ПЛАН:

Введение…………………………………………………………………3

1. Общие понятия…….………………………………………………….4

1.1 Этиология………………………………………………………….5

2. Возбудители госпитальных инфекций………………………………6

2.1Формирование госпитальных штаммов………………………….6

3. Объекты, материалы и методы исследования………………………9

3.1 Исследование микробной обсемененности воздушной среды..10

3.2 Исследования микробной обсемененности объектов

внешней среды…………………………………………………12

3.3 Ориентировочный перечень объектов, подлежащих

бактериологическому контролю………………………………13

3.4 Контроль на стерильность хирургического инструмента……...15

4. Правила забора материала на исследование………………………..17

5. Питательные среды используемые в микробиологических

исследованиях………………………………………………………18

6. Список литературы…………………………………………………..23

ВВЕДЕНИЕ

Внутрибольничные инфекции (синоним нозокомиальные инфекции) - инфекционные болезни, связанные с пребыванием, лечением, обследованием и обращением за медицинской помощью в лечебно-профилактическое учреждение. Присоединяясь к основному заболеванию, В. и. ухудшает течение и прогноз болезни.

Проблемы В. и. приобрели большую актуальность в связи с появлением так называемых госпитальных (как правило, полирезистентных к антибиотикам и химиопрепаратам) штаммов стафилококков, сальмонелл, синегнойной палочки и других возбудителей. Они легко распространяются среди детей и ослабленных, особенно пожилых, больных со сниженной иммунологической реактивностью, которые представляют собой так называемую группу риска.

Внутрибольничные, или госпитальные, инфекции следует рассматривать любые клинические распознаваемые инфекционные заболевания, возникающее у больных после госпитализации либо посещения лечебного учреждения с целью лечения, а также у медицинского персонала в силу осуществляемой им деятельности, не зависимо от того, проявляются или не проявляются симптомы этого заболевания во время нахождения данных лиц в медицинском учреждение. Заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи, также обозначают терминами ятрогения или нозокоминальные инфекции.

1. Общие понятия

Госпитальные инфекции оцениваются как одна из основных причин смерти. Летальность при различных нозологических формах колеблется от 3.5-60%, а при генирализованных формах достигает такого же уровня, как в доантибитическую эру.

В настоящее время во всём мире развернулась научная дискуссия о возникновения внутрибольничных инфекций в лечебно-профилактических учреждениях. По данным официальной регистрации внутрибольничные инфекции в Российской Федерации развиваются у 0.15% госпитализированных больных. Однако выборочные исследования показали, что госпитальные инфекции возникают у 6.3% больных с колебаниями от 2.8-7.9%. В период с 1997-1999 года в России зарегистрировано 50-60 тыс. случаев внутрибольничных инфекций, а по расчётным данным Семина Н.А. число должно приближаться к 2.5 млн. Большую опасность для пациентов и медицинского персонала представляют также вспышки гепатитов В и С, которые регистрируется в различных типах стационаров России.

Для успешной борьбы с внутрибольничными инфекциями, то мнению Н.А. Семиной и др., необходимо оптимизировать эпидемиологический надзор и на его основе проводить профилактические и противоэпидемиологические мероприятия, способствующие управлению эпидемическим процессом при этих инфекциях.

Таким образом, актуальность проблемы госпитальных инфекций для теоретической медицины и практического здравоохранения не вызывает сомнения. Она обусловлена с одной стороны высоким уровнем заболеваемости, летальности, социально-экономичесим и моральным ущербом наносимым здоровью пациентов, а с другой стороны внутрибольничные инфекции наносят существенный вред здоровью медицинского персонала. Следует отметить, что в условиях Сибири эти вопросы изучены крайне недостаточно и требуют большого внимания.

В последние десятилетия внутрибольничные инфекции становятся всё более значимой проблемой здравоохранения, в экономически развитых странах они возникают у 5-10% пациентов, что значительно отягощает течение основного заболевания, создавая угрозу для жизнь больного, а также увеличивает стоимость лечения. Во многом это связано с демографическими сдвигами ( увеличение числа лиц преклонного возраста ) и накопления в популяции лиц повышенного риска ( люди с хроническими заболеваниями, интоксикациями или принимающие иммунодепрессанты ). Выделяют следующие основные причины развития внутрибольничных инфекции.

* Формирование и селекция « госпитальных штаммов » микроорганизмов, обладающих высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью.
* Нерациональное проведение антимикробной химиотерапии и отсутствия контроля за циркуляцией штаммов с лекарственной устойчивостью.
* Значительная частота носительства патогенной микрофлоры (например, золотистого стафилококка) среди медицинского персонала (достигает 40%).
* Создание крупных больничных комплексов со своей специфической экологией – скученностью в стационарах и поликлиниках, особенностями основного контингента (преимущественно ослабленные пациенты), относительной замкнутостью помещений (палаты, процедурные кабинеты и т.д.).
* Нарушения правил асептики и антисептики, отклонения от санитарно-гигиенических норм для стационаров и поликлиников
	1. Эпидемиология

Внутрибольничную инфекцию регистрируют повсеместно, в виде вспышек или спородических случаев. Практически любой пациент стационара предрасположен к развитию инфекционных процессов. Внутрибольничные инфекции характеризуют высокая контагиозность, широкий спектор возбудителей и разнообразные пути их передачи; возможность вспышек в любое время года, наличие пациентов с повышенным риском заболевания и возможность рецедивов. Особенности эпидемиологического процесса зависят от свойств возбудителя, типа учреждеждения, контингента больных, качества организации медицинской помощи, санитарно-гигиенического и противоэпидемического режимов. Необходимо отметить значительное обсеменение объектов окружающей среды вследствие активной циркуляции «госпитальных» штаммов условно-патогенной микрофлоры между больными и персоналом, способствующее формированию нового контингента носителей. Иначе говоря, происходит «естественный кругооборот» условно-патогенной микрофлоры по схеме «медицинский персонал (больные) → внешняя среда → медицинский персонал (больные)», поддерживающий постоянный эпидемический процесс в ЛПУ. Не меньшее значение имеют медицинские манипуляции их характер. Часто внутрибольничные инфекции возникают после оперативных вмешательств и инвазивных лечебных и диагностических процедур (например, катетеризация вен или мочевого пузыря). Определённый «вклад» вносит новая медицинская аппаратура, требующая особых методов стерилизации (см таб. 1. Факторы, предрасполагающие к развитию инфекций.) Как правило, внутрибольничные инфекции возникают на фоне основного заболевания либо, реже, первично развиваются у новорожденных.

* Внутрибольничные инфекции может вызвать практически любой патогенный или условно-патогенный микроорганизм.

Возбудитель внутрибольничные инфекции могут передаваться воздушно-капельным, воздушно-пылевым, алиментарным путями, трансфузионно, трансплацентарно, при прохождении плода по родовым путям, половым и другими путями. ( см таб.4 Передача инфекции больничному персоналу и от больничного персонала, и таб.3. Основные источники госпитальных инфекций)

1. Возбудители госпитальных инфекций

Спектор возбудителей внутрибольничных инфекции охватывает вирусы, бактерии, грибы и простейших, представленных наиболее вирулентными «госпитальными» штаммами (см таб.2. Основные возбудители внутрибольничных инфекции). Ежегодно их число увеличивается, преимущественно за счёт условно-патогенных микроорганизмов. Основные возбудители бактериальных инфекций – стафилококки, пневмококки, грамотрицательные энтеробактерии, псевдомонады и анаэробы. Ведущую роль играют стафилококки (до 60% всех случаев внутрибольничных инфекции), грамотрицательные бактерии, респираторные вирусы и гривы рода Candida.

# Формирование госпитальных штаммов

В литературе широко используется термин «госпитальный штамм» микроба, однако единого понимания этого понятия не существует. Некоторые считают, что госпитальный штамм – это тот, который выделяется от больных независимо от его свойств. Чаще всего под госпитальными штаммами понимаются культуры, которые выделяются от больных в стационаре и характеризуются ярко выраженный резистентностью к некоторому количеству антибиотиков, т.е., согласно этому пониманию, госпитальный штамм есть результат селективного действия антибиотиков. Именно такое понимание вложено в первое, имеющееся в литературе, определение госпитальных штаммов, данное В.Д. Беляковым и соавторами.

Штаммы бактерий, выделенные от пациентов с нозокоминальными инфекциями, как правило, более вирулентны и обладают множественной химиорезистентностью. Широкое использование антибиотиков с лечебной и профилактической целями лишь частично подавляет рост устойчивых бактерий и приводит к селекции устойчивых штаммов. Происходит формирование «порочного круга» - возникающие внутрибольничные инфекции требуют применения высокоактивных антибиотиков, способствующих в свою очередь появлению более устойчивых микроорганизмов. Не менее важным фактором следует считать развитие дизбактериозов, возникающих на фоне антибиотикотерапии и приводящих к колонизации органов и тканей условно-патагенными микроорганизмами

Таб. 1. Факторы, предрасполагающие к развитию инфекций.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Внешние факторы (специфичны для любого стационара)** | **Микрофлора пациента** | **Инвазивные медицинские манипуляции, проводимые в стационаре** | **Медицинский персонал** |
| Аппаратура и инструментарий | Кожные покровы | Длительная катетеризация вен и мочевого пузыря | Постоянное носительство патогенных микроорганизмов |
| Пищевые продукты | ЖКТ | Интубация | Временное носительство патогенных микроорганизмов |
| Воздух | Мочеполовая система | Хирургические нарушение целостности анатомических барьеров | Больные или инфицированные сотрудники |
| Лекарственное средство | Дыхательные пути | Эндоскопия |  |

Таб.2. Основные возбудители внутрибольничных инфекции

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Бактерии** | **Вирусы** | **Простейшие** | **Грибы** |
| Стафилококки | HBV, HCV,HDV | Пневмоцисты | Кандида |
| Стрептококки | HIV |  | Аспиргиллы |
| Синегнойная палочка | Вирусы гриппа и другие ОРВИ | Криптоспоридии |  |
| Эторобактерии | Вирус кори |  |  |
| Эшерихии | Вирус краснухи |  |  |
| Сальмонеллы | Вирус эпидемиоло-гичесокго паротита |  |  |
| Шигеллы |  |  |  |
| Иерсинии | Ротавирус |  |  |
| Мистерия |  |  |  |
| Камбилобактерии | Энтеробактерии |  |  |
| Легионеллы | Вирус герпеса |  |  |
| Клостридии | Цитомегаловирус |  |  |
| Неспорообразую-щие анаэробные бактерии |  |  |  |
| Микоплазмы |  |  |  |
| Хломидии |  |  |  |
| Микобактерии |  |  |  |
| Бордетеллы |  |  |  |

Таб.3. Основные источники госпитальных инфекций

|  |  |
| --- | --- |
| **Источник** | **Роль источника в распространении** |
| Больные | Основной источник; роль в распространении при различных нозологических формах и в различных стационарах варьирует |
| Носители | Имеет большое значение в распространении стафилококковых инфекций, гепатитов B, C и D, сальмонеллез, шигеллез и др. |
| Медицинские работники | Чаще бессимптомые носители преимущественно «госпитальных» штаммов; играют важную роль в распространении возбудителей респираторных инфекций (пневмоцитозов, пневмоний, бронхитов и ОРВИ). Частота носительства могу достигать 50%. |
| Лица, привлекаемые к уходу за больными | Большого значения не имеют, могут быть носителями стрептококков, стафилококков, энтеро - и камбилобактерий, возбудителей венерических болезней, ротавирусов, цитомегаловирусов и прочих герпетовирусов, возбудителей гепатитов и дифтерии, пневмоцист. |
| Посетители, навещающие больных | Роль очень ограничена, могу быть носителями стафилококков, энтеробактерий либо болеть ОРВИ. |

Таб.4. Передача инфекции больничному персоналу и от больничного персонала

|  |  |
| --- | --- |
| **Заболевания** | **Путь передачи** |
| От больного к медицинскому персоналу | От медицинского персоналак больному |
| СПИД | - | - |
| Ветреная оспа / диссемированный опоясывающий лишай | Высокий  | Высокий |
| Локализованный опоясывающий лишай | Низкий  | Низкий |
| Вирусный коньюктивит | Высокий | Высокий |
| Цитомегаловирусная инфекция | Низкий | - |
| Гепатит А | Низкий | Редко  |
| Гепатит В | Низкий | Редко |
| Гепатит ни А ни В | Низкий | - |
| Простой герпес | Низкий | Редко  |
| Грипп | Умеренный | Умеренный |
| Корь | Высокий | Высокий |
| Менингококковая инфекция | Редко | - |
| Эпидемиологический паротит | Умеренный | Умеренный |
| Коклюш | Умеренный | Умеренный |
| Респираторный синцитиальный вирус | Умеренный | Умеренный |
| Ротавирус | Умеренный | Умеренный |
| Краснуха | Умеренный | Умеренный |
| Salmonella/Shigella | Низкий | Низкий |
| Чесотка | Низкий | Низкий |
| S. aureus | - | Редко |
| Стрептококк, группа А | - | Редко |
| Сифилис | Низкий | - |
| Туберкулез | От низкогодо высокого | От низкогодо высокого |

1. Объекты, материалы и методы исследования

Объектами исследования при проведении бактериологического контроля являются:

 - воздушная среда;

 - различные объекты внешней среды;

 - хирургический инструментарий;

 - шприцы, иглы;

 - системы переливания крови многократного использования.

 - зонды, катетеры, бужи, резиновые перчатки и др.изделия из резины и пластикатов;

 - хирургический шовный материал, подготовленный к использованию;

 - руки хирургов и кожа операционного поля.

Изучение санитарно-гигиенических условий включает определение температуры воздуха в основных помещениях (больничные палаты, процедурные, перевязочные, операционные и другие помещения) с применением ртутных и спиртовых термометров, относительную влажность измеряется с помощью психрометра Ассмана, скорость движения воздуха шаровым кататерометром, освещенность люксиметром Ю-16. Замеры проводится по общепринятым методам согласно современных нормативных документов.

В понятия микробиологический контроль стационара включается бактериологическое обследование объектов окружающей среды на наличие патогенных микроорганизмов, способных вызвать внутрибольничные инфекции. Плановый бактериологический контроль основывается на определении общего микробного обсеменения и определения санитарно-показательных микроорганизмов (стафилококки, бактерии группы кишечной палочки и др.). При проведении бактериологических исследований набор помещений, в которых производится отбор проб, и перечень предметов окружающей среды, подвергающихся обследованию, определяется в соответствии с приказом МЗ СССР № 720 от 31.07.1978 г.

* 1. Исследование микробной обсемененности воздушной среды.

Основные положения при отборе проб воздуха:

* при высоком содержании микроорганизмов в воздухе исследуется небольшие объемы (число выросших колоний не превышает 200-300, так как при большем числе трудно проводить микробиологические исследования колоний);
* при низком содержании микроорганизмов или необходимости обнаружения патогенных бактерий существенно увеличивались объемы протянутого воздуха.

Пробы воздуха отбираются на уровне дыхания сидячего или стоячего человека. Определяется общее микробное число в одном кубометре воздуха и наличие золотистого стафилококка. Исследования проводится в динамике для оценки санитарно-гигиенического режима окружающей среды стационара.

Бактериологическое исследование воздушной среды предусматривает:

- определение общего содержания микробов в 1 куб. м воздуха.

- Определение содержания золотистого стафилококка в 1 куб. м

 воздуха.

Отбор проб воздуха для бактериального исследования проводят в следующих помещениях:

- операционных блоках;

- перевязочных;

- послеоперационных палатах;

- отделениях и палатах реанимации и интенсивной терапии и др. помещениях, требующих асептических условий.

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппарата Кротова. Скорость протягивания воздуха составляет 25 л в минуту. Количество пропущенного воздуха должно составлять 100 литров для определения общего содержания бактерий и 250 литров для определения наличия золотистого стафилококка. Исследование воздуха седиментационным методом допускается в исключительных случаях.

Для определения общего содержания бактерий в 1 куб.м воздуха забор проб проводят на 2% питательный агар. Посевы инкубируют при температуре 37°С в течение 24 часов, затем оставляют на 24 часа при комнатной температуре, подсчитывают количество колоний, выросших и производят перерасчет на 1 куб.м воздуха. Если на чашках питательного агара выросли колонии плесневых грибов, их подсчитывают и делают пересчет на 1 куб.м воздуха. В протоколе количество плесневых грибов указывают отдельно.

Примечание: При переносе аппарата Кротова из одного помещения в другое его поверхность обрабатывают дезинфицирующим раствором. Столик, внутренние стыки и крышку прибора с внутренней и внешней стороны протирают спиртом (70%).

Для определения наличия золотистого стафилококка забор проб проводят на желточно-солевой агар (ЖСА). Чашки помещают в термостат при 37°С на 24 часа и выдерживают еще 24 часа при комнатной температуре. Колонии, подозрительные на стафилоккок, подлежат обязательной микроскопии и дальнейшей идентификации. С желточно-солевого агара снимают в первую очередь колонии стафилококка, которые образуют радужный венчик вокруг колонии (положительная лецитовителлазная реакция), дальнейшему зучению подвергают также пигментированные колонии и с отрицательной лецитовителлазной реакцией. Подозрительные колонии пересевают а чашки с кровяным или молочным агаром. Дальнейшее изучение их проводят по схеме.

Схема бактериологического исследования на стафилококк.

Первый день.

Посев на элективные среды (желточно-солевой, молочно-олевой или молочно-желточно-солевой агар). Засеянные среды выдерживают в термостате при 37°С в течение 2 суток, либо одни сутки в термостате и дополнительно 24 часа на свету при комнатной температуре.

Второй-третий день.

Просмотр чашек, фиксация в журнале характера и массивности роста. На вышеуказанных средах стафилококк растет в виде руглых, блестящих, маслянистых, выпуклых пигментированных колоний. На средах, содержащих желток, золотистый стафилококк, деленный от человека, в 60-70% случаев образует радужный венчик вокруг колонии (положительная лецитовителлазная реакция). Стафилококки животного происхождения дают положительную лецитовителлазную реакцию в 5-10% случаев. Отвивка на скошенный агар для дальнейшего исследования не менее 2-х колоний, подозрительных на стафилококк. Для исследования отвивают прежде всего колонии, дающие положительную лецитовителлазную реакцию. При тсутствии на чашках таких колоний дальнейшему исследованию подвергаются пигментированные колонии, схожие по морфологии со стафилококком. При одновременном наличии на чашках колоний стафилококка, отличающихся по пигменту, следует отвивать не менее двух колоний различного вида. Пробирки с посевом помещают в термостат при 37°С на 18-20 часов.

Четвертый день.

После суточной инкубации у выделенных штаммов проверяют морфологию, тинкториальные свойства (окраска по Граму) и наличие плазмокоагулирующей активности. Следует отметить, что характер роста культуры на скошенном агаре в ряде случаев дает возможность "предвидеть" принадлежность ее к виду золотистого стафилококка или эпидермального стафилококка. Первые, как правило, дают обильный равномерный, сочный рост, вторые - очень скудный и неравномерный рост по ходу посева. Окраску по Граму проводят общепринятым методом. Под микроскопом окрашенные по Граму стафилококки имеют вид фиолетово-синих кокков, располагающихся гроздьями или небольшими кучками ("кружево"). Плазмокоагулирующую активность проверяют в реакции коагуляции плазмы (РКП). С учетом результатов РКП и лецитовителлазной активности в 70-75% случаев, на четвертый день исследования может быть подтверждена принадлежность выделенного штамма к виду золотистого стафилококка и выдан соответствующий ответ. На схеме представлены возможные варианты сочетаний результатов определения плазмокоагулирующей и лецитовителлазной активности. Если культура обладает только плазмокоагулирующей или только лецитовителлазной активностью, то для окончательного ответа требуется определение других признаков патогенности (ферментации маннита в аэробных условиях - АФМ или ДНКазной активности). В этих случаях ответ выдают в зависимости от результатов, полученных при определении названных признаков. В случае необходимости на 4-ый день исследования может быть поставлена реакция определения ДНКазной активности или анаэробной ферментации маннита. Определение антибиограммы проводят только после выделения чистой культуры, по показаниям (выбор способа лечения и т.д.). Выделенные культуры золотистого стафилококка подлежат фаготипированию.

Пятый день.

Учет результатов фаготипирования, определения чувствительности к антибиотикам, ДНКазной активности. Окончательная выдача ответа.

* 1. Исследования микробной обсемененности объектов внешней среды.

Бактериологическое исследование микробной обсемененности предметов внешней среды предусматривает выявление стафилококка синегнойной палочки, бактерий группы кишечных палочек и аэроманад (строго по показаниям). Забор проб с поверхностей различных объектов осуществляют методом смывов.

Взятие смывов производят стерильным ватным тампоном на палочках, вмонтированных в пробирки, или марлевыми салфетками, размером 5х5 см, простерилизованными в бумажных пакетах или в чашках Петри. Для увлажнения тампонов в пробирки с тампонами наливают по 2,0 мл стерильного физиологического раствора. При использовании салфеток стерильный физиологический раствор разливают в стерильные пробирки по 2,0 мл. Салфетку захватывают стерильным пинцетом, увлажняют физиологическим раствором из пробирки, после протирания исследуемого объекта помещают в ту же пробирку.

При контроле мелких предметов смывы забирают с поверхности всего предмета. При контроле предметов с большой поверхностью смывы проводят в нескольких местах исследуемого предмета площадью примерно в 100-200 кв. см.

Для выделения стафилококков делают посев непосредственно на чашку Петри с желточно-солевым агаром (см. схему исследования на стафилококк). Кроме того, в качестве среды накопления используют бульон с 6,5% хлористого натрия, бульон с 1% глюкозы, разлитые в пробирки по 0,5 мл, в которые засевают по 0,2-0,3 мл смывной жидкости. Засеянные пробирки инкубируют при 37°С в течение 20-24 часов, после чего делают высев на ЖСА (см. схему исследования на стафилококк).

Для выявления бактерий группы кишечных палочек производят посев на среду обогащения, для чего тампон (марлевую салфетку) погружают в 10-20% желчный бульон или среду Кесслера. Через сутки инкубирования при 37°С делают пересев на среду Эндо. Подозрительные колонии на среде Эндо микроскопируют и пересеивают на 2-ую бродильную пробу - среду Гисса с глюкозой. Среду выдерживают 24 часа при 43°С.

Примечание: При использовании свиной желчи для приготовления желчного бульона, концентрация желчи должна быть в 20 раз меньше.

Для выявления синегнойной палочки специальные посевы можно не производить. Обычно колонии синегнойной палочки удается выявить на кровяном агаре или на среде Эндо. Колонии, подозрительные на синегнойную палочку, пересевают на скошенный агар, содержащий 2-5% глицерина или маннита. Колонии синегнойной палочки дают на поверхности скошенного агара обильный рост с зеленоватым оттенком, маслянистой консистенции с характерным медовым запахом. Выделенную культуру окрашивают по Граму, микроскопируют, определяют гемолитические свойства путем высева на чашку с кровяным агаром.

3.3 Ориентировочный перечень объектов, подлежащих бактериологическому контролю:

А. Наркозная комната

 1. Инкубационная трубка

 2. Маска наркозного аппарата

 3. Тройник наркозного аппарата

 4. Гофрированная трубка

 5. Ларингоскоп

 6. Роторасширитель

 7. Дыхательный мешок

 8. Руки врачей анестезиологов-реаниматологов, сестер-анестезистов

Б. Предоперационная

 1. Тазы для мытья рук хирургов

 2. Чистые щетки для мытья рук

 3. Фартуки (клеенчатые или полиэтиленовые)

В. Операционная

 1. Рабочий стол анестезиологов

 2. Операционный стол

 3. Шланг вакуумнасоса

 4. Шланг кислородной подводки

 5. Смывы с рук всех участвующих в операции

 6. Кожа операционного поля

Г. Послеоперационные палаты, отделения и палаты реанимации и интенсивной терапии

 1. Кровать, подготовленная для больного

 2. Полотенце для рук персонала и смывы с рук

 3. Щетка на раковине

 4. Шланг кислородной подводки

 5. Запасная наркозная аппаратура (набор реанимационной укладки)

 6. Шланг вакуумотсоса

 7. Внутренняя поверхность холодильника (для хранения лекарств)

 8. Градусники

Д. Перевязочная

 1. Кушетка для перевязок

 2. Полотенце для рук персонала

 3. Щетка на раковине

 4. Халат медицинских сестер

 5. Руки врачей, медицинских сестер

 6. Рабочий медицинский стол

 7. Внутрення поверхность холодильника для хранения лекарств

### 3.4 Контроль на стерильность хирургического инструмента

Инструментарии для медицинских манипуляции по риску различяют:

Критические - проникают в стерильные ткани или сосуды: имплантаты, скальпели, иглы, другие хирургические инструменты и т.д. Стерилизация - спороцидные химические вещества, длительный контакт. Средства для стерилизации или дезинфекции

Полукритические - соприкасаются со слизистыми оболочками (за исключением стоматологических инструментов):г ибкие эндоскопы, ларингоскопы, эндотрахеальные трубки, а также другие аналогичные инструменты. Дезинфекция высокого уровня - спороцидные химические вещества, кратковременный контакт. Средства для стерилизации или дезинфекции

Термометры, ванны для гидротерапии. Дезинфекция среднего уровня. Больничные дезинфицирующие средства с указанием в маркировке о наличии туберкулоцидной активности.

Некритические (соприкасаются с неповрежденной кожей): стетоскопы, настольные приборы, подкладные судна и др. Дезинфекция низкого уровня. Больничные дезинфицирующие средства без указания в маркировке о наличии туберкулоцидной активности.

Хирургический инструментарий с помощью стерильного пинцета извлекают из бикса или мягкой упаковки и целиком погружают в пробирки с питательными средами. Как исключение, в отдельных случаях, если все простерилизованные инструменты в одной упаковке крупных размеров (иглодержатели, ранорасширители и т.д.), производят смыв с поверхности инструмента стерильной салфеткой, смоченной в стерильном физиологическом растворе или стерильной водопроводной воде и погружают салфетку в пробирку с тиогликолевой средой. Аналогичные смывы с других инструментов засевают в пробирки со средой Хоттингера и Сабуро.

Методика посева на стерильность игл и шприцев. Для контроля на стерильность отбирают шприцы малой емкости (1,0 или 2,0 мл) в условиях бактериологического бокса, с соблюдением правил асептики погружают в пробирки с питательными средами отдельно цилиндр, поршень, иглы. При необходимости контроля шприцев большой емкости (10, 20 мл и более) исследование стерильности производят методом смыва, при этом стерильной салфеткой, смоченной в стерильном физиологическом растворе или водопроводной воде, протирают с помощью пинцета внутренние части шприца и погружают салфетку в питательную среду.

Исследование на стерильность систем переливания крови многоразового использования. От резинового шланга, ближе к игле, отрезают ножницами с помощью пинцета небольшие кусочки (1-2 см) и погружают в пробирки с питательными средами, иглу отдельно погружают в питательные среды.

Посев на стерильность катетеров, резиновых перчаток и др. изделий из резины и пластикатов. Контроль стерильности зондов, катетеров, резиновых перчаток и других изделий из резины производят путем полного погружения мелких изделий в питательные среды, от более крупных с помощью стерильного пинцета стерильными ножницами отрезают небольшие кусочки (1-2 см) и погружают в питательные среды.

Посев на стерильность хирургического шовного материала. Перед посевом емкость с отобранными образцами шовного материала в предбокснике протирают стерильной марлевой салфеткой, обильно смоченной 6% раствором перекиси водорода, и оставляют на 30 минут. Затем вносят в бокс.

1. Кетгут. Подготовленный к работе кетгут в операционном блоке хранят в спиртовом растворе йода. Кетгут перед посевом подвергают специальной обработке для нейтрализации и отмывания нейтрализующего раствора. Моток кетгута, приготовленный для исследования, перекладывают стерильным карнцангом или пинцетом в стерильный 10% раствор гипосульфита натрия. Раствор гипосульфита натрия готовят на дистиллированной воде, разливают в пробирки (колбы) по 20-30 мл, стерилизуют текучим паром по 30 минут в продолжении 3 дней. Кетгут выдерживают в растворе гипосульфита в течение 24 часов при комнатной температуре (возможно помутнение раствора за счет выпадения серы), затем перекладывают в пробирки с 20-30 мл стерильной дистиллированной воды, где также выдерживают в течение 24 часов при комнатной температуре. Непосредственно перед посевом оток кетгута извлекают стерильным пинцетом и перекладывают в терильную чашку Петри, с помощью пинцета и ножниц его разрезают на мелкие кусочки длиной 1-2 см и раздергивают для прорастания микроорганизмов кетгута. Посев производят в 2 пробирки с тиогликолевой средой, 2 пробирки со средой Сабуро и 2 пробирки со средой Хоттингера, помещая в каждую пробирку по 4-5 кусочков исследуемого материала.
2. Шелк. Подготовленный к работе шелк в операционных хранят в спиртовом растворе, поэтому перед посевом шелк (лавсан) помещают на 24 часа в стерильную дистиллированную воду при комнатной температуре. Перед посевом моток шелка (лавсана) перекладывают в стерильные чашки Петри, разрезают на мелкие кусочки длиной 1-2 см. Посев шелка производят так же как и кетгута.

Исследование на стерильность аппаратов экстракорпорального кровообращения. Исследование на стерильность аппарата искусственного кровообращения проводит бактериолог и лаборант лечебно-профилактического учреждения в операционной после асептической сборки аппарата.

Контролю подлежат:

 - смыв из аппарата;

 - перфузат до перфузии;

 - кровь после перфузии.

Стерильный физиологический раствор в количестве не менее 250 мл прогоняют через аппарат, подготовленный к операции, отбирают 100 мл раствора и засевают на питательные среды. Аналогично производят посев перфузата до перфузии и крови после перфузии.

Посев на стерильность перевязочного материала. Бинты, ватные шарики, марлевые салфетки, турунды и т.п. отбирают из разных мест бикса стерильным пинцетом. Мелкие изделия целиком погружают в пробирки с питательными средами. От бинтов (внутренних частей) и крупных марлевых салфеток с помощью стерильных ножниц отрезают кусочки и погружают в пробирки с питательными средами. На каждый вид перевязочного материала используют по 2 пробирки каждой среды.

Посев на стерильность хирургического белья. Простерилизованными и фламбированными ножницами (смоченными в спирте и проведенными через пламя горелки) с помощью пинцета от хирургического белья отрезают небольшие кусочки ткани (завязка, внутренние швы и т.п.) и погружают в пробирки (колбы) с питательными средами, по возможности, не касаясь пробирки (колбы).

4. Правила забора материала на исследование

В соответствии с Приказом Министерства здравоохранения № 535 от 22.04.1985 г. и № 8 от 19.01.1995 г. задачи по совершенствованию и унификации диагностической базы возлагаются прежде всего на лабораторию клинической микробиологии. Поэтому микробиологические аспекты деятельности больничного эпидемиолога на практике сводится к организации и контролю правильного взятия, хранения и транспортировки материала для микробиологического исследования.

Биологический материала микробиологических методов исследования следует брать в максимально стерильных условиях, тщательно соблюдая правила асептики и по возможности избегая контаминации образцов микроорганизмами из окружающей среды.

Образцы для посевов необходимо брать до начала лечения антибактериальными препаратами или в интервалах между приёмом антибиотиков (не менее 12 часов). Отобранный материал должен быть маркирован и как можно быстрее доставлен в микробиологическую лабораторию. При необходимости образцы помещают в транспортную среду. Некоторые образцы требуют хранения при t 37°, другие – при пониженной (холодильнике).

5. В микробиологических исследованиях применяются следующие питательные среды:

1. Для определение общего микробного числа микроорганизмов используется чаще всего 1% пептонную воду или мясопептонный бульон (МПБ).
2. Для обнаружение стафилококков используется:
* молочно-солевой агар: к 1 л мясопептонного бульона добавляют 65 г хлорида натрия и 20 г сухого агар-агар. Разливают по колбам и стерилизуют при 120°С 20 мин. Перед посевом к расплавленному и охлажденному до 45°С агару добавляют 10% стерильного молока, равномерно смешивают и разливают в чашки Петри.
* желточно-солевой агар Чистоковича. 100 мл желточной эмульсии (один желток, размешанный в 200 мл изотонического раствора хлорида натрия) вливают в 300 мл расплавленного и охлажденного до 50°С мясопептонного и разливают в стерильные чашки Петри.
* молочно-желточно-солевой агар. В 1 л дистиллированной воды растворяют при нагревании сухой питательный агар в количестве, указанном на этикетке банки, и 90 г хлорида натрия; разливают в колбы, стерилизуют при 120°С 20 мин. Перед употреблением в расплавленный и остуженный до 50°С агар добавляют 60мл стерильного молока, один желток (тщательно разбитый стеклянными бусами с 50 мл изотонического раствора хлорида натрия), полимиксин М 300 000 ЕД. Среду перемешивают и разливают в чашки: по 20-25 мл для использование при подращивании стафилококков на мебрананных фильтрах и по 12-15 мл (тонким слоем) для прямого посева.
1. Для обнаружение бактерий группы кишечных палочек:
* используется глюкозопептонную воду (ГПС), среда Эйкмана. *Концентрированная среда*: в 1 л воды растворяют 100 г пептона, 50 г хлорида натрия, 50 г глюкоза, нагревают смесь до кипения, фильтруют, устанавливают рН 7,4-7,6, разливают по 10 мл в колбы (емкостью по 100-250 мл) с поплавками и по 1 мл в пробирки с поплавками. В среду можно добавить индикатор Аедреде (кислый фуксин, обесцвеченный щелочью) или бромтимоловый синий. *Разведенную среду* глюкозопептонной воды готовят так же, как концентрированную, но количество ингредиенов в 10 раз меньше на 1 л воды. *Лактозо-пептонную среду* готовят так же как ГПС, с заменой глюкозы на лактозу. Среды стерилизуют при 112°С 12 мин.
* среду Эндо. Среду готовят из сухого порошка по прописи, указанной на этикетке банки. Состав порошка: сухой мясо-пептонный агар, лактоза, основной фуксин, сульфит натрия. Среду готовят в день ее использования. Горячую среду различают в стерильные чашки Петри и оставляют до застывания на поверхности стола. Хранить чашки со средой можно не более 3 дней в темном месте или в холодильнике.
* среду Эндо с молоком ( по Г. П. Калине). Среду готовят из сухого порошка, но воды берется меньше: к 90 мл среды добавляют 10 мл стерильного молока, 0,2 мл 10% спиртового раствора основного фуксина, 0,2 мл 5% спиртового раствора розоловой кислоты, тщательно перемешают зоны просветления при выпадении в осадок параказена.
* желточно-лактозный бульон с бриллиантовым зеленым. К 700 мл дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 10 г лактозы, 200 мл желчи, 13,3 мл 1% водного раствора бриллиантового зеленого и доливают по 5 мл в пробирки с поплавками, стерилизуют при 112°С 12 мин.
* среду ФКП-1. Среду готовят так же, как желточнолактозный бульон, но только лактозы берут 1 г и добовляют 1 г триптофана.
* среду Хейфеца. В 1 л воды растворяют при нагревании 10 г пептона, 5 г хлорида натрия, 5 г маннита. Устанавливают рН 7,4-7,6, фильтруют и добавляют 10 мл 5% спиртового раствора розоловой кислоты, 23 мл 0,1% влного раствора метиленового синего. Стерилизуют при 100°С (текучим паром) 20 мин. Зазливают в стерильные пробирки и скашивает со столбиком. Цвет среды краснофиолетовый.
* среду Кесслера. К 1 л воды добавляют 10 г пептонна, 50 мл желчи, кипятят 20-30 мин, добавляют 2,5 г лактозы, доводят объем до 1 л, устанавливают рН 7,8-8,2 и добавляют 4 мл 1% водного раствора генциального фиолетового. Среди разливают в пробирки с поплавками и стерилизуют при 0,5 атм. 15 мин. Среда фиолетового цвета. Среда применяется при исследовании почвы.
* лактозный бульон с борной кислотой
1. Для обнаружение энтерококков используется:
* щелочно-полимиксиновая среда. Приготавливают три раствора по следущим рециптам

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ингредиенты | Обычная концентрация | Удвоенная концетрация |
| Раствор 1* мясопептонный бульон
 | 40 мл | 70 мл |
| * хлорид натрия
 | 0,5 г | 1 г |
| * глюкоза
 | 1 г | 1 г |
| * дрожжевой экстракт жидкий (или сухой)
 | 2 мл (0,2 г) | 4 мл (0,4 г) |
| Раствор 2* вода дистилли-рованная
 | 25 мл | 12,5 |
| * карбонат натрия
 | 0,53 г | 1,1 г |
| Раствор 3* бикарбонат натрия
 | 0,25 г | 0,5 |
| * вода дистилли-рованная
 | 25 мл | 12,5 мл |
| * полимиксин
 | 20000 ЕД/мл | 40000 ЕД/мл |
| * 1,6 % спиртовый раствор бромтимоло-вого синего
 | 0,5 мл | 1 мл |

Раздельно стерилизуют растворы 1, 2 и 3 при 112°С 12 мин. Растворы смешивается, устанавливают рН 10,0-10,2, добавляют полимиксин, бромтимоловый синий, разливают по 10, 50 и 100 мл во флаконаы (удвоенной концентрации).

* молочно-ингибиторная среда Калины. К 85 мл стерильного питательного агара добавляют 15 мл стерильного молока, 1,25 мл 0,01% водного раствора кристаллического фиолетового. Перемешивают и разливают по стерильным чашкам Петри.
* желчная среда, среда Турчинского. К 600 мл дистиллированной воды добавляют 400 мл желчи, 35-40 г сухого питательного агара, по 5 г фосфата калия однозамещенного си двузамещенного, 5 г натрий-аммония фосфата. Расплавляют при нагревании, разливают по флакон и стерилизуют при 120°С 20 мин. Перед употреблением в расплавленный остуженный агар добавляют на каждые 100 мл среды 0,5 г глюкозы, 1 мл 1% водного раствора TTX, 0,6 мл 1% водного раствора синего, 20000 ЕД полимиксина М, 1-2 мл 0,1% спиртового раствора фурацилина. Разливают по 20 мл в чашки Петри (толстым слоем).
* азидная среда Сланеца-Бкртли. В 1 л дистиллированной воды растворяют ( при нагревании) 30-40 г скхого питательного агара, 4 г фосфата калия однозамещенного, устанавливают рН 7,0; стерилизуют при 120°С 20 мин. Перед употреблением в расплавленный и слегка остуженный агар на каждые 100 мл среды добавляют: 2 мл дрожжевого экстракта, 1 г глюкозы, 0,04 г азида натрия, 1 мл 1% водного раствора TTX. Смешивают и быстро разливают в чашки Петри по 2 мл.
1. Для обнаружение патогенных энтеробактерий спользуется:
* селенитовый бульон. Бульон готовят из сухой среды Луйфсона по прописи на этикетке. При необходимости ее можно приготовить следующим образом. Основной раствол: в 1 л воды растворяют 7 г фосфата натрия двуузамещенного безводного, 3 г фосфата натрия однозамещенного, 5 г пептона и 4 г лактозы. Устанавливают рН не выше 7,0. Стерилизуют при 112°С 30 мин. Перед началом работы 2 мл 10 % раствора стерильного кислого селенистокислого натрия. Готовую среду разливают в стерильные пробирки по 5-7 мл.
* тетратионатный бульон Мюллера. К 90 мл стерильного мясопептонного бульона добавляют 4,5 г стерильного мела, 2 мл раствора Люголя, 10 мл гипосульфата натрия. ( При приготовлении раствора Люголя к 20 мл дистиллированной воды добавить йодида калия 20 г, йода 25 г, а за тем долить до 100 мл воды). Среда предназначена для накопления в материале сальмонелл.
* тетратионатная среда с бриллиантовым зеленым (среда Кауфмана). К 500 мл тетратионатной среды добавляют 25мл стерильрой жклчи и 5 мл 0,1%раствора бриллиантого зеленого. Среда служит для накопления сальмонелл.
* трехсахарный агар с мочевиной по Олькеницкому. Среда является дифференциально-диагностической. К 100 мл дистиллированной воды добавляют 2,5 г сухого питательного агара, 1 г лактозы, 1 г сахарозы, 0,1 г глюкозы, 1 г мочевины, 0,02 соли Мола, 0,03 г тиосульфата натрия, 0,4 мл 0,4% водного раствора фенолового красного. Все тщательно перемешивают, устанавливают рН 7,2-7,4, разливают по пробиркам, стерилизуют текучим паром по 20 мин 3 дня подряд. Среду скашивают, оставляя столбик высотой 5 см. Среда после стерилизации бледно-розового цвета.
* среда Ресселя. К 100 мл 1,5 %мясопептонного агара добавляют 1 %лактозы, 0,1% глюкозы и 1 мл индикатора Андреде (кислый фуксин, обесцвеченный едким натром) или смесь водного голубого и розоловой кислоты. Устанавливают рН 7,2. Среду разливают в пробирки, стерилизуют при 112°С 20 мин и скашивают, оставляя столбик агара высотой 2-3 см.
1. Для обнаружение иерсиний используется
* буферная среда обогащения. Предварительно готовят растворы солей: 3 мл 1/15 М гидрофосфата натрия в 100 мл дистиллированной воды и 7 мл 1/15 М дигидрофосфата натрия, также в 100 мл. Затем добавляют 8,5 г хлорида натрия, доводят общий объем воды до 1 л, фильтруют, устанавливают рН 7,2, разливают в пробирки по 5-6 мл и стерилизуют текучим паром 30 мин.
1. Среды для контроля стерильности:
* сахарный бульон Хоттингера. К мясному перевару Хоттингера (140-160 мг % амминного азота) добавляют 0,5% хлорида натрия, подщелачивают до рН 8-8,2 ( с помощью 10 % раствора едкого натра), кипятят 10 мин и фильтруют через ватный фильтр. Затем в среду вносят 1 % глюкозы, устанавливают рН 7,3-7,5, (с помощью 5 % хлористоводородной кислоты), фильтруют через бумажный фильтр и разливают в стерильные колбы или пробирки. Стерилизация при 120° С 30 мин.
* бульон Сабуро. В 1 л дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, кипятят 10 мин и фильтруют через бумажный фильт. Затем добавляют 4% глюкозы (или мальтозы), устанавливают рН 5,7 разливают в стерильные колбы и пробирки. стерилизация при 112° С 30 мин.
* тиогликолевая среда. К 1 л дистиллированной воды добавляют 15 г гидролизата казеина, 5 г дрожжевого экстракта, 2,5 г хлорида натрия, 0,75 г цистина, 0,75 г агар-агара. Цистина предварительно растворяют в небольшом количества воды (с помощью едкого натра). Устанавливают рН смеси всех компонентов до 8-8,2, кипятят 5-10 мин до полного расплавления агара. Затем добавляют 5 г глюкозы и 0,3 мл тиогликолевой кислоты. Среду фильтруют, устанавливают рН 7,2-7,3 вносят 1 мл раствора резазурина натрия 1:1000, перемешивают и разливают в стерильные пробирки. стерилизация при 120° С 20 мин.

Список литературы:

1. Актуальные вопросы эпидемиологии и инфекционных болезней. / Н. А. Семина. – М.: Медицина, 1999
2. Внутрибольничная инфекция. / Шерертц, Хэмптон, Ристуцина. – Под ред. Р. П. Венцела. – М.: Медицина 1990.
3. Внутрибольничная инфекция. / соавторами. – учебно-методическая пособия, Иркутск, 1999. – 32 с.
4. Дезинфекционное дело. / Гандельсман Берта Израиловна. – Под ред. И. И. Карон. – М.: Медицина, 1971
5. Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – стр.543-547
6. Медицинская микробиология. / Гл. ред. В.И. Покровсктй, О. К. Поздеев – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. – стр. 631-656
7. "Медицинская энциклопедия" РАМН 2001 Russ Portal Company Ltd.
8. Санитарная микробиология и вирусология./ З. Н. Качемасова, С. А. Ефремова, А. М. Рыбакова – М.: Медицина, 1987. – 352 с.
9. "Справочник госпитального эпидемиолога". М.: Хризгостом, 1999
10. Эпидемиология внутрибольничной инфекций. / Р. Х. Яфаев, Л. П. Зуева. – Ленинград: Медицина, 1989
11. Эпидемиологические особенности внутрибольничных инфекции в районах Сибири и Крайнего севера. / Ратушняк С. С. – автореферат, Иркутск, 1999