СЕВЕРНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

КУРС КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Руководитель проф. Воробьёва Н.А.

**Сбор и транспортировка проб биологических материалов для бактериологического исследования**

Выполнила врач-ординатор Петрова Л. В.

Архангельск 2009 г.

Содержание

[Ведение](#_Toc212205751)

[1. Общие положения](#_Toc212205752)

[2. Правила биологической безопасности](#_Toc212205753)

[3. Оборудование и среды для взятия материала](#_Toc212205754)

[4. Техника взятия основных видов биологического материала](#_Toc212205755)

[4.1 Кровь](#_Toc212205756)

[4.2 Ликвор](#_Toc212205757)

[4.3 Отделяемое из верхних дыхательных путей](#_Toc212205758)

[4.3.1 Мазок со слизистых передних отделов полости носа](#_Toc212205759)

[4.3.2 Соскоб со слизистых передних отделов полости носа](#_Toc212205760)

[4.3.3 Слизь из носоглотки и носа](#_Toc212205761)

[4.3.4 Слизь с задней стенки глотки](#_Toc212205762)

[4.3.5 Слизь с задней стенки глотки](#_Toc212205763)

[4.3.6 Назальный смыв](#_Toc212205764)

[4.3.7 Аспират из придаточных пазух](#_Toc212205765)

[4.4 Отделяемое из нижних отделов дыхательных путей](#_Toc212205766)

[4.4.1 Мокрота](#_Toc212205767)

[4.4.2 Промывные воды бронхов](#_Toc212205768)

[4.4.3 Пробы, полученные с использованием бронхоскопа](#_Toc212205769)

[4.5 Желчь](#_Toc212205770)

[4.6 Моча](#_Toc212205771)

[4.7 Отделяемое из мочеполовых органов мужчин и женщин](#_Toc212205773)

[4.7.1 Твердый шанкр, папулы, розеолы](#_Toc212205774)

[4.7.2 Материал из уретры](#_Toc212205775)

[4.8 Материал из половых органов у мужчин](#_Toc212205776)

[4.8.1 Язва полового члена](#_Toc212205777)

[4.8.2 Материал из простаты](#_Toc212205778)

[4.8.3 Материал из яичка, егопридатков и паховых лимфатических узлов](#_Toc212205779)

[4.9 Отделяемое женских половых органов](#_Toc212205780)

[4.9.1 Материал из влагалища](#_Toc212205781)

[4.9.2 Материал из цервикального канала](#_Toc212205782)

[4.10 Раневые (хирургические) инфекции](#_Toc212205783)

[4.11 Пробы при воспалительных заболеваниях глаз](#_Toc212205784)

[4.11.1 Материал с конъюнктивы](#_Toc212205785)

[4.11.2 Соскоб с роговицы](#_Toc212205786)

[4.11.3 Смыв с контактных линз](#_Toc212205787)

[4.12 Пробы при воспалительных заболеваниях органов слуха](#_Toc212205788)

[4.12.1 Отделяемое из наружного слухового прохода](#_Toc212205789)

[4.12.2 Жидкость при тимпаноцентезе](#_Toc212205790)

[4.13 Инфекции в стоматологии](#_Toc212205791)

[4.13.1 Содержимое из зубодесневого кармана](#_Toc212205792)

[4.14 Пробы испражнений](#_Toc212205793)

[4.14.1 Нативные испражнения](#_Toc212205794)

[4.14.2 Ректальные мазки (Rectal swabs)](#_Toc212205795)

[5. Особенности взятия материала и оформления направления на исследование при некоторых клинических ситуациях](#_Toc212205796)

[5.1 Оформление направлений на исследование](#_Toc212205797)

[5.2 Взятие материала для выявления стрептококков группы В](#_Toc212205798)

[5.3 Взятие материала для диагностики дисбактериоза и заболеваний, вызываемых условно-патогеными бактериями](#_Toc212205799)

[5.4 Взятие материала при подозрении на холеру по МУ 4.2.1097-02](#_Toc212205800)

[5.5 Взятие рвотных масс и промывных вод](#_Toc212205801)

[5.6 Взятие биоптата для исследования на хеликобактер](#_Toc212205802)

[5.7 Взятие материала при подозрении на интранатальную инфекцию](#_Toc212205803)

[5.8 Грудное молоко](#_Toc212205804)

[5.9 Серодиагностика](#_Toc212205805)

[5.10 Взятие крови из вены](#_Toc212205806)

[5.11 Взятие крови с помощью вакуумной системы](#_Toc212205807)

[5.12 Взятие крови с помощью шприца](#_Toc212205808)

[5.13 Получение сыворотки из венозной крови](#_Toc212205809)

[5.14 Взятие папиллярной крови для постановки микрореакции преципитации с целью диагностики сифилиса](#_Toc212205810)

[Заключение](#_Toc212205811)

[Список использованных источников](#_Toc212205812)

# Ведение

В данном реферате я отразила правила сбора и транспортирования некоторых биологических материалов в микробиологические лаборатории. Приведённые способы помогут повысить качество результатов лабораторных исследований, что в свою очередь создаст условия для своевременной организации противоэпидемических и профилактических мероприятий, а также будет способствовать качественной профилактике внутрибольничных инфекций как у медицинского персонала, так и пациентов.

# 1. Общие положения

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.

При взятии пробы следует строго соблюдать правила асептики, во избежание ее случайной посторонней контаминации.

Для взятия проб следует использовать стерильные инструменты, а для их транспортировки стерильные пробирки или контейнеры. Использование нестерильных сухих, чистых пробирок допускается только для отбора и транспортировки крови на серологические исследования.

Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования.

Транспортировка материала должна осуществляться в максимально короткие сроки: как правило, не более 1,5 — 2 часов.

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

Материал для исследования на неспорообразующие анаэробы, доставляемый без использования транспортных систем со средой (консервантов) должен транспортироваться:

* в специальном герметично закрытом флаконе, заполненном инертным газом, в который проба вносится путем прокола крышки иглой шприца;
* в одноразовом шприце, из которого удален воздух, и кончик которого закрыт либо стерильной резиновой пробкой, либо иглой, с надетым на нее штатным защитным колпачком.

Все образцы должны иметь четкую маркировку, обеспечивающую их безошибочную идентификацию. К каждому образцу прикладывается направление. 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. 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, 1% раствором протаргола; рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором борной кислоты 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), желательно - 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.

# 3. Оборудование и среды для взятия 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, изготовляемые 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 (18 мл 1/15М раствора КН2Р04 + 8,2 мл 1/15 М раствора NaHP04; pH 7,4), встряхивают, высушивают в термостате, помещают в пробирки и стерилизуют в автоклаве при 120°С 30 минут.

Если тампоны предназначены для взятия материала на гонорею их 20 минут кипятят в фосфатном буфере (181,7 мл 0,2М NaH,P04 + 18,3 мл 0,1 М раствора лимонной кислоты; рН 7,4) 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°С 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 diphteriae, Trichomonas vaginalis, Streptococcus sp., Salmonella sp., Shigella sp. и др. Наиболее требовательные микроорганизмы сохраняются в данной среде более суток, прочие -до нескольких дней.

Наличие в среде тиогликолата подавляет ферментативную активность бактерий, а отсутствие азота предотвращает их размножение.

Транспортная система со средой Кери Блейр

Представляет собой модификацию базовой транспортной среды Стюарта, предназначенную специально для фекальных образцов. Глицерофосфат, являющийся метаболитом некоторых энтеробактерий (Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, и др.), заменен неорганическим фосфатом, удален метиленовый синий, и рН среды поднята до 8,4.

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 средойЭймса

Представляет собой очередную модификацию базовой транспортной среды Стюарта, в которой глицерофосфат заменен неорганическим фосфатом, поскольку глицерофосфат является метаболитом некоторых энтеробактерий (Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, ets.) и может поддерживать рост некоторых грамотрицательных микроорганизмов.

Метиленовый синий заменен на активированный уголь фармацевтического качества. В среду добавлены кальций и магний для поддержания проницаемости бактериальных клеток.

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.2 часов. При использовании транспортной системы со средой срок доставки пробы в лабораторию может быть продлен максимально до 72 часов.

# 4. Техника взятия основных видов биологического материала

##

## 4.1 Кровь

Показания к проведению исследования: клиническая картина сепсиса; лихорадочные состояния неустановленной этиологии; пневмонии; подозрение на инфекционные заболевания: брюшной тиф и паратифы, сальмонеллезы, бруцеллез, возвратный тиф, лептоспирозы, малярия, эпидемический менингит, пневмококковые инфекции, пищевые токсикоинфекции (при наличии лихорадки), стафилококковые и стрептококковые инфекции, сибирская язва, туляремия, чума.

Количество независимо отбираемых проб крови и время их взятия определяется лечащим врачом (табл. 1). 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%.

Таблица 1. Рекомендуемое число отбираемых проб крови в зависимости от клинической ситуации

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Клиническое состояние | Кол-вопроб | Примечание |
| Острый сепсис, менингит, менингококоцемия, остеомиелит, артрит, острая пневмония, пиелонефрит | 2 | из двух сосудов или двух участков кровеносного сосуда перед началом антибактериальной терапии |
| Лихорадка неясного генеза | 4 | сначала 2 пробы из разных кровеносных сосудов (двух участков сосуда), затем через 24—36 ч. еще 2 пробы |
| Эндокардит, вялотекущий сепсис:в период обострения при подостром или вялотекущем течении | 2 - 3(6) | из двух сосудов или двух участков кровеносного сосуда первые 1— 2 часа подъема температуры тела, до начала терапии сначала 3 пробы с интервалом 15 мин. и более. Если они отрицательны, на вторые сутки собирают еще 3 |
| Эндокардиты у пациентов:получающих антибактериальную терапию на фоне антибиотикотерапии | 6 | по 2 отдельные пробы в течение трех дней в течение 48 ч |

У больных, получающих антибактериальные препараты, пробы необходимо собирать непосредственно перед введением следующей дозы препарата. При наличии лихорадки оптимальным является взятие крови на фоне повышения температуры тела (но не на пике температуры!).

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. При использовании изготовленной в лаборатории среды СКС в качестве индикатора анаэробиоза в нее добавляют резазурин, который краснеет в присутствии кислорода. В случае покраснения более 20% верхней части столбика среду регенерируют прогреванием в течение 20 минут в кипящей водяной бане. Регенерацию можно провести лишь однократно. При отсутствии резазурина среду регенерируют перед посевом в обязательном порядке. Оптимальным средством отбора пробы венозной крови являются вакуумные двухфазные флаконы к аппарату Бактек (Bactec).
3. 70° этиловый спирт.
4. 2% или 5% настойка йода.
5. Венозный жгут.
6. Резиновые (латексные, виниловые) перчатки.
7. 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 приготовленного 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.

Бактериологическая лаборатория при исследовании посевов крови выдает отрицательный ответ в случае, если рост микроорганизмов не обнаружен в течение 10 дней инкубации. В случае наличия у больного подозрения на внутрисосудистую инфекцию или бруцеллез возникает необходимость пролонгированной (до 1 месяца) инкубации посевов. Это должно быть особо отмечено в направлении. Рутинный посев крови не обеспечивает выявления ряда микроорганизмов.

##

## 4.2 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:

1. Игла для люмбальной пункции.
2. Мандрены.
3. Анестетик.
4. 70° этиловый спирт.
5. 2% или 5% настойка йода или другой антисептик, разрешенный к применению.
6. Перевязочный материал.
7. Стерильные пластиковые пробирки, лучше центрифужные с завинчивающимися крышками.
8. Шоколадный агар (желательно).
9. 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.

Согласно МУК 4.2.1887—04 ликвор после пункции распределяют следующим образом:

* 1,0 мл направляют в клиническую лабораторию для проведения общего ликворологического и цитологического исследования;
* 0,2 мл направляют для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР);
* 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;
* 0,5 мл засевают в чашку с «шоколадным» агаром непосредственно у постели больного. Далее чашку хранят в условиях термостата при 37°С до доставки в лабораторию;
* 0,5 мл засевают в 5,0 мл 0,1% полужидкого питательного агара непосредственно у постели больного и далее хранят при +37°С 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°С; 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°С.

При необходимости проведения вирусологических исследований пробы ликвора в стерильной пластиковой пробирке помещают в холодильник при температуре +2...+8°С или замораживают.

При получении материала пункцией боковых желудочков мозга, ликвор из шприца, предварительно сняв иглу, вносят в стерильную пробирку над пламенем спиртовки, обжигают горлышко стеклянной пробирки и пробку в пламени спиртовки.

##

## 4.3 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 Streptococus pyogenes.

Для выявления таких видов микроорганизмов, как менингококки, дифтерийная палочка, гемофильные бактерии, о необходимости которого врач должен проинформировать лабораторию, для посева будут использованы специальные питательные среды.

Диагностика некоторых специфических форм ангин осуществляется с помощью бактериоскопического исследования. Микроскопия мазков необходима при диагностике ангины Людвига (тяжелая гнилостно-некротическая флегмона полости рта полимикробной этиологии) и ангины Симановского-Плаута-Венсана (некротическая ангина, вызываемая симбиозом Fusobacterium DPP. и Treponema vincentii).

#### 4.3.1 Мазок со слизистых передних отделов полости носа

Показания к проведению исследования: диагностика стафилококкового бактерионосительства.

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

Взятие исследуемого материала:

Материал забирается одним сухим вискозным тампоном тубcера 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. При отсутствии вышеупомянутых 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).

####

#### 4.3.2 Соскоб со слизистых передних отделов полости носа

Показания к проведению исследования: озена, риносклерома.

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 озеной 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.

#### 4.3.3 Слизь из носоглотки и носа

Показания к проведению исследования: подозрение на дифтерию.

Необходимое оснащение:

1.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

2.Стерильные ватные тампоны, пропитанные 5% раствором глицерина в дистиллированной воде и простерилизованные автоклавированием.

Взятие исследуемого материала:

Материал забирают натощак 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°С.

####

#### 4.3.4 Слизь с задней стенки глотки

Показания к проведению исследования: подозрение на менингококковую инфекцию.

Необходимое оснащение:

1. Транспортные системы со средой 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 проводки с тамоном 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

3. «Заднеглоточные» 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:

1. для диагностики менингококковой инфекции забирают слизь с задней стенки глотки; материал забирают натощак или через 3—4 часа после еды;
2. 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;
3. 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;
4. 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; посевы 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°С.

####

#### 4.3.5 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 проволки с тамоном 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-Жонгу, 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.

#### 4.3.6 Назальный смыв

Показания к проведению исследования: диагностика вирусных инфекций.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Стерильный шприц 10 мл.
3. 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.

#### 4.3.7 Аспират из придаточных пазух

Показания к проведению исследования: диагностика синуситов.

Необходимое оснащение:

1. Набор инструментов для проведения пункции пазухи.
2. Стерильный шприц 10 мл.
3. 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.

## 4.4 Отделяемое из нижних отделов дыхательных путей

####

#### 4.4.1 Мокрота

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания нижних отделов дыхательных путей, сопровождающиеся отделением мокроты; при подозрении на пневмонию в первые 3 дня заболевания целесообразно исследовать кровь.

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°С 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.

####

#### 4.4.2 Промывные воды бронхов

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания нижних отделов дыхательных путей при отсутствии мокроты.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Стерильный горловой шприц или аппарат Боброва.
3. Стерильный широкогорлый контейнер.

Взятие исследуемого материала:

Исследование промывных вод бронхов проводят при отсутствии или скудости мокроты. Это связано не только с технической сложностью взятия этого вида материала, но и с меньшей диагностической ценностью результата из-за значительного его разбавления (концентрация микроорганизмов в промывных водах в 10—1000 раз ниже чем в мокроте).

Простейший метод взятия трахеобронхиального смыва: гортанным шприцем с помощью аппарата Боброва в трахею вводят около 10 мл стерильного физиологического раствора, и после возникновения кашля собирают откашлянный трахеобронхиальный смыв в стерильный широкогорлый контейнер. У маленьких детей через катетер вводят в трахею 5—10 мл физиологического раствора и затем отсасывают трахеобронхиальный смыв.

Бронхиальные смывы могут быть получены при бронхоскопии. В том случае не рекомендуется вводить в бронх более 5 мл физиологического раствора.

#### 4.4.3 Пробы, полученные с использованием бронхоскопа

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания нижних отделов дыхательных путей при отсутствии мокроты.

Необходимое оснащение:

1. Бронхоскоп, другое оборудование и медикаменты, необходимое для проведения бронхоскопии.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Стерильные контейнеры и стерильные пробирки.

Взятие исследуемого материала:

С помощью бронхоскопии удается получить:

1. бронхоальвеолярный лаваж (предпочтительно);
2. смыв с бронхов (низкая чувствительность при диагностике пневмоний);
3. соскоб с бронхов (более значим, чем смыв);
4. биоптаты.

Смыв с бронхов или получение бронхоальвеолярного лаважа проводят, вводя шприцем через биопсийный канал бронхоскопа отдельными порциями от 5—20 до 100 мл стерильного физиологического раствора. Перед введением каждой следующей порции отсасывают шприцом жидкость и переносят в стерильный контейнер. При этом для каждой новой порции используют новый контейнер. В дальнейшем по решению лечащего врача возможно объединение отдельных порций смыва, взятых в разных участках легких в одну. В направлении указывают общий объем введенного физиологического раствора.

Таблица 4. Некоторые специальные методы диагностики заболеваний, обусловленных отдельными пневмотропными микроорганизмами

|  |  |
| --- | --- |
| Микроорганизм | Специальные приемы выделения возбудителя или диагностики заболевания. |
| Mycobacterium DPP. | Бактериоскопия мазков из обогащенной флотацией мокроты, окрашенных флюорохромом в люминесцентном микроскопе. Посев специальным образом обработанной мокроты на среду Левенштейна-Иенсена. Биопроба. |
| Chlamydia pneumoniae | Заражение культур клеток (редко). Серодиагностика. |
| Mycoplasma pneumoniae | Индикация АГ в ИФА, выделение на элективных средах, серодиагностика. |
| Legionella pneumoniae | Посев на специальные питательные среды и биопроба (редко). Серодиагностика.. |

Для получения соскоба с бронхов через биопсийный канал бронхоскопа вводят телескопический двойной катетер с обработанным полиэтиленгликолем (или другим соответствующим реактивом) дистальным концом для предотвращения контаминации пробы. Материал помещают в пробирку с тиогликолевой средой (средой СКС) или специальным консервантом для облигатных анаэробов.

Биоптаты доставляют в лабораторию в двух небольших пробирках (типа Эппендорф), заполненных стерильным физиологическим раствором или тиогликолевой средой.

##

## 4.5 Желчь

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания желчного пузыря и желчных протоков (холециститы, холангиты, желчнокаменная болезнь). При острых холангитах параллельно исследуют кровь. Диагностика брюшного тифа и брюшнотифозного бактерионосительства.

Необходимое оснащение:

1. Комплект для дуоденального зондирования.
2. Стерильные пробирки или стерильные контейнеры.
3. 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 раздельно 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).

При наличии у больного дренажа, собирают из него пробу шприцом, предварительно тщательно обработав участок, который будет подвергаться пунктированию. Нельзя собирать пробу желчи из дренажного мешка.

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.

##

## 4.6 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

Показания к проведению исследования: подозрение на воспалительные заболевания почек и мочевого пузыря. Диагностика инфекционных заболеваний: брюшного тифа (с конца 2 недели заболевания), лептоспироза.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный широкогорлый контейнер.

2. Теплая вода.

3. Мыло.

4. Стерильные марлевые салфетки.

5. 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. Рекомендуется женщинам сдавать 2—3 порции мочи в течение 2—3 дней и решение о диагностической значимости бактериурии принимать только по совокупности результатов. Ниже приводим варианты инструкций для пациентов.

Для мужчин:

1. Тщательно вымыть руки.

2. Тщательно вымыть половой орган теплой водой с мылом и высушить стерильной салфеткой.

1. Обнажить головку полового члена (если не было обрезания) и выпустить небольшую порцию мочи.
2. Прервать мочеиспускание и выпустить порцию мочи в контейнер.
3. Закрыть 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 желательно 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.Закрыть 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 колен и помощника.

У мальчиков при мочеиспускании держите крайнюю плоть оттянутой для предотвращения контаминации пробы мочи микроорганизмами с кожи.

1. Спустить небольшое количество мочи в специальную посуду для утилизации.
2. Собрать среднюю порцию мочи (10-15 мл) в стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой.
3. Закрыть контейнер и передать в лабораторию

Взятие мочи катетером

Показания к проведению исследования: отсутствие возможности получения мочи естественным путем; большая вариабельность получаемых результатов; необходимость дифференциации очага инфекции: мочевой пузырь или почки.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный широкогорлый контейнер (банка).
2. Теплая вода.
3. Мыло.
4. Стерильные марлевые салфетки (для женщин).
5. Стерильный катетер.
6. Резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала:

* перед катетеризацией, если мочевой пузырь заполнен, пациент должен его частично освободить;
* необходимо провести туалет наружных половых органов теплой водой с мылом и высушить их стерильными марлевыми салфетками, после чего ввести катетер в мочевой пузырь;
* из катетера первые15—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;
* для уточнения локализации инфекции мочевой пузырь опорожняют катетером, промывают раствором антисептика (50 мл раствора, содержащего 40 мг неомицина и 20 мг полимиксина) и через 10 минут забирают пробы мочи. При инфекциях мочевого пузыря моча остается стерильной.

#### Сбор проб мочи из участка подвздошной кишки, использованной для создания искусственного пузыря

Показания к проведению исследования: жалобы больного на недомогание или гипертермия.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный широкогорлый контейнер (банка).
2. 70%-м этиловый спирт;
3. 1—2%-м раствором йода;
4. Мыло.
5. Стерильные марлевые салфетки (для женщин).
6. Стерильный катетер.
7. Резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала:

* отсоединяют мочеприемное устройство и опорожняют его;
* осторожно тампоном, смоченным 70%-м этиловым спиртом, а затем 1—2%-м раствором йода или другого имеющегося дезинфектанта, разрешенного к применению для этих целей, очищают отверстие;
* удаляют избыток йода 70%-м этиловым спиртом для предохранения пациента от возможного ожога;
* вводят катетер и собирают мочу в стерильный контейнер.

Сбор проб мочи путем надлобковой пункции.

Показания к проведению исследования: острая задержка мочи.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный широкогорлый контейнер (банка).
2. 70%-м этиловый спирт.
3. 1—2%-м раствором йода.
4. Игла для пункции.
5. Резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала:

Наиболее достоверные результаты могут быть получены при надлобковой пункции мочевого пузыря, но эта процедура сопряжена с опасностью для больного и проводится только по клиническим показаниям. Моча, вытекающая из иглы, с соблюдением правил асептики, собирается в стерильный контейнер и доставляется в лабораторию.

##

## 4.7 Отделяемое из мочеполовых органов мужчин и женщин

####

#### 4.7.1 Твердый шанкр, папулы, розеолы

Показания к проведению исследования: диагностика сифилиса.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Гипертонический (10%) раствор хлористого натрия (не обязательно).
3. 70%-й этиловый спирт.
4. Стерильный ватный тампон.
5. Стерильные бактериологическая петля, шпатель (см. рис. 25) или лопаточка.
6. Предметное стекло.
7. 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.

####

#### 4.7.2 Материал из уретры

Показания к проведению исследования: острые и хронические заболевания уретры, половых органов, бесплодие.

Необходимое оснащение:

1. Теплая вода.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Стерильный ватный тампон.

4.стерильные зонды-тампоны с волокнистой головкой индивидуально упакованные или в пробирке (тубсеры), стерильная бактериологическая петля, желобоватый зонд, маленькая ложечка Фолькмана.

5.2 предметных стекла.

1. Одноразовый стерильный тубсер с зондом-тампоном на проволочной оси (если предполагается бактериологическое исследование) или зонд-тампон на проволочной оси + стерильная пробирка.
2. 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°С; 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;
	* РИФ (ПИФ) — сразу после взятия материала приготавливаются мазки на предметном стекле; лучше использовать специальные стекла «с лунками», которые обычно входят в состав диагностических наборов;
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 вдувают 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.

## 4.8 Материал из половых органов у мужчин

####

#### 4.8.1 Язва полового члена

Показания к проведению исследования: изъязвления на коже и слизистой полового члена, за исключением подозрения на твердый шанкр.

Необходимое оснащение:

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Стерильный ватный тампон.
3. Стерильная марлевая салфетка.
4. Одноразовый шприц на 1 мл.

Взятие исследуемого материала:

•необходимо очистить поверхность язвы с помощью смоченного физиологическим раствором стерильного тампона; стерильной марлевой салфеткой обтирают поверхность язвы до появления тканевой жидкости; следует избегать появления крови;

* первую порцию жидкости удаляют салфеткой, затем рукам и в перчатках сдавливают язву у основания до появления прозрачной или слегка опалесцирующей тканевой жидкости;
* тканевую жидкость аспирируют одноразовым шприцом с иглой, закрывают иглу защитным колпачком и направляют в лабораторию как можно быстрее.

#### 4.8.2 Материал из простаты

Непосредственное взятие материала из простаты возможно лишь хирургической операции, что, как правило, не приемлемо. Поэтому для диагностики бактериальных простатитов и выявления их этиологии используется метод Е.М. Meares и Т.А. Stamey: сбор первой и второй порций мочи, получение секрета простаты путем массажа и затем третьей порции мочи. Именно эта схема, правило, используется при проведении клинических испытаний препаратов, предназначенных для лечения простатитов.

Показания к проведению исследования: хронические простатиты.

Необходимое оснащение:

1. Стерильные широкогорлые контейнеры (банки).
2. Предметное стекло.
3. Теплая вода.
4. Мыло.
5. Стерильные марлевые салфетки.
6. Резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала:

* больной должен провести тщательный туалет наружных половых органов с помощью теплой воды, мыла и стерильных марлевых салфеток;
* больному предлагают помочиться в стерильный контейнер, собрав 10—20 мл мочи; контейнер помечают, как проба № 1;
* больной продолжает мочиться в сосуд, для сброса мочи;
* не опорожняя полностью мочевой пузырь, больной наполняет контейнер № 2 10—20 мл мочи;
* врач проводит массаж простаты через задний проход и, если удается получить сок простаты, готовит из него мазок на стекле;
* больной мочится в контейнер № 3, собирая в него первые 10 мл мочи из последней порции мочи;
* внешние поверхности закрытых контейнеров с пробами, если на них попала моча, обтираются ветошью, смоченной дезинфектантом.

####

#### 4.8.3 Материал из яичка, егопридатков и паховых лимфатических узлов

Материал подвергается бактериологическому исследованию редко. Как правило, в этом случае взятие материала осуществляется путем его аспирации одноразовым шприцем 1,0 мл. После чего игла закрывается защитным колпачком, и материал доставляется в лабораторию возможно быстро. Следует избегать попадания в шприц пузырьков воздуха!

##

## 4.9 Отделяемое женских половых органов

Минимальная схема обследования женщины должна включать бактериоскопическое исследование мазков из трех биотопов:

* уретра (диагностика ЗППП);
* задний свод влагалища (оценка состояния влагалищного биоценоза, диагностика вагинозов и вагинитов);
* цервикальный канал (диагностика ЗППП).

Если все три мазка направляются на одном стекле, они должны быть четко промаркированы.

При необходимости, дополнительно отбираются пробы для бактериологического исследования и ПЦР.

Наиболее часто объектом микробиологического исследования является материал из влагалища и цервикального канала. Другие виды материала исследуются редко, поэтому ограничимся изложением общих принципов их получения.

Из вульвы и преддверия влагалища материал забирают зондом-тампоном.

При воспалении бартолиниевых желез проводят их пункцию.

Материал из матки можно получить с помощью специального инструмента — шприца-аспиратора. После прохождения зондом цервикального канала в полости матки раскрывают наружную оболочку зонда и набирают в шприц содержимое матки. Взятие для исследования материала из придатков матки проводят во время оперативного вмешательства.

####

#### 4.9.1 Материал из влагалища

Состояние влагалищной микрофлоры может быть оценено с помощью трех методов: бактериоскопического, полуколичественного бактериологического и количественного бактериологического. Последний, безусловно, является наиболее информативным. В этом случае материал забирается специальной калиброванной стерильной одноразовой бактериологической петлей и сразу засевается на питательные среды или материал берут с помощью заранее взвешенного тампона. В лаборатории тампон взвешивают повторно, определяя тем самым количество забранного влагалищного отделяемого. Так как количественный метод используется, как правило, только при проведении научных исследований, в настоящем пособии его подробное описание не приводится.

Показания к проведению исследования: диагностика вагитинтов и вагинозов. Обследование супруги при уретритах у мужа.

Необходимое оснащение:

1. Одноразовое стерильное гинекологическое зеркало.
2. Стерильные одноразовые зонды-тампоны на пластиковой оси: один — в стерильной пробирке (тубсер), второй — индивидуально упакованный.

ИЛИ

1. Уретральные зонды или специальные щеточки — (cervix brush, cytobrush и vola brush).
2. 2 предметных стекла.

5. Система с транспортной средой Эймс или Стюарт (желательно).

Взятие исследуемого материала:

* материал для анализа получают до проведения мануального исследования;
* зеркало и подъемник вводят во влагалище, с помощью стерильной салфетки убирают избыток выделений и слизи;
* материал собирают с заднего свода или с патологически измененных участков двумя стерильными зондами-тампонами;
* первый тампон помещают обратно в стерильную пробирку и возможно быстро доставляют в лабораторию для проведения бактериологического исследования;
* второй тампон используют для приготовления мазка; мазок наносится на 2 предметных стекла; если одновременно планируется исследование материала из цервикального канала и/или уретры, все 2—3 мазка можно сделать на одном стекле (в лабораторию в этом случае доставляются два стекла, на каждом из них мазки из всех обследуемых биотопов); мазки маркируют, высушивают на воздухе и, поместив в специальные планшеты для транспортировки стекол, или в чашки Петри, доставляют в лабораторию;
* если планируется исследование на гонорею, материал забирается зондом-тампоном системы с транспортной средой (предпочтительно — среда Эймс с активированным углем), который немедленно после взятия погружается в транспортную среду; материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 24 часов; не допускается его охлаждение до температуры ниже +30°С (по некоторым данным литературы гонококки в среде Эймс с активированным углем переживают не менее 48 часов при комнатной температуре) при исследовании на уреаплазмы и микоплазмы материал забирается зондом-тампоном (ложкой Фолькмана, специальным зондом) и сразу же суспендируется в специальной питательной среде; может использоваться как единая питательная среда для микоплазм и уреаплазм, так и отдельные среды для каждого микроорганизма; в течение 2 часов материал должен быть доставлен в лабораторию; допускается увеличение сроков транспортировки до 48 часов при температуре +4 — +8°С;
* при исследовании на трихомонады для сбора материала используют сухой стерильный тампон; сразу после взятия материал суспендируют в пробирке (флаконе) с транспортной средой для трихомонад (раствором Рингера); материал доставляется в лабораторию возможно быстро без охлаждения.

####

#### 4.9.2 Материал из цервикального канала

Показания к проведению исследования: диагностика цервицитов и заболеваний, передающихся половым путем.

Необходимое оснащение:

1. Одноразовое стерильное гинекологическое зеркало.
2. Стерильные одноразовые зонды-тампоны на пластиковой оси: один — в стерильной пробирке (тубсер), второй — индивидуально упакованный.

ИЛИ

3: Специальные щеточки — (cervix brush, cytobrush и vola brush).

4. Система с транспортной средой Эймс или Стюарт (желательно).

Взятие исследуемого материала:

1. обнажают шейку матки с помощью зеркал и убирают избыток выделений и слизи стерильной марлевой салфеткой или ватным шариком, смоченным стерильным физиологическим раствором или дистиллированной водой; высушивают салфеткой;
2. если предполагается бактериологическое исследование, например на гонорею, тонкий стерильный тампон (входящий в состав транспортной системы) аккуратно вводят в цервикальный канал на глубину 1,0—1,5 см, и вращают 10 сек., извлекают, не касаясь стенок влагалища, и сразу же погружают тампон в транспортную среду, например, среду Эймс с активированным углем;
3. для исследования на хламидии, микоплазмы/уреаплазмы и вирусы материал лучше забирать с помощью специальных цитощеток (зондов). Порядок дальнейших действий зависит от выбранного метода исследований:
	* культуральный метод — материал помещается в питательную среду. Может использоваться как единая питательная среда для микоплазм и уреаплазм, так и отдельные среды для каждого микроорганизма. В течение 2 часов материал должен быть доставлен в лабораторию. Допускается увеличение сроков транспортировки до 48 часов при температуре +4 - +8°С;
	* ПЦР — материал помещают в полученную в лаборатории микропробирку с лизирующим буфером, физиологическим раствором и т.п. Зонд несколько раз вращают в пробирке для снятия материала. Вопрос, можно ли обломить зонд и оставить его в пробирке, следует уточнить непосредственно в лаборатории, выполняющей исследования;
	* РИФ (ПИФ) — сразу после взятия материала приготавливаются мазки на предметном стекле. Лучше использовать специальные стекла «с лунками», которые обычно входят в состав диагностических наборов.

##

## 4.10 Раневые (хирургические) инфекции

Показания к проведению исследования: признаки гнойно-воспалительного процесса в ране.

Необходимое оснащение:

1. 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;
2. Стерильная пробирка или 2 пробирки (при отсутствии транспортных систем).
3. Стерильный физиологический раствор.
4. Стерильные пробирки.
5. Стерильные марлевые салфетки.
6. 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), вискозных 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.

Взятие аспирата:

* материал забирают после обработки кожи вышеописанным способом;
* после высыхания дезинфектанта врач с помощью одноразового шприца объемом 3—5 мл и иглы №22 или №23 берет аспират из глубины раны. Если имеется везикула, берется жидкость и клетки у основания дефекта;
* если попытка взять аспират вышеописанным способом не удается, подкожно вводят стерильный физиологический раствор и повторно пытаются взять аспират;
* если и эта попытка оказывается неудачной, через иглу в шприц набирают жидкую питательную среду или физиологический раствор в небольшом количестве, ополаскивают иглу и используют полученную жидкость в качестве исследуемого материала;
* при наличии в ране дренажей, отделяемое из них засасывают шприцем в количестве 1—2 мл;
* аспират из шприца, сняв иглу, переливают в пробирку с транспортной средой Кери Блейр или иной, обеспечивающей сохранение неспорообразующих анаэробов; в крайнем случае, если гарантирована немедленная доставка материала в лабораторию, допускается транспортировать материал непосредственно в шприце с иглой, надев на нее защитный колпачок.

Взятие биоптатов:

При сборе пробы в процессе операции кусочки ткани (3—5см3) помещают в стерильный контейнер, пробирку или стерильную стеклянную емкость, добавив 3—5 мл стерильного физиологического раствора для предохранения материала от высыхания.

##

## 4.11 Пробы при воспалительных заболеваниях глаз

####

#### 4.11.1 Материал с конъюнктивы

Отделяемое

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания конъюнктивы.

Необходимое оснащение:

1. Зонды-тампоны из хлопкового или вискозного волокна на пластиковой или деревянной оси в составе транспортной системы со средой или такие же тампоны в сухой стерильной пробирке (тубсеры).
2. Стерильный физиологический раствор.

Взятие исследуемого материала:

* материал целесообразно забирать утром, до умывания; за 6— 8 часов до этого (ночь) отменяются все медикаменты и процедуры;
* при наличии гнойного отделяемого материал собирают с помощью зонда- тампона;
* гной собирают с внутренней поверхности нижнего века движением в направлении от наружного к внутреннему углу глазной щели;
* больной должен придерживать веки руками, чтобы при моргании ресницы не касались тампона;
* при скудном отделяемом зонд-тампон предварительно смачивают стерильным физиологическим раствором; избыток влаги отжимают о внутреннюю поверхность емкости, после чего собирают материал, как описано выше;
* тампоны помещают в пробирки с транспортными средами или, в крайнем случае, в пустые стерильные пробирки (тубсеры); маркируют их «правый глаз», «левый глаз» и доставляют в лабораторию.

Соскоб с конъюнктивы Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания конъюнктивы.

Необходимое оснащение:

1. Раствор анестетика.
2. Стерильная лопаточка или специальный стерильный шпатель.
3. 96° этиловый спирт или ацетон.
4. Предметное стекло.

Взятие исследуемого материала:

* материал целесообразно забирать утром, до умывания; за 6—8 часов до этого (ночь) отменяются все медикаменты и процедуры;
* вводят 1—2 капли анестетика, например, пропаракаина гидрохлорида или другого;
* двумя-тремя короткими резкими движениями в одном направлении специального стерильного шпателя собирают соскобы;
* готовят, по меньшей мере, по 2 мазка из каждого глаза, нанося материал на чистое обезжиренное предметное стекло круговыми движениями на площадь диаметром примерно 1 см;
* стекла подписывают: правый глаз — «Пр» и левый — «Лв»;
* высушенный мазок фиксируют в 96° этаноле в течение 5 мин., либо наносят на мазок 0,1см3 ацетона до полного испарения;

стекло с фиксированным мазком может храниться при температуре -100С не более 7 сут.

#### 4.11.2 Соскоб с роговицы

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания роговицы.

Необходимое оснащение:

1. Раствор анестетика.
2. Стерильные шпатели (2 шт.).
3. Предметные стекла (4 шт.).
4. Зонд-тампон в составе транспортной системы со средой.

Взятие исследуемого материала:

* материал целесообразно забирать утром, до умывания; за 6—8 часов до этого (ночь) отменяются все медикаменты и процедуры;
* вводят 1—2 капли анестетика, например, пропаракаина гидрохлорида или другого;
* при помощи стерильной лопаточки (шпателя) делают соскоб с язвы или другого образования;
* готовят мазок, нанося материал на чистые обезжиренные предметные стекла круговыми движениями на площадь диаметром примерно 1 см;
* высушенные мазки фиксируют в 96%-ном этаноле в течение 5 мин, либо наносят на мазок 0,1 см3 ацетона до полного испарения. Стекла с фиксированным мазком может храниться при температуре -10°С не более 7 сут.;
* материал для бактериологического исследования забирают с помощью зонда-тампона, который после взятия мазка помещают в пробирку с транспортной средой, например средой Эймс с углем;
* одновременно исследуют мазки и соскобы с конъюнктивы и смывы с контактных линз.

#### 4.11.3 Смыв с контактных линз

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания роговицы.

Необходимое оснащение:

1. Стерильная одноразовая чашка Петри.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Зонд-тампон из хлопка на пластиковой или деревянной оси в составе транспортной системы со средой Стюарт или Эймс.

Взятие исследуемого материала:

* больной снимает контактные линзы, не прикасаясь руками к их внутренней поверхности;
* линзы укладываются на дно стерильной одноразовой чашки Петри внутренней поверхностью вверх;
* смывы забираются с помощью ватного, вискозного или дакронового зонда-тампона, увлажненного физиологическим раствором;
* тампон помещают в транспортную среду или немедленно доставляют в лабораторию в стерильной пробирке.

##

## 4.12 Пробы при воспалительных заболеваниях органов слуха

####

#### 4.12.1 Отделяемое из наружного слухового прохода

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания наружного уха.

Необходимое оснащение:

1. 70° этиловый спирт.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Транспортная система со средой или зонд-тампон в сухой пробирке (тубсер).

Взятие исследуемого материала:

* обрабатывают кожу 70° спиртом и промывают стерильным физиологическим раствором;
* при помощи влажного (смоченного стерильным физиологическим раствором) тампона из ушного канала удаляют соринки и корки;
* материал из очага берут стерильным хлопковым или вискозным зондом-тампоном транспортной системы, интенсивно вращая им в наружном слуховом проходе (но осторожно, чтоб не повредить барабанную перепонку);
* зонд-тампон помещают пробирку с транспортной средой Эймс (в том числе — с активированным углем) или Стюарт или, при их отсутствии — в пустую стерильную пробирку (тубсер). В последнем случае материал должен быть доставлен в лабораторию немедленно.

####

#### 4.12.2 Жидкость при тимпаноцентезе

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания среднего уха.

Необходимое оснащение:

1. 70° этиловый спирт.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Транспортная система со средой или стерильный зонд-тампон в сухой пробирке (тубсер).

Взятие исследуемого материала:

1. тимпаноцентез барабанной перепонки проводят для микробиологической диагностики инфекций среднего уха только в случаях, если больной не отвечает на проводимую терапию, так как эмпирическая схема выбора антибактериальных препаратов достаточно хорошо отработана;
2. если барабанная перепонка не нарушена:
	* очищают наружный канал с помощью тампона, смоченного 70%-м этиловым спиртом, с последующей обработкой стерильным физиологическим раствором;
	* с помощью шприца собирают жидкость из барабанной полости;
	* переносят материал из шприца в пробирку транспортной системы со средой для анаэробов (Кери Блейр) или доставляют материал в шприце, удалив из него воздух и надев на иглу защитный колпачок;
		1. если барабанная перепонка нарушена, материал собирают с помощью стерильного ушного зеркала и зонда-тампона; тампон помещают в транспортную среду или в пустую стерильную пробирку (тубсер); в этом случае материал должен быть доставлен в лабораторию немедленно.

##

## 4.13 Инфекции в стоматологии

####

#### 4.13.1 Содержимое из зубодесневого кармана

Показания к проведению исследования: воспалительные процессы в зубодесневом кармане.

Необходимое оснащение:

1. 70° этиловый спирт.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Стерильная пробирка с питательным бульоном.
4. Транспортная система со средой.
5. Предметные стекла (4 шт.).

Взятие исследуемого материала:

* удаляют слюну, остатки пищи и зубной налет и аккуратно промывают десневой карман и поверхность зуба стерильным физиологическим раствором;
* с помощью инструментов удаляют участок воспаленной ткани и, соблюдая правила асептики, переносят его в пробирку с небольшим количеством питательного бульона.
* энергично перемешивают содержимое с помощью стерильного зонда-тампона;
* далее тампон помещают в пробирку с транспортной средой (средой Эймс или Стюарт);

ИЛИ

•участок воспаленной ткани непосредственно помещают в стерильную пробирку типа «Эппендорф» с транспортной средой типа Эймс;

ИЛИ

•если получить биоптат не удается, то в десневой карман вводят стерильный бумажный или другой подходящий по размеру аппликатор; после извлечения его кончик обрезают стерильными ножницами и исследуют как описано выше.

##

## 4.14 Пробы испражнений

####

#### 4.14.1 Нативные испражнения

Показания к проведению исследования: острые и хронические кишечные инфекции любой этиологии, дисбактериоз.

Необходимое оснащение:

1. Чистая бумага или целлофановая пленка.
2. Стерильный контейнер с ложкой-шпателем или, в его отсутствие, любой стерильный контейнер плюс стерильная бактериологическая петля, лопаточка, шпатель или аналогичное изделие.
3. Стерильная пластиковая пастеровская пипетка с замкнутым резервуаром или, в ее отсутствие, стеклянная трубочка с грушей (если стул жидкий).
4. Судно.

Взятие исследуемого материала:

1. судно должно быть тщательно вымыто, для удаления следов дезинфектантов;
2. на дно судна помешают 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:

1) в случае оформленного стула — в объеме грецкого ореха;

2) 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.

####

#### 4.14.2 Ректальные мазки (Rectal swabs)

Показания к проведению исследования: кишечные инфекции, обусловленные энтероинвазивными бактериями (шигеллы, ЭИКП), анальная гонорея, выявление носительства стрептококков группы В.

Необходимое оснащение:

Хлопковые или вискозные 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 бедрам и 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.

# 5. Особенности взятия материала и оформления направления на исследование при некоторых клинических ситуациях

##

## 5.1 Оформление направлений на исследование

Если в сопроводительной документации к пробе испражнений Цель исследований не указана, или указана не конкретно «на флору», «на патогенную флору», «на тифопаратифозную группу» и т.п., в лаборатории будет выполнена совокупность исследований, позволяющая выделить и идентифицировать только:

* шигеллы;
* сальмонеллы;
* энетропатогенные, энтеротоксигенные и энтероинвазивные эшерихии.

Если необходимо провести исследование на:

•кампилобактеры;

•иерсиний;

* вибрионы;
* условно-патогенные энтеробактерии;
* дисбактериоз;
* стрептококки группы В;
* гонококки;

об этом в направлении должно быть сообщено особо, так как стандартная схема исследования, в этих случаях, исключает или не гарантирует получения адекватного результата.

##

## 5.2 Взятие материала для выявления стрептококков группы В

При обследовании беременных или планирующих беременность на носительство опасных для новорожденных микроорганизмов — стрептококков группы В (Streptococcus agalactiae) сбор материала производится из влагалища и прямой кишки. Во избежание ятрогенного переноса болезнетворных микроорганизмов, например, папиломовирусов, мазки из этих биотопов следует забирать двумя разными стерильными зондами-тампонами из транспортных систем со средой Эймс или Стюарт. Однако в дальнейшем обе пробы могут быть объединены.

##

## 5.3 Взятие материала для диагностики дисбактериоза и заболеваний, вызываемых условно-патогеными бактериями

Пробы для диагностики ОКИ, вызываемых условно-патогеными 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.

##

## 5.4 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.

##

## 5.5 Взятие рвотных масс и промывных вод

Показания к проведению исследования: подозрение на пищевые отравления, холеру, сальмонеллез

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.

## 5.6 Взятие биоптата для исследования на хеликобактер

Показания к проведению исследования: подозрение на хеликобак-териоз.

Необходимое оснащение:

1. Оборудование для эндоскопии.
2. 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°С; 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.

## 5.7 Взятие материала при подозрении на интранатальную инфекцию

Исследование амниотической жидкости.

Проводится с целью диагностики хориоамнионита и внутриамниотической инфекции.

Амнионитческую жидкость можно получить путем аспирации с помощью внутриматочного катетера в стерильный контейнер. Первые 7 мл отбрасывают для снижения риска контаминации пробы микрофлорой нижних отделов половых путей. Использовать для этих целей амниоцентез не рекомендуется из-за риска для матери и плода. Полученную жидкость исследуют бактериологическим и бактериоскопическим методами.

Обследование новорожденного.

Для выявления новорожденных, находившихся в потенциально инфицированной среде, бактериоскопическому и бактериологическому исследованию могут быть подвергнуты содержимое желудка и соскобы из наружного слухового прохода. Однако получаемые при этом результаты носят сугубо ориентировочный характер.

Наибольшую диагностическую ценность имеет выделение гемокультуры. Кровь для исследования рекомендуют забирать путем венепункции в количестве 1—3 мл. При этом необходимо соблюдать крайнюю осторожность во избежание ожога кожи при ее дезинфекции спиртом. Осуществлять взятие крови из пупочного катетера не рекомендуется, так как существует риск случайной контаминации. Если венепункция невозможна, исследуют капиллярную кровь.

##

## 5.8 Грудное молоко

Показания к проведению исследования: мастит у матери, дисбактериоз, ОКИ, ГСИ у ребенка.

Необходимое оснащение:

1. 70° этиловый спирт.
2. Ватные тампоны (2 шт.).
3. Стерильные широкогорлые контейнеры (2 шт.).

Взятие исследуемого материала:

* перед сцеживанием молока женщина моет руки с мылом и тщательно обрабатывает соски и около сосковую область смоченными 70° спиртом ватными тампонами; каждая железа обрабатывается отдельным тампоном;
* молоко из правой и левой молочных желез исследуется отдельно, стерильные контейнеры для сбора молока заранее маркируются «П» и «Л»;
* первые 5—10 мл молока сцеживаются и выливаются, последующие 3—4 мл сцеживаются в стерильные контейнеры с завинчивающимися крышками;
* исследование должно быть начато в течение 3 часов (молоко хранят при 4°С).

##

## 5.9 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.

##

## 5.10 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:

1. Фломастеры для маркировки проб.
2. Вакуумные системы.

ИЛИ

1. Одноразовые шприцы, иглы и пластиковые пробирки; штативы для пробирок.
2. Турникет (жгут).
3. Тампоны со спиртом, йодом или иным разрешенным антисептиком.
4. Стерильные марлевые тампоны.
5. Емкости с дезинфицирующим средством для сброса использованных игл.
6. Емкости с дезинфицирующими средствами.
7. Одноразовые перчатки.

10.Контейнеры для отходов.

##

## 5.11 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 ввернуть 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.

##

## 5.12 Взятие крови с помощью шприца

* наложить жгут и обработать зону венепункции антисептиком;
* распаковать шприц, снять с иглы защитный колпачок и провести венопункцию;
* медленно выдвигая поршень заполнить шприц кровью;
* закрыть иглу защитным колпачком и отсоединить ее от шприца;
* перелить кровь в пустую чистую пластиковую пробирку.

##

## 5.13 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°С 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.

##

## 5.14 Взятие папиллярной крови для постановки микрореакции преципитации с целью диагностики сифилиса

Показания к проведению исследования: диагностика сифилиса.

Необходимое оснащение:

1. 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.

Срок годности: 4 года.

# Заключение

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.

Врач-клиницист является основным заказчиком лабораторных анализов, а, следовательно, и пользователем их результатов. Он инициирует запрос на лабораторные исследования, составляя заявку на желаемые анализы в истории болезни.

При составлении заявки на исследования врач-клиницист должен учитывать:

1. цель назначаемых лабораторных тестов, как правило, это:
* уточнение диагноза, предположительно поставленного на основании других данных;
* оценка течения заболевания в динамике;
* скрининговые исследования;
1. соответствие заявки на лабораторные исследования «Стандартам лабораторных исследований» при данной нозологической форме или разработанной для данной нозологической формы программы лабораторных исследований;
2. соответствие времени назначения исследований динамике патологического процесса;
3. влияние лекарственных препаратов и диагностических процедур на уровень исследуемого показателя;
4. диагностическую чувствительность и специфичность теста.

Основные выводы:

1. Взятие материала предпочтительнее проводить до начала антибактериальной терапии. На фоне антибактериальной терапии материал забирают перед очередным приемом (введением) антимикробных 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, обеспечивающую их безошибочную идентификацию. 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.

# Список использованных источников

1. МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории»;
2. МУ ГУЗМО РФ от 28.10.97 «Правила и техника получения проб клинического материала для исследования в лаборатории клинической микробиологии»;
3. «Методические рекомендации по взятию, транспортировке, хранению и пробоподготовке биологического материала для ПЦР-диагностики», ЦНИИЭ МЗ РФ, 2003.