

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ОШСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ
ЦИКЛ ОБЩИХ МЕДИЦИНСКИХ ДИСЦИПЛИН

«Утверждено» на заседании цикла
Общих медицинских дисциплин от «___»
_____ 2024 год
№ протокола _____
Зав. каф. Орозалиев Н.Б. Орозалиев Н.Б.

ПЛАН РАЗРАБОТКА ОТКРЫТОГО ЛЕКЦИОННОГО ЗАНЯТИЯ

на тему: **Исследование желудочного сока .**

по дисциплине: **Методы клинических лабораторных исследований.**

Группы: **ЛБД - 2 семестр**

Составитель: **Тойчуева А.У.**

Ош - 2024г.

Тема занятия: **Исследование желудочного сока . (2 часа)**

План занятия:

1. Исследование желудочного сока.
2. Симптомы и причины заболевания.
3. Диагностика язвы, особенности процедуры
4. Противопоказания при заболевании

Литература:

Основные

- 1.Альтгаузен Арон Яковлевич. «Лабораторные клинические исследования».Любина А.Я., Неменова Ю.М., Попесс М.Э., Чернобельская Г.М. «Техника лабораторных работ» изд. Медицина, Москва, 1983 г.
- 2.Воскресенский П.И. «Техника лабораторных работ» 8-е издание изд. «Химия», Москва, 1967 г.

Дополнительная:

- 1.Камышников В.С. «Техника лабораторных работ в клинической практике» 2011 г.
- 2.Кишкун А.А. «Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие для медицинских сестер» 2008 г.
- 3.Кост Е.А. «Справочник по клиническим лабораторным исследованиям».
- 4.Коссирский И.А., Алексеев Г.А.«Клиническая гематология».
- 5.Коссирский И.А. «Справочник по функциональной диагностике»
- 6.Федоров Н.А. «Нормальное кроветворение и его регуляция»
- 7.Воробьева И.В., Лория Ю.И. «Клиническая гематология»
- 8.Меньшикова В.В. «Руководство по клинической лабораторной диагностике»

Программное обеспечение, электронные источники:

1. <http://med-lib.ru>. Большая медицинская библиотека.
2. <http://labdiag.ru> Кафедра клинической лабораторной диагностики РМАПО
3. <http://www.jmicrobiol.com>. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.
4. <http://www.hivrussia.ru> Федеральный центр по борьбе со СПИДом
5. <http://www.cme.msu.edu/Bergeys/> – Bergey's Manual Trust. Headquarters at Michigan State University.
6. <http://www.microbeworld.org/home.htm> – © 2002 American Society for Microbiology.
7. <http://www.bact.wisc.edu/Bact303mainpage> – © 2003, Dr.Kenneth T. (University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology).

Контрольные вопросы:

1. Техника взятия капиллярную кровь для лабораторного исследования?
2. Как проводится исследование клинического анализа крови?
3. Состав и функция крови?
4. Форменные элементы(Эритроциты, лейкоциты, тромбоциты)?

Формы проверки знания:

1. Оперативный опрос.
2. Тестовые задания.

ЦЕЛЬ ЗАНЯТИЯ:

Содержание предмета и цель исследований. Значение клинических лабораторных исследований для диагностики прогноза и лечения различных заболеваний. Краткий исторический очерк развития лабораторной службы.

Формируемые компетенции: ПК-3**Результаты обучения ОПОП, дисциплины и темы**

№	Код и форма Комп-ций	Результаты обучения (ОПОП)	Результаты обучения (дисциплины)	Результаты обучения (темы)	Методы и механизмы
1	ПК-3.	РО-5. Умеет участвовать во внутреннем и лабораторном контроле качества и фиксировать результаты анализов. Может организовать работу среднего медицинского персонала.	Знает : - виды мерной и стеклянной посуды специального назначения; Умеет: - стерилизовать инструменты, лабораторную посуду, питательные среды. Владеет: - техникой пользования лабораторными посудами	Владеет и умеет; -стерилизовать инструменты, лабораторную посуду.	Сопоставительная таблица Ситуационные задачи

Форма занятия: практическая занятия

Тип занятия: Смешанный

Оборудование занятия: Проектор, методички, видеоролик, тесты

Межпредметная связь: химия; биология; генетика; биохимия; анатомия человека; гистология.

Внутрипредметная связь: Лекция №1,2,3

Ход урока:

Этапы занятия	Деятельность преподавателя	Деятельность студента	Методы	Форма оценивания	Ожидаемые результаты	Оборудование занятия	Регламент
Организационный момент	Контроль готовности студентов к занятию.	Внимание студентов к уроку	Индивидуальный опрос	Отметка посещения и формы студентов.	Организовать внимание студентов к уроку	журнал	5
Опрос пройденного материала	1.Жидкая внутренняя среда? 2.Из каких компонентов состоит внутренняя среда? 3.Биологические константы? 4.Соединительной ткань, форменные элементы?	Отвечает на вопросы	Мозговой штурм	За активность	Повторение пройденного материала	карточки	10
Мотивация к изучению новой темы	Стимулировать интерес к занятиям	Продуктивная творческая активность студента	Слово учителя		Внимание студентов к уроку		5
Изложение новой темы	1.Исследование желудочного сока. 2.Симптомы и причины заболевания. 3.Диагностика язвы, особенности процедуры 4.Противопоказания при заболевании	С формировать умение студентов сравнивать, обобщать, делать выводы об особенностях строения клеток крови.	Индивидуальная работа и в группах.		Студенты узнают особенности строения клеток крови, осознают значимость крови.	Учебники, методические материалы.	40

Закрепление новой темы.	Проверять знание студентов о пройденном занятии.	Проводиться в форме самостоятельной работы учащихся с последующей презентацией своей работы и оценкой степени усвоения изложенного материала.	Работа в группах	Выступление и презентация	Решают ситуационные задачи. Научатся работать самостоятельно.	Тетради Ватманы маркеры	10
Подведение итогов	<ol style="list-style-type: none"> 1. Противопоказания к зондированию желудка. 2. Метод фракционного зондирования. 3. Симптомы и причины заболевания. 4. Классификация и виды язвы желудка. 	Отвечает на вопросы	Мозговой штурм	Контрольные вопросы	Оценка достигнутых результатов		10
Оценивание	Стимулировать интерес к занятиям	В конце урока подсчитываются набранные баллы студентов.	бланочная	балл	После оценивания, студенты стремятся учиться хорошо.	Журнал стикеры	5
Домашнее задание	Закрепит пройденный материал и дать возможность работать самостоятельно.	Делать СРС по темам № 1	Реферат, буклет, слайд,		Научать делать выводы по пройденной теме.	силлабус	5

Тема: Исследование желудочного сока.

План:

- 1 Исследование желудка сока.
- 2 Симптомы и причины заболевания.
- 3 Диагностика язвы: особенности и процедуры.
- 4 Противопоказания при заболевании.

Исследование желудочного сока может проводиться натощак (позволяющее судить о секреторной и моторной функции желудка) и после пробного завтрака (позволяющее определить величину кислотности желудочного сока).

Типы пробных завтраков

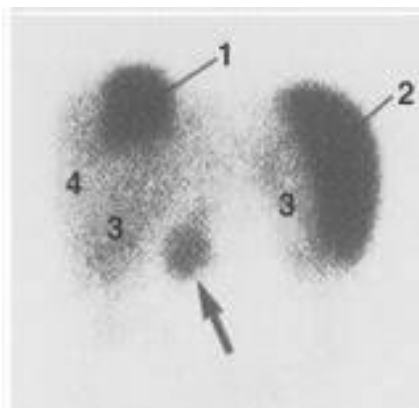
Алкогольный, капустный, кофеиновый и бульонный завтраки используют главным образом для фракционного исследования желудочного содержимого, добываемого тонким зондом; хлебный завтрак — толстым зондом.

Противопоказания к зондированию желудка

Стеноз пищевода, аневризма аорты, кровоточащая язва желудка, резко повышенное кровяное давление и атеросклероз. Метод фракционного зондирования предусматривает изучение на протяжении 1 ч базальной секреции желудка в ответ на раздражение тонким зондом и еще 1 ч последовательной секреции после введения энтерального или парентерального стимулятора.

Метод фракционного зондирования

Лабораторному исследованию подвергается 9 порций желудочного содержимого: порция, полученная натощак, затем 4 порции в течение каждых 15 мин первого часа зондирования — базальная секреция (basal acid output, или ВАО) и 4 порции в течение второго часа зондирования — стимулированная или максимальная секреция (maximal acid output, или МАО).



Преимущества и недостатки толстого и тонкого зондов

Употребляемый хлебный завтрак является более физиологичным раздражителем и дает полное представление о функции желудочных желез. Недостаток данного метода заключается в том, что при этом применяется толстый зонд и содержимое извлекается одномоментно через определенный промежуток времени. Этот способ не охватывает всего периода секреторного процесса, продолжающегося в течение нескольких часов.

Тонкий же зонд при извлечении содержимого из желудка каждые 15 мин (фракционно) дает возможность судить о динамике функций желез на ряде этапов. Однако используемые при этом способы зондирования и пробные завтраки не все физиологичны.



В настоящее время наиболее часто зондирования осуществляются фракционно тонкими зондами, а в качестве стимуляторов используются пищевой (капустный отвар) или химический (гистамин) раздражитель.

Тонкий зонд представляет собой тонкую мягкую резиновую трубку толщиной 3-5 мм и длиной 1,5 м. На расстоянии 50 см на трубку нанесена первая метка, которая соответствует расстоянию от зубов до входа в желудок.

Вторая метка находится на расстоянии 70 см, что соответствует входу в привратник. Третья метка на расстоянии 90 см. К наружному концу зонда прикрепляется 10- или 20-граммовый шприц, посредством которого отсасывают желудочное содержимое.



При введении тонкого зонда больной должен обязательно проглотить его, без этого зонд не попадет в пищевод.

Симптомы и причины заболевания.

Стать основными причинами развития язв в желудке могут:

- патологические воспалительные процессы в ЖКТ;
- среди частых причин заболевания – повышенный уровень кислотности желудочного сока;
- причиной становится постоянный алкоголизм и прием спиртных напитков разной крепости;
- причина может заключаться в хронических стрессах и депрессии;
- снижение иммунитета;
- причины язв также могут возникать под воздействием патогенного микроорганизма *Helicobacter*. Хеликобактер размножается в кислом веществе желудка, обладая некоторыми факторами защиты;
- негативными факторами также выступают наследственность, неправильное и нерегулярное питание;

- заболевание происходит вследствие употребления некачественных продуктов, курения, приема отдельных препаратов со значительными побочными действиями для органов ЖКТ.

Основными симптомами выступают:

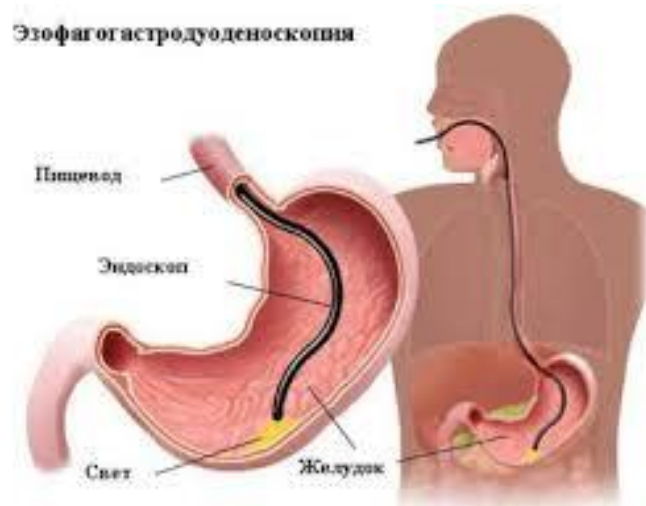
- болезненные ощущения в эпигастральной зоне разной интенсивности – периодические или обостряющиеся. При регулярных болезненных ощущениях необходимо провериться у квалифицированного врача;



- частым симптомом являются голодные боли, которые уменьшаются после употребления пищи;
- характер боли разный – от ноющей до острой режущей. В зависимости от данного симптома назначается медикаментозное лечение для снижения болей и спазмов;
- изжога или отрыжка тухлым, что зависит от уровня желудочной кислотности. Такие симптомы чаще наблюдаются при повышенной кислотности;
- среди частых симптомов присутствует нарушение стула – наблюдаются запоры при повышенной кислотности или поносы при пониженной кислотности;
- из признаков язвы также тошнота, вздутие живота;

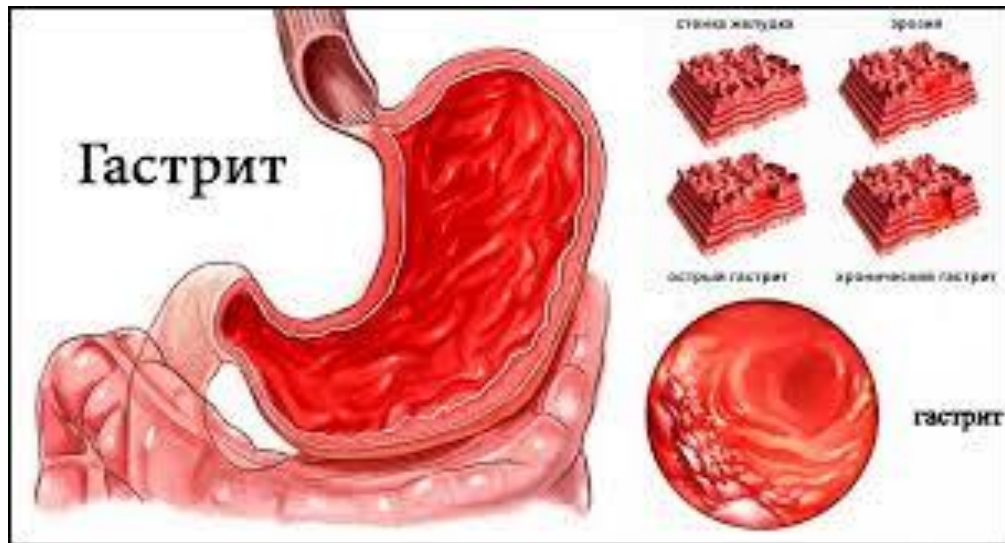
урчание в животе, поскольку патологии подвержены нижележащие отделы ЖКТ.

Своевременно заметив данные признаки, необходимо незамедлительно обратиться к доктору в больницу для постановки



диагноза и назначения соответствующей схемы терапии. При отсутствии реагирования на признаки болезнь протекает с определенными осложнениями:

- перфорация желудка, то есть возникновение сквозного изъяна, соединяющего просвет желудка с областью брюшины;
- пенетрация или дефект в слизистой желудка, который закрывается рядом находящимся органом (сальник или поджелудочная);
- кровотечение в органах ЖКТ – на данный признак необходимо обратить особое внимание, он требует незамедлительной госпитализации и без принятия мер приводит к летальному исходу;
- злокачественное онкологическое образование в области язвы.



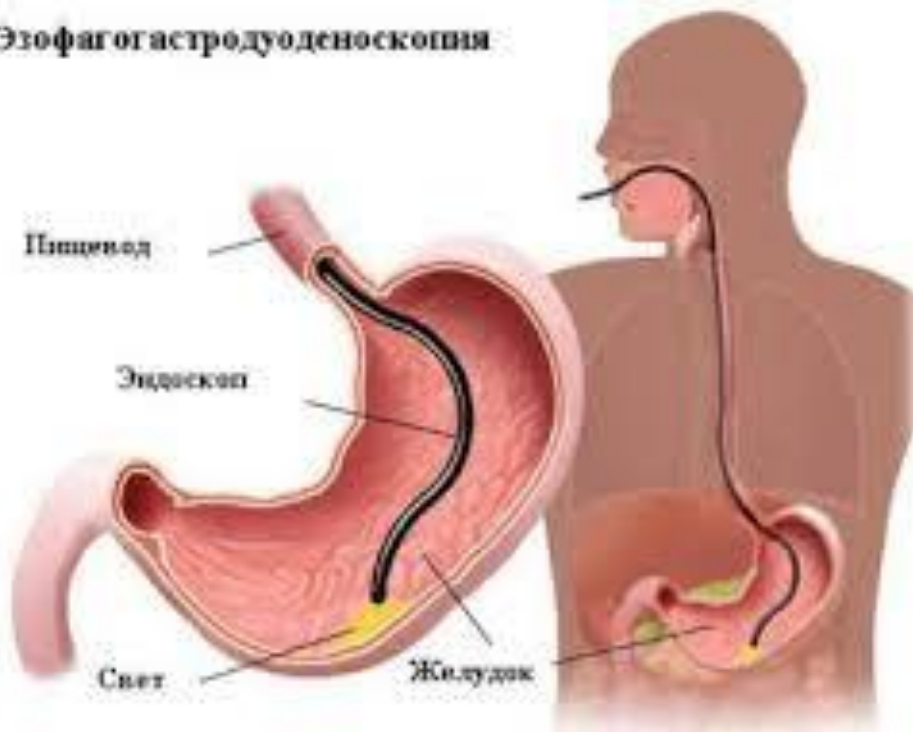
Диагностика язвы: особенности и процедуры.

Диагностика заболевания проводится опытным врачом гастроэнтерологом, который может определить точный диагноз после проведения осмотра, сбора анамнеза и диагностики аппаратными методами. Гастроэнтеролог проводит анализ анамнеза заболевания и жалоб пациента, семейного анамнеза, а также проводит ряд диагностических мер. Язва диагностируется при помощи общего анализа крови и мочи, осуществляется исследование кислотности желудочного сока, проводится диагностика методом эзофагогастродуоденоскопии. При подозрении на внутреннее кровотечение и для точной постановки диагноза, собирается анализ кала на скрытую кровь.

Основной целью врача при диагностике выступает подтверждение язвенного дефекта в стенке желудка, наличия хеликобактера у пациента. Заболевание диагностируют способами:

- рентгенологический метод с использованием бариевой взвеси;
- фиброгастродуоденоскопия визуализация слизистой желудка посредством специального увеличительного прибора;
- уреазный метод – основан на выявлении уреазы в выдыхаемом воздухе, возникающей в итоге размножения хеликобактера в желудке;
- ПЦР диагностика – определяет комплексы нуклеиновых кислот, которыми характеризуется хеликобактер;
- серологические методы диагностики заболевания, подразумевающие определение иммуноглобулинов к хеликобактеру;

Эзофагогастродуоденоскопия



- Тоспециализированные тесты, выполняемые при фиброгастродуоденоскопии.

Одновременно выполняются обследования, обеспечивающие возможность исключить развитие патологических осложнений. Проводятся УЗИ исследования органов брюшины, рентгеноконтрастное исследование с использованием бария, что позволяет определить размеры язвы.

Классификация и виды язвы желудка.

Принято определять несколько видов язвы желудка:

- антрального отдела;
- привратника;
- тела желудка.

По степени кислотности язва бывает:

- с повышенной кислотностью (чаще всего);

- с пониженной;
- с нормальной.

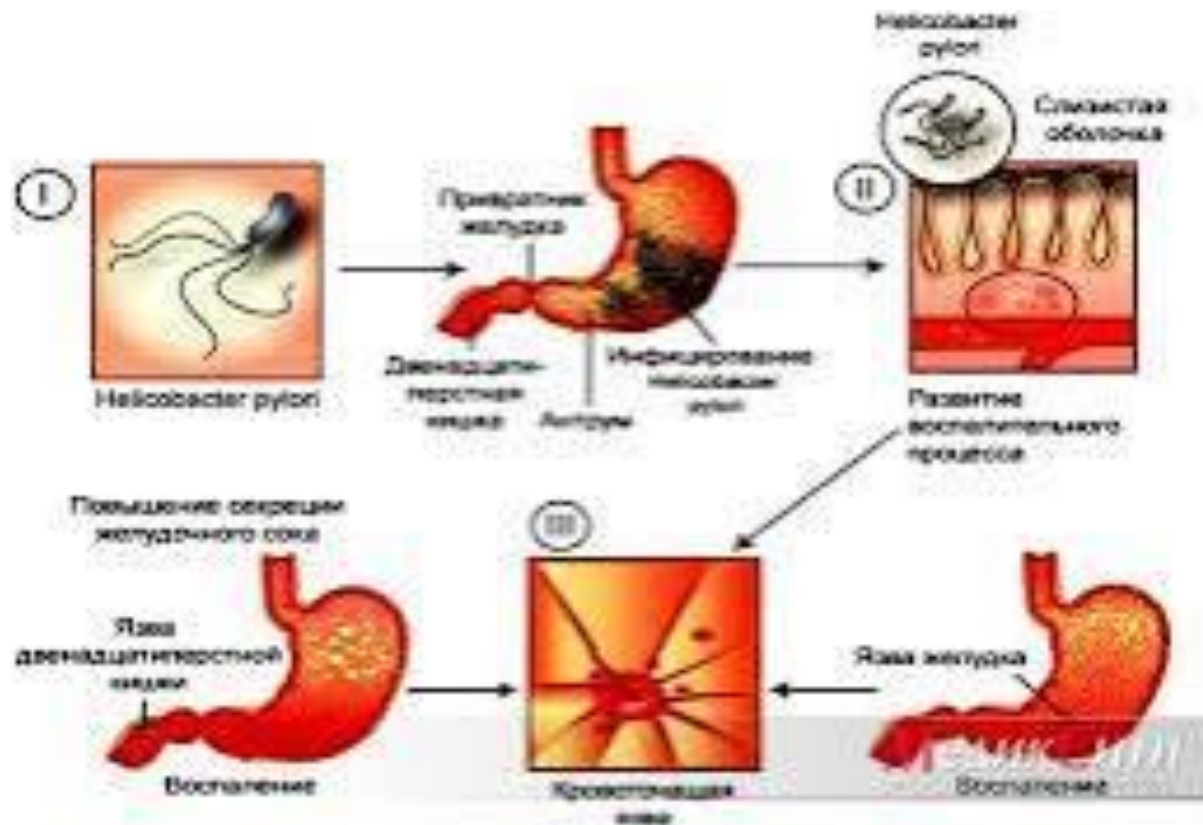
Гастрит с пониженной кислотностью



Симптомы:

- тошнота,
- боли в желудке после еды спустя 1 час,
- тухлая отрыжка

Зависимо от стадии, особенностей заболевания, причин и признаков, врач назначает определенную схему лечения язвы желудка при помощи медикаментов или хирургическим путем.



Противопоказания при заболевании.

Основные противопоказания в случае язвы желудка и двенадцатиперстной кишки включают:

- употребление крепкого кофе и чая;
- злоупотребление крепкими спиртными напитками и курением;
- употребление вредной пищи, жирной, острой, жареной, которая требует длительного переваривания, большого количества желудочного сока;
- употребление животных жиров;
- редкое неправильное питание, употребление чрезмерных порций и переедание.

Вопросы

1. Какой состав желудочного сока?
2. Как исследовать желудочный сок?
3. Какой орган вырабатывает желудочный сок?
4. Какие ферменты находятся в желудочном соке?
5. Что показывает анализ желудочного сока?
6. Что можно обнаружить в желудочном соке?
7. Что можно растворить в желудочном соке?
8. Какие признаки характеризуются желудочный сок человека?
9. Желудочный сок как выглядит?
10. Методы получения желудочного содержимого?

1. Ознакомиться с правилами работы с оборудованием в микробиологической лаборатории.

Вся работа с микробами проводится в лабораториях, которые в зависимости от основных задач могут быть научно-исследовательскими, диагностическими или производственными.

В системе органов здравоохранения имеются:

- клинико-диагностические лаборатории общего или специального (биохимическая, бактериологическая, иммунологическая, цитологическая и др.) типов, входящие в состав больниц, поликлиник, диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений;
- бактериологические лаборатории Госсанэпиднадзора (ГСН);
- санитарно-бактериологические лаборатории ГСН;
- санитарно-химические лаборатории ГСН;
- центральные (ЦНИЛ), проблемные, отраслевые, учебные лаборатории вузов;
- специализированные лаборатории (особо опасных инфекций и др.).

В настоящее время лаборатории и более крупные лабораторные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированные и работают с той или иной группой микробов. С вирусами работают в вирусологических лабораториях, располагающих соответствующим оборудованием и использующих специальные методы исследования. Существуют микологические и протозоологические лаборатории. Специализированный характер

приобретают и бактериологические лаборатории, в которых работа концентрируется на определенных группах бактерий, например риккетсиозные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др. Иммунологические исследования проводятся в иммунологических лабораториях, хотя отдельные виды исследований могут выполняться и в микробиологических лабораториях, например серодиагностика инфекционных болезней.

Лабораторная работа с патогенными микробами проводится в специально оборудованных лабораториях, обеспечивающих режим работы и технику безопасности, исключающих возможность заражения персонала и утечку микробов за пределы лаборатории.

Необходимость четкой регламентации условий работы с микробами, в различной степени опасными для сотрудников лабораторий и окружающего населения, обусловила разработку классификации микробов, разбив их на 4 группы по степени их биологической опасности (классификация ВОЗ). В России в соответствии с рекомендациями ВОЗ патогенные микробы также делят на 4 группы: 1-я группа - возбудители особо опасных инфекций; 2-я группа - возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека; 3-я группа - возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы; 4-я группа - условно-патогенные микробы - возбудители оппортунистических инфекций. Нумерация групп микробов, принятая в России, отличается обратным порядком от классификации ВОЗ, где к 1-й группе относятся микробы самой низкой патогенности, а к 4-й группе - особо опасные.

В соответствии с делением микробов на группы по степени биологической опасности лаборатории также делят на категории. По номенклатуре ВОЗ выделяют 3 категории микробиологических лабораторий:

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

Безопасность работ в лабораториях всех категорий обеспечивается выполнением распорядка и правил работы в лаборатории, выполнением требований к лабораторным помещениям и их оснащению, обеспечением лабораторий соответствующим оборудова-

нием, медицинским наблюдением за состоянием здоровья сотрудников, обучением и тренировкой персонала технике безопасности в лаборатории.

Оснащение микробиологических и иммунологических лабораторий

Помещения базовой лаборатории должны быть просторными для обеспечения безопасного проведения лабораторной работы. Стены, потолок, пол должны иметь гладкую, легко моющуюся поверхность, непроницаемую для жидкостей, устойчивую к дезинфектантам, обычно используемым в лаборатории. Поверхность рабочих столов должна быть водонепроницаемой, устойчивой к дезинфектантам, кислотам, щелочам, органическим растворителям и умеренному нагреванию. Лабораторная мебель должна быть прочной. Пространство под столами и между мебелью должно быть легкодоступно для уборки. В лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания отходов.

Оборудование базовой лаборатории должно ограничивать или предупреждать контакт микробиолога с инфекционным материалом, должно быть изготовлено из прочных материалов, непроницаемых для жидкостей, устойчивых к коррозии. Оборудование должно быть сконструировано и установлено так, чтобы оно легко подвергалось чистке, обеззараживанию и проверке.

Лабораторию оснащают микроскопом, автоклавом, термостатами, сушильными, стерилизационными шкафами, аппаратом для свертывания сыворотки, дистиллятором, центрифугами, лабораторными весами, рН-метром, ФЭК, магнитной мешалкой, моечной ванной.

Рабочие помещения лаборатории должны быть снабжены подводкой холодной и горячей воды, электричеством, вакуумом, кислородом, воздухом высокого давления и т.п. В некоторых кабинетах оборудуются боксы и вытяжные шкафы.

В число обязательных помещений входят лаборатории кишечных, капельных инфекций, санитарно-бактериологическая, серологическая, а также вспомогательные помещения: средоварка, моечная, стерилизационная (чистая и грязная), регистратура, кладовые, санузел для сотрудников, виварий. В лабораториях с пунктами для обследования на носительство микроорганизмов дополнительно оборудуют приемную, процедурную, туалеты для забора

материала. Располагают помещения таким образом, чтобы грязный и чистый потоки не перекрещивались и не соприкасались.

В отношении помещений режимных лабораторий должны соблюдаться те же требования, которые предусмотрены для базовой лаборатории. Кроме того, лаборатория этого типа должна быть отделена от тех частей здания, где передвижение сотрудников не ограничивается. Устройства для мытья рук должны быть снабжены приспособлениями для открывания воды ножной педалью или локтем. Окна должны быть закрыты и заклеены. Входные двери в лабораторные помещения должны быть самозакрывающимися и запирающимися на замок. Вытяжная вентиляция проектируется так, чтобы наиболее низкое давление создавалось в помещениях самой высокой опасности инфицирования. В этом случае движение воздуха будет происходить из вспомогательных помещений в направлении основного рабочего помещения. Отработанный воздух выбрасывается в окружающую среду только после фильтрации через бактериальные фильтры. При оснащении режимных лабораторий оборудованием руководствуются рекомендациями, разработанными для базовых лабораторий, с тем дополнением, что вся работа с инфекционным материалом в них проводится в защитных боксах. В режиме максимально изолированных лабораторий существует ряд особенностей для обеспечения максимальной биологической безопасности персонала, населения и окружающей среды. Вход в лабораторию и выход из нее осуществляются через санитарный пропускник. При входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, при выходе перед переодеванием обязательна целевая санитарная обработка (душ, дезинфектанты) персонала. Для снижения риска попадания инфекционного материала в окружающую среду применяют боксирование. С помощью **боксов** (настольных, ламинарных) создают физические барьеры для предотвращения возможных контактов работающего персонала с инфекционным материалом.

Правила работы в микробиологической лаборатории

Основные правила работы в базовой лаборатории включают:

- запрет работ с пипеткой при помощи рта;
- запрет приема пищи, питья, курения, хранения пищи и применения косметических средств в рабочих помещениях;
- поддержание чистоты и порядка;
- дезинфекцию рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала;
- мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;
- проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;
- обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием.

Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней

Наиболее важное место в лабораторной диагностике инфекционных болезней занимает специфическая микробиологическая диагностика, которую проводят в бактериологической, вирусологической, иммунологической и других лабораториях. Она состоит из трех этапов: преаналитического, аналитического и постаналитического.

Первым этапом микробиологической диагностики является *преаналитический*, включающий взятие материала для исследования. Выбор исследуемого материала определяется патогенезом и клинической картиной инфекционного заболевания. Исследуемый материал берут по возможности в асептических условиях, помещают в стерильную посуду и как можно быстрее доставляют в лабораторию (желательно в течение 1 ч). В некоторых случаях посев материала проводят у постели больного. Иногда допускается непродолжительное хранение материала в регламентированных условиях. Исследуемый материал сопровождается документом, в котором обязательно указываются время взятия, характер материала, его источник и точно определяется цель исследования.

Материалом для исследования в медицинской микробиологии служат различные биологические и патологические жидкости организма (кровь, гной, моча, мокрота, ликвор, испражнения, рвотные массы, промывные воды и т.п.) и ткань - материал биопсии от живого или аутопсии от трупа. В санитарной микробиологии на исследование берут объекты окружающей среды (воздух, воду, пищевые продукты и т.п.) или смывы с них. При заборе материала-

ла для микробиологического исследования необходимо соблюдать следующие правила:

- материал берут непосредственно из очага инфекции или исследуют соответствующее отделяемое (гной, мочу, желчь и т.п.);
- количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости;

- материал берут по возможности в начальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаще, их больше, они имеют более типичную локализацию;

2. Методы исследования.

Методы микробиологической диагностики

Аналитический этап включает микроскопический, культуральный, биологический, серологический и аллергологический методы микробиологической диагностики.

Микроскопический метод заключается в приготовлении препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными методами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная, электронная и др.). В бактериологии микроскопический метод получил название бактериоскопического, в вирусологии - вирусоскопического.

Культуральный метод заключается в посеве исследуемого материала на искусственные питательные среды, культуры клеток или куриные эмбрионы с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителя или возбудителей. В бактериологии культуральный метод получил название **бактериологического**, в микологии - **микологического**, в протозоологии - **протозоологического**, в вирусологии - **вирусологического**.

Биологический метод (экспериментальный или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных лабораторных животных или других биологических объектов (куриные эмбрионы, культуры клеток). Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина, 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 используются иммунные реакции.

Аллергологический метод заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат-аллерген. С этой целью ставят кожные аллергические пробы с соответствующими аллергенами.

Диагностическая ценность этих методов неравнозначна. Ведущим методом микробиологической диагностики является **бак- териологический метод**, так как он позволяет выделять и идентифицировать микроб-возбудитель, т.е. первопричину болезни. Остальные методы менее информативны, так как они позволяют обнаружить в организме изменения, обусловленные наличием в нем микроба. Второе место по значимости занимает **серологический метод**, поскольку взаимодействие антигена и антитела характеризуется высокой степенью специфичности. Информативность трех остальных методов невысокая, и они обычно служат дополнением к бактериологическому и серологическому методам. Так, микроскопия исследуемого материала далеко не всегда позволяет увидеть и идентифицировать микробы под микроскопом. Их удается обнаружить только при высокой обсемененности ими материала. Даже обнаружив бактерии под микроскопом, идентифицировать их до вида морфологически нельзя. Как известно, все видовое многообразие бактерий сводится к 4 основным морфологическим формам: кокки, палочки, извитые и ветвящиеся формы.

Поэтому по микро-

скопической картине можно весьма ориентировочно отнести увиденные бактерии к крупному таксону, например грамположительным коккам. Только в единичных случаях, когда бактерии имеют уникальную морфологию, микроскопически можно определить их родовую принадлежность.

Информативность микроскопического метода грибов и простейших выше, так как грибы и простейшие, являясь эукариотами, имеют более крупные размеры и более характерную морфологию.

Диагностические возможности биологического метода ограничены тем, что к большинству возбудителей антропонозных инфекций человека лабораторные животные невосприимчивы, поэтому вызвать у них экспериментальную инфекцию не представляется возможным.

Возможности аллергологического метода ограничены тем, что большинство микробов в организме человека не вызывают ГЗТ.

Поскольку микробиологические исследования являются одним из наиболее дорогих видов лабораторных исследований, перед микробиологом стоит задача постановки достоверного микробиологического диагноза с наименьшей затратой времени, сил и средств. Поэтому для постановки диагноза используют 1-5 методов диагностики, чтобы выбранный набор методов гарантировал правильность ответа.

Особое значение приобретают методы экспресс-диагностики, которые позволяют поставить микробиологический диагноз в течение короткого промежутка времени (от нескольких минут до нескольких часов) с момента доставки исследуемого материала в лабораторию. К числу экспресс-методов относятся РИФ, ИФА, РИА, ПЦР, использование биочипов, хроматография и др. Особенности диагностики анаэробных инфекций изложены в материалах диска.

Наряду с традиционными классическими методами микробиологической диагностики в последние годы все большее значение приобретают молекулярно-биологические методы диагностики (ДНК-зонды, ПЦР, лигазная цепная реакция - ЛЦР, хроматография, электрофорез, иммуноблот, биочипы и др.).

Молекулярно-биологические методы диагностики основаны на идентификации ДНК и РНК, специфичных для данного вида микробов, и включают гибридизацию на основе ДНК-зондов и диагностику на основе ПЦР.

Постаналитический этап микробиологической диагностики заключается в клинической интерпретации результатов лабораторных исследований. При этом лечащий врач должен оценить этиологическое значение выделенных от больного микробов, скорректировать на основании данных микробиологического мониторинга проводимую больному эмпирическую антимикробную химиотерапию и др.

3. Устройство микроскопа. Приготовление мазка из зубного налёта. Окраска по Грамму.

1. Оптическая часть: окуляр, объектив, конденсор Аббе, осветительный прибор (зеркальце).
2. Механическая часть: штатив, подставка, предметный столик, тубус, тубу-содержатель, макровинт, микровинт. Увеличение микроскопа равно произведению увеличения объектива на увеличение окуляра.

Все микробиологические исследования по выявлению и идентификации микроорганизмов осуществляются в научно-исследовательских институтах и бактериологических лабораториях центров Госсанэпиднадзора.

Для обеспечения требований безопасности при работе с микроорганизмами III—IV групп патогенности и поточности продвижения потенциально инфицированного материала в бактериологической лаборатории выделяют «чистую» и «заразную» зоны.

В состав бактериологической лаборатории входят:

регистратура (приемная) — производится прием и регистрация поступившего для исследования материала, дается номер отобранной пробе;

* средоварная — приготовление питательных сред из сухих;

* препараторская — подготовка лабораторной посуды, ватно-марлевых пробок, тампонов и т. д.;

* стерилизационные — стерилизация питательных сред, растворов, посуды;

* «заразные» стерилизационные — служат для обеззараживания патологического материала; посевная — производится первичный посев материала на питательные среды;

* лабораторные комнаты — служат для исследований на капельную, кишечную группы бактерий, для санитарно-бактериологических исследований. Лабораторное помещение оборуется столами лабораторного типа, шкафами и полками для хранения необходимой при работе аппаратуры, посуды, красок и реактивов.

Для того чтобы увидеть микроорганизмы, их необходимо окрасить. Существуют простые и сложные способы окрашивания микроорганизмов. При простом способе окрашивания на мазок наносится один краситель, при сложном способе окрашивания — 2 или более красителей. К таким способам окрашивания относится окраска по Граму. Соответственно выделяют формы бактерий грамположительные (окрашиваются в фиолетовый цвет) и грамотрицательные (окрашиваются в красный цвет). Грамположительные бактерии имеют несложно организованную, но мощную клеточную стенку, состоящую из множественных слоев пептидогликана, включающих уникальные полимеры тейхоевых кислот. Грамотрицательные бактерии имеют более тонкую клеточную стенку, включающую бимолекулярный слой пептидо-гликана и не содержащую тейхоевой кислоты.

Грам +

Грам -

Мембрана

Мукопептиды (муреины)

Мембрана

Лишшолисахариды и белки

Приготовление мазка из зубного налета

1. Небольшое количество зубного налета снять острым концом спички.
2. Растереть на предметном стекле размером с пятикопеечную монету.
3. Мазок зафиксировать путем трехкратного проведения над пламенем горелки.
4. Мазок окрасить по Граму.
5. Промыть водой.
6. Высушить фильтровальной бумагой и на воздухе.
7. Микроскопировать.

Окраска препарата по Граму

1. Небольшое количество генцианвиолета нанести на препарат; время окраски — 2 мин.
2. Избыток краски слить в лоток, на препарат нанести пипеткой несколько капель раствора Люголя на 1 минуту.
3. На препарат налить несколько капель спирта, обесцвечивание проводить до отхождения фиолетовых капель — струи краски, но не более 30 с.
4. Мазок тщательно промыть водой.
5. Мазок докрасить разведенным фуксином — 2 мин.

Микроскопирование препарата

1. Установить освещение: конденсор должен быть поднят до упора, настройку производить с объективом малого увеличения 8-х — необходимо белое освещенное поле.
2. Препарат поместить на предметный столик.

3. Макровинтом опустить объектив на расстояние 0,5 см от препарата.
4. Глядя в окуляр, получить изображение препарата, вращая макровинт против часовой стрелки (на себя).
5. Произвести точную фокусировку с помощью микровинта.
6. Переместить револьвер на большое увеличение (объектив 40-х) и провести дефокусировку только микровинтом.
7. После просмотра препарата перевести револьвер на увеличение 8-х (малое) и только после этого снять препарат с предметного столика.

Кроме окраски по Граму к сложным дифференциальным методам окраски относятся:

1. Окраска кислотоустойчивых бактерий по Цилю—Нильсену фиксированный на пламени горелки мазок окрашивают 3—5 мин раствором карболового фуксина Циля или окрашенной фуксином бумажкой с подогреванием до появления паров, но не доводя краску до кипения;

* дают препарату остыть, бумажку снимают, сливают избыток краски, препарат промывают водой;

* окрашенный препарат обесцвечивают 5% H_2SO_4 (серной кислотой) в течение 3—5 с или 96° этиловым спиртом, содержащим 3% по объему соляной кислоты, несколько раз погружая в стаканчик с раствором;

* после обесцвечивания остаток кислоты сливают, препарат промывают водой;

* докрашивают дополнительно метиленовой синью Леф-флера 3—5 мин, промывают водой, подсушивают и микроскопируют.

Результаты окраски: при окраске препаратов по методу Циля—Нильсена кислотоустойчивые бактерии окрашиваются фуксином в красный цвет.

2. Окраска по Романовскому—Гимзе

Краска Романовского—Гимзы состоит из смеси азура, эозина и метиленовой сини. Перед употреблением к 10 мл дистиллированной воды прибавляют 10 капель краски Романовского—Гимзы. Приготовленный раствор краски наносят на фиксированный мазок и оставляют на 1 ч. Затем краску сливают, препарат промывают водой и высушивают на воздухе. Краска Романовского—Гимзе окрашивает микробы в фиолетово-красный цвет.