

Сбор, хранение и транспортировка материала для микробиологических исследований

План лекции

1. Значение своевременного и адекватного взятия материала для микробиологических исследований.
2. Меры предосторожности при сборе и транспортировке исследуемого материала.
3. Посуда, инструменты и химические реагенты, используемые для сбора материала.
4. Правила взятия, сроки, условия транспортировки материала для микробиологических исследований.

1. Значение своевременного и адекватного взятия материала для микробиологических исследований.

В последние годы клиническая микробиология как составная часть клинической лабораторной диагностики является наиболее динамично развивающейся областью медицины. Однако качество лабораторного анализа определяется, прежде всего, выполнением требований правильного сбора биологического материала для микробиологических исследований, его сохранности на преаналитическом этапе.

Цель микробиологического исследования – установить этиологическую роль тех или иных микроорганизмов при возникшем заболевании или клиническом синдроме. Среди факторов, влияющих на достоверность микробиологической диагностики, можно выделить следующие:

- своевременность отбора и соответствие биологического материала предполагаемой локализации микроба-возбудителя,
- условия взятия, хранения и транспортировки биологического материала,
- адекватный выбор методов микробиологического исследования;
- полноценность сведений о состоянии обследуемого пациента, важных с точки зрения оценки полученных результатов.

Общие требования к сбору, хранению, транспортировке биологического материала для микробиологического исследования:

- Взятие материала предпочтительно проводить до начала антибактериальной терапии. На фоне антибактериальной терапии материал забирают перед очередным введением антимикробных препаратов, то есть в момент, когда их концентрация в организме минимальна.
- Взятие материала проводят на основании знания оптимальных сроков для взятия материала на исследование и с учетом места максимальной локализации возбудителя.
- При взятии пробы следует строго соблюдать правила асептики, во избежание ее случайной посторонней контаминации.
- Для взятия проб следует использовать стерильные инструменты, а для их транспортировки стерильные пробирки или контейнеры. Использование нестерильных сухих, чистых пробирок допускается только для отбора и транспортировки крови на серологические исследования.
- Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования.

- Транспортировка материала должна осуществляться в максимально короткие сроки: как правило, не более 1,5 — 2 часов. При невозможности доставки в указанные сроки биоматериал хранят в холодильнике (кроме крови и материала, исследуемого на наличие менингококка).

- Всегда следует стремиться использовать транспортные системы со средой (консерванты), что позволяет пролонгировать время транспортировки до 24 часов и более или осуществлять посев непосредственно у постели больного (кровь, ликвор и др.).

- Материал для исследования на неспорообразующие анаэробы, доставляемый без использования транспортных систем со средой (консервантов) должен транспортироваться: а) в специальном герметично закрытом флаконе, заполненном инертным газом, в который проба вносится путем прокола крышки иглой шприца; б) в одноразовом шприце, из которого удален воздух, и кончик которого закрыт либо стерильной резиновой пробкой, либо иглой, с надетым на нее штатным защитным колпачком.

- Все образцы должны иметь четкую маркировку, обеспечивающую их безошибочную идентификацию.

- К каждому образцу прикладывается направление. В направлении на исследование должны быть отображены следующие данные: дата и время назначения исследования; дата и время взятия биологического материала; Ф.И.О. пациента; отделение, номер амбулаторной карты/истории болезни, номер палаты, возраст, пол; диагноз; Ф.И.О. лечащего врача; перечень необходимых исследований; подпись специалиста, проводившего забор клинического материала.

2. Меры предосторожности при сборе и транспортировке исследуемого материала.

Правила биологической безопасности:

- К работе по взятию и транспортировке биологического материала допускается медицинский персонал, прошедший специальный инструктаж по технике работы и мерам безопасности.

- При взятии биологического материала должны использоваться средства защиты: медицинские халаты, шапочки, сменная обувь, резиновые (латексные, виниловые) перчатки, а при необходимости — дополнительно марлевые маски (респираторы), очки, клеенчатые фартуки.

- Работать с исследуемым материалом следует в резиновых (латексных, виниловых) перчатках, все повреждения кожи на руках должны быть закрыты лейкопластырем или напальчником. Следует избегать уколов и порезов.

- В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биологическими жидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 мин. тампоном, обильно смоченным 70% спиртом, вымыть под проточной водой с мылом и вытереть индивидуальным тампоном. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина, 6% раствором перекиси водорода.

- При подозрении на попадание крови на слизистые оболочки, их немедленно обрабатывают струей воды, рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 0,05% раствором перманганата калия.

- Для транспортировки образцов следует использовать преимущественно пластиковую одноразовую тару, герметично закрытую пластмассовыми, резиновыми пробками или завинчивающимися крышками. Запрещается использовать стеклянную посуду со сколами, трещинами и т.п. При транспортировке сосудов, закрытых целлюлозными (ватными) пробками, следует исключить их увлажнение.

- Транспортировка биоматериала осуществляется в специальных закрытых переносках (укладках), желательна - термостатированных, выдерживающих дезинфекцию.

- Сопроводительная документация помещается в предназначенный для нее карман переноски (укладки), а в случае его отсутствия — кладется в переноску в отдельном полиэтиленовом пакете.

- При хранении биологического материала в холодильнике каждый образец упаковывается в отдельный полиэтиленовый пакет. Для этой цели выделяется отдельный холодильник, хранение в котором пищевых продуктов и лекарственных препаратов не допустимо.

Предохранение от контаминации исследуемого материала нормальной микрофлорой:

Для сбора исследуемого материала должны использоваться стерильные посуда, инструменты и должны соблюдаться правила асептики, чтобы предупредить загрязнение исследуемого материала посторонней микрофлорой. Внесение случайной микрофлоры в исследуемый материал может помешать выделению микроба – возбудителя данного заболевания.

Во избежание загрязнения материала посторонней микрофлорой тот, кто берет материал, должен вымыть руки. При некоторых видах исследований необходимо руки берущего материал, а также место взятия материала у больного дезинфицировать. При необходимости берущий исследуемый материал должен работать в эластичных перчатках.

Пробирки и флаконы должны быть закрыты стерильными пробками, а баночки – крышками или бумажными стерильными колпачками. Следует помнить, что если ватная пробка смочена жидкостью, то она становится проницаемой для микробов и, следовательно, не может обеспечить стерильность материала.

Персонал, доставляющий материал в лабораторию, должен быть предупрежден об этом и должен нести материал больного, не взбалтывая содержимое пробирок или флаконов. Нельзя доставлять в лабораторию материал в антисанитарном состоянии, когда посуда, пробка или бумага загрязнены этим материалом снаружи. Это может служить источником для заражения окружающих.

3. Посуда, инструменты и химические реагенты, используемые для сбора материала.

Для взятия и транспортировки биологического материала следует использовать одноразовые стерильные тубсеры (пробирки с тампонами) промышленного производства или транспортные системы со средой. Ватные (хлопковые) тампоны, изготавливаемые непосредственно в лаборатории из медицинской ваты, могут быть использованы только в крайнем случае, так как медицинская вата может обладать антимикробными свойствами. Для снятия возможного бактерицидного действия тампоны из медицинской ваты после изготовления кипятят в буферном растворе Соренсена, встряхивают, высушивают в термостате, помещают в пробирки и стерилизуют в автоклаве при 120°C 30 минут. Если тампоны предназначены для взятия материала на гонорею, их 20 минут кипятят в фосфатном буфере и импрегнируют в течение 24 часов в 1 % водной суспензией тонко измельченного древесного угля. Затем тампоны высушивают, подправляют, монтируют в пробки и стерилизуют в автоклаве при 120°C 20 минут.

Для транспортировки материала целесообразно использовать специальные транспортные системы со средой. Их выбор с учетом вида материала, цели исследования и технических возможностей осуществляет лаборатория. К числу наиболее универсальных транспортных сред относятся среда Стюарта и среда Эймс.

Транспортная система *со средой Стюарта*. Среда Стюарта представляет собой полужидкий, бедный питательными веществами субстрат для сохранения и транспортировки широкого спектра патогенных микроорганизмов, таких, как *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Trichomonas vaginalis*, *Streptococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* и др. Наиболее требовательные микроорганизмы сохраняются в данной среде более суток, прочие - до нескольких дней. Транспортная система *со средой Кери Блейр*. Представляет собой модификацию базовой транспортной среды Стюарта, предназначенную специально для фекальных образцов. Среда Кери Блейр позволяет сохранять большинство патогенов, включая требовательные микроорганизмы, такие, как *Neisseria sp.*, *Haemophilus sp.*, *Streptococcus sp.* Данная среда является стандартной для транспортировки анаэробов.

Транспортная система *со средой Эймса* Представляет собой очередную модификацию базовой транспортной среды Стюарта, в которой глицерофосфат заменен неорганическим фосфатом. Эта среда способна более 3 дней поддерживать такие микроорганизмы, как *Neisseria sp.*, *Haemophilus sp.*, *Corynebacteria*, *Streptococci*, *Enterobacteriaceae* и др., однако наилучшие результаты дает культивирование в течение первых 24 часов. При использовании транспортной системы со средой срок доставки пробы в лабораторию может быть продлен максимально до 72 часов.

4.Правила взятия, сроки, условия транспортировки материала для микробиологических исследований.

Микробиологическое исследование крови

Микробиологическое исследование крови проводят с целью диагностики бактериемии/септицемии. Кровь для посева рекомендуется брать до начала антибиотикотерапии или через 12—24 ч после последнего введения препарата больному.

Пробы для определения наличия в крови биологических агентов получают венопункцией (после соответствующей антисептической обработки) из периферических вен (чаще вены локтевого сгиба); артерий или из пятки у новорожденных. Кровь берется у взрослых в количестве 5—10 мл, а у детей — от 2 мл.

Забор крови проводится во время подъема температуры(но не на пике). Кровь рекомендуется брать 2-4 раза в сутки, при сепсисе — 2-3 взятия из различных мест в течение 10-15 минут. Из шприца без иглы над спиртовкой кровь сразу же засеивается во флаконы с питательной средой. Соотношение кровь/питательная среда во флаконе - от 1:5 до 1:10. Флаконы с кровью доставляются в лабораторию немедленно.

Сбор пробы из постоянного внутривенного или внутриаартериального катетеров не рекомендуется. Этот вариант допускается только в случаях подозрения на наличие катетер-ассоциированной инфекции или отсутствия возможности получения проб венопункцией.

Микробиологическое исследование мочи

Исследуют, как правило, среднюю порцию утренней мочи. До взятия материала проводят туалет наружных половых органов. Для проведения обработки не допускается использовать дезинфектанты, т.к. при попадании в пробу они могут ингибировать рост микроорганизмов. В чистую (желательно-стерильную) посуду, закрывающуюся крышкой (пробкой) собирают 5-10 мл мочи и доставляют в лабораторию в течение 1-2 часов (хранение при комнатной температуре не должно превышать 1—2 ч). При отсутствии такой возможности моча может храниться при температуре 4 °С, но не более 24 ч после взятия.

К забору мочи с помощью катетера прибегают в некоторых случаях. Данную процедуру проводит медицинский работник с тщательным соблюдением правил асептики для предотвращения дополнительной контаминации пациента в процессе введения катетера.

Микробиологическое исследование спинномозговой жидкости (ликвор).

Спинномозговую жидкость собирают посредством люмбальной пункции в стерильный контейнер (например, пробирку). На исследование отправляют 4-5,5 мл спинномозговой жидкости; оптимально использовать не первую порцию, чтобы избежать попадания в исследуемый материал анестезирующего вещества и снизить риск контаминации. Ликвор доставляется в лабораторию немедленно (в течение 5-10 мин), при этом температура ликвора не должна быть ниже 35-37°C (пробирка с ликвором должна быть теплой, так как наиболее частый возбудитель менингита – *Neisseria meningitidis* – весьма нестоек в условиях внешней среды). Во время транспортировки ликвор тщательно предохраняют от охлаждения, используя грелки, термос, контейнер с ликвором можно обернуть ватой.

Количество независимо отбираемых проб крови и время их взятия определяется лечащим врачом. Как правило, должны исследоваться не менее 2—3 проб крови, каждая из которых взята путем отдельной венепункции. Это необходимо для дифференциации истинной бактериемии от случайной контаминации крови при венепункции. Вероятность загрязнения вследствие случайного прокола сальной или потовой железы составляет 3%.

Необходимое оснащение.

1. Шприцы одноразовые 20-граммовые (для детей 10-граммовые) с иглами для венепункции. Запрещается использовать шприцы со «стерильного стола» в перевязочной, проверять проходимость иглы, просасывая через нее воздух.
2. Флаконы с питательными средами: среда для аэробов и факультативных анаэробов + среда для облигатных анаэробов (например, двойная среда + среда СКС) или универсальная среда для аэробов и анаэробов. Предпочтительно использовать промышленно произведенные среды, разрешенные к применению. Оптимальным средством отбора пробы венозной крови являются вакуумные двухфазные флаконы к аппарату Бактек (Bactec).
3. 70° этиловый спирт, 2% или 5% настойка йода.
4. Венозный жгут, резиновые (латексные, виниловые) перчатки, спиртовка (только при использовании флаконов со средами, изготовленными в лаборатории).

Взятие исследуемого материала.

Манипуляции проводят с соблюдением правил асептики. Кровь берут у постели больного или в перевязочной (процедурной) и тут же засевают на питательные среды. Рекомендуется осуществлять эти процедуры вдвоем. Один медицинский работник проводит обработку кожи больного, венепункцию и взятие крови, второй, в это время открывает над пламенем спиртовки пробки флаконов со средами, подставляет их под струю крови из шприца, обжигает горлышки флаконов и закрывает их. Кровь для исследования получают путем венепункции. Порядок обработки кожи и взятия крови следующий:

1. кожу над пунктируемой веной обрабатывают 70° спиртом;
2. наносят 2-5% йодную настойку, круговыми движениями, начиная от центра, в течение 30 сек.;
3. после высыхания йодной настойки проводят венепункцию;
4. пальпировать сосуд в районе введения иглы после обработки кожи нельзя;
5. протирают кожу 70° спиртом.

У взрослых кровь берут в объеме 10-20 мл, у детей — в зависимости от возраста.

Сразу после взятия кровь засевают на питательные среды. Соотношение крови и среды должно быть 1/10—1/60 для устранения бактерицидного действия крови путем ее разведения. Техника посева зависит от вида используемых питательных сред.

При использовании сред лабораторного приготовления, расфасованных во флаконы с целлюлозными (ватными) пробками, посев проводят следующим образом:

- снимают иглу со шприца;
- над пламенем спиртовки открывают флакон;
- вносят половину крови из шприца во флакон;
- обжигают горлышко и пробку флакона в пламени спиртовки;
- закрывают флакон пробкой;
- осторожно, чтобы не замочить пробку, перемешивают содержимое флакона круговыми движениями;
- вторую порцию крови из шприца вносят во второй флакон, повторяя указанные операции.

При использовании флаконов со средами промышленного изготовления во флаконах с резиновыми либо пластиковыми пробками:

- при наличии на флаконах защитных колпачков их удаляют (отгибают), не открывая при этом пробки;
- пробки флаконов обрабатывают 70% этиловым спиртом (использование йодной настойки определяется рекомендациями производителя сред);
- кровь в равных объемах вносят в «аэробную» и «анаэробную» питательные среды, проколов при этом пробки флаконов. Если предполагается проведение бактериоскопического исследования, дополнительно готовят препарат «толстая капля» и мазок.

Для приготовления мазка каплю крови диаметром 2—3 мм наносят на обезжиренное предметное стекло вблизи от торца. Перед каплей крови ставят под углом 45° одноразовый пластиковый шпатель для растяжки мазков или стекло со шлифованным краем и плавным движением равномерно распределяют материал по поверхности.

Для приготовления препарата «толстая капля» на стекло наносят каплю крови диаметром около 5 мм и распределяют ее с помощью иглы или пипетки в диск диаметром 10—15 мм. Толщина капли должна позволять видеть через нее газетный шрифт. Иногда мазок и препарат «толстая» капля готовят на одном стекле. Для этого на поверхность подготовленного как описано выше мазка до его высыхания наносят еще одну каплю крови. Она, как правило, сама растекается в правильный диск необходимой толщины.

Препараты высушивают («толстая капля» сохнет 2—3 часа) и доставляют в лабораторию в специальном планшете для хранения и транспортировки стекол с соблюдением необходимой осторожности. Посевы крови немедленно доставляют в лабораторию, оберегая от охлаждения.

Ликвор

Показания к проведению исследования: подозрение на нейроинфекцию.

При подозрении на гнойный менингит в обязательном порядке в лабораторию направляют:

1. Ликвор для первичного посева, бактериоскопии и серологических исследований в количестве не менее 1,0 мл.
2. Ликвор в 0,1% полужидком агаре (среда «обогащения»).
3. «Толстая капля» крови для бактериоскопии.
4. Кровь в жидкой питательной среде или в 0,1% полужидком агаре (среда обогащения) для бактериологического накопления культуры: 5,0 мл крови засевают в 50,0 мл среды обогащения.
5. Кровь в количестве не менее 2-х мл для серологических исследований (РПГА, ВИЭФ, ЛА и др.).

Необходимое оснащение:

Игла для люмбальной пункции. Мандрены. Анестетик. 70° этиловый спирт. 2% или 5% настойка йода или другой антисептик, разрешенный к применению. перевязочный материал. Стерильные пластиковые пробирки, лучше центрифужные с завинчивающимися крышками. Шоколадный агар (желательно). 0,1% полужидкий агар.

Взятие исследуемого материала:

Ликвор получают путем люмбальной пункции. Желательно взять материал сразу при поступлении больного в стационар, до начала лечения. Пункция и взятие материала проводятся с соблюдением всех правил асептики, персонал работает в масках.

- Больной укладывается в положение на боку, головной конец кровати максимально опущен, голова прижата к груди, ноги — к животу, спина максимально согнута. Определяются необходимые для выбора места пункции анатомические ориентиры. Пункцию проводят между поясничными позвонками L3-L4, L4-L5 или пояснично-крестцовыми L5-S1.

- Обрабатывают область пункции сначала раствором антисептика, а затем 70° спиртом. Пальпируют рукой в стерильных перчатках точку пункции и вводят раствор анестетика.

- Проводят пункцию иглой со вставленным мандреном до ощущения «провала». Извлекают мандрен.

- Первую порцию ликвора берут в отдельную пробирку для проведения общего ликворологического исследования. Вторую порцию, предназначенную для бактериологического исследования, собирают в стерильную центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой.

Ликвор после пункции распределяют следующим образом: 1) 1,0 мл направляют в клиническую лабораторию для проведения общего ликворологического и цитологического исследования;

2) 0,2 мл направляют для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР);

3) 1,0 мл направляют для первичного бактериологического посева (если не сделан в отделении при пункции), бактериоскопии и серологических исследований; для бактериологического и бактериоскопического исследований отбирается либо вторая порция ликвора, либо самая мутная из всех. Ее отбирают в стерильную, желательно центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой;

4) 0,5 мл засевают в чашку с «шоколадным» агаром непосредственно у постели больного. Далее чашку хранят в условиях термостата при 37°C до доставки в лабораторию;

5) 0,5 мл засевают в 5,0 мл 0,1% полужидкого питательного агара непосредственно у постели больного и далее хранят при +37°C в условиях термостата до доставки в лабораторию;

Касаться руками краев канюли, иглы, пробирки, класть пробку — нельзя. Доставлять материал в бактериологическую лабораторию лучше в термостатированной

переноске (сумке) на грелке с водой + 37—38°C; в отсутствие возможности немедленно доставить материал в лабораторию, его лучше поместить в транспортную систему со средой Эймс (с углем или без него) и тогда его можно хранить в термостате до 48 часов. Доставка материала в транспортной системе должна производиться также с обеспечением мер поддержания температуры +37°C. При необходимости проведения вирусологических исследований пробы ликвора в стерильной пластиковой пробирке помещают в холодильник при температуре +2...+8°C или замораживают.

Отделяемое из верхних дыхательных путей

Посев материала из глотки, носа и ротовой полости только на 5% кровяной агар. Основным возбудителем бактериальных инфекций верхних дыхательных путей, включая скарлатину, тонзиллиты, фарингиты и пр. является *Streptococcus pyogenes*. Для выявления таких видов микроорганизмов, как менингококки, дифтерийная палочка, гемофильные бактерии, для посева будут использованы специальные питательные среды. Диагностика некоторых специфических форм ангины осуществляется с помощью бактериоскопического исследования. Микроскопия мазков необходима при диагностике ангины Людвига (тяжелая гнилостно-некротическая флегмона полости рта полимикробной этиологии) и ангины Симановского-Венсана (некротическая ангина, вызываемая симбиозом *Fusobacterium* и *Treponema vincentii*).

Мазок со слизистых передних отделов полости носа

Необходимое оснащение: стерильный зонд-тампон из вискозы на пластиковой оси в пластиковой пробирке (тубсер).

Взятие исследуемого материала:

Материал забирается одним сухим вискозным тампоном тубсера из двух носовых ходов, помещается обратно в стерильную сухую пластиковую пробирку и возможно быстро доставляется в лабораторию, так как должен быть засеян на питательные среды в течении 2 часов. При отсутствии промышленно произведенных изделий для взятия материала можно использовать стерильный зонд-тампон в индивидуальной упаковке и стерильную емкость (пробирку) для его транспортировки в лабораторию (не более 2-х часов с момента взятия пробы).

Соскоб со слизистых передних отделов полости носа

Необходимое оснащение: Стерильная пластиковая бактериологическая петля или стерильный зонд-тампон в пластиковой пробирке (тубсер); или транспортная система со средой Стюарт или Эймс. Носовое или носоглоточное зеркало.

Взятие исследуемого материала:

В случае инфильтрационной формы риносклеромы материал берут с помощью стерильной пластиковой бактериологической петли и носового или носоглоточного зеркала прямо с инфильтрированной слизистой, слегка повреждая ее. У больных оzenой или атрофической формой риносклеромы взятие материала проводят петлей либо стерильным зондом-тампоном, причем последнее предпочтительнее. При всех видах и формах клебсиеллезной инфекции одновременно следует осуществлять забор материала из обеих половин носа и глотки, а при локализации процесса в гортани, трахее и бронхах — методом кашлевых пластинок. Материал доставляется в лабораторию в течение 2 часов.

Слизь из носоглотки и носа

Показания к проведению исследования: подозрение на дифтерию.

Необходимое оснащение:

- Стерильные зонды-тампоны в сухой пластиковой пробирке (тубсеры) или сухие стерильные зонды-тампоны, вмонтированные в ватные или корковые пробки пробирок. Тампон должен иметь форму «капли», а не «веретена» и находясь в пробирке не касаться ее дна и стенок **или**
- Стерильные ватные тампоны, пропитанные 5% раствором глицерина в дистиллированной воде и простерилизованные автоклавированием.

Взятие исследуемого материала:

Материал забирают натошак или через 3—4 часа после еды; при антибиотикотерапии исследование проводят не ранее чем через 3 дня после отмены препарата; мазки с миндалин и из носа берут отдельными тампонами, при этом мазки из двух носовых ходов забирают одним тампоном; если есть налеты, материал забирают с границы пораженных и здоровых тканей, слегка нажимая на них тампоном; Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 3 часов, либо сразу после взятия засеян на плотные и транспортные питательные среды.

При транспортировке на дальние расстояния рекомендуется использовать транспортные системы со средой Стюарт или Эймс. Допускается использование зондов-тампонов, пропитанных 5% раствором глицерина в дистиллированной воде и простерилизованных автоклавированием. В холодное время года пробы при транспортировке следует оберегать от охлаждения, используя термостатированные сумки (контейнеры) с грелкой +37°C.

Слизь с задней стенки глотки

Показания к проведению исследования: подозрение на менингококковую инфекцию.

Необходимое оснащение:

- Транспортные системы со средой Эймс (с углем или без него) *или*
- Стерильные «заднеглочные» зонды-тампоны индивидуально упакованные или в стерильной пластиковой пробирке (тубсеры) на ручке из мягкой проволоки. Участок проволоки с тампоном на расстоянии 3—4 см от конца изгибают под углом 120°. При использовании стерильных индивидуально упакованных зондов-тампонов ось тампона должна быть вмонтирована в целлюлозную (ватную) пробку пробирки *или*
- «Заднеглочные» зонды-тампоны, пропитанные питательной средой с ристомицином, приготовленные в лаборатории (не обязательно).
- Сывороточный агар и сывороточный агар с линкомицином или разрешенная к применению транспортная система со средой (Эймс) или транспортная среда с линкомицином.

Взятие исследуемого материала: для диагностики менингококковой инфекции забирают слизь с задней стенки глотки; материал забирают натошак или через 3—4 часа после еды; шпателем надавливают на корень языка; в этот момент небная занавеска приподнимается; тампон заводят за мягкое небо и 2-3 раза проводят по задней стенке носоглотки; при извлечении тампон не должен касаться зубов, слизистой щек, языка и язычка;

при использовании транспортных систем, разрешенных к применению, ось тампона сгибают под необходимым углом, придерживая его внутри стерильной упаковки; взятый материал помещают в термостатированную сумку с грелкой и доставляют в лабораторию в течение не более чем 5 часов, где материал либо засевают в чашки Петри, либо хранят в термостате, но не более 48 часов суммарно с момента взятия пробы;

в отсутствии систем с транспортной средой зонд-тампон при извлечении из стерильной упаковки или пробирки сгибают под необходимым углом, опирая его о стенку пробирки или придерживая внутри стерильной упаковки; материал сразу же засевают на подогретые среды:

· если время транспортировки до 3 часов — на сывороточный агар и сывороточный агар с линкомицином; при посеве на среду в чашках Петри материал втирают на поверхности небольшого участка (1x2 см) среды всеми сторонами зонда-тампона, затем этим же тампоном засевают штрихами (с отрывом) по всей площади, отведенной для посева; посеvy следует беречь от охлаждения и транспортировать в переносных термостатах или сумках с грелками;

· если время транспортировки более 3 часов, транспортную среду с линкомицином или другую, разрешенную к применению для этой цели, без спиртовки разливают по 1 мл в пробирки по числу обследуемых и затыкают пробками; при посеве пробку открывают,

тампон погружают в среду, предварительно слегка разогнув проволочную ручку о стенку пробирки; закрывают пробирку пробкой и транспортируют в строго вертикальном положении при температуре не ниже 22°C.

Слизь с задней стенки глотки

Показания к проведению исследования: диагностика коклюша.

Необходимое оснащение:

1. Транспортные системы со средами Стюарт или Эймс (с углем или без него) *или*
2. Стерильные «заднеглоточные» зонды-тампоны индивидуально упакованные или в стерильной пластиковой пробирке (тубсеры) на ручке из мягкой проволоки. Участок проволоки с тампоном на расстоянии 3—4 см от конца изгибают под углом 90°. При использовании стерильных индивидуально упакованных зондов-тампонов ось тампона должна быть вмонтирована в целлюлозную (ватную) пробку пробирки.
- 3 Стерильный физиологический раствор.
4. Питательные среды (среда Борде-Жангу, КУА или другие, разрешенные к применению).

Взятие исследуемого материала:

Исследуемым материалом могут служить мазки с задней стенки глотки, либо слизь, полученная методом кашлевых пластинок.

1. мазки с задней стенки глотки берут с помощью изогнутых под прямым углом зондов-тампонов на оси из алюминиевой проволоки; при использовании транспортных систем, разрешенных к применению, ось тампона сгибают под необходимым углом, придерживая его внутри стерильной упаковки;
2. в отсутствие транспортных систем одновременно рекомендуется использовать 2 тампона: сухой и увлажненный; сначала материал забирают сухим тампоном, а затем — тампоном, смоченным забуференным физиологическим раствором; материал, взятый с помощью сухого тампона, необходимо сразу засеять на питательные среды, а посев влажного тампона можно произвести уже в лаборатории;
3. для диагностики коклюша, кроме исследования мазков из носоглотки, можно использовать метод кашлевых пластинок: при этом открытые чашки Петри с питательной средой удерживают в вертикальном положении на расстоянии 5—10 см ото рта на протяжении 5—6 кашлевых толчков.

Назальный смыв

Показания к проведению исследования: диагностика вирусных инфекций.

Необходимое оснащение: Стерильный физиологический раствор, стерильный шприц 10 мл, стерильный широкогорлый контейнер или 2 стерильные резиновые дренажные трубки и стерильные пробирки.

Взятие исследуемого материала:

1. предупреждают пациента, чтобы он не сглатывал слюну до окончания процедуры;
2. просят его откинуть голову назад под углом примерно 70° и удерживать в таком положении;
3. вводят в каждую ноздрю по 5 мл стерильного физиологического раствора; пациент должен находиться в таком положении 3 — 5 секунд;
4. опускают голову пациента вперед, чтобы жидкость вылилась из ноздрей в стерильный одноразовый контейнер или аспирируют жидкость введением резинового дренажа в каждую ноздрю.

Аспират из придаточных пазух

Показания к проведению исследования: диагностика синуситов.

Необходимое оснащение: набор инструментов для проведения пункции пазухи, стерильный шприц 10 мл, транспортная система со средой Эймс или стерильная пробирка.

Взятие исследуемого материала:

1. с соблюдением правил асептики пунктируют пазуху;

2. аспирированную жидкость из шприца переливают в транспортную среду типа среды Эймс (допускается увлажнить жидкостью стерильный тампон и погрузить в транспортную среду);
3. при отсутствии транспортной среды материал вносят в стерильную пробирку; в этом случае он должен быть доставлен в лабораторию немедленно.

Отделяемое из нижних отделов дыхательных путей

Мокрота

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания нижних отделов дыхательных путей, сопровождающиеся отделением мокроты

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер.

Взятие исследуемого материала:

1. предпочтительным является исследование утренней порции мокроты;
2. перед сбором мокроты больному предлагают почистить зубы и прополоскать рот кипяченой водой;
3. его предупреждают о недопустимости попадания в мокроту слюны и носовой слизи;
4. мокроту собирают в стерильный широкогорлый контейнер с завинчивающейся крышкой или стеклянную стерильную «карманную плевательницу».

Микроскопическое исследование мокроты должно выполняться в обязательном порядке, так как позволяет оценить правильность взятия мокроты и через 1—2 часа поставить этиологический диагноз и осуществить выбор антимикробных препаратов.

Особенности взятия мокроты для бактериоскопической диагностики туберкулеза.

Мокрота собирается трижды. В первый день в присутствии медицинского работника, на второй день проинструктированным больным самостоятельно. На третий день больной приносит собранную мокроту, и материал забирается в третий раз в присутствии медицинского работника.

1. пациента предупреждают о важности получения именно мокроты, но не слюны или носовой слизи, о необходимости перед сбором материала почистить зубы и прополоскать рот теплой водой;
2. медицинский работник в маске, резиновых перчатках и резиновом фартуке располагается за спиной пациента, таким образом, чтобы направление движения воздуха было от него к пациенту; он снимает крышку со стерильного широкогорлого контейнера для сбора мокроты и передает его пациенту;
3. пациенту рекомендуют держать контейнер как можно ближе к губам и сразу же сплевывать в него мокроту по мере ее откашливания; кашель может быть индуцирован с помощью нескольких глубоких вдохов;
4. по завершении сбора мокроты медицинский работник оценивает ее качество, плотно закрывает контейнер и заполняет направление на исследование; срок хранения материала в холодильнике без добавления консервирующих средств не должен превышать 48—72 часов;
5. при отсутствии у пациента мокроты накануне вечером или рано утром, в день, намеченный для сбора материала, ему назначают отхаркивающее средство или раздражающие ингаляции; для проведения ингаляций используют раствор следующего состава: на 1 л стерильной дистиллированной воды 150 г хлорида натрия и 10 г бикарбоната натрия; больной должен вдохнуть от 30 до 60 мл подогретого до 43—45°C раствора в течение 10—15 минут (не менее); собранный таким образом материал не подлежит консервации и должен быть исследован в тот же день, поэтому в направлении обязательно отмечают, что материал был получен после ингаляции.

Желчь

Необходимое оснащение: Комплект для дуоденального зондирования. Стерильные пробирки или стерильные контейнеры. Транспортная система для облигатных анаэробов (со средой Кери Блейр), разрешенная для применения в установленном порядке или пробирки с тиогликолевой средой, консервантом для облигатных анаэробов или

стерильный шприц со стерильной резиновой пробкой (при взятии материала во время операции).

Взятие исследуемого материала:

- желчь получают путем зондирования, реже, во время операции при пункции желчного пузыря, при зондировании желчь собирают в 3 стерильные пробирки или в стерильные одноразовые контейнеры отдельно по порциям А, В, С (для бактериологического исследования предпочтительна проба В);
- над пламенем спиртовки открывают пробирку или стерильный контейнер для сбора материала, 10—12 мл желчи помещают в стерильную емкость (у стеклянных пробирок обжигают горлышко и закрывают пробирку);
- пробы должны быть доставлены в лабораторию в течение 1—2 часов (исключая случаи использования транспортных систем со средой Кери-Блейр, которые позволяют сохранять материал до 48 часов).

Пробы желчи, а так же гноя и аспирата из печеночных абсцессов могут также отбираться во время операции. Материал из очага воспаления направляют в лабораторию в транспортной системе для анаэробов, разрешенной к применению в РФ или в полностью заполненном шприце, закрыв его конец стерильной резиновой пробкой.

Моча

Вне зависимости от способа получения мочи, она должна быть доставлена в лабораторию в течение 2 часов. В крайнем случае, допускается сохранение мочи в течение ночи в холодильнике. Следует помнить, что в зависимости от химического состава мочи, бактерии в ней могут при хранении как отмирать, так и размножаться. Пролонгация срока сохранения материала может крайне затруднить клиническую интерпретацию результата.

Взятие средней порции мочи, прерванное мочеиспускание

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер, теплая вода, мыло, стерильные марлевые салфетки, стерильный ватный тампон (для женщин).

Взятие исследуемого материала:

В стерильный контейнер собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 3—5 мл. Перед взятием материала больной должен совершить тщательный туалет наружных половых органов. Целесообразно напечатать инструкции на обратной стороне бланка направления. Рекомендуются женщинам сдавать 2—3 порции мочи в течение 2—3 дней и решение о диагностической значимости бактериурии принимать только по совокупности результатов.

Варианты инструкций для пациентов.

Для мужчин:

1. Тщательно вымыть руки.
2. Тщательно вымыть половой орган теплой водой с мылом и высушить стерильной салфеткой.
3. Обнажить головку полового члена (если не было обрезания) и выпустить небольшую порцию мочи.
4. Прервать мочеиспускание и выпустить порцию мочи в контейнер.
5. Закрывать контейнер и передать в лабораторию.

Для женщин:

1. Тщательно вымыть руки.
2. Вымыть половые органы, используя стерильные марлевые салфетки и теплую мыльную воду, в направлении спереди назад.
3. Промыть половые органы еще раз теплой водой и вытереть стерильной салфеткой. Отверстие влагалища желательнее закрыть стерильным ватным тампоном.
4. На протяжении всей процедуры держать половые губы раздвинутыми.
5. Помочиться, отбросив первую порцию мочи. Собрать порцию мочи в стерильный контейнер.
6. Закрывать контейнер и передать в лабораторию.

Для маленьких детей:

1. Дать ребенку попить воды или другой жидкости, пригодной для питья.
2. Вымыть руки с мылом, сполоснуть водой, высушить.
У девочек: тщательно промыть отверстие мочеиспускательного канала, а также промежность и область заднего прохода теплой мыльной водой или жидким мылом, сполоснуть теплой водой, высушить стерильной марлевой салфеткой.
3. Усадить ребенка на колени помощника.
У мальчиков при мочеиспускании держите крайнюю плоть оттянутой для предотвращения контаминации пробы мочи микроорганизмами с кожи.
4. Спустить небольшое количество мочи в специальную посуду для утилизации.
5. Собрать среднюю порцию мочи (10-15 мл) в стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой.
6. Закрывать контейнер и передать в лабораторию

Взятие мочи катетером

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер (банка), теплая вода, мыло, стерильные марлевые салфетки (для женщин), стерильный катетер, резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала:

1. перед катетеризацией, если мочевого пузыря заполнен, пациент должен его частично освободить;
2. необходимо провести туалет наружных половых органов теплой водой с мылом и высушить их стерильными марлевыми салфетками, после чего ввести катетер в мочевой пузырь;
3. из катетера первые 15—30 мл мочи собирают в специальную посуду для утилизации, после чего заполняют на 1/3 — 1/2 стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой, в котором моча будет доставлена в лабораторию;
4. для уточнения локализации инфекции мочевого пузыря опорожняют катетером, промывают раствором антисептика (50 мл раствора, содержащего 40 мг неомидина и 20 мг полимиксина) и через 10 минут забирают пробы мочи. При инфекциях мочевого пузыря моча остается стерильной.

асептики, собирается в стерильный контейнер и доставляется в лабораторию.

Отделяемое из мочеполовых органов мужчин и женщин

Твердый шанкр, папулы, розеолы

Необходимое оснащение: Стерильный физиологический раствор. Гипертонический (10%) раствор хлористого натрия (не обязательно). 70%-й этиловый спирт. Стерильный ватный тампон. Стерильные бактериологическая петля, шпатель или лопаточка. Предметное стекло. Резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала:

- если пациент до обследования применял дезинфицирующие или прижигающие средства, то перед взятием материала необходимо рекомендовать ему в течение 12—24 часов прикладывать примочки с физиологическим раствором; за 2—3 часа до исследования наложить на 15—20 мин. примочку с гипертоническим (10%) раствором хлорида натрия, а затем вновь с изотоническим раствором этой же соли;
- поверхность эрозии или язвы дважды осторожно протирают ватным тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором;
- осторожно массируют поверхность очага одноразовой стерильной или прокаленной и остуженной бактериологической петлей, стерильным шпателем или лопаточкой до появления прозрачной или слегка опалесцирующей тканевой жидкости. Можно осторожно сдавить края эрозии или язвы руками в перчатках, для увеличения объема жидкости;

- в случае начала кровотечения его останавливают с помощью марлевого тампона, увлажненного физиологическим раствором, и операцию повторяют; в материале не должно быть даже следов крови!
- из папул и розеол с помощью скальпеля путем скарификации можно получить тканевой сок;
- небольшую каплю тканевой жидкости петлей переносят на идеально чистое обезжиренное предметное стекло без царапин, накрывают покровным стеклом и сразу же микроскопируют с помощью темнопольного микроскопа.

Материал из уретры

Необходимое оснащение: Теплая вода. Стерильный физиологический раствор. Стерильный ватный тампон. Стерильные зонды-тампоны с волокнистой головкой индивидуально упакованные или в пробирке (тубсеры), стерильная бактериологическая петля, желобоватый зонд, маленькая ложечка Фолькмана. 2 предметных стекла. Одноразовый стерильный тубсер с зондом-тампоном на проволочной оси (если предполагается бактериологическое исследование) или зонд-тампон на проволочной оси + стерильная пробирка.

Стерильная пластиковая пастеровская пипетка или, при ее отсутствии, стерильная стеклянная пипетка с грушей и стерильная пробирка «Эппендорф» (для взятия смыва на трихомонады).

Взятие исследуемого материала:

1. перед взятием материала необходимо обмыть половые органы теплой водой или изотоническим раствором с помощью ватного тампона; удалить свободно стекающие выделения;

2. материал для микроскопического исследования может быть получен при помощи специальных стерильных одноразовых зондов-тампонов с волокнистой головкой; эти зонды позволяют отбирать материал качественно и с минимальной травматизацией слизистой; для тех же целей можно использовать стерильные одноразовые или прокаленные и остуженные металлические бактериологические петли, желобоватые зонды, стеклянные глазные палочки, маленькую ложку Фолькмана; при обильном отделяемом материал собирают с помощью стеклянной палочки или края шлифованного по периметру стекла и сразу готовят мазки на предметных стеклах; в лабораторию должны быть направлены минимум 2 мазка от одного больного;

3. при скудном отделяемом больному предлагают до исследования не мочиться в течение 4—8 часов, а затем массируют уретру, стараясь выдавить собравшийся в глубине секрет. Материал для бактериологического исследования забирают с помощью стерильного зонда-тампона в пробирке (тубсера) или стерильной одноразовой бактериологической петли, с целью предупреждения его контаминации сапрофитной микрофлорой, в большом количестве присутствующий в дистальном отделе уретры, в мочеиспускательный канал вводят стерильную ушную воронку, через которую собирают отделяемое из глубоких отделов. Если планируется посев с целью выделения гонококков, необходимо использовать транспортную систему со средой Эймс с активированным углем, а в случае ее отсутствия, использовать дакроновые тампоны, тампоны с альгинатом кальция либо ватные тампоны, импегрированные углем, поскольку хлопковая вата может быть токсичной для этих микроорганизмов. Тампон осторожно вводят в уретру и выдерживают в ней около 10 секунд; после извлечения его помещают в транспортную среду Эймс с углем (а в случае отсутствия — в иную пригодную транспортную среду); при использовании систем со средой Эймс с активированным углем материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 48 часов, при использовании иных транспортных сред — в течение 12 часов. Не допускается его охлаждение до температуры ниже 30°C; для исследования на хламидии, микоплазмы/уреаплазмы и вирусы материал лучше забирать с помощью специальных цитощеток. Больному рекомендуют помочиться непосредственно перед взятием материала, чтобы удалить избыток слизи,

препятствующей проведению исследования; порядок дальнейших действий зависит от выбранного метода исследований:

- культуральный метод — материал помещается в питательную среду, используемую данной лабораторией;
- ПЦР — материал помещают в полученную в лаборатории микропробирку с лизирующим буфером, физиологическим раствором и т.п.; зонд-тампон несколько раз вращают в пробирке для снятия материала; вопрос о том, можно ли обломить зонд и оставить его в пробирке, следует уточнить непосредственно в лаборатории, выполняющей исследования;

4. при подозрении на трихомонадную инфекцию наиболее эффективно исследовать смывы из уретры, получаемые с помощью стерильной одноразовой пастеровской пипетки или стеклянной трубки, снабженной резиновой грушей; для этого в полиэтиленовую стерильную пастеровскую пипетку с замкнутым резервуаром набирают 0,5—1,0 мл стерильного, теплого раствора Рингера; носик пипетки вставляют в наружное отверстие уретры, раствор несколько раз вдвигают в канал и засасывают в трубку; затем материал переносят в стерильную пробирку «Эппендорф» и используют для приготовления препаратов или культурального исследования (можно таким же образом использовать стерильную стеклянную трубку или стеклянную пипетку с надетым на нее резиновым баллончиком);

5. при прямом определении в исследуемом материале антигенов возбудителей так же, как правило, проводят исследование соскобов со слизистой или первой порции мочи; диагностические наборы, основанные на обнаружении антигена в иммунологических реакциях, часто содержат специальные инструменты для взятия материала (стерильные зонды-тампоны). В таких случаях использование других приспособлений может привести к искажению получаемого результата и не может быть рекомендовано.

Раневые (хирургические) инфекции

Необходимое оснащение: Зонд-тампон из вискозы на пластиковой или деревянной оси в сухой пробирке (тубсер) и зонд-тампон из вискозы из транспортной системы со средой Эймс или Стюарта; Стерильная пробирка или 2 пробирки (при отсутствии транспортных систем). Стерильный физиологический раствор. Стерильные пробирки. Стерильные марлевые салфетки. Антисептик.

Взятие исследуемого материала:

Взятие материала при подозрении на раневую инфекцию осуществляет врач при проведении перевязки или операции. Технология взятия образца для микробиологического исследования определяется клинической ситуацией и не может быть унифицирована. Исследуемым материалом могут служить: экссудат, аспират из раны, мазки (тканевая жидкость, пропитавшая зонд-тампон), биоптаты и др. Направление для исследования собственно гноя или струпа не целесообразно.

Подготовительные мероприятия:

Взятие материала врач осуществляет при соблюдении правил асептики. Кожу вокруг раны или над очагом воспаления обрабатывают 70° этиловым спиртом и 1—2% настойкой йода (ее обязательно надо смыть 70° спиртом либо другим разрешенным антисептиком) во избежание ожогов. При необходимости удаляют с помощью стерильной салфетки некротические массы, детрит, гной. Использовать растворы антисептиков для снятия повязки или обработки раневой поверхности до взятия материала нельзя.

Взятие материала с помощью стерильного тампона:

- материал забирают после туалета раны, совершенного вышеописанным способом;
- используют два ватных (коттоновых), вязких или дакроновых тампона на деревянной или пластиковой оси; пробы для бактериологического и микроскопического исследования следует забирать отдельными тампонами;
- пробы отбирают прокатывая каждый зонд-тампон по раневой поверхности от центра к периферии в течении 5—10 секунд; тампон должен равномерно пропитаться тканевой

жидкостью; манипуляцию необходимо проводить максимально осторожно, не травмируя ткани; появление даже следов крови свидетельствует о неудаче, так как кровь обладает бактерицидными свойствами;

- взятие материала для микроскопии **ОБЯЗАТЕЛЬНО**, так как в ряде случаев, она более информативна по сравнению с бактериологическим исследованием; зонд-тампон, предназначенный для отбора материала на микроскопическое исследование, помещают обратно в пустую пробирку (тубсер);
- тампон с материалом для бактериологического исследования помещают в среду Эймс или Стюарт.

Пробы испражнений

Нативные испражнения

Необходимое оснащение: Чистая бумага или целлофановая пленка. Стерильный контейнер с ложкой-шпателем или, в его отсутствие, любой стерильный контейнер плюс стерильная бактериологическая петля, лопаточка, шпатель или аналогичное изделие.

Стерильная пластиковая пастеровская пипетка с замкнутым резервуаром или, в ее отсутствие, стеклянная трубочка с грушей (если стул жидкий). Судно.

Взятие исследуемого материала:

1. судно должно быть тщательно вымыто, для удаления следов дезинфектантов;
2. на дно судна помещают лист чистой плотной бумаги; использовать для этой цели туалетную бумагу не рекомендуется;
3. больному предлагают испражниться, предварительно предупредив о нежелательности попадания в испражнения мочи;
4. пробу испражнений отбирают сразу после дефекации с помощью ложки-шпателя, вмонтированного в крышку стерильного контейнера; в отсутствие контейнера со шпателем для отбора материала используют стерильную петлю, стерильный деревянный шпатель и т.п.; при наличии патологических примесей необходимо выбрать участки, содержащие слизь, гной, хлопья, но свободные от крови; образцы жидких испражнений отбирают с помощью стерильной пластиковой пастеровской пипетки с замкнутым резервуаром или, в ее отсутствие, с помощью стеклянной трубки с резиновой грушей;
5. материал помещают:

· в пустой стерильный контейнер и доставляют в лабораторию в течение 2 часов; объем забираемого материала в этом случае должен быть не менее 2 г; оптимальным является взятие материала: в случае оформленного стула — в объеме грецкого ореха; в случае жидкого стула его слой в посуде должен быть не менее 1,5—2 см.; ИЛИ

· в консервант (транспортную систему со средой); объем материала не должен превышать 1/3 объема среды; испражнения должны быть тщательно гомогенизированы в среде с помощью стерильной петли, стеклянной палочки или т.п.; время хранения образцов до начала исследования может составлять до 1 суток в холодильнике.

Ректальные мазки (Rectal swabs)

Необходимое оснащение: Хлопковые или вязкозные зонды-тампоны на деревянной или пластиковой оси в составе транспортной системы со средой Кери Блейр или другой, в зависимости от целей исследования. Важно отметить, что попадание транспортных сред на слизистую прямой кишки недопустимо! Поэтому ректальный тампон должен погружаться в транспортную среду только после взятия материала;

Взятие исследуемого материала:

- взятие материала из прямой кишки с помощью зондов-тампонов осуществляется средним медицинским персоналом;
- больного просят лечь на бок с притянутыми к животу бедрами и ладонями развести ягодицы;
- зонд-тампон вводят в задний проход на глубину 4—5 см и, аккуратно вращая его вокруг оси, собирают материал с крипт ануса;

- осторожно извлекают зонд-тампон и погружают его в транспортную среду; транспортировка тампона без среды не допускается.

Взятие материала для диагностики дисбактериоза и заболеваний, вызываемых условно-патогенными бактериями

Пробы для диагностики ОКИ, вызываемых условно-патогенными бактериями, и дисбактериоза забираются и транспортируются только в стерильных сухих контейнерах. Время доставки проб в лабораторию не должно превышать 2 часов, или 4 при условии хранения в холодильнике. Пролонгирование времени транспортировки может привести к увеличению численности условно-патогенных бактерий и гипердиагностике дисбактериозов и ОКИ.

Взятие материала при подозрении на холеру по МУ 4.2.1097-02

- Материал может быть забран из судна или непосредственно из прямой кишки.
- На дно индивидуального судна помещают меньший по размеру сосуд (лоток), удобный для обеззараживания кипячением. Испражнения собирают в стерильный контейнер стерильными ложками-шпателями, пластиковой пастеровской пипеткой или стеклянными трубками с резиновой грушей.
- Для взятия материала из прямой кишки могут быть использованы: резиновый катетер, стерильный зонд-тампон или проволочная бактериологическая петля.

Резиновый катетер используют для взятия материала у больных с обильным водянистым стулом. Один конец катетера вводят в прямую кишку, а другой опускают в контейнер. Жидкие испражнения стекают в сосуд свободно или при легком массаже брюшной стенки.

- Стерильный зонд-тампон из гигроскопического хлопка вводят в прямую кишку на глубину 5—6 см и собирают им содержимое со стенок кишечника. Тампон опускают во флакон или пробирку с 1%-ной пептонной водой, обломив часть деревянного стержня, или погружают в пробирку с транспортной средой Кери Блейр.
- Стандартную стерильную бактериологическую петлю из пластика или алюминиевой проволоки перед забором материала смачивают стерильным 0,9%-ным раствором натрия хлорида и вводят в прямую кишку на 8—10 см. Взятый материал переносят во флакон или пробирку с 1%-ной пептонной водой.

Взятие рвотных масс и промывных вод

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер.

Взятие исследуемого материала:

- рвотные массы отбирают в количестве 50—100 мл (если это не получается, в меньшем количестве), промывные воды — в объеме 100 - 200 мл;
- материал должен быть доставлен в лабораторию возможно быстро;
- после рвоты больному дают прополоскать рот теплой водой, а тяжелым или ослабленным больным очищают полость рта ватным тампоном, смоченным водой или слабым раствором гидрокарбоната натрия, перманганата калия.

Взятие биоптата для исследования на хеликобактер

Необходимое оснащение: Оборудование для эндоскопии. Пробирки «эппендорф» со стерильным 20% раствором глюкозы.

Взятие исследуемого материала:

- биоптаты берут во время эндоскопии в условиях строгой асептики; пробы резецированных органов сразу после операции берут в области тела желудка, антрального отдела и луковицы 12-перстной кишки также с соблюдением правил асептики;
- биопсийный материал помещается в пробирку «эппендорф» со стерильным 20% раствором глюкозы и хранится до отправки в холодильнике при +4°C; необходимо следить затем, чтобы биоптат был полностью погружен в раствор глюкозы, так как прилипание его к стенке пробирки может привести к потере жизнеспособности микроба;

- в растворе глюкозы *H. pylori* сохраняет жизнеспособность в течение 3—4 часов; в течение этого времени биопсийный материал должен быть доставлен в лабораторию для посева;
- в качестве транспортных сред могут быть использованы также физиологический раствор, тиогликолевая среда для контроля стерильности, среда для кампилобактерий транспортная сухая; важно помнить, что время транспортировки и обработки биопсийного материала всегда ограничено и является серьезным фактором, лимитирующим успешность выделения *H. pylori*.

Серодиагностика

Показания к проведению исследования. Серодиагностика - метод диагностики инфекционных заболеваний, основанный на выявлении антител к антигенам возбудителя заболевания в сыворотке крови больного. Он может быть использован как для текущей, так и для ретроспективной диагностики инфекционных заболеваний.

Взятие исследуемого материала: кровь для серологических исследований забирают у обследуемого натощак или не ранее, чем через 6 часов после еды, при условии, что он не ел яиц и жирной пищи. В противном случае сыворотка может быть мутной (хилезной), непригодной для исследования.

Взятие крови из вены

Для венепункции можно использовать два варианта пункционных систем:

1. одноразовые вакуумные системы (вакуэты, вакутейнеры), состоящие из держателя для одноразовой двусторонней иглы и пробирки с дозированным вакуумом;
2. одноразовые шприцы с подходящим диаметром иглы. Кровь обычно получают из локтевой вены в количестве 5—7 мл.

Ее собирают в сухую чистую пробирку. У детей, если венепункцию провести не удается, кровь для исследования можно взять из надреза на пятке.

Необходимое оснащение: Фломастеры для маркировки проб. Вакуумные системы. ИЛИ Одноразовые шприцы, иглы и пластиковые пробирки; штативы для пробирок. Турникет (жгут). Тампоны со спиртом, йодом или иным разрешенным антисептиком. Стерильные марлевые тампоны. Емкости с дезинфицирующим средством для сброса использованных игл. Емкости с дезинфицирующими средствами. Одноразовые перчатки. Контейнеры для отходов.

Взятие крови с помощью вакуумной системы

Система состоит из стерильной одноразовой двусторонней иглы с двойной защитой, одноразового держателя и самой вакуумной пробирки. Используются пробирки с активатором свертывания или без него.

Порядок работы:

- снять защитный чехол с короткого плеча иглы и вернуть иглу в держатель так, чтобы ее конец, закрытый резиновым колпачком, находился внутри держателя;
- наложить жгут и обработать зону венепункции антисептиком;
- взять держатель с иглой в правую руку, снять цветной защитный чехол с иглы и провести венепункцию;
- взять пробирку, вставить ее крышкой вперед в держатель и, надавив на дно пробирки, продвинуть ее внутри держателя до упора. Как только кровь начнет поступать в пробирку, следует ослабить жгут, левой рукой удерживая держатель с пробиркой;
- дождаться заполнения пробирки заданным объемом крови;
- если необходимо взять кровь в другую пробирку, иглу не вынимать из вены, вставить в держатель следующую пробирку и повторить необходимые манипуляции;
- взяв заданный объем крови, вынуть иглу из вены и обработать место пункции.

Взятие крови с помощью шприца

- наложить жгут и обработать зону венепункции антисептиком; распаковать шприц, снять с иглы защитный колпачок и провести венепункцию; медленно выдвигая поршень

заполнить шприц кровью; закрыть иглу защитным колпачком и отсоединить ее от шприца; перелить кровь в пустую чистую пластиковую пробирку.

Получение сыворотки из венозной крови

Если известно, что кровь невозможно доставить в лабораторию в течение суток, необходимо получить сыворотку. Для этого сыворотку крови, взятой в вакуумную или пластиковую пробирку для сыворотки, получают следующим образом:

- закрытую пробирку с кровью оставить при комнатной температуре на 15—20 минут;
- по прошествии этого времени пробирку центрифугировать при 1500 - 3000 оборотов;
- отделившуюся сыворотку аккуратно снять со сгустка стерильной пипеткой (например, пластиковой Пастеровской с закрытым резервуаром) и, соблюдая правила асептики, перенести в сухую стерильную пробирку с крышкой; ИЛИ
- пробирку с кровью, закрытую пробкой, поместить в термостат с температурой 37°C на 30—60 минут;
- после свертывания крови образовавшийся сгусток отделить от стенок пробирки тонкой стеклянной палочкой или прокаленной и остуженной проволокой («обвести сгусток»);
- пробирку поместить на холод для ретракции сгустка;
- после завершения ретракции сыворотку снять со сгустка стерильной пипеткой (например, пластиковой Пастеровской с закрытым резервуаром) и, соблюдая правила асептики, перенести в сухую стерильную пробирку с крышкой; в противном случае она может быть оставлена над сгустком не более чем на 48 часов;
- правильно приготовленная сыворотка должна быть прозрачной, желтого цвета, без следов гемолиза.

Взятие капиллярной крови для постановки микрореакции преципитации с целью диагностики сифилиса

Необходимое оснащение: Капилляр Панченкова. 2.5% раствор натрия лимоннокислого.

Взятие исследуемого материала:

- с помощью капилляра Панченкова в пробирку внести 5% раствор натрия лимоннокислого, набрав его до метки «50»;
- этим же капилляром набрать кровь до метки «0»;
- внести кровь в пробирку с натрия цитратом и перемешать;
- отделить плазму от форменных элементов крови центрифугированием (15 минут при 1000—2000 об/мин) или отстаиванием.

В состав транспортной системы со средой входят: круглодонная пробирка из ударопрочного ПП, содержащая транспортную среду; пробирка оклеена этикеткой, на которой указаны: наименование среды, номер лота, срок годности и/или дата стерилизации; на этикетке имеются места для внесения информации о пациенте; полиэтиленовая защитная пробка, плотно закрывающая пробирку со средой и скрепленная с ней краем этикетки; зонд-тампон, вмонтированный в пробку, идентичную той, что закрывает пробирку со средой; пробирка со средой, закрытая пробкой, и палочка-тампон, вмонтированная во вторую пробку, упакованы вместе в бумагу-полиэтилен и стерилизованы гамма-излучением: на упаковке нанесены номер серии, срок годности и инструкция по использованию.

Основные выводы:

- 1) Взятие материала предпочтительнее проводить до начала антибактериальной терапии. На фоне антибактериальной терапии материал забирают перед очередным приемом (введением) antimicrobных препаратов, то есть в момент, когда их концентрация в организме минимальна;
- 2) при взятии проб следует строго соблюдать правила асептики, во избежание ее случайной посторонней контаминации;
- 3) для взятия проб следует использовать стерильные инструменты, а для их транспортировки стерильные пробирки или контейнеры. Использование нестерильных

сухих, чистых пробирок допускается только для отбора и транспортировки крови на серологические исследования.

4) количество материала должно быть достаточным для проведения исследования;

5) транспортировка материала должна осуществляться в максимально короткие сроки: как правило, не более 1.5-2 часов;

6) все образцы должны иметь четкую маркировку. К каждому образцу прикладывается направление, в котором указывается наименование лечебного учреждения, ФИО врача направившего материал, дата и время получения материала и другая информация необходимая для получения адекватного результата и его правильной интерпретации