

# **ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ**

**Бактериологическая лаборатория**

**Бактериологическая лаборатория** – научно-практическое учреждение, выполняющее бактериологические, иммунологические и другие микробиологические исследования.



Медицинская бактериологическая лаборатория является одним из подразделений больниц, входит в структуру ФБУЗ, научно-исследовательских институтов.

Бактериологическая лаборатория размещается в специальном помещении, устройство и оборудование которого приспособлены для выполнения исследований в стерильных условиях и гарантирует персонал от возможности заражения.

В структуру лаборатории входит ряд помещений общего и строго специального назначений: регистратура, лабораторные комнаты, бокс с предбоксом, термальная, помещение для приготовления питательных сред, моечная, препараторская, стерилизационная.

Все помещения лаборатории должны иметь высоту не менее 3 м, быть обеспечены вентиляцией, водопроводом, канализацией, электроэнергией и газом. Стены должны быть окрашены масляной краской или покрыты кафельной плиткой, пол — линолеумом.

Материалом для микробиологических исследований служат: выделения человека (испражнения, моча, рвотные массы, мокрота, отделяемое ран), а также кровь, желчь, спинномозговая жидкость, промывные воды желудка, бронхов, трупный (секционный) материал и др.

Материалом для исследований санитарной бактериологии являются: смывы с различных объектов, пищевые продукты, перевязочный материал, препараты для инъекций, вода, почва.

**Регистратура** – помещение, где идет прием лабораторных анализов, исследуемого материала, регистрация и выдача результатов микробиологического исследования.

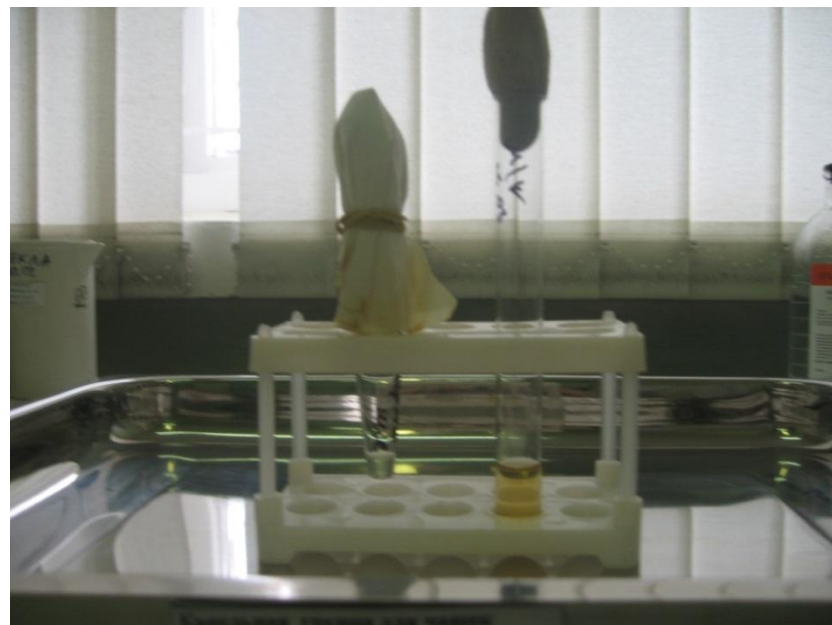
Контакт с посетителями идет через специально оборудованное окно.



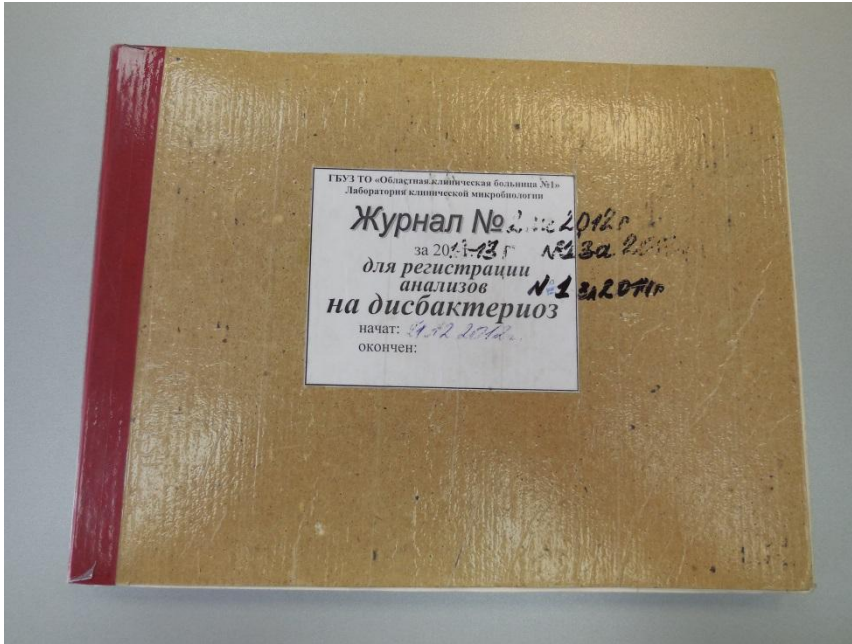
## Лаборатория клинической микробиологии

Материал, поступивший на исследование,  
регистрируется в специальных журналах и данные о  
больном заносятся в «банк» компьютера.





## Регистрация материала



Дата	Пациент	Ф.И.О., возраст, пол, адрес	Мат. биомат.	ЖКТ				П.К.				Ф.И.И.И.		Пит. среда		Идентификация	Виды	Заключение
				ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ	ЖКТ			
2012.01.13	Иванов И.И.	Иванов И.И., 45 лет, ул. Ленина, д. 10	кал	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Дисбактериоз
2012.01.13	Петров П.П.	Петров П.П., 30 лет, ул. Мира, д. 5	кал	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Дисбактериоз
2012.01.13	Сидоров С.С.	Сидоров С.С., 60 лет, ул. Советская, д. 15	кал	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Дисбактериоз

## Журнал регистрации материала

Доставку исследуемого материала в лабораторию производят в кратчайший срок в специальных металлических боксах, контейнерах, сумках-холодильниках, которые после использования подвергаются дезинфекции.

Любой клинический материал для исследований рассматривают как потенциально опасный для человека. Поэтому при заборе, хранении и направлении материала в лабораторию строго соблюдают правила техники бактериологической безопасности.

Все материалы, направляемые в лабораторию, должны иметь сопроводительный документ – направление на специальном бланке, где указаны фамилия, имя, отчество больного, возраст, вид материала, дата взятия, предполагаемый клинический диагноз и другие сведения.

ГЛПУ "Тюменская областная"

НАПРАВЛЕНИЕ  
в лабораторию клинической микробиологии

№ истории болезни 1334  
Дата поступления в стационар 26.02.2014г  
Дата поступления в отделение реанимации \_\_\_\_\_  
Категория пациентов: ОМС, ДМС, ЯМАО, ХМАО, др. \_\_\_\_\_ (подчеркнуть)  
Отделение предоперационное палата 604  
Ф.И.О. Иванников Иван возраст 54  
Диагноз Брадикардия Ибсенович

НА МИКРОФЛОРУ: кровь (температура тела 36,7), моча, мокрота, промывные воды бронхов, отд. зева, носа, уха, конъюнктивы, грудное молоко, желчь, пунктаты, раневое содержимое, ликвор, простатический сок, из цервикального канала и др.

ФЕКАЛИЙ: на дизентерию и сальмонеллез, форма № 129, дисбактериоз, условно - патогенную микрофлору, стафилококк, грибы и др.

НА ДИФТЕРИЮ: зев, нос,...

НА МЕНИНГОКОКК: ликвор, носоглотка.

НОСИТЕЛЬСТВО НА СТАФИЛОКОКК: нос

НА САЛЬМОНЕЛЛЫ: кровь, моча, фекалий, желчь.

НА КАНДИДЫ: из уха, зева, цервикального канала и др.

Лечащий врач: Матвеева <sup>90</sup>  
Медсестра: Татарова <sup>05</sup>  
Дата забора материала: 4.03.14г  
Время забора материала: 6:05  
Время доставки материала: 07  
Врач 8:10

ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1

НАПРАВЛЕНИЕ  
в лабораторию клинической микробиологии

№ истории болезни 21750  
Дата поступления в стационар 02.03.14г  
Дата поступления в отделение реанимации \_\_\_\_\_  
Категория пациентов: ОМС, ДМС, ЯМАО, ХМАО, др. \_\_\_\_\_ (подчеркнуть)  
Отделение Лейковое палата 313  
Ф.И.О. Самойлович Алексей возраст 4 года  
Диагноз лимф. васкулит

НА МИКРОФЛОРУ: кровь (температура тела \_\_\_\_\_), моча, мокрота, промывные воды бронхов, отд. зева, носа, уха, конъюнктивы, грудное молоко, желчь, пунктаты, раневое содержимое, ликвор, простатический сок, из цервикального канала и др.

ФЕКАЛИЙ: на дизентерию и сальмонеллез, форма № 129, дисбактериоз, условно - патогенную микрофлору, стафилококк, грибы и др.

НА ДИФТЕРИЮ: зев, нос,...

НА МЕНИНГОКОКК: ликвор, носоглотка.

НОСИТЕЛЬСТВО НА СТАФИЛОКОКК: нос

НА САЛЬМОНЕЛЛЫ: кровь, моча, фекалий, желчь.

НА КАНДИДЫ: из уха, зева, цервикального канала и др.

Лечащий врач: Духовникова  
Медсестра: Бра  
Дата забора материала: 04.03.14г  
Время забора материала: 6:30  
Время доставки материала: 06:50  
Врач 8:10

**Направление в лабораторию клинической микробиологии**

**Лабораторная комната** — одна или несколько, что зависит от объема работы — основное помещение для проведения исследований, она должна быть светлой и просторной.

Режим работы лаборатории предусматривает ежедневную влажную уборку, а один раз в месяц и дезинфекцию не только пола и стен, но и мебели, поэтому рабочую поверхность столов и оборудования покрывают кислотоупорным материалом.





**Лабораторные комнаты**



**Компьютерные технологии в бактериологии**



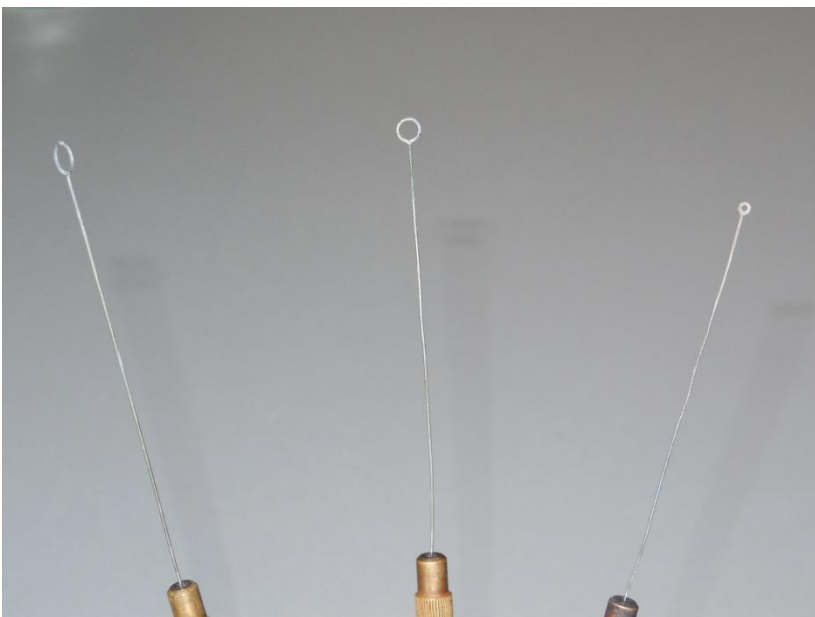
В лабораторной комнате оборудуют: рабочие столы для врача и лаборанта, место для окраски препаратов; термостат или термальную комнату, холодильник, центрифугу, микроскоп, шкафы и т.д.



**Рабочее место сотрудника**



**Рабочее место сотрудника**



## Оснащение рабочего места



**Место для окраски препаратов**





**Микроскоп**



**Бинокляр**

**Термальная комната** — помещение, в котором поддерживается постоянная температура воздуха с помощью термостата. Большинство патогенных бактерий культивируются при температуре 37 °С. Температура ежедневно регистрируется. Сбой температурного режима может повлиять на рост микроорганизмов, что затруднит диагностику определения вида возбудителя.

**Термостат** – аппарат, в котором поддерживается постоянная температура.

**Микроанаэроустат** – аппарат для выращивания микроорганизмов в анаэробных условиях.





**Термостаты**



**Денсиметр**



**Определение концентрации бактерий в растворе**

Холодильники и холодильные камеры служат для хранения культур микроорганизмов, питательных сред, крови, вакцин, сывороток, и других биологически активных веществ при температурах 4 – 20 °С.



## Холодильники





**Коллекция музейных штаммов бактерий**

**Центрифуга** – оборудование, которое используют для отделения плотных частиц от жидкости (например, эритроцитов от сыворотки) в течении 3-5 минут.



## Микроцентрифуга



Равномерное распределение бактерий в растворе

**Бокс** – строго изолированное помещение для проведения бактериологических исследований в стерильных условиях.

Дезинфекцию воздушной среды в боксе проводят при помощи бактерицидных ламп. Обычно в боксе работают два человека. Входят в бокс через предбоксник, в котором переодеваются в стерильные одежды (халат, шапочку, маску, бахилы) и переходят в бокс через вторую дверь.





**Ламинарный бокс**

**Помещение для приготовления питательных сред** располагают рядом с моечной и стерилизационной комнатой. В помещении находятся шкафы для хранения сухих питательных сред, химических реактивов, лабораторной посуды и т.д.

Здесь варят, готовят питательные среды и разливают в лабораторную посуду – в боксе.



**Посуда для приготовления питательных сред**



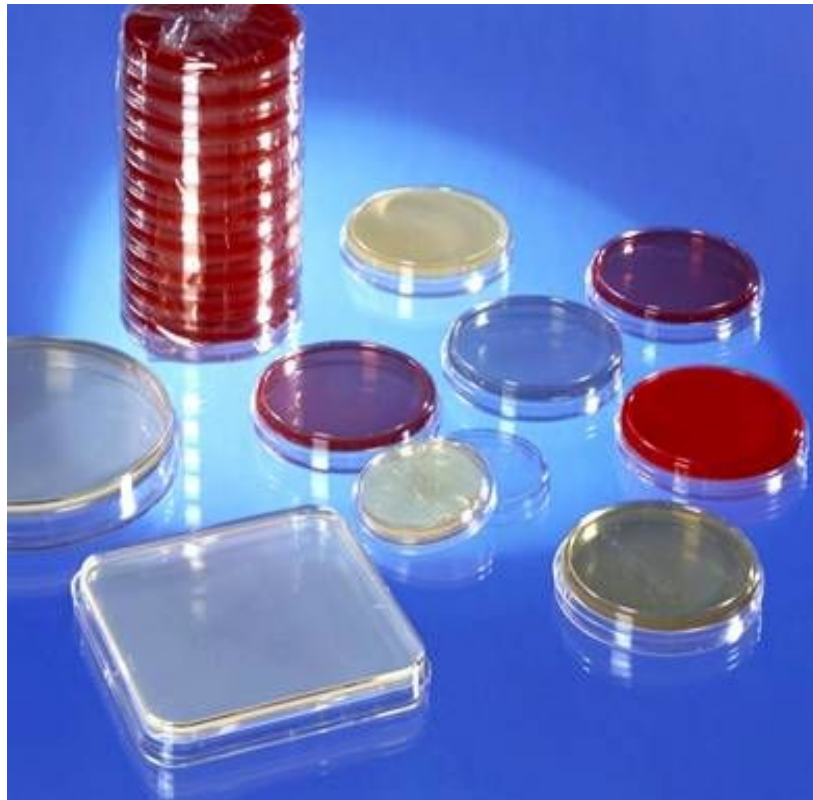
**Сухие питательные среды**



**Автоклавы для стерилизации  
питательных сред**



Стерильные питательные среды хранят в специальных холодильниках и используют для культивирования бактерий и изучения их свойств с целью определения вида возбудителя.





**Стерильные питательные среды**

**Моечная** — комната для мытья и обработки посуды.

Моечную оборудуют столами, стеллажами, снабжают приспособлениями для мытья посуды: моющими средствами, ершами, тряпками и т.д.





**Моечная**







**Стеллажи для инвентаря**

**Препараторская (купорочная)** – комната, в которой чистая сухая посуда готовится для стерилизации.

После стерилизации посуда хранится в специальных шкафах и используется сотрудниками лаборатории для проведения микробиологических исследований; для забора материала для бактериологического исследования.



**Купорочная**





**Подготовка посуды  
для стерилизации**

**Стерилизаторы паровые** – автоклавы, широко используются для стерилизации паром под давлением питательных сред, перевязочного материала, воды, ряда лекарственных средств, не изменяющих свойств при высоких температурах, а также для обезвреживания отработанного зараженного материала.



**Стерилизационная**







№	Тип стерилизатора	Стерилизуемые изделия		Время стерилизации, мин		Режим		Тест - контроль			Модель	
		Наименование	кол-во	упаковка	начало	конец	давление	температура	биологический	термический		химический
	1	посуда			9 <sup>25</sup>	9 <sup>45</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Г
	2	убивка	3	Букса	12 <sup>10</sup>	12 <sup>30</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Л
	2	убивка	2	Букса	13 <sup>05</sup>	13 <sup>25</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Л
	1	посуда			9 <sup>50</sup>	10 <sup>10</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
	2	убивка	3	Букса	12 <sup>00</sup>	12 <sup>20</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
	2	убивка	2	Букса	12 <sup>50</sup>	13 <sup>10</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
32	1	посуда			9 <sup>40</sup>	10 <sup>00</sup>	2 ат				СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
	2	убивка	2	Б							СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
32	1	посуда									СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
	2	убивка	3	Б							СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
132	1	посуда									СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
	2	убивка	3	Б							СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел
132	2	убивка	3	Букса							СТЕРИКОНТ-П-132/20-01-1 132 °C 20 мин	Вел

После стерилизации посуда хранится в специальных шкафах и используется сотрудниками лаборатории для проведения микробиологических исследований; для забора материала для бактериологического исследования.



**Стерильная посуда для забора материала  
для бактериологического исследования**





**Стерильная посуда для работы в лаборатории**



Аварийная аптечка

**СОСТАВ АПТЕЧКИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ:**

1. 70% спиртовой раствор – флакон 50 мл
2. 5% спиртовой раствор йода – флакон 10 мл
3. стерильный бинт – 1 упаковка
4. латексные перчатки – 1 упаковка
5. стерильные одноразовые шприцы – 2 штуки
6. ватные шарика – 20 штук
7. ножницы – 1 штука

Инструкция составлена на основании «Информационного письма» департамента здравоохранения Томской области в работе лечебно-профилактических учреждений Томской области, по профилактике ВИЧ-инфекции  
С.Д.А.1.5.2826-10



**Щит**

**Аварийная аптечка**



**Гардеробная**





**Душевая**





**Учебная комната**

В России в соответствии с рекомендациями ВОЗ патогенные микробы делят на 4 группы:

- I группа – возбудители особо опасных инфекций (возбудители чумы);
- II группа – возбудители высококонтагиозных Кулихорадки и т.д.);
- III группа – возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы (возбудители коклюша, столбняка, ботулизма, дифтерии, дизентерии и т.д.);
- IV группа – условно-патогенные микробы – возбудители оппортунистических инфекций (возбудители кандидозов, септицемии, пищевых токсикоинфекций, пневмонии и т.д.).

Работу с культурами возбудителей I и II групп можно проводить только в специальных лабораториях с разрешением органов здравоохранения РФ.

Работа с возбудителями III и IV группы проводится в соответствии с правилами устройства, техники безопасности, производственной санитарии в лабораториях ФБУЗ и других бактериологических лабораториях.

По номенклатуре ВОЗ выделяют 3 категории микробиологических лабораторий:

1. базовые (основные или общего типа), которые в связи с конкретными особенностями работы, могут быть оборудованы различными защитными устройствами;
2. режимные (изолированные), или лаборатории удержания;
3. лаборатории особого режима (максимально изолированные), или лаборатории максимального удержания.

## Оформление результатов лабораторных микробиологических исследований

Оформление результатов проводится на специальных бланках, которые передаются лечащему врачу.

1. В ответах, прежде всего, указывается патогенные, а также условно-патогенные микроорганизмы, обнаруженные при микробиологическом исследовании. Сообщаются данные лабораторного определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.
2. При обнаружении микробных ассоциаций перечисляются все микроорганизмы, указываются доминирующие виды и количественные микробиологические показатели.
3. В соответствии с правилами международной номенклатуры в ответах приводятся видовые названия микроорганизмов, например: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и т.д.
4. С целью ускорения лабораторных исследований в ряде случаев при выделении условно-патогенных микроорганизмов вполне допустимо в ответе ограничиться указанием только родовой принадлежности обнаруженных микроорганизмов, например *Proteus sp.*, *Candida sp.* и т.д.



ГБУЗ ТО "Областная клиническая больница №1" Лаборатория клинической микробиологии

Бактериологический анализ № 585

Дата поступления	26.02.2014
Больной	Налобина О.А. 25 л.
№ истории болезни	нет 585
Отделение	Акушерское ГБУЗ ТО "Перинатальный центр" ул. Энергетиков 26
Биоматериал	отделяемое цервикального канала
Диагноз	Беременность, роды и послеродовый период

№№	Выделенные микроорганизмы	КОЕ/мл
[1]	Escherichia coli БЛРС -	1x10 <sup>3</sup>

Антибиотикограмма **	[1]			
Амикацин	S			
Гентамицин	S			
Имипенем/циластатин	S			
Цефотаксим	S			
Ципрофлоксацин	S			
Эртапенем	S			

Дата выдачи: 28.02.2014

Врач:

\*\* S - чувствителен, I - умеренно-устойчив, R - устойчив



**Результаты бактериологического исследования**

**ГБУЗ ТО "Областная клиническая больница №1"**  
**Микробиологическое исследование фекалий на дисбактериоз**  
 (Приказ МЗ РФ от 09.06.2003 № 231)

№ пробы 62      Анализ первичный      от 27 февраля 2014г.  
 Время взятия материала: 9.55  
 Время доставки материала: 11.00

Отделение      Хозрасчет "на руки"  
 ФИО пациента      Неизелова А.В.  
 Возраст      1969 г.р.  
 Диагноз      Болезни органов пищеварения

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов в 1 г фекалий			
	норма до 1 г	норма от 1 г до 60 л	норма старше 60 л	у пациента
Патогенные энтеробактерии	нет	нет	нет	нет
E.coli с нормальной ферментативной активностью	$10^7-10^8$	$10^7-10^8$	$10^7-10^8$	$10^7$
E.coli лактозонегативные	$<10^5$	$<10^5$	$<10^5$	$10^8$ 66%
E.coli гемолитические	нет	нет	нет	нет
Другие условно-патогенные энтеробактерии	$<10^4$	$<10^4$	$<10^4$	нет
Неферментирующие бактерии	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	нет
Энтерококки	$10^5-10^7$	$10^5-10^8$	$10^6-10^7$	нет
Стафилококк золотистый	нет	нет	нет	нет
Стафилококки (сапрофитный, эндермальный) негемолизирующие	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	нет
Бифидобактерии	$10^{10}-10^{11}$	$10^9-10^{10}$	$10^8-10^9$	нет $10^8$
Лактобактерии	$10^6-10^7$	$10^7-10^8$	$10^6-10^7$	$10^5$
Грибы	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	нет
Клостридии	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$	$\leq 10^6$	нет

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

*Дисбактериоз кишечника II степени, обусловлен уменьшением лакто- и бифидобактерий, наличием лактозонегативных E.coli.*

3 марта 2014 г.

Врач



Хохлявин Р.Л.

**Результаты бактериологического исследования**

Режим работы в лаборатории зависит от степени опасности заражения для лиц, работающих с болезнетворными микроорганизмами или материалом, их содержанием.

Микроорганизмы по степени опасности заражения ими разделены на четыре группы:

- I. Возбудители чумы;
- II. Возбудители холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, сапа, Ку-лихорадки и т.д.;
- III. Возбудители коклюша, возвратного тифа, столбняка, ботулизма, дифтерии, лепры, брюшного тифа, дизентерии и т.д.;
- IV. Возбудители пневмонии, пищевых токсикоинфекций, газовой гангрены, септицемии, кандидозов; микробы – показатели санитарного состояния объектов окружающей среды.

Работу с культурами возбудителей I и II групп можно проводить только в специальных лабораториях с разрешения органов здравоохранения РФ.

## **Правила работы в микробиологической лаборатории**

1. Все сотрудники должны работать в медицинских халатах, шапочках и сменной обуви. Вход в лабораторию без халата категорически воспрещен. В необходимых случаях работающие надевают на лицо маску из марли. Работа с особо опасными м/о регламентируется специальной инструкцией и производится в режимных лабораториях.
2. В лаборатории запрещается курить и принимать пищу.
3. Рабочее место должно содержаться в образцовом порядке. Личные вещи сотрудников следует хранить в специально отведенном месте.
4. При случайном попадании инфицированного материала на стол, пол и другие поверхности это место необходимо тщательно обработать дезинфицирующим раствором.
5. Хранение, наблюдение за культурами микроорганизмов и их уничтожение должны производиться согласно специальной инструкции. Все культуры патогенных микроорганизмов регистрируются в специальном журнале.
6. По окончании работы руки следует тщательно вымыть, а при необходимости обработать дезинфицирующим раствором.

# **Микробиологические методы исследования**



**Микроскопический метод** заключается в приготовлении микроскопических препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными способами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная, электронная и др.).



**Бактериологический метод** заключается в посеве исследуемого материала на искусственные питательные среды с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителя.



**Биологический метод** (экспериментальный, или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных лабораторных животных.

Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина и активности антимикробных химиотерапевтических препаратов и т.д.



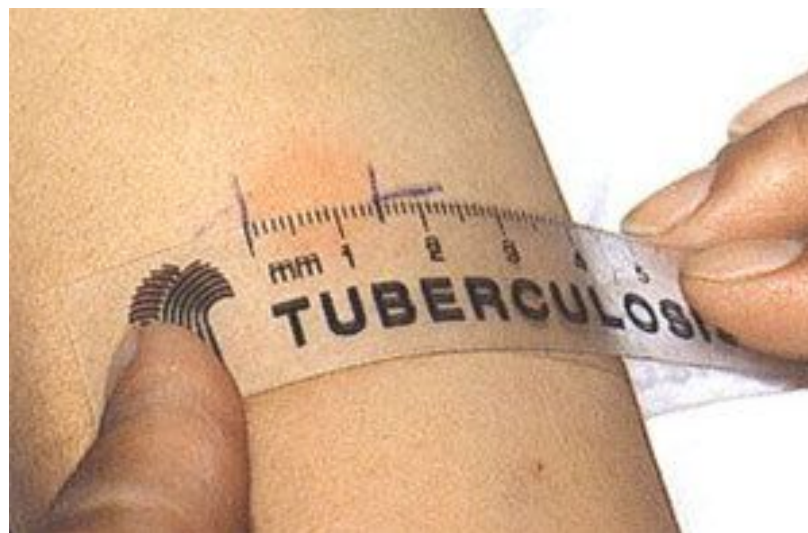
**Серологический метод** заключается в определении титра специфических антител в сыворотке крови больного, реже в обнаружении микробного антигена в исследуемом материале.

С этой целью используют реакции иммунитета.



**Аллергологический метод** заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат-аллерген.

С этой целью ставят кожные аллергические пробы с соответствующими аллергенами.



**Молекулярно-генетический метод** - например, полимеразная цепная реакция (ПЦР). Позволяет обнаружить микроорганизм в исследуемом материале по наличию в нем ДНК микроорганизма.





# **Задания для самопроверки знаний**

# Упражнение 1

## Ключевые понятия

Подберите правильные определения перечисленным ключевым терминам, вписав вместо пробела соответствующий номер из списка приведенных следом определений:

- \_\_\_\_\_ моечная
- \_\_\_\_\_ регистратура
- \_\_\_\_\_ стерилизационная
- \_\_\_\_\_ лабораторная комната
- \_\_\_\_\_ бокс с предбоксом
- \_\_\_\_\_ средоварочная
- \_\_\_\_\_ препараторская

## **Соответствующие определения:**

1. Помещение, где идет прием анализов, исследуемого материала и оформление документов.
2. Помещение, предназначенное для проведения бактериологических исследований.
3. Помещение, оборудованное для мытья посуды.
4. Строго изолированное помещение для бактериологических исследований в стерильных условиях.
5. Помещение, где чистая, сухая посуда готовится для стерилизации.
6. Помещение, предназначенное для стерилизации питательных сред, посуды, реактивов и т.д.
7. Помещение, предназначенное для приготовления питательных сред.