

Практические рекомендации по преаналитическому этапу микробиологических исследований.

Часть I. Бактериологические исследования

© Е.В. АЛИЕВА¹, Л.А. КАФТЫРЕВА², М.А. МАКАРОВА², И.С. ТАРТАКОВСКИЙ³

¹ФГБУО ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь

²ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

³ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Алиева Е.В., Кафтырева Л.А., Макарова М.А., Тартаковский И.С. Практические рекомендации ассоциации ФЛМ, по преаналитическому этапу микробиологических исследований. *Лабораторная служба*. 2020;9(2):45–66.
<https://doi.org/10.17116/labs2020902145>

Practical recommendations for the preanalytical stage of microbiological research

© E.V. ALIEVA¹, L.A. KAFTYREVA², M.A. MAKAROVA², I.S. TARTAKOVSKY³

¹ФГБУО ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь

²ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

³ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

TO CITE THIS ARTICLE:

Alieva EV, Kaftyreva LA, Makarova MA, Tartakovsky IS. Practical recommendations of the FLM association for the preanalytical stage of microbiological research. *Laboratory Service = Laboratornaya sluzhba*. 2020;9(2):45–66. (In Russ.).
<https://doi.org/10.17116/labs2020902145>

1. Введение

В настоящее время в деятельности микробиологических (бактериологических) лабораторий происходят большие изменения, ориентированные на совершенствование качества результатов анализов. Эти изменения связаны с необходимостью более взвешенного подхода при назначении антимикробной терапии. В связи с этим необходимо пересмотреть и изменить взаимоотношения между врачами-клиницистами и бактериологической лабораторией. К сожалению, большинство врачей-клиницистов считают, что они не участвуют в диагностическом лабораторном процессе и, поэтому, не оказывают влияния на качество обследования пациентов и результатов, получаемых в лаборатории. Вместе с тем, если рассматривать диагностический лабораторный процесс, частью которого является бактериологическое исследование, то целый комплекс процедур (подготовка пациента к исследованию, метод взятия проб биоматериала, их

правильная и своевременная доставка в лабораторию), могут оказывать существенное влияние на качество результатов анализов, и целиком находятся в компетенции врачей-клиницистов и среднего медицинского персонала.

Поэтому данные практические рекомендации предназначены, в первую очередь, для специалистов, принимающих участие в отборе проб биологического материала для бактериологических исследований.

2. Термины и определения

Патогенный биологический агент (ПБА) — патогенные для человека микроорганизмы, включая генно-инженерно-модифицированные, яды и токсины биологического происхождения, а также любые объекты и материалы, включая полевой, клинический, секционный, подозрительные на содержание перечисленных агентов.

Биологический материал — любые типы проб биологического происхождения (имеющие непосредственное отношение к организму человека), полученные прижизненно или при вскрытии, а также материал, полученный при контроле санитарно-гигиенического состояния внешней среды.

Проба биологического материала или просто **проба** — разными способами отобранный биологический материал, качество и количество которого позволяет использовать его для микробиологического исследования.

Контейнер — емкость, специально предназначенная для отбора и безопасной транспортировки биологического материала, герметично закрывающаяся.

Транспортная система (ТС) — это комплект, состоящий из пластиковой пробирки, заполненной транспортной средой, и аппликатора с тампоном.

Зонд-тампон, тубсер (тупфер) — средство взятия пробы биологического материала, состоящее из тампонодержателя, изготовленного из дерева, пластика или металла и накрученного на него тампона из волокнистого материала, может быть упакован индивидуально в бумажно-пластиковую упаковку, либо в пробирку

Целлюлозная пробка — это промышленно изготовленная газопроницаемая пробка, используемая вместо ватно-марлевых пробок ручного производства.

Стерильная одноразовая пробирка (емкость) — пробирка (емкость) из пластика или стекла стерилизованная промышленно или в лаборатории с герметичной или газопроницаемой пробкой.

Вакуумная пробирка (система) — представляет собой максимально безопасную закрытую систему для взятия проб венозной крови. Состоит из одноразовой стерильной пробирки, в которой создано дозированное разрежение (вакуум), герметично укупленная пробкой из силиконовой резины.

Мазок — биологический материал (жидкий или полужидкий), нанесенный тонким равномерным слоем на предметное стекло, предназначенный для микроскопического исследования.

3. Область применения и обоснование необходимости систематизации преаналитического этапа микробиологических исследований

3.1. Область применения

Данные практические рекомендации определяют основные требования к организации преаналитического этапа бактериологических исследований. Они регламентируют: порядок составления направления; требования к подготовке пациента к бактериологическим исследованиям; использование посуды и приспособлений для сбора и транспортировки материала; порядок проведения процеду-

ры сбора отдельных видов патогенного биологического материала.

Рекомендации предназначены для применения в медицинских организациях, направляющих пробы биологического материала на бактериологические исследования.

3.2. Обоснование необходимости систематизации преаналитического этапа микробиологических исследований

Клиническая микробиология, частью которой являются бактериологические исследования, как раздел медицинской микробиологии, решает две основные задачи: этиологическая диагностика инфекционного процесса и выбор рациональных средств этиотропной терапии. Обе задачи взаимосвязаны, без решения первой, как правило, невозможно достоверное решение второй. Диагностический процесс складывается из четырех основных этапов: 1) формулировка задачи и выбор метода исследования; 2) определение исследуемого материала и тактики отбора пробы, хранения и транспортировки в лабораторию; 3) проведение исследований; 4) анализ и интерпретация полученных результатов. Процесс проведения лабораторных исследований, в свою очередь, включает три самостоятельных этапа: 1) преаналитический; 2) аналитический; 3) постаналитический. Если провести корреляцию между этими процессами, то первые два этапа диагностического процесса (формулировка задачи и выбор метода исследования и взятия пробы материала, его хранение и транспортировка) в сущности и есть «преаналитический» этап бактериологических исследований и от того как он организован зависит достоверность результата исследования. По действующим нормативным документам, регламентирующим работу бактериологических лабораторий, специалисты-бактериологи не принимают в нем непосредственного участия, так как не имеют права контактировать с пациентами. Осуществляют преаналитический этап специалисты-клиницисты, начиная с формулировки задачи, выбора метода исследования и взятия пробы исследуемого материала, его хранения и доставки в лабораторию. Строгое соблюдение правил проведения преаналитического этапа клиницистами, даст возможность бактериологам продемонстрировать свое умение при выявлении этиологического фактора инфекционного процесса.

Получение качественных и достоверных результатов лабораторных анализов пациента — это единый процесс, начиная от составления заявки на анализы, взятия проб биоматериала, его доставки, в лабораторию для проведения исследований, получением и использованием результатов для оказания пациенту качественной медицинской помощи. Но, особое внимание необходимо уделять преаналитическому

этапу, именно потому, что медицинский персонал, осуществляющий сбор и транспортировку биоматериала для бактериологических исследований не всегда понимает важность этого процесса для получения качественного и достоверного конечного результата. Преаналитический этап бактериологического исследования проводится вне лаборатории и включает в себя: прием врача и назначение пациенту необходимых лабораторных исследований; составление направления на бактериологическое исследование; получение пациентом инструкций врача/медицинской сестры об особенностях подготовки к сдаче анализов или сбору биологического материала; взятие проб биологического материала у пациента; доставка биоматериала в лабораторию.

Все эти процедуры полностью находятся в компетенции врача-клинициста и медицинской сестры. Появление даже незначительных ошибок на преаналитическом этапе неизбежно приводит к искажению качества окончательных результатов лабораторных исследований. Как бы хорошо в дальнейшем лаборатория не выполняла исследования, ошибки на преаналитическом этапе не позволят получить достоверные результаты.

Наиболее частыми причинами неправильного результата лабораторных исследований являются ошибки, допущенные на преаналитическом этапе: неправильное взятие пробы биологического материала и нарушения условий и сроков ее транспортировки. Ошибки, допущенные на преаналитическом этапе исследования чреваты потерей времени и средств на проведение повторных исследований, а их более серьезным следствием может стать неправильный диагноз.

Основные причины ошибок:

- отсутствие стандартов качества выполнения процедур преаналитического этапа;
- редкое использование для взятия и транспортировки биоматериала одноразовых специализированных приспособлений;
- неправильное использование специализированных приспособлений для взятия и транспортировки биоматериала;
- неумение медицинского персонала «работать» со специализированными приспособлениями для взятия и транспортировки биоматериала.

Поэтому для обеспечения качественного выполнения процедур преаналитического этапа в каждой медицинской организации необходимо разработать внутренний стандарт преаналитического этапа. Кроме этого, необходимо внедрение передовых технологий — использование одноразовых приспособлений для взятия и транспортировки проб биологического материала. Примеры таких приспособлений представлены в различных разделах данных практических рекомендаций.

4. Общие положения преаналитического этапа

4.1 Нормативные документы, регламентирующие преаналитический этап

- Методические указания по применению микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений; Приложение 1 к Приказу Министерства здравоохранения СССР от 22.04.85 № 535
- Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. Утверждена Минздравом СССР 17.01.91;
- «О развитии и совершенствовании лабораторий клинической микробиологии (бактериологии) лечебно-профилактических учреждений»; утвержден приказом Минздрава России от 19.01.95 №8; Документ с изменениями, внесенными приказом Минздрава России от 25.12.97 №380.
- МУК 4.2.1887-04 Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов;
- МУ 4.2.2039-05 Техника сбора и транспортировки биоматериалов в микробиологические лаборатории;
- МУК 4.2.3222-14. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов. Методические указания.

4.2. Направление на исследование

Основным инструментом обмена информацией между специалистом-клиницистом и бактериологической лабораторией является направление. Именно клиницист определяет успех бактериологического исследования, давая процессу правильный вектор. Основываясь на знаниях этиологии и патогенеза инфекционного процесса, он формулирует цели и задачи исследования и излагает их в направлении. Стандартные направления на бактериологические исследования, регламентированные нормативными документами, не существуют. В данных практических рекомендациях мы предлагаем унифицированный вариант направления и рекомендуем его к использованию в медицинских организациях, независимо от профиля.

4.3. Общие требования к процедуре сбора биологического материала

Перед сбором пробы, особенно при применении инвазивных методов, учитывается вероятность риска для пациента и пользы, а также значимость данного

Направление

1. Информация о пациенте:

Ф.И.О. _____

Возраст _____

Пол _____

Адрес места проживания _____

Отделение, палата _____

№ амбулаторной карты _____

Диагноз _____

Период болезни _____

Лекарственные препараты, получаемые пациентом _____

2. Информация о биоматериале:

Дата назначения исследования _____

Дата и время сбора биоматериала _____

Дата и время доставки в лабораторию _____

Цель исследования: установление клинического диагноза, уточнение клинического диагноза, наблюдение динамики патологического процесса, медицинский профилактический осмотр. (нужное подчеркнуть)

Характеристика биоматериала _____

Перечень необходимых исследований _____

Ф.И.О. специалиста, проводившего сбор биоматериала _____

вида биоматериала для целей объективизации клинического диагноза и оценки проводимых или планируемых лечебных мероприятий. Кроме того, необходимо учитывать соответствие назначения исследования стандартам оказания медицинской помощи для данной патологии.

Необходимые условия для процедуры сбора пробы биоматериала ПБА:

1. До начала антибактериальной терапии, при отсутствии такой возможности — непосредственно перед повторным введением (приемом) препаратов;
2. В количестве (масса, объем), необходимом для выполнения анализа, т.к. недостаточное для исследования количество биоматериала приводит к получению ложных результатов, а избыточное усложняет проведение исследования.
3. С минимальным загрязнением пробы бактериями нормобиоты, т.к. их наличие приводит к ошибочной трактовке результатов, полученных из проб нестерильных биотопов организма, например, при исследовании мокроты, проб из носа, глотки (зева), гениталий и др.;
4. Взятие проб биологического материала должны проводить специально обученные медицинские работники, желательно врачи;
5. В случае самостоятельного сбора биоматериала пациентами им должна выдаваться памятка с пошаговой инструкцией по сбору;
6. Для взятия и транспортировки проб используют стерильные инструменты, пробирки или контейнеры, предназначенные для этих целей. Использование нестерильных пробирок для транспортировки допускается только для проведения серологических исследований;

Возможные проблемы:

1. Сбор материала производит не врач или не обученный медицинский работник;
2. Неправильная подготовка пациента;
3. Медицинский персонал не соблюдает меры индивидуальной защиты (инфицирование персонала, контаминация материала);
4. Забор материала проводят после начала антимикробной терапии.

4.3.1. Приспособления для сбора ПБА, не содержащие питательной среды

Главным образом, они используются для взятия, сохранения и транспортировки материала в ограниченные сроки (до 2 ч) на небольшие расстояния.

1. Стерильные зонды-тампоны без пробирки предназначены для взятия образцов биологического материала, не предназначенного для последующей транспортировки. Их используют:

- а) для подготовки (очистки) места взятия пробы — извлечь стерильный зонд из упаковки, снять с его помощью избыточное отделяемое, утилизировать использованный зонд в специальную емкость для отходов с биологическими загрязнениями;
- б) для получения материала на цитологическое или бактериологическое исследование — извлечь стерильный зонд из упаковки, взять «мазок» из исследуемого эпитепия, нанести материал тонким слоем на предметное стекло, в зависимости от предполагаемого метода окрашивания высушить препарат или фиксировать с использованием аэрозольных фиксаторов, утилизировать использованный зонд в специальную емкость для отходов с биологическими загрязнениями;
- в) при прямом посеве пробы биоматериала на плотные питательные среды, разлитые в чашки Петри — извлечь стерильный зонд из упаковки, опустить зонд-тампон в пробу и нанести материал на плотную питательную среду штриховкой, утилизировать использованный зонд в специальную емкость для отходов с биологическими загрязнениями;
- г) для взятия биологических проб для дальнейшего бактериологического исследования (не желательно!) — извлечь стерильный зонд из упаковки, отобрать пробу и поместить зонд-тампон в стерильную емкость пустую или со средой;

2. Стерильные зонды-тампоны в ударопрочной ПП-пробирке (тубсеры) предназначены для взятия образцов биологического материала и последующей безопасной транспортировки в лабораторию для анализа.

Применение этих изделий, как стандартных закрытых систем, не требует использования дополнительных нестандартных, смонтированных вручную

средств предохранения взятого материала от посторонней контаминации, высыхания и других неблагоприятных факторов. Они полностью готовы к использованию для безопасного взятия биологических проб со слизистых, раневых, операционных и иных поверхностей с целью дальнейшего бактериологического исследования при условии кратковременной (не более 2 ч) транспортировки от места взятия пробы до лаборатории.

Работа с ними очень проста:

- стерильный зонд-тампон извлекают из пробирки;
- отбирают на него необходимое количество биоматериала;
- аккуратно помещают в пробирку, не касаясь ее стенок;
- отобранную пробу немедленно доставляют в лабораторию.

Каждая пробирка снабжена этикеткой, которая играет роль контроля первого вскрытия тубсера. На ней предусмотрено место для внесения сведений о пациенте, дате и времени отбора пробы, номере истории болезни, подписи врача, отобравшего материал, наименовании образца и названии медицинской организации.

3. Стерильные контейнеры разнообразной формы универсального назначения

4. Стерильные контейнеры разнообразной формы специального назначения: контейнеры для вакуумного сбора ПБА; контейнеры для сбора мочи; контейнеры для сбора кала.

4.3.2. Приспособления для сбора ПБА, содержащие транспортные среды — транспортные системы

Значительное повышение качества бактериологических исследований на преаналитическом этапе достигается за счет использования специализированных транспортных систем, которые позволяют создать оптимальные для каждого вида микроорганизмов условия существования во время их транспортировки в бактериологическую лабораторию. Это позволяет сохранить изъятое из организма человека или объекта внешней среды количество микроорганизмов, что значительно облегчает получение качественного результата бактериологического исследования и, особенно, интерпретации его результатов. Широкий выбор транспортных сред дает возможность подбирать наиболее правильную систему в зависимости от задач и условий использования одного образца. Все существующие транспортные системы делятся на системы с жидкой средой и системы с агаризованной средой.

4.3.2.1. Транспортные системы с жидкой средой

Биологический образец полностью диспергирован в транспортной жидкой среде. Перемешивание (взбалтывание) транспортной системы обеспечивает

создание однородной суспензии (образец равномерно распределяется во всем объеме транспортной среды), которая может быть разделена на аликвоты и использована сразу для несколько лабораторно-диагностических исследований (молекулярных, культурных окраске по Граму и микроскопировании). Кроме того, благодаря жидким транспортным средам любой клинический образец становится жидким, а жидкий образец можно обрабатывать автоматически. Таким образом, возможность преобразовать собранной пробы клинического материала для микробиологического анализа в жидкую форму — революционный подход к стандартизации и автоматизации преаналитического этапа бактериологической диагностики.

Транспортные системы с жидкой питательной средой могут быть *универсальными* и *специализированными*.

Универсальные транспортные системы

Используется для сбора биоматериала из различных локусов организма. Состав жидкой питательной среды может быть разный, в зависимости от места локализации и вида микроорганизма. Более подробно эта информация представлена в разделе «Правила сбора и транспортировки отдельных видов патогенного биологического материала».

Состав транспортной системы:

- полипропиленовая пробирка 12×80 мм с завинчивающейся крышкой;
- универсальная транспортная среда 1 мл;
- зонд-тампон для взятия материала.

Правила работы с транспортной системой, содержащей жидкую питательную среду:

- 1) вскрыть упаковку в том месте, где указано «Открывать здесь»;
- 2) достать тампон-аппликатор и произвести забор клинического образца;
- 3) асептически открутить крышку с пробирки;
- 4) поместить аппликатор в пробирку, отломить его верхнюю часть в точке перелома, отмеченной цветной меткой. Оставшуюся в руке часть аппликатора утилизировать в контейнер для сбора медицинских отходов;
- 5) закрыть пробирку завинчивающейся пробкой, зафиксировав аппликатор под крышкой;
- 6) промаркировать пробирку, указав Ф.И.О. пациента дату, время взятия образца и др.

При сборе образца оператор не должен касаться аппликатора ниже точки перелома, отмеченной цветной меткой, во избежание контаминации взятого образца.

Специализированные транспортные системы

Используются для определенного вида биологического материала. Подробная информация о них

содержится в разделе «Правила сбора и транспортировки отдельных видов патогенного биологического материала».

4.3.2.2. Транспортные системы с агаризованной средой

Полностью готовы к использованию для безопасного взятия биологических проб со слизистых, раневых, операционных и иных поверхностей. Обеспечивают длительное сохранение жизнеспособности микроорганизмов, в том числе прихотливых. Широкое распространение получили три вида питательных сред, используемых в транспортных системах:

1. Среда Стюарта представляет собой полужидкий, бедный питательными веществами субстрат для сохранения и транспортировки широкого спектра патогенных микроорганизмов (*Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Trichomonas vaginalis*, *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp. 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.
2. Транспортная среда КериБлейр 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 pH среды увеличена до 8,4. Среда позволяет сохранять большинство патогенных микроорганизмов, включая требовательные, такие как *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., *Streptococcus* spp. *Campylobacter* spp. Данная среда является стандартной для транспортировки анаэробов микроаэрофилов.
3. Транспортная среда Эймса представляет собой очередную модификацию базовой транспортной среды Стюарта, в которой глицерофосфат заменен неорганическим фосфатом, поскольку глицерофосфат является метаболитом некоторых энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и др.) 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* spp., *Haemophilus* spp., *Corynebacteria*, *Streptococci*, *Enterobacteriaceae*, *Campylobacter* spp. и др., од-

нако наилучшие результаты дает культивирование в течение первых 24 ч.

Состав транспортной системы:

- Стерильная круглодонная пробирка с пробкой, изготовленная из ударопрочного полипропилена, пригодного для использования в пищевых целях, содержащая транспортную среду.
- Зонд-тампон, состоящий из деревянного или пластикового тампонодержателя (оси), тампона с защитной пробкой, надежно закупоривающей пробирку.
- Этикетка, скрепляющая пробку с пробиркой. На этикетке имеется место для указания ФИО пациента, даты и времени взятия пробы, номера пробы, данных о враче, характере образца и названии медицинского учреждения. Также на этикетке нанесен срок годности, номер партии, описание продукта и название предприятия-изготовителя среды, а также указания по использованию.
- Упаковка с указанием номера партии, срока годности, кода и описания продукта и указаниями по использованию.

Правила работы с транспортной системой, содержащей агаризованную среду:

- 1) вскрыть стерильную упаковку;
- 2) извлечь зонд-тампон.
- 3) отобрать на него необходимое количество биоматериала;
- 4) аккуратно вскрыть пробирку с транспортной средой;
- 5) поместить зонд-тампон в пробирку, не касаясь ее стенок;
- 6) промаркировать пробирку, указав Ф.И.О. пациента, дату и время взятия образца.

Пробу в пробирке с транспортной средой хранят при комнатной температуре (исключая термочувствительные микроорганизмы) до 72 ч, хотя оптимальным сроком до пересева материала считают 48 ч.

4.4. Общие требования к транспортировке патогенного биологического материала

4.4.1. Без использования транспортных систем, содержащих среду

Все пробы отправляют в микробиологическую лабораторию немедленно после получения: максимальное время доставки 1,5–2 ч. Выполнения этого требования **ОБЯЗАТЕЛЬНО!**

Это необходимо для: — сохранения жизнеспособности и возможности выделения микроорганизмов, требующих особых условий культивирования (*Naemorphylus* и др.); — предотвращения избыточного роста быстрорастущих микроорганизмов; — поддержания соотношения исходных концентраций изолятов при наличии в пробе микробных ассоциаций; —

сокращения времени контакта пробы с некоторыми антисептиками, используемыми местно, которые могут обладать антибактериальной активностью; — объективизации клинического диагноза инфекционно-воспалительного заболевания и оценки результатов терапии.

В противном случае результат бактериологического исследования сводится к нулю. Задача специалистов-бактериологов при приеме патогенного биологического материала тщательно отслеживать соблюдение временного интервала от момента забора материала до доставки в лабораторию. В случае нарушения данного требования необходимо отказывать в приеме, мотивируя отказ невозможностью качественного проведения исследования.

Условия транспортировки проб биологического материала для аэробов: 1) время — не больше 2 ч; 2) температура — от 25 до 37°; 3) отсутствие контаминации другими микроорганизмами.

Условия транспортировки патогенного биологического материала для анаэробов: 1) время — не больше 2 ч; 2) температурный режим оптимальный для микроорганизмов; 3) отсутствие контаминации другими микроорганизмами; 4) использование специальных герметично закрытых флаконов, заполненных инертным газом, в которые проба вносится путем прокола крышки иглой шприца или в одноразовом шприце, из которого удален воздух, а кончик шприца закрыт либо стерильной резиновой пробкой, либо иглой, с надетым на нее штатным защитным колпачком. Все образцы должны иметь четкую маркировку, обеспечивающую их безошибочную идентификацию.

4.4.2. С использованием транспортных систем, содержащих среду:

1) время — 24–48–72 ч, в зависимости от транспортной системы; 2) температурный режим оптимальный для микроорганизмов; 3) отсутствие контаминации другими микроорганизмами; 4) отсутствие необходимости создавать специальные условия для анаэробов. Все образцы должны иметь четкую маркировку, обеспечивающую их безошибочную идентификацию.

4.5. Правила биологической безопасности на преаналитическом этапе бактериологического исследования

К работе по взятию и транспортировке биологического материала допускается медицинский персонал, прошедший специальный инструктаж по технике и мерам безопасности. При взятии биологического материала должны использоваться средства индивидуальной защиты: медицинские халаты, шапочки, сменная обувь, резиновые (латексные, виниловые) перчатки, 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), желательна — термостатированных, выдерживающих дезинфекцию.

Сопроводительная документация помещается в предназначенный для нее карман переноски (укладки), а в случае его отсутствия — кладется в переноску в отдельном полиэтиленовом пакете. При хранении биологического материала в холодильнике каждый образец упаковывается в отдельный полиэтиленовый пакет. Выделяется отдельный холодильник, хранение в котором пищевых продуктов и лекарственных препаратов не допустимо.

5. Правила сбора и транспортировки отдельных видов биологического материала

5.1. Кровь

При бактериологическом исследовании крови существует две серьезные проблемы, влияющие на качество проведения самого исследования. Эти проблемы возникают на преаналитическом этапе:

1. Правильный отбор контингента пациентов для проведения исследований. Бактериологический посев крови, в последнее время, является часто назначаемым исследованием, хотя перечень показаний для него крайне ограничен.

Показания к проведению исследования: клиническая картина сепсиса; лихорадочные состояния

неустановленной этиологии; пневмонии; подозрение на инфекционные заболевания (брюшной тиф и паратифы, сальмонеллез, бруцеллез, возвратный тиф, лептоспирозы, малярия, эпидемический менингит, пневмококковые/стафилококковые/стрептококковые инфекции, сибирская язва, туляремия, чума и др.).

Перечисленные показания связаны с тяжелым лихорадочным синдромом, возникающим из-за циркуляции бактериальных возбудителей в крови, и относятся к тяжелым состояниям, характерным для пациентов реанимационных отделений и отделений интенсивной терапии. Часто врачи назначают бактериологическое исследование крови на стерильность амбулаторным пациентам, которые не имеют показаний к проведению этого исследования.

2. Несоблюдение правил взятия крови. Анализ результатов исследования крови свидетельствует о том, что практически в 70% случаев выделяются микроорганизмы, живущие на поверхности кожных покровов, что свидетельствует о контаминации, возникшей в результате несоблюдения требований при заборе.

В связи с этим, для проведения данного вида исследования клиницисты должны целенаправленно отбирать пациентов и строго соблюдать правила сбора и транспортировки проб крови. Пробы для определения наличия в крови биологических агентов получают венепункцией периферических вен (чаще вены локтевого сгиба), артерий или из пятки у новорожденных. Сбор пробы из постоянного внутривенного или внутриартериального катетеров допускается только в случаях подозрения на наличие катетер-ассоциированной инфекции или отсутствия возможности ее получения венепункцией.

Необходимое оснащение: вакуумные системы для взятия венозной крови. В случае их отсутствия: шприцы одноразовые 20-граммовые (для детей 10-граммовые) с иглами для венепункции; 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 в России. При использовании изготовленной в лаборатории среды СКС в качестве индикатора анаэробнозиса в нее добавляют резазурин, который краснеет в присутствии кислорода. В случае покраснения более 20% верхней части столбика среды регенерируют прогреванием в течение 20 мин 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 для автоматического посева крови; 70° эти-

ловый спирт; — 2 или 5% настойка йода; венозный жгут; резиновые (латексные, виниловые) перчатки; спиртовка (для флаконов со средами, изготовленными в лаборатории). В крупных стационарах, как правило используют Анализаторы гемокультур для детекции микробного роста в пробах крови и других образцах, которые являются необходимым оборудованием в диагностике инфекций кровотока и септических состояний, когда важен каждый час. Их отличает высокая производительность, высокий процент высеваемости бактерий в первые 24 ч, а также наличие дополнительного флакона для выделения грибов.

Взятие исследуемого материала:

Сбор проб крови для посева производят 2 человека у постели пациента или в процедурной. Один человек работает с пациентом, другой работает с инструментарием для взятия крови.

Для получения пробы необходимо выполнить следующее: 1) участок кожи над выбранным для пункции сосудом продезинфицировать (обработать кожу тампоном, смоченным 70° этиловым спиртом, затем другим тампоном, смоченным 1—2% раствором йода или другим дезинфектантом, разрешенным к применению для этих целей в установленном порядке); 2) подождать, пока высохнет обработанный участок. Не допускается пальпировать сосуд после обработки кожи перед введением иглы; 3) параллельно с дезинфекцией участка кожи для пунктирования обработать пробки флаконов 70° этиловым спиртом (раствор йода не допускается использовать для обработки пробок при работе с флаконами для автоматических анализаторов). Количество независимо отбираемых проб крови и время их взятия определяет лечащий врач (табл. 1). Как правило, должны исследоваться не менее 2—3 проб крови, каждая из которых взята путем отдельной венопункции. Это необходимо для дифференциации истинной бактериемии от случайной контаминации крови при венопункции. Вероятность загрязнения вследствие случайного прокола сальной или потовой железы составляет 3%.

У больных, получающих антибактериальные препараты, пробы необходимо собирать непосредствен-

но перед введением (приемом) следующей дозы препарата. При наличии лихорадки оптимальным является взятие крови на фоне повышения температуры тела (но не на пике температуры!). 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.

Среды лабораторного приготовления, расфасованных во флаконы с целлюлозными (ватными) пробками: 1) снять иглу со шприца; 2) над пламенем спиртовки открыть флакон; 3) внести половину крови из шприца во флакон; 4) обжечь горлышко и пробку флакона в пламени спиртовки; 5) закрыть флакон пробкой; 6) осторожно, чтобы не замочить пробку, перемешать содержимое флакона круговыми движениями; 7) вторую порцию крови из шприца внести во второй флакон, повторяя указанные операции.

Флаконы со средами промышленного производства во флаконах с резиновыми либо пластиковыми пробками: 1) при наличии на флаконах защитных колпачков их удалить (отогнуть), не открывая при этом пробки; 2) пробки флаконов обработать 70° этиловым спиртом (использование йодной настойки определяется рекомендациями производителя сред); 3) кровь в равных объемах внести в «аэробную» и «анаэробную» питательные среды, проколов при этом пробки флаконов. Если предполагается проведение бактериоскопического исследования, дополнительно готовят препарат «толстая капля» и мазок.

Приготовление мазка: 1) каплю крови диаметром 2—3 мм нанести на обезжиренное предметное стекло вблизи от торца; 2) перед каплей крови под углом 45° поставить одноразовый пластиковый шпатель для растяжки мазков или стекло со шлифованным краем и плавным движением равномерно распределить материал по поверхности.

Приготовление препарата «толстая капля»: 1) на предметное стекло наносят 2 капли крови диаметром 5 мм, кровь распределяют в равномерные диски диаметром 1,0—1,5 см с помощью угла чистого стекла или в прямоугольники с помощью скарификатора, которым прокалывали кожу; 2) между ка-

Таблица 1. Рекомендуемое число отбираемых проб

Клиническое состояние	Количество проб	Примечание
Острый сепсис	2	из двух сосудов или двух участков кровеносного сосуда перед началом антибактериальной терапии
Лихорадка неясного генеза	4	Первые сутки: 2 пробы из разных кровеносных сосудов затем через 24—36 ч еще 2 пробы
Инфекции с лихорадочным синдромом	6	Первые сутки: из 2 сосудов перед началом антибиотикотерапии в первые 1—2 ч подъема температуры 3 пробы с интервалом 15 мин. Вторые сутки: повторить

плями делают мазок в виде полоски для маркировки препарата отдельного пациента, при массовых обследованиях делают две полоски: на одной полоске указывается Ф.И.О., дата взятия крови, на другой — название ЛПУ (код), где проводилось обследование; — на предметном стекле готовят мазок крови более толстый, чем требуемый для исследования на малярию; — сразу после приготовления мазка, пока он не высох, наносят кровь из капилляра или влажной поверхностью мазка прикасаются к выступившей капле крови; 3) приготовленный препарат помещают на горизонтальную поверхность, капля крови распределяется по влажному мазку, величина капли зависит от количества крови и ее реологических свойств (вязкость). Толщина толстой капли должна быть такой, чтобы через нее после высыхания просматривался газетный текст. Слишком толстая капля может оторваться от стекла при высушивании; такой препарат не пригоден для исследования. Маркировка препарата производится на мазке крови между каплями. Толщина капли должна позволять видеть через нее газетный шрифт. Препараты высушить («толстая капля» сохнет 2—3 ч) и доставить в лабораторию в специальном планшете для хранения и транспортировки стекол с соблюдением необходимой осторожности.

Посевы крови немедленно доставить в лабораторию, оберегая от охлаждения.

Как уже было сказано выше посев крови необходимо производить в специальные флаконы сразу после забора у пациента, так как для бактериологического исследования нельзя транспортировать нативную кровь. Выбор флаконов определяется методом самого исследования. Оно может быть ручным и автоматизированным.

Флаконы для ручного метода могут быть приготовлены как в самой бактериологической лаборатории, так и закуплены промышленного производства. Для автоматизированного метода исследования используются флаконы только промышленного производства, предназначенные для работы на определенном бактериологическом автоматическом анализаторе.

Флаконы для ручного метода исследования промышленного производства

Следует помнить, что все среды, не зависимо от производителя выпускаются в двух объемах: для взрослых и детей. Использовать их можно в четком соответствии с инструкцией

Однофазная система Signal для определения стерильности крови

Система Signal — состоит из двух частей — флакона с жидкой питательной средой специального состава и индикатора роста (камера, устанавливаемая на флакон после посева).

Правила работы с системой Signal

1. Перед переносом образца крови осмотреть бутылку с бульоном, не использовать его, если визуально обнаружены любые признаки повреждения или контаминации.
2. Подготовить бутылку для посева перед переносом крови. Снять зеленый пластиковый колпачок и продезинфицировать открытую часть резиновой пробки.
3. С соблюдением стерильности добавить максимальное количество крови 10 мл через центральное кольцо резиновой пробки. (Частичный вакуум в бутылке позволяет принять 12 мл крови.)
4. Тщательно перемешать кровь и бульон в бутылке.
5. Указать Ф.И.О. и данные пациента на этикетке бутылки.
6. Немедленно отправить бутылку с посевом крови в лабораторию. Если лаборатория закрыта или нет возможности организовать немедленную транспортировку, бутылку следует инкубировать при $\pm 1^{\circ}\text{C}$, выполнив описанные ниже лабораторные процедуры при первой возможности (в течение 24 ч).

5.2. 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»).

Необходимое оснащение: игла для люмбальной пункции; мандрены; анестетик; 70° этиловый спирт; настойка йода (2% или 5%) или другой антисептик, разрешенный к применению; перевязочный материал; стерильные пластиковые пробирки (лучше центрифужные с завинчивающимися крышками); шоколадный полужидкий агар (0,1%) (желательно);

Взятие исследуемого материала: ликвор получают путем люмбальной пункции, реже — при пункции боковых желудочков мозга. Желательно взять материал сразу при поступлении больного в стационар, до начала лечения. Взятие ликвора — сложная врачебная манипуляция. Пункция и взятие материала проводятся с соблюдением всех правил асептики, персонал работает в масках: 1) больной укладывается в положение на боку, головной конец кровати максимально опущен, голова прижата к груди, ноги — к животу, спина максимально согнута; 2) определяются необходимые для выбора места пункции анатомические ориентиры. Пункцию проводят между поясничными позвонками L3-L4, L4-L5 или пояснично-крестцовыми L5-S1, у детей L1-L2; 3) Обработывают область пункции сначала раствором

антисептика, затем 70° спиртом; 4) пальпируют рукой в стерильных перчатках точку пункции и вводят раствор анестетика; 5) проводят пункцию иглой со вставленным мандреном до ощущения «провала»; 6) извлекают мандрен; 7) первую порцию ликвора берут в отдельную пробирку для проведения общего ликворологического исследования; 8) вторую порцию, предназначенную для бактериологического исследования, собирают в стерильную пробирку с завинчивающейся крышкой.

Согласно МУК 4.2.1887-04 ликвор после пункции распределяют следующим образом: а) 1,0 мл направляют в клиническую лабораторию для проведения общего ликворологического и цитологического исследования; б) 0,2 мл направляют для постановки полимеразной цепной реакции; в) 1,0 мл направляют для первичного бактериологического посева, бактериоскопии и серологических исследований; г) для бактериологического и бактериоскопического исследований отбирают вторую порцию ликвора, либо самую мутную из всех в стерильную, желательно центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой; д) 0,5 мл засевают в чашку с «шоколадным» агаром непосредственно у постели больного. Посев термостатируют при 37 °С до доставки в лабораторию; е) 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; ж) касаться руками краев канюли, иглы, пробирки, класть пробку — нельзя; з) доставлять материал в бактериологическую лабораторию лучше в термостатированной переноске (сумке) на грелке при +37—38 °С. При отсутствии возможности немедленно доставить материал в лабораторию, его помещают в транспортную систему со средой Эймс (с углем или без него) и хранят в термостате до 48 ч. Доставка материала в транспортной системе должна производиться также с обеспечением мер поддержания температуры +37 °С. 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.

5.3. Моча

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

Для диагностики инфекции мочевых путей имеет значение количественный критерий бактериурии. Содержание бактерий в моче зависит от многих факторов, в том числе от вида микроорганизма, сроков транспортировки и температурой хране-

ния собранного образца. В идеале собранная моча должна быть немедленно транспортирована в лабораторию (максимальное сохранение бактерий в пробе).

Сбор мочи: мочу на микробиологическое исследование можно собирать несколькими способами: 1) взятие средней порции мочи; 2) взятие мочи катетером; 3) сбор мочи путем надлобковой пункции; 4) сбор пробы с использованием цистоскопа.

Сбор средней порции мочи.

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

Этот материал можно использовать для создания «памятки пациента». Не допускается собирать мочу с постельного белья или из мочеприемника! Не допускается использовать пробу из суточной мочи для микробиологического исследования!

Взятие исследуемого материала: 1) 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. Так как сбор материала пациенты проводят самостоятельно, необходимо проинформировать их о правилах. Для этого предлагаем варианты информации, которую пациенту необходимо выдавать на руки.

Для мужчин: 1) тщательно вымыть руки; 2) тщательно вымыть половой орган теплой водой с мылом и высушить стерильной салфеткой; 3) обнажить головку полового члена (если не было обрезания) и выпустить небольшую порцию мочи; 4) прервать мочеиспускание и выпустить порцию мочи в контейнер; 5) 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 тампоном; 4) на протяжении всей процедуры держать половые губы раздвинутыми; 5) помочиться, отбросив первую порцию мочи; 6) собрать порцию мочи в стерильный контейнер; 5) закрыть контейнер и передать в лабораторию.

Для лиц, собирающих мочу маленьких детей: 1) дать ребенку попить воды или другой жидкости, пригодной для питья; 2) вымыть руки с мылом, сполоснуть водой, высушить;

У девочек: промыть отверстие мочеиспускательного канала, промежность и область заднего прохода теплой мыльной водой или жидким мылом, сполоснуть теплой водой, высушить стерильной марлевой салфеткой. Держать наружные половые

губы на расстоянии друг от друга в процессе мочеиспускания. Собрать среднюю порцию мочи (10—15 мл) в стерильный контейнер с закручивающейся крышкой. Закрывать контейнер и передать в лабораторию.

У мальчиков: промыть пенис и оттянутую крайнюю плоть, область заднего прохода вымыть теплой водой с мылом и сполоснуть теплой водой, высушить стерильной марлевой салфеткой. При мочеиспускании держать крайнюю плоть оттянутой (для предотвращения контаминации мочи) Собрать среднюю порцию мочи (10—15 мл) в стерильный контейнер с закручивающейся крышкой. Закрывать контейнер и передать в лабораторию.

Сбор мочи катетером: сбор пробы катетером у женщин допускается только в крайнем случае! Катетером мочу собирают в следующих случаях: 1) при отсутствии возможности получения мочи естественным путем; 2) при широкой вариабельности результатов, полученных при сборе средней порции мочи; 3) при необходимости дифференциации очага инфекции: мочевого пузыря или почки.

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

Сбор материала проводит только медицинский персонал.

Взятие исследуемого материала: 1) перед катетеризацией, если мочевого пузыря заполнен, пациент должен его частично освободить; 2) необходимо провести туалет наружных половых органов теплой водой с мылом и высушить их стерильными марлевыми салфетками, после чего ввести катетер в мочевой пузырь; 3) из катетера первые 15—30 мл мочи собрать в специальную посуду для утилизации, после чего заполнить на $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ стерильный одноразовый контейнер с закручивающейся крышкой, в котором моча будет доставлена в лабораторию; 4) для уточнения локализации инфекции мочевого пузыря опорожнить катетером, промыть раствором антисептика (50 мл раствора, содержащего 40 мг неомицина и 20 мг полимиксина) и через 10 минут забрать пробы мочи. При инфекциях мочевого пузыря моча остается стерильной.

Сбор мочи путем надлобковой пункции: наиболее достоверные результаты могут быть получены при надлобковой пункции мочевого пузыря, но эта процедура сопряжена с опасностью для пациента и проводится только по клиническим показаниям.

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер, — 70° этиловый спирт, 1—2% раствор йода; игла для пункции; резиновые перчатки.

Процедура проводится с соблюдением правил асептики. Моча, вытекающая из иглы, собирается в стерильный контейнер и доставляется в лабораторию.

Сбор мочи цистоскопом — билатеральная катетеризация мочеточника: проводят для определения очага инфекции в мочевыводящих путях.

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер; цистоскоп.

Взятие исследуемого материала: 1) перед проведением цистоскопии пациент должен освободить мочевой пузырь; 2) обработать наружные половые органы, области промежности и заднего прохода, как указано ранее; 3) ввести цистоскоп в мочевой пузырь и собирать 5—10 мл мочи в специальный стерильный одноразовый контейнер или стерильную стеклянную посуду; 4) промаркировать контейнер или посуду символом КМП (катетерная моча пузыря); 5) оросить пузырь не бактериостатическим физиологическим (официальным) раствором; 6) собрать истекающую жидкость, держа концы обоих катетеров над открытым стерильным одноразовым контейнером или специальными стерильными стеклянными емкостями; 7) промаркировать емкости символом «ПЖП» (промывная жидкость пузыря); 8) провести мочеточниковые катетеры к среднему отделу каждого мочеточника или почечных лоханок без дополнительного введения жидкости; 9) открыть цистоскоп, чтобы освободить мочевой пузырь; 10) не использовать для анализа первые 5—10 мл мочи из каждого катетера в мочеточнике; 10) собрать 4 последующие пары проб (5—10 мл каждая) в стерильный одноразовый контейнер или стерильные специальные емкости; 11) промаркировать емкости с материалом символами ПП-1 (правая почка), ЛП-1 (левая почка) и т.д.; 12) все пробы передать в лабораторию на посев.

Транспортировка мочи для микробиологических исследований: вне зависимости от способа получения мочи, она должна быть доставлена в лабораторию в течение 2 ч, если не используются специальные транспортные системы, содержащие питательные среды. Следует помнить, что в зависимости от химического состава мочи, бактерии в ней могут при хранении как отмирать, так и размножаться. Пролонгация срока хранения пробы мочи может крайне затруднить клиническую интерпретацию результата. Для транспортировки мочи на микробиологические исследования существует несколько приспособлений:

1. УроТампон Copan UriSwab

Специальное транспортировочное устройство с полиуретановой губкой, предназначенное для транспортировки мочи в лабораторию, не содержащее питательной среды.

Процедура сбора и транспортировки мочи с помощью системы UriSwab — Уро-Тампон

(материал любезно предоставлен компанией Danies): С пробирки Уро-Тампона открутить крышку,

аппликатор с тампоном извлечь из пробирки. После этого возможны два варианта:

1. Если моча уже собрана в широкогорлый контейнер, то Уро-Тампон используется только для транспортировки. Для этого тампон-губку следует погрузить в контейнер с мочой (не менее 10 с), до видимого глазом насыщения губки, чтобы гарантировать оптимальное поглощение мочи тампоном. Как только губка тампона напитается мочой, аппликатор с тампоном нужно вынуть из контейнера и поместить обратно в пробирку. Завинтить крышку на пробирке.
2. Если моча еще не собрана, то Уро-Тампон используют как для транспортировки, так и для сбора мочи. Пациент мочится на губку тампона, погружает ее обратно в пробирку и закручивает крышку. Пробирка или контейнер должны быть промаркированы, указав Ф.И.О. пациента дату, время взятия образца.
3. Контейнер доставить в лабораторию.

II. Дипслайды

Дипслайды — устройства для бактериологического анализа мочи, сочетающие в себе транспортировку и первичный посев, обеспечивающие выделение, идентификацию и количественный учет бактерий в моче. Устройство предназначено для использования врачами-клиницистами и работниками бактериологических лабораторий с целью ускоренной диагностики инфекций мочевыводящих путей. При его использовании отпадает необходимость транспортировать в бактериологическую лабораторию саму пробу, так как первичный посев мочи производит персонал отделения, в котором находится пациент.

Устройство представляет собой пластиковую подложку, покрытую с обеих сторон слоем питательной среды (хромогенный агар и Мак-Конки агар). Подложка вмонтирована в закручивающуюся крышку прозрачной пластиковой пробирки. К краю подложки прикреплено пластиковое кольцо с зубцами (по три с каждой стороны).

Концы зубцов погружают в контейнер с образцом мочи приблизительно до половины их длины. При помещении подложки в исходную пробирку кольцо с зубцами застревает в отверстии пробирки, осуществляя штриховой посев на поверхности питательных сред. В серии полосок штрихов бактериальная концентрация уменьшается, что обеспечивает рост изолированных колоний даже при высокой концентрации бактерий в пробе.

Правила работы с устройством Дипстрик

Установить Дипстрик вертикально на ровной поверхности. Одной рукой удерживая пробирку, другой рукой отвинтить крышку и быстрым движением вытащить подложку.

Расположив лопатку строго вертикально, погрузить зубцы на несколько секунд в контейнер с пробой мочи приблизительно до половины их длины.

Вставить зубцы лопатки в отверстие пробирки Дипстрика.

Шлепком ладони или ударом пальца с усилием толкнуть лопатку в пробирку и вернуть крышку.

Отправить засеянный Дипстрик с прикрепленным к нему направлением на анализ в лабораторию для инкубации и дальнейшего исследования. Если немедленная отправка засеянного Дипстрика в лабораторию невозможна, допускается хранение Дипстрика в закрытом состоянии при комнатной температуре и в защищенном от прямых солнечных лучей месте не более 48 ч или транспортировка при температуре +2...+8 °C в течение 24 ч.

5.4. Отделяемое мочеполовых органов мужчин и женщин

5.4.1. Материал из уретры

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

Необходимое оснащение: теплая вода; стерильный физиологический раствор; приспособления для сбора и транспортировки ПБА (стерильные зонды-тампоны с волокнистой головкой индивидуально упакованные или тубсеры или транспортная система с агаризованной средой Эймса с активированным углем); стерильная пластиковая пастеровская пипетка (возможные замены: стерильная стеклянная пипетка с грушей и стерильная пробирка «Эппендорф»); 2 предметных стекла; стерильная ушная воронка; 70° этиловый спирт; резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала: перед сбором материала необходимо обмыть половые органы теплой водой или изотоническим раствором с помощью ватного тампона, затем удалить свободно стекающие выделения.

Для микроскопического исследования:

1) Материал получают при помощи разных инструментов: стерильные одноразовые зонды-тампоны с волокнистой головкой; стерильные одноразовые бактериологические петли; желобоватые зонды; маленькие ложки Фолькмана; при обильном отделяемом материал собирают с помощью стеклянной палочки или края шлифованного по периметру стекла. 2) Сразу готовят мазки на предметных стеклах; 3) В лабораторию должны быть направлены минимум 2 мазка от одного пациента. При скудном отделяемом пациенту предлагают до исследования не мочиться в течение 4—8 ч, а затем массируют уретру, стараясь выдавить собравшийся в глубине секрет.

Для бактериологического исследования:

1) В мочеиспускательный канал вводят стерильную ушную воронку, через которую собирают отделяемое. 2) Материал забирают с помощью стерильного зонда-тампона в пробирке (тубсера) или стерильной одноразовой бактериологической петли. Для бактериологического исследования на наличие гонококков — необходимо использовать транспортную систему со средой Эймс с активированным углем. В этом случае материал может быть доставлен в лабораторию в течение 48 ч. Не допускается его охлаждение до температуры ниже 30 °С.

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

5.4.2. Материал из половых органов у мужчин

А. Язва полового члена

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

Необходимое оснащение: стерильный физиологический раствор; стерильный ватный тампон; стерильная марлевая салфетка; одноразовый шприц на 1 мл.

Взятие исследуемого материала: 1) очистить поверхность язвы с помощью смоченного физиологическим раствором стерильного тампона; 2) стерильной марлевой салфеткой обтереть поверхность язвы до появления тканевой жидкости (следует избегать появления крови первую порцию); 3) руками в перчатках сдавить язву у основания до появления прозрачной или слегка опалесцирующей тканевой жидкости; 4) аспирировать тканевую жидкость одноразовым шприцом с иглой; 5) закрыть иглу защитным колпачком и направить в лабораторию как можно быстрее.

Б. Материал из простаты

Непосредственное взятие материала из простаты возможно лишь при хирургической операции, что, как правило, не приемлемо. Поэтому для диагностики бактериальных простатитов и выявления их этиологии, как правило, наиболее адекватным считается

метод Е. Meares и Т. Stamey (1968). Поэтапный сбор первой и второй порций мочи, затем получение секрета простаты путем массажа и затем третьей порции мочи.

Показания к проведению исследования: хронические простатиты.

Необходимое оснащение: стерильные широкогорлые контейнеры (банки) с завинчивающейся крышкой; предметное стекло; теплая вода; мыло; стерильные марлевые салфетки; резиновые перчатки.

Взятие исследуемого материала: 1) провести тщательный туалет наружных половых органов с помощью теплой воды, мыла и стерильных марлевых салфеток; 2) больному предлагают помочиться в стерильный контейнер в объеме 10—20 мл мочи; 3) контейнер пометить, как проба №1; 4) больной мочится в другой стерильный контейнер в объеме 10—20 мл мочи, полностью не опорожняя мочевого пузыря; 5) контейнер пометить, как проба №2; 6) в стерильной перчатке произвести пальцевой массаж простаты через прямую кишку (врач-уролог); 7) собрать образовавшийся эякулят в стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой; 8) больной мочится в стерильный контейнер №3 в объеме 10—20 мл мочи; 9) продезинфицировать наружные поверхности емкостей с пробами, если на нее попала моча; 10) пробы клинического материала доставить в лабораторию в течение 2 ч.

5.4.3. 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) и цервикальный канал (диагностика ЗППП). Если три мазка направляют в лабораторию на одном стекле, они должны быть четко промаркированы, например, «С», «V», «U». 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 исследуют 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.

А. Материал из влагалища

Состояние влагалищной микрофлоры может быть оценено с помощью трех методов: бактериоскопического, бактериологического полуколичественного и бактериологического количественного. Количественный бактериологический метод, безусловно, является наиболее информативным. В этом случае материал забирают специальной калиброванной стерильной одноразовой бактериологической петлей и сразу засеваются на питательные среды или материал берут с помощью заранее взвешенного тампона. В лаборатории тампон взвешивают повторно, определяя тем самым количество отобранного 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 вагинитов и вагинозов. Обследование супруги при уретритах у мужа.

Необходимое оснащение: одноразовое стерильное гинекологическое зеркало; стерильные одноразовые зонды-тампоны на пластиковой оси: один — в стерильной пробирке (тубсер), второй — индивидуально упакованный или уретральные зонды или специальные щеточки — (cervix brush, cytobrush и vola brush); 2 предметных стекла; система с транспортной средой Эймс или Стюарт (желательно).

Взятие исследуемого материала: материал для анализа получают только до проведения мануального исследования! 1) зеркало и подъемник ввести во влагалище; 2) убрать избыток выделений и слизи с помощью стерильной салфетки; 3) материал собрать с заднего свода или с патологически измененных участков двумя стерильными зондами-тампонами; 4) первый тампон поместить обратно в стерильную пробирку и возможно быстро доставить в лабораторию для проведения бактериологического исследования; 5) второй тампон использовать для приготовления мазка: материал нанести 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 маркировать, высушить на воздухе и, поместив в специальные планшеты для транспортировки стекол, или в чашки Петри, доставить в лабораторию.

Исследование на гонорею: 1) материал собрать зондом-тампоном из транспортной системы (предпочтительно — среда Эймс с активированным углем); 2) материал доставить в лабораторию максимум в течение 24 ч; 3) не допускается его охлаждение до температуры ниже +30 °С.

Исследование на уреаплазмы и микоплазмы: 1) материал собрать зондом-тампоном (ложкой

Фолькмана, специальным зондом); 2) сразу же погрузить в специальную питательную среду для микоплазмы и уреаплазм; 3) в течение 2 ч материал доставить в лабораторию. Допускается увеличение сроков транспортировки до 48 ч при температуре +4—+8 °С, при использовании специальных питательных сред.

Исследование на трихомонады: 1) для сбора материала используют сухой стерильный тампон; 2) сразу после взятия материал погрузить в пробирку (флакон) с транспортной средой для трихомонад (раствор Рингера); 3) материал доставить в лабораторию возможно быстро без охлаждения.

Б. Материал из цервикального канала

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

Необходимое оснащение: одноразовое стерильное гинекологическое зеркало; стерильные одноразовые зонды; тампоны на пластиковой оси: один — в стерильной пробирке (тубсер), второй — индивидуально упакованный или — специальные щеточки; (cervix brush, cytobrush и vola brush); система с транспортной средой Эймс или Стюарт (желательно).

Взятие исследуемого материала: 1) обнажить шейку матки с помощью зеркал и убрать избыток выделений и слизи стерильной марлевой салфеткой или ватным шариком, смоченным стерильным физиологическим раствором или дистиллированной водой; высушивают салфеткой; 2) стерильный зонд-тампон транспортной системы аккуратно ввести в цервикальный канал на глубину 1,0—1,5 см, и вращать 10 с; 3) извлечь, не касаясь стенок влагалища, и сразу же погрузить в транспортную среду. При проведении исследований на хламидии, микоплазмы/уреаплазмы и вирусы материал лучше забирать с помощью специальных щеточек (зондов). Порядок дальнейших действий зависит от выбранного метода исследования:

Культуральный метод — материал переносят в питательную среду. Можно использовать как единую питательную среду для микоплазм и уреаплазм, так и отдельные среды для каждого микроорганизма. В течение 2 ч материал должен быть доставлен в лабораторию. Допускается увеличение сроков транспортировки до 48 ч при температуре +4—+8 °С.

ПЦР — материал помещают в микропробирку с лизирующим буфером, физиологическим раствором и т.п. (выдает лаборатория). 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 исследование;

РИФ (ПИФ) — сразу после взятия материала приготавливаются мазки на предметном стекле. Луч-

ше использовать специальные стекла «с лунками», которые обычно входят в состав диагностических наборов.

5.5. Отделяемое дыхательных путей

5.5.1. 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) или транспортная система.

Взятие исследуемого материала: 1) материал собрать одним тампоном из двух носовых ходов, поместить обратно в тубсер или транспортную систему; 2) доставить в лабораторию: в тубсере в течение 2 ч, в транспортной системе — максимально до 48 ч. Можно использовать стерильный зонд-тампон в индивидуальной упаковке и стерильную емкость (пробирку) для транспортировки в лабораторию (не более 2 ч с момента взятия пробы).

5.5.2. Слизь из носоглотки и носа

Показания к проведению исследования: подозрение на дифтерию.

Необходимое оснащение: Стерильный зонд-тампон из вискозы на пластиковой оси в пластиковой пробирке (тубсер) или транспортная система — 2 штуки. Тампон должен иметь форму «капли», а не «ветретен» и находясь в пробирке не касаться дна и стенок; шпатель.

Взятие исследуемого материала: при антибиотикотерапии исследование проводят не ранее чем через 3 дня после отмены препарата! 1) Материал собрать натошак или через 3—4 ч после еды; 2) с миндалин: шпателем надавливать на корень языка, в этот момент небная занавеска приподнимается, тампон завести за мягкое небо и 2—3 раза провести по миндалинам с одной и с другой стороны. При извлечении тампон не должен касаться зубов, слизистой щек, языка и язычка; 3) из двух носовых ходов забрать пробу одним тампоном; если есть налеты, материал забирают с границы пораженных и здоровых тканей, слегка нажимая на них тампоном; 4) доставить в лабораторию: в тубсере в течение 2 ч, в транспортной системе — максимально до 48 ч. В холодное время года пробы при транспортировке следует оберегать от охлаждения.

5.5.3. Слизь с задней стенки глотки

Показания к проведению исследования: подозрение на менингококковую инфекцию, коклюш.

Необходимое оснащение: транспортные системы со средой Эймс (с углем или без него) или стерильные «заднеглочные» зонды-тампоны индивидуально упакованные; шпатель.

Взятие исследуемого материала: для диагностики менингококковой инфекции забирают слизь с задней стенки глотки натошак или через 3—4 ч после еды; 1) шпателем надавить на корень языка, в этот момент небная занавеска приподнимается, тампон завести за мягкое небо и 2—3 раза провести по задней стенке носоглотки; 2) при извлечении тампон не должен касаться зубов, слизистой щек, языка и язычка; 3) доставить в лабораторию: в тубсере в течение 2 ч, в транспортной системе — максимально до 48 ч. В холодное время года пробы при транспортировке следует оберегать от охлаждения.

5.5.4. Аспират из придаточных пазух

Показания к проведению исследования: диагностика синуситов.

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

Взятие исследуемого материала: 1) с соблюдением правил асептики пропунктировать пазуху; 2) аспирированную жидкость из шприца перелить в транспортную среду типа среды Эймса, при отсутствии транспортной среды материал вносят в стерильную пробирку. В этом случае он должен быть доставлен в лабораторию немедленно; 3) доставить в лабораторию: в тубсере в течение 2 ч, в транспортной системе — максимально до 48 ч.

В холодное время года пробы при транспортировке следует оберегать от охлаждения.

5.5.5. 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:

Предпочтительным является исследование утренней порции мокроты.

1. Перед сбором мокроты больному предлагают почистить зубы и прополоскать рот кипяченой водой. Его предупреждают о недопустимости попадания в мокроту слюны и носовой слизи; 2) мокроту собирают в стерильный широкогорлый контейнер с завинчивающейся крышкой.

Особенности взятия мокроты для бактериоскопической диагностики туберкулеза: мокрота собирают трижды. В первый день в присутствии медицинского работника, на второй день, проинструктированным больным самостоятельно, можно дома. На третий день больной приносит собранную мокроту, и материал забирается в третий раз в присутствии медицинского работника. Пациента преду-

преждают о важности получения именно мокроты, но не слюны или носовой слизи, о необходимости перед сбором материала почистить зубы и прополоскать рот теплой водой. 1) Медицинский работник в маске, резиновых перчатках и резиновом фартуке располагается за спиной пациента, таким образом, чтобы направление движения воздуха было от него к пациенту; 2) 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 ч. При отсутствии у пациента мокроты накануне вечером или рано утром, в день, намеченный для сбора материала, ему назначают отхаркивающее средство или раздражающие ингаляции.

5.5.6. Промывные воды бронхов

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

Необходимое оснащение: стерильный физиологический раствор; стерильный горловой шприц или аппарат Боброва; 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 меньше, чем в мокроте). Гортанным шприцем с помощью аппарата Боброва в трахею вводят около 10 мл стерильного физиологического раствора, и после возникновения кашля собирают откашлианный 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.

5.5.7. Пробы, полученные с использованием бронхоскопа

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

Необходимое оснащение: бронхоскоп, другое оборудование и медикаменты, необходимое для прове-

дения бронхоскопии; стерильные физиологический раствор, контейнеры и пробирки.

Взятие исследуемого материала: с помощью бронхоскопии удается получить: бронхоальвеолярный лаваж (предпочтительно), смыв с бронхов (низкая чувствительность при диагностике пневмоний), соскоб с бронхов (более значим, чем смыв), биоптаты. 1) 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; 2) перед введением каждой следующей порции отбирают шприцем жидкость и переносят в стерильный контейнер; 3) 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 направлении указывают общий объем введенного физиологического раствора.

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.

5.6. Желчь

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

Необходимое оснащение: комплект для дуоденального зондирования; стерильные пробирки или стерильные контейнеры; транспортная система для облигатных анаэробов (со средой КериБлейр), 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; 1) желчь собрать в 3 стерильные пробирки или в стерильные одноразовые контейнеры раздельно по порциям А, В, С. Для бактериологического исследования используется проба В; 2) над пламенем спиртовки открыть пробирку или стерильный контейнер для сбора материала, 10–12 мл желчи поместить в стерильную емкость; 3) у стеклян-

ных пробирок обжечь горлышко и закрыть пробирку; 4) пробы доставить в лабораторию: в контейнере в течение 2 ч, в транспортной системе — максимально до 48 ч. При наличии у пациента дренажа, собирают из него пробу шприцом, предварительно тщательно обработав участок пунктирования. Нельзя собирать пробу желчи из дренажного мешка. Пробы желчи, а также гноя и аспирата из печеночных абсцессов могут 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.

5.7. Испражнения

5.7.1. Нативные испражнения

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

Необходимое оснащение: чистая бумага или целлофановая пленка; стерильный контейнер с ложкой-шпателем или, в его отсутствие, любой стерильный контейнер + стерильная бактериологическая петля, лопаточка, шпатель или аналогичное изделие или транспортная система; стерильная пластиковая пастеровская пипетка с замкнутым резервуаром или, в ее отсутствие, стеклянная трубочка с грушей (если стул жидкий); судно.

Взятие исследуемого материала: судно тщательно вымыть, удалить следы дезинфектантов; на дно судна поместить лист чистой плотной бумаги; больной испражняется, следя за тем, чтобы моча не попала в пробу; 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.). Количество 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; 3) в транспортную систему со средой объем материала не должен превышать $\frac{1}{3}$ объема среды; при наличии патологических примесей необходимо выбрать участки, содержащие слизь, гной, хлопья, но свободные от крови; образцы жидких испражнений отобрать с помощью стерильной пластиковой пастеровской пипетки с замкнутым резервуаром или, в ее отсутствие, с помощью стеклянной трубки с резиновой грушей; пробы доставить в лабораторию: в контейнере в течение 2 ч, в транспортной системе — максимально до 48 ч.

5.7.2. Ректальные мазки

Показания к проведению исследования: кишечные инфекции, анальная гонорея, выявление носительства стрептококков группы В.

Необходимое оснащение: транспортная система со средой Кери Блейр или другой, в зависимости от целей исследования (среда Кэри Блер — для всех кишечных патогенов, включая кампилобактерии, среда Эймс — для энтеробактерий, среда Стюарт — для сальмонелл, шигелл). 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: 1) больному предлагают лечь на бок с притянутыми к животу бедрами и ладонями развести ягодицы; 2) зонд-тампон ввести в задний проход на глубину 4–5 см и, аккуратно вращая его вокруг оси, собирать материал с крипт ануса; 3) осторожно извлечь зонд-тампон и погрузить его в транспортную среду; 4) доставить в лабораторию в течение 48 ч; *Важно:* если в направлении на исследование цель исследований не указана, или указана не конкретно, например — «на флору», «на патогенную флору», «на тифопаратифозную группу» и т.п., в лаборатории будет выполнен стандарт исследования на патогенные энтеробактерии: шигеллы, сальмонеллы, диареегенные эшерихии. Если необходимо провести исследование на определенные виды микроорганизмов, то их обязательно нужно указать. Например, исследование на кампилобактеры, иерсинии, вибрионы, условно-патогенные энтеробактерии, дисбактериоз, стрептококки группы В, гонококки. Это необходимо сделать для того, чтобы исследование не проводилось по стандартной схеме.

5.7.3. Сбор биоматериала для выделения различных видов микроорганизмов

5.7.3.1. Сбор 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, папиломавирусов, мазки из этих биотопов следует забирать двумя разными стерильными зондами-тампонами транспортных систем со средой Эймс или Стюарт. В дальнейшем обе пробы могут быть объединены.

5.7.3.2. Сбор материала для диагностики дисбактериоза и заболеваний, вызываемых условно-патогенными бактериями

Пробы для диагностики ОКИ, вызываемых условно-патогенными бактериями, и дисбактериоза забираются и транспортируются только в стерильных сухих контейнерах. Время доставки проб в лабораторию не должно превышать 2 ч, или 4 при условии

хранения в холодильнике. Пролонгирование времени транспортировки может привести к увеличению численности условно-патогенных бактерий и гипердиагностике дисбактериозов и ОКИ.

5.7.3.3. Сбор 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% 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% раствором натрия хлорида и вводят в прямую кишку на 8–10 см. Взятый материал переносят во флакон или пробирку с 1% пептонной водой.

5.7.3.4. Сбор рвотных масс и промывных вод

Показания к проведению исследования: подозрение на пищевые отравления, острые кишечные инфекции.

Необходимое оснащение: стерильный широкогорлый контейнер.

Взятие исследуемого материала: 1) рвотные массы отобрать в количестве 50–100 мл (если это не получается, в меньшем количестве), промывные воды — в объеме 100–200 мл; 2) материал необходимо доставить в лабораторию в течение 2 ч.

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.

5.7.3.5. Сбор биоптата для исследования на хеликобактер

Показания к проведению исследования: подозрение на хеликобактериоз.

Необходимое оснащение: оборудование для эндоскопии; пробирки «эппендорф» со стерильным 20% раствором глюкозы.

Взятие исследуемого материала: биоптаты берут во время эндоскопии в условиях строгой асептики. Пробы резецированных органов сразу после операции берут в области тела желудка, антрального отдела и луковицы двенадцатиперстной кишки, также с соблюдением правил асептики. 1) биопсийный материал поместить в пробирку «эппендорф» со стерильным 20% раствором глюкозы, хранить до отправки в холодильник при +4 °С. Необходимо следить за тем, чтобы биоптат был полностью погружен в раствор глюкозы, так как прилипание его к стенке пробирки может привести к потере жизнеспособности микроба; 2) пробу доставить в лабораторию не позднее 3–4 ч, так как в растворе глюкозы *H. pylori* сохраняет жизнеспособность в течение этого времени. В качестве транспортных сред могут быть использованы, кроме глюкозы, физиологический раствор, тиогликолевая среда для контроля стерильности, среда для кампилобактерий транспортная сухая.

5.8. Раневые (хирургические) инфекции

Показания к проведению исследования: гнойно-воспалительный процесс в ране.

Необходимое оснащение: транспортная система со средой Эймс или Стюарта; стерильная пробирка или 2 пробирки (при отсутствии транспортных систем); стерильный физиологический раствор; стерильные пробирки; стерильные марлевые салфетки; антисептик.

Взятие исследуемого материала: взятие материала при подозрении на раневую инфекцию осуществляет врач, как правило, при проведении перевязки или операции. Технология взятия образца для микробиологического исследования во многом 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.

Забор осуществляется при соблюдении правил асептики: 1) кожу вокруг раны или над очагом воспаления обработать 70° этиловым спиртом; 2) затем 1–2% настойкой йода; 3) затем 70° этиловым спиртом; 4) удалить с помощью стерильной салфетки некротические массы, детрит, гной. Использовать растворы антисептиков для снятия повязки или обработки раневой поверхности до взятия материала нельзя! 5) Взятие материала с помощью стерильного тампона: используют два ватных (коттоновых), вязких или дакроновых тампона на деревянной или пластиковой оси; пробы для бактериологического и микроскопического иссле-

дования следует забирать отдельными тампонами; пробы отобрать прокатывая каждый зонд-тампон по раневой поверхности от центра к периферии в течении 5—10 с; 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); зонд-тампон, предназначенный для отбора материала на микроскопическое исследование, помещают обратно в пустую пробирку (тубсер); зонд-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 одноразовым шприцем объемом 3—5 мл с иглой №22 или №23 берет аспират из глубины раны. Если имеется везикула, берется жидкость и клетки у основания дефекта; если взять аспират вышеописанным способом не удастся, 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—5 см³) помещают в стерильный контейнер, пробирку или стерильную стеклянную емкость, добавив 3—5 мл стерильного физиологического раствора для предохранения материала от высыхания.

5.9. Воспалительные заболевания различных органов

5.9.1. Глаза

5.9.1.1. Отделяемое конъюнктивы

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания конъюнктивы.

Необходимое оснащение: транспортные системы со средой или тампоны в сухой стерильной пробирке (тубсеры); стерильный физиологический раствор.

Взятие исследуемого материала: за 6—8 ч до взятия пробы отменяются все медикаменты и процедуры. 1) На каждый глаз используют отдельный

зонд-тампон; 2) пробу (отделяемое) собирают с помощью зонд-тампона с внутренней поверхности нижнего века движением в направлении от наружного к внутреннему углу глазной щели; 2) пациент должен придерживать веки руками, чтобы при моргании ресницы не касались тампона. При скудном отделяемом используют зонд-тампон предварительно смаченный стерильным физиологическим раствором, избыток влаги отжимают о внутреннюю поверхность емкости, после чего собирают материал, как описано выше; 3) зонды-тампоны маркируют «правый глаз», «левый глаз» и доставляют в лабораторию в тубсере — 2 ч, в транспортной среде — до 48 ч.

5.9.1.2. Соскоб с конъюнктивы

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания конъюнктивы.

Необходимое оснащение: раствор анестетика; стерильная лопаточка или специальный стерильный шпатель; 96° этиловый спирт или ацетон; предметное стекло.

Взятие исследуемого материала: материал целесообразно забирать утром, до умывания; за 6—8 ч до этого отменяют все медикаменты и процедуры. 1) Вводят 1—2 капли анестетика, например, пропаракаина гидрохлорида или другого; 2) двумя—тремя короткими резкими движениями в одном направлении специального стерильного шпателя собрать соскобы; 3) приготовить по 2 мазка из каждого глаза, нанося материал на чистое обезжиренное предметное стекло круговыми движениями на площадь диаметром примерно 1 см; 4) стекла подписать «правый глаз», «левый глаз»; 5) высушить мазок над пламенем горелки или на воздухе; 6) высушенный мазок зафиксировать в 96° этиловом спирте в течение 5 мин. Стекло с фиксированным мазком может храниться при температуре –10 °С не более 7 сут.

5.9.1.3. Соскоб с роговицы

Делается так же, как соскоб с конъюнктивы

5.9.2. Уши

5.9.2.1. Отделяемое наружного слухового прохода

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания наружного уха.

Необходимое оснащение: транспортная система со средой или зонд-тампон в сухой пробирке (тубсер); 70° этиловый спирт; стерильный физиологический раствор.

Взятие исследуемого материала: 1) обработать кожу 70° спиртом и промыть стерильным физиологическим раствором; 2) при помощи влажного, смоченного стерильным физиологическим раствором тампона из ушного канала удаляют соринки и корки; 3) взять материал из очага стерильным зондом-там-

поном из транспортной системы или из тубсера, интенсивно вращая им в наружном слуховом проходе (но осторожно, чтобы не повредить барабанную перепонку); 4) 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); 5) если материал брали из двух слуховых проходов, зонды-тампоны маркируют «правое», «левое»; 6) доставка в лабораторию в тубсере в течение двух часов, в транспортной среде — до 48 ч.

5.9.2.2. Жидкость при тимпаноцентезе

Показания к проведению исследования: воспалительные заболевания среднего уха.

Необходимое оснащение: транспортная система со средой или зонд-тампон в сухой пробирке (тубсер); 70° этиловый спирт; стерильный физиологический раствор; шприц.

Взятие исследуемого материала: тимпаноцентез барабанной перепонки проводят для микробиологической диагностики инфекций среднего уха только в случаях, если проводимая терапия не эффективна, так как эмпирическая схема выбора антибактериальных препаратов достаточно хорошо отработана.

Если барабанная перепонка не нарушена: 1) очистить наружный канал тампоном, смоченным 70° этиловым спиртом; 2) обработать стерильным физиологическим раствором; 3) собрать жидкость из барабанной полости с помощью шприца; 4) перенести материал из шприца в пробирку транспортной системы со средой для анаэробов (Кери Блейр); 5) доставить в лабораторию в тубсере — в течение 2 ч, в транспортной среде — до 48 ч.

Если барабанная перепонка нарушена, материал собирают с помощью стерильного ушного зеркала и зонда-тампона; тампон помещают в транспортную среду или в пробирку (тубсер) — в этом случае материал должен быть доставлен в лабораторию немедленно.

5.9.3. Инфекции в стоматологии

Показания к проведению исследования: воспаление в зубодесневом кармане.

Необходимое оснащение: 70° этиловый спирт; стерильные физиологический раствор; стерильная пробирка с питательным бульоном; транспортная система со средой; предметные стекла (4 шт.).

Взятие исследуемого материала: 1) удалить слюну, остатки пищи, зубной налет, промыть стерильным физиологическим раствором десневой карман и поверхность зуба; 2) с помощью инструментов удалить участок воспаленной ткани и, соблюдая правила асептики, перенести его в пробирку с питательным бульоном; 3) энергично перемешать содержимое с помощью стерильного зонда-тампона; 4) поместить зонд-тампон в пробирку с транспортной средой. Если получить биоптат не удастся, 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.

5.9.4. Грудное молоко

Показания к проведению исследования. Мастит и острая кишечная инфекция у матери, ГСИ у ребенка.

Необходимое оснащение: 70° этиловый спирт; ватные тампоны (2 шт); стерильные широкогорлые контейнеры (2 шт.).

Взятие исследуемого материала: 1) перед сцеживанием женщина моет руки с мылом и тщательно обрабатывает соски и около сосковую область смоченными 70° спиртом ватными тампонами, каждая железа обрабатывается отдельным тампоном; 2) молоко из правой и левой молочных желез собирается отдельно, стерильные контейнеры для сбора молока заранее маркируются «П» и «Л»; 3) 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).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Федеральный закон №162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации» от 29.06.15.
Federal Law №162-FZ «On standardization» доступен.
2. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3—4 групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (с изменениями от 2009 г.).
SP 1.3.2322-08 Safety of work with microorganisms of III—IV groups of pathogenicity (hazard) and agent of parasitogenic diseases.
3. СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии».
SP 3.1.2.3109-13 prevention of diphtheria.
4. ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Медицинские лаборатории — Требования к безопасности».
5. Iso 15190:2009 Medical laboratories-requirements for safety.
5. ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Правила проведения преаналитического этапа».
GOST R 53079.4-2008 «Medical laboratory technologies. Quality assurance of clinical laboratory tests. Part 4. Rules for conducting of preanalytical stage».
6. МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов, микробиологические лаборатории».
MU 4.2.2039-05. «Technics of gathering and transportation of biomaterials to microbiological laboratories».

7. МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний».
MUK 4.2.3115-13 Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia.
8. МР 3.1.2.0072-13 «Инфекции дыхательных путей. Диагностика коклюша и паракоклюша»
MR 3.1.2.0072-13 «Diagnosis of pertussis and parapertussis».
9. МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».
MUK 4.2.3065-13 «Methods of control. Biological and microbiological factors. Laboratory diagnosis of diphtheria infection. Methodical instructions».
10. МУК 4.2.1887-04 «Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов».
MUK 4.2.1887-04 «Laboratory diagnosis of meningococcal infection and purulent bacterial meningitis».
11. Клинические рекомендации «Бактериологический анализ мочи» тип клинических рекомендаций: Правила проведения клинических лабораторных исследований. М. 2018.
Clinical practice guideline «Microbiological analysis of urinary tract infections», type: rules of clinical laboratory investigations proceedings». М. 2018.
12. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тяжелого сепсиса и септического шока в лечебно-профилактических организациях Санкт-Петербурга. СПб. 2016.
Clinical practice guideline for sepsis and septic shock diagnostics and treatment in St. Petersburg health care organizations. SPb. 2016.
13. МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды» Дата актуализации: 01.01.19.
MU 4.2.2723-10 «Laboratory diagnosis of salmonellosis. Detection of Salmonella in food and environmental samples».

Поступила 16.01.20

Received 16.01.20

Принята к печати 17.02.20

Accepted 17.02.20