или болтами; чтобы избежать перекоса, болты закручивают крест-накрест (по диаметру).
7. Затем включают источник подогрева (электрический ток, пар), закрывая вентиль на трубе, соединяющей источник пара со стерилизационной камерой.
8. С началом парообразования и создания давления в водопаровой камере производят продувку (удаление воздуха из стерилизационного котла). Способ удаления воздуха определяется конструкцией автоклава. Вначале воздух выходит отдельными порциями, затем появляется ровная непрерывная струя пара, указывающая, что из стерилизационной камеры воздух полностью вытеснен.
9. После удаления воздуха кран закрывают, и в стерилизационной камере начинается постепенное повышение давления. Началом стерилизации считается тот момент, когда стрелка манометра показывает заданное давление.
10. После этого интенсивность подогрева уменьшают, чтобы давление в автоклаве в течение нужного времени оставалось на одном уровне. По окончании времени стерилизации подогревание прекращают.
11. Закрывают вентиль в трубопроводе, подающем пар в стерилизационную камеру, и открывают вентиль на конденсационной (нисходящей) трубе для снижения давления пара в камере.
12. После падения стрелки манометра до нуля медленно ослабляют прижимные приспособления и открывают крышку автоклава.

Типовые задания:

1. Осуществить прием и регистрацию биоматериала для бактериологического исследования;
2. Заполнить медицинскую документацию;
3. Приготовить растворы дезинфицирующих средств;
4. Провести стерилизацию лабораторного инструментария и посуды.

Типовая проблемно-ситуационная задача:

Во вновь сданном лечебном – профилактическом учреждении необходимо организовать микробиологическую лабораторию

Задания:

1. Перечислите основные помещения, предусмотренные в лаборатории;
2. Назовите основное оборудование микробиологической лаборатории;

3. Приведите классификацию микробиологических лабораторий по типу изучаемых микроорганизмов.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дайте определение понятию медицинская микробиология;
2. Назовите основные задачи медицинской микробиологии;
3. Назовите основные методы микробиологической диагностики;
4. Назовите принцип микроскопического метода;
5. Назовите принцип микробиологического метода;
6. Объясните принцип серологического метода;
7. Объясните принцип биологического метода;
8. Назовите принцип аллергического метода;
9. Перечислите основные этапы развития микробиологии;
10. Дайте характеристику эвристическому этапу;
11. Назовите основоположников морфологического этапа;
12. Дайте характеристику физиологическому этапу.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 2
Морфология и структура бактерий. Окрашивание бактерий простым методом, по
Граму, кислотоустойчивых бактерий по Циль-Нильсену. Выявление спор, капсул,
жгутиков

| | | |
|--|---|---|
| Цель: формирование умений окрашивать мазки простыми и сложными методами | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов; - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения окраски бактерий и микроскопических исследований; - осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования; - окрашивать мазки простым методом, по методу Грама, Циль-Нильсену, Ожешко, Бурри-Гинсу, Леффлеру; - проводить оценку результатов иммунологического исследования; - вести учетно-отчетную документацию. | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать клинический материал, готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для микробиологического исследования, окрашивать мазки простым методом, по методу Грама, Циль-Нильсена, Ожешко, Леффлера, Бурри-Гинса, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения микроскопических исследований

Для приготовления мазка необходимо иметь:

- Чистое обезжиренное предметное стекло.
- Бактериологическую петлю
- Культуру, выращенную на плотной питательной среде — агаре, или жидкой среде — бульоне.
- Спиртовку.
- Набор красок.

Приготовление мазка из культуры, выращенной на МПБ

1. Обезжиренное предметное стекло прожигают в пламени горелки и охлаждают.

2. На предметное стекло, помещенное на подставку (чашку Петри, штатив), наносят культуру:

- 1) Пробирку с культурой держат большим и указательным пальцами левой руки.
- 2) Петлю держат в правой руке.
- 3) Не выпуская петли, мизинцем правой руки прижимают пробку к ладони и осторожно вынимают ее из пробирки. Движения должны быть плавными и спокойными.
- 4) Горло пробирки обжигают в пламени горелки.
- 5) Вводят петлю в пробирку.
- 6) Охлаждают петлю о стенку пробирки и затем погружают ее в культуру.
- 7) Вынимают петлю, не касаясь ею стенок пробирки.
- 8) Закрывают пробку, предварительно проведя ее через пламя горелки.
- 9) Ставят пробирку в штатив.
- 10) Петлей наносят культуру на предметное стекло, круговыми движениями равномерно распределяя ее.

- 11) Затем петлю прожигают в пламени горелки.
- 12) Мазок оставляют для высыхания.

Приготовление мазка из культуры, выращенной на МПА

1. На подготовленное предметное стекло наносят пастеровской пипеткой или петлей каплю изотонического раствора натрия хлорида (0,9%).
2. Культуру осторожно снимают петлей с агара в пробирке или чашке Петри и эмульгируют в капле на стекле.
3. Приготовленный мазок должен быть равномерным и не густым.
4. При его высыхании на предметном стекле остается слабый налет.

Окрашивание мазков метиленовой синью

1. Препарат положить на поверхность исследуемым материалом вверх;
2. Пипеткой нанести на препарат р-р красителя на 5-7 мин;
3. Краску слить, промыть водой;
4. Просушить;
5. М/с с иммерсией.

Окраска по методу Грама (для изучения строения клеточной стенки бактерий)

1. Окрасить мазок генциан-виолетом (2 мин, через фильтровальную бумагу);
2. Бумагу удалить, оставшуюся краску слить;
3. Окрасить мазок раствором Люголя (1 мин);
4. Раствор Люголя слить и нанести несколько капель чистого 96% спирта (на 30-40 с осторожно покачивая стеклом);
5. Тщательно смыть спирт водой;
6. Окрасить водным фуксином (2 мин);
7. Промыть водой и высушить при помощи фильтровальной бумаги.

Окраска по методу Циля-Нильсена (для выявления кислотоустойчивых бактерий)

1. Нанести несколько капель карболового фуксина на фиксированный мазок, покрытый фильтровальной бумагой и подогреть до появления паров (3-5 мин);
 2. Бумагу снять, мазок охладить и обесцветить 5% раствором серной кислоты и 3% раствором солянокислого спирта (2-4 с);
 3. Тщательно промыть водой;
 4. Окрасить синькой Леффлера (3-5 мин);
 5. Промыть водой и высушить споры.
- Кислотоустойчивые бактерии, в результате такой окраски становятся рубиново-красными, а все остальные – синими.

Окраска мазков по методу Ожешко (выявление спор)

1. Нанести несколько капель 0,5% раствора соляной кислоты на нефиксированный мазок и нагреть до появления паров (2-3 мин);
2. Слить кислоту, промыть водой, высушить;
3. Зафиксировать в пламени;
4. Окрасить по методу Циля-Нильсена (при этом споры окрашиваются красный цвет, а вегетативные формы – в синий).

Окраска по методу Бурри-Гинса, (выявление капсулы)

Многие виды микроорганизмов обладают способностью откладывать на поверхности своего тела мощный слизистый слой вокруг клеточной стенки, его называют капсулой.

Капсулы имеют консистенцию геля, поэтому при микроскопии живых бактерий они видны очень плохо. Для их обнаружения применяют негативную окраску. При негативных способах краситель заполняет пространство вокруг бактерий, в результате чего они выглядят светлыми частицами на темном фоне.

1. Приготовить тушевой препарат по бурри (смешать каплю взвеси микробов с каплей туши и при помощи стекла со шлифованным краем приготовить мазок, как мазок из крови), затем высушить и зафиксировать (налить на поверхность мазка 96% спирт и поджечь);
 2. Окрасить препарат водным фуксином (1-2 мин);
 3. Промыть препарат водой, высушить на воздухе и микроскопировать.
- Бактерии окрашиваются в красный цвет, неокрашенные капсулы выявляются на черно-розовом фоне.

Методика окраска жгутиков по методу Леффлера

1. Микробную культуру вносят в 1 мл стерильной водопроводной воды. Через 20 минут каплю микробной суспензии наносят на стекло и высушивают на воздухе.
2. Препарат протравливают в течение 15 мин. (состав протравы: 1 мл насыщенного спиртового раствора основного фуксина; 10 мл 25% водного раствора танина; 5 мл насыщенного водного раствора сернокислого железа)
3. Препарат промывают водой
4. Окрашивают фуксином Циля, разведенным водой 1:1 в течение 5 мин. при небольшом нагревании.
5. Промывают водой, высушивают
6. Микроскопируют с иммерсией

Порядок микроскопии окрашенных мазков

1. Работать с микроскопом следует сидя;
2. Микроскоп осмотреть, вытереть от пыли мягкой салфеткой объективы, окуляр, зеркало;
3. Микроскоп установить перед собой, немного слева на 2-3 см от края стола. Во время работы его не сдвигать;
4. Открыть полностью диафрагму, поднять конденсор в крайнее верхнее положение;
5. Работу с микроскопом всегда начинать с малого увеличения;
6. Опустить объектив 8 х в рабочее положение, т. е. на расстояние 1 см от предметного стекла;
7. Глядя в окуляр и настроить интенсивность подсветки: равномерно осветить поле зрения;
8. Положить микропрепарат на предметный столик так, чтобы изучаемый объект находился под объективом. Глядя сбоку, опускать объектив при помощи макровинта до тех пор, пока расстояние между нижней линзой объектива и микропрепаратом не станет 4-5 мм ;
9. Смотреть в окуляр и вращать винт грубой наводки на себя, плавно поднимая объектив до положения, при котором хорошо будет видно изображение объекта. Нельзя смотреть в окуляр и опускать объектив. Фронтальная линза может раздавить покровное стекло, и на ней появятся царапины;
10. Передвигая препарат рукой, найти нужное место, расположить его в центре поля зрения микроскопа;
11. Если изображение не появилось, то надо повторить все операции пунктов 6, 7, 8, 9;
12. Для изучения объекта при большом увеличении сначала нужно поставить выбранный участок в центр поля зрения микроскопа при малом увеличении. Затем поменять объектив на 90 х, поворачивая револьвер, так чтобы он занял рабочее положение. Капнуть на препарат иммерсионное масло. Полностью погрузить объектив в масло и, глядя в окуляр медленно поднимать объектив до положения, при котором будет хорошо видно изображение объекта. При помощи микрометрического винта добиться хорошего изображения объекта. На коробке микрометрического механизма имеются две риски, а на микрометрическом винте - точка, которая должна все время находиться между рисками. Если она выходит за их пределы, ее

необходимо вернуть в нормальное положение. При несоблюдении этого правила, микрометрический винт может перестать действовать;

13. По окончании работы с большим увеличением, установить малое увеличение, поднять объектив, снять с рабочего столика препарат, протереть чистой салфеткой все части микроскопа, накрыть его полиэтиленовым пакетом и поставить в шкаф.

3. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

Типовые задания:

1. Приготовить мазки культур бактерий с МПБ, МПА;
2. Окрасить мазки простым методом (метиленовой синью);
3. Окрасить мазки сложными методами: по Граму, по Циль-Нильсену, Ожешко, Леффлеру, Бурри-Гинсу.

Типовая проблемно-ситуационная задача:

Из испражнений больного с подозрением на холеру выделена культура грамотрицательных изогнутых палочек. Необходимо определить подвижность холерного вибриона

Задания:

1. Назовите методы микроскопии для определения подвижности возбудителя холеры;
2. Укажите типы микропрепаратов для выбранного метода микроскопии;
3. Опишите технику приготовления микропрепаратов.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите цель микроскопического метода.
2. Назовите обязательные органоиды бактериальной клетки;
3. Назовите необязательные структуры бактериальной клетки и их функции;
4. Химический состав и функциональное назначение клеточной стенки;
5. Назовите 2 большие группы бактерий по отношению к окраске по Граму;
6. Назовите механизм строения клеточной стенки грамположительных бактерий;
7. Особенности химического состава клеточной стенки кислотоустойчивых бактерий;
8. Приведите пример кислотоустойчивых бактерий;
9. Назовите метод окраски кислотоустойчивых бактерий;

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 3

Приготовление простых питательных сред

| | | |
|---|--|---|
| Цель: формирование умений приготовления простых питательных сред | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - приготовления простых питательных сред; - проводить контроль качества простых питательных сред и определять их пригодность к использованию; - соблюдать технологию приготовления простых питательных сред; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести учетно-отчетную документацию, в том числе в форме электронного документа | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений приготовления простых питательных сред и проведения контроля качества питательных сред, ведения учетно-отчетной документации, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия. Письменный опрос.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Готовить питательные среды для микробиологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (спиртовка, чашки Петри, пробирки, термостат, холодильник, весы лабораторные, электроплита)

Приготовление мясопептонного бульона (МПБ)

В состав МПБ входят мясная вода, пептон и поваренная соль. Для приготовления мясной воды используют свежее мясо крупного рогатого скота или лошадей.

1. Мясо освобождают от костей, жира и сухожилий и пропускают через мясорубку.
 2. Полученный фарш заливают водой из расчета 1:2 (например, 1 кг фарша заливают 2 л воды).
 3. Ставят на 18—20 ч в прохладное место (4—6° С), затем кипятят в течение часа и фильтруют через ватно-марлевый фильтр.
 4. Фарш отжимают, к фильтрату добавляют воды до первоначального объема, разливают его по колбам или бутылкам и стерилизуют в автоклаве при избыточном давлении 0,1 МПа в течение 30 мин. Или заливают двукратным количеством воды, кипятят в течение часа,
 5. Дают остыть, фильтруют через ватно-марлевый фильтр.
 6. Фарш отжимают, к фильтрату добавляют воды до первоначального объема и стерилизуют его в течение 30 мин при избыточном давлении 0,1 МПа.
- При варке мясной воды на поверхности жидкости появляется некоторое количество жира, который необходимо снять.
7. Для приготовления МПБ к мясной воде добавляют 1% пептона и 0,5% химически чистой поваренной соли, кипятят 10 мин,
 8. Фильтруют через бумажный фильтр,
 9. Устанавливают рН 7,2—7,4 прибавлением щелочи или двууглекислой соды и снова кипятят 10 мин. Профильтрованный бульон должен быть цвета соломы и совершенно прозрачным.
 10. Бульон разливают по пробиркам и колбам, закрывают ватными пробками, пробки обвязывают пергаментной бумагой
 11. Стерилизуют 20—30 мин при избыточном давлении 0,1 МПа.

Приготовление мясопептонного агара (МПА)

К мясопептонному бульону добавляют 2—3% нарезанного агар-агара; нагревают в автоклаве или в текучепаровом аппарате до полного расплавления агар-агара. Устанавливают рН 7,2—7,4. Дают остыть до 50° С, осветляют путем добавления белка одного куриного яйца, разведенного двойным количеством дистиллированной воды. Ставят на 20 мин в автоклав при избыточном давлении 0,1 МПа для свертывания белка и тем самым осветляют среду, фильтруют через слой марли и ваты (рис. 1). Можно пользоваться другой методикой. К мясопептонному бульону добавляют 2—3% нарезанного агар-агара, нагревают до полного расплавления его. После остывания застывший плотный агар вынимают из посуды и отрезают нижнюю часть, содержащую осадок. Затем вновь расплавляют, разливают по пробиркам и стерилизуют при избыточном давлении 0,1 МПа в течение 20 мин. Необходимо, чтобы прозрачность агара позволяла свободно читать напечатанный на бумаге шрифт при наложении на него бактериологической чашки с агаром, налитым слоем толщиной 20 мм. После стерилизации для того, чтобы агар в пробирках застыл столбиком, их оставляют в

вертикальном положении. Если нужно приготовить агар скошенной формы, пробирки с расплавленным агаром располагают в наклонном положении так, чтобы среда заняла две трети пробирки, и в таком виде оставляют до застывания среды (рис. 2). При этом пробирки необходимо предохранять от действия солнечного света.

2. Вести учетно-отчетную документацию

Зафиксировать в журнале приготовления и контроля питательных сред (форма № 256/у):

- порядковый номер
- дата приготовления
- дата контроля
- наименование среды
- количество приготовленной среды в литрах
- серия и дата изготовления препарата, из которого приготовлена среда

3. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Приготовить простую питательную среду для культивирования бактерий: Мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар (МПА).

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Объясните понятие «простые питательные среды».
2. Перечислите простые питательные среды.
3. Назовите ингредиенты, входящие в состав простых питательных сред.
4. Перечислите требования, предъявляемые к питательным средам.
5. Назовите этапы приготовления питательных сред.
6. Назовите режимы стерилизации питательных сред.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 4
Приготовление сложных питательных сред

| | | |
|---|--|---|
| Цель: формирование умений приготовления сложных и дифференциально-диагностических питательных сред | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - приготовления сложных и дифференциально-диагностических питательных сред; - проводить контроль качества сложных питательных сред и определять их пригодность к использованию; - соблюдать технологию приготовления сложных питательных сред; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений приготовления сложных и дифференциально-диагностических питательных сред, проводить контроль качества сложных питательных сред и определять их пригодность к использованию, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, вести учетно-отчетную документацию.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия. Письменный опрос.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДПП-5

до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Готовить питательные среды для микробиологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (спиртовка, чашки Петри, пробирки, термостат, холодильник, весы лабораторные, электроплита)

Приготовление желточно-солевого агара (ЖСА)

Состав:

- мясо-пептонный агар 1 л
- хлористый натрий 95 г
- яично-желточная эмульсия 100 мл

Приготовление:

1 л мясо-пептонного агара перед анализом расплавляют и растворяют в нем 95 г хлористого натрия, охлаждают до температуры 45 ± 1 °С и добавляют 100 мл яично-желточной эмульсии. Смесь тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри. Хранят при температуре $+4 \dots -10$ °С не более 5 сут.

Эмульсия яично-желточная

Куриное яйцо протирают ватой, смоченной этиловым спиртом, помещают в стерильную чашку Петри, стерильным инструментом пробивают с противоположных сторон яйца два отверстия. Через одно отверстие полностью удаляют белок, затем, увеличив отверстие, выливают желток в стерильную колбу с 50 мл физиологического раствора, содержимое встряхивают до однородной массы. Хранят при температуре $+4 \dots -10$ °С не более 72 ч.

Приготовление кровяного агара (КА)

Приготовление среды.

В качестве основы используют сухой питательный агар. По прописи, указанной на этикетке, готовят 2% агар, рН 7,4-7,6. К расплавленному и охлажденному до 45 град. С агару, соблюдая правила асептики, добавляют 5% (5 мл крови на 100 мл питательной среды) дефибринированной бараньей, лошадиной или кроличьей крови, цитратной или дефибринированной крови человека без антибактериальных препаратов. Смесь тщательно перемешивают, чтобы не образовалось пены, и разливают в стерильные чашки Петри, предварительно подогретые в термостате, слоем 3-4 мм. Слой агара должен быть равномерно окрашен в красный цвет. Хранят не более двух недель в целлофановых мешках при 4 град.-6 град. С.

Приготовление среды Эндо

1940г агара Эндо растворить в 1 л дистиллированной воды, прокипятить до полного расплавления агара 2-3 мин, профильтровать и снова довести до кипения, остудить до температуры $45-50$ °С, разлить в стерильные чашки Петри слоем 3-4 мм, после застывания подсушить при температуре (37 ± 1) °С в течение 40-60 минут.

Готовую питательную среду необходимо использовать в день приготовления.
Хранить до посева в темноте.

2. Вести учетно-отчетную документацию

Зафиксировать в журнале приготовления и контроля питательных сред (форма № 256/у):

- порядковый номер
- дата приготовления
- дата контроля
- наименование среды
- количество приготовленной среды в литрах
- серия и дата изготовления препарата, из которого приготовлена среда

3. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Приготовить сложные питательные среды: кровяной агар, среда Эндо, желточно-солевой агар (ЖСА).
2. Провести стерилизацию питательных сред.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Классификация питательных сред по исходным компонентам.
2. Классификация питательных сред по составу.
3. Классификация питательных сред по назначению.
4. Назначение специальных сред.
5. Назначение ДДС.
6. Назначение избирательных сред.
7. Назовите ингредиенты для приготовления сложных питательных сред.
8. Перечислите требования, предъявляемые к питательным средам.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 5
Контроль качества питательных сред

| | | |
|---|---|---|
| Цель: формирование умений проводить контроль качества питательных сред | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - использовать оборудование, лабораторную посуду для приготовления питательных сред - готовить питательные среды, - проводить контроль качества питательных сред, - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры, - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить питательные среды, проводить контроль качества питательных сред, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, вести учетно-отчетную документацию.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Готовить питательные среды для микробиологических исследований

- Реактивы (питательные среды, индикаторная бумага)
- Оборудование (термостат, холодильник, весы лабораторные, водяная баня)

Контроль качества готовых питательных сред

Определение прозрачности и цветности

Прозрачность и цветность готовых сред, разлитых во флаконы, определяют визуально в проходящем свете. Агары предварительно расплавляют в кипящей водяной бане и разливают в чашки Петри слоем 4-5 мм.

Определение рН

Качественно рН среды определяют индикаторной бумажкой, пропитанной крезоловым красным. Цвет бумажки желтый. В кислой среде бумажка светлеет и принимает лимонный оттенок. При слабощелочной реакции (рН 7,1- 7,2) начинают розоветь только края бумажки, а при рН 7,4-7,5 она розовеет вся. По мере увеличения щелочности (начиная с рН 7,6) индикаторная бумажка приобретает малиновый цвет, при дальнейшем повышении рН появляется характерный фиолетовый оттенок. По степени интенсивности этого оттенка можно судить о щелочности среды.

Приготовление крезолово-красной бумаги.

0,1 крезолового красного растворить в 100 л 50% спирта и оставить при температуре 37 гр.С на 24 часа. Несколько раз встряхнуть раствор, после чего профильтровать через фильтровальную бумагу. Затем этим красителем пропитать полосы фильтровальной бумаги, высушить и нарезать полосками. Хранить в темном месте в емкостях с притертой крышкой. Исключить действие кислот и щелочей.

Определение стерильности

Определение стерильности (для стерилизуемых сред) и отсутствия контаминации (для нестерилизуемых сред) проводят путем инкубации чашки или пробирки с исследуемой средой в термостате при температуре и в течение времени, определенных для этих сред методическими документами по исследованию воды. Для большинства сред инкубация в термостате при температуре 37⁰С. Среды, простерилизованные в автоклаве, выдерживают в термостате 1 сут, простерилизованные текучим паром - 3 сут.

По истечении срока инкубации на (в) исследуемых питательных средах должны отсутствовать визуально определяемые признаки роста микроорганизмов.

Результаты регистрируют в журнале

2. Вести учетно-отчетную документацию

Зафиксировать в журнале приготовления и контроля питательных сред (форма № 256/у):

- порядковый номер
- дата приготовления
- дата контроля
- наименование среды
- количество приготовленной среды в литрах
- серия и дата изготовления препарата, из которого приготовлена среда

3. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)

- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести контроль качества готовых питательных сред: определить стерильность питательных сред, рН среды, прозрачность и цветность среды.
2. Зафиксировать результат контроля качества в журнале приготовления и контроля питательных сред (форма № 256/у).

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите режимы стерилизации питательных сред.
2. Назовите требования предъявляемые для приготовления питательных сред.
3. Назовите виды контроля качества питательных сред.
4. Цель химического контроля качества питательных сред.
5. Цель биологического контроля качества питательных сред.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 6
Изучение методов выделения и идентификации чистых культур микроорганизмов

| | | |
|---|---|---|
| Цель: формирование умений проводить посевы клинических материалов, бактериальных культур, пересевы бактериальных культур, выделять чистые культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов; - готовить исследуемый материал, простые, сложные и дифференциально-диагностические питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить посевы клинических материалов, бактериальных культур, пересевы бактериальных культур; - выделять чистые культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - оценивать результат проведенных исследований; - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить исследуемый материал, питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, проводить посевы клинических материалов, бактериальных культур, пересевы бактериальных культур, выделять чистые культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов, оценивать результат проведенных исследований, вести учетно-отчетную документацию.

6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)**
 - Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного биологического материала
 - Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
 - Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций

- 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор)
 - Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал

- 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов**

Техника и методы посева клинических материалов и бактериальных культур. Техника пересева бактериальных культур

 1. Материалом для посева могут быть пересеваемые культуры бактерий, различные выделения животных и человека, ткани трупа, вода, почва, продукты питания.
 2. Жидкий материал для посева берут петлей или пипеткой. При взятии петлей жидкость должна образовать в кольце петли тонкую прозрачную пленку - "зеркало". Пипетками пользуются в том случае, когда материал засевают в большом или точно отмеряемом объеме.
 3. Способ взятия плотного материала определяется его консистенцией. При посевах чаще всего пользуются бактериальной петлей.

4. Все манипуляции, связанные с посевом и выделением микробных культур, производят над пламенем горелки. Бактериальную петлю прокалывают над пламенем непосредственно перед взятием материала, затем петлю остужают. Для этого при пересеве микробной культуры с пробирки горячую петлю погружают в конденсационную жидкость, а при пересеве с чашек Петри прикасаются к поверхности питательной среды, свободной от микробного роста. Достаточно остуженная петля не вызывает шипения конденсационной жидкости и не растапливает агар при соприкосновении со средой.
5. После окончания посева петлю прожигают повторно для уничтожения находящейся на ней микробной культуры или инфицированных микроорганизмами материала.
6. Пипетки и шпатели, используемые для посевов и опускают в дезинфицирующий раствор.
7. После посева на чашках Петри со стороны дна, на пробирках в верхней трети надписывают название засеянного материала, ставят номер анализа и дату посева.

Техника посевов на плотные и жидкие питательные среды:

1. При посеве в жидкую питательную среду петлю с находящимся на ней материалом погружают в среду. Если материал вязкий и с петли не снимается, его растирают на стенке сосуда, а затем смывают жидкой средой. Жидкий материал, набираемый в пастеровскую или градуированную пипетку, вливают в питательную среду.

2. При посеве на скошенный мясопептонный агар пробирку берут в левую руку между I и II пальцами, чтобы основание пробирки находилось на поверхности кисти руки и посев осуществлялся под контролем глаза. Пробку из пробирки вынимают правой рукой V и IV пальцами, не прикасаясь к той части пробки, которая входит внутрь пробирки. Остальные 3 пальца правой руки остаются свободными для взятия бактериальной петли, посредством которой производится посев. Петлю держат, как писчее перо. После вынимания пробки пробирку с питательной средой держат в наклонном положении во избежание попадания в нее посторонних микроорганизмов из воздуха. Петлю с находящимся на ней пересеваемым материалом вводят в пробирку до дна, опускают плашмя на поверхность питательной среды и скользящими движениями наносят штрих снизу вверх, от одной стенки пробирки к другой.

3. При посеве на поверхность плотной питательной среды в чашки Петри чашку держат в левой руке. Дно ее с одной стороны придерживают I и II пальцами, а с другой — IV и V пальцами. Крышку, приоткрытую настолько, чтобы в образовавшуюся щель свободно проходили петля или шпатель, фиксируют I и III или I и II пальцами. Небольшое количество исследуемого материала втирают бактериальной петлей в поверхность питательной среды у края чашки. Затем петлю прожигают, чтобы уничтожить избыток находящегося на ней материала. Линию посева начинают с того места, в котором находится материал. Бактериальную петлю кладут плашмя на питательную среду, чтобы не поцарапать ее поверхности, и проводят штрихи по всей среде или по секторам, разграфив предварительно дно чашки (при условии, что среда прозрачна) на несколько равных частей. Нужно стараться, чтобы штрихи, наносимые петлей, располагались как можно ближе друг к другу, так как это удлиняет общую линию посева и дает возможность для равномерного распределения засеваемого материала по поверхности плотной питательной среды можно пользоваться вместо петли тампоном или шпателем.

При обилии в засеваемом материале микробов они растут в виде пленки, покрывающей всю поверхность питательной среды. Такой характер микробного роста получил название сплошного, или газонного. Посев газоном производят, когда нужно получить большие количества микробной культуры одного вида.

4. Из материала, подлежащего посеву в толщу плотной питательной среды, готовят взвесь в стерильной водопроводной воде или в изотоническом растворе. Набирают 0,1—1 мл взвеси в пипетку (в зависимости от степени предполагаемого микробного загрязнения) и выливают в пустую стерильную чашку Петри. Вслед за этим чашку заливают 15 - 20 мл мясопептонного агара, расплавленного и остуженного до температуры 40 - 45 °С (при такой температуре пробирка со средой, приложенная к щеке, не должна вызывать ощущения

ожога). Для равномерного распределения исследуемого материала в питательной среде закрытую чашку с содержимым слегка вращают по поверхности стола.

5. Посев уколом в столбик питательной среды производят в пробирку со средой, застывшей в виде столбика. Пробирку берут в левую руку, как обычно, и в центре столбика до дна пробирки вкалывают петлю с находящимся на ней материалом.

Выделение чистой культуры

- Посев штрихом.
- Посев уколом
- Получение чистой культуры методом рассева в глубине среды (по Коху).
- Выделение чистой культуры по способу Дригальского.
- Посев по методу Шукевича.
- Посев на среду Китта-Тароцци
- Посев на среду Вильсон-Блер (висмут-сульфитный агар)

4. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

5. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести первичный посев биологического материала на плотные и жидкие питательные среды.
2. Провести пересев колоний на скошенный агар для выделения чистой культуры микроорганизмов.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите цель микробиологического метода исследования;
2. Назовите виды клинического материала для микробиологического исследования;
3. Перечислите основные приемы позволяющие предупредить контаминацию клинического материала и питательных сред микрофлорой окружающей среды;
4. Дайте характеристику физическому методу выделения чистой культуры анаэробов.
5. Дайте характеристику химическому методу выделения чистой культуры анаэробов.
6. Дайте характеристику биологическому методу выделения чистой культуры анаэробов.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 7
Определение биохимической активности бактерий

| | | |
|--|--|---|
| Цель: формирование умений готовить питательные среды для определения сахаролитической и протеолитической активности бактерий, ферментативных свойств бактерий | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов; - готовить питательные среды для определения сахаролитической и протеолитической активности бактерий; - готовить исследуемый материал для определения ферментативных свойств бактерий; - определять биохимическую активность микроорганизмов - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - оценивать результат проведенных исследований; - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить питательные среды для определения сахаролитической и протеолитической активности бактерий, ферментативных свойств бактерий и биохимическую активность микроорганизмов, оценивать результат проведенных исследований, вести учетно-отчетную документацию.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия. Письменный опрос.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)**
 - Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного биологического материала
 - Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
 - Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций

- 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор)
 - Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, пробирки, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал

- 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов**
 - 1. Определение сахаролитической активности на среде Гисса**

Определение биохимической активности с помощью посева на среды «пестрого ряда». Для оценки способности бактерий ферментировать углевод в среды добавляют индикатор Андрее, позволяющий выявить образование кислых продуктов расщепления и «поплавок» для обнаружения газа.

 1. Чистую культуру исследуемого микроорганизма засевают петлей в среды "пестрого ряда".
 2. Посевы инкубируют при 37° С в течение 18—24 ч или больше.
 3. В том случае, если бактерии ферментируют углевод до образования кислых продуктов, наблюдается изменение цвета среды;
 4. При разложении углевода до кислоты и газообразных продуктов наряду с изменением цвета появляется пузырек газа в поплавке.
 5. Если используют среды с полужидким агаром, то образование газа регистрируется по разрыву столбика.

При отсутствии ферментации цвет среды не меняется. Поскольку бактерии ферментируют не все, а только определенные для каждого вида углеводы, входящие в состав сред Гисса, наблюдается довольно пестрая картина, поэтому набор сред с углеводами и цветным индикатором называют "пестрым рядом».

2. Тест на наличие каталазы

Посев производят в пробирках на скошенный мясо-пептонный агар или другую среду, не содержащую крови. После инкубации вливают вниз по косяку 1 мл 3%-ной перекиси водорода. Сразу же и через 5 мин наблюдают за образованием пузырьков, которое означает положительную реакцию. Параллельно добавляют несколько капель 3%-ной перекиси водорода и к колониям на чашке или к зонам обильного роста, который может наблюдаться на поверхности полужидкой среды. Реакцию можно проводить и на предметном стекле: в этом случае на предметное стекло наносят несколько капель перекиси водорода, петлей снимают колонию и проводят наблюдения. В случае бульонной культуры к 0,5 мл культуры добавляют 0,5 мл 3%-ной перекиси водорода и наблюдают за постоянным образованием пузырьков. Некоторые бактерии, например молочнокислые на средах с низкими концентрациями глюкозы или вообще без глюкозы, образуют псевдокаталазу. Образование псевдокаталазы можно предотвратить добавлением к среде глюкозы (1%). При проверке анаэробов на каталазную активность важно перед добавлением перекиси водорода выдержать культуру на воздухе в течение 30 мин. Положительный результат — *Staphilococcus epidermidis*, *Escherichiacoli*, *Mycobacterium spp.*; отрицательный — *Streptococcus spp*, *Clostridium spp.*, *Lactococcus lactis*.

3. Тест на наличие оксидазы

Метод 1 (метод Ковача). На отрезок фильтровальной бумаги наносят несколько капель 1%-ного водного раствора дигидрохлорида тетра метил-*n*-фенилендиамина, приготовленного в тот же день. Выросшую культуру снимают с поверхности агаровой среды платиновой петлей (обычные петли из нихромовой проволоки могут давать ложноположительную реакцию) и наносят ее на увлажненную бумагу. Положительная реакция — развитие фиолетовой или пурпурной окраски в течение 10 с. Положительный результат дает *Ps. aeruginosa*, отрицательный — *E. coli*.

Метод 2 (метод Эрлиха). Этот метод менее чувствительный, но более удобный. Несколько капель смеси (1: 1 по объему) 1%-ного раствора α -нафтола, растворенного в 95%-ном этаноле, и свежеприготовленного 1%-ного водного раствора оксалата диметил-*n*-фенилендиамина наносят на колонии в чашках с агаром. В другом варианте жидкой культуре добавляют 0,2 мл α -нафтола и 0,3 мл диметилпарафенилендиамина и энергично перемешивают. Положительная реакция: окрашивание колоний или бульонной культуры в фиолетово-синий цвет в течение 10 — 30 с.

4. Постановка реакции плазмокоагуляции

Принцип метода: В пробирку, содержащую цитратную плазму крови кролика, вносится испытуемая культура. После инкубации в термостате учитывается результат. При положительном результате плазма свертывается (коагулирует).

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести исследования для определения биохимической активности выделенных чистых культур микроорганизмов.
2. Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назвать состав и принцип работы жидкой и полужидкой среды Гиса;
2. Назвать возможные ошибки, которые могут повлиять на изучение сахаролитической активности.
3. Назовите принцип каталазного теста.
4. Назовите принцип оксидазного теста
5. Назовите принцип определения индола.
6. Назовите принцип определения сероводорода.
7. Назовите принцип фаготерапии и профилактики.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 8

Определение антибиотикочувствительности бактерий дискодиффузным методом

| | | |
|--|---|---|
| Цель: формировать умения готовить исследуемый материал, питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов; - готовить исследуемый материал, питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам; - проводить посевы клинических материалов, бактериальных культур, пересевы бактериальных культур; - выделять чистые культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов; - определять чувствительность микроорганизмов к антибиотикам; - соблюдать методику проведения исследования чувствительности к антибиотикам; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - оценивать результат проведенных исследований; - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить исследуемый материал, питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, проводить посевы клинических материалов, бактериальных культур, пересевы бактериальных культур, выделять чистые культуры аэробных и анаэробных микроорганизмов, оценивать результат проведенных исследований, вести учетно-отчетную документацию.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический,

петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор дисков с антибиотиками)
- Оборудование (бактериологические шпатели, спиртовка, чашки Петри, термостат, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Метод бумажных дисков

Исследуемую бактериальную культуру засевают газоном на питательный агар в чашке Петри.

На засеянную поверхность пинцетом помещают на одинаковом расстоянии друг от друга бумажные диски, содержащие определенные дозы разных антибиотиков. Посев инкубируют при 37° С до следующего дня. По диаметру зон задержки роста исследуемой культуры бактерий судят о ее чувствительности к антибиотикам.

Для получения достоверных результатов необходимо применять стандартные диски и питательные среды, для контроля которых используются эталонные штаммы соответствующих микроорганизмов.

Метод дисков не дает надежных данных при определении чувствительности микроорганизмов к плохо диффундирующим в агар полипептидным антибиотикам (например, полимиксин, ристомицин). Если эти антибиотики предполагается использовать для лечения, рекомендуется определять чувствительность методом серийных разведений.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Оценка результатов определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методами дисков и серийных разведений

| Антибиотик | Метод дисков: диаметры зон задержки роста на среде АГВ (агар Гурьева-Васильева) | | | Метод серийных разведений: минимальная ингибирующая концентрация мкг/мл | |
|------------------|---|---------------------|----------------|---|----------------|
| | Устойчивые | Умеренно устойчивые | Чувствительные | Устойчивые | Чувствительные |
| Бензилпенициллин | ≤ 20 | 21-28 | ≥ 29 | - | ≤ 0.1 |
| Ампициллин | ≤ 20 | 21-28 | ≥ 29 | - | ≤ 0.2 |
| Цефалексин | - | - | - | ≥ 32 | ≤ 10 |
| Стрептомицин | ≤ 16 | 17-19 | ≥ 20 | ≥ 15 | ≤ 6 |
| Неомицин | ≤ 12 | 13-16 | ≥ 17 | - | ≤ 10 |
| Канамицин | ≤ 14 | 15-18 | ≥ 19 | ≥ 25 | ≤ 6 |
| Тетрациклин | ≤ 16 | 17-20 | ≥ 22 | ≥ 12 | ≤ 2 |
| Эритромицин | ≤ 17 | 18-21 | ≥ 22 | ≥ 8 | ≤ 2 |
| Левомецетин | ≤ 15 | 16-18 | ≥ 19 | ≥ 16 | ≤ 8 |
| Рифампицин | ≤ 12 | 13-15 | ≥ 16 | ≥ 8 | ≤ 2 |

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Определить чувствительность микроорганизмов к антибиотикам дискодиффузным методом и методом серийных разведений.
2. Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Определение понятия «антибиотики».
2. Требования, предъявляемые к антибиотикам.
3. Антибиотики по спектру действия.
4. На какую группу микроорганизмов действуют антибиотики широкого спектра действия.
5. На какую группу микроорганизмов действуют антибиотики узкого спектра действия.
6. Антибиотики по химическому строению.
7. Антибиотики по направленности действия.
8. Антибиотики по механизму антимикробного действия.
9. Осложнения при применении антибиотиков.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 9
Постановка качественной и количественной реакции агглютинации

| | | |
|---|--|---|
| Цель: формирование умений проводить качественную и количественную реакции агглютинации, соблюдая методику проведения РА, оценивать полученные результаты | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить чистые культуры микроорганизмов, реактивы, оборудование для проведения иммунологических реакций; - проводить качественную и количественную реакции агглютинации; - соблюдать методику проведения РА; - оценки полученных результатов; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - оценивать результат проведенных исследований; - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; - строение иммунной системы, виды иммунитета; - иммунокомпетентные клетки и их функции; - виды и характеристику антигенов; - классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; - механизм иммунологических реакций |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить чистые культуры микроорганизмов, реактивы, оборудование для проведения иммунологических реакций, проводить качественную и количественную реакции агглютинации, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры, оценивать результат проведенных исследований, вести учетно-отчетную документацию, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию

1. Материалом для исследования может быть:

- сыворотка пациента (определение антител к микроорганизма)
- чистые культуры микроорганизмов, выделенные от больных или из объектов внешней среды (определение антигенных свойств микроба)
- патологический материал от больных (например, соскобы эпителия, пунктаты, биоптаты, секционный материал) для экспресс обнаружения Ag микроорганизмов.

2. Хранение и транспортировка зависит от вида исследуемого материала:

- сыворотка пациента подлежит исследованию в день взятия и поступления в лабораторию. При невозможности провести исследование в день поступления сыворотку сливают в пробирки Эппендорф и замораживают при температуре -20⁰С. Возможно трехкратное размораживание (дефростация) с последующей заморозкой при данной температуре
- диагностическая сыворотка хранится при температуре 6-8⁰С (зависит от производителя набора)
- исследуемая культура микроорганизмов хранится в соответствующей данному микроорганизму питательной среде в термостате (для большинства культур микроорганизмов 37⁰С)

3. Регистрацию поступившего материала для исследования осуществляют в журнале регистрации с присвоением порядкового номера исследования, даты поступления материала и пр.).

2. Осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования

- Реактивы (диагностикумы, физиологический раствор)
- Оборудование (бактериологические петли, спиртовка, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник)
- Исследуемый материал

3. Проводить иммунологическое исследование

1) Алгоритм постановки РА на стекле

1. На обезжиренное предметное стекло наносят отдельно каплю известной агглютинирующей сыворотки
2. Каплю физиологического раствора (контроль).
3. Затем бактериологической петлей берут бактериальную массу изучаемой культуры из колонии в чашке Петри или с поверхности скошенного мпа в пробирке

4. Суспендируют отдельно в иммунной сыворотке и физиологическом растворе до получения гомогенной взвеси.

5. Результат учитывают через 2...4 мин.

Учет результатов: в контрольной пробе изменения должны отсутствовать. При специфическом соответствии культуры бактерий иммунной сыворотке появляются хлопья агглютината (положительный результат), в случае отсутствия феномена агглютинации делают заключение о том, что исследуемая культура бактерий не соответствует иммунной сыворотке.

2) Развернутая реакция агглютинации

В пробирки разливают физиологический раствор: в первую - 2,4 мл, в остальные по 0,5 мл. В первую пробирку добавляют 0,1 мл исследуемой сыворотки, перемешивают, переносят 0,5 мл в третью пробирку и т.д. Из последней пробирки 0,5 мл смеси выливают, в результате получают в каждой пробирке по 0,5 мл следующих разведений 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 и т.д. Из первой пробирки 0,5 мл переносят в чистую пробирку и добавляют туда 0,5 мл физиологического раствора (контроль сыворотки в разведении 1:50), а 1,0 мл выливают.

Диагностикум разводят физиологическим раствором согласно прилагаемому к нему наставлению и добавляют по 0,5 мл во все пробирки, кроме контроля. После добавления диагностикума разведение сыворотки соответственно удваивается, т.е. получается 1:50, 1:100 и т.д. Сыворотки с антигеном смешивают путем встряхивания и помещают в термостат (37 °С) на 18 - 20 часов. После инкубации пробирки выдерживают 1 - 2 часа при комнатной температуре и проводят учет реакции.

Учет реакции проводят по стандарту мутности в зависимости от степени осаждения агглютината и просветления жидкости.

Для приготовления стандарта мутности антиген, применяемый для постановки РА, еще раз разводят в два раза.

Дальнейшее разведение антигена физиологическим раствором производят по схеме 1.

Схема 1

Разведение антигена физиологическим раствором

| | Степень агглютинации | | | | |
|--------------------------|----------------------|------|-----|------|-----|
| | ++++ | +++ | ++ | + | |
| Антиген, разведенный 1:2 | 0 | 0,25 | 0,5 | 0,75 | 1,0 |
| Физ. раствор | 1,0 | 0,75 | 0,5 | 0,25 | 0 |
| % просветления | 100 | 75 | 50 | 25 | 0 |

Стандарт мутности готовят каждый раз при постановке РА и ставят в термостат одновременно с основной реакцией.

Титром сыворотки является максимальное ее разведение, дающее 50% агглютинации, - просветление, оцениваемое на 2+.

При применении стандартизированного диагностикума титры исследуемых сывороток соответствуют количеству международных единиц антител (ме/мл).

Так, титры 1:50, 1:100, 1:200 и т.д. соответственно равны 50, 100, 200 и т.д. ме/мл.

При диагностической оценке РА рекомендуется следующая схема:

- титр сыворотки 1:100 (100 ме/мл) - результат положительный;
- титр сыворотки 1:200 (200 ме/мл) - результат положительный;
- титр сыворотки 1:400 (400 ме/мл) - результат резко положительный.

Диагностическим титром принято считать реакцию агглютинации не менее 2+ при разведении сыворотки 1:100 и выше.

4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

5. Проводить оценку результатов иммунологического исследования.

Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Провести реакцию агглютинации на стекле и развернутую РА для определения антигенной структуры выделенной чистой культуры бактерий.
2. Зафиксировать в журнал полученные результаты.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дайте определение понятию антиген; Назовите основные свойства антигенов;
2. Назовите антигены микробной клетки;
3. Дайте определение понятию антитела;
4. Применение реакций иммунного ответа.
5. Дать определение понятию титр антител;
6. Адсорбированные и неадсорбированные сыворотки
7. Назовите механизм серологических реакций.
8. Назовите направления серологических реакций.
9. Назовите цель серодиагностики.
10. Назовите цель сероидентификации.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 10

Проведение реакции преципитации и кольцепреципитации

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений проводить реакции преципитации, оценивать результат проведенных исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить чистые культуры микроорганизмов, реактивы, оборудование для проведения иммунологических реакций - проводить реакции преципитации - соблюдать методику проведения РП - оценки полученных результатов - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - оценивать результат проведенных исследований - вести учетно-отчетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; - строение иммунной системы; виды иммунитета; - иммунокомпетентные клетки и их функции; - виды и характеристику антигенов; - классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; - механизм иммунологических реакций. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить чистые культуры микроорганизмов, реактивы, оборудование для проведения иммунологических реакций, проводить реакции преципитации, оценивать результат иммунологического исследования, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры, вести учетно-отчетную документацию, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1)

электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию

1. Материалом для исследования может быть:

- сыворотка пациента (определение антител к микроорганизму)
- чистые культуры микроорганизмов, выделенные от больных или из объектов внешней среды (определение антигенных свойств микроба)
- патологический материал от больных (например, соскобы эпителия, пунктаты, биоптаты, секционный материал) для экспресс обнаружения Ag микроорганизмов.

2. Хранение и транспортировка зависит от вида исследуемого материала:

- сыворотка пациента подлежит исследованию в день взятия и поступления в лабораторию. При невозможности провести исследование в день поступления сыворотку сливают в пробирки Эппендорф и замораживают при температуре -20°C . Возможно трехкратное размораживание (дефростация) с последующей заморозкой при данной температуре
- диагностическая сыворотка хранится при температуре $6-8^{\circ}\text{C}$ (зависит от производителя набора)
- исследуемая культура микроорганизмов хранится в соответствующей данному микроорганизму питательной среде в термостате (для большинства культур микроорганизмов 37°C)

3. Регистрацию поступившего материала для исследования осуществляют в журнале регистрации с присвоением порядкового номера исследования, даты поступления материала и пр.).

2. Осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования

- Реактивы (диагностикумы, физиологический раствор)
- Оборудование (бактериологические петли, спиртовка, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник)
- Исследуемый материал

3. Проводить иммунологическое исследование

Постановка реакции преципитации по Асколи

Ингредиенты реакции:

1. растворимый АГ или гаптен (преципититоген)
2. АТ — преципитины {иммунная преципитирующая сыворотка; получают иммунизацией кроликов соответствующими растворами АГ-ми};
3. изотонический раствор хлорида натрия или агаровый гель.

Методы постановки РП:

- 1) РП в растворах — р. кольцепреципитации;

2) РП в геле.

Реакцию кольцепреципитации ставят в узких преципитационных пробирках, в которые разливают преципитирующие сыворотки. Затем наливают раствор преципитиногена. При положительной реакции на границе соприкосновения ингредиентов появляется мутное кольцо преципитации.

4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

5. Проводить оценку результатов иммунологического исследования
Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Провести реакции преципитации.
2. Зафиксировать полученные результаты в журнале.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дайте определение понятию иммунологическая толерантность;
2. Практическое применение аллергических реакций.
3. Назовите виды реакции преципитации
4. Назовите механизм реакции преципитации.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 11
Проведение микробиологической диагностики стафилококковых и стрептококковых инфекций

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику стафилококковых и стрептококковых инфекций, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику стрептококковых инфекций. - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологические исследования клинического материала, оценивать результат проведенных исследований, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций

Материал: гной, раневое отделяемое, пунктаты из полостей и абсцессов, кровь, мокрота, моча, ликвор, рвотные массы, испражнения, остатки пищи.

Микроскопический метод

Выявление грамположительных кокков (группами по 2-3 клетки) в мазках из материала от больного, окрашенных по Граму

Серологический метод

РНГА или РН для определения α -антитоксина в сыворотке крови больных хроническими стафилококковыми инфекциями. ИФА для определения антител к стафилококку. Имеет вспомогательное значение

Бактериологический метод

1 день. Посев материала на чашки с желточно-солевым (ЖСА), кровяным МПА, сахарным МПБ.

2 день - учет характера роста колоний. На ЖСА колонии стафилококка с ровными краями, гладкой поверхностью, радужным венчиком вокруг, цвет - от золотистого до белого. На кровяном МПА - зоны гемолиза, в МПБ - равномерное помутнение. В мазке из колоний в окраске по Граму - кокки в виде гроздьев винограда. Пересев оставшейся части колонии на

скошенный МПА для получения чистой культуры, а с сахарного МПБ на кровяной МПА и ЖСА для получения изолированных колоний.

3 день - идентификация выделенной культуры стафилококка, дифференциация видов по биохимическим свойствам, определение чувствительности к антибиотикам и фаговара. Выделение чистой культуры с ЖСА и кровяного МПА.

Выявление плазмокоагулазы: цитратную плазму крови кролика разводят в 2 раза, разливают по 0,4 мл в пробирки, куда вносят петлей культуру стафилококков. Результаты регистрируют через 2, 4, 24 часа. При наличии плазмокоагулазы образуется сгусток.

В некоторых случаях у выделенных чистых культур стафилококка определяют наличие ДНК-азы, каталазы, лизоцимной активности, фибринолизина, гиалуронидазы.

Лизоцимную активность выявляют по зонам просветления вокруг колоний стафилококка при его посеве на МПА в чашках Петри с культурой *Micrococcus luteus*.

Определение ДНК-азы. Суточную агаровую культуру стафилококка засевают на МПА в чашке Петри, содержащий ДНК. После инкубации посевов при температуре 37°С в течение 18-24 часов поверхность МПА заливают 1N раствором соляной кислоты. Наличие ДНК-азы характеризуется появлением зоны просветления вокруг колоний.

Каталазный тест. Чистую культуру стафилококка вносят в каплю 3%-10%-го раствора перекиси водорода на стекле и растирают круговыми движениями. При наличии каталазы перекись водорода разлагается с образованием пузырьков кислорода.

4 день. Заключение о виде стафилококка. Идентификация культуры, выделенной из сахарного МПБ

5 день. Заключение о виде стафилококка, выделенного из сахарного МПБ.

Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций

Материал: гной, раневое отделяемое, пунктаты из полостей и абсцессов, кровь, мокрота, моча, ликвор, рвотные массы, испражнения, остатки пищи.

Микроскопический метод.

Выявление грамположительных кокков в виде цепочек в мазках из материала от больного.

Бактериологический метод.

1. день. Посев материала на чашки кровяным МПА, пробирки или флаконы с сахарным МПБ.

2 день - учет характера роста колоний (на кровяном МПА - зоны гемолиза, в МПБ - равномерное помутнение). В мазке из колоний в окраске по Граму - кокки в виде цепочек. Оставшуюся часть колонии пересевают на скошенный МПА для получения чистой культуры. Пересев с сахарного МПБ на кровяной МПА

3 день - идентификация выделенной культуры стрептококка, дифференциация основных видов, определение чувствительности к антибиотикам. Выделение чистой культуры с кровяного МПА.

4 день. Заключение о виде стрептококка. Идентификация культуры, выделенной из сахарного МПБ

5 день. Заключение о виде стрептококка, выделенного из сахарного МПБ. Серологический метод

Реакция нейтрализации (РН) для определения антистрептолизина-О (гемолизина) и антигиалуронидазы в сыворотке крови больных стрептококковыми инфекциями.

Исследование крови. Для выделения гемокультуры посев обычно производят в сахарный бульон. При наличии стрептококка на дне флакона появляется хлопьевидный придонный осадок, а в мазках обнаруживаются длинные цепочки стрептококков. Для выделения чистой культуры и определения характера гемолиза делают пересев в чашку с кровяным агаром. Через сутки (3-й день исследования) появляются типичные мелкие колонии, окруженные зоной гемолиза. Дальнейший ход исследования аналогичен описанному выше.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести первичный посев биологического материала на питательные среды для выделения чистой культуры стафилококков и стрептококков.
2. Идентифицировать выделенных бактерий по культуральным, тинкториальным, биохимическим, антигенным свойствам.
3. Определить чувствительности к антибиотикам.
4. Зафиксировать полученные результаты в журнале.

Типовая проблемно-ситуационная задача

Студенты окрасили мазки, приготовленные из смеси бактерий, по Граму, промикроскопировали их с помощью иммерсионной системы и обнаружили красные палочки и сине-фиолетовые кокки, напоминающие «гроздь винограда».

Задания:

1. Перечислите свойства бактерий, определенные при микроскопии
2. Опишите метод и механизм окраски бактерий
3. Назовите этап окраски, на котором происходит дифференциация бактерий.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дать общую характеристику стафилококкам, стрептококкам.
2. Назвать морфологические особенности стафилококка, стрептококка
3. Перечислить культуральные свойства стафилококка, стрептококка
4. Назвать биохимические свойства стафилококка, стрептококка
5. Перечислить факторы патогенности.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 12

Проведение микробиологической диагностики менингококковой инфекции

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику менингококковой и гонококковой инфекций, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику менингококковой и гонококковой инфекций; - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для микробиологического исследования, проводить микробиологическую диагностику менингококковой и гонококковой инфекций, оценивать результаты исследований, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия. Письменный опрос.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДПП-5

до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

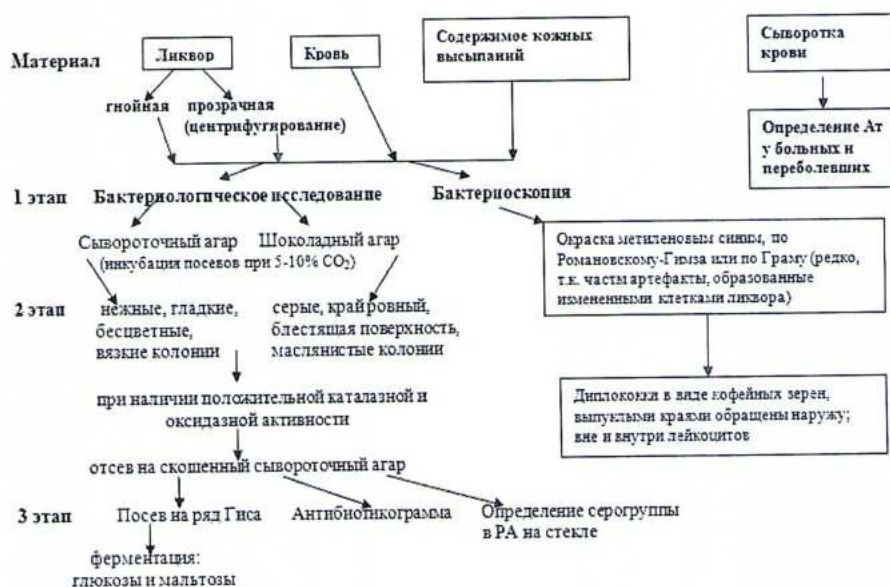
- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Схема микробиологического исследования при менингококковой инфекции



4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести первичный посев биологического материала на питательные среды для выделения чистой культуры менингококка.
2. Идентифицировать выделенные бактерии по культуральным, тинкториальным, биохимическим, антигенным свойствам.
3. Определить чувствительности к антибиотикам.
4. Зафиксировать полученные результаты в журнале.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назвать морфологические особенности, культуральные, биохимические свойства менингококка
2. Перечислить факторы патогенности менингококка
3. Назвать эпидемиологические особенности менингококка
4. Назовите методы лабораторной диагностики. Перечислите виды клинического материала.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 13
Проведение микробиологической диагностики туберкулеза

| | | |
|--|---|---|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику туберкулеза, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - оценивать качество доставленного для исследования биологического материала; - проводить микробиологическую диагностику туберкулеза; - соблюдать методику микробиологической диагностики туберкулеза - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений оценивать качество доставленного для исследования биологического материала, проводить микробиологическую диагностику туберкулеза, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия. Письменный опрос.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, парафин жидкий, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, спиртовка, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

Подготовка исследуемого материала к бактериологическому посеву

Перед посевом исследуемый материал необходимо гомогенизировать и освободить от сопутствующей гноеродной и гнилостной микрофлоры.

Обработка материала 10% раствором трехзамещенного фосфорнокислого натрия

Трехзамещенный фосфорнокислый натрий (Na_3PO_4) хорошо подавляет сопутствующую флору и даже при 2 - 3-дневном хранении материала при $+4^\circ\text{C}$ не повреждает микобактерии и мало влияет на их способность к росту на питательных средах.

1. Исследуемый материал, находящийся в стерильном флаконе с 6 - 8 стеклянными бусинами или битым стеклом, залить равным объемом 10% трехзамещенного фосфата натрия и поместить на 10 мин. во встряхиватель.

2. Флакон с материалом поместить на 18 - 20 часов в термостат при 37°C .

3. После этого материал стерильной пипеткой объемом 5 - 10 мл перенести в пробирки, уравновесить их и центрифугировать при 3000 об/мин в течение 15 минут. При указанном режиме происходит осаждение 95% присутствующих в материале микобактерий.

4. Надосадочную жидкость отобрать стерильной пипеткой на 10 - 5 мл и перенести ее в емкость с дезинфицирующим раствором, оставив в каждой пробирке 1,2 - 1,5 мл осадка.

5. Использованную пипетку опустить в емкость с дезинфицирующим раствором.

6. К осадку стерильно добавить несколько капель 6% соляной кислоты до получения нейтрального значения рН, определяемого индикаторной бумажной полоской.

7. Встряхнуть пробирку с осадком и поместить ее в штатив в порядке регистрационных номеров материала.
8. Для снижения токсичного воздействия на микобактерии различных остатков веществ (в том числе возможных химиопрепаратов) вводят еще одну процедуру отмывки 10 - 15 мл дистиллированной воды.
9. Супернатант удаляют, а осадок в объеме 0,8 - 1,0 мл готовят к инокулированию и приготовлению мазка.

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Порядок исследования для выявления микобактерий туберкулеза

Материал: мокрота, моча, гной, пунктат, СПЖ (ликвор) и др.

1. Бактериоскопический метод (окраска по Цилю-Нильсену)
2. Культуральный метод: посев исследуемого материала на питательные среды (Левенштейна-Йенсена, ФиннП). Явные признаки роста появляются на 3-4 недели инкубации в виде сухого, бугристого налета белого или слегка желтоватого цвета, напоминающего цветную капусту.
3. Определение антибиотикочувствительности

Окрашивание мазков мокроты по методу Циля-Нильсена

1. Фиксированный на пламени мазок покрывают полоской фильтровальной бумаги, наливают на нее карболовый раствор фуксина и подогревают; при появлении паров прекращают нагревание и оставляют краску на препарате еще на несколько минут (2—3 минуты). Дав препарату остыть, удаляют пинцетом бумажку и обмывают мазок водой.
2. Обесцвечивают препарат 5—10% водным раствором серной кислоты в течение 3—5 секунд (до желтоватого оттенка мазка). Вместо серной кислоты можно применить 5% раствор азотной или 3% раствор соляной кислоты.
3. Мазок тщательно промывают водой.
4. Споласкивают 96° спиртом.
5. Снова промывают водой.
6. Докрашивают в течение 3—5 минут леффлеровской метиленовой синькой или водным раствором 1: 1000 малахитовой зелени или метиловой зелени.
7. Краску смывают водой и препарат высушивают.

Микроскопическая картина: туберкулезные палочки - рубиново красные, остальные, за исключением возбудителя паратуберкулеза, кислото - и спиртоустойчивых сапрофитов, - синие. Для обесцвечивания мазков при окраске по Цилю-Нильсену вместо растворов кислот и спирта особо рекомендуется применение солянокислого алкоголя (соляной кислоты 3 мл+96° спирта 97 мл) до слабо заметного розоватого оттенка препарата. После этого мазок ополаскивают водой и докрашивают метиленовой синькой и т. д. по основной прописи. Указанным методом достигается одновременное испытание бацилл на кислото - и спиртоустойчивость. Среди видов кислотоустойчивых сапрофитов встречаются спиртоподатливые разновидности, палочки же туберкулеза и паратуберкулеза всегда кислото - и спиртоустойчивы.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Приготовить и окрасить мазки мокроты по методу Циль-Нильсена.
2. Провести микроскопическое исследование окрашенных препаратов мокроты.
3. Зафиксировать полученные результаты в журнале.

Типовая проблемно-ситуационная задача:

В бактериологическую лабораторию туберкулёзного диспансера поступил исследуемый материал (мокрота) от больного М. с подозрением на туберкулез лёгких.

Задания:

1. Укажите цель доставки материала в лабораторию
2. Перечислите методы выявления туберкулезных палочек в мокроте
3. Назовите дифференциальный метод окраски микобактерий туберкулеза, красители и реактивы для метода

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Описать морфологию микобактерии туберкулеза
2. Перечислите условия необходимые для культивирования возбудителей туберкулеза (тип дыхания, температура, рН, срок культивирования, питательные среда)
3. Опишите культуральные свойства возбудителей туберкулеза на плотных и жидких средах
4. Ферментативные свойства микобактерий туберкулеза. Имеет ли диагностическое значение изучение ферментов?
5. Каков патогенез туберкулеза?
6. Какие клинические формы туберкулеза вы знаете?
7. Какова природа иммунитета при туберкулезе?
8. Какие препараты применяются для диагностики и специфической профилактики туберкулеза?
9. Какие микробиологические методы применяются для диагностики туберкулеза?
10. Какой клинический материал используется при диагностике туберкулезной инфекции?
11. Каким методам окрашивают мазки для обнаружения возбудителей туберкулеза?
12. Чем объясняется кислотоустойчивость микобактерий?

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 14
Проведение микробиологической диагностики дифтерии

| | | |
|---|--|---|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику дифтерии, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований - оценивать качество доставленного для исследования биологического материала - проводить микробиологическую диагностику дифтерии. - оценивать результаты исследований - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику дифтерии, оценивать результаты исследований, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Схема выделения и идентификации чистой культуры дифтерийных бактерий

Материал для исследования: пленки, мазки, гной, раневое отделяемое

1 этап: Бактериоскопический: окраска препаратов по Граму, Нейссеру или Леффлеру

Культуральный: посев на кровяно-теллуритовый, коринебакагар или сывороточный агар

2 этап: макро- и микроскопия отобранных колоний. Отсев на сывороточные среды для выделения чистой культуры

3. этап: макро- и микроскопия отобранных колоний. Посев на среды с глюкозой, сахарозой, крахмалом, цистеином (проба Пизу), мочевиной (проба Закса).

Серотипирование культуры на стекле с типовыми сыворотками.

Проверка токсигенности культуры

Проверка чувствительности культуры к антибиотикам

4 этап: учет результатов и заключение.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести выделение чистой культуры возбудителя дифтерии с последующим типированием до вида и определение антибиотикочувствительности.
2. Зафиксировать проведенные исследования в журнал

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите морфологические особенности возбудителей дифтерии.
2. Назовите методы окраски коринебактерий.
3. Назовите культуральные свойства коринебактерий (условия культивирования, срок культивирования).
4. Назовите элективные питательные среды для культивирования коринебактерий, опишите рост возбудителей дифтерии на питательных средах.
5. Опишите ферментативные свойства коринебактерий.
6. Токсинообразование коринебактерий.
7. Опишите антигенную структуру коринебактерий.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 15
Проведение микробиологической диагностики коклюша

| | | |
|--|--|---|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику коклюша и паракоклюша, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - оценивать качество доставленного для исследования биологического материала; - проводить микробиологическую диагностику коклюша и паракоклюша, - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику коклюша и паракоклюша, оценивать результаты исследований, проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования

Схема бактериологического исследования при коклюше

Материал для исследования: мокрота, слизь или смывы с носоглотки

1 этап: микроскопия мазков с окраской по Граму (по требованию врача). Посев материала на казеиново-угольный агар (КУА) или среду Борде-Жангу методом кашлевых пластинок

2 этап: макро- и микроскопический отбор колоний. Высев подозрительных колоний на косячки тех же сред. Ориентировочная РА с сывороткой 1 фазы и предварительный диагноз

3 этап: макро- и микроскопический анализ колоний. Посев на пестрый ряд, среду с мочевиной, простой МПА, с тирозином, лакмусовое молоко и на скошенный КУА. Развернутая РА с сывороткой 1 фазы

4. этап: учет результатов и заключение.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести выделение чистой культуры возбудителя коклюша с последующим типированием до вида и определение антибиотикочувствительности.
2. Зафиксировать проведенные исследования в журнал

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Опишите основные морфологические свойства бордетелл.
2. Назовите культуральные особенности бордетелл.
3. Назовите элективные питательные среды для культивирования бордетелл.
4. Опишите характер роста бордетелл на средах.
5. Дайте характеристику биохимическим свойствам бордетелл.
6. Дайте характеристику антигенным свойствам бордетелл.
7. Назовите факторы патогенности.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 16
Проведение микробиологической диагностики эшерихиозов

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику эшерихиозов, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований эшерихиозов; - проводить микробиологическую диагностику эшерихиозов; - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства; – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; – виды и характеристику антигенов. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику эшерихиозов, утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия. Тестирование.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1)

электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями);

Схема микробиологической диагностики эшерихиозов

Материал для исследования: испражнения, рвотные массы, при летальном исходе - кусочки органов и ткани

1 этап: посев материала на агар Эндо, Левина, среду с сорбитом

2 этап: макро- и микроскопия колоний (окраска по Граму)

Отбор колоний и пересев на среды МПА, кровяной агар, пестрый ряд Гисса

Серотипирование: РА с ОК-коли-сывороткой

Определение антибиотикочувствительности

3 этап: оценка ферментативных свойств выделенной культуры

Серотипирование: РА с поливалентной коли-сывороткой, РА с моновалентной коли-сывороткой. Проведение развернутой РА с коли-сывороткой

4 этап: учет результатов и выдача заключения.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести выделение чистой культуры возбудителей эшерихиозов с последующим типированием до вида и определение антибиотикочувствительности.
2. Зафиксировать проведенные исследования в журнал

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Перечислить микроорганизмов, возбудителей бактериальных кишечных инфекций.
2. Назвать морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства эшерихий.
3. Каковы эпидемиология и патогенез эшерихиозов?
4. Назвать клинические проявления эшерихиозов и их профилактику.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 17
Проведение микробиологической диагностики сальмонеллеза

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (сальмонелл), оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (сальмонелл); - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства; - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; - виды и характеристику антигенов. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать клинический материал для бактериологического исследования; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)**
 - Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного биологического материала
 - Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
 - Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций
- 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
 - Оборудование (бактериологические петли, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал
- 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями)**

Схема микробиологической диагностики сальмонеллеза

Материал для исследования: испражнения, рвотные массы, кровь, моча, желчь, ПВЖ, пищевые продукты и др.

1 этап: посев материала на ДДС- среды Плоскирева, Эндо, Левина, висмут-сульфит агар

2 этап: макро - микроспическая оценка колоний (окраска по Граму)

Пересев колоний на среду Клиглера-Олькеницкого, среду Ресселя, на среды Гисса, столбик питательного желатина, лакмусовое молоко.

3 этап. Оценка ферментативной активности выращенной культуры.

Определение антибиотикочувствительности

Серодиагностика: РА на стекле с поливалентной сальмонеллезной О-сывороткой. РА с моновалентными сальмонеллезными сыворотками.

4 этап: учет результатов и выдача заключения.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести выделение чистой культуры возбудителей сальмонеллезов с последующим типированием до вида и определение антибиотикочувствительности.
2. Зафиксировать проведенные исследования в журнал

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Перечислить микроорганизмов, возбудителей бактериальных кишечных инфекций.
2. Назвать морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства сальмонелл.
3. Назвать механизмы и пути передачи, патогенез и клинические проявления при сальмонеллезе.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 18

Проведение микробиологической диагностики бактериальной дизентерии

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (шигелл), оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (шигелл); - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства; - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; - виды и характеристику антигенов. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (шигелл), утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)**
 - Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного биологического материала
 - Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
 - Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций
- 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
 - Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал
- 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями)**

Схема микробиологической диагностики бактериальной дизентерии

Материал для исследования: испражнения, рвотные массы, ПВЖ и кишечника, моча

1 день: посев исследуемого материала на среды Эндо, Левина, Плоскирева

2 день: макро- и микроскопия выделенных колоний (окраска по Граму)

Пересев подозрительных колоний на среды Ресселя с мочевиной, Олькеницкого, Гисса. Для определения подвижности - в столбик полужидкого МПА. Для определения сероводорода - в бульон Хоттингера

3 день: макро- и микроскопия выделенных колоний (окраска по Граму)

Серодиагностика: Ориентировочная РА о смесью дизентерийных сывороток. РНГА в парных сыворотках (начиная с 5-8 дня заболевания)

Проведение теста на чувствительность к антибиотикам

4 день: учет результатов и выдача заключения

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести выделение чистой культуры возбудителей бактериальной дизентерии с последующим типированием до вида и определение антибиотикочувствительности.
2. Зафиксировать проведенные исследования в журнал

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Перечислить микроорганизмов, возбудителей бактериальных кишечных инфекций.
2. Назвать морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства шигелл
3. Назвать механизмы и пути передачи, патогенез и клинические проявления при бактериальной дизентерии.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 19

Проведение микробиологической диагностики иерсиниозов, клебсиелл, протей

| | | |
|---|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (клебсиелл, иерсиний, протей), оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику иерсиниозов, клебсиелл, протей - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства; - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; - виды и характеристику антигенов. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику семейства энтеробактерий (клебсиелл, иерсиний, протей), утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия. Тестирование.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок,

предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)**
 - Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного биологического материала
 - Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
 - Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций
- 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
 - Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал
- 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями)**

Схема микробиологической диагностики иерсиниозов, клебсиелл, протей

Материал для исследования: испражнения, кровь, моча, гной, СПЖ, женское грудное молоко, слизь из зева и носа, мокрота, отделяемое из цервикального канала, рвотные массы, желчь, дуоденальное содержимое, секционный материал, продукты питания)

1 день: Посев материала на пластинчатые среды и среды обогащения (для испражнений, крови и других материалов)

2 день: Выделение колоний на среды для первичной идентификации (макро- и микроспическая оценка с окраской по Граму).

Серодиагностика выделенных колоний: РА с поливалентной сывороткой.

Пересев на скошенный агар

3 день: Учет результатов первичной идентификации, подбор дифференциально-диагностических тестов для определения рода и посевы на соответствующие среды.

Серодиагностика с поливалентными агглютинирующими сыворотками

Фаготипирование.

Определение чувствительности к антибиотикам

4 день: Заключение о родовой (для некоторых энтеробактерий и видовой) принадлежности Серодиагностика с поливалентными родовыми и видовыми сыворотками
5 день: Определение видов (биоваров) и выдача заключения.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Первичный посев биологического материала для выделения чистой культуры возбудителей с последующей идентификацией до рода и вида по культуральным, биохимическим, тинкториальным, антигенным свойствам.
2. Определить антибиотикочувствительность выделенных чистых культур микроорганизмов.
3. Зафиксировать полученные результаты в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Перечислить микроорганизмов, возбудителей бактериальных кишечных инфекций.
2. Назвать морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства иерсиний
3. Назвать морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства клебсиелл.
4. Назвать морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства протей.
5. Назвать механизмы и пути передачи, патогенез и клинические проявления при кишечных инфекциях, вызванных: иерсиниями, клебсиеллами, протеем.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 20
Проведение микробиологической диагностики кандидомикозов

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику кандидомикозов, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микологических исследований; - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микологического исследования; - проводить микробиологическую диагностику кандидомикозов; - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию. | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать клинический материал для микологического исследования; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртровка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Материал для исследования: мокроту; соскобы с кожи или слизистых оболочек; ногтевые чешуйки; кровь, ликвор, мочу, желчь, фекалии; пунктаты из закрытых полостей, отделяемое свищей; биопсированный и секционный материал.

Схема микробиологического исследования грибов рода Кандида

1. Посев материала на ППС (Сабуро, сусло агар) с добавлением пенициллина или стрептомицина для подавления бактериальной флоры
2. Термостатируют при 30 гр.С (Рост грибов начинается на 2-3 сутки, но характерный вид колоний приобретают на 5-6 сутки)
3. Описывают колонии грибов: выпуклые, сметанообразные, глянцевые, гладкие или морщинистые, белые.
4. Петлей отбирают колонию для приготовления мазка, эмульгируют на предметном стекле в капле физиологического раствора, подсушивают, фиксируют. Окрашивают по Граму. Микроскопируют.
5. Пересев подозрительных колоний на пестрый ряд Гисса (определение сахаролитической активности).
6. Постановка серологических реакций (РСК, РА, РП) с антигенами из культуры Candida.
7. Оценка и учет результатов исследования.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

7. Проводить оценку результатов иммунологического исследования

Определение положительного или отрицательного результата серологических реакций (РСК, РА, РП) с антигенами из культуры *Candida*.

Типовые задания:

1. Первичный посев биологического материала для выделения чистой культуры возбудителей с последующей идентификацией до рода и вида по культуральным, биохимическим, тинкториальным свойствам.
2. Определить чувствительность к антимикотикам выделенных чистых культур микроорганизмов.
3. Зафиксировать полученные результаты в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дать общую характеристику микозам.
2. Назвать морфологические особенности микозов.
3. Назвать способы размножения грибов.
4. Назвать культуральные свойства микозов.
5. Назвать биохимические свойства микозов.
6. Назвать эпидемиологические особенности микозов.
7. Клиника и патогенез грибковых заболеваний.
8. Назовите методы лабораторной диагностики.
9. Перечислите виды клинического материала.
10. Профилактика и лечение грибковых заболеваний.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 21
Проведение микробиологической диагностики аспергиллеза

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику аспергиллеза | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микологических исследований - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микологического исследования - проводить микробиологическую диагностику аспергиллеза. - оценивать результаты исследований - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать клинический материал для микологического исследования; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Материал для исследований: кожа, ногти, роговица, отделяемое пазух носа, наружного слухового прохода, мокрота, гной, кал, биоптаты тканей.

1. Микроскопия нативного и окрашенного материала (окраска PAS-методом, по методу Грама, по методу Циль-Нильсена)

2. Микологическое исследование: посев на питательные среды (среда Сабуро). Для подавления роста бактериальной флоры в среду Сабуро добавляют антибиотики (хлорамфеникол, гентамицин, реже стрептомицин, пенициллин). Для подавления роста сапрофитных грибов в среду добавляют циклогексимид, хлорамфеникол. Существуют готовые среды с циклогексимидом (Mycobiotic Mucosel).

Алгоритм микологического исследования

1. Определение грибковой этиологии возбудителя (микроскопия).
2. Определяют дрожжевой гриб или плесневый:
 - микроскопия клинического материала (наличия мицеллия);
 - характер колоний на питательной среде, скорость роста (дрожжевые грибы растут 48 часов, плесневые грибы растут медленно).
3. Окончательную идентификацию гриба до уровня вида (внутривидовая) проводят с использованием биохимических тестов и иммунологических методов. При исследовании биохимических свойств изучают способность выделенной культуры к ассимиляции (ауксанограмма) и ферментации (зигограмма). Возможно использование автоматизированных систем идентификации (тест-системы для идентификации грибов).
4. Серодиагностика

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

7. Проводить оценку результатов иммунологического исследования

Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Первичный посев биологического материала для выделения чистой культуры возбудителей с последующей идентификацией до рода и вида по культуральным, биохимическим, тинкториальным свойствам.
2. Определить чувствительность к антимикотикам выделенных чистых культур микроорганизмов.
3. Зафиксировать полученные результаты в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дать общую характеристику микозам.
2. Назвать морфологические особенности микозов.
3. Назвать способы размножения грибов.
4. Назвать культуральные свойства микозов.
5. Назвать биохимические свойства микозов.
6. Назвать эпидемиологические особенности микозов.
7. Клиника и патогенез грибковых заболеваний.
8. Назовите методы лабораторной диагностики.
9. Перечислите виды клинического материала.
10. Профилактика и лечение грибковых заболеваний.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 22
Проведение микробиологической диагностики дисбактериоза кишечника

| | | |
|---|--|---|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику дисбактериоза (дисбиоза) кишечника, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику дисбактериоза (дисбиоза) кишечника; - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику дисбактериоза (дисбиоза) кишечника; оценивать результаты исследований; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия. Тестирование.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДПП-5

до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов (см. Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

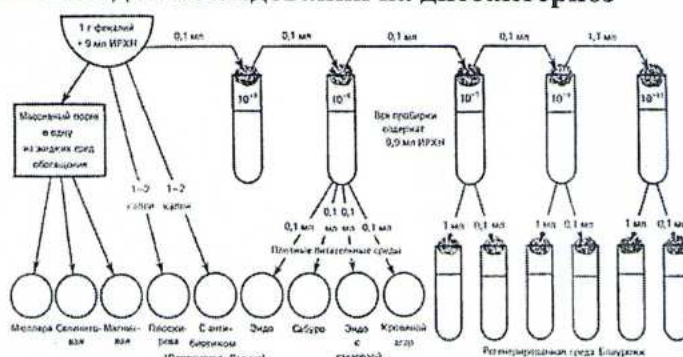
- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей, вазелиновое масло)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, термостат, весы лабораторные, ламинарный шкаф, эксикатор)
- Исследуемый материал (испражнения)

Подготовка к проведению исследования:

1. Отбор материала (испражнений)
2. Приготовление навески испражнений
3. Приготовление серийных разведений испражнений (для определения количества бактерий)

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

Схема посева испражнений для исследования на дисбактериоз



Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника

Посевы фекалий из соответствующих разведений на селективные питательные среды:

- Бифидобактерии: среда Блаурокк или Бактофок, бифидум среда, анаэробная инкубация
- Лактобациллы: среда лактобакагар (рН+солевой состав), анаэробная инкубация
- Бактероиды: среда КАБ, анаэробная инкубация
- Клостридии: клостридиальный агар с добавлением индикатора, анаэробная инкубация
- Энтерококки: энтерококковый агар
- Стафилококки: ЖСА
- Энтеробактерии: агар Эндо, Плоскирева,
- Грибы р.Candida: среда Сабуро

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

Бланк результатов исследования на дисбактериоз

| № | Группы микроорганизмов | Показатель нормы (кл./г) | Результат (кл./г) |
|----|--|--------------------------|-------------------|
| 1 | Бифидобактерии | 10^8-10^{10} | |
| 2 | Лактобактерии | 10^6-10^7 | |
| 3 | Бактероиды | 10^8-10^{10} | |
| 4 | E.coli типичные | 10^7-10^8 | |
| 5 | E.coli лактозонегативные | $< 10^5$ | |
| 6 | E.coli гемолитические | 0 | |
| 7 | Энтерококки | 10^5-10^8 | |
| 8 | Другие условно-патогенные энтеробактерии | $<10^4$ | |
| 9 | Пептострептококки | 10^9-10^{10} | |
| 10 | S.aureus | 0 | |
| 11 | Стафилококк (сапрофитический, эпидермальный) | $<10^4$ | |
| 12 | Дрожжеподобные грибы рода Candida | $<10^4$ | |
| 13 | Клостридии | $<10^5$ | |

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести посев кала на дисбактериоз.
2. Зафиксировать в журнал полученные результаты.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите представителей нормальной микрофлоры кишечника.
2. Назовите функции бифидобактерий и лактобактерий.

3. Дайте определение понятию дисбактериоз.
4. Назовите причины дисбактериоза.
5. Назовите степени дисбактериоза.
6. Охарактеризуйте первую степень дисбактериоза.
7. Охарактеризуйте вторую степень дисбактериоза.
8. Охарактеризуйте третью степень дисбактериоза.
9. Охарактеризуйте четвертую степень дисбактериоза.
10. Назовите методы лечения и профилактики дисбактериоза.
11. Назовите методы лабораторной диагностики.
12. Назовите виды исследуемого материала при дисбактериозе.
13. Объясните правила забора и доставки испражнений.
14. Объясните правила подготовки пробы к исследованию.
15. Назовите питательные среды, используемые при исследовании на дисбактериоз.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 23
Проведение микробиологической диагностики заболеваний бактериальной этиологии, передающихся половым путем

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику сифилиса, хламидиоза и микоплазмоза, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику сифилиса; - проводить микробиологическую диагностику хламидиоза и микоплазмоза - проводить микробиологическую диагностику гонореи; - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> – задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; – общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; – требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; – организацию делопроизводства; – иммунокомпетентные клетки и их функции; – виды и характеристику антигенов; – классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; – механизм иммунологических реакций |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику сифилиса, хламидиоза и микоплазмоза; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия. Тестирование.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов(см.Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

Исследуемый материал:

При гонорее: отделяемое мочеполовых органов

При сифилисе: кровь, отделяемое твердого шанкра, пунктаты лимфатических узлов, материал из высыпаний кожного покрова.

При хламидиозе и микоплазмозе: кровь, отделяемое мочеполовых органов

3. Проводить микробиологические исследования

Микробиологическая диагностика ИППП:

1. Гонорея:

Бактериоскопический метод - окраска двух мазков:

1) по Граму;

2) 1% водным раствором метиленового синего и 1% спиртовым раствором эозина.

Бактериологический метод: посев на питательные среды, содержащие нативные белки крови, сыворотки или асцитической жидкости; оптимум роста в атмосфере 10-20% углекислого газа, при pH 7,2-7,4 и температуре 37°C. Гонококки образуют круглые прозрачные колонии,

напоминающие капли росы. Выделенную чистую культуру идентифицируют по биохимическим признакам (ферментация глюкозы с образованием кислоты). При хронической гонорее для обострения процесса за 12 час до взятия материала вводят гонококковую вакцину.

3. Серологический метод: РСК (реакция Борде-Жангу) или РПГА с сывороткой крови больного – используется при хронической гонорее при отсутствии у больного выделений. В качестве антигена применяют гонококковую вакцину или антиген из убитых гонококков. Реакция бывает положительна на 3-4 неделе болезни.

2. Сифилис:

1. Бактериоскопия в темном поле:

Материал для исследования - отделяемое твердого шанкра, пунктаты лимфатических узлов, материал из высыпаний кожного покрова.

2. Иммунофлюоресценция (РИФ) мазка, окрашенного иммунной антитрепонемной сывороткой, меченой флюорохромом.

3. Серодиагностика:

Материал: сыворотка крови. Методы:

1) реакция Вассермана (РСК с:

а) с кардиолипидным антигеном;

б) с трепонемным антигеном.

2) реакция микропреципитации кардиолипидного антигена с сывороткой крови больного.

3) Окончательный диагноз ставят: на основании РИФ с тканевым штаммом *T.pallidum* (непрямой метод), ИФА и РИБТ для выявления антител.

4) Применяют также РПГА с трепонемным эритроцитарным диагностикумом.

3. Урогенитальный хламидиоз:

1. Обнаружение хламидийного антигена с помощью РИФ (реакции иммунофлюоресценции) и ИФА (иммуноферментного анализа).

2. Выделение хламидий из материала на культуре клеток.

3. Серологический метод: РСК, РПГА, ИФА с парными сыворотками.

4. Микоплазмоз:

1. Серодиагностика РСК, ИФА, РНГА и др.

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результата

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа

- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

-

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора

- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)

- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария

- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести микробиологическое исследование отделяемого половыми органами.

2. Зафиксировать полученные результаты в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дать общую характеристику сифилиса.
2. Назвать морфологические особенности сифилиса.
3. Дать характеристику антигенной структуре сифилиса.
4. Назвать культуральные свойства сифилиса.
5. Назвать биохимические свойства сифилиса.
6. Назвать эпидемиологические особенности сифилиса.
7. Клиника и патогенез сифилиса.
8. Назовите методы лабораторной сифилиса.
9. Перечислите виды клинического материала.
10. Профилактика и лечение сифилиса.
11. Назвать морфологические особенности хламидии.
12. Дать характеристику антигенной структуре хламидии.
13. Назвать культуральные свойства хламидии. Назвать биохимические свойства хламидии.
14. Дать краткую характеристику урогенитальному хламидиозу.
15. Дать краткую характеристику орнитозу.
16. Дать краткую характеристику бронхопневмонии.
17. Назовите методы лабораторной хламидиоза.
18. Профилактика и лечение хламидиоза.
19. Назвать морфологические особенности микоплазм.
20. Дать характеристику антигенной структуре микоплазм
21. Назвать культуральные свойства микоплазм. Назвать биохимические свойства микоплазм.
22. Назовите методы лабораторной микоплазм.
23. Перечислите виды клинического материала.
24. Профилактика и лечение микоплазм.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 24
Изучение методов микробиологической диагностики инфекций, вызванных бактериями I-II группы патогенности

| | | |
|--|--|--|
| Цель: формирование умений проводить микробиологическую диагностику инфекций, вызванных бактериями I-II группы патогенности, оценивать результаты исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для микробиологического исследования холеры, чумы; - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований; - проводить микробиологическую диагностику холеры, чумы, сибирской язвы, бруцеллеза, туляремии; - оценивать результаты исследований; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности; - организацию делопроизводства; - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в иммунологической лаборатории; - виды и характеристику антигенов; - классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; - механизм иммунологических реакций. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить микробиологическую диагностику инфекций, вызванных бактериями I-II группы патогенности; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов(см.Приложение 1)

- Установить соответствие поступившего биоматериала данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленного биологического материала
- Зафиксировать в направлении время приема биоматериала в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный биологический материал;
- Распределить биологический материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
- Исследуемый материал

3. Проводить микробиологические исследования

Схема микробиологической диагностики холеры

Исследуемый материал: испражнения, рвотные массы, содержимое желчного пузыря, кусочки органов и тканей трупа.

1 этап: Бактериоскопия мазков, окрашенных по методу Грама и фуксином Пфейффера

Бактериологический посев исследуемого материала на щелочной МПА и 1% пептонную воду для накопления культуры.

2 этап: Просмотр посевов. Пересев на щелочной МПА и 1% пептонную воду для выделения чистой культуры.

3 этап: высев из 2-й пептонной воды на плотные питательные среды.. Изучение характера микробного роста.

Серодиагностика с О-сывороткой.

Пересев агглютинирующейся колонии на полиуглеводную лактозо-сахарозную среду, среду Клигера или Ресселя, и в пробирку со скошенным агаром.

4 этап: Макро- и микроскопия выделенных колоний (окрашивание по Граму).

Изучение ферментативной активности.

Серодиагностика с видо- и типоспецифическими сыворотками (РА).

5 этап: учет результатов и выдача заключения

Схема микробиологической диагностики чумы Исследуемый материал: пунктат из бубонов, пунктат из отечной жидкости, содержимое везикул, пустул, карбункулов, кусочки органов (легкие, печень, селезенка, лимфоузлы, кровь, участки кожи с изменениями)

1 день: Бактериоскопия патологического материала (окраска метиленовым синим и по Граму)

Бактериологический посев материала на МПА и МПБ, агар Хоттингера с сульфитом натрия и генцианом фиолетовым (рН 7,2). Инкубация при температуре 28-30⁰С 12-24 часа.

2 день: Макро- и микроскопия посевов (Микроскопия окрашенных по Граму мазков)

Пересев колоний на скошенный МПА для накопления чистой культуры

Фагодиагностика с чумным бактериофагом

3 день. Просмотр посевов.

Пересев на среду с рамнозой, на скошенный МПА для определения подвижности, в лакмусовое молоко

4 день: Оценка результатов и выдача заключения

4. Оценивать результат проведенных исследований

Определение положительного или отрицательного результат.

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

Типовые задания:

1. Микробиологическое исследование биологического материала для выявления бактерий I-II группы патогенности с последующей идентификацией по культуральным, тинкториальным, биохимическим, антигенным свойствам.

2. Записать полученные результаты в журнал исследований.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назвать морфологию, культуральные и тинкториальные свойства возбудителя холеры.
2. Патогенез и клинические проявления холеры.
3. Материал для диагностики холеры.
4. Лечение и специфическая профилактика холеры.
5. Назвать морфологию, культуральные и тинкториальные свойства возбудителя чумы.
6. Патогенез и клинические проявления чумы.
7. Материал для диагностики чумы.
8. Лечение и специфическая профилактика чумы.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 25

Проведение иммунологических исследований вирусных инфекций: реакции гемагглютинации, реакции торможения гемагглютинации, реакции нейтрализации вирусов

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить реакцию гемагглютинации, торможения гемагглютинации, реакцию нейтрализации вирусов при идентификации вирусов, оценки полученных результатов | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none">- готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию;- осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования;- проводить иммунологическое исследование: проводить реакцию гемагглютинации, реакцию торможения гемагглютинации, реакцию нейтрализации вирусов;- соблюдать технологию постановки реакции гемагглютинации, реакции торможения гемагглютинации, реакции нейтрализации вирусов;- оценки полученных результатов;- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры;- проводить оценку результатов иммунологического исследования;- вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none">- организацию делопроизводства;- иммунокомпетентные клетки и их функции;- виды и характеристику антигенов;- классификацию, строение, функции иммуноглобулинов;- механизм иммунологических реакций. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать клинический материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию; проводить реакцию гемагглютинации, торможения гемагглютинации, реакцию нейтрализации вирусов при идентификации вирусов, оценку результатов; утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический,

петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

2. Готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию

1. Материалом для исследования может быть:

- сыворотка пациента (определение антител к микроорганизмам)
- чистые культуры микроорганизмов, выделенные от больных или из объектов внешней среды (определение антигенных свойств микроба)
- патологический материал от больных (например, соскобы эпителия, пунктаты, биоптаты, секционный материал) для экспресс обнаружения Ag микроорганизмов.

2. Хранение и транспортировка зависит от вида исследуемого материала:

- сыворотка пациента подлежит исследованию в день взятия и поступления в лабораторию. При невозможности провести исследование в день поступления сыворотку сливают в пробирки Эппендорф и замораживают при температуре -20⁰С. Возможно трехкратное размораживание (дефростация) с последующей заморозкой при данной температуре
- диагностическая сыворотка хранится при температуре 6-8⁰С (зависит от производителя набора)
- исследуемая культура микроорганизмов хранится в соответствующей данному микроорганизму питательной среде в термостате (для большинства культур микроорганизмов 37⁰С)

3. Регистрацию поступившего материала для исследования осуществляют в журнале регистрации с присвоением порядкового номера исследования, даты поступления материала и пр.).

3. Осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования

- Реактивы (диагностикумы, физиологический раствор)
- Оборудование (бактериологические петли, спиртовка, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник)
- Исследуемый материал

4. Проводить иммунологическое исследование:

Качественная РГА

1. На предметное стекло внести каплю 5% взвеси эритроцитов
2. Внести испытуемый материал
3. Тщательно перемешать в течение 1-2 минут
4. Оценить результат: положительная реакция - появление хлопьевидной агглютинации эритроцитов. Отрицательный результат - агглютинация отсутствует.

Количественная РГА

1. В лунках полистероловых планшетов готовят двукратно возрастающие разведения исследуемого материала на физиологическом растворе в объеме 0,5 мл.
2. Во все пробирки вносят по 0,5 мл 0,25 - 1% взвеси эритроцитов.
3. Результаты учитывают после полного оседания эритроцитов в контроле (эритроциты + физиологический раствор).

Реакцию учитывают по характеру осадка эритроцитов. В положительных случаях степень агглютинации отмечают плюсами.

1) Четырьмя плюсами оценивают реакцию, имеющую вид тонкой пленки из склеившихся эритроцитов, покрывающей дно пробирки (зонтик), реакцию с просветами в пленке отмечают тремя плюсами, наличие пленки с фестончатыми кружевными краями из склеившихся эритроцитов обозначают двумя плюсами, хлопьевидный осадок эритроцитов, окруженный зоной комочков агглютинированных эритроцитов соответствует одному плюсу.

2) Резко очерченный осадок эритроцитов, неотличимый от контроля показывает отсутствие агглютинации.

За титр принимают предельное разведение исследуемого материала, вызвавшее агглютинацию эритроцитов на два плюса.

Реакция торможения гемагглютинации

РТГА основана на свойстве антисыворотки подавлять вирусную гемагглютинацию, так как нейтрализованный специфичными антителами вирус утрачивает способность агглютинировать эритроциты. При ориентировочном типировании вирусов используют капельный метод на стекле. Для окончательного установления типовой принадлежности выделенного вируса и титрования антител в сыворотках ставят развернутую РТГА в пробирках или в лунках.

Алгоритм развернутой РТГА

1. Приготовить двукратные разведения сывороток на физиологическом растворе
2. Разлить по 0,25 мл по лункам (пробиркам).
3. К разведениям сыворотки прибавляют по одной капле материала, содержащего вирус
4. По одной капле 1% взвеси эритроцитов.

Результаты реакции учитывают по отсутствию гемагглютинации. При использовании РТГА для определения типа вируса, используют типоспецифические сыворотки, которые добавляют к равному объему рабочего разведения антигена. Типовую принадлежность выделенного вируса устанавливают по специфической иммунной сыворотке, показавшей наивысший титр антител к этому вирусу.

Реакция нейтрализации вирусов

Реакция нейтрализации основана на способности специфических вируснейтрализующих антител блокировать инфекционные, гемагглютинирующие, гемадсорбирующие, цитопатические, бляшкообразующие и др. свойства вирусов.

Она применяется в двух направлениях: 1) для идентификации вирусов; 2) для серодиагностики вирусных инфекций, т.е. для определения нарастания титра вируснейтрализующих антител в «парных» сыворотках.

Компоненты:

1. Исследуемый вирус (при идентификации выделенного вируса) или исследуемая сыворотка (при серодиагностике инфекции).
2. Диагностическая (группе-, видо-, типоспецифическая) сыворотка (при идентификации вируса) или известный вирус — диагностикум (при серодиагностике).

3. Индикаторный объект: животные, куриные эмбрионы, культуры тканей или эритроциты. Реакции нейтрализации ставят в культурах клеток, куриных эмбрионах и на лабораторных животных.

Принцип. Смесью вирус (исследуемый или известный) + сыворотка (диагностическая или исследуемая), выдержанной в течение определенного времени, заражают культуру клеток, куриный эмбрион или лабораторное животное. При (+) реакции, т.е. при нейтрализации вируса антителами индикаторные объекты продолжают нормально существовать, а в контроле — гибель или характерные изменения.

5. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

6. Проводить оценку результатов иммунологического исследования.

Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Провести реакции индикации и идентификации вирусов.
2. Зафиксировать в журнал результат исследований.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Перечислите основные методы культивирования вирусов.
2. Назовите питательные среды, используемые для культивирования вирусов.
3. Назовите цель постановки качественной РГА.
4. Назовите цель постановки количественной РГА.
5. Объясните механизм РГА.
6. Перечислите ингредиенты, используемые для постановки РГА.
7. Дайте определение понятию титр вирусов.
8. Почему РГА не является серологической.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 26
Проведение иммунологических методов диагностики полиомиелита, ЕСНО, Коксаки

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений проведения иммунологических методов диагностики полиомиелита, ЕСНО, Коксаки, оценки результатов проведенных исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию; - осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования; - проводить иммунологическую диагностику полиомиелита, ЕСНО, Коксаки; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - проводить оценку результатов иммунологического исследования; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - организацию делопроизводства; - иммунокомпетентные клетки и их функции; - виды и характеристику антигенов; - классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; - механизм иммунологических реакций. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить иммунологическую диагностику полиомиелита, ЕСНО, Коксаки.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

2. Готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию

1. Материалом для исследования может быть:

- смывы из зева (первые дни болезни),
- фекалии,
- спинномозговая жидкость (при менингите).

2. Хранение и транспортировка материала:

- клинический материал подлежит исследованию в день поступления в лабораторию

3. Регистрацию поступившего материала для исследования осуществляют в журнале регистрации с присвоением порядкового номера исследования, даты поступления материала и пр.).

3. Осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования

- Реактивы (диагностикумы, антибиотики для обработки)
- Оборудование (предметные стекла, пробирки, дозаторы)
- Исследуемый материал

4. Проводить иммунологическое исследование

Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных энтеровирусами (полиовирусы, вирусы Коксаки и ЕСНО)

Материал для исследования: смывы из зева (первые дни болезни), фекалии; спинномозговая жидкость (при менингите).

Вирусологическое исследование. Выделение энтеровирусов (за исключением вирусов Коксаки типа А) из исследуемого материала осуществляют путем заражения клеточных культур. Для уничтожения сопутствующей бактериальной микрофлоры нестерильный материал (испражнения, глоточные смывы) предварительно обрабатывают антибиотиками (смесь пенициллина со стрептомицином, содержащая по 1000 ЕД/мл каждого антибиотика в растворе Хенкса) в течение суток при 4 °С, после чего проводят контрольный посев на стерильность. При сохранении бактериальной флоры материал повторно обрабатывают теми же антибиотиками. Затем одновременно заражают по 2—3 пробирки с первичной (эмбриональные фибробласты человека или клетки почек обезьян) и перевиваемой культурой клеток (HeLa, амниона человека или др.), поскольку одни серотипы энтеровирусов лучше репродуцируются в первичных, другие — в перевиваемых клетках.

Индикацию вирусов проводят по ЦПД: на 2—3-й день инкубации при 35 °С наблюдается полная или частичная дегенерация клеток. При этом интенсивность ЦПД зависит от дозы вируса, типа культуры клеток и других причин. В случае отсутствия ЦПД проводят дополнительно 2—3 пассажа. Основным методом идентификации выделенного вируса является серотипирование в реакции нейтрализации. С этой целью материал из чистой культуры выделенного вируса обрабатывают смесью диагностических моновалентных сывороток к различным серотипам энтеровирусов. При нейтрализации вируса в последующих пересевах ЦПД исчезает. Затем проводят реакцию нейтрализации с

моновалентными сыворотками. При этом в начале определяют тип вируса (полиовирус, Коксаки или ЕСНО), а затем его принадлежность к определенному серотипу.

5. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

6. Проводить оценку результатов иммунологического исследования

Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Провести вирусологические исследования для индикации и идентификации вирусов.
2. Записать полученный результат в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Опишите морфологическую структуру вирусов полиомиелита, Коксаки, ЕСНО.
2. Укажите антигенные варианты вирусов семейства Picornaviridae.
3. Укажите методы культивирования вируса полиомиелита, Коксаки, ЕСНО.
4. Назовите особенности эпидемиологии вирусов семейства Picornaviridae
5. Назовите особенности патогенеза и клиники при заболеваниях вызванных вирусом полиомиелита, Коксаки., ЕСНО.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 27
Проведение иммунологических методов диагностики гриппа, ротавирусной и
аденовирусной инфекции

| | | |
|---|---|--|
| Цель: формирование умений проведения иммунологических методов диагностики гриппа, ротавирусной и аденовирусной инфекции, оценки результатов проведенных исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию - осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования - проводить иммунологическую диагностику гриппа, ротавирусной и аденовирусной инфекции - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - проводить оценку результатов иммунологического исследования - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - организацию делопроизводства; - иммунокомпетентные клетки и их функции; - виды и характеристику антигенов; - классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; - механизм иммунологических реакций. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить иммунологическую диагностику гриппа, ротавирусной и аденовирусной инфекции.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия. Тестирование.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

2. Готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию

1. Материалом для исследования может быть:

- сыворотка пациента
- «отпечатки» со слизистой оболочки полости носа
- смывы с носоглотки
- ликвор
- испражнения
- мокрота

2. Хранение и транспортировка исследуемого материала:

- сыворотка пациента подлежит исследованию в день взятия и поступления в лабораторию. При невозможности провести исследование в день поступления сыворотку сливают в пробирки Эппендорф и замораживают при температуре -20⁰С. Возможно трехкратное размораживание (дефростация) с последующей заморозкой при данной температуре

3. Регистрацию поступившего материала для исследования осуществляют в журнале регистрации с присвоением порядкового номера исследования, даты поступления материала и пр.).

3. Осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования

- Реактивы (диагностикумы)
- Оборудование (предметные стекла, пробирки, дозатор, спектрофотометр)
- Исследуемый материал

4. Проводить иммунологическое исследование

1. Лабораторная диагностика аденовирусной инфекции:

- иммунофлюоресцентный метод
- серологический метод (РСК со специфическим антигеном)

2. Лабораторная диагностика ротавирусной инфекции:

1) Методы обнаружения вируса и вирусного антигена:

- электронная микроскопия
- иммуноэлектронная микроскопия
- радиоиммунный анализ (РИА)
- иммунофлюоресценция
- реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)
- реакция коагглютинации (РКА)
- латекс-агглютинация (РЛА)

2) Методы обнаружения вирусоспецифической РНК:

- метод точечной гибридизации
 - электрофорез РНК в полиакриламидном геле или агарозе
- 3) Методы обнаружения специфических антител:
- реакция связывания комплемента (РСК)
 - реакция нейтрализации (РН)
 - реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)
 - реакция торможения непрямой гемагглютинации (РТНГА)

3. Лабораторная диагностика гриппа:

- 1) Экспресс-диагностика (ИФ, ИФА)
- 2) Серологическая диагностика
 - реакция торможения гемагглютинации (РТГА)
 - реакция связывания комплемента (РСК)
 - реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)
- 3) ПЦР-диагностика

5. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

6. Проводить оценку результатов иммунологического исследования

Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Провести вирусологические исследования для индикации и идентификации вирусов.
2. Записать полученный результат в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите особенности эпидемиологии, патогенеза и исхода гриппа А, В и С.
2. Укажите особенности лечения и профилактики гриппа.
3. Перечислите методы лабораторной диагностики, используемые при гриппе.
4. Назовите особенности эпидемиологии, патогенеза и исхода ротавирусной и аденовирусной инфекции.
5. Назовите особенности иммунитета при ротавирусной и аденовирусной инфекции.
6. Перечислите методы лабораторной диагностики, используемые при аденовирусной инфекции.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 28
Проведение иммунологических методов диагностики вирусных гепатитов, ВИЧ -
инфекции

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проведения иммунологических методов диагностики вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции, оценки результатов проведенных исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию - осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования - проводить иммунологическую диагностику гепатитов, ВИЧ-инфекции - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - проводить оценку результатов иммунологического исследования - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - организацию делопроизводства; - иммунокомпетентные клетки и их функции; - виды и характеристику антигенов; - классификацию, строение, функции иммуноглобулинов; - механизм иммунологических реакций. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений иммунологическую диагностику вирусных гепатитов, ВИЧ инфекции.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить бланк анализа
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

2. Готовить материал для иммунологического исследования, осуществлять его хранение, транспортировку и регистрацию

1. Материалом для исследования может быть:

- сыворотка пациента (определение антител к микроорганизмам)
- плазма пациента
- цельная кровь

2. Хранение и транспортировка зависит от вида исследуемого материала:

- сыворотка пациента подлежит исследованию в день взятия и поступления в лабораторию. При невозможности провести исследование в день поступления сыворотку сливают в пробирки Эппендорф и замораживают при температуре - 20⁰С. Возможно трехкратное размораживание (дефростация) с последующей заморозкой при данной температуре
- цельная кровь подлежит исследованию в день взятия и доставки в лабораторию

3. Регистрацию поступившего материала для исследования осуществляют в журнале регистрации с присвоением порядкового номера исследования, даты поступления материала и пр.).

3. Осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования

- Реактивы (диагностикумы, физиологический раствор)
- Оборудование (таймер, дозатор)
- Исследуемый материал

4. Проводить иммунологическое исследование

Проведение иммунохроматографического теста для качественного определения поверхностного антигена вируса гепатита В

Набор для качественного иммунологического анализа *invitro* на поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) в сыворотке, плазме и цельной крови человека с визуальной оценкой результата. Тест система предназначена для выявления HBs-антигена у инфицированных лиц.

Анализируемый образец наносится на зону образца. При прохождении образца через зону конъюгата образец разбавляется и смешивается с конъюгатом коллоидный селен—антитело. Смесь продолжает мигрировать по неподвижной фазе к зоне с иммобилизованными антителами в окне учета результата. Если в образце имеется HBs-антиген, он связывается с конъюгатом коллоидный селен—антитело, а также с антителами на полоске в окне учета результата, образуя красную линию в этом окне. Если в образце отсутствует HBs-антиген, конъюгат коллоидный селен—антитело проходит дальше окна учета результата, а красная линия не формируется в этом окне. Тест-полоска содержит окно контроля, которое предназначено для подтверждения пригодности тест-системы.

Проведение анализа

1. Удалите защитную фольгу с каждой тест-полоски.
2. Анализ образцов сыворотки и плазмы:
 - а) перенесите высокоточной пипеткой 50 мкл образца на зону образца, помеченную стрелкой;
 - б) подождите не менее 15 минут (максимум 24 часа) и определите результат анализа.
3. Анализ образцов цельной крови из вены:
 - а) перенесите высокоточной пипеткой 50 мкл образца на зону образца, помеченную стрелкой;
 - б) подождите одну минуту; затем перенесите одну каплю аналитического буфера на зону образца;
 - в) подождите не менее 15 минут (максимум 24 часа) и определите результат анализа.
4. Анализ образцов цельной крови из пальца:
 - а) перенесите капиллярной трубкой, покрытой ЭДТА, 50 мкл образца на зону образца, помеченную стрелкой;
 - б) подождите пока кровь не впитается в полоску; затем перенесите одну каплю аналитического буфера на зону образца; в) подождите не менее 15 минут (максимум 24 часа) и определите результат анализа.

Интерпретация результатов

Положительный результат (две полосы) красные полосы появились как в окне контроля (помечено словом «control»), так и в окне учета результата (помечено словом «patient») тест-полоски. Любое видимое покраснение в окне учета результата должно расцениваться как положительный результат.

Отрицательный результат (одна полоса) красная полоса появилась только в окне контроля тест-полоски (помечено словом «control»). В окне учета результата тест-полоски (помечено словом «patient») нет красной полосы.

Недостовверный результат (ни одной полосы) при отсутствии красной полосы в окне контроля полученный результат является недостоверным, а анализ необходимо повторить, даже если в окне учета результата появилась красная полоса.

Методика проведения экспресс-диагностики ВИЧ-инфекции:

Анализируемый образец наносится на зону образца. При прохождении образца через зону конъюгата образец разбавляется и смешивается с конъюгатом. Смесь продолжает мигрировать по неподвижной фазе к зоне с иммобилизованными антителами в окне учета результата. Тест-полоска содержит окно контроля, которое предназначено для подтверждения пригодности тест-системы.

Проведение анализа

1. Удалите защитную фольгу с каждой тест-полоски.
2. Анализ образцов сыворотки и плазмы:
 - а) перенесите высокоточной пипеткой 50 мкл образца на зону образца, помеченную стрелкой;
 - б) подождите не менее 15 минут (максимум 24 часа) и определите результат анализа.
3. Анализ образцов цельной крови из вены:
 - а) перенесите высокоточной пипеткой 50 мкл образца на зону образца, помеченную стрелкой;
 - б) подождите одну минуту; затем перенесите одну каплю аналитического буфера на зону образца;
 - в) подождите не менее 15 минут (максимум 24 часа) и определите результат анализа.
4. Анализ образцов цельной крови из пальца:
 - а) перенесите капиллярной трубкой, покрытой ЭДТА, 50 мкл образца на зону образца, помеченную стрелкой;

б) подождите пока кровь не впитается в полоску; затем перенесите одну каплю аналитического буфера на зону образца; в) подождите не менее 15 минут (максимум 24 часа) и определите результат анализа.

Интерпретация результатов

Положительный результат (две полосы) красные полосы появились как в окне контроля (помечено словом «control»), так и в окне учета результата (помечено словом «patient») тест-полоски. Любое видимое покраснение в окне учета результата должно расцениваться как положительный результат.

Отрицательный результат (одна полоса) красная полоса появилась только в окне контроля тест-полоски (помечено словом «control»). В окне учета результата тест-полоски (помечено словом «patient») нет красной полосы.

Недостовверный результат (ни одной полосы) при отсутствии красной полосы в окне контроля полученный результат является недостоверным, а анализ необходимо повторить, даже если в окне учета результата появилась красная полоса.

5. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

6. Проводить оценку результатов иммунологического исследования

Определение положительного или отрицательного результата

Типовые задания:

1. Провести реакции индикации и идентификации вирусов.
2. Зафиксировать в журнал результат исследований.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Опишите морфологическую структуру вирусов гепатитов.
2. Назовите особенности патогенеза и клинике при заболеваниях, вызванных вирусами гепатитов А, В и С
3. Назовите особенности иммунитета.
4. Укажите особенности лечения и профилактики вирусных гепатитов.
5. Опишите морфологическую структуру ВИЧ.
6. Назовите особенности патогенеза и клинике при заболеваниях, вызванных ВИЧ.
7. Назовите особенности иммунитета.
8. Укажите особенности лечения и профилактики ВИЧ-инфекции.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 29
Проведение санитарно-бактериологического исследования воды, воздуха, пищевых
продуктов

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проведения санитарно-бактериологического исследования воды, воздуха, пищевых продуктов, оценки результатов проведенных исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать пробы объектов внешней среды для микробиологического исследования - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований - проводить санитарно-бактериологическое исследование воды, воздуха, пищевых продуктов - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить санитарно-бактериологическое исследование проб объектов внешней среды и пищевых продуктов
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов(см.Приложение 1)

- Установить соответствие поступившей пробы воды данным направления.
- Установить соответствие качества и количества биоматериала цели исследования.
- Провести маркировку доставленной пробы
- Зафиксировать в направлении время приема пробы в лабораторию и промаркировать
- Зафиксировать в журнале доставленный материал;
- Распределить материал с учетом цели исследования;
- Подготовить материал для дальнейших манипуляций

2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований

- Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
- Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф, стерильные флаконы для отбора проб воды)
- Исследуемый материал

1) Отбор проб воды для бактериологического исследования (см. ГОСТ 31942-2012 (ISO 19458:2006) Вода. Отбор проб для микробиологического анализа)

2) Методы хранения и консервации проб для определений микробиологических показателей: охлаждение до 2-5⁰С, максимально рекомендуемый срок хранения - зависит от выявляемого микроорганизма(см. ГОСТ 31861-2012 Вода. Общие требования к отбору проб)

3) Отбор проб воздуха см. МУК 4.2.2942-11 Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях.

4) Отбор проб пищевых продуктов см. ГОСТ 31904-2012 Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний.

3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов

1) Для оценки санитарно-бактериологического состояния воды используют следующие показатели:

- определение общего микробного числа (ОМЧ);
- определение бактерий семейства Enterobacteriaceae и термотолерантных колиформных бактерий;
- определение спор сульфитредуцирующих клостридий;
- определение колифагов;
- определение патогенных бактерий кишечной группы.

Исследование питьевой воды на наличие колифагов, патогенных бактерий кишечной группы проводится по эпидемиологическим показателям. Определение спор сульфитредуцирующих клостридий проводится при оценке эффективности технологий обработки воды.

2) Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды проводят в помещениях лечебных организаций в зависимости от их функционального назначения на санитарно-микробиологические показатели:

- общее количество микроорганизмов в 1 м воздуха (КОЕ/м);
- количество колоний *S. Aureus* в 1 м воздуха (КОЕ/м);
- количество плесневых и дрожжевых грибов в 1 м воздуха.

3) Для оценки качества пищевых продуктов проводят определение показателей:

- количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ в 1 г (см) продукта;
- количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ в 1 г (см) продукта;
- бактерии рода *Salmonella* в г (см) продукта

4. Оценивать результат проведенных исследований

- Определение положительного или отрицательного результата
- Подсчет количества колоний микроорганизмов, выросших на питательной среде
- Сопоставление полученного результата с НД

Таблица 1. Микробиологические показатели качества воды централизованного водоснабжения.

| Показатели | Единицы измерения | Нормативы |
|---------------------------------------|---|-------------|
| Термотолерантные колиформные бактерии | Число бактерий в 100 мл | Отсутствие |
| Общие колиформные бактерии | Число бактерий в 100 мл | Отсутствие |
| Общее микробное число | Число колониеобразующих бактерий (КОЕ) в 1 мл | Не более 50 |
| Коли-фаги | Число бляшкообразующих единиц (КОЕ) в 100 мл | Отсутствие |
| Споры сульфитредуцирующих клостридий | Число спор 20 мл | Отсутствие |

Таблица 2. Микробиологические показатели воздуха некоторых помещений МО

| Наименование помещения | Класс чистоты помещения | Санитарно-микробиологические показатели | |
|---|-------------------------|---|-----------------|
| | | общее количество микроорганизмов в 1 м ³ воздуха (КОЕ/м ³) | |
| | | До начала работы | Во время работы |
| Операционные, послеоперационные палаты, реанимационные залы | А | Не более 200 | Не более 500 |
| Послеродовые палаты, палаты для ожоговых больных, палаты для лечения пациентов в асептических | Б | Не более 500 | Не более 750 |

| | | | |
|--|---|----------------|----------------|
| условиях, в том числе для иммуно-компрометированных | | | |
| Палаты для взрослых больных, помещения для матерей детских отделений | В | Не нормируется | Не нормируется |

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить протокол исследования
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести микробиологическое исследование объектов внешней среды (воздуха, воды) и пищевых продуктов.
2. Записать в журнал результаты исследований.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Перечислить объекты подлежащих санитарно – микробиологическому контролю.
2. Дать определение СПМ (санитарно-показательные микроорганизмы).
3. Назвать микроорганизмы, являющиеся СПМ.
4. Дать определение ОМЧ и МАФАМ.
5. Перечислить микроорганизмы, входящие в группу БГКП.
6. Дать определение термофилам.
7. Перечислить принципы санитарно – микробиологического исследования.
8. Дать определение ОКБ (общие колиформные бактерии).
9. Назовите принцип метода определения общих и термотолерантных колиформных бактерий.
10. Какие ставят тесты для подтверждения наличия ОКБ.
11. Дать характеристику микрофлоры воздуха.
12. Назвать возбудителей передающихся воздушно-капельным путем.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 30
Бактериологическое исследование воздуха операционной

| | | |
|---|---|--|
| Цель: формирование умений проводить санитарно-бактериологическое исследование воздуха, оценивать результаты проведенных исследований | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать пробы воздуха для микробиологического исследования - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований - проводить санитарно-бактериологическое исследование воздуха - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить санитарно-бактериологическое исследование проб воздуха операционной; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов окружающей среды МО(см.Приложение 1)**
 - Установить соответствие поступившей пробы данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества материала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного материала
 - Зафиксировать в направлении время приема материала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный материал;
 - Распределить материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций
- 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
 - Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал (воздух операционной)
- 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов окружающей среды МО(см. Приложение 5 МУК 4.2.2942-11 "Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях")**

Исследования бактериальной обсемененности воздушной среды проводят в помещениях лечебных организаций в зависимости от их функционального назначения на санитарно-микробиологические показатели:

- общее количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха (КОЕ/м³);
- количество колоний *S. aureus* в 1 м³ воздуха (КОЕ/м³);
- количество плесневых и дрожжевых грибов в 1 м³ воздуха.

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппаратов и устройств, разрешенных к применению в установленном порядке.

Для определения общего количества микроорганизмов в 1 м³ воздуха забор проб проводят на питательный агар типа МПА, СПА, ГРМ-агар и другие. Посевы инкубируют при температуре 37 °С в течение (48 ± 2) ч.

- 4. Оценивать результат проведенных исследований**
 - Определение положительного или отрицательного результата
 - Подсчет количества колоний микроорганизмов, выросших на питательной среде
 - Сопоставление полученного результата с НД

Подсчитывают количество выросших колоний и производят перерасчет на 1 м³ воздуха. При наличии роста колоний дрожжевых и плесневых грибов, их подсчитывают и делают пересчет на 1 м³ воздуха. В протоколе количество дрожжевых и плесневых грибов указывают отдельно.

| Класс чистоты | Название помещения | Санитарно-микробиологические показатели | | | | | |
|------------------|--------------------|---|-----------------|--|-----------------|---|-----------------|
| | | Общее количество микроорганизмов в 1 м ³ воздуха, КОЕ/м ³ | | Количество колоний <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 м ³ воздуха, КОЕ/м ³ | | Количество плесневых и дрожжевых грибов в 1 дм ³ воздуха | |
| | | До начала работы | Во время работы | До начала работы | Во время работы | До начала работы | Во время работы |
| Особо чистые (А) | Операционные | Не более 200 | Не более 200 | Не должно быть | Не должно быть | Не должно быть | Не должно быть |

5. Вести учетно-отчетную документацию

- Оформить протокол исследования
- Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры (см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести санитарно-бактериологическое исследование воздуха операционной.
2. Зафиксировать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Назовите условия забора материала методом смывов.
2. Назовите правила отбора проб методом смывов.
3. Перечислите питательные среды необходимые для первичного посева БГКП, стафилококк.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 31
Проведение санитарно-бактериологического исследования бактериологического бокса
методом смывов

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений проводить санитарно-бактериологическое исследование объектов отделения МО хирургического профиля (оперблока) | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать пробы объектов внешней среды для микробиологического исследования - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований - проводить санитарно-бактериологическое исследование бактериологического бокса методом смывов - оценивать полученные результаты - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории; - общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики; - требования к организации работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности; - организацию делопроизводства. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений отбирать пробы с поверхностей оперблока для бактериологического исследования; проводить микробиологические исследования смывов с поверхностей оперблока; проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5)

до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

- 1. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов окружающей среды МО(см.Приложение 1МУ 4.2.2039-05 Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории)**
 - Установить соответствие поступившей пробы данным направления.
 - Установить соответствие качества и количества материала цели исследования.
 - Провести маркировку доставленного материала
 - Зафиксировать в направлении время приема материала в лабораторию и промаркировать
 - Зафиксировать в журнале доставленный материал;
 - Распределить материал с учетом цели исследования;
 - Подготовить материал для дальнейших манипуляций
 - 2. Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований**
 - Реактивы (питательные среды, физиологический раствор, набор красителей)
 - Оборудование (бактериологические петли, шпатели, иглы, спиртовка, чашки Петри, предметные стекла, пробирки, центрифуга, термостат, холодильник, весы лабораторные, ламинарный шкаф)
 - Исследуемый материал(смывы с поверхностей оперблока)
 - 3. Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов окружающей среды МО(см. Приложение 5 МУК 4.2.2942-11 "Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях")**
 - 4. Оценивать результат проведенных исследований**
 - Определение положительного или отрицательного результата
 - Подсчет количества колоний микроорганизмов, выросших на питательной среде
 - Сопоставление полученного результата с НД
- Учет результатов исследования на стерильность.
- При отсутствии роста микроорганизмов во всех пробирках (колбах, флаконах) делают заключение о стерильности изделий. Материал не стерилен при росте микрофлоры.
- 5. Вести учетно-отчетную документацию**
 - Оформить протокол исследования
 - Зафиксировать данные исследований в журнале регистрации и (или) в информационной системе

6. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры(см. Приложение 2)

- Приготовление дезинфицирующего раствора
- Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)
- Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты
- Предстерилизационная очистка лабораторной посуды и инструментария
- Стерилизация многоразовой лабораторной посуды и инструментария

Типовые задания:

1. Провести бактериологическое исследование смывов с поверхностей опер-блока.
2. Зафиксировать полученные результаты в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Дайте понятие санитарная микробиология.
2. Назовите основные задачи санитарной микробиологии.
3. Перечислите объекты, подлежащие санитарно-бактериологическому контролю методом смывов.
4. Назовите условия забора материала методом смывов.
5. Назовите правила отбора проб методом смывов.
6. Перечислите питательные среды необходимые для первичного посева БГКП, стафилококк.
7. Перечислите микроорганизмы, входящие в группу БГКП.
8. Назвать микроорганизмы, являющиеся СПМ.
9. Перечислите требования, предъявляемые к СПМ.
10. Перечислите принципы санитарно – микробиологического исследования

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 32
Организация работы паразитологической лаборатории

| | | |
|--|--|--|
| Цель: Формирование умений паразитологического исследования с соблюдением правил техники безопасности. | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать, отбирать клинический материал для паразитологического исследования - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды - заполнять медицинскую документацию, учетные формы, в том числе в форме электронного документа | <ul style="list-style-type: none"> – общий режим и правила работы в лаборатории. – режим и правила работы при исследовании крови на малярию. – классификацию паразитов. – основные методы диагностики паразитарных болезней. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений работы в паразитологической лаборатории с соблюдением техники безопасности.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Общий режим и правила работы в лаборатории

Работа с заразным материалом требует соблюдения правил техники безопасности. Вход посторонним в лабораторию не допускается. В рабочих помещениях запрещено употребление пищи и воды, курение, применение косметики. Сотрудники должны носить защитную одежду, которую следует снимать при выходе.

Лаборатория должна быть обеспечена соответствующим набором помещений, водопроводом, центральной или местной канализацией.

На летнее время предусматриваются меры по недопущению залета мух в помещение лаборатории, в частности, засетчивание дверей, окон, фрамуг или форточек.

Для мытья рук и посуды используются отдельные раковины с педальной подачей воды, для рук также электрополотенца или аппараты механической подачи салфеток. Мусорные ведра должны иметь педаль для поднимания крышки.

За каждым сотрудником закрепляется рабочее место.

Приготовление препаратов кала для исследования на яйца гельминтов и простейшие кишечника производят в вытяжном шкафу, а просмотр препаратов – в специальной комнате с достаточной вентиляцией. Баночки с фекалиями, доставленные в лабораторию, помещают в эмалированные и пластиковые кюветы, где и производят забор проб для исследования. Предметные стекла с мазками фекалий и баночки для исследования методами обогащения раскладывают на большом листе оконного стекла или в большой плоской кювете, легко поддающейся последующей дезинфекции и мытью.

После окончания исследования посуду, стекла обезвреживают путем кипячения или помещают в бак с 5%-ным раствором карболовой кислоты или 10%-ным раствором лизола на 6 ч.

При отсутствии указанных средств обеззараживание проводят в баке с дезинфицирующим раствором в течение суток, с последующим мытьем и кипячением.

Деревянные палочки, бумагу и другие малоценные материалы сжигают.

Материал исследования (кал, моча и др.) заливают 5%-ным раствором карболовой кислоты или другим дезинфицирующим раствором на 2 ч., после чего выливают в канализацию. Посуду с калом, мочой и другими материалами собирают в баки, автоклавируют или дезинфицируют.

Лабораторные столы и стол вытяжного шкафа обезвреживают 3-5%-ным раствором хлорамина и прожигают спиртом. Предметный столик микроскопа обрабатывают спиртом.

Уборку и дезинфекцию персонал должен проводить в резиновых перчатках, желательного одноразового применения.

Лаборант, проводящий исследования паразитологического материала, с целью предупреждения внутрилабораторного заражения, помимо тщательного соблюдения общего дезинфекционного режима по обеззараживанию исследуемого материала, посуды, помещений, обязан соблюдать и правила личной гигиены.

Длительная работа с микроскопом может вызвать переутомление глаз, головную боль, ухудшение зрения. Поэтому освещение должно быть достаточным. В процессе микроскопии не рекомендуется закрывать один глаз (лучше пользоваться бинокулярным микроскопом). При недостаточном опыте работы с микроскопом можно надеть на тубус микроскопа лист плотной бумаги, чтобы закрыть поле зрения одного глаза. Желательно работать попеременно обоими глазами.

Периодически в течение нескольких минут делают упражнения для глаз: попеременно прикрывая рукой один глаз, считают видимые в окне удаленные предметы, например, ветви на деревьях.

При пользовании пипетками возможно попадание растворов при их насасывании в рот. Поэтому на пипетках должны быть надеты резиновые груши или их просвет закрывают ватным тампоном.

При исследовании фекалий, дуоденального содержимого, мышц и другого материала, содержащего личинки гельминтов, соблюдают следующие правила: жидкость из аппарата Бермана извлекают над кюветой или другой посудой, при этом работа проводится в резиновых перчатках. Пробирки с осадком необходимо держать в стакане с насыщенным раствором хлорида натрия. После окончания исследования всю посуду и аппаратуру кипятят.

Особую осторожность проявляют при исследовании материала на тениоз, эхинококкоз, альвеококкоз (кал, членики, почва из очагов указанных гельминтозов).

При взятии крови для паразитологического исследования лаборант должен принять все меры по соблюдению асептики (индивидуальные шприц и иглы, скарификатор, обработка кожи), а также быть предельно внимательным, чтобы случайно не поранить себя или не допустить попадания крови больного на свою кожу.

Руки тщательно моют с использованием дезинфицирующих и моющих, средств по общепринятой методике.

При попадании заразного материала на кожу лаборанта эти места обрабатывают 70% этанолом. При загрязнении слизистых оболочек рот прополаскивают 0,5% раствором пищевой соды, 0,5% раствором хлороводородной кислоты или раствором перманганата калия (1:10 000). Глаза промывают тем же раствором перманганата калия. В нос закапывают 1—2 капли 1 % раствора протаргола.

При загрязнении заразным материалом пола, мебели эти места заливают дезинфицирующим раствором, или покрывают марлевой шестислойной салфеткой или протирают ватно-марлевыми тампонами, обильно смоченными дезинфицирующим раствором.

Загрязненную одежду замачивают, а обувь протирают тампонами, смоченными в дезинфицирующем растворе.

2. Основные методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний

- 1) микроскопический — позволяет обнаружить паразита (яйца, личинки) непосредственно в материале, взятом от больного.
- 2) серологические методы исследования — основаны на выявлении специфических иммунных антител в сыворотке крови больного.
- 3) аллергологический метод — ставятся кожно-аллергические пробы, введение аллергена накожно или внутрикожно.
- 4) молекулярно – генетический метод основан на выявлении нуклеиновых кислот в исследуемом материале. **Типовые задания:**

1. Подготовить рабочее место для паразитологического исследования.
2. Приготовить рабочие растворы дезинфицирующих средств
3. Работа с медицинской документацией, в т.ч. в форме электронного документа.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Определите понятие паразитизма.
2. Перечислите основные разделы паразитологии.
3. Назовите представителей биогельминтов и геогельминтов.
4. Опишите патогенез гельминтозов.
5. Перечислите основные черты эпидемиологии гельминтозов.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 33
Методы лабораторной диагностики гельминтозов. Исследование испражнений
(методом нативного мазка, толстого мазка, методом седиментации)

| | | |
|--|--|---|
| Цель: формирование умений проведения исследования испражнений методом нативного мазка, толстого мазка, методом седиментации | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований - проводить паразитологическое исследование испражнений методом нативного мазка, толстого мазка по Като, методом седиментации - оценивать полученные результаты - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - классификацию трематод. - основные морфологические характеристики представителей сосальщиков. - цикл развития паразитов класса сосальщики. - основные принципы диагностики трематодозов. - основные принципы профилактики трематодозов. - строение микроскопа. |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проведения исследования испражнений методом нативного мазка, толстого мазка, методом седиментации.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Исследование испражнений

Исследование кала (копрологическое исследование) в диагностике гельминтозов имеет большое значение, так как многие гельминты паразитируют у человека в кишечнике или органах, с ним связанных, а яйца их выделяются с испражнениями.

Кал для анализа должен быть доставлен не позже, чем через сутки после его выделения, а при подозрении на стронгилоидоз, т. Е. для обнаружения личинок, — немедленно. При нарушении этого правила постановка диагноза в связи с разрушением яиц или личинок нередко становится трудной или невозможной.

При осмотре фекалий (макроскопический метод) можно обнаружить гельминтов, их головки, членики, обрывки стробилы, выделяющиеся самостоятельно или после дегельминтизации.

Методика осмотра: Небольшие порции кала перемешивают с водой в плоской ванночке или чашке Петри и, просматривая при хорошем освещении на темном фоне, при необходимости пользуясь лупой, извлекают гельминтов и все подозрительные образования белого цвета пинцетом или пипеткой. Собранное переносят в другую чашку с водой или на предметное стекло в каплю разведенного глицерина или изотонического раствора хлорида натрия для дальнейшего изучения.

При методе отстаивания исследуемую порцию фекалий следует размешать с водой в стеклянном цилиндре или горшке, затем осторожно после некоторого отстаивания слить верхний слой воды. Так повторяют несколько раз. Когда жидкость станет прозрачной, ее сливают, а осадок просматривают небольшими порциями в стеклянной ванночке или чашке Петри, как было указано выше.

Микроскопия (микроскопическое исследование) — основной способ исследования фекалий для обнаружения яиц или личинок гельминтов. Различные методы исследования описаны ниже. С целью повышения достоверности обследования анализы должны быть повторены несколько раз ежедневно или с промежутком в 1—3 дня.

2. Приготовление нативного мазка кала для исследования на яйца гельминтов

Оборудование: предметные стекла; широкая кювета; лист оконного стекла; деревянные палочки; писчая бумага; ножницы; простой карандаш; 50 % водный раствор глицерина; сосуд с дезинфицирующим раствором; микроскоп.

Методика работы.

1. На кювету положить лист оконного стекла или использовать большие эмалированные кюветы для раскладки предметных стекол.
2. Нарезать кусочки бумаги размером 3X4 см и написать на них порядковые номера в соответствии с числом исследуемых проб кала.
3. На стекле или в кювете разложить предметные стекла из расчета 2 стекла на одну пробу кала, под каждую пару стекол подложить номерки.
4. На предметные стекла в двух местах нанести пипеткой по 2 капли 50 % водного раствора глицерина (для его приготовления смешивают равные части глицерина и воды, желательно дистиллированной).
5. Деревянной палочкой взять кусочек кала размером со спичечную головку (30—50 мг) и растереть в капле глицерина на предметном стекле до получения равномерной суспензии. Таким образом на каждом стекле готовят по два нативных мазка (2 препарата), они должны занимать почти всю поверхность стекла, но не сливаться между собой (иначе препарат под микроскопом «поплывет») и не доходить до краев, чтобы не испачкать пальцы лаборанта.

Для приготовления каждого из четырех препаратов палочкой набирают свежий кусочек кала из другой части пробы. Для каждой исследуемой пробы используют только новые палочки.

6. Приготовленные препараты, не накрывая покровными стеклами, исследуют под малым увеличением микроскопа (x10, x8).

7. По окончании исследования стекла погрузить в дезинфицирующий раствор.

3. Приготовление толстого мазка кала с целлофановой пластинкой по Като

Оборудование: широкая кювета; лист оконного стекла; предметные стекла; полоски целлофана, обработанные по Като; крупные резиновые пробки; пинцет; деревянные палочки; бумага; ножницы; карандаш простой; микроскоп.

Методика работы.

1. На листе оконного стекла разложить предметные стекла и под них поместить номерки.

2. Деревянной палочкой набрать кусочек кала размером с горошину (100 мг) и поместить на предметное стекло в центральной его части.

3. Из банки достать пинцетом обработанную по Като пластинку целлофана и наложить на пробу кала на предметном стекле.

4. Резиновой пробкой осторожно придавить целлофан так, чтобы кал равномерно распределился под ним, не вытекая из края пластинки.

5. Препарат оставить для просветления на 20-30 мин. Затем микроскопировать.

4. Метод седиментации

В основе методов седиментации (осаждения) лежит разность удельного веса используемых химических реактивов и яиц гельминтов: удельный вес яиц высокий, и они концентрируются в осадке.

Необходимые реактивы и оборудование: контейнеры (полистироловые) объемом 30 мл с ложечкой для сбора кала, центрифужные пробирки, пробки для центрифужных пробирок, воронки пластиковые или стеклянные диаметром 4 или 5 см., стеклянные палочки или шпатели, стаканчики пластиковые или стеклянные, мерные на 50 и 100 мл., обезжиренные предметные стекла, покровные стекла, пипетки или варипипетки с наконечниками, центрифуга, марля, бинты или мелкоячеистые ситечки, микроскоп, формалин концентрированный, раствор формалина 5-10%, эфир этиловый, физиологический раствор, фиксирующий раствор Турдыева, раствор Люголя 2%.

Порядок сбора проб кала в консервант

В полистироловые контейнеры с вмонтированной ложечкой наливают 8-10 мл фиксирующего раствора Турдыева. Ежедневно или с интервалом в 1-2 дня в контейнер добавляют небольшую (объемом с горошину) порцию кала. Объем усредненной пробы кала, помещенной в раствор, не должен превышать 2-3 мл. Материал при каждом добавлении тщательно перемешивают с консервантом и хранят в темном прохладном месте (хранить можно до 2-3 недель). Пациенту рекомендуется не употреблять в пищу грибы, печень, большое количество грубой клетчатки, принимать сорбенты. После масляных клизм и приема бария должно пройти несколько суток. В случае лечения антибиотиками широкого спектра действия или антибактериальными препаратами кал для исследования следует начать собирать спустя 7-10 дней после окончания приема препаратов. Жидкий стул следует собрать однократно в количестве не менее 5 мл и одновременно доставить в лабораторию пробы кала без консерванта, собранные в этот день в чистую сухую посуду. Особенно это касается случаев "диареи путешественников", вернувшихся из стран тропического и субтропического пояса. Рекомендации по сбору и подготовке материала к исследованию следует вручать пациентам вместе с контейнером.

Подготовка к исследованию препаратов кала, собранного в консервант

1) Тщательно перемешать содержимое контейнера, содержащего трехкратную пробу кала в консерванте, встряхиванием или стеклянной палочкой.

- 2) В центрифужную пробирку поместить воронку, на неё - 2 слоя марли (можно также использовать металлические или пластмассовые ситечки).
- 3) Профильтровать не менее 8 мл суспензии из контейнера (если объем фильтрата будет меньше, добавить 10%-й раствор формалина до 8 мл).
- 4) Долить в пробирку 2 мл эфира и закрыть пробкой.
- 5) Энергично встряхивать пробирку не менее 30 с.
- 6) Центрифугировать при 1500 об./мин в течение 2 мин или при 2000 об./мин в течение 1 мин.
- 7) После центрифугирования образуются 4 слоя: осадок, раствор формалина, коагулированный белок, фекальный детрит - "пробка", а сверху эфир с растворенными в нем жирами.
- 8) Верхние 3 слоя удалить резким опрокидыванием пробирки (полипропилен легко отделяет "пробку").
- 9) Препараты микроскопировать при увеличении: объектив 8 или 10, окуляр 7 или 10, для уточнения морфологического строения яиц гельминтов - объектив 40.
- 10) Просмотр препарата производить без добавления раствора Люголя.

Типовые задания:

1. Приготовить препараты для паразитологического исследования гельминтозов: нативный мазок, толстый мазок по Като, методом седиментации.
2. Провести микроскопическое исследование.
3. Зафиксировать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Заболевание, вызываемое кошачьим сосальщиком
2. Путь заражения описторхозом
3. Меры профилактики при описторхозе
4. Заболевание, вызываемое печеночным сосальщиком
5. Место паразитирования печеночного сосальщика в организме
6. Заболевание, вызываемое кровяным сосальщиком
7. Особенности строения яиц у кровяного сосальщика

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 34
Исследование испражнений методами обогащения, методом Бермана

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений исследования испражнений методами обогащения, методом Бермана. | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований - проводить идентификацию яиц и личинок гельминтов путем микроскопического исследования испражнений: методы обогащения (Фюллеборна, Калантарян), метод Бермана. - оценивать полученные результаты - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - классификацию ленточных червей - паразитов человека - основные морфологические характеристики ленточных червей - цикл развития цестод - основные принципы диагностики цестодозов - основные принципы профилактики цестодозов |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений исследования испражнений методами обогащения, методом Бермана.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Метод обогащения

Метод обогащения — основан на всплывании яиц гельминтов в насыщенном растворе хлорида натрия, имеющем высокую относительную плотность, что дает возможность выявления яиц при большом их количестве. Метод более эффективен, чем изучение нативного мазка, хотя и сложнее. Достоинствами метода являются дешевизна, и доступность. Рекомендуется сочетать изучение нативного мазка и метода Фюллеборна.

2. Исследование кала на яйца гельминтов по методу Фюллеборна

Оборудование: предметные стекла; стеклянные широкогорлые банки или стаканы вместимостью 50—100 мл; широкая кювета; лист оконного стекла; спиртовка; спички; деревянные палочки; пипетки; бумага; ножницы; карандаш; проволочные петли для снятия пленки (рис. 10.2); насыщенный раствор хлорида натрия, 50% водный, раствор глицерина; микроскоп.

Методика работы.

1. В эмалированной кювете расставить стеклянные банки или стаканы, под них положить номерки.
2. В каждую баночку деревянной палочкой внести 2,5—5 г фекалий.
3. Постепенно приливая насыщенный раствор соли, тщательно размешивать фекалии той же палочкой. Раствор налить почти доверху.
4. Бумажной полоской, согнутой в виде совка, быстро снять всплывшие крупные частицы и поместить в банку с дезинфицирующим раствором. Оставить на 45 мин (в учебных целях время отстаивания можно сократить). Отстаивание желательно проводить в вытяжном шкафу.
5. На листе оконного стекла разложить предметные стекла.
6. Спустя 45 мин после начала отстаивания проволочной петлей, лучше спиралевидной, прикасаются к поверхности раствора в банке и стряхивают ее в каплю глицерина. Эту процедуру повторяют, готовя 4 препарата на двух предметных стеклах. Петлю обжигают на спиртовке.
7. После снятия поверхностной пленки жидкость осторожно слить и 4—8 капель осадка пипеткой или проволочной петлей перенести на оставшееся предметное стекло. Готовят таким образом 2 препарата.
8. Таким образом, из каждой пробы кала подлежат микроскопическому исследованию 6 препаратов на трех стеклах (4—из поверхностной пленки и 2—из осадка).

3. Метод исследования по Калантарян также является методом обогащения, но более эффективен и проще, чем метод Фюллеборна. Применяется насыщенный раствор нитрата натрия с относительной плотностью 1,38. Поэтому яйца большинства гельминтов всплывают и обнаруживаются в поверхностной пленке, исследование осадка не требуется.

Недостатками метода являются дефицит нитрата натрия, а также то, что яйца трематод, онкосферы тениид не всплывают и остаются в осадке. При длительном (более 1—2 ч) выдерживании фекалий в растворе яйца некоторых гельминтов начинают набухать и оседают, исчезая из поверхностной пленки.

Исследование кала на яйца гельминтов методом Калантарян

Оборудование: стеклянные широкогорлые банки или стаканы вместимостью 50—100 мл; предметные стекла; широкая кювета; лист оконного стекла; деревянные палочки; пипетки;

бумага; ножницы; карандаш; насыщенный раствор нитрата натрия; 50 % раствор глицерина; микроскоп.

Методика работы.

1. В стеклянную банку или стакан деревянной палочкой внести 2,5—5 г фекалий.
2. Банку поместить в эмалированную кювету, под нее положить листок бумаги с номером.
3. Постепенно приливая насыщенный раствор нитрата натрия, тщательно размешать фекалии. Уровень жидкости довести почти доверху.
4. Бумажной полоской, согнутой в виде совка, удалить всплывшие на поверхность крупные частицы.
5. На банку наложить предметное стекло и пипеткой добавлять раствор нитрата натрия, пока нижняя поверхность предметного стекла не соприкоснется со слоем жидкости. После этого стекло сдвинуть так, чтобы оно полностью закрывало банку. Под стеклом не должно быть пузырьков.
6. Оставить для отстаивания на 20—30 мин, желательно в вытяжном шкафу.
7. По окончании отстаивания предметное стекло осторожно, но быстро снять, переворачивая влажной поверхностью кверху. Во влажном слое содержатся яйца гельминтов, всплывшие в поверхностную пленку.
8. В препарат для предупреждения высыхания добавляют пипеткой 2—3 капли водного раствора глицерина, микроскопируют.

4. Обнаружение личинок гельминтов в фекалиях по Берману

Оборудование: металлический штатив; стеклянные воронки; мелкая металлическая сетка к воронкам; резиновые трубки и зажимы к ним; марля или широкие бинты; центрифужные пробирки; центрифуга; микроскоп.

Методика работы.

1. На узкий конец стеклянной воронки надеть резиновую трубку с зажимом. Воронку укрепить в штативе.
2. В воронку поместить металлическую сетку и заполнить воронку подогретой до 40—45 °С водой так, чтобы нижняя часть сетки была погружена в воду.
3. На сетку положить 2 слоя марли и на нее 5—10 г кала. Личинки из фекалий активно мигрируют в теплую воду и скапливаются в нижней части резиновой трубки, надетой на воронку.
4. Через 4 ч зажим на трубке открыть и опустить жидкость в две центрифужные пробирки.
5. После центрифугирования в течение 2—3 мин надосадочную жидкость быстро слить, а осадок перенести на предметное стекло и исследовать под микроскопом.
6. Марлю с фекалиями поместить в бак с дезинфицирующим раствором, воронки и сетки обезвредить кипячением.

Типовые задания:

1. Приготовление препаратов для паразитологического исследования методом обогащения, по методу Фюллеборна, Калантарян, Бермана.
2. Провести микроскопическое исследование паразитологических препаратов.
3. Зафиксировать полученные результаты в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Общие черты червей класса цестод
2. Заболевание, вызываемое лентецом широким
3. Характерные черты лентеца широкого
4. Промежуточными хозяевами широкого лентеца
5. Заражение дифиллоботриозом происходит при ...
6. Место паразитирования лентеца широкого в организме человека
7. Заболевание, вызываемое бычьим цепнем
8. Характерные черты бычьего цепня

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 35
Серологические и количественные методы диагностики гельминтозов

| | | |
|---|--|--|
| Цель: формирование умений паразитологического исследования | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований - проводить серологическую диагностику трихинеллеза, описторхоза, эхинококкоза, токсокароза - проводить диагностику гельминтозов количественными методами: метод Столла, метод Красильникова и Волковой. - оценивать полученные результаты - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - строение микроскопа - классификацию гельминтов - строение и жизненные циклы гельминтов - методы диагностики и профилактики гельминтозов |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений паразитологического исследования.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Серологические методы диагностики

Серологические методы исследования (выявление антител в сыворотке крови) используются с целью диагностики трихинеллеза, эхинококкоза, альвеококкоза, цистицеркоза и ряда других гельминтозов.

Эти методы особо ценны, когда наличие паразита в организме другими более доступными путями доказать не удастся. Следует, однако, учитывать, что серологические реакции не являются абсолютным показателем наличия или отсутствия паразита, что обусловлено и состоянием иммунитета, и спецификой той или иной реакции.

Разработаны и применяются с целью диагностики гельминтозов: РСК — при трихинеллезе, фасциолезе, шистосомозах; РЛА — при эхинококкозе; РНГА — при описторхозе, эхинококкозе и др.; РФА — при трихинеллезе, филяридозах, шистосомозах, цистицеркозе и др.

Например, в клинических лабораториях часто используется РЛА для диагностики эхинококкоза и альвеококкоза. Исследуемую сыворотку в разведениях разливают в центрифужные пробирки. Туда же добавляют по 0,5 мл эхинококкового диагностикума (готовится в производственных условиях из антигена — жидкости эхинококковых пузырей животных, адсорбированного на латексе, синтетической полистирольной смоле молочно-белого цвета).

Все пробирки после встряхивания выдерживают 3 ч в термостате при температуре 37 °С и затем ночь — в холодильнике. После этого пробирки центрифугируют при 2500 об/мин 3—5 мин и оценивают результат реакции (при положительной — жидкость прозрачная, осадок мелкозернистый или хлопьевидный, четко просматривается; при отрицательном — жидкость равномерно мутная без осадка).

2. Количественные методы

Определение числа яиц гельминтов в исследуемом материале позволяет судить об интенсивности инвазии человека, эффекте лечения и профилактических мероприятий.

Для получения достоверного результата анализа проводят повторно, нецелесообразно исследовать жидкие фекалии, так как яйца гельминтов в них могут отсутствовать.

Подсчет яиц в фекалиях не даст достоверного результата при тениаринхозе или энтеробиозе, ибо яйца обычно не выделяются с испражнениями.

Классическим является метод Столла. На стеклянной колбе наносят деления на 56 и 60 мл, затем в нее наливают 56 мл 0,1 н. раствора гидроксида натрия (0,4 % раствора) и добавляют фекалии, пока общий объем жидкости достигнет отметки 60 мл. Полученную взвесь взбалтывают в течение минуты со стеклянными бусами (можно перемешивать и стеклянной палочкой), затем пипеткой быстро набирают 0,075 мл взвеси (в этом объеме содержится 0,005 г фекалий). Взвесь переносят на предметное стекло, накрывают покровным и микроскопируют. Обнаруженное число яиц умножают на 200, получая данные о содержании яиц в 1 г фекалий.

К недостаткам метода относят относительно низкую чувствительность, в частности, при слабой инвазии яйца гельминтов могут быть и не обнаружены. Этим объясняется появление других методик.

По методу Красильникова и Волковой 1 г фекалий смешивают в стеклянной колбочке или большой пробирке с 1 % раствором стирального порошка (10 мл) до образования гомогенной суспензии. Быстро набирают пипеткой 0,1 мл взвеси, что равняется 0,01 г фекалий, и переносят на предметное стекло. Препарат микроскопируют под пластинкой целлофана, выдержанной не менее суток в 50 % водном растворе глицерина.

После подсчета яиц во всем препарате полученную сумму умножают на 100, высчитывая таким образом число яиц в 1 г фекалий. По указанному методу более полно учитываются яйца гельминтов даже при слабой инвазии.

Типовые задания:

1. Провести паразитологическое исследование гельминтозов.
2. Зафиксировать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Строение круглых червей. Общая характеристика класса нематод, строение и развитие.
2. Особенности морфологии, биологии и экологии представителей класса: анкилостомы, некатора, кишечной угрицы, токсокары.
3. Особенности строения яиц и личинок.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 36
Исследование биологического материала методом нативного мазка

| | | |
|--|--|---|
| Цель: формирование умений исследования биологического материала при протозоозах методом нативного мазка | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований; - проводить исследование биологического материала методом нативного мазка; - оценивать полученные результаты; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - классификацию простейших человека - основные морфологические характеристики простейших - основные принципы диагностики протозоозов человека |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений исследования биологического материала для выявления протозоозов методом нативного мазка.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

Метод нативного мазка

Препарат готовится на предметном стекле. Жидкие кровянисто-слизистые испражнения без видимой примеси фекальных масс могут быть исследованы без добавления изотонического раствора хлорида натрия. Деревянной палочкой каплю испражнений переносят на предметное стекло и накрывают покровным стеклом. Пользоваться стеклянными палочками не рекомендуется, так как ими не удастся набрать слизистые комочки.

В правильно приготовленном нативном мазке фекалий покровное стекло должно плотно прилегать к предметному с равномерным распределением жидкости между стеклами без ее выступания за пределы покровного стекла. Густой мазок малопрозрачен. Если же взято слишком мало фекалий, то мазок получится разведенным и простейших в нем может просто не оказаться. Через правильно приготовленный мазок должен быть виден печатный текст.

При микроскопическом исследовании освещение не должно быть ярким, иначе можно пропустить прозрачные объекты. Передвигать препарат наиболее удобно препаратоводителем. После ориентировочного, просмотра под малым увеличением обязательно применяют среднее увеличение (x10, x40).

Типовые задания:

1. Приготовить нативные мазки кала для выявления простейших.
2. Провести микроскопическое исследование.
3. Записать результаты исследований в журнале.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Классификация простейших.
2. Класс саркодовые.
3. Класс жгутиконосцы
4. Класс споровики.
5. Основные методы обнаружения простейших.
6. Исследование испражнений.
7. Метод биологической пробы.
8. Методы обогащения.
9. Консервация простейших.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 37
Исследование биологического материала методом окрашенного мазка Люголем и метиленовым синим

| | | |
|--|---|---|
| Цель: Формирование умений исследования биологического материала методом окрашенного мазка Люголем и метиленовым синим | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования; - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований; - проводить исследование биологического материала методом окрашенного мазка Люголем и метиленовым синим; - оценивать полученные результаты; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - классификацию простейших паразитов человека - основные морфологические характеристики простейших - основные принципы диагностики паразитозов человека |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить препараты для паразитологических исследований, различать на препаратах представителей простейших.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Приготовление растворов красителей для паразитологического исследования

Состав раствора Люголя по унифицированной методике: иодид калия — 3 г; кристаллический иод — 1,5 г; вода дистиллированная — 100 мл. Вначале растворяют иодид калия, затем иод. Раствор стабилен в темной посуде с притертой пробкой при комнатной температуре не более месяца.

Цисты окрашиваются в золотисто-коричневый цвет. На фойе цитоплазмы заметны ядра, видны их строение и число. Хорошо виден гликоген, окрашивающийся в разные оттенки коричневого цвета. При окраске раствором Люголя вегетативные формы погибают и определяются с трудом.

Приготовление раствора метиленового синего: навеску метиленового синего 0,1 г. поместите в бутылочку и прибавьте изотонический раствор натрия хлорида 100 мл. Тщательно перемешайте до полного растворения. Для использования профильтруйте небольшое количество полученного раствора в капельницу.

Приготовление мазков

Оборудование: предметные и покровные стекла; деревянные палочки длиной 10—15 см; пипетки; изотонический раствор хлорида натрия; раствор Люголя (метиленового синего); сосуд с 3 % раствором хлорамина; микроскоп.

2. Приготовление нативного мазка

1. На столе в большой кювете или на листе оконного стекла разложить обезжиренные чистые предметные стекла.

2. На предметные стекла, отступя от края на 1,5—2 см, пипеткой нанести по 1—2 капли изотонического раствора в двух местах с промежутком в 4 см.

3. Кончиком деревянной палочки из пробы фекалий выбрать патологические примеси или небольшой кусок и перенести в каплю на предметное стекло, растереть до получения равномерной негустой эмульсии.

4. Той же палочкой набрать вторую порцию фекалий из другого участка пробы и приготовить препарат из второй капли на предметном стекле. Палочку оставить в банке с пробой фекалий.

5. Полученные препараты (нативные мазки), если они оказались сухими, разбавляют из пипетки одной каплей изотонического раствора, накрывают стеклами и микроскопируют.

Примечание: если после наложения покровного стекла капля эмульсии выступила из-под покровного стекла и попала на его верхнюю сторону, то препарат бракуют и готовят новый.

3. Приготовление мазка, окрашенного раствором Люголя (метиленовым синим).

1. На предметное стекло нанести по 1 — 2 капли раствора Люголя или метиленового синего в двух местах.

2. Деревянной палочкой набрать фекалии каждый раз из другой части пробы и растереть в приготовленных каплях на предметном стекле до получения равномерной эмульсии.

3. Препараты накрыть покровными стеклами и поочередно микроскопировать при среднем увеличении.

4. По окончании работы предметные стекла с мазками поместить в посуду с дезинфицирующим раствором, убрать рабочее место и вымыть руки.

Типовые задания:

1. Приготовить растворы красителей: раствор Люголя и раствор метиленового синего.

2. Приготовить окрашенные препараты для паразитологического исследования.

3. Провести микроскопическое исследование препаратов.

4. Записать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Классификация простейших.
2. Класс саркодовые.
3. Класс жгутиконосцы
4. Класс споровики.
5. Основные методы обнаружения простейших.
6. Исследование испражнений.

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 38
Исследование биологического материала методами обогащения

| | | |
|--|---|---|
| Цель: формирование умений исследования биологического материала методами обогащения | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования; - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований; - проводить исследование биологического материала методами обогащения - оценивать полученные результаты; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию. | <ul style="list-style-type: none"> - основные морфологические характеристики Саркодовых - цикл развития кишечной и дизентерийной амебы - основные принципы диагностики амебиаза - основные принципы профилактики амебиаза |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений исследования биологического материала методами обогащения
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Приготовление препаратов методом обогащения

Применяются только с целью обнаружения цист. Для исследования жидких фекалий, в которых, как правило, обнаруживаются вегетативные формы простейших, эти методы не пригодны.

Метод всплывания. При смешивании материала, содержащего цисты, с жидкостями, имеющими большую относительную плотность, чем цисты, последние всплывают и находятся в поверхностной пленке.

Предварительно отмывают цисты от фекалий. В противном случае в поверхностную пленку всплывут многочисленные частицы фекалий, что очень затруднит исследование. Для отмывания 1 г фекалий тщательно размешивают в 10 мл воды в центрифужной пробирке и центрифугируют 45 с — 1 мин при 2500 об/мин. Поверхностную жидкость сливают, а к осадку добавляют воду, и процедуру повторяют. Центрифугируют несколько раз, пока надосадочная жидкость не станет прозрачной. После этого к осадку добавляют 33 % раствора сульфата цинка. Тщательно перемешивают и центрифугируют 2 мин. Исследуют поверхностную пленку, которую снимают петлей.

Метод формалин-эфирного обогащения. При обработке фекалий по этому методу происходит отделение и концентрация цист простейших кишечника.

Оборудование: раствор формалина (формалин 40 % — 10 мл; хлорид натрия — 0,9 г; вода дистиллированная — до 100 мл); эфир серный; раствор Люголя; пробирки химические и центрифужные; центрифуга; деревянные палочки; вата; пипетки; предметные стекла; покровные стекла; микроскоп.

Методика работы.

1. В пробирку налить 6 мл раствора формалина. Частицу фекалий размером с горошину внести в пробирку и тщательно эмульгировать (размешать).
2. В пробирку добавить 2 мл эфира, закрыть резиновой пробкой, энергично встряхивать в течение 1 мин, затем центрифугировать 3 мин при 1500 об/мин.
3. Образовавшийся после центрифугирования между слоями формалина и эфира слой фекалий деревянной палочкой осторожно отделить от стенок пробирки и вылить все содержимое пробирки, оставив в пробирке только придонный осадок.
4. Наклонив пробирку отверстием книзу, быстро протереть ватным тампоном ее внутренние стенки, чтобы удалить возможно больше жидкости.
5. Перевернуть пробирку отверстием вверх, пипеткой забрать оставшуюся часть (осадок) со дна пробирки и перенести на предметное стекло.

Типовые задания:

1. Приготовить препараты для паразитологического исследования методом обогащения.
2. Провести микроскопическое исследование препаратов.
3. Зафиксировать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. К классу саркодовых относятся ...
2. Простейшие класса саркодовых передвигаются при помощи ...
3. Дизентерийная амеба паразитирует в ...
4. Большая вегетативная форма дизентерийной амебы выделяется и обнаруживается у ...
5. Основной мерой профилактики амебиаза является ...

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 39
Исследование крови методами толстой капли и тонкого мазка

| | | |
|--|---|--|
| Цель: формирование умений проводить исследование крови методами толстой капли крови и тонкого мазка | | |
| Тип занятия: практическое занятие | | |
| Планируемые результаты | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований; - проводить взятие крови на исследование; - готовить препараты крови: тонкий мазок и толстую каплю; - идентифицировать простейших в препаратах; - оценивать полученные результаты; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - основные морфологические характеристики простейших класса споровиков - цикл развития малярийного плазмодия и токсоплазмы - основные принципы диагностики малярии - основные принципы профилактики малярии |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить исследование крови методами толстой капли крови и тонкого мазка.
6. Контроль освоения умений: демонстрация практических умений преподавателю на оценку.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДШП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртровка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.
Программное обеспечение: Microsoft Office Word
Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Толстая капля крови

С целью обнаружения гемопаразитов кровь микроскопируют с иммерсионным маслом под большим увеличением мазок и толстую каплю крови.

Толстую каплю в отличие от мазка, крови не фиксируют. Под влиянием водного раствора краски нефиксированные эритроциты гемолизируются, препарат становится прозрачным. Это ускоряет и облегчает нахождение паразитов, так как в одном поле зрения можно исследовать гораздо больший объем крови, чем в мазке.

Если же толстая капля будет зафиксирована, то гемолиза эритроцитов не произойдет, они будут наслаиваться друг на друга и препарат окажется непригодным для микроскопии.

Слой крови в толстой капле не должен быть очень толстым, иначе после высушивания он трескается и может отпасть. Нормальной считается толстая капля, через которую после высушивания слабо просвечивает крупный печатный текст, а при микроскопии в одном поле зрения насчитывается в среднем 10—15 ядер лейкоцитов.

Хорошие препараты крови можно приготовить только используя чистые обезжиренные предметные стекла.

Стекла моют горячей водой с мылом или кипятят в 1 % растворе стирального порошка, затем тщательно прополаскивают горячей и дистиллированной водой. Вымытые стекла вытирают хлопчатобумажной тканью или сушат в сухожаровом шкафу, заворачивают в неворсистую бумагу и хранят до употребления.

Приготовление толстой капли крови

Оборудование: предметные стекла (сухие, чистые, обезжиренные); копыя или скарификаторы одноразового применения для прокола кожи; вата; 70 % этанол; эфир; простой и восковый карандаши.

Методика работы.

1. Несколько чистых предметных стекол положить на стол.
2. Ватой, смоченной 70 % этанолом, протереть концевую фалангу IV пальца левой руки пациента.
3. После высыхания этанола проколоть кожу пальца.
4. Выступившую первую каплю крови снять сухой ватой.
5. Нажимая на боковые поверхности пальца по направлению к месту прокола (палец пациента при этом держат опущенным), выдавить крупную каплю крови.
6. Предметным стеклом, держа его за боковые ребра, прикоснуться и снять выступившую каплю крови, которую располагают отступя на 2—2,5 см от узкого края стекла.
7. Круговыми движениями стекла размазать каплю, доводя ее размер до 1,5 см в диаметре.
8. Точно так же приготовить толстую каплю на другой половине стекла. Расстояние между каплями должно быть не менее 2 см.
9. В промежутке между каплями нанести на стекло полоску крови, на которой после высушивания написать простым карандашом номер по списку или фамилию пациента. Делать подобную надпись на поверхности толстой капли недопустимо, так как это портит препарат и затруднит микроскопическое исследование.
10. Стекла в горизонтальном положении положить на стол (в кювету) для просушивания, предохраняя от попадания прямых солнечных лучей, пыли и мух.

11. Ранку на пальце обработать ватой, смоченной этанолом.

2. Приготовление краски по Романовскому-Гимзе

Краска Романовского (правильнее — по Романовскому — Гимзе) состоит из двух красящих веществ — азура и эозина, разведенных метанолом или этанолом с добавлением глицерина. Заводская краска (азур-эозин по Романовскому) поступает в сухом или жидком виде.

Для приготовления рабочего раствора краску Романовского разводят дистиллированной водой, причем краску добавляют к воде, а не наоборот. При получении новой серии предварительно готовят несколько разведений жидкой краски — по 1, 2 и 3 капли на 1 мл дистиллированной воды и окрашивают несколько мазков крови. По наиболее хорошо окрашенному мазку определяют, какое количество капель жидкой краски следует брать и сколько времени необходимо красить. По стандартной методике рекомендуется брать 3 мл концентрированной краски на 100 мл раствора или 1—2 капли краски на 1 мл раствора.

3. Окраска толстой капли крови

Чем выше температура в помещении, тем быстрее окрашивается препарат, и наоборот. В среднем мазок окрашивается в течение 45—50 мин, толстая капля — 15—30 мин.

Если толстые капли сохранялись более недели неокрашенными, что само по себе действует как слабая фиксация, особенно в условиях жаркого климата, то препараты после окраски могут получиться недостаточно прозрачными из-за неполного гемолиза эритроцитов.

В таких случаях предварительно следует налить на препарат несколько капель дистиллированной воды. Через 10—15 мин гемоглобин эритроцитов переходит в воду, придавая ей буроватый оттенок, а толстая капля становится белесоватой. Воду сливают, каплю осторожно прополаскивают дистиллированной водой и затем наливают краску.

Можно окраску проводить и в специальных контейнерах, в которых стекла расположены на ребре, а выпадающая в осадок краска не портит препарат. Однако при этом возрастает риск смывания толстой капли со стекла.

Правильно окрашенная толстая капля имеет фиолетовый цвет, переокрашенная — темно-фиолетовый, недоокрашенная — светло-голубой. Длительно хранившаяся при высокой температуре или зафиксированная толстая капля приобретает почти черный цвет.

Техника окраски толстой капли крови

Оборудование: плоская ванночка или кювета; подставки для окраски и сушка стекол; пипетки; краска Романовского; дистиллированная вода или фосфатный буферный раствор; иммерсионное масло; вата; эфир; препараты крови для окрашивания; микроскоп.

Методика работы.

1. Предметные стекла с сухими толстыми каплями крови положить на подставку над кюветой препаратами кверху. Стекла не должны соприкасаться.
2. В стакан налить дистиллированную воду или, лучше, фосфатный буферный раствор и добавить пипеткой краску Романовского из расчета 1 каплю на 1 мл воды.
3. Пипеткой нанести разведенный рабочий раствор краски так, чтобы она полностью покрыла препараты без образования пузырьков.
4. Оставить краску на препаратах на 30 мин, следя за тем, чтобы краска не стекла с препаратов, добавляя ее при необходимости пипеткой.
5. По окончании процедуры каждое стекло, не сливая с него краски, осторожно промыть слабой струей воды, например, из стакана (сильная струя воды может смыть толстую каплю), до тех пор, пока промывная вода не станет бесцветной.

Примечание. Если сначала слить краску, а затем промывать, то образовавшаяся пленка краски может испортить препарат или послужить причиной диагностической ошибки.

6. Предметные стекла поместить в подставку для просушки в вертикальном или наклонном положении, предохраняя от попадания пыли и солнечных лучей.

7. После просушивания препараты исследовать под микроскопом с масляной иммерсией. Оценить качество толстой капли и ее окраски.

8. Совместно с преподавателем провести микроскопию готовых препаратов малярийных плазмодиев в мазке и толстой капле крови.

4. Приготовление тонкого мазка

Стерильной иглой укалывают предварительно продезинфицированный безымянный палец левой руки. Первую каплю крови удаляют сухой ваткой. К выступившей крови прикасаются нижней поверхностью предметного стекла так, чтобы капля, величиной немного больше булавочной головки, оказалась на расстоянии 1,5-2 мм от его узкого края. Затем стекло перевёртывают каплей вверх и берут его в левую руку. Правой рукой устанавливают шлифованное стекло под углом 45 °С к предметному с наклоном в сторону капли, осторожно подвигают к краю капли и ждут, пока кровь растечётся вдоль края шлифованного стекла к углу, образованному обеими стёклами. Лёгким быстрым движением, прижимая шлифованное стекло, продвигают его влево по предметному стеклу, не доходя 1-1,5 см до края. Получается тонкий мазок желтоватого цвета, полупрозрачный. Его высушивают и направляют в лабораторию. Фамилию больного или регистрационный номер можно написать непосредственно на мазке простым карандашом.

Типовые задания:

1. Приготовить тонкий мазок и толстую каплю.
2. Провести микроскопическое исследование.
3. Зафиксировать в журнал результат исследования.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. К классу споровиков относятся ...
2. Классификация малярийных плазмодиев
3. Методы диагностики малярии
4. Морфологическая характеристика токсоплазмы
5. Основной мерой профилактики токсоплазмоза является ...

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 40
Методы сбора, учета и изучения членистоногих

Цель: формирование умений проводить паразитологическое исследование демодекоза и чесотки

Тип занятия: практическое занятие

Планируемые результаты

Уметь

Знать

- принимать, регистрировать пробы для паразитологического исследования
- готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований;
- проводить сбор и учет клещей, насекомых;
- готовить препараты для паразитологического исследования: соскоб кожи для обнаружения чесоточных клещей;
- исследовать секрет кожных фолликулов на наличие клещей-железниц (демодекоз);
- идентифицировать членистоногих в препаратах;
- оценивать полученные результаты;
- проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры;
- вести отчетно-учетную документацию

- классификацию паразитов класса паукообразных
- географическое распространение паразитарных болезней человека
- основные принципы диагностики демодекоза и чесотки
- основные принципы профилактики демодекоза и чесотки

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений готовить препараты для паразитологических исследований, различать на препаратах представителей членистоногих, класса паукообразные.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1)

электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Методы сбора, учета и изучения членистоногих класса паукообразные

Сбор членистоногих: опасных для здоровья человека, проводят на определенной территории с целью изучения видового состава, сезонной численности, мест выплода и т. д. Полученные данные являются основой оценки эпидемиологической роли переносчиков, прогнозирования ситуации и организации борьбы с ними. Методы учета и сбора. В зависимости от мест обитания и вида сбор и учет численности клещей проводятся разными методами.

Иксодовых клещей в природных условиях собирают с помощью несложных приспособлений. Флажок — кусок фланели или другой светлой ткани размером 80Х40 см, прикрепленный к палке. Флажок протягивают по растительности, осматривая его через каждые 20—25 шагов. Волокуша — представляет собой длинный кусок фланели или вафельного полотна размером 50Х100 см, к узкому концу которого прикреплена палка. К ней с двух сторон привязывают веревку, за которую и протягивают волокушу по траве и кустарнику. Осматривают ее через каждые 20—25 шагов. Веретено изготавливают, наматывая на длинную палку фланель, закрепляя ее шпагатом. Вставляя веретено в кустарник, норы, собирают зацепившихся клещей.

Все виды учета проводят по маршруту на расстоянии в 1 км или в расчете на 1 ч сбора.

Важным методом сбора и учета клещей является осмотр животных, особенно сельскохозяйственных. Во всех случаях клещей собирают пинцетом или рукой в резиновой перчатке. Для сбора аргасовых клещей осматривают места под камнями, щели за штукатуркой, норы грызунов.

Учет численности и динамики видового состава ведут на основе регулярных сборов на определенных и постоянных участках. Собранных клещей помещают в горячую воду, где они хорошо расправляются, а затем переносят в 70 % этанол, если клещи предназначены для коллекции и определения вида. Если же клещей необходимо сохранить живыми для исследования на зараженность болезнетворными микроорганизмами, то их помещают в специально оборудованные пробирки-камеры.

2. Взятие и исследование соскоба кожи для обнаружения чесоточных клещей

Оборудование: скальпель или лезвие; ложка Фолькмана или глазная; препаровальная игла; предметные и покровные стекла; 70 % этанол; 20 % раствор гидроксида натрия или калия; молочная кислота; глицерин; вата; лупа; микроскоп.

Методика работы. На коже пациента найти места поражения чесоточными клещами и протереть место отбора соскоба ватой, смоченной 70 % этаноном.

Метод извлечения клеща иглой.

1. Под контролем лупы иглой вскрыть слепой конец чесоточного хода на месте буроватого точечного возвышения.
2. Острие иглы продвинуть по направлению чесоточного хода, пытаясь при этом вывести наружу и извлечь клеща, который своими присосками прикрепляется к игле.

3. Клеща перенести на предметное стекло в каплю 20 % раствора гидроксида натрия, накрыть покровным стеклом и рассмотреть.

Метод тонких срезов. 1. Острым лезвием или скальпелем срезать участок рогового слоя эпидермиса с чесоточным, ходом или пузырьком.

2. Срез перенести на предметное стекло в каплю 20 % раствора гидроксида натрия, через 5 мин рассмотреть препарат под микроскопом (можно обнаружить клеща, яйца, оболочки или экскременты клеща).

Метод соскоба патологического материала.

1. Лезвием, скальпелем или ложкой Фолькмана соскабливают чесоточный элемент.

2. Содержимое переносят на предметное стекло в каплю глицерина или 20 % раствора гидроксида натрия.

3. Накрывают покровным стеклом и оставляют на 10 мин, затем микроскопируют.

Метод послойного соскоба (глубокого соскоба кожи по Н.Е. Соловьеву).

1. Глазной ложкой с заостренными краями поочередно с 3—4 однородных свежих элементов делают соскоб. Соскабливают легкими движениями, послойно, продолжая операцию и после появления капли крови.

2. Материал переносят на предметное стекло в каплю 20 % раствора гидроксида натрия с глицерином в равных объемах.

3. Накрывают покровным стеклом, слегка прижимая и подвигая вправо и влево.

4. Микроскопируют при опущенном конденсоре микроскопа (x10, x8) через 10—20 мин, а при отрицательном результате еще через 2, 4, 24 ч после приготовления.

Метод «щелочного препарирования кожи».

1. 10 % раствор гидроксида натрия (калия) наносят на чесоточные высыпания на коже на 2 мин.

2. Мацерированный эпидермис соскабливают скальпелем, переносят на предметное стекло в каплю воды и исследуют под микроскопом.

Метод исследования с молочной кислотой.

1. Каплю молочной кислоты наносят на чесоточный ход, пузырек, папулу, корочку и т. д. на 5 мин.

2. Разрыхленный эпидермис соскабливают острой глазной ложкой до появления крови с захватом участка на границе со здоровой кожей.

3. Материал переносят на предметное стекло в каплю молочной кислоты, накрывают покровным стеклом, изучают.

3. Взятие и исследование соскоба кожи для обнаружения клещей-железниц (по методу 3. Б. Кешелевой с соавт.)

Оборудование: ложка Фолькмана (глазная ложка); пинцет; предметные стекла; вата; очищенный керосин; микроскоп.

Методика работы.

1. Вату смочить очищенным керосином и наложить тонким слоем на участок кожи, где предполагается наличие клещей (прежде всего на высыпные элементы).

2. Через 3—5 мин снять вату и ложкой Фолькмана произвести соскабливание обследуемого участка кожи и высыпных элементов.

3. Материал перенести на предметное стекло, добавить несколько капель керосина для просветления.

4. Через 2—3 мин предметное стекло с препаратом перенести на столик микроскопа и исследовать.

Типовые задания:

1. Провести сбор насекомых и клещей.
2. Приготовить препараты для микроскопического исследования.
3. Зафиксировать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Изучение паразитизма членистоногих
2. Изучение клещей. Общая характеристика, квалификация
3. Изучение профилактики и лабораторной диагностики демодекоза и чесотки
4. Изучение паразитоморфных клещей. Особенности их биологии. Переносчики и резервуар возбудителей болезней в природе. Борьба с клещами, сохраняющая экологическое равновесие в природе

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ К ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗАНЯТИЮ № 41
Санитарная паразитология

Цель: формирование умений проводить паразитологическое исследование объектов внешней среды на предмет зараженности паразитами

Тип занятия: практическое занятие

| Планируемые результаты | Уметь | |
|------------------------|---|--|
| | Уметь | Знать |
| | <ul style="list-style-type: none"> - принимать, регистрировать пробы для санитарно - паразитологического исследования; - готовить исследуемый материал, реактивы и оборудование для проведения паразитологических исследований; - исследовать смывы с рук и предметов обихода на наличие жизненных форм гельминтов; - идентифицировать гельминтов в препаратах; - оценивать полученные результаты; - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры; - вести отчетно-учетную документацию | <ul style="list-style-type: none"> - нормативно-техническую документацию по исследованию на инвазированность объектов окружающей среды. - методики отбора проб и методики санитарно-гельминтологически х исследований объектов окружающей среды (почвы, сточных вод, овощей и др.) |

Ход практического занятия:

1. Актуализация темы занятия.
2. Определение базового уровня знаний: проведение контроля освоения теоретического материала, выполнения домашнего задания к практическому занятию (выполнение заданий в тестовой форме, проведение фронтального опроса, решение ситуационной задачи).
3. Совместная постановка цели занятия и планируемых результатов освоения темы.
4. Теоретический разбор практических умений.
5. Формирование умений проводить паразитологическое исследование объектов внешней среды на предмет зараженности паразитами.
6. Контроль освоения умений: контрольное выполнение симуляционного задания.
7. Подведение итога занятия.
8. Домашнее задание.

Оснащение занятия:

Материально-техническое оснащение: автоклав, микроскоп, термостат электрический, бактерицидная лампа, бикс медицинский, планшет, дозатор, шпатель бактериологический, петля бактериологическая, пипетка лабораторная, пробирка, штатив для пробирок, предметные стекла микропрепарат бактерий, весы лабораторные, дистиллятор (Д-1) электрический, дозатор автоматический (до 5 мл) или дозатор полуавтоматический (ДШП-5 до 5 мл с ценой деления 0,1), (ДЦП-10 до 10 мл с ценой деления 0,2), (ДШП-20 до 20 мл с ценой деления 0,5), спиртовка, чашки Петри.

Учебно-методическое оснащение: презентация, методические рекомендации к практическому занятию, симуляционное оборудование.

Программное обеспечение: Microsoft Office Word

Учебно-методическая литература: основная, дополнительная литература, Интернет-ресурсы

Краткие теоретические и учебно-методические материалы по теме практического занятия

1. Исследование проб воды

Отбор проб воды: пробы воды для исследования отбирают в емкости разового или многократного применения из крана после спуска воды не менее 3-5 мин. из открытых (поверхностных) водоемов, плавательных бассейнов пробы отбирают с поверхности, с различных глубин объемом 25-50 л, емкостями 1,5-2 л с интервалом в 2-3 мин.

Методы концентрирования проб питьевой воды. Используют приспособления для концентрирования осадка (мембранные или порошковые фильтры с насадками аппаратов напорного фильтрования), что позволяет на месте отбора значительно уменьшать объем проб для доставки в лабораторию.

Флотационный метод исследования. Применяют флотационные растворы:

- 1) 33%-ный сульфат цинка семиводный, удельной плотностью 1,26-1,30: 331 г вещества растворить в 0,5 л горячей дистиллированной воды, довести до 1 л и нагреть до кипения;
- 2) 30% -ный водный раствор сахарозы удельной плотностью 1,26-1,30: 300 г сахарозы растворить в 0,5 л горячей дистиллированной воды, довести до 1 л и нагреть до кипения;
- 3) раствор тиосульфата натрия (гипосульфита натрия) ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ х ч), уд. плотностью 1,3-1,4: 1300 г вещества на 1 л горячей дистиллированной воды.

Любую из вышеперечисленных солей растворяют горячей водой в эмалированной посуде порциями при постоянном перемешивании до полного растворения, подогревая на медленном огне или электроплите. Контролируют удельную плотность флотационного раствора ареометром, когда температура раствора снизится до 18-20°C.

2. Исследование осадка пробы воды флотационным методом

1. Полученный смыв с мембранных фильтров или после концентрации химреактивами, центрифугируют в пробирках емкостью 10 мл (и более) 5 мин при 1500 об/мин.
2. Надосадочную жидкость осторожно удаляют.
3. В пробирку с осадком добавляют 6-8 мл дистиллированной воды или 2% -ного водного раствора формалина (если не проводится исследование на жизнеспособность) и тщательно перемешивают стеклянной палочкой.
4. Суспензию вновь центрифугируют в течение 5 мин при 1500 об/мин.
5. Надосадочную жидкость осторожно удаляют или отсасывают пипеткой.
6. К осадку добавляют 3 мл одного из флотационных растворов с удельным весом 1,3-1,4, но не менее 1,26 и тщательно перемешивают стеклянной палочкой.
7. Центрифугируют в течение 5 мин при 2000 об/мин или 10 мин при 1500 об/мин.
8. Далее исследуют надосадочную жидкость, которую осторожно отсасывают пипеткой и переносят в центрифужную пробирку, разбавляя в 4 раза дистиллированной водой и центрифугируют в течение 5 мин при 1500 об/мин.
9. Надосадочную жидкость осторожно удаляют или отсасывают пипеткой.
10. Из осадка готовят препараты в виде мазка или капли (в зависимости от прозрачности осадка) на предметных стеклах, покрывают покровным стеклом и микроскопируют при увеличении микроскопа: объектив x10, x40, окуляр x10. Для исследования на цисты лямблий микропрепараты до нанесения покровного стекла окрашивают 1% -ным раствором Люголя.

3. Исследование почвы

Отбор проб почвы: с каждой пробной площадки отбирается одна объединенная проба весом 200 г, из 10 точечных проб массой 20 г каждая. Точечные пробы отбирают ножом, совком или шпателем из прикопок послойно с поверхности и глубины 10-20 см.

Исследование почвы на яйца гельминтов методом Романенко. Из пробы берут на исследование четыре порции по 25 г почвы, помещают в центрифужные пробирки объемом 250 мл (можно пользоваться пробирками объемом 80-100 мл, но помещать в них следует не более 15 г почвы) и заливают 3% -ным раствором натриевой или калиевой щелочи (в соотношении 1:1). Содержимое пробирок тщательно размешивают, отстаивают в течение 20-30 мин и центрифугируют 5 мин при 800 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, а почву промывают водой 1-5 раз до получения прозрачной надосадочной жидкости. После промывки к почве добавляют насыщенный раствор нитрата натрия (плотность 1,38-1,40). Объем этой добавки зависит от величины центрифужного стакана (пробирки): в стаканы объемом 250 мл добавляют по 150 мл насыщенного раствора, в стаканы объемом 80-100 мл добавляют 45-50 мл раствора нитрата.

Почву тщательно размешивают, смесь центрифугируют. Пробирки устанавливают в штатив, доливают тем же насыщенным раствором соли до уровня на 2-3 мм ниже краев пробирок, накрывают обезжиренными (!) предметными стеклами, оставляя небольшой открытый промежуток. В него пипеткой осторожно добавляют насыщенный раствор соли до его соприкосновения с нижней стороной стекла, которое затем осторожно передвигают до полного покрытия центрифужной пробирки.

Через 20-25 мин отстаивания яйца гельминтов всплывают в поверхностную пленку и «прилипают» к стеклу. Стекла снимают, переворачивая нижней поверхностью вверх, на их место ставят другие (при необходимости, и третьи). На предметные стекла с пленкой наносят 1-2 капли 30% -ного раствора глицерина, накрывают их покровными стеклами и микроскопируют при увеличении в 80 раз, а для определения степени развития яиц — в 400 раз. Число яиц, обнаруженных в четырех порциях пробы, умножают на 10, получая показатель содержания яиц в 1 кг исследуемой почвы.

Исследование почвы на личинки гельминтов методом Супряги. В химический стаканчик помещают 10 г почвы, заливают теплым (40°C) физиологическим раствором так, чтобы он полностью покрывал пробу. Через 20 мин жидкость сливают в чашку Петри и исследуют под стереоскопическим бинокулярным микроскопом.

4. Исследование смывов с поверхностей

Отбор проб. Для отбора смывов применяют кисточки из щетины, беличьи кисточки, смоченные в 1%-ном растворе едкого натра, или в 10%-ном растворе глицерина, или 1%-ном растворе стирального порошка. В центрифужные пробирки наливают до половины объема 10% глицерина. Для каждой группы предметов берут отдельную пробирку и кисточку, которые нумеруются (номер кисточки и пробирки должны совпадать). В одну пробу, то есть в пробирку, можно собирать смывы с нескольких однородных предметов.

Смывы с рук персонала берут у каждого отдельно. Для снятия яиц гельминтов с рук рекомендуется мыть их раствором пищевой соды или 1%-ным раствором едкого натра; смывные воды центрифугируют, осадок можно также профильтровать и исследовать фильтры.

При взятии смывов с поверхностей кисточкой, смоченной в растворе, многократно и с нажимом проводят по поверхности однородных предметов обследуемого объекта (стулья, столы, подоконники, ручки дверей и др.). Причем кисточку в процессе отбора часто и тщательно ополаскивают в пробирке, и вновь делают смывы с поверхности предметов. Площадь исследуемой поверхности для одной пробы смывов составляет не менее 0,2 м² (0,5x0,5 м); для одной пробы смывов с однородных предметов обрабатывают не менее 10 тарелок, кукол, ручек дверей и пр.

Исследование смывов на яйца гельминтов. В пробирку со смывом добавляют 5-6 мл флотационного раствора, в котором тщательно и многократно промывают кисточку в течение 3-5 мин вертикальными и круговыми движениями, после чего кисточку удаляют из пробирки. В пробирку доливают флотационный раствор до образования выпуклого мениска,

накрывают ее обезжиренным покровным стеклом до полного соприкосновения с поверхностной пленкой раствора. Время экспозиции 12-15 мин, при использовании флотационного раствора хлорида натрия — 20-25 мин. Затем покровное стекло снимают пинцетом и полученную висячую каплю на покровном стекле аккуратно переносят на предметное стекло в каплю 50%-ного глицерина. Полученный препарат микроскопируют при 80-150-кратном увеличении.

Исследование смывов на цисты простейших методом Романенко. Кисточки со смывом ополаскивают в жидкости пробирки, затем сливают эту жидкость в высокий цилиндр емкостью 0,5-1 л с чистой водой, которую наливают с таким расчетом, чтобы при добавлении смыва не превысить общую емкость цилиндра. Всплывшие на поверхность жидкости кусочки бумаги, ткани и другие крупные частицы удаляют петлей с сеткой, а оставшуюся жидкость отстаивают в течение 12-16 ч, надосадочную жидкость удаляют, а осадок микроскопируют, окрашивая раствором Люголя или акридиновым оранжевым.

5. Исследование плодовоовощной, плодово-ягодной и растительной продукции

Отбор проб проводят методом случайной выборки.

Объемы отбора проб следующие:

- плодов, овощей — по 0,5 кг с каждых 100 кг продукции;
- столовой зелени, листовых овощей и грибов, выращенных в тепличных условиях: 0,1 кг из каждой потребительской тары;
- ягодной продукции — по 0,2 кг с каждых 100 кг продукции;
- свежеежатых соков — 0,1 л.

Отбор проб методом смывов допускается с плодов и бахчевых культур крупных размеров с гладкой поверхностью; проводится на месте выемки проб двумя методами: методом простых смывов или методом инструментальных смывов. Смывами с поверхности охватывают не менее 20-25 экземпляров плодов.

Метод замачивания. Объединенную пробу однородной продукции помещают в чистые широкогорлые стеклянные банки или эмалированные, пластиковые емкости (типа кастрюль, мисок, кюветов), заполненные водой, объемом 1,5-2 л с таким расчетом, чтобы исследованный материал был полностью погружен в воду, и замачивают на 2 ч. Для лучшего отделения микрочастиц, в том числе яиц гельминтов, с поверхности исследуемой продукции в воду следует добавить жидкое моющее средство из расчета одна капля на 2 л воды, используемой для замачивания.

В течение указанного времени емкость периодически встряхивают вручную или на аппаратах для встряхивания в течение 5-10 мин.

Через 2 ч исследуемые пробы обмывают щетками или кисточками в зависимости от размера образца и состояния их поверхности. Плоды и овощи с шероховатой поверхностью обмывают тщательно. Столовую зелень тщательно прополаскивают. Исследуемые пробы удаляют из воды. Промывную воду отстаивают 60 мин. Надосадочную жидкость осторожно сливают в центрифужные пробирки и исследуют по методу исследования смывов без применения флотационных растворов.

Образовавшийся осадок в зависимости от объема переносят в центрифужные пробирки объемом 10 мл или 250 мл и исследуют с применением флотационных растворов.

При интенсивном почвенном загрязнении проб образовавшийся осадок переносят в центрифужные пробирки объемом 250, 80, 100 мл (по объему исходного материала) и исследуют по методу исследования почвы.

Метод исследования смывов без флотационных растворов: пробирки со смывами проб центрифугируют при 1500 об/мин в течение 5 мин.

Надосадочную жидкость удаляют. Осадок переносят на предметное стекло. Микроскопия при увеличении: окуляр x10, объектив x10, x40. Для обнаружения цист кишечных простейших в препарат вносят каплю 1%-ного раствора Люголя.

Типовые задания:

1. Приготовить препараты для паразитологического исследования.
2. Провести микроскопическое исследование.
3. Зафиксировать результаты исследований в журнал.

Вопросы для закрепления теоретического материала:

1. Чем определяется объем пробы, отбираемой для санитарно-гельминтологического исследования?
2. Яйца каких видов гельминтов могут быть обнаружены в воде?
3. Яйца и личинки каких видов гельминтов могут быть обнаружены в почве?
4. В очагах каких гельминтозов чаще всего прибегают к исследованию смывов с предметов и пыли?
5. Как вы оцениваете роль лаборанта в предупреждении заражения людей описторхозом и дифиллоботриозом?

Отчетность: результаты базового контроля знаний по теме, тренировочное и контрольное выполнение симуляционных заданий, самостоятельная работа студента при подготовке к практическому занятию.

Требования к оформлению отчета по практическому занятию:

Отчет по практической работе выполняется письменно как домашнее задание в свободной форме. В работе студент должен отразить весь объем полученной информации и сделать заключение на основе выводов по теме занятия.

Критерии оценки практического занятия: Оцениваются правильность и последовательность действий после усвоения каждого этапа занятия, и подводится средний итоговый балл (см. Приложение 3.).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Основные источники:

1. Лелевич, С. В. Клиническая микробиология : учебное пособие / С. В. Лелевич, О. М. Волчкевич, Е. А. Сидорович. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2020. — 308 с. — ISBN 978-5-8114-5359-7. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/143694> (дата обращения: 16.02.2023). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

2. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований : учебное пособие для спо / А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина [и др.]. — 6-е изд., испр. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 588 с. — ISBN 978-5-8114-9883-3. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/201605> (дата обращения: 16.02.2023). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

Дополнительная литература:

1. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований : учебное пособие для спо / А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина [и др.]. — 5-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 608 с. — ISBN 978-5-507-44780-0. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/242996> (дата обращения: 16.02.2023). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

2. Зверев, В. В. Основы микробиологии и иммунологии : учебник / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 368 с. - ISBN 978-5-9704-6199-0. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970461990.html> (дата обращения: 27.02.2023). - Режим доступа : по подписке.

3. Генис, Д. Е. Медицинская паразитология / Д. Е. Генис. — 9-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 524 с. — ISBN 978-5-507-44759-6. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/239435> (дата обращения: 16.02.2023). — Режим доступа: для авториз. пользователей.

Нормативно-правовые источники:

1. Донецкая, Э.Г.-А. Клиническая микробиология: руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011

2. Камышева, К.С. Микробиология, основы эпидемиологии и методы микробиологических исследований: учеб. пособие.- Ростов н/Д: Феникс, 2010

3. Воробьев, А.А. Медицинская и санитарная микробиология: учеб. пособие для студ. высш.мед.учеб. заведений.- М.: Академия, 2010

Законодательные и нормативные акты:

1. СП 1.1.1058-01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» (<http://docs.cntd.ru/document/901793598>)

2. МУК 3.3.2.1121-02 «Организация контроля за соблюдением правил хранения и транспортирования медицинских иммунобиологических препаратов». (<http://docs.cntd.ru/document/901827448>)

3. Временные рекомендации (правило) по охране труда при работе в лабораторных (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Минздрава России (Москва, 2002). (<http://legalacts.ru/doc/vremennye-rekomendatsii-pravila-po-okhrane-truda-pri/>)

4. СП 1.3.232208 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами»; СП 1.3.25-18-09 Дополнения и изменения № 1. (<http://docs.cntd.ru/document/902091086>)

5. МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды». (<http://docs.cntd.ru/document/1200029648>)
6. МУ 2.1.4.1057 – 01 «Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды». (<http://docs.cntd.ru/document/1200028676>)
7. СанПиН 2.4.1074-01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. (<http://docs.cntd.ru/document/901798042>)
8. СП 3.5.1378-03 Санитарно-эпидемиологические требования к организации и осуществлению дезинфекционной деятельности». (<http://docs.cntd.ru/document/901865877>)
9. СП 3.1.2. 1321-03 «Профилактика менингоковой инфекции». (<http://docs.cntd.ru/document/901862247>)
10. СП 3.1.2. 1320-03 «Профилактика коклюшной инфекции». (<http://docs.cntd.ru/document/901862248>)
11. СП 3.1.2. 1203-03 «Профилактика стрептококковой (группа А) инфекции». (<http://docs.cntd.ru/document/499066527>)
12. СП 1.3.1325-03 «Безопасность работы с материалами, инфицированными и потенциально инфицированным диким полиовирусом». (<http://docs.cntd.ru/document/901864345>)
13. Приказ МЗ СССР № 535 «Об унификации микробиологических методов исследования в КДЛ ЛПУ». (<http://docs.cntd.ru/document/420245293>)
14. СП 3.1.2.3114 - 13 «Профилактика туберкулёза». (<http://04.rospotrebнадзор.ru/index.php/documents/pravila/3247-27062014.html>)
15. СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии». (<http://docs.cntd.ru/document/499050740>)
16. МУ 4.2.1097-02 «Лабораторная диагностика холеры». (<http://docs.cntd.ru/document/1200029248>)
17. СП 3.1.1086-02 «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемическому надзору за холерой». (<http://docs.cntd.ru/document/901810902>)
18. МУ 3.1.7. 1189-03 «Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллёза людей». (<http://docs.cntd.ru/document/1200032302>)
19. СП 3.1.2.3117-13 «Профилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций». (<http://docs.cntd.ru/document/499059989>)
20. МУ 3.1.1.1119-02 «Эпидемиологический надзор за полиомиелитами и острыми вялыми параличами». (<http://docs.cntd.ru/document/1200030426>)
21. СП 3.1.1.1118-02 «Профилактика полиомиелита». (http://docs.nevacert.ru/files/sanpin/sp_3.1.1.1118-02.pdf)
22. Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита. ВОЗ, Женева, Москва, 1998 г.38. (<http://docs.cntd.ru/document/471814882>)
23. Приказ МЗ России от 26.03.2001 № 87 г. «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса». (<http://docs.cntd.ru/document/901788110>)

Интернет ресурсы:

- МедУнивер - медицинский информационный портал для интересующихся...Общая микробиология. meduniver.com
- Медицинское видео Книги по медицине Медицинский фото атлас. Общая микробиология. meduniver.com
- Медицинская микробиология и иммунология в Интернете
- Сайт одного из лидирующих в мире журналов по микробиологии. Издается Обществом общей микробиологии (The Society for General Microbiology) для специалистов различного профиля.
- www.medicum.nnov.ru/nmj/2003/1/38.php
- Лаб-Биомед - сайт компании Lab-Biomed. Современная микробиология Гигиенический контроль. Оборудование. Химический анализ. ...www.microbio.ru
- Микробиология — БСЭ — Яндекс.Словари slovari.yandex.ru

Общие требования

Биологический материал должен находиться в маркированных пробирках (контейнерах) и сопровождаться заполненным индивидуальным направлением в одном экземпляре.

Необходимо тщательно, разборчиво заполнить направление, указав следующие сведения: дату, № пробирки, наименование ЛПО, направившего на исследование биоматериал, фамилию врача, забравшего материал; ФИО, возраст и пол пациента, предварительный диагноз; при беременности – срок беременности.

Для получения достоверных результатов клинический материал для исследования должен забираться до назначения антибактериальных препаратов или через 2 недели после их отмены. Пробу следует передать в лабораторию не позднее 2 ч с момента сбора материала.

1. Сбор материала из слизистой оболочки зева проводится натощак или через 2 часа после еды и питья. Непосредственно перед забором нельзя пить, есть, полоскать рот и горло, чистить зубы, курить.
2. Сбор материала из носовых ходов производится стерильным тампоном. Перед исследованием запрещается закапывать капли в нос и сморкаться.
3. Перед взятием материала из уха запрещается применять мази, ушные капли.
4. При исследовании мочи, необходимо тщательно вымыть руки и провести туалет наружных половых органов теплой водой с мылом. Исследованию подлежит средняя порция свободно выпущенной утренней мочи. Пробу в количестве 20-50 мл (у детей — 10-15мл) необходимо собрать в стерильный пластиковый одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой. Запрещается касаться руками внутренней поверхности контейнера и крышки. У маленьких детей, после мочеиспускания необходимо провести тщательный туалет наружных половых органов, напоить ребенка и ожидать следующего мочеиспускания для забора мочи.
5. Для исследования собирают свободно откашливаемую мокроту (предпочтительно утреннюю), натощак. Пациент предварительно должен почистить зубы и сполоснуть рот и горло водой с целью механического удаления остатков пищи, эпителия и микрофлоры ротовой полости. Нельзя собирать слюну и носоглоточное отделяемое. Мокроту собирают в стерильный пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой.
6. При исследовании грудного молока в день обследования утром женщина принимает душ и надевает чистое белье. Перед сцеживанием молока необходимо вымыть руки с мылом, одеть маску. Затем следует обмыть левую и правую грудную железу теплой водой с мылом и насухо вытереть чистым полотенцем. Поверхность сосков и околососковую область молочных желез необходимо обработать отдельными ватными тампонами, смоченными 70°С этиловым спиртом. Первая порция грудного молока выливается, последующие 3-4 мл сцеживаются из каждой железы в отдельную стерильную посуду (контейнер).
7. Взятие отделяемого глаз осуществляется не ранее 6 часов после отмены медикаментов и процедур. При взятии мазков с конъюнктивы, не рекомендуется умываться, необходимо с утра дня сдачи анализа отказаться от закапывания лекарственных препаратов в глаза.
8. В случае исследования раневого отделяемого, забор материала из раны проводится до перевязки.
9. Взятие мазка и кала на патогенную и условно-патогенную флору осуществляется на ранних этапах заболевания. Кал собирать в стерильный контейнер с крышкой и ложечкой.

Прием и регистрация материала для бактериологического исследования

РАБОЧИЙ ЖУРНАЛ

микробиологических исследований

Начат "... " _____ 20 .. г. Окончен "... " _____ 20 .. г.

1. В графу 3 "Регистрационный N" переписываются номера анализов регистрационного журнала. Анализ ведут на всех этапах под одним номером.
2. В графе 4 "Наименование среды и характер роста" отмечают название плотных питательных сред, на которые производят посев исследуемого материала, а также наличие или отсутствие подозрительных колоний. Для каждой среды используют отдельную горизонтальную строку.
3. Графы 6-26 "Тесты для идентификации" служат для характеристики биологических свойств микроорганизмов (ферментативная активность, антигенная структура, токсигенность и др.).
4. Расщепление углеводов рекомендуется отмечать следующими знаками:
 кг - при образовании кислоты и газа;
 к - при образовании кислоты без газообразования;
 - - расщепление отсутствует.
5. Ферментативную активность в отношении других веществ, а также образование индола и сероводорода и т.д. целесообразно отмечать знаками:
 (+) - реакция положительная;
 (-) - реакция отрицательная.
6. В графе 27 "Результат исследования" указать вид выделенных микроорганизмов и массивность обсеменения.

Методы сбора материала и лабораторные исследования проводятся в соответствии со следующей нормативно - технической документацией (НТД перечислить):

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____

| Дата | N N п/п | Регистрацион ный N | Наименование среды и характер роста | Микроскопия | Тесты | | | | | | | |
|------|---------------|-----------------------|---|-------------|-------|---|---|---|----|----|----|----|
| | | | | | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |

продолжение (разворот)

| идентификации | | | | | | | | | | | | Результат исследования | Дата окончания исследования. Подпись лица, проводившего исследование | |
|---------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---------------------------|--|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | | | |
| 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 27 | 28 |
| | | | | | | | | | | | | | | |

Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация лабораторной посуды, инструментария, средств защиты

- 1) **Приготовление дезинфицирующего раствора** (см. инструкцию, прилагаемую к используемому в лаборатории дезинфицирующему средству)
- 2) **Сбор и утилизация отходов (отработанного материала)** (см. СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»)
 1. Сбор отходов класса А осуществляется в многоразовые емкости или одноразовые пакеты. Цвет пакетов может быть любой, за исключением желтого и красного. Одноразовые пакеты располагаются на специальных тележках или внутри многоразовых контейнеров. Емкости для сбора отходов и тележки должны быть промаркированы "Отходы. Класс А". Предпочтительной системой удаления отходов пищевого сырья и готовой пищи от пищевых отходов в систему городской канализации путем оснащения является сброс пищевых отходов в систему городской канализации (диспоузерами). Временное хранение пищевых отходов при отсутствии специально выделенного холодильного оборудования допускается не более 24 часов.
 2. Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции). Отходы класса Б собираются в одноразовую мягкую (пакеты) или твердую (непрокальваемую) упаковку (контейнеры) желтого цвета или имеющие желтую маркировку. Выбор упаковки зависит от морфологического состава отходов. Для сбора острых отходов класса Б должны использоваться одноразовые непрокальваемые влагостойкие емкости (контейнеры). Емкость должна иметь плотно прилегающую крышку, исключающую возможность самопроизвольного вскрытия. Для сбора органических, жидких отходов класса Б должны использоваться одноразовые непрокальваемые влагостойкие емкости с крышкой (контейнеры), обеспечивающей их герметизацию и исключающей возможность самопроизвольного вскрытия. При окончательной упаковке отходов класса Б для удаления их из подразделения (организации) одноразовые емкости (пакеты, баки) с отходами класса Б маркируются надписью "Отходы. Класс Б" с нанесением названия организации, подразделения, даты и фамилии ответственного за сбор отходов лица. Медицинские отходы класса Б из подразделений в закрытых одноразовых емкостях (пакетах) помещают в контейнеры и затем в них перемещают на участок по обращению с отходами или помещение для временного хранения медицинских отходов до последующего вывоза транспортом специализированных организаций к месту обеззараживания/обезвреживания.
- 3) **Дезинфекция лабораторной посуды, инструментария, средств защиты** проводится в соответствии с инструкцией, прилагаемой к используемому дезинфицирующему средству (концентрация дез.раствора, экспозиция)
- 4) **Предстерилизационная очистка** лабораторной посуды и инструментария проводится путем механического удаления загрязнения. Контроль ПСО на наличие остатков дез.раствора.
- 5) **Стерилизация лабораторной посуды и инструментария:**
 - стерилизация сухим жаром 180⁰С - 60 минут
 - автоклавирование при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм.

1. Пробирки, флаконы, бутылки, матрацы, колбы закрывают ватно-марлевыми пробками, поверх пробок (кроме пробирок) надевают бумажный колпачок.

2. Чашки Петри стерилизуют завернутыми в бумагу по 1—5 штук или в пеналах.
3. Пастеровские пипетки по 3—5—10—15 штук заворачивают в плотную оберточную бумагу. В верхнюю часть каждой пипетки вкладывают кусочек ваты. Во время работы пипетки из пакета вынимают за верхний конец.
4. Стерилизация металлических инструментов: ножницы, пинцеты, бактериологические петли с пластиковой ручкой стерилизуют над пламенем спиртовки.

Работа с автоклавом:

1. Перед началом работы осматривают автоклав и контрольно-измерительную аппаратуру.
2. В автоклавах с автоматическим регулированием пара на электровакуумном манометре водопаровой камеры стрелки устанавливают в соответствии с режимом стерилизации: нижнюю стрелку ставят на 0,1 атм. ниже, верхнюю—на 0,1 атм. выше рабочего давления.
3. Водопаровую камеру заполняют водой до верхней отметки мерного стекла.
4. В период заполнения водой вентиль на трубе, по которой пар поступает в камеру, держат открытым для свободного выхода воздуха из котла.
5. Стерилизационную камеру автоклава загружают стерилизуемым материалом.
6. После этого крышку (или дверцу) автоклава закрывают, плотно закрепляя центральным затвором или болтами; чтобы избежать перекоса, болты завинчивают крест-накрест (по диаметру).
7. Затем включают источник подогрева (электрический ток, пар), закрывая вентиль на трубе, соединяющей источник пара со стерилизационной камерой.
8. С началом парообразования и создания давления в водопаровой камере производят продувку (удаление воздуха из стерилизационного котла). Способ удаления воздуха определяется конструкцией автоклава. Вначале воздух выходит отдельными порциями, затем появляется ровная непрерывная струя пара, указывающая, что из стерилизационной камеры воздух полностью вытеснен.
9. После удаления воздуха кран закрывают, и в стерилизационной камере начинается постепенное повышение давления. Началом стерилизации считается тот момент, когда стрелка манометра показывает заданное давление.
10. После этого интенсивность подогрева уменьшают, чтобы давление в автоклаве в течение нужного времени оставалось на одном уровне. По окончании времени стерилизации подогревание прекращают.
11. Закрывают вентиль в трубопроводе, подающем пар в стерилизационную камеру, и открывают вентиль на конденсационной (нисходящей) трубе для снижения давления пара в камере.
12. После падения стрелки манометра до нуля медленно ослабляют прижимные приспособления и открывают крышку автоклава.

Критерии оценивания**Практические умения:**

- Оценка «5» - студент обладает системными теоретическими знаниями, знает методику выполнения практических навыков, нормативы и проч., без ошибок самостоятельно демонстрирует выполнение практических умений;
- Оценка «4» - студент обладает теоретическими знаниями, знает методику выполнения практических навыков, нормативы и проч., самостоятельно демонстрирует выполнение практических умений, допуская некоторые неточности (малосущественные ошибки), которые самостоятельно обнаруживает и быстро исправляет;
- Оценка «3» - студент обладает удовлетворительными теоретическими знаниями, знает основные положения методики выполнения практических навыков, нормативы и проч., демонстрирует выполнение практических умений, допуская некоторые ошибки, которые может исправить при коррекции их преподавателем;
- Оценка «2» - студент не обладает достаточным уровнем теоретических знаний, не знает методики выполнения практических навыков, нормативы и проч. и/или не может самостоятельно продемонстрировать практические умения или выполняет их, допуская грубые ошибки.

МУ 4.2.2942-11 "Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях"

3.2. Исследования микробной обсемененности объектов внешней среды

3.2.1. Бактериологическое исследование микробной обсемененности объектов внешней среды предусматривает определение стафилококков, бактерий группы кишечных палочек, сальмонелл, синегнойной палочки. Отбор проб с поверхностей различных объектов осуществляют методом смывов. По эпидемиологическим показаниям номенклатура исследований микробной обсемененности объектов внешней среды может быть расширена.

3.2.2. Взятие смывов производят стерильными ватными тампонами, вмонтированными в пробирки. Для увлажнения тампонов в пробирки наливают по 2,0 мл стерильной 0,1 % пептонной воды с добавлением нейтрализаторов дезинфицирующих средств.

3.2.3. При контроле мелких предметов смывы забирают с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят в нескольких местах исследуемого предмета общей площадью примерно 100 см².

3.2.4. Для обнаружения стафилококков делают высев 0,2 - 0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл 6,5 % солевого бульона. Засеянные пробирки инкубируют при 37 °С в течение (24 ± 2) ч, после чего делают высев на желточно-солевые среды на основе сред: элективно-солевой агар, стафилококкагар, манитолагар или среда № 10 по ГФ XII, агарБайд-Паркер. Дальнейшие исследования выделенных культур стафилококков проводят по п. 3.1.4.

3.2.5. Для обнаружения бактерий группы кишечных палочек делают высев 0,2 - 0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл среды Кесслера. Засеянные пробирки инкубируют при 37 °С в течение (24 ± 2) ч и делают пересев на среду Эндо. Выросшие колонии на среде Эндо подвергают дальнейшему изучению для установления их возможной принадлежности к патогенным энтеробактериям.

3.2.6. Для обнаружения сальмонелл делают высев 0,2 - 0,3 мл смывной жидкости в пробирку с 5,0 мл одной из сред обогащения (магниевая, селенитовая или среда Раппапорта-Вассилиадиса). Засеянные пробирки инкубируют при 37 °С в течение 18 - 20 ч, делают пересев на среду Эндо и висмут-сульфит агар с последующим отбором подозрительных колоний и их идентификацией.

3.2.7. Для обнаружения синегнойной палочки делают высев на среду № 8 (бульон для накопления стафилококков и синегнойной палочки) и среду № 9 (для определения синегнойной палочки по наличию пигмента пиоцианина) или питательные среды в соответствии с ГФ XII. Колонии, подозрительные на синегнойную палочку (колонии с ровными или слегка волнистыми краями, гладкой блестящей поверхностью с характерным запахом и пигментом, однако, следует учесть, что запах и пигмент могут сильно варьировать или вообще отсутствовать), пересевают на скошенный агар.

P. aeruginosa - грамотрицательная, подвижная, оксидазоположительная палочка, окисляющая, но не ферментирующая глюкозу, дающая рост при 42 °С.