ANGELIKA PUTRAMENTIENĖ
ŽANETA MAŽELIENĖ

MIKROBIOLOGIJOS PRAKTIKOS DARBAI

MEDICINOS FAKULTETAS

ANGELIKA PUTRAMENTIENĖ, ŽANETA MAŽELIENĖ

MIKROBIOLOGIJOS PRAKTIKOS DARBAI

KAUNAS, 2018

Apsvarstyta Medicinos fakulteto posėdyje 2017 m. spalio 12 d. protokolo Nr. M-3.

Autoriai:

Angelika Putramentienė, Kauno kolegijos Medicinos fakultetas
Žaneta Maželienė, Kauno kolegijos Medicinos fakultetas

Recenzavo:

Prof. Alvydas Pavilonis (Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Mikrobiologijos ir virusologijos institutas)

Gintarė Sinkutė (Kauno klinikinės ligoninės laboratorijos mikrobiologė)

Lietuvių kalbą redagavo:
Giedrutė Grigonienė, Kauno kolegijos Medicinos fakultetas

Maketavo:
Donatas Misiūnas

© Kauno kolegija

ISBN 978-9955-27-527-5

TURINYS

PRATARMĖ 4
SANTRAUKOS 5
1. PROKARIOTŲ MORFOLOGIJOS TYRIMAS 6
1.1. Tepinėlių ruošimas ir dažymas paprastaisiais dažymo būdais ir sudėtinguoju Gramo dažymo būdu 8
2. EUKARIOTŲ MORFOLOGIJOS TYRIMAS 12
3. MIKROORGANIZMŲ FIZIOLOGIJA 15
4. MOTERŲ LYTIES ORGANŲ MIKROFLORA 18
4.1. Ėminių iš makšties ir šlaplės laboratorinis tyrimas 20
5. INFEKCIJOS SUKĖLĖJŲ ATSPARUMO ANTIBIOTIKAMS NUSTATYMAS. ANTIBIOGRAMA, VERTINIMAS IR PRAKTINĖ REIKŠMĖ 33
6. APLINKOS VEIKSNIŲ POVEIKIS MIKROORGANIZMAMS 37
6.1. Dezinfekcija. Instrumentų paruošimas 37
6.2. Antiseptika. Aseptika. Rankų higiena 41
6.3. Sterilizacija, sterilizacijos metodai ir Sterilumo kontrolė 46
7. BAKTERINIŲ INFEKCIJŲ MIKROBIOLOGINĖ DIAGNOSTIKA 58
8. KRAUJO PAĖMIMAS IR GABENIMAS MIKROBIOLOGINIAM TYRIMUI 60
9. ŠLAPIMO SURINKIMAS IR GABENIMAS MIKROBIOLOGINIAM TYRIMUI 64
10. MEDŽIAGOS PAĖMIMAS CHLAMIDIOZĖS LABORATORINEI DIAGNOSTIKAI 68
11. APLINKOS MIKROBINĖS TARŠOS TYRIMAI 73
11.1. Oro mikrobinės taršos tyrimas 74
LITERATŪROS SĄRAŠAS 80

PRATARMĖ

Pasaulyje sparčiai plinta įvairios infekcinės ligos (ŽIV, hepatitai, tuberkuliozė, cholera, Zika viruso sukelta virusinė infekcija ir kitos), kurios neaplenkia ir Lietuvos. Šias ligas sukelia įvairūs mikroorganizmai, plintantys per kraują, orą, maistą, buitinio ar lytinio kontakto būdu.

Studentai, studijuojantys medicinos mokslus, turi gerai susipažinti su mikroorganizmų biologija, žinoti jų įtaką žmogaus sveikatai, aplinkai, suvokti sterilizacijos, dezinfekcijos, antiseptikos ir aseptikos svarbą medicinos praktikoje.

Ši mikrobiologijos praktinio mokymo priemonė yra parengta akušerijos, bendrosios praktikos slaugos ir medicininės kosmetologijos studentams. Mokymo priemonėje nagrinėjama mikroorganizmų morfologija, fiziologija, sterilizacija, dezinfekcija, antiseptika. Studentai susipažins su mikrobiologijos laboratorijose atliekamais mikrobiologinės diagnostikos tyrimo metodais. Mokymo knygoje pateikiami tiriamosios medžiagos, paimtos iš šlapimo ir lytinių takų, mikrobiologinio tyrimo metodai. Daug dėmesio skiriama tiriamosios medžiagos ėmimui, remiantis normatyviniais higienos reikalavimais.

Medicinos darbuotojams svarbu žinoti ir laikytis Higienos normų, kurios reglamentuoja aplinkos saugą nuo hospitalinių infekcijų sukėlėjų plitimo.

Su tam tikrų infekcijų laboratorine diagnostika numatoma susipažinti specialiose laboratorijose, pvz., chlamidiozių laboratorinės diagnostikos metodus rekomenduojama stebėti chlamidijų diagnostikos laboratorijoje.

Autoriai

SANTRAUKOS

DNR – deoksinukleorūgštis
IFT – imunofermentinis testas
KSV – kolonijas sudarančių vienetų skaičius
LGR – ligazės grandininė reakcija
NRAT – nukleorūgščių amplifikacijos testas
ORP – oksidacijos-redukcijos potencialas, mV
PGR – polimerazės grandininė reakcija
TIFT – tiesioginės imunofluorescencijos testas
TŠS – toksinio šoko sindromas

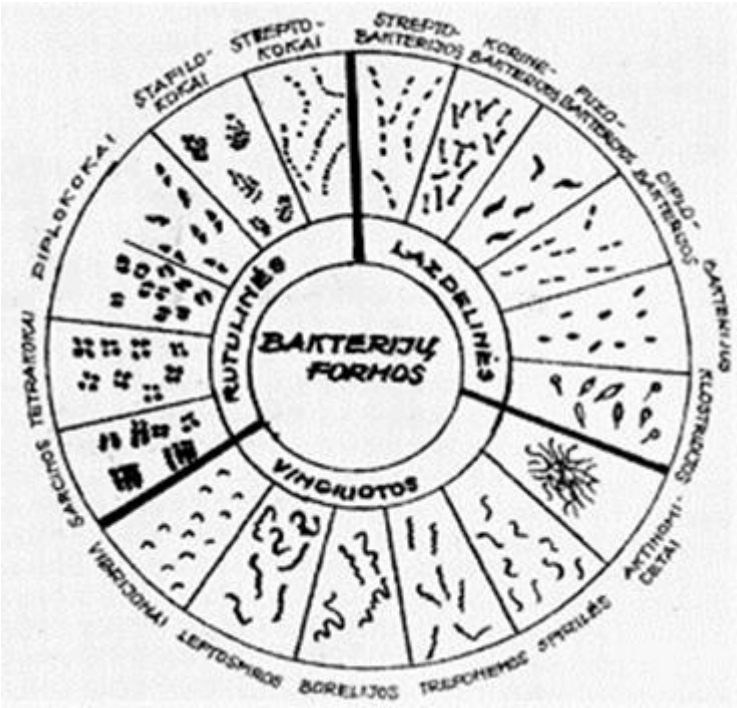
1. PROKARIOTŲ MORFOLOGIJOS TYRIMAS

Tikslas – supažindinti su darbo saugos mikrobiologijos laboratorijoje taisyklėmis. Išmokti daryti bakterijų, išaugintų skystosiose ir standžiosiose mitybinėse terpėse, tepinėlius ir juos dažyti paprastaisiais ir sudėtingaisiais dažymo būdais. Mokėti mikroskopuoti imersine sistema ir vertinti bakterijų morfologiją.

Darbo laboratorijoje taisyklės:

1. Įeinant į laboratoriją ir pradedant dirbti, privaloma dėvėti baltą chalatą ir kepurę.
2. Laboratorijoje griežtai draudžiama valgyti.
3. Darbo vieta, baigus darbą, sutvarkoma.
4. Po darbo rankas būtina plauti muilu, o prireikus – valyti antiseptiniais tirpalais.
5. Panaudotos darbo priemonės dedamos į dezinfekuojamąjį tirpalą.
6. Darbo vieta, užteršta kenksmingų mikroorganizmų, turi būti dezinfekuojama.

Prokariotų morfologija ir struktūra. Prokariotai – tai vienaląsčiai, neturintys tikro branduolio, kurio vietoje yra nukleoidas – žiedo formos DNR molekulė. Jie neturi mitochondrijų, Goldžio komplekso, chloroplastų. Jų ląstelės sienelėje yra tik prokariotams būdingo peptidoglikano. Prokariotams priklauso bakterijos ir melsvabakterės. Bakterijų morfologija tiriama mikroskopuojant mikroorganizmų tepinėlius, dažytus paprastaisiais ar sudėtingaisiais dažymo būdais. Bakterijų morfologinės formos nurodytos 1 pav.



1 pav. Bakterijų morfologinės formos (Vaičiulevičienė, 2003)

Pagal formą bakterijos skirstomos į tris pagrindines grupes:

- rutulio formos (kokai),
- lazdelės formos,
- vingiuotos formos.

Kokai pagal ląstelių išdėstymą ir dalijimosi būdą skirstomi į:

- **mikrokokus** (pavienius kokus),
- **diplokokus** (išsidėstę poromis), jiems priklauso meningokokai, gonokokai ir *Streptococcus pneumoniae*,
- **streptokokus** (sukibusios ląstelės sudaro grandinėlę),
- **tetrakokus** (ląstelės sukibusios po keturias),
- **sarcinas** (ląstelėms pasidalijus susidaro kubas iš 4, 8, 16 ir daugiau ląstelių),
- **stafilokokus** (sukibusios ląstelės primena vynuogių kekę).

Lazdelės formos prokariotai vadinami lazdelinėmis bakterijomis. Lazdelės gali būti ilgos ar trumpos, storos ar plonos, tiesios ar lenktos, nukirstais ar suapvalėjusiais galais. Kai kurios lazdelės formos bakterijos sudaro sporas, kurios yra jų raidos paskutinė stadija. Spora yra sporinių bakterijų raidos stadija, kuri prasideda, kai susidaro bakterijai nepalankios gyvenimo sąlygos – trūksta maisto, nepalanki temperatūra, trūksta vandens ir kt. Bakterijos, kurių sporų skersmuo mažesnis už vegetacinės formos skersmenį, vadinamas bacilomis. Bakterijos, kurių sporų skersmuo didesnis už vegetacinės bakterijų formos skersmenį, vadinamos klostridijomis. Sporos išlieka gyvybingos iki 160 °C temperatūroje ir apsaugo bakteriją nuo nepalankaus aplinkos poveikio, aukštesnės kaip 160 °C temperatūros, jonizuojančių spindulių, kurie sunaikina jų vegetacines formas, nuo maisto medžiagų stokos.

Vingiuotos formos prokariotai skirstomi į grupes, atsižvelgiant į vingių kiekį ir jų pobūdį:

- vibrionaituri vieną vingį, panašų į kaklelį (pvz., choleros vibrionas);
- spirilės – tai ląstelės, turinčios didelį skersmenį ir 2–3 vingius (pvz., *Spirillum minor*).

Spirochetos – spiralės formos bakterijos, kurios pagal vingių skaičių ir išsidėstymą skirstomos taip:

- borelijos – spiralė, susisukusi į 3–12 stambius netaisyklingus vingius (pvz., *Borrelia recurentis*);
- treponemos – spiralė, susisukusi į 8–18 taisyklingus vingius (pvz., *Treponema pallidum*);

- leptospiros – spiralė, susisukusi į 12–18 smulkių taisyklingų vingių, o kūnas sudaro „C” arba „S” raidės formą (pvz., *Leptospira interrogans*).

Judrūs prokariotai turi judėjimo organus – žiuželius, kurie nevienodai išsidėsto ląstelės paviršiuje. Bakterijos turi piles, padedančias mikroorganizmams prisitvirtinti (adhezija) prie šeimininko ląstelių receptorių. Prokariotų ląstelės sienelę iš išorės dažnai gaubia gleivių sluoksnis, kuris, jei turi tvirtą ryšį su ląstelės sienele, vadinamas kapsule (pvz., *Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae*). Bakterijos kapsulę turi ne tik gyvame organizme, bet ir už jo (pvz., *Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus*). Kapsulės bakteriją saugo nuo fagocitozės, antikūnų poveikio ir išdžiūvimo aplinkoje, kapsulės polisacharidai yra varianto specifiniai kapsuliniai antigenai.

1.1. Tepinėlių ruošimas ir dažymas paprastaisiais dažymo būdais ir sudėtinguoju Gramo dažymo būdu

Darbo eiga.

Priemonės:

- objektiniai stikleliai,
- tiriamoji medžiaga,
- sterilios vienkartinės plastikinės bakteriologinės kilpelės ar iš vielytės pagamintos bakteriologinės kilpelės,
- spiritinės lemputės,
- tamponėliai,
- sterilus fiziologinis 0,9% NaCl tirpalas.

Tepinėlių ruošimas. Tepinėliai ruošiami ant švarių objektinių stiklelių. Mėginiai tepinėliui imami sterilia vienkartine bakteriologine kilpele ar steriliu tamponėliu. Tepinėlis turi būti plonas, kad ląstelės būtų išsidėsčiusios vienu sluoksniu, nes nuo to priklauso mikroskopinio vaizdo ryškumas. Storame tepinėlyje ląstelės susisluoksniuoja ir mikroskopuojant sunku matyti jų dydį. Jei tiriamosios medžiagos mėginys yra skystas, tuomet pakanka ant objektinio stiklelio užlašinti lašą (ar 2–3), o jei mėginys nėra skystas, tuo atveju pradžioje ant objektinio stiklelio lašinami 1–3 lašai sterilaus fiziologinio tirpalo, o paskui į lašą sterilia kilpele dedamas mėginys, kuris paskleidžamas laše – susidaro suspensija, kurią paskleidus 2–3 cm dėme gauname mėginio tepinėlį. Po to tepinėliai džiovinami kambario temperatūroje (ar termostate apie+37 C).

Pastaba! Paruošti mėginių tepinėliai gabenami į laboratoriją. Pažymėti objektiniai stikleliai su tepinėliais dedami į sandarų gabenimo konteinerį ir per 24 val. nuo paėmimo gabenami į mikrobiologijos laboratoriją kartu su užpildyta tam tikra siuntimo forma.

Pastaba! Jei nesilaikoma mėginių ėmimo ir gabenimo rekomendacijų, tepinėliai nepriimami mikroskopiniam tyrimui.

Tepinėlio fiksavimas. Fiksuodami tepinėlius siekiame kelių tikslų: tepinėlyje esantys mikroorganizmai nukenksminami ir „pritvirtinami“ prie objektinio stiklelio, kad dažymo metu nenusiplautų nuo objektinio stiklelio paviršiaus.

Tepinėliai fiksuojami karščiu, pertraukiant 3–4 kartus virš spiritinės degiklio liepsnos, ar lakiaisiais tirpalais, kurie garuodami pritvirtina tepinėlio turinį prie objektinio stiklelio paviršiaus.

Tepinėlių dažymas paprastaisiais dažymo būdais. Tepinėlis dažomas tik vienu dažu: metileno mėlynuoju, fuksinu ar safranino dažais. Dažant tepinėlius paprastaisiais dažymo būdais, dažai pilami ant fiksuoto tepinėlio, po ekspozicijos (1–5 min) dažai nuplaunami vandeniu. Tepinėlis džiovinamas ir mikroskopuojamas imersine sistema.

Tepinėlių dažymas Gramo būdu.

Tikslas – išmanyti Gramo dažymo būdo esmę, gebėti atskirti gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas, suvokti Gramo dažymo būdo praktinę svarbą infekcijų diagnostikai.

Priemonės:

- tiriamoji medžiaga (bakterijų kultūros, klinikinė tiriamoji medžiaga),
- objektiniai stikleliai,
- Gramo dažai,
- sterilios bakteriologinės kilpelės,
- spiritinė lemputė,
- sterilus 0,9% NaCl tirpalas,
- etanolis.

Dažant Gramo būdu, bakterijos nusidažo dvejopai – raudonai (gramneigiamos) ir mėlynai (gramteigiamos) (2 pav.).

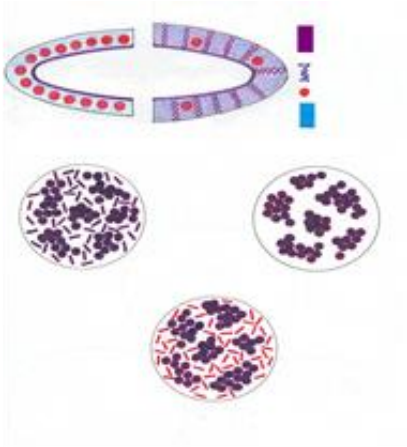
Gramteigiamos bakterijos – tai bakterijos, kurių ląstelės sienelę sudaro peptidoglikanas, teicho rūgštys, citoplazmoje esančios magnio druskos, su pagrindiniu dažu (kristalvioletu) sudarančios patvarų junginį, neišblunkantį alkoholyje. Bakterijos nusidažo mėlynai violetine spalva.

Gramneigiamos bakterijos – tai bakterijos, kurių ląstelės sienelės išorinę membraną sudaro fosfolipidų dvisluoksnis, kuriame yra ir lipopolisacharidų (LPS), su anilino

dažais sudarančių nepatvarų junginį, kuris dėl etanolio poveikio išblunka ir papildomai dažant fuksinu bakterija nusidažo raudonai.

Dažymo metodologija.

1. Ant užfiksuoto tepinėlio pilame kristalvioleto dažų, laikome apie 1–2 min.
2. Dažus nupilame ir ant tepinėlio pilame liugolio tirpalo, kurį laikome apie 1–2 min.
3. Nupylus liugolio tirpalą, preparatas blukinamas 96° etanoliu (30–60 s).
4. Tepinėlis plaunamas steriliu fiziologiniu tirpalu ar steriliu distiliuotu vandeniu.
5. Nuplautas tepinėlis dažomas vandeniniu fuksino tirpalu (ar safraninu) 1–2 min.
6. Po to plaunama vandeniu ir dažytas mikropreparatas džiovinamas kambario temperatūroje.
7. Paruoštas tepinėlis tiriamas mikroskopu imersine sistema.



2 pav. Gramo dažymo būdas (Vaičiulevičienė, 2005)

Gramo dažymo būdo praktinė svarba.

1. Nustatoma tiriamųjų bakterijų ląstelės sienelės struktūra, suskirstant bakterijas į gramteigiamas ir gramneigiamas;
2. Žinant bakterijų ląstelės sienelės struktūrą, galima tikslingiau skirti antibiotikus infekcijai gydyti (empiriniai antibiotikoterapijai).

Pastaba! Dažant Gramo būdu, kiekvieną kartą dažomi kontroliniai tepinėliai, įvertinant Gramo dažų kokybę ir nustatant atskirų šio dažymo būdo etapų ekspozicijos trukmę.

Tepinėlių, dažytų Gramo būdu, vertinimas. Jei tepinėlis paruoštas gerai ir Gramo dažai yra kokybiški, tai:

- tepinėlio fonas nusidažo raudonai violetine spalva,

- eukariotinių ląstelių, leukocitų, epitelinių ląstelių branduoliai nusidažo violetine spalva, o periferinės dalys – raudonai,
- gonokokai, esantys leukocituose, epitelio ląstelių viduje arba ant jų, nusidažo rausvai raudona spalva,
- gramneigiamos bakterijos nusidažo raudonai, o gramteigiamos – mėlynai violetine spalva.

Kontroliniai klausimai:

1. Kaip pagal išsidėstymą skirstomi kokai?
2. Kurios bakterijos sudaro sporas?
3. Kaip skirstomos vingiuotos bakterijos?
4. Kokie yra tepinėlio ruošimo etapai?
5. Kokiais būdais dažomi tepinėliai?
6. Kodėl bakterijos, dažant jas Gramo būdu, nusidažo skirtingai?
7. Išvardinkite pagrindines Gr(+) ir Gr(-) bakterijas, nupieštas laboratorinių darbų metu.
8. Kaip atliekama Gramo dažymo būdo kontrolė?
9. Kokia Gramo dažymo būdo praktinė svarba?

2. EUKARIOTŲ MORFOLOGIJOS TYRIMAS

Tikslas – supažindinti su grybų ir pirmuonių morfologija. Gebėti atpažinti grybus ir pirmuonis, mikroskopuojant natyviniais mikropreparatais.

Priemonės:

- grybų kultūros ir pirmuonys,
- sterilios vienkartinės plastikinės bakteriologinės kilpelės ar iš vielytės pagamintos bakteriologinės kilpelės,
- spiritinės lemputės,
- objektiniai stikleliai,
- sterilus fiziologinis 0,9% NaCl tirpalas,
- dezinfekuojamieji tirpalai.

Komentaras. Grybai – bechlorofilai vienaląsčiai arba daugialąsčiai nejudrūs organizmai, turintys vieną ar keletą branduolių. Grybų yra apie 100000 rūšių. Patogeniniai grybai, pažeidžiantys žmogaus odą, plaukus, nagus vadinami dermatofitais, o sukeltos ligos – dermatomikozėmis. Mikotoksikozės – tai apsinuodijimai grybų egzotoksinais.

Medicinoje reikšmingiausi yra šie grybų skyriai:

- Deyteromycetes (žemesnieji grybai) – *Fungiimperfecti*,
- Ascomycetes,
- Zygomycetes,
- Basiodymicetes.

Grybų ląstelės turi sienelę, sudarytą iš polisacharidų chitino, ir citoplazmą, kurioje yra diferencijuotas branduolys, mitochondrijos, maisto medžiagų sankaupos, vakuolės. Grybų vegetacinį kūną sudarohifai. Augdami hifai išsišakoja, susiraizgo į tam tikrą vegetacinį kūną – **grybieną,** vadinamą miceliu. Hifai geba augti į ilgį, gali išplisti paviršiuje arba mitybinio substrato gylyje. Grybai gali sudaryti lytines ir nelytines sporas, kuriomis jie dauginasi.

Candida genties grybai taip pat sukelia odos, nagų ir gleivinės mikozes. *Candida* grybeliai savo forma ir dydžiu panašūs į mieles, tačiau organizme sudaro pseudomicelį.

Atsparumas aplinkai. Grybai atsparūs išoriniams aplinkos veiksniams, cheminėmis medžiagomis. Pleiskanose grybai išlieka gyvi iki 6 mėn., plaukuose – iki 4 metų, virinimą atlaiko 15–30 min. Antifungicidiniu veikimu pasižymi 3–7% acto rūgštis.

Užsikrėtimo būdai:

- tiesiogiai kontaktuojant su sergančiu žmogumi,

- per gyvūnų kailį, paukščių plunksnas, atliekant manikiūro ir pedikiūro procedūras.

Grybų mikrobiologinis tyrimas.

Bandinio paėmimas:

1. Bandinys imamas iš židinių prieš gydymą.
2. Židinių pakraščiai nuvalomi 70° etanoliu.
3. Ėminiai surenkami į sterilią Petri lėkštelę ar gabenamąją (transportinę) terpę.

Plaukų bandiniai. Pažeistoje vietoje plaukai išraunami pincetu, o pleiskanos nuo odos gramdomos skalpeliu.

Odos bandiniai. Medžiaga imama iš pažeidimo vietos (židinio) pakraščių. Odos pleiskanoms gramdyti naudojamas sterilus neaštrus skalpelis.

Nagų bandiniai. Pažeisti nagai gramdomi steriliu skalpeliu ar žirklėmis. Ėminiai kandidomikozei tirti imami steriliais vatos tamponais iš lytinių ar šlapimo takų, ar naujagimių burnyčių. Ėminiai tiriami tuoj pat po paėmimo, užlašinus 1–2 lašus 30% KOH ir uždengus dengiamuoju stikleliu. Taip paruošti tepinėliai po 15–20 min. mikroskopuojami mažuoju padidinimu, o paskui dominančios mikropreparato vietos peržiūrimos didžiuoju padidinimu.

Mėginių mikroskopinis tyrimas:

1. Mėginys (tiriamoji medžiaga) tiriama tuoj pat po jo paėmimo.
2. Medžiaga skirstoma į tris dalis: mikroskopavimui, kultivavimui (auginimui) ir pakartotiniam tyrimui.
3. Plaukų ir odos bandiniai dedami ant objektinio stiklelio vidurio ir ant jų lašinami 1–2 lašai 30% KOH tirpalo.
4. Uždengiama dengiamuoju stikleliu ir paliekama 15–20 min.
5. Preparatai pradžioje mikroskopuojami mažuoju didinimu, o vėliau – didžiuoju didinimu.
6. Mikroskopijos duomenys įrašomi į laboratorijos tyrimų registracijos knygą ir/ar suvedami į kompiuterį.

Nagų mėginiai tyrimui imami į mėgintuvėlius, į kuriuos lašinama 2–3 lašai 30% KOH ir paliekama kitai dienai. Atliekant tyrimą tą pačią dieną, mėgintuvėliai 2–3 val. šildomi džiovinimo spintoje esant 50–60°C temperatūrai.

Mėginių sėjimas į mitybines terpes.

1. Mėginiai sėjami į Sabūro mitybinę terpę su antibiotikais ir kitas mitybines terpes.
2. Mėginiai sėjami kartojant du kartus.
3. Pasėliai kultivuojami 14–30 parų 20–25°C temperatūroje.

4. *Candida* grybų identifikuoti sėjama į hematogeninį agarą (auga žaliomis kolonijomis).

Kontroliniai klausimai

1. Kokie mikroorganizmai priklauso eukariotams?
2. Kas būdinga grybelių morfologinei struktūrai?
3. Kuo skiriasi eukariotiniai mikroorganizmai nuo prokariotų?
4. Kaip paruošiamas pakenkto nago,odos, plaukų tepinėlis mikroskopavimui?
5. Kokiais tyrimo metodais tiriami grybeliai?

3. MIKROORGANIZMŲ FIZIOLOGIJA

Tikslas – išmanyti bakteriologinio tyrimo esmę ir schemą. Susipažinti su mitybinių terpių klasifikacija ir paskirtimi. Mokėti pasėti mėginį į standžiąsias ir skystąsias mitybines terpes ir gebėti aprašyti standžiosiose mitybinėse terpėse išaugusias bakterijų kolonijas.

Komentaras. Mitybinės terpės naudojamos mikroorganizmams auginti, gausinti, bakterijų grynai kultūrai išskirti. Su išauginta mikroorganizmų kultūra atliekami jų biocheminių savybių nustatymo testai ir imunologiniai testai, kuriais remiantis išskirtos iš tiriamosios medžiagos mikroorganizmų kultūros yra identifikuojamos, t. y. nustatoma jų rūšis, taip pat nustatomas išskirto infekcijos sukėlėjo atsparumas antibiotikams.

Mitybinės terpės. Mitybinės terpės mikrobiologinėje praktikoje yra naudojamos mikroorganizmams iš įvairios tiriamosios medžiagos išskirti, jiems auginti ir biocheminėms savybėms nustatyti. Terpėje turi būti sudarytos palankios sąlygos bakterijoms augti ir daugintis. Reikalavimai mitybinėms terpėms:

- terpė turi būti sudaryta iš lengvai įsisavinamų medžiagų, būtinų mikroorganizmų mitybai: organogenų, mineralinių medžiagų, mikroelementų, augimo veiksnių (vitaminų, kai kurių aminorūgščių);
- optimalus terpės pH. Dauguma patogeniškų bakterijų auga silpnai šarminėje terpėje – pH 7,2–7,4, išskyrus choleros vibrionus (pH 8,5–9,0) ir tuberkuliozės sukėlėją (pH 6,2–6,8);
- terpėje turi būti medžiagų, neutralizuojančių rūgščius ar šarminių medžiagų apykaitos produktus (pasižymėti buferiškumu). Terpės pH, augant mikroorganizmams, turi išlikti pastovus;
- terpės turi būti sterilios;
- terpėje turi būti pakankamas vandens kiekis;
- terpė turi turėti tam tikrą oksidacijos-redukcijos potencialą (ORP, mV). Pvz., aerobai dauginasi esant ORP<5, o anaerobai – ORO>10;
- terpė turi būti izotoninė: osmosinis slėgis terpėje ir mikrobinėje ląstelėje turi būti vienodas;
- terpė turi būti skaidri;
- terpės turi būti unifikuotos. Gaminant terpes jų kiekybinė ir kokybinė sudėtis turi išlikti visada pastovi;
- terpės turi būti skaidrios, sterilios, būtinas subalansuotas pH.

Pagal paskirtį terpės skirstomos:

- bendrosios paskirties; šiose terpėse auga dauguma mikroorganizmų, kurių sudėtyje yra lengvai įsisavinamų medžiagų;
- gausinimo terpės, kurias sudaro medžiagos, skatinančios tik tam tikrų mikroorganizmų dauginimąsi ir slopinančios kitų mikroorganizmų augimą bei vystymąsi;
- diferencinės-diagnostinės terpės, kuriose nustatomos tam tikrų mikroorganizmų biocheminės savybės;
- gabenimo (transportinės) terpės, naudojamos bandiniams paimti ir jiems gabenti į mikrobiologijos laboratoriją. Gabenimo terpės temperatūra turi būti +18°C. Gabenimo trukmė – iki 48 val. (pageidautina, kad trukmė būtų trumpesnė).

Pagal prigimtį terpės skirstomos į:

- sintetines (mineralinės druskos ir angliavandeniai),
- natūralias (kraujas, serumas, pienas, tulžis).

Pagal fizinę būklę skirstomos į skystąsias, standžiąsias ir pusiau skystas.

Darbo eiga:

Priemonės:

- mitybinės terpės,
- sterilios vienkartinės plastikinės bakteriologinės kilpelės ar iš vielytės pagamintos bakteriologinės kilpelės, sterilūs tamponai,
- spiritinės lemputės,
- stoveliai mėgintuvėliams,
- bandinys,
- termostatas.

Užduotys.

I etapas. Tamponu atlikti ėminio pasėlius, paimtus nuo:

- rankų,
- liežuvio,
- stalo paviršiaus,
- oro pasėlį.

Pasėlių atlikimo etapai.

I etapas. **Mėginio sėjimas į mitybines terpes.** Sėjant bandinį į mitybinę terpę, būtina laikytis aseptikos ir antiseptikos taisyklių. Bandinių pasėliai atliekami į sterilias

mitybines terpes steriliais instrumentais, laikantis visų aseptikos reikalavimų. Bandiniai dažniausiai sėjami vienkartinėmis steriliomis kilpelėmis ar steriliais tamponais. Bandinys į standžiąją mitybinę terpę Petri lėkštelėje sėjamas tam tikrais segmentais nuo Petri lėkštelės viršaus link jos apačios šalia esant dujiniam degikliui ar degančiai spiritinei lemputei, siekiant gauti pavienes kolonijas (**kolonija** yra ribotas, akimi matomas mikroorganizmų telkinys standžiojoje terpėje, išaugintas iš vienos ląstelės, rečiau – iš kelių). Galima sėti ir į keturis Petri lėkštelės sektorius. Standžiosiose mitybinėse terpėse atliekami oro ir atspaudų pasėliai. Esant poreikiui galima sėti ir į skystąsias mitybines terpes.

***II etapas*.** Pasėlių inkubavimas termostate: bakterijoms – 20–24 val. 35–37°C temperatūroje; grybeliams–3–5 paras 20–25°C temperatūroje. Esant tam tikriems reikalavimams kultivavimo trukmė ir temperatūra gali būti skirtinga.

***III etapas*.** Po inkubavimo atliekamas išaugusių mikroorganizmų savybių vertinimas: kolonijų pobūdžio (standžiosiose terpėse), biocheminių savybių, antigenų nustatymas ir kt., siekiant nustatyti išaugusių mikroorganizmų rūšį.

Kontroliniai klausimai

1. Kam naudojamos mitybinės terpės?
2. Kokius reikalavimus turi atitikti mitybinės terpės?
3. Kaip skirstomos terpės pagal prigimtį?
4. Kas yra kolonija?
5. Kaip skirstomos terpės pagal konsistenciją?

4. MOTERŲ LYTIES ORGANŲ MIKROFLORA

Tikslas – susipažinti su normalia makšties mikroflora ir ginekologinių ėminių tyrimų analize.

Komentaras. Moters lyties organus sudaro išoriniai lyties organai, makštis, gimdos kaklelis, gimda su priedais ir kiaušidės. Makšties mikroflora keičiasi įvairiais moters gyvenimo laikotarpiais priklausomai nuo hormonų lygio.

Naujagimių, mergaičių, reprodukcinio amžiaus moterų ir klimakteriniu laikotarpiu makšties mikroflora skirtinga.

Normalios makšties išskyros yra bekvapės, permatomos ar balkšvos, homogeniškos, pH < 4,5, jose nedaug leukocitų.

Mikroflora taip pat būna įvairi ir menstruacinio ciklo metu. Ją lemia:

- įvairios ligos (pvz., nekompensuoto cukrinio diabeto metu moteris dažnai vargina grybeliniai makšties uždegimai);
- vartojami vaistai (pvz., antibiotikai slopina natūraliųjų makšties bakterijų augimą, kurios normaliomis sąlygomis neleidžia išvešėti grybeliui);
- kontracepcijos būdai. Kontraceptikai makšties ekologiją veikia dvejopai. Gimdos spiralės, kurių siūleliai išlenda į makštį, šarmina makšties aplinką, sudarydamos geras sąlygas augti anaerobams ir išsivystyti bakterinei vaginozei. Geriamieji kontraceptikai, kurių sudėtyje yra daugiau estrogenų, gali didinti grybelių virulentiškumą ir skatinti kandidozinį makšties uždegimą;
- lytinis partneris makšties mikrobiologinę aplinką gali pakeisti, užkrėsdamas lytiškai plintančiais patogenais ar sutrikdydamas aplinkos pH. Sperma yra šarminė terpė, sudaranti geras sąlygas anaerobams bei daugeliui galimų patogenų daugintis;
- lytiškai plintančios infekcijos;
- endokrininės ligos;
- menstruacinės funkcijos sutrikimai;
- imuniteto susilpnėjimas;
- chirurginis nėštumo nutraukimas, operacijos;
- antibiotikų, hormonų, citostatikų vartojimas;
- intrauterininė kontracepcija;
- alerginės būklės;
- jonizuojanti radiacija;

- intervencinės diagnostinės ir gydomosios manipuliacijos.

Dauguma lytinių takų ligų yra endogeninės kilmės. Esant tam tikrai moters organizmo būklei, natūrali organizmo mikroflora sukelia infekcinius procesus.

Normali makšties mikroflora yra gausi ir įvairi. Normalios makšties mikrofloros būdingiausi atstovai yra:

- laktobacilos,
- bacteroidai,
- peptostreptokokai,
- mobilunkai,
- enterokokai,
- streptokokai,
- stafilokokai,
- *Gardnerella vaginalis,*
- *Mycoplasma hominis,*
- *Candida* grybeliai ir kt.

Tarp aerobų ir anaerobų labai svarbi pusiausvyra tiek kiekio, tiek rūšies požiūriu. Daugelis išvardintų mikroorganizmų dėl pasikeitusio tarpusavio santykio, kiekio (pvz. dėl nėštumo ar operacinės intervencijos) gali sukelti infekcinius lytinių takų procesus. Normalią makšties mikroflorą sudarantys mikroorganizmai kartais yra kaip sąlyginiai patogenai. Normalią mikroflorą sudarančių mikroorganizmų tarpusavio ryšių pakitimai ir nulemia makšties infekcijų atsiradimą. Bakterinė vaginozė prasideda tada, kai makšties aplinka tampa šarminė, makštyje normaliai esančios anaerobinės bakterijos pradeda intensyviai daugintis, šimtus ir tūkstančius kartų viršydamos aerobų skaičių. Bakterinės vaginozės sukėlėjai dažnai būna pooperacinių infekcinių komplikacijų priežastis.

B grupės hemoliziniai streptokokai – *Streptococcus agalactiae* – yra pagrindiniai naujagimių sepsio bei meningito sukėlėjai, o moterims po gimdymo gali sukelti endometritą. *Escherichia coli* sukelia šlapimo takų infekcijas, *Staphylococcus aureus* gali sukelti toksino šoko sindromą. Kandidozė kliniškai pasireiškia tada, kai normaliomis sąlygomis šio grybelio augimą makštyje slopinančių bakterijų skaičius sumažėja (pvz., dėl plataus spektro antibiotikų vartojimo ir kt.).

Taigi makšties infekcijų (kaip ir kitų infekcinių ligų) atsiradimas tiesiogiai priklauso nuo mikroorganizmų skaičiaus ir virulentiškumo bei atvirkščiai proporcingas organizmo atsparumui (Theobald Smith aksioma).

4.1. Ėminių iš makšties ir šlaplės laboratorinis tyrimas

Tyrimo tikslas – susipažinti su ėminių iš makšties paėmimu ir gabenimu į mikrobiologijos laboratoriją.

Normali makšties mikroflora sunkina ėminių bakteriologinį tyrimą ir jo duomenų vertinimą. Sąlyginai patogeniškų bakterijų – *Staphylococcus aureus, Enterobacteraceae* šeimos bakterijų, *Enterococcus* spp. – išskyrimas iš makšties ne visada yra jų etiologinio vaidmens įrodymas, nes šios bakterijos, kaip normali tarpvietės mikroflora, patenka ir į šlapimo bei lytinius takus. Dažniausi šlapimo bei lytinių takų infekcinių procesų sukėlėjai nurodyti 1 lentelėje.

1 lentelė. Dažniausi šlapimo bei lyties takų infekcinių procesų sukėlėjai

Infekcinė liga	Sukėlėjai
Amnionitis	*Streptococcus agalactiae**, *Gardnerella vaginalis, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Haemophilus parainfluenzae, Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes, Capnocytophage* spp.
Bartholinitis	*Escherichia coli, Neisseria gonorrhoeae**, *Proteus mirabilis**, *Ureaplasma urealytica**, anaerobai, *Chlamydia trachomatis, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus*, β-hemoliziniai streptokokai
Cervicitis	*Neisseria gonorrhoeae**, *Chlamydia trachomatis**, *Actinomyces* spp*, *Herpessimplex* virusas*, *Capnocytophage* spp., HB-5, *Mycobacterium tuberculosis, Streptococcus agalactiae*
Endometritis	*Bacteroides* spp.*,*Actynomyces*spp.*, *Chlamydia trachomatis**, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli, Gardnerella vaginalis, Haemophilus influenzae, Listeria monocy*togenes, *Streptococcus agalactiae, Streptococcus pyogenes, Klebsiella* spp.
Postpartumendometritis	*Bacteroides bivil**, *Bacteroides disieus**, *Bacteroides fragilis**, *Enterecoccus* spp.*, *Escherichia coli**, *Klebsiella* spp.*, *Streptococcus agalactiae**, *Peptostreptococcus* spp.
Vaginitis	*Neisseria gonorrhoeae**, *Chlamydia trachomatis**, *Trichomonas vaginalis**, *Candida* spp.*

*- dažniausiai išskiriami mikroorganizmai.

Moterų lytinių organų ėminiai dažniausiai tiriami šiais atvejais:

1. Pasireiškus uretrito, cervicito, vaginito požymiams;
2. Esant gausioms, dvokiančioms makšties išskyroms, įtariant bakterinę vaginozę;
3. Nėščiosioms, siekiant profilaktiškai nustatyti *Streptococcus agalactiae* naujagimių infekcijų prevencijai;
4. Įtariant infekcinį uždegiminį procesą po gimdymo, aborto;
5. Ieškant lytiškai plintančių venerinių ligų sukėlėjų;
6. Toksinio šoko sindromo (TŠS) atvejais tepinėliuose iš makšties ar gimdos kaklelio ieškoma *Staphylococcus aureus*.

Ėminių paėmimui svarbu:

1. Prieš ėminio ėmimą pacientas 10 dienų nebuvo gydytas antibiotikais.
2. Per pastarąsias dienas 48–72 val. nebuvo gydoma vietiškai antimikrobiškai.
3. Moterims gausių menstruacijų metu ėminių iš lyties organų patartina neimti.
4. 1–2 val. prieš ėminio paėmimą pacientas nesišlapino ar neturėjo lytinių santykių.
5. Remiantis klinikiniais požymiais ir pasirinktais laboratorinės diagnostikos metodais, ėminiai turi būti imami iš tinkamiausių anatominių vietų.
6. Paruoštas tepinėlis džiovinamas kambario temperatūroje.

Pastaba! Ėminius mikroskopiniam tyrimui rekomenduojama imti ant dviejų stiklelių: pirmasis tepinėlis bus dažomas metileno mėliu, o antrasis – Gramo dažymo būdu.

Imant ėminius ir ruošiant tepinėlius mikroskopijai, svarbu:

1. Moterims ėminiai iš gimdos kaklelio kanalo imami prieš visus kitus gimdos kaklelio mėginius, neužteršiant jų makšties mikroflora.
2. Objektiniai stikleliai turi būti sausi, švarūs, neriebaluoti ir nesubraižyti.
3. Per objektinio stiklelio paviršių tamponu visada reikia braukti lengvai spaudžiant ir tik viena kryptimi. Ėminys lieka kaip plonas vienalytis tiriamosios medžiagos sluoksnis vienoje stiklelio pusėje.
4. Medžiaga ant objektinio stiklelio turi būti užtepta kuo plonesniu sluoksniu, nes tada bus lengviau spręsti apie mikroskopuojamų elementų morfologiją, suskaičiuoti uždegimo indikatorius, t. y. segmentuotus leukocitus.
5. Tepinėlio kokybė ir informatyvumas.

Ėminio paėmimas iš gimdos kaklelio kanalo. Ėminiai imami ginekologinės apžiūros metu.

Pasiruošimas. Įstūmus šiltu vandeniu sudrėkintą makšties skėtiklį, sterilia medvilnine vata ar dideliu tamponu, kruopščiai nuvaloma išorinė gimdos kaklelio angos dalis.

Ėminio paėmimo procedūra. Sterilus tamponėlis švelniai įkišamas į gimdos kaklelio kanalą (2 cm) ir sukamas apie 10 sek.

Pastaba! Negalima imti mėginių iš lytiškai nesubrendusių mergaičių gimdos kaklelio. Jei tokio amžiaus mergaitei įtariama gonorėja, mėginys imamas iš makšties prieangio.

Ėminio paėmimas iš moterų šlaplės.

Pasiruošimas. Jei yra daug išskyrų, išorinė anga nuvaloma steriliu tamponu, jei išskyrų nėra – šlaplė lengvai pamasažuojama.

Ėminio paėmimo procedūra. Sterilus tamponėlis ant plono aliuminio kotelio švelniai įkišamas į šlaplės angą (0,5–2 cm) ir palaikomas 5–10 sek.

Ėminio paėmimas iš makšties prieangio ir šlaplės gleivinės liaukų.

Pasiruošimas. Steriliu tamponu kruopščiai nuvalomas makšties prieangis ir išorinės šlaplės angos sritis; medžiaga iš šlaplės gleivinės liaukų latakų paimama atsargiai masažuojant šlaplės sieną.

Ėminio paėmimo procedūra. Išskyros surenkamos steriliu medvilniniu tamponu. Imama nuo užpakalinio ir šoninių makšties skliautų.

Reikalingi instrumentai:

- sterilios vienkartinės plastikinės bakteriologinės kilpelės ar iš vielytės pagamintos bakteriologinės kilpelės,
- sterilūs tamponai,
- objektiniai stikleliai,
- dengiamieji stikleliai,
- sterilus fiziologinis tirpalas,
- makšties skėtiklis.

Tiriamoji medžiaga imama kilpele nuo makšties šoninio skliauto ir lengvais judesiais paskleidžiama ant stiklelio (2 lentelė). Jei ėminys imtas sausu tamponu (be gabenimo terpės), laboratorijoje jo tirti nereikėtų. Į gabenimo terpę paimtas ėminys per 12 val. nuo paėmimo pradžios turi būti pristatytas į laboratoriją. Laikomas kambario temperatūroje.

Aspiratą į sterilų indą, o ne į gabenamąją terpę, galima imti :

1. kai galima paimti 1ml skysčio ir per 30 min. pristatyti į laboratoriją;
2. kai galima paimti 2ml ar daugiau skysčio ir per 2–3 val. pristatyti į laboratoriją.

Aspiratas anaerobams gabenimo terpėje į laboratoriją turi būti pristatytas per 2–3 val. Tik naudojant ypač geras anaerobines gabenamąsias terpes, tiriamąją medžiagą kambario temperatūroje galima laikyti 8–24 val. Ypač griežti tiriamosios medžiagos gabenimo reikalavimai, tiriant *Neiseria gonorrhoeae*. Tyrimo rezultatai tiksliausi, kai ėminys iš karto sėjamas į vieną iš selektyvių terpių gonokokams ar į neselektyvią terpę – šokolado agarą su priedu (suplementu). Jei mitybines terpes su pasėliais reikia gabenti į mikrobiologijos laboratoriją, jos talpinamos į gabenimo (transportinę) sistemą gonoPAC. Pasėliai inkubuojami 35 °C temperatūroje 5–7% CO_2 atmosferoje. Ėminys iš karto gali būti imamas į gabenimo terpę ir vežamas į mikrobiologijos laboratoriją.

2 lentelė. Ėminių ėmimas iš įvairių šlapimo bei lytinių takų vietų

Vieta	Tiriamoji medžiaga
Amniono skystis	Amniocentezės skystis, kateteriu paimtas aspiratas, cezario operacijos metu tamponu paimta tiriamoji medžiaga
Bartolinio liauka	Pūlinio aspiratas, paimtas švirkštu ar tamponu
Gimdos kaklelis	Endocervikalinio kanalo turinys
Endometriumas	Transcervikalinis aspiratas, paimtas teleskopiniu kateteriu
Kiaušintakiai	Pūlinio aspiratas
Genitalijų opos	Sausu ir drėgnu tamponu paimtas opų dugno turinys, aspiratas
Šlaplė	Išskyros, paimtos anglies turinčiu tamponu, kalcio alginatotamponu ar sterilia bakteriologine kilpele
Makštis	Išskyros, imamos tamponu nuo užpakalinio makšties skliauto ar makšties sienelės
Ėminys, susijęs su kontraceptinių priemonių naudojimu	Sekretas ir pūliai

Makšties tepinėlio įvertinimas.

Makšties patologijos diagnostikai labai svarbūs laboratoriniai tyrimai (natyvinių bei dažytų tepinėlių mikroskopinis tyrimas). Makšties uždegimas (vaginitas, kolpitas) yra viena dažniausių priežasčių, dėl kurios moterys kreipiasi į gydytoją ginekologą. Nors vaginitą dažniausiai lemia infekcija, tačiau galimi ir nemikrobiniai veiksniai:

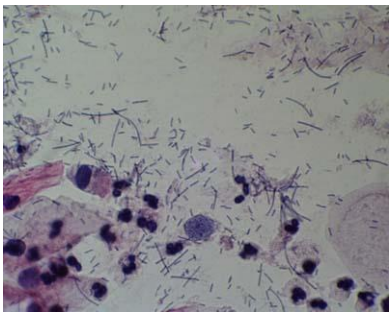
- hormonai,
- antibiotikai,
- imunoglobulinai,
- kontraceptikai,
- detergentai (muilas, vonios aliejai, dušo prausikliai),
- mechaniniai dirgikliai.

Dažniausiai pasitaiko infekcinės kilmės makšties uždegimai – kandidozė, bakterinė vaginozė, trichomonozė. Be minėtų patologijų laboratoriškai nustatomi gonorėjos, aktinomikozės sukėlėjai ir kt. Ruošiami ne mažiau kaip du ploni makšties turinio tepinėliai, kurie fiksuojami ir dažomi metileno mėliu ar Gramo dažymo būdu.

Mikroskopuojant tepinėlius randama:

1. deskvamavusių, makšties gleivinę dengiančių daugiasluoksnio plokščiojo epitelio ląstelių, kurių kiekis vertinamas balais (0–3). Norma – 1 balas;
2. leukocitų, skaičiuojamų regėjimo lauke. Norma – 0–1 leukocitas regėjimo lauke. Leukocitų labai padaugėja sergant uždegimu;
3. mikrofloros, kuri vertinama balais, nurodoma esamų bakterijų morfologija (lazdelės, kokai) bei nusidažymas Gramo būdu (gramteigiami, gramneigiami). Kokų ir gramneigiamų lazdelių neturėtų būti (kokai rodo makšties uždegimą).

Laktobacilos. Sveikų vaisingo amžiaus moterų 95–98% makšties mikrofloros sudaro saprofitinė mikroflora – pieno rūgšties bakterijos laktobacilos (3 pav.), kurios sintetina vandenilio peroksidą, sudaro rūgščią terpę, stimuliuoja organizmo imuninę sistemą, užtikrina normalų makšties mikrofloros santykį, trukdantį daugintis santykinai patogeninėms bakterijoms.



3 pav. Laktobacilos (Bottone, 2006)

Makšties švarumo rodiklis yra *Bacillus acidophilus vaginalis* (laktobacilos), morfologiškai – ilgos, storos, gramteigiamos lazdelės, kurios auga ir dauginasi pH 4,0–4,7 aplinkoje. Skylant epitelinėse ląstelėse, skaidant glikogeną, sintetinama pieno rūgštis, kuri yra laktobacilų energijos šaltinis. Šioje terpėje kitų mikroorganizmų dauginimasis slopinamas. Laktobacilų norma vertinama 3 balais. Pagal laktobacilų kiekį galima įvertinti makšties švarumo laipsnį (švarumo laipsnio nustatymas neturi praktinės reikšmės).

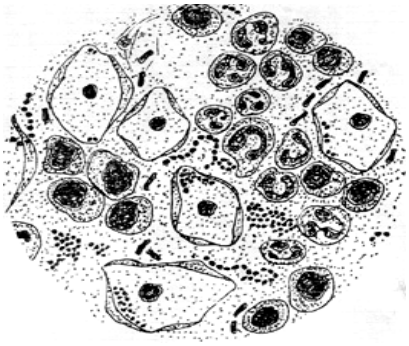
Pirmasis makšties švarumo laipsnis. Normali lytinių takų būklė. Randama laktobacilų, epitelinių ląstelių.

4 pav. Pirmasis makšties švarumo laipsnis (Putramentienė, 2003)

Antrasis makšties švarumo laipsnis. Normali lytinių takų būklė. Randama įvairesnė saprofitinė mikroflora, be laktobacilų yra *Commavariabile* bakterijų, pavienių leukocitų, epitelinių ląstelių.

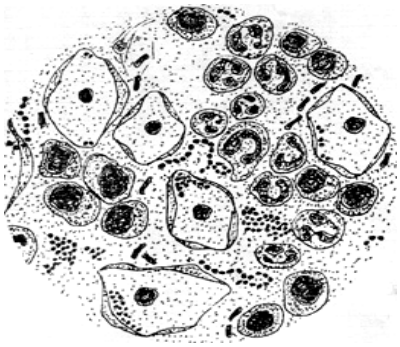
5 pav. Antrasis makšties švarumo laipsnis (Putramentienė, 2003)

Trečiasis makšties švarumo laipsnis.
Patologinė lytinių takų būklė: saprofitinės mikrofloros beveik nėra, daug epitelinių ląstelių, leukocitų, kokinė mikroflora.



6 pav. Trečiasis makšties švarumo laipsnis (Putramentienė, 2003)

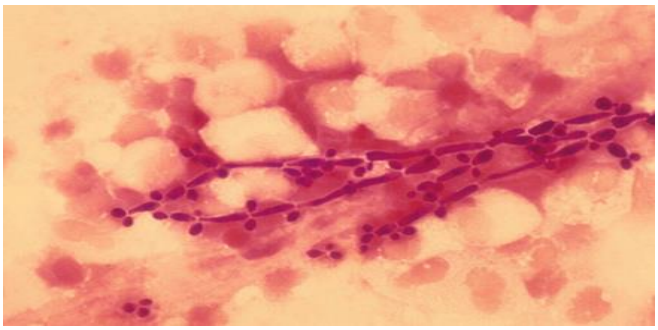
Ketvirtasis makšties švarumo laipsnis. Patologinė lytinių takų būklė: saprofitinės makšties mikrofloros nėra, mažai epitelinių ląstelių, gausu leukocitų, randama sarcinų, streptokokų, trichomonų.



7 pav. Ketvirtasis makšties švarumo laipsnis (Putramentienė, 2003)

Grybeliai. Dažniausiai randami *Candida* genties grybeliai yra *Candida albicans* (8 pav.). Šių grybelių sukeltas uždegimas vadinamas kandidoze, kuriam būdingos baltos, varškės konsistencijos makšties išskyros, niežulys, skausmas lytinės sueities metu. C*andida* spp., kaip normali mikroflora, randama 16–25% sveikų žmonių burnoje, 15% – virškinamajame trakte, 18% – makštyje, nėštumo metu ir vartojant hormoninius kontraceptikus *Candida* makštyje randama iki 30%–40% tiriamųjų. Kandidozės išsivystymą lemia nėštumas, cukrinis diabetas, antibiotikų ir hormoninių kontraceptikų, imunosupresantų vartojimas, gimdos kaklelio

patologija. Kandidozė nepriskiriama lytiškai plintančių infekcijų grupei. Dažytame tiriamosios medžiagos tepinėlyje radus grybelio pseudomicelį galima įtarti *Candida*spp. (8 pav.).



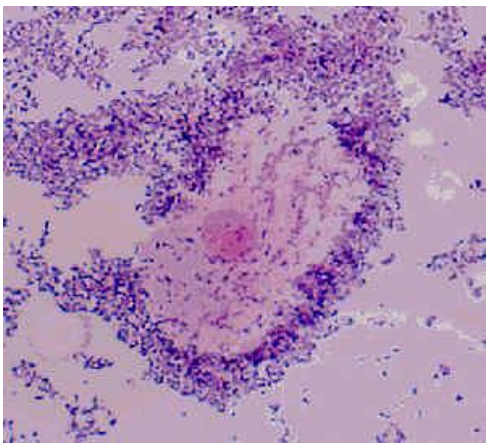
8 pav. Candida grybeliai šlapime (Bottone, 2006)

Gardnerelės. Tai gramteigiamos kokobakterijos, visiškai padengia epitelio ląsteles („indikatorinės ląstelės“). Vertinama – rasta arba nerasta. Normaliai neturi būti. Šios bakterijos siejamos su bakterinės vaginozės išsivystymu. Manoma, kad gardnerelėms nustelbus laktobacilas, pradeda daugintis anaerobinės bakterijos.

Bakterinė vaginozė (terminas pasiūlytas 1984 m.) – labiausiai paplitusi moterų lytinių organų infekcinė patologija, kai normali makšties mikroflora pakeičiama anaerobine mikroflora. Ši patologija nepriskiriama prie lytiškai plintančių ligų. Nespecifinio vaginito klinikinį vaizdą 1955 m. pirmieji aprašė Gardner ir Dukes. Labiausiai tikėtiną šios patologijos sukėlėją jie pavadino *Haemophilus vaginalis*. Vėliau šis mikroorganizmas vieno iš mokslininkų garbei buvo pavadintas *Gardnerella vaginalis* (9 pav.). Bakterinę vaginozę galima apibūdinti kaip bendrą infekcinį neuždegiminį sindromą, susijusį su kokybiniais ir kiekybiniais makšties terpės pokyčiais. Būdinga tai, kad žymiai sumažėja ar visai išnyksta pieno rūgšties bakterijų ir labai padaugėja santykinai patogeninių mikroorganizmų, kurių normaliai nedideliais kiekiais makštyje randama net 20–30 rūšių. Pastebėta, kad daugiau nei pusei moterų, kurioms diagnozuota bakterinė vaginozė, nustatoma žarnyno disbakteriozė. Todėl tikėtina, kad bendras disbiotinis procesas organizme pasireiškia arba genitalijose, arba virškinimo sistemoje.

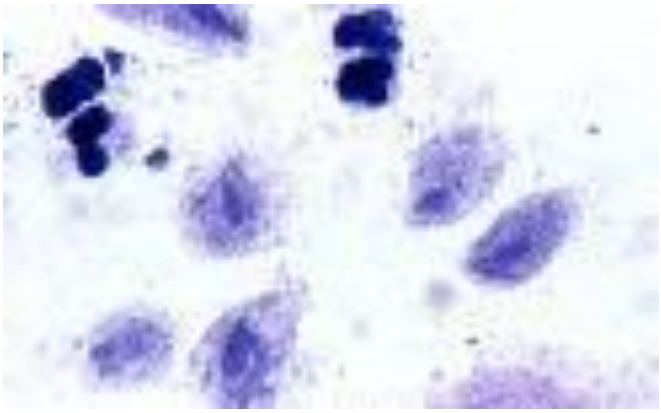
Kai kurių autorių duomenimis, bakterinė vaginozė nustatoma 24% sveikų moterų ir 61% pacienčių su klinikiniais vaginito požymiais. Bakterinė vaginozė 5 kartus didina persileidimų, priešlaikinių gimdymų riziką, lemia infekcines komplikacijas po cezario pjūvio, aborto. Šiai patologijai būdingos gausios nemalonaus kvapo, pilkšvos, skystos išskyros, kurių pagausėja po lytinio akto ar mėnesinių metu. Ligai progresuojant, išskyros įgyja gelsvai žalsvą atspalvį, tampa tirštesnės, kartais – varškės konsistencijos. Dauguma pacienčių skundžiasi niežuliu, diskomfortu lytinių organų srityje, skausmingu šlapinimusi. Tačiau 25% atvejų klinikiniais simptomai nepasireiškia.

Nustačius bakterinę vaginozę, dažnai randama įvairių infekcijų sukėlėjų: chlamidijų, ureaplazmų, žmogaus papilomos virusų. 40% bakterinės vaginozės atvejų nustatoma gimdos kaklelio patologija (erozijos, uždegimas). Bakterinei vaginozei patvirtinti naudojamas lakiųjų aminų testas, t. y. į makšties sekretą įlašinus kalio šarmo, pasklinda stiprus žuvies kvapas.



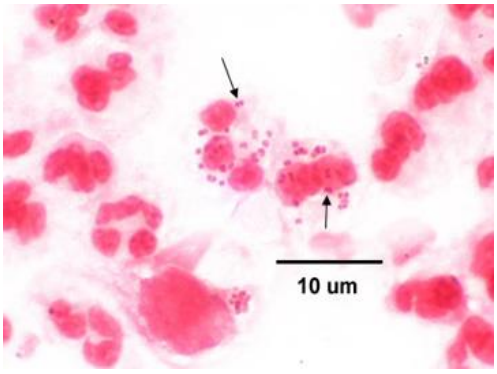
9 pav. Gardnerelės (Bottone, 2006)

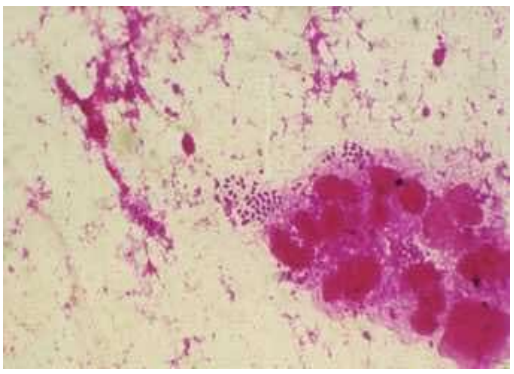
Trichomonos. *Trichomonas vaginalis* (10 pav.) yra vaginito (makšties uždegimo) sukėlėjas, kurį 1936 m. atrado prancūzas A. Done. Tai 18–30 mikronų dydžio pirmuonis, kriaušės, ovalios ar apvalios formos, turintis 4 žiuželius, vakuolizuotą („putotą“) citoplazmą, ekscentriškai išsidėsčiusį avižos grūdo formos branduolį. Trichomonos identifikuojamos natyviniame preparate (juda, matomi žiuželiai) ir metileno mėliu dažytame tepinėlyje (dažosi pilkšvai alyvine spalva). Vertinama – rasta arba nerasta. Sergant trichomoniniu vaginitu, išsiskiria gelsvai žalios, putotos, nemalonaus kvapo išskyros, būdingas skausmingas šlapinimasis ir skausmas lytinio akto metu. Ši liga priklauso lytiškai plintančioms ligoms.



10 pav. Trichomonos (Bottone, 2006)

Gonokokai *(Neisseria gonorrhoeae)* (11 pav.) yra gramneigiami pupelės formos diplokokai, įgaubta puse išsidėstę vienas prieš kitą. Gonokokai yra lytiškai plintančios ligos – gonorėjos – sukėlėjai, 1897 m. atrasti ir aprašyti Neiserio. Ligai būdingos pilkos, o procesui progresuojant, vis gausėjančios žalsvai gelsvos tirštos, pūlingos išskyros.





11 pav. Gonokokai leukocito viduje (Bottone, 2006)

Mikroskopija. Tiriamosios medžiagos tepinėlis dažomas Gramo būdu.

Pirmasis diagnostikos etapas bakterinei vaginozei diagnozuoti yra tepinėlis. Tiriamoji medžiaga skleidžiama plonu sluoksniu ant objektinio stiklelio atsargiais sukamaisiais, o ne tepamaisiais judesiais. Paruoštas tepinėlis dažomas Gramo būdu ir mikroskopuojamas: padidinus 400 kartų, nustatomas leukocitų bei plokščio epitelio ląstelių kiekis, o 1000 kartų didinimas padeda įvertinti „indikatorinių" epitelio ląstelių buvimą ir bakterijų morfologiją. Jei tepinėlyje rasta:

1. ≥10 leukocitų regėjimo lauke, gali būti trichomoninis vaginitas arba cervicitas;
2. ≤5 leukocitai regėjimo lauke – bakterinė vaginozė.

Sveikų moterų makšties išskyrų tepinėlyje paprastai randamos tik gramteigiamos lazdelės (laktobakterijos, nedaug mišrios mikrofloros). Tipiniais bakterinės vaginozės atvejais tepinėlyje randama „indikatorinių" epitelio ląstelių, vyrauja *Gardnerella vaginalis*, gramneigiamos fuzobakterijos ir gramteigiami kokai, olaktobakterijų (stambių gramteigiamų lazdelių) dažniausiai nebūna. Endocervikalinių išskyrų Gramo būdu dažyto tepinėlio mikroskopija padeda nustatyti gramneigiamus intraceliuliarinius diplokokus. Mikroskopijos jautrumas, diagnozuojant gonorėją, yra 50–70%, o specifiškumas – 50–90%, todėl diagnostinė šių tepinėlių reikšmė nėra reikšminga.

Tepinėlyje radus gramneigiamų intraceliuliarinių diplokokų, juos reikia taip ir įvardinti, nevartojant pavadinimo *Neisseria gonorrhoeae* arba gonokokai. Svarbu vengti neteisingos tepinėlio mikroskopijos interpretacijos, nes dažnai juose gali būti gramneigiamų kokobakterijų ir/ar bipoliariai nusidažiusių lazdelių.

Tiriamosios medžiagos iš urogenitalinės sistemos pasėliai.

Tiriamoji medžiaga sėjama į:

1. 5% kraujo agarą,
2. šokoladinį agarą,
3. MacConkey agarą,
4. Selektyvinę gonokokų terpę.

Punktatai papildomai sėjami į:

1. anaerobinį agarą,
2. tioglikolio terpę.

Kultivuojama 35 °C temperatūroje. Augimas vertinamas po 24 val. ir po 48 val. inkubacijos. Jei pasėlis neauga, gonokokinė terpė 72 val. reinkubuojama CO_2 ir drėgnoje atmosferoje, kiekvieną dieną tikrinant augimą. Po 24 val. inkubacijos, gonokokų kolonijos išauga iki 0,5–1,0 mm diametro, tampa nepermatomos, išgaubtos, blizgančios. Ilgiau inkubuojant galima pamatyti skirtingo dydžio ir morfologijos kolonijas. *Neisseria gonorrhoeae* sintetina oksidazę ir katalazę. Neiserijų fermentinis aktyvumas nurodytas 3 lentelėje.

3 lentelė. Angliavandenių hidrolizė neiserijomis

	Gliukozė	**Laktozė**	**Maltozė**	**Sacharozė**
Neisseria gonorrhoeae	+	-	-	-
Neisseria meningitidis	+	-	+	-
Neisseria lactamicus	+	+	+	-

Sukėlėjus patvirtinantys testai:

1. angliavandenių skaidymas,
2. greiti angliavandenių skaidymo testai,
3. komerciniai angliavandenių skaidymo testai (API),
4. chromogeninės fermentų substratų sistemos,
5. imunologiniai testai.

Papildomi identifikavimo testai reikalingi, kai:

1. išskirta bakterijų kultūra silpnai ar abejotinai reaguoja koagliutinacijos testuose;
2. bakterijos išauginamos asmenims, priklausantiems nedidelei ligos rizikos grupei;
3. bakterijos išaugintos iš bet kurios lokalizacijos tiriamosios medžiagos, paimtos iš vaikų, patyrusių seksualinę prievartą.

Bakterinių vaginozių nustatymas. Bakterinės vaginozės (BV), anksčiau žinomos kaip nespecifiniai vaginitai, dažnai būna dvokiančių makšties išskyrų priežastis. BV atsiranda pakitus normaliai makšties mikroflorai: stipriai padidėjus *Gardnerella vaginalis* ir įvairių obligatinių anaerobų skaičiui arba sumažėjus makšties *Lactobacterium* spp. ir pakitus makšties pH>4,5.

Klinikinė BV diagnozė remiasi makšties išskyrų tyrimu. Bet kurie trys iš pateiktų keturių požymių įrodo BV:

1. Išskyrų pH didesnis nei 4,5 (matuoti indikatoriniais popierėliais).
2. Ant makšties išskyrų užlašinus 10% KOH, susidaro aminas, todėl jaučiamas įvairaus intensyvumo žuvies kvapas.
3. Skystos homogeniškos išskyros dengia makšties sienelę.
4. Tepinėlyje randama specifinių „indikatorinių" epitelio ląstelių.

Kadangi *Gardnerella vaginalis* randamas apie 50–80% sveikų moterų organizme, todėl makšties bakteriologinį tyrimą atlikti yra netikslinga.

Rezultatų vertinimas. Teisingai įvertinti augimo rezultatus labai sudėtinga, nes dažniausiai gausiai auga kelių rūšių mikroorganizmai ir normali mikroflora. Kiekvienu konkrečiu atveju įvertinami visi duomenys: pirminė medžiagos mikroskopija, diagnozė, anamnezė, pasėlių augimo rezultatai.

Analizuojant tyrimo rezultatus, reikia:

1. Palyginti išaugusias bakterijas ir jų kiekį su pirminiais Gramo tepinėlio mikroskopijos duomenimis. Atkreipti dėmesį į plokščio epitelio ląstelių ir leukocitų – polimorfonuklearų – kiekį. Įvertinti galimą išaugusią bakterijų svarbą esamoje situacijoje.
2. Atsakyme pažymėti normalios mikrofloros buvimą ar nebuvimą.
3. Įvertinti ir pranešti apie galimų infekcijos sukėlėjų buvimą ir, jei jų yra, identifikuoti.
4. Pranešti, jei *Neisseria gonorrhoeae* neišsiskyrė, o tiriamoji medžiaga buvo paimta teisingai ir bakteriologiškai ištirta.

Jei po dviejų parų bakterijos neišaugo, būtina tai pranešti.

Vertinimas. Vaisiaus vandenis bakteriologiniam tyrimui paėmus pagal reikalavimus aseptinėmis sąlygomis, išaugintos bakterijos laikomos infekcijos sukėlėjais. Jei iš gimdos kaklelio paimtos tiriamosios medžiagos pasėlio auga mišri mikroflora, o Gramo tepinėlyje nerasta leukocitų ir epitelių ląstelių, galima manyti, kad tiriamoji medžiaga buvo užteršta makšties mikroflora, todėl reikia:

- aprašyti išaugusius mikroorganizmus ir jų morfologiją;
- tiriamojoje medžiagoje, paimtoje iš nėščiųjų ir gimdyvių, reikia nustatyti, ar yra *Streptococcus agalactiae*.

Makšties bakteriologinis tyrimas. Bakterijų augimą mitybinėse terpėse reikia lyginti su tepinėlio, dažyto Gramo būdu, duomenimis:

1. Įvairių mikroorganizmų, taip pat *Gardnerella vaginalis*, augimas pasėlyje, kai Gramo būdu dažytame tepinėlyje nėra leukocitų, bet yra plokščio epitelio ląstelių, vertinamas kaip normali makšties mikroflora.
2. Įvertinamas *Candida* spp. augimas.
3. Įvertinamas *Listeria monocytogenes* ir *Streptococcus agalactiae* augimas naujagimių infekcijų atvejais ir nėščioms moterims.
4. Įvertinamas *Actynomicetis* spp. tyrimas kontraceptines priemones naudojančioms moterims.
5. Įvertinamas *Neisseria gonorrhoeae* tyrimas.
6. Įvertinamas *Gardnerella vaginalis* tyrimas esant makšties pūliniams.
7. Įvertinamas vienos rūšies mikroorganizmų augimas, jei yra ryšys su mikroskopijos rezultatais.
8. *Staphylococcus aureus* tiriamas (gali būti kaip normali makšties mikroflora), kai:
    - yra makšties didžiųjų arba mažųjų lūpų pūliniai ar eksudatas iš žaizdos,
    - pirminiame tepinėlyje rasta leukocitų,
    - *Staphylococcus aureus* auga grynoje kultūroje,
    - kliniškai nustatytas toksinio šoko sindromas.

Moterų šlaplės bakteriologinis tyrimas.

1. Jei pasėlyje auga mišri aerobinė mikroflora, priklausanti odos, žarnyno ar makšties mikroflorai, o Gramo būdu dažytame tepinėlyje leukocitų nerasta, vertinama kaip kontaminacija. Mikroorganizmai aprašomi kiekybiškai.
2. Būtina pranešti apie *Neisseria gonorrhoeae* nustatymą, jei gonokokai išskirti ir identifikuoti bet kokiame mišrios ar grynos kultūros kiekyje.
3. Būtina pranešti apie *Escherichiae coli* nustatymą, jei šios bakterijos išskirtos ir identifikuotos mišrioje kultūroje, o Gramo būdu dažytame tepinėlyje yra leukocitų.
4. Būtina pranešti apie *Chlamydia trachomatis* nustatymą, jei šios bakterijos išskirtos ir identifikuotos tiriamojoje medžiagoje.

Genitalijų opelių bakteriologinis tyrimas.

1. Odos, makšties ar šlaplės normalios mikrofloros buvimas rodo kontaminaciją.
2. Būtina pranešti apie *Neisseria gonorrhoeae, Candida* spp., *Haemophilus ducreyi* nustatymą, jei šie mikroorganizmai išskirti ir identifikuoti tiriamojoje medžiagoje.

3. Pranešti apie *Staphylococcus aureus* ir *Streptococcus pyogenes* nustatymą, jei šie mikroorganizmai išskirti ir identifikuoti tiriamojoje medžiagoje.
4. Pranešti apie *Herpes simplex* virusą, *Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum* nustatymą, jei šie mikroorganizmai išskirti ir identifikuoti tiriamojoje medžiagoje.

Salpingitų, kiaušintakių ir dubens uždegiminių procesų bakteriologinis tyrimas.

1. Reikia įvertinti kiekybiškai ir identifikuoti kaip reikšmingus normalios mikrofloros ir patogeninius mikroorganizmus (išskyrus grynoje kultūroje): *Enterecoccus*spp., *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* (jei moteris naudoja kontraceptines priemones), *Streptococcus agalactiae* ir kitus streptokokus, *Escherichiae coli, Haemophilus influenzae, Gardnerella vaginalis,* HHV5 herpetinius virusus.
2. Esant poreikiui, tiriamojoje medžiagoje nustatoma *Neisseria gonorrhoeae*.
3. Esant poreikiui, tiriamojoje medžiagoje nustatomos anaerobinės bakterijos.
4. Retai, esant poreikiui, tiriamojoje medžiagoje nustatomi *Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Campylobacterfetus.*
5. Esant poreikiui, tiriamojoje medžiagoje nustatoma *Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis.*

Pranešimas apie teigiamą tyrimo rezultatą. Atsakymas rašomas identifikavus iš tiriamosios medžiagos išskirtus mikroorganizmus ir nustačius jų atsparumą antibiotikams.

Pranešimas apie neigiamą tyrimo rezultatą. Atsakymas rašomas po 2 parų, o jei buvo naudota gausinimo terpė, po 5 parų.

Kontroliniai klausimai:

1. Iš kokių urogenitalinių sistemos vietų yra imama ginekologinė medžiaga?
2. Kokie yra ginekologinių tepinėlių tyrimo tikslai?
3. Kokie reikalavimai keliami ginekologinių tepinėlių paruošimui?
4. Kokie yra makšties švarumo laipsniai?
5. Kas yra bakterinė vaginozė ir kada ja susergama?
6. Kokie faktoriai sukelia makšties mikrofloros pakitimus?
7. Kas sudaro makšties mikroflorą?
8. Kaip apibūdinama pastovioji ir tranzitinė makšties mikroflora?
9. Kas yra laktobacilos ir kokia jų praktinė reikšmė?

5. INFEKCIJOS SUKĖLĖJŲ ATSPARUMO ANTIBIOTIKAMS NUSTATYMAS. ANTIBIOGRAMA, VERTINIMAS IR PRAKTINĖ REIKŠMĖ

Tikslas – susipažinti su mikroorganizmų atsparumo antibiotikams nustatymo metodais ir vertinimu.

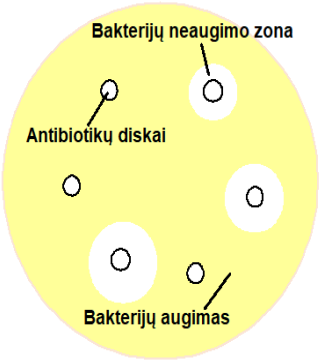
Komentaras. Atsparumas antibiotikams turi būti nustatomas tiksliais ir lengvai pakartojamais metodais, kurių rezultatai būtų tiesiogiai pritaikomi klinikinėje situacijoje. PSO rekomenduoja mikroorganizmų atsparumą antimikrobinėms medžiagoms nustatyti Kirbio-Bauerio (Kirby-Bauer, 1966) modifikuotu diskų metodu, kuriam reikalavimus 1976 m. nustatė PSO. Šis metodas gali būti rekomenduojamas gydymo ir sveikatos priežiūros tikslams atsižvelgiant į jo techninį paprastumą ir pakartojimo galimybę. Šis metodas tinka daugumai bakterijų, išskyrus griežtus anaerobus, padeda nustatyti bakterijų atsparumą antibiotikams, parinkti tinkamus antibiotikus ir jų dozes, skiriant efektyviausią antimikrobinį gydymą. Mikrobiologijos laboratorijose in vitro nustatomas mikroorganizmų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms. Antibiogramos (antibiograma – išskirto infekcijos sukėlėjo nustatytas atsparumas antibiotikams), apibūdinančios tam tikros mikroorganizmų padermės atsparumą tam tikram antibiotikui, gaunamos in vitro tam tikrais metodais. Antimikrobinis atsparumas antibiotikams nustatomas difuzijos į agarą ir praskiedimo metodais. Lėtai augančių bakterijų, pvz., mikobakterijų, testai trunka kur kas ilgiau, o grybų, virusų ir pirmuonių atsparumo antimikrobinėms medžiagoms nustatymo testai ne visada yra įmanomi. Beveik visi ligoniai, sergantys ūmine infekcija, pradedami gydyti dar negavus atsakymo iš mikrobiologijos laboratorijos. Dažniausiai mikrobiologijos laboratorijos pateikti antimikrobinio atsparumo tyrimo rezultatai (antibiograma) koreguoja antimikrobinę terapiją.

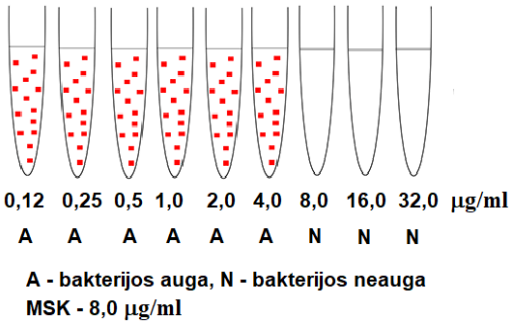
Difuzijos į agarą [Kirbio-Bauerio (Kirby-Bauer)] metodas(kokybinis). Tam tikras bakterijų kiekis sėjamas į standžiąją terpę (Miulerio-Hintono agarą) Petri lėkštelėje (12 pav.). Popieriniai diskai, impregnuoti antibiotikais, yra dedami ant agaro paviršiaus, kuriame pasėti testuojami mikroorganizmai. Antibiotiko koncentracijos gradientas formuojamas difuzijos iš disko į agarą ir stabdo testuojamų mikroorganizmų augimą nuo disko atstumu, kuris, tarp kitų veiksnių, yra susijęs ir su mikroorganizmų atsparumu. Petri lėkštelės inkubuojamos tinkamomis tiriamiesiems mikroorganizmams kultivuoti sąlygomis. Po inkubacinio periodo nustatomas mikroorganizmų jautrumas arba atsparumas, matuojant mikroorganizmų augimo slopinimo zonos skersmenį apie diską, kuriame buvo stabdomas mikroorganizmų augimas. Iš

specialių lentelių nustatomas tiriamųjų mikroorganizmų atsparumo antibiotikams laipsnis. Vertinimas – jautrūs, vidutiniškai jautrūs, atsparūs.

Praskiedimo metodas (kiekybinis). Tai kiekybinis antibiotikų aktyvumo prieš infekcijų sukėlėjus vertinimas (13 pav.).Atsparumas antibiotikams nustatomas serijinių skiedimų metodu skystojoje (Miulerio-Hintono buljone) ar standžiojoje (Miulerio-Hintono agare) mitybinėje terpėje, ar E testu. Nustatoma MSK (µg/ml) – mažiausia antimikrobinės medžiagos koncentracija, slopinanti tiriamų mikroorganizmų augimą. Į mėgintuvėlius supilstomos nuosekliai dvigubai mažėjant ar didėjant skirtingos antibiotiko koncentracijos. Po to į kiekvieną mėgintuvėlį tam tikru kiekiu ir tam tikra koncentracija sėjama tiriamoji infekcijos sukėlėjo kultūra. Duomenys vertinami po reikiamos trukmės inkubacijos termostate. Jei terpė mėgintuvėlyje lieka skaidri, bakterijos laikomos jautriomis šiame mėgintuvėlyje esančiai antibiotiko koncentracijai. Pirmoji didžiausia antibiotiko koncentracija mėgintuvėlyje, kurioje akimis nenustatomas tiriamųjų bakterijų dauginimasis, laikoma MSK.

E testas – tai specialios, komercinės, tam tikro filtravimo popieriaus juostelės, kuriose antibiotiko kiekis nuosaikiai mažėja pagal išilginę juostelės ašį (14 pav.). Po tiriamųjų mikroorganizmų pasėlių inkubacijos tinkamomis jų dauginimosi sąlygomis, matoma jų dauginimosi elipsoidinės išvaizdos slopinamoji sritis. Vieta, kur nėra tiriamųjų mikroorganizmų dauginimosi, ir yra tiriamųjų mikroorganizmų atitinkamo antibiotiko MSK.





12 pav. Atsparumo antibiotikams nustatymas diskų metodu (Pavilonis, 2000)

13 pav. Atsparumo antibiotikams nustatymas serijinių skiedimų metodu skystojoje terpėje (Pavilonis, 2000)

14 pav. E testas (Pavilonis, 2000)

Paskutiniais metais didelė dalis mikroorganizmų tapo atsparūs antibiotikams dėl neteisingo antibiotikų naudojimo. Ši problema reikalauja ypatingo dėmesio, skubių ir griežtų veiksmų. Siekiant išvengti dar didesnio mikrobų atsparumo vystymosi, būtina turėti veiksmingų rezervinių antibiotikų. Reikėtų įgyvendinti privalomas racionalaus antibiotikų

vartojimo rekomendacijas, sanitarinės ligoninės priežiūros taisykles, reguliariai tirti mikroorganizmų atsparumą antimikrobinėms medžiagoms, sudaryti antibiotikų sąrašus, kurių skyrimas dabartinėje epidemiologijos situacijoje yra neteisingas. Neracionalus antimikrobinių medžiagų vartojimas infekcijoms gydyti didina materialiąsias išlaidas ir galima tikėtis didėjančio mirštamumo nuo minėtų infekcijų.

Priemonės ir medžiagos:

- bakterijų kultūros,
- mitybinė terpė (Miulerio-Hintono agaras),
- antibiotikų diskai,
- etaloninės (standartinės) mikroorganizmų kultūros (*Staphylococcus aureusATCC 25923, Esherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853),
- dispenseris,
- pincetas,
- spiritinė lemputė,
- dezinfektantai,
- 0,5 Mc Farlando standartinė drumstumo suspensija,
- liniuotė.

Darbo eiga.

Išskyrus bakterijų grynąją kultūrą, atrenkamos 3–5 atskiros kolonijos ir perkeliamos į mėgintuvėlį su steriliu fiziologiniu tirpalu. Tiriamos bakterijos suspensijos drumstumas lyginamas su 0,5 Mc Farlando standartu, jeigu reikia, į mėgintuvėlį pridedama bakterijų arba įpilama sterilaus fiziologinio tirpalo. Po to tamponas nardinamas į bakterijų suspensiją, o sėjamosios medžiagos perteklius šalinamas tvirtai spaudžiant ir sukant tamponą prie mėgintuvėlio vidinio paviršiaus virš suspensijos. Tyrimo rezultatų tikslumą lemia reikiamas bakterijų tankis agaro paviršiuje. Esant mažai bakterijų koncentracijai suspensijoje slopinančiosios zonos skersmuo yra didesnis, nors bakterijos jautrumas nėra pakitęs. Dėl to atsparios padermės gali būti palaikytos jautriomis. Atvirkščiai, jei sėjamoji medžiaga bus per daug tiršta, zonos bus sumažėjusios ir jautrios padermės gali būti palaikytos atspariomis. Sukant sudrėkintą tamponą, bakterijos tolygiai skleidžiamos po agaro paviršių. Petri lėkštelė uždengiama dangteliu ir paliekama džiūti kelias minutes laikant ją kambario temperatūroje. Lėkšteles su pasėta tiriamąja bakterijų paderme palikus kambario temperatūroje ilgesniam nei standartiniam laikui, gali pradėti daugintis tiriamosios bakterijos dar prieš uždedant diskus. Tai sukelia zonos skersmens sumažėjimą, todėl jautrios padermės gali būti palaikytos atspariomis. Sėjama ištisiniu būdu ant Muller-Hinton agaro paviršiaus, kad būtų užtikrintas

tolygus bakterijų pasiskirstymas. Prieš dedant diskus, nevėliau kaip 15 min nuo pasėlio atlikimo, lėkštelė 3–5 min paliekama atidengta, kad nebūtų drėgmės pertekliaus. Paskutiniais metais naudojamas specialus antibiotikų diskų uždėjimo prietaisas, kuriuo galima uždėti diskus antlėkštelės agaro paviršiaus, kuriame pasėta tiriamoji bakterijų kultūra. Ant 9–10 cm skersmens lėkštės daugiausia galima uždėti 7 diskus. 6 diskai gali būti uždėti ratu apie 15 mm atstumu nuo krašto. Likęs 7-asis diskas dedamas lėkštelės viduryje. Norint garantuoti kiekvieno disko kontaktą su terpe, reikia diską atsargiai prispausti prie agaro paviršiaus. Lėkštelės laikomos apie 30 min kambario temperatūroje ir dedamos į termostatą, kur inkubuojama 16–18 val. Aukštesnė nei 35°C temperatūra iškreipia atsparumo oksacilinui/meticilinui rezultatus. Negalima inkubuoti anglies dioksido aplinkoje. Kitą dieną po auginimo matuojamas kiekvienos zonos skersmuo (įskaitant ir disko skersmenį) milimetrais. Matuojama liniuote ant lėkštelės paviršiaus jos neatidarant. Esant neskaidriai terpei, matavimai gali būti atliekami skriestuvu. Atsparumo antibiotikams rezultatai vertinami pagal NCCLS ar EARSS vertinimo kriterijus. Rezultatai surašomi į tam tikrą tyrimo rezultatų vertinimo lapą.

1. Užduotis.

1. Diskų metodu nustatyti X bakterijų kultūros antibiotikogramą.
2. Gautus duomenis surašyti į 4 lentelę.

4 lentelė. X bakterijų kultūrų atsparumo antibiotikams tyrimo duomenys

Bakterijų kultūra	**Antibiotikai**	**Neaugimo zonos skersmuo, mm**	**Vertinimas**		
			Jautrūs	**Vidutiniškai jautrūs**	**Atsparūs**
1.					
2.					
3.					
Išvada					

Vertinimas.

1. Bakterijų augimo inhibicijos zona vertinama po 16–18 val. inkubacijos;
2. Zonos matuojamos slankmačiu ar liniuote apvalinant iki milimetro. Petri lėkštelė laikoma virš juodo, šviesos neatspindinčio pagrindo;
3. Rezultatai įrašomi į specialią tyrimo rezultatų lentelę.

Kontroliniai klausimai

1. Kokiais metodais galima nustatyti mikroorganizmų atsparumą antibiotikams?
2. Kas skatina atsparių antibiotikams mikroorganizmų atsiradimą?
3. Nurodykite antibiogramų vertinimo kriterijus.

6. APLINKOS VEIKSNIŲ POVEIKIS MIKROORGANIZMAMS

Praktinėje mikrobiologijoje, medicinoje ir chirurgijoje plačiai taikomos procedūros, naikinančios mikroorganizmus. Mikrobiologijos laboratorijų darbas su grynosiomis mikroorganizmų kultūromis reikalauja naudoti sterilius aparatus ir mitybines terpes. Be to, siekiant neužkrėsti ligonių, privaloma naudoti įrangą, instrumentus, aprangą ir parenteralinius vaistus, kuriuose nėra gyvybingų mikroorganizmų ar bent jau tokių, kurie gali sukelti infekciją.

Vartojamos kelios sąvokos, apibūdinančios mikroorganizmų naikinimo ir pašalinimo procesus. Labai svarbu suprasti jų skirtumus.

Sterilizacija – procesas, kurio metu sunaikinami visi mikroorganizmai ir jų sporos.

Dezinfekcija – procesas, mažinantis mikroorganizmų (ypač galinčių sukelti infekcinį procesą) skaičių iki tokio, kuris nebūtų žalingas žmogaus sveikatai. Sporos ir sąlygiškai atsparūs mikroorganizmai gali išlikti gyvybingi.

Antiseptika – potencialių infekcijų sukėlėjų odoje bei gleivinėse sunaikinamas.

Valymas – purvo valymo procesas, kurio metu kartu pašalinama daug mikroorganizmų. Nors užkrato sumažėjimą valant galima įvertinti tik vizualiai, vis dėlto šis metodas plačiai taikomas ligoninėse. Valymas yra būtina sterilizacijos ir dezinfekcijos sąlyga.

Dezaktyvacija (nukenksminimas) – bendrinė sąvoka, reiškianti saugų gydymo įrangos naudojimą (įskaitant mikrobiologinį, cheminį, radioaktyvųjį ir kitokį užteršimą).

6.1. Dezinfekcija. Instrumentų paruošimas

Tikslas – supažindinti sudezinfekcijos, antiseptikos sąvokomis ir jų pritaikymu praktikinėje veikloje (HN47-1:2012 „Sveikatos priežiūros įstaigos. Infekcijų kontrolės reikalavimai“).

Komentaras. Dezinfekcija – visų patogeninių bei dalies saprofitinių mikroorganizmų pašalinimas nuo objektų, esančių žmogaus aplinkoje, paviršių. Efektyvi prieš tam tikrus virusus, vegetacines bakterijas ir grybus, bet ne bakterijų sporas. Dezinfekcija taikoma tokiomis sąlygomis, kai sterilizacija yra nebūtina arba sterilizacijos procedūros yra nepraktiškos. Taigi, jei nėra įrodomas šio proceso klinikinis reikalingumas, yra neekonomiška sterilizuoti lovas, unitazus, valgymo indus ir įrankius, paklodes arba užvalkalus ir kitus kasdienio vartojimo daiktus, kurie gali išplatinti infekcijos sukėlėjus ligoninėje. Be to, patogenai, įskaitant ir tuos, kurie sudaro sporas, retai randami ant tokių daiktų. Deja,

dezinfekcijos ir sterilizacijos sąvokos dažnai painiojamos ir dėl to kyla daug neaiškumų. Dezinfekcija skirstoma į aukščiausio, vidutinio ir žemiausio lygio. Aukščiausio lygio dezinfekcija efektyvumu gali prilygti sterilizacijai, nes gali sunaikinti ir kai kurias sporas. Po žemiausio lygio sterilizacijos gali išlikti ir vegetacinės mikrobų formos. Dezinfekcijos efektyvumas priklauso ir nuo dezinfekuojamosios substancijos, naikinamo mikroorganizmo arba mikroorganizmų skaičiaus ir jų atsparumo, teršalo – organinės medžiagos (kuri gali inaktyvinti dezinfekuojamąją medžiagą) kiekio, dezinfektanto tipo ir koncentracijos, procedūros trukmės, temperatūros ir kt.

Dezinfekcijos metodų parinkimas priklauso nuo:

- veikiamo daikto prigimties,
- galimo mikrobinio užterštumo,
- rizikos perduoti infekciją pacientams ar personalui kontaktuojant su daiktu.

Cheminėms dezinfekcinėms medžiagoms keliami šie reikalavimai:

- geras mikrobocidinis veikimas,
- greitas, ekologiškai švarus ir nekenksmingas veikimo efektas,
- ilga tirpalo veiksmingumo trukmė,
- nekenksmingos dezinfekuojančiam objektui,
- efektyvumas net ir biologinių skysčių aplinkoje,
- nekenksmingos ligoniui ir personalui.

Dezinfekcijos kokybė priklauso nuo:

- gero sąlyčio su mikrobine ląstele,
- dezinfektanto savybių ir jo tirpalų patvarumo,
- infekcijos sukėlėjų skaičiaus ir jų atsparumo dezinfekuojamosioms medžiagoms,
- dezinfekuojamų objektų paviršių užterštumo organinėmis medžiagos (jos inaktyvina dezinfektantą),
- dezinfektanto tipo ir koncentracijos,
- procedūros trukmės,
- dezinfekuojamojo tirpalo ir aplinkos temperatūros bei tirpalo pH.

Dezinfekuojamųjų medžiagų poveikis bakterinei ląstelei:

1. Bakterinės ląstelės baltymus denatūruojančios (koaguliuojančios) cheminės medžiagos: fenolis, lizolis, sunkių metalų druskos, spiritai, rūgštys.
2. Bakterinės ląstelės baltymus veikia tirpdančios cheminės medžiagos: šarmai, muilai.

3. Bakterinės ląstelės baltymus rūgštinančios medžiagos: vandenilio peroksidas, kalio permanganatas.
4. Bakterinės ląstelės sienelę ardančios medžiagos: muilai, detergentai.
5. Aminorūgščių sintezę bakterinėje ląstelėje blokuojančios medžiagos yra formaldehidai.

Dezinfekcija skirstoma:

1. Aukščiausio lygio dezinfekcija. Dažniausiai taikoma operacinėse naudojamiems įrankiams, kurių negalima sterilizuoti (endoskopai, chirurginiai įrankiai su plastiku ir kt.). Prietaisų dezinfekcija yra efektyviausia, nes nuvalomi ir mikroorganizmai. Ši dezinfekcija taikoma apdorojant sporocidiniais tirpalais tuos prietaisus ar instrumentus, kurių sterilizacijos režimas nepatvarus. Naudojamas drėgnas karštis ir gliutaroaldehido, vandenilio peroksido, peracto rūgšties, chloro dioksido ir kiti chloro turintys junginiai.

2. Vidurinio lygio dezinfekcija. Daugelio bakterijų, išskyrus sporas, tuberkuliozės mikobakterijų, virusų, grybelių sunaikinimas aplinkoje cheminėmis priemonėmis. Naudojamas alkoholis, jodoformas, fenolinio turintys junginiai. Dezinfekuojami baldų ar įrankių paviršiai, kai bakterijų kontaminacijos laipsnis skirtingas. Dezinfekuojami lankstūs ar/ir jautrūs karščiui bei tam tikroms cheminėms medžiagoms įrankiai (pvz., fibrooptiniai endoskopai, laringoskopai ir kt.).

3. Žemiausio lygio dezinfekcijaveikia tik vegetatyvines bakterijų formas, grybelius ir didžiuosius virusus. Naudojami ketvirtiniai amonio junginiai. Dezinfekuojami paprastoms procedūroms atlikti būtini įrankiai, kaip elektrokardiografų elektrodai ar stetoskopai.

Instrumentų paruošimas sterilizacijai. Medicinos prietaisai, instrumentai dezinfekuojami rankiniu būdu ar ultragarsiniame valytuve, ar mechanizuotai, naudojant pusautomates dezinfekavimo sistemas ar automatinius dezinfekavimo plautuvus (žr. HN47-1:2012 XII-XIII).

Instrumentų dezinfekcijos rankiniu būdu etapai:

1. Nukenksminimas ar dezinfekcija. Tikslas – sunaikinti infekcinių ligų sukėlėjus instrumentų paviršiuje. Atliekant nukenksminimą, reikia atsižvelgti, ar instrumentai užteršti krauju, ar be kraujo. Instrumentai užteršti krauju yra dezinfekuojami aukštos koncentracijos dezinfekciniu tirpalu su pailginta ekspozicija (žr. dezinfekcinio tirpalo instrukciją).
2. Ikisterilizacinis paruošimas. Tikslas – pašalinti mechaninę taršą. Po nukenksminimo instrumentai plaunami tame pačiame naujai paruoštame dezinfekciniame tirpale (rankiniu ar mechaniniu būdu), skalaujami tekančiu vandeniu, džiovinami, rūšiuojami ir pakuojami.

Pastaba. Vienkartinio naudojimo instrumentų ir medicininių atliekų tvarkymo saugos reikalavimus reglamentuoja Lietuvos higienos norma HN 66:2013 (žr.HN). Vienkartiniai instrumentai nukenksminami ir utilizuojami. Nukenksminami HAZ-TABS 0,25% tirpalu (į 1l vandens dedama 1 tabletė), ekspozicijos trukmė – 2 val.

Darbo aprašymas.

Priemonės:

- dezinfekuojamieji tirpalai,
- kolbos, matuokliai,
- pirštinės.

Studentai susipažįsta su dezinfekuojamųjų medžiagų vartojimo instrukcijomis, ruošia įvairių koncentracijų darbinius dezinfektantų tirpalus.

Užduotys:

1 užduotis. Paruošti 2 litrus 0,5% koncentracijos Trigene tirpalo. Trigene pagrindinis yra koncentruotas tirpalas. Pagal pateiktas formules apskaičiuokite, kiek reikės ml Trigene koncentrato ir kiek ml vandens?

0,5 ml - 100 ml

x ml - 2000 ml

$$x_1 = \frac{0{,}5 * 2000}{100} = 10 \text{ ml (Trigene koncentrato)}$$

$$x_2 = 2000 \text{ ml} - 10 \text{ ml} = 1990 \text{ ml } (H_2O)$$

2 užduotis. Paruošti 3 litrus 6% vandenilio peroksido tirpalo. Pagrindinį tirpalą sudaro 37% koncentracijos perhidrolis.

$$x_{1\ \text{perhidrolio kiekis}} = \frac{6 * 3000}{37} = 486{,}5 \text{ ml}$$

$$x_{2\ \text{vandens kiekis}} = 3000 \text{ ml} - 486{,}5 \text{ ml} = 2513{,}5 \text{ ml}$$

Darbo su dezinfekciniais tirpalais saugos taisyklės:

1. Naudoti tik normatyviniuose dokumentuose nurodytos koncentracijos tirpalus.
2. Laikytis normatyviniuose dokumentuose nurodytų darbo saugos taisyklių dirbant su dezinfekciniais tirpalais.
3. Gerai vėdinti patalpas.
4. Dezinfekciniai tirpalai laikomi sandariai uždarytose talpose.
5. Ant dezinfekcinių tirpalų talpų turi būti užrašyta tirpalo koncentracija ir jo pagamino data, laikas.

6. Patekus dezinfekciniam tirpalui ant odos ar gleivinės, reikia elgtis kaip nurodyta HN.

Užduotys – pagaminti tinkamos koncentracijos reikiamus dezinfekuojamuosius tirpalus paviršių ir instrumentų dezinfekcijai esant skirtingai mikrobinei taršai:

- paviršiai užteršti gramteigiamomis ir gramneigiamomis bakterijomis,
- paviršiai užteršti grybeliais,
- paviršiai užteršti virusais,
- instrumentai užteršti krauju,
- instrumentai neužteršti krauju,
- vienkartiniai instrumentai.

Kontroliniai klausimai

1. Apibūdinkite dezinfekciją.
2. Kokie reikalavimai keliami dezinfekcijai naudojamoms cheminėms medžiagoms?
3. Kas lemia dezinfekcijos kokybę?
4. Kaip cheminės medžiagos veikia bakterinę ląstelę?

6.2. Antiseptika. Aseptika. Rankų higiena

Tikslas – suvokti antiseptikos ir aseptikos sąvokas, mokėti atlikti rankų higieną.

Komentaras. **Aseptika** – gyvų žmogaus audinių bei sterilių medžiagų apsaugos priemonės nuo aplinkos mikroorganizmų. Tai kompleksas priemonių, saugančių makroorganizmą nuo infekcijų sukėlėjų. Aseptikos priemonės yra sterilizacija, dezinfekcija ir antiseptika. Aseptikos esmė: „Visa, kas liesis su organizmu, su žaizda turi būti sterilu”. Aseptikai priklauso organizacinės ir sanitarinės priemonės kovoti su egzogenine infekcija, kuria užsikrečiama iš aplinkos įvairiais būdais.

Antiseptika – iš aplinkos į odą ir gleivines patekusių mikroorganizmų sunaikinimas ir pastoviosios mikrofloros skaičiaus sumažinimas ant odos, gleivinėse ir kūno ertmėse antiseptinėmis medžiagomis. Antiseptinės medžiagos pradėtos vartoti dar tada, kai nebuvo žinoma, kad ligas sukelia mikrobai, o antiseptikai net nebuvo atrasti. Antiseptikos pradininkas yra D. Listeris, pirmasis žaizdų dezinfekcijai 1867 m. pritaikęs karbolio rūgštį. Antiseptikai yra neselektyviai veikiantys ir daugumos mikroorganizmų dauginimąsi slopinantys ar juos naikinantys preparatai. Paprastai mikroorganizmų atsparumas antiseptikams neišsivysto. Tuo tarpu antibiotikai tam tikrų rūšių bakterijas veikia selektyviai. Antiseptikų gali būti skiriama

vartoti vietiškai (ant žaizdos) ar sistemiškai. Antiseptikai – medicininiai produktai, kurių aktyvumas nustatytas pagal Europos farmakopėjos reikalavimus ir AFNOR (Association Française de Normalisation: French Standardization Association) standartus. AFNOR standartas nustato baktericidinį, fungicidinį, virucidinį ir sporicidinį poveikį esant ir nesant slopinančių substancijų (pvz., esant baktericidiniam poveikiui, per 5 min sunaikinama 99,99 proc. bakterijų padermių).

Antiseptikos būdai:

1. Mechaninė antiseptika – tai pirminis chirurginis žaizdos sutvarkymas: žaizdų kraštų atnaujinimas, svetimkūnių, kraujo krešulių, negyvybingų audinių (nekrozės) pašalinimas.
2. Fizinės antiseptikostikslas – sudaryti nepalankias sąlygas bakterijoms daugintis žaizdose: žaizdos laikomos atviros, švitinamos UV spinduliuote, išvalomos senos žaizdos, sekreto iš žaizdos pašalinimas drenais arba higroskopinių medžiagų (marlės) tamponais.
3. Biologinė antiseptika – tai priemonės, gerinančios žaizdos fiziologinę būklę ir padedančios organizmui atkurti pažeistus audinius, pvz., antibiotikai.
4. Cheminė antiseptika – cheminių medžiagų, veikiančių baktericidiškai arba bakteriostatiškai, naudojimas.
5. Profilaktinė antiseptika. Antiseptinės priemonės taikomos ne mikrobams sunaikinti, o neleisti jiems daugintis ir plisti, patekus į organizmą (pvz., antitetaninis serumas susižeidus, antibiotiko profilaktika prieš medicininės procedūras (operacijas ir kt.).

Cheminės antiseptikos rūšys

1. Dažniausiai taikoma paviršinė antiseptika. Ant žaizdos paviršiaus dedamas tvarstis, suvilgytas antiseptiniais tirpalais, pateptas tepalais ar pabarstytas milteliais.
2. Žaizdų dezinfekavimas voniomis naudojamas dvokiančioms, pūliuojančioms žaizdoms, ypač galūnių srityje. Tam taikomi dezodoruojančiomis savybėmis pasižymintys antiseptikai.
3. Nuolatinis žaizdos plovimas. Permanentiškai plaunant pūliuojančią žaizdą, uždegimo reiškiniai mažėja. Dabar taikomas pilvaplėvės ir pleuros ertmių nuolatinis plovimas – perfuzija.
4. Gilioji antiseptika. Antiseptinių tirpalų švirkštu suleidžiama į audinių gilumą. Tikslas – dirginti audinius ir sužadinti vietinę reakciją.

5. Ertmių antiseptika – antiseptinių medžiagų leidimas į pleuros, sąnarių ertmes, pašalinus iš jų pūlius.
6. Hematogeninė antiseptika –įvairių antiseptinių medžiagų švirkštimas į kraują.

Antiseptinės medžiagos mikroorganizmus veikia dvejopai: bakteriostatiškai (sustabdo bakterijų dauginimąsi) ir baktericidiškai (naikina, žudo bakterijas).

Antiseptikos, kaip ir dezinfekcijos, efektyvumas priklauso nuo cheminės medžiagos rūšies, koncentracijos, tirpalo temperatūros, ekspozicijos mikrobų rūšies, amžiaus, jų kiekio. Paprastai mikrobus efektyviau veikia didesnės koncentracijos tirpalai. Tačiau yra išimčių, pav., 96º etanolis, kuris dažniau naudojamas medicinos praktikoje, kaip antiseptikas, mikroorganizmų nežudo, o 70º-80º etanolis mikroorganizmus veikia silpnai baktericidiškai.

Rankų higiena. Skiriamipenki atvejai, kai būtina rankų higiena, t. y. sveikatos priežiūros darbuotojams rekomenduojama plauti rankas (World Health Organization guidelines on hand hygiene in health care, 2009):

1. Prieš sąlytį su pacientu.
2. Prieš atliekant švarias (aseptines) procedūras.
3. Po sąlyčio su paciento kūno skysčiais.
4. Po sąlyčio su pacientu.
5. Po sąlyčio su paciento aplinka.

Rankų higieną sudaro:

1. Rankų plovimas – teršalų ir laikinųjų odos mikroorganizmų pašalinimas, plaunant rankas vandeniu ir muilu:
   - prieš pradedant darbą;
   - prieš kiekvieno paciento apžiūrą;
   - baigus kiekvieno ligonio apžiūrą, procedūrą;
   - nusimovus pirštines;
   - prieš higieninę rankų antiseptiką (jei rankos nešvarios);
   - prieš pirmos dienos operacijos chirurginę rankų antiseptiką;
   - rankoms plauti naudoti skystą muilą;
   - skysto muilo dozatoriaus rankenėlę paspausti alkūne, dilbiu arba išorine plaštakos puse, neliečiant skysto muilo dozatoriaus ištekėjimo angos;
   - ant rankų, sudrėkintų vėsiu vandeniu, iš dozatoriaus užpilti skysto muilo;
   - rankas muiluoti 10–15 s trinamaisiais ir sukamaisiais judesiais, ypač riešus, tarpupirščius, pirštų galiukus ir nagus, nykščius;
   - perplauti tekančiu vandeniu;

- nusausinti vienkartiniu popieriniu rankšluosčiu (servetėle), kiekvieną ranką atskirai tamponuojant (netrinant);
- nusiplovus rankas, vandens čiaupus užsukti su paskutine rankoms sausinti panaudota vienkartine servetėle (rankšluosčiu);
- vienkartinę servetėlę (rankšluostį) išmesti nepaliečiant šiukšlių dėžės kraštų.

Plaunant rankas reikia laikytis šių taisyklių:

- skysto muilo dozatorių rankenėles nuspausti alkūne, dilbiu arba išorine plaštakos puse;
- nusiplovus rankas, vandens čiaupus užsukti naudojant vienkartinę servetėlę ar rankšluostį;
- neliesti rankomis dozatoriaus angos, pro kurią teka skystas muilas.

2. Higieninė rankų antiseptika – rankų įtrynimas odos antiseptiku, naikinančiu laikinuosius odos mikroorganizmus ir mažinančiu pastoviųjų mikroorganizmų skaičių. Naudojami pramoninės gamybos alkoholiniai antiseptikai. Higieninė rankų antiseptika atliekama:

- prieš invazines procedūras;
- prieš užsimaunant pirštines;
- prieš sąlytį su pacientais, jautriais infekcijai, pvz., sergančiais onkologinėmis ligomis, su gleivinės, odos pažeidimais, traumomis, nudegusiais ar pan.;
- po sąlyčio su infekuotomis paciento kūno vietomis, užterštais daiktais (pvz., drenais), skysčiais (pvz., krauju, sekretais ir kt.) ar paviršiais;
- po sąlyčio su infekuotais pacientais;
- nusimovus pirštines;
- prieš higieninę rankų antiseptiką reikia atlikti rankų plovimą, jei rankos nešvarios;
- į sausas švarias rankas (saują) iš dozatoriaus išspausti rankų antiseptiko ir išskirstyti ant abiejų rankų plaštakų;
- 30 s drėkinti rankas antiseptiku, trinamaisiais ir sukamaisiais judesiais kruopščiai trinti riešus, tarpupirščius, pirštų galiukus, nagus, nykščius;
- plaštakos trinamos, kol antiseptikas išdžiūsta.

3. Chirurginė rankų antiseptika:

- atliekama prieš operaciją ar kitą invazinę procedūrą;
- privalo atlikti personalas, kuris lies invazijos vietą, sterilius instrumentus;
- rankos plaunamos iki alkūnių 2–6 min prieš pirmą dienos operaciją;

- antiseptiku rankos įtrinamos pradedant pirštų galais, baigiant alkūnėmis;
- trinama ne trumpiau 3–5 min, kol antiseptikas išdžius;
- rankų antiseptika atliekama 2 kartus;
- ilgų invazinių procedūrų, operacijų metu pirštines keisti kas 2 val. Keičiant pirštines, rankas būtina nuvalyti antiseptiku, įtrinant iki išdžiūvimo.

Chirurginis rankų paruošimas atliekamas prieš operacijas ir kitas chirurgines invazines procedūras, kai liečiamas operacinis laukas, sterilūs audiniai, atvira žaizda, sterilūs instrumentai. Atliekant šią procedūrą, patariama naudoti pramoninės gamybos alkoholinius antiseptikus. Prieš pirmąją operaciją, jei reikia, nagus ir panages valyti vienkartiniu minkštu steriliu šepetėliu arba krapštuku, naudojant skystą muilą ar losjoną.

Chirurginis rankų paruošimas atliekamas tokia seka:

1. Rankas iki alkūnių plauti ne trumpiau nei 1 min.
2. Vanduo turi tekėti nuo pirštų per alkūnes, rankos turi būti sulenktos per alkūnes, delnai pasukti į veidą, pirštai ištiesti, alkūnės nuleistos.
3. Nuplautas rankas sausinti vienkartinėmis servetėlėmis nuo pirštų ir baigti ties alkūnėmis, ta pačia servetėle neliečiant anksčiau nuvalytų odos vietų.
4. Rankų, plaštakų, riešų, dilbių odą sudrėkinti, įtrinti alkoholiniu dezinfekcijos tirpalu.
5. Rankas įtrinti alkoholiu kelis kartus tokia seka:
   - plaštakas,
   - dilbius iki alkūnių,
   - dar kartą dilbius,
   - plaštakas;
   - dar kartą plaštakas ir riešus.
6. Trinamaisiais, sukamaisiais judesiais trinti rankų odą 3–5 min alkoholiniu tirpalu, ypač kruopščiai įtrinti riešus, tarpupirščius, pirštų galiukus, nagus, nykščius. Visą dezinfekcijos laiką oda turi būti drėgna, jei reikia, papildomai užpilti dezikfektanto, paspaudus dozatoriaus rankenėlę. Trinti, kol oda išdžiūsta.
7. Užsimauti sterilias pirštines.

Darbo aprašymas.

Priemonės:

- Muilas,
- antiseptinės medžiagos,
- pirštinės,

- Petri lėkštelės su maitinamąją terpe,
- sterilūs vatos tamponėliai,
- sterilios servetėlės,
- sterilus 0,9% NaCl tirpalas.

Užduotys:

1. Atlikti rankų plovimą.
2. Atlikti chirurginį rankų paruošimą.
3. Atlikti higieninį rankų paruošimą.

Pirmu steriliu tamponu, suvilgytu 0,9% NaCl tirpalu, paimkite rankų nuoplovas prieš jų paruošimą, o antruoju tamponu – po rankų paruošimo. Pirmu tamponu paimtas nuoplovas sėti Petri lėkštelėje į mitybinio agaro „iki“ sektorių, o antru tamponu paimtas nuoplovas sėti į sektorių „po”. Pasėliai atliekami aseptinėmis sąlygomis. Pasėlius inkubuojame termostate 24 val. 37ºC temperatūroje. Po paros įvertiname išaugusių bakterijų kolonijų kiekį „iki” ir „po” sektoriuose.

Kontroliniai klausimai:

1. Apibūdinkite antiseptiką ir jos svarbą medicinoje.
2. Apibūdinkite aseptiką, jos reikšmę medicinoje.
3. Išvardinkite antiseptikos būdus.
4. Koks antiseptikų poveikis mikroorganizmams?
5. Kas lemia antiseptikos efektyvumą?
6. Kokie yra rankų antiseptikos būdai?

6.3. Sterilizacija, sterilizacijos metodai ir Sterilumo kontrolė

Tikslas – susipažinti su sterilizacijos metodais, gebėti atlikti instrumentų sterilizaciją ir mokėti įvertinti sterilumo kontrolės metodus.

Komentaras.

Sterilizacija – visų rūšių mikroorganizmų (virusų, bakterijų, grybelių, pirmuonių) ir jų sporų naikinimas cheminėmis ir fizinėmis priemonėmis. Sterilizavimas yra aseptikos pagrindas. Sveikatos priežiūros įstaigose sterilizuojami prietaisai, instrumentai, tvarsliava ir viskas, kas naudojama profilaktinėms, diagnostinėms ar gydomosioms procedūroms. Mikrobiologijoje sterilizuojami mikrobiologiniai darbo įrankiai, laboratoriniai indai, mitybinės terpės ir kt. Sterilizavimo metodas parenkamas pagal sterilizuojamo objekto fizikines ir chemines savybes. Metodas turi būti ne tik veiksmingas ir saugus, bet ir nekeisti

objekto savybių. Kiekvieno sterilizavimo metodo veiksmingumas mažėja, jeigu objektai yra nešvarūs, t. y. užteršti krauju, pūliais ir kitomis biologinėmis medžiagomis. Prieš sterilizavimą naudoti ir užteršti patogeniniais mikroorganizmais objektai dezinfekuojami, po to plaunami detergentų tirpalais, skalaujami distiliuotame vandenyje ir džiovinami. Neužteršti patogenais instrumentai ir prietaisai nedezinfekuojami, tik plaunami ir valomi. Sterilizacijos metodai skirstomi į fizikinius ir cheminius.

Fizikiniai sterilizavimo metodai – tai sterilizavimas sausu ir drėgnu karščiu, garais ir slėgiu, ultravioletine spinduliuote, jonizuojamąja radiacija, filtravimu.

Karštis. Ugnis ir virinimas, kaip sterilizacijos ir dezinfekcijos metodai, praktiškai naudojami nuo senosios Graikijos laikų. Karštis yra populiariausias mikroorganizmų naikinimo metodas. Naudojamas sausas ir drėgnas karštis (garai).

Nudeginimas liepsnoje – paprastas ir veiksmingas sterilizavimo metodas. Sterilizuojami nedegūs ir temperatūrai atsparūs daiktai prieš pat jų naudojimą, pertraukiant keletą kartų per viršutinę liepsnos dalį. Taip sterilizuojama mentelės, mikrobiologinės kilpelės, adatos, dengiamieji, objektiniai stikleliai ir kt.

Drėgnas karštis veiksmingai naikina virusus, prokariotus ir grybus. Prokariotų vegetacinės formos nėra atsparios drėgnam karščiui. Kai kurios bakterijos sunaikinamos 60°C temperatūroje per kelias minutes, tuberkuliozės sukėlėjas *Mycobacterium tuberculiosis* – per 30 min. Net tokie atsparūs prokariotai, kaip *Staphylococcus aureus* ir *Salmonella senttenberg*, sunaikinami per 30 min 70°C temperatūroje. Virimo temperatūroje vegetacinės bakterijų formos žūva per keletą sekundžių ar minučių. Riketsijos, mielės, pelėsiai sunaikinami 60–70 °C temperatūroje, pirmuonys ir helmintų kiaušinėliai – 50°C temperatūroje, virusai, išskyrus hepatito virusus, 60°C temperatūroje.

10 min. virinant vandens vonelėje, sunaikinamos prokariotų vegetacinės formos, virusai ir eukariotų sporos. Tačiau virimo temperatūroje (100°C) išlieka gyvybingos bakterijų sporos. Juodligės sukėlėjo sporos 100°C temperatūroje sunaikinamos per 20 min., *Clostridium botulinum* – per 330 min., puvimo anaerobų sporos sunaikinamos per 780 min. ir t.t. Todėl virinimas naudojamas švirkštų, instrumentų, stiklinių ir metalinių indų bei kitų daiktų dezinfekcijai. Virinimas nesterilizuoja. Verdančio vandens mikrobocidinis veikimas stiprėja, pridėjus į jį 1–2% natrio bikorbonato.

Tekančiais garais sterilizuojama Kocho aparatu. Garų temperatūra yra 95–100°C. Tekančių garų naudojimas ribotas, nes sunaikinamos vegetacinės formos, gyvybingos lieka sporos. Todėl objektai, kurie jautrūs aukštesnei nei 100°C temperatūrai, sterilizuojami 3–5 kartus po 30–60 min su 24 val. pertraukomis tekančiuose garuose (temperatūra 95–100°C).

Sterilizavimas garais ir slėgiu yra šiuolaikinis mikroorganizmų ir jų sporų naikinimo metodas. Naujieji autoklavai yra daug mažesni, netgi portatyviniai. Visi jie turi elektrinę kaitinimo įrangą, kuri taip pat gali būti įvairi, skalės pavidalo manometro ir temperatūros rodmenys, slėgio bei laiko registracijos įranga. Šiuolaikiniai autoklavai turi iki 22 darbinių režimų. Sterilizuojama savitame puode – autoklave, kurį sudaro dvi, viena į kitą įdėtos kameros. Verdančio vandens garai iš garų generatoriaus patenka į autoklavo kamerą, išstumia iš jos orą ir pripildo kamerą. Išėjimo angos čiaupas, pripildžius kamerą garų, uždaromas. Garams patekus į kamerą, didėja slėgis ir garų temperatūra (5 lentelė), kurie, pasiekę reikiamą ribą, reguliuojami automatiškai. Sterilizavimas atliekamas prisotintais vandens garais esant 0,11 MPa (1,1 kg/cm^2) slėgiui ir 121±1°C temperatūrai arba 0,2 MPa (2 kg/cm^2) slėgiui ir 133±1°C temperatūrai. Dažniausiai naudojamas 1 atm. slėgis ir 121°C temperatūra. Šiomis sąlygomis vegetacinės formos ir sporos sunaikinamos per 10–12 min. Sterilizuojama 15–20 min, siekiant didesnės mikroorganizmų sunaikinimo tikimybės. Norint pasiekti visišką sterilizacijos efektą, būtina iš autoklavo kameros pašalinti orą, o sterilizuojamus objektus sudėti taip, kad garai iš visų pusių galėtų lengvai patekti prie jų.

5 lentelė. Temperatūros autoklave priklausomybė nuo slėgio ir kameros pripildymo garų

Slėgis		**Temperatūra, °C**			
Atm.	**MPa**	**Kamera visiškai pripildyta garų (oro nėra)**	**Iš kameros pašalinta 2/3 oro**	**Iš kameros pašalinta 1/3 oro**	**Oras iš kameros nepašalintas**
0,5	0,055	112	109	100	90
1,0	0,11	121	115	109	100
1,5	0,15	127	121	115	109
2,0	0,21	134	130	126	121

Sterilizuojami daiktai (atsparūs karščiui ir drėgmei stikliniai, metaliniai daiktai, temperatūrai atsparios plastmasės, instrumentai, patalynė, tvarsliava, temperatūrai atsparūs tirpalai ir vaistai, mitybinės terpės be sacharidų ir natūralių baltymų ir kt.) sudedami į sterilizavimo kamerą ant lentynėlių, kad tarp jų liktų tarpų. Garai turi laisvai cirkuliuoti tarp sudėtų daiktų ir įsiskverbti į vidų, nes hermetiškai uždarytuose induose gali išlikti gyvybingų ir vegetacinių formų. Slėgis padeda pasiekti reikiamą (ne mažesnę kaip 115–116 °C) mikrobocidinę temperatūrą, kurioje sunaikinamos bakterijų sporos. Esant 1 atm. 121 °C temperatūrai *Clostridium botulinum* sporos žūva per 4 min, termofilinių bacilų – per 12 min, puvimo anaerobų sporos – per 6 min. Prisotinti garai ir slėgis veiksmingai sunaikina mikroorganizmus, nes negrįžtamai koaguliuoja ir denatūruoja fermentai ir struktūriniai baltymai. Esant tam tikram slėgiui, nesusidaro reikiama temperatūra, jeigu iš autoklavo kameros nėra visiškai pašalintas oras (5 lentelė). Sterilizavimo trukmė ilgėja sterilizuojant

didelį skysčių tūrį: indas su 5 litrais skysčio sterilizuojamas 70 min. 121 °C temperatūroje. 121 °C temperatūroje rekomenduojama sterilizuoti įvairių vaistų tirpalus. Sterilizacijos trukmė priklauso nuo fizinių-cheminių vaisto savybių ir tirpalo tūrio.

Injekcinių vaistų tirpalai sterilizuojami hermetiškai uždarytuose prieš išpilstymą steriliuose flakonuose arba ampulėse. Riebalai ir aliejai hermetiškai uždarytuose induose sterilizuojami 2 val. 120 °C temperatūroje. Gumos gaminiams sterilizuoti rekomenduojama naudoti pirmą nurodytą sterilizacijos režimą.

Objektai sterilizuojami metalinėse arba popierinėse dėžutėse, įpakuoti pergamente, popieriuje, folijoje ir kt.

Išimtinais atvejais leidžiama sterilizuoti ir žemesnėje kaip 121 °C temperatūroje. Tokiais atvejais sterilizacijos režimas nurodytas sterilizuojamo objekto normatyvinėje-techninėje dokumentacijoje.

Sterilizavimas sausu karščiu. Sterilizuojama sausu karščiu oro sterilizatoriuose 160 C, 180 °C arba 200 °C temperatūroje. Šio sterilizacijos metodo efektyvumas priklauso nuo temperatūros, trukmės, sterilizuojamų objektų šiluminio laidumo bei jų teisingo išdėstymo sterilizacijos kameroje, kad karštas oras galėtų iš visų pusių laisvai cirkuliuoti tarp sterilizuojamų daiktų. Objektai, jautrūs drėgnam karščiui: milteliai (natrio chloridas, cinko oksidas, talkas, baltasis molis ir kt.), vazelinas ir aštrūs instrumentai, stikliniai indai, pipetės, mėgintuvėliai, stikliniai švirkštai ir kt. sterilizuojami Pastero krosnyje arba sausos kaitros spintose. Sudėti daiktai neturi liesti sienelių ir tarp jų turi būti tarpų. Popierius ir vatos kamščiai pagelsta 160 °C temperatūroje, sudega – 175 °C temperatūroje. Sterilizuojama 160 °C temperatūroje 2 val., 170 °C – 1 val. Stikliniai, metaliniai gaminiai, silikoninės gumos, porceliano, filtravimo įrenginys su filtrais sterilizuojami 60 min 180 °C temperatūroje arba 2,5 val. 160 °C temperatūroje. Mineraliniai ir augaliniai aliejai, riebalai, lanolinas, vazelinas, vaškas sterilizuojami 180 ir 200 °C temperatūroje.

Galima sterilizuoti ir aukštesnėje temperatūroje, sumažinus sterilizacijos trukmę tik tais atvejais, jei bus užtikrintas sterilumas. Šiais atvejais sterilizacijos režimas turi būti pagrįstas ir nurodytas sterilizuojamo daikto normatyviniuose-techniniuose dokumentuose.

Veikiant sausam karščiui oksiduojasi baltymai, sunaikinamos mikroorganizmų vegetacinės formos ir bakterijų sporos. Nors šis metodas ir veiksmingas, nesukelia metalinių daiktų korozijos, tačiau procesas yra ilgas, nes karštis lėtai skverbiasi į sterilizuojamus daiktus ir negreitai sunaikina mikroorganizmus. Sauso karščio veiksmingumas yra mažesnis už drėgno karščio: *Bacillus anthracis* sporos 120 °C temperatūroje sunaikinamos per 120 min., 140 °C – per 60 min., 160 °C – per 10 min., dirvožemio bacilų sporos 150 °C temperatūroje – per 180 min., 160 °C – per 60 min. ir 170 °C temperatūroje – per 30 min.; *Staphylococcus*

aureus 110 °C temperatūroje sunaikinamas per 120 min., 120 °C – per 30 min., 140 °C – per 15 min., 150 °C temperatūroje – per 10 min.; *Clostridium botulinum* sporos 160 °C temperatūroje sunaikinamos per 120 min. Sterilizavimo veiksmingumas tikrinamas fizikiniais (termometras), cheminiais (dažais impregnuotos popierinės juostelės arba užlydyti mėgintuvėliai su tiošlapalu (lydymosi temperatūra – 180 °C), gintaro rūgštimi (180–192 °C), bazitaliu (190–191 °C), pilokarpino hidrochloridu (200 °C), sacharoze (170 °C)) ir biologiniais metodais. Bioteste yra *Bacillus subtilis* sporų (10^6), kurios atsparesnės sausam karščiui nei *Bacillus stearothermophilus*.

Sterilizavimas ultravioletine spinduliuote, jonizuojamąja radiacija.

Ultravioletinė spinduliuotė. Mikroorganizmus geriausiai veikia trumpabangė 240–260 nm ultravioletinė spinduliuotė (UV), pažeidžianti mikroorganizmų nukleorūgštis. Tačiau UV neprasiskverbia per stiklą, purvo sluoksnį, vandenį. Dėl šių neigiamų savybių ir žalingo poveikio žmogui (kenkia odai ir akims), UV spinduliuotė naudojama ribotai – tik uždarų patalpų oro, daiktų atvirųjų paviršių, sienų, grindų, lubų dezinfekcijai.

Jonizuojamoji radiacija – veiksmingas sterilizacijos metodas. Naudojama beta ir gama spinduliuotės, kurios yra skvarbios ir sukaupusios daug energijos. Įpakuoti daiktai sterilizuojami gama įrenginiuose, elektronų greitintuvuose ir kituose jonizuojamosios radiacijos šaltiniuose. Švitinimo dozė priklauso nuo sterilizavimo sąlygų (mikrobinės taršos dydžio, mikroorganizmų atsparumo radioaktyviesiems spinduliams ir sterilizacijos patikimumo koeficiento dydžio, objekto temperatūros, pakavimo ir kt.) ir turi būti ne mažesnė kaip 2,5 Mrad (0,25 Gy). Gama spinduliuotė skvarbesnė už beta spinduliuotę. Spindulių šaltinis yra elektroniniai greitintuvai arba radioaktyvūs izotopai, kaip kobaltas 60, kurie spinduliuoja gama spinduliuotę. Jonizuojamoji spinduliuotė naudojama antibiotikams, hormonams, chirurginiams siūlams, plastmasinėms ir polimeriniams vienkartinio naudojimo medicininiams gaminiams (švirkštams, kraujo perpylimo sistemoms, pirštinėms, drenams, kateteriams, kamšteliams ir kt.) sterilizuoti. Daiktai sterilizuojami hermetiškai supakuoti į mikroorganizmams ir dujoms nelaidžias medžiagas, nes gama spinduliuotė patenka į daiktą per pakuotę. Šis metodas dar vadinamas šaltąja sterilizacija, nes sterilizuojami daiktai nesušyla. Kai kuriose šalyse jonizuojamąja spinduliuote apšvitinama paukštiena, jūros produktai ir vaisiai, ilginamas jų laikymo laikas.

Filtravimas. Termolabilių medžiagų tirpalai sterilizuojami filtruojant juos per membraninius ir giliuosius filtrus, sulaikančius mikroorganizmus ir jų sporas. Filtravimas yra veiksminga mikroorganizmų šalinimo iš kaitinimui jautrių skystųjų vaistų formų, skystųjų

mitybinių terpių, serumo, tirpalų priemonė. Kai kurie autoriai abejoja šio metodo patikimumu, teigdami, jog pro filtrus gali prasiskverbti bakterijų L formos, virusai, fagai.

Naudojami membraniniai arba gilieji filtrai. Membraniniams filtrams būdingas sieto principo bakterijų sulaikymo mechanizmas ir nuolatinis porų dydis eksploatavimo metu. Giliesiems filtrams būdingas adsorbcinis, inercinis ir sieto principo bakterijų sulaikymo mechanizmas bei nepastovus porų dydis. Membraninių filtrų pase nurodomas „purslelio taškas" (mažiausias dujų slėgis, išstumiantis skystį iš filtro), t. y. dydis, tiesiogiai priklausantis nuo filtro didžiausio skersmens porų.

Vartojamos dvi filtrų rūšys: asbesto ir membraniniai. Asbesto filtrus sudaro pluoštinė ar grūdėta medžiaga, kurioje yra daug mažo skersmens kanaliukų. Tai 4–6 mm storio ir įvairaus skersmens (3, 9, 14 cm) plokštelė. Berkefeldo filtrai gaminami iš diatomito (infuzorinės žemės), pridėjus asbesto, o Šamberleno filtrai – iš nepoliruoto porceliano (kaolino ir kvarco smėlio mišinio).

Dabar dažniausiai naudojami membraniniai filtrai, pagaminti iš celiuliozės acetato, celiuliozės nitrato, polikarbonato, polivinildeno fluorido ir kitų sintetinių medžiagų. Filtro storis – 0,1–0,5 mm. Gaminamų membraninių filtrų porų skersmuo įvairus: „Millipor" – nuo 0,01 iki 14,0 μm; „Synpor" – nuo 0,12 iki 4,0 μm, tačiau vegetacinėms formoms sulaikyti dažniausiai naudojamos membranos su 0,2 μm skersmens poromis.

Tirpalai filtruojami per filtrus vakuume aseptinėmis sąlygomis. Mikroorganizmus filtrai sulaiko ne tik mechaniškai, bet ir adsorbuoja ant porų sienelių, nes filtrų medžiaga pagaminta iš teigiamai įkrautų medžiagų, o mikrobinės ląstelės vandeninėje suspensijoje turi neigiamą elektros krūvį. Todėl sulaikomi ir mažesni už porų skersmenį mikroorganizmai.

Filtruojama ir tirpalas išpilstomas aseptinėmis sąlygomis. Sterilizacijos filtravimo efektyvumas patikrinamas sėjant filtratą į mitybines terpes.

Cheminė sterilizacija. Sterilizuoti vartojamos mikrobocidiškai ir sporocidiškai veikiančios cheminės medžiagos:įvairios koncentracijos tirpalai ir dujos (lakiosios cheminės medžiagos). Sterilizavimą dujomis dar galima vadinti šaltąja sterilizacija.

Sterilizavimas cheminių medžiagų tirpalais. Šio metodo veiksmingumas priklauso nuo veikliosios medžiagos koncentracijos, tirpalo temperatūros ir sterilizavimo trukmės. Sterilizuojami polimeriniai, guminiai, stikliniai ir korozijai atsparūs medicinos gaminiai, kurių negalima sterilizuoti kitais metodais. Esminis metodo trūkumas – po sterilizavimo, net ir perplovus distiliuotu vandeniu, ant sterilizuoto objekto paviršiaus dažnai lieka cheminių medžiagų. Be to, perplaunant sterilizuotą objektą, galima vėl užteršti mikroorganizmais. Cheminei sterilizacijai vartojamos įvairios cheminės medžiagos. Spiritinių formaldehido tirpalų vartojimą riboja aštrus kvapas ir dirginantis poveikis audiniams. Glutaraldehido 2%

tirpalu sterilizuojami endoskopai, anestezijos ir dirbtinio kvėpavimo prietaisai, hemodializę kontroliuojančios sistemos ir kt. Glutaraldehidas, nors ir toksiškas, tačiau nedirgina kvėpavimo takų ir nesukelia korozijos. Aplinkos temperatūra, sterilizuojant etileno oksido 1% tirpalu, turi būti ne aukštesnė kaip 10 °C, o betapropiolaktano tirpalu – ne aukštesnė kaip 20 °C. Baigus sterilizuoti, aplinkos temperatūra didinama, kad iš sterilaus objekto išgaruotų minėtos cheminės medžiagos.

Veiksminga sterilizuojamoji cheminė medžiaga yra vandenilio peroksidas, kurio 6% tirpalas, pašildytas iki 50 °C, vegetacines mikroorganizmų formas sunaikina per 15–20 min, o bakterijų sporas – per 30–40 min. Sunaikinimo trukmė dvigubėja, esant 18 °C tirpalo temperatūrai. Sterilizuojant 6% vandenilio peroksido tirpalu, sterilizacijos trukmė – 6 val.,jeigu tirpalo temperatūra 18 °C, arba 3 val.,jeigutirpalo temperatūra 50 °C.

Leidžiama vartoti ir kitus sterilizuojamuosius cheminių medžiagų tirpalus. Sterilizacijos režimas turi būti pagrįstas ir nurodytas sterilizuojamo objekto normatyvinėje-techninėje dokumentacijoje.

Kai sterilizuojami guminiai, stikliniai, polimeriniai, korozijai atsparūs metaliniai medicinos gaminiai, tai sterilizavimo trukmė 50 °C temperatūros tirpale yra 180 min, o 18 °C tirpale – 360 min.

Cheminių medžiagų tirpalais sterilizuojama uždaruose induose iš stiklo, plastmasės arba induose, kurie padengti nepažeista emale. Sterilizacijos metu objektas turi būti apsemtas tirpalo. Po sterilizacijos objektą reikia nuplauti steriliu vandeniu aseptinėmis sąlygomis.

Sterilizacijos cheminių medžiagų tirpalais režimas kontroliuojamas cheminiais ir fizikiniais kontrolės metodais.

Sterilizavimas dujomis. Sterilizuojami drėgnam sausam karščiui atsparūs daiktai ir vienkartinio vartojimo polimeriniai, plastmasiniai gaminiai bei kiti medicinos gaminiai (chirurginiai siūlai, švirkštai, kateteriai, sintetiniai kraujagyslių protezai, Petri lėkštelės ir kt.). Tai veiksmingas sterilizacijos metodas: dujos prasiskverbia net per dvigubą pakuotę. Dažniausiai sterilizuojama formaldehido garais, etileno oksido, betapropiolaktono, propileno oksido dujomis. Etileno oksidas ir metilo bromidas yra toksiški. Todėl sterilizuoti šiomis dujomis daiktai prieš vartojimą turibūti degazuoti, t. y. po sterilizacijos daiktai laikomi patalpose, turinčiose aktyvią ventiliaciją, kad dujos išgaruotų ir jų kiekis maišeliuose atitiktų normatyvinės-techninės dokumentacijos reikalavimus (normas). Degazacijos sąlygos priklauso nuo sterilizuoto daikto paskirties, naudojimo būdo, dydžio, sudėties ir pakuotės. Šios sąlygos nurodytos daikto normatyvinėje-techninėje dokumentacijoje.

Po sterilizavimo daiktai vėdinami specialiose patalpose iki 14–21 paros, kad išgaruotų pakuotės viduje esančios dujos. Kiekvieno medicinos gaminio techninėse sąlygose nurodyta sterilizacijos sąlygos ir vėdinimo trukmė.

Etileno oksido dujomis sterilizuojami vienkartinio naudojimo medicinos gaminiai specialiose kamerose, tikrinant dujų koncentraciją, temperatūrą, drėgmę ir trukmę. Etileno oksido dujos yra bespalvės, turi į eterį panašų kvapą, greitai užsiliepsnoja ir sprogsta. Sprogimo pavojaus išvengiama, maišant etileno oksidą su metilo bromidu, dichlordifluormetanu, anglies dioksidu ir kitais flegmatizatoriais (medžiagos, mažinančios sprogimo pavojų). Sterilizavimo sąlygas nurodo kiekvieno sterilizuojamo objekto techninės sąlygos. Etileno oksido dujų koncentracija turi būti 450–1200 mg/l, temperatūra – 29–65 °C, santykinė drėgmė – 5–85%, trukmė – 2–5 val. Dujos optimaliai veiksmingos tik esant ne mažesnei kaip 45% santykinei drėgmei. Manoma, kad drėgmė padeda dujoms prasiskverbti per ląstelės sieneles. Etileno oksido dujomis sterilizuoti daiktai vėdinami specialiose (aktyviai ventiliuojamose) patalpose įvairų laiką: gaminiai iš stiklo ir metalo – 1 parą; iš polimerinių medžiagų – trumpai (iki 30 min); gaminiai, trumpai liečiantys žaizdas ir kraują – 5–13 parų; gaminiai, ilgai liečiantys (ilgiau kaip 30 min) žaizdas, gleivinę, audinius, kraują – ne mažiau kaip 14 parų; gaminiai, skirti vaikams – 21 parą.

Sterilizavimo veiksmingumas nustatomas biotestais, kuriuose yra *Bacillus subtilis* sporų (10^6), nes jos yra atspariausios etileno oksidui. Pasėti į specialiąsias mitybines terpes biotestai kultivuojami 35–37 °C temperatūroje.

Leidžiama naudoti ir kitus sterilizacijos dujomis režimus, užtikrinančius sterilizuojamo objekto sterilumą. Sterilizacijos režimas turi būti pagrįstas ir nurodytas normatyvinėje-techninėje dokumentacijoje.

Daiktai sterilizuojami supakuoti į hermetiškai uždarytus 0,06–0,2 mm storio polietileninės plėvelės arba pergamento maišelius. Sterilizacijos dujomis režimo ir efektyvumo kontrolę galima atlikti kontroliniais matavimo prietaisais, cheminiais ir biologiniais testais.

Etileno oksidas ir metilo bromidas yra toksiški. Todėl sterilizuoti šiomis dujomis daiktai prieš naudojimą turi būti degazuoti, t. y. po sterilizacijos daiktai laikomi patalpose, turinčiose aktyvią ventiliaciją, kad dujos išgaruotų ir jų kiekis maišeliuose atitiktų normatyvinės-techninės dokumentacijos reikalavimus (normas).

Sterilizacijos efektyvumą lemia:

- pagal visus reikalavimus sterilizuojamų objektų paruošimas sterilizacijai. Teršalai – kraujas, riebalai ir kt. trukdo tiesioginiam sterilizuojamojo agento sąlyčiui su sterilizuojamo objekto paviršiumi;

- tinkama sterilizuojamo objekto pakuotė. Ji turi atitikti normatyvinių dokumentų reikalavimus ir sąlygas;
- teisingas sterilizuojamų objektų išdėstymas sterilizatoriaus kameroje;
- sterilizatorius turi būti geros techninės būklės: kamera turi būti sandari, gerai veikti šildymo elementai ir visi kontroliniai prietaisai;
- sterilizavimo darbinio režimo laikymasis pagal normatyvinių dokumentų reikalavimus.

Sterilizatorių darbo efektyvumo kontrolė. Laikantis 1997 01 23 patvirtintų Lietuvos Respublikos vyriausiojo valstybinio gydytojo higienisto įsakymu Nr. 40 sterilizatorių darbo efektyvumo kontrolės taisyklių, reikalingos šios fizikinės, cheminės ir biologinės kontrolės priemonės: maksimalūs termometrai, cheminiai ir biologiniai indikatoriai.

Sterilometras – cheminis indikatorius garo sterilizatorių kontrolei. Tai vidinis cheminis indikatorius gravitacijos tipo (121C) ir prevakuumo tipo (132C) garo sterilizatorių darbo kontrolei. Šiais indikatoriais galima įvertinti, ar sterilizavimo ciklo metu garai prasiskverbė į sterilizuojamų gaminių pakuočių vidų. Naudojamos 1,6 cm pločio juostelės, kurios yra dviejų dydžių: trumpos – 8 cm ilgio ir ilgos – 21,6 cm ilgio. Juostelėse esanti balto cheminio rašalo dėmė, veikiama garų, nusidažo juoda spalva. Ilgos juostelės galas su dažų dėme įdedamas į paketo vidų (geometrinį centrą), o kitas lieka išorėje. Juostelė po sterilizavimo ištraukiama nesuardant paketo ir patikrinama, ar nusidažė juoda spalva. Jei juostelės žymeklis nenusidažė juoda spalva, tai reiškia, kad garai į pakuotės vidų nepateko, t. y. objektas yra nesterilus.

Biologiniai indikatoriai:

- ***Spore-O-Chek indikatoriai*** skirti sterilizacijos proceso efektyvumui įvertinti. Naudojami sterilizavimo prisotintais garais, karštu oru ir etileno oksido dujomis sterilizacijos efektyvumo kontrolei sveikatos priežiūros įstaigose.
- ***Bacillus stearotermophilus ir Bacillus subtilis***. Popieriaus juostelės su atspariomis karščiui (garams, karštam orui) ir etileno oksidui mikroorganizmų sporomis *Bacillus stearotermophilus* – garo sterilizatorių kontrolei, *Bacillus subtilis* – karšto oro etileno oksido sterilizatorių kontrolei. Juostelė su išdžiovintų bakterijų sporomis įpakuota į specialų melsvą popierių ir paketėlis užklijuotas. Paketėlyje gali būti juostelė su abiejų rūšių bakterijomis, naudojama garo, karšto oro arba etileno oksido sterilizatorių kontrolei. Indikatorių paketėliai gali būti sudėti į popierinius dvigubus vokelius. Vokelio neužklijuotoje „kišenėje” su užrašu „test strip” įdėti du indikatoriai, o kitoje,

užklijuotoje „kišenėje” su užrašu „control” – vienas indikatorius su abiejų bakterijų sporomis. Indikatorių rinkinyje „Lab Test TM” yra vienas vokelis ir lydraštis – biologinės kontrolės registravimo dokumentas.

Indikatoriai įdedami į kiekvieno krovinio pakuotę (paketą, maišelį, biksą ir kt.) arba į vieną kontrolinę pakuotę. Bandomoji pakuotė turi atitikti sunkiausią ir didžiausią paketą, kurio matmenys neturi būti didesni nei 30x30x50 cm, o svoris – nedidesnis už 5,4 kg. Indikatorių reikia įdėti į pakuočių vidų (geometrinį centrą). Bandomoji pakuotė padedama mažiausiai veikiamoje sterilizacijos agento („šalčiausiame” taške) vietoje. Po sterilizacijos biologinį indikatorių (juostelės paketėlį) kartu su kontroliniu tos pačios serijos indikatoriumi, kuris nebuvo sterilizuotas, reikia siųsti į mikrobiologijos laboratoriją. Indikatoriai laikomi sausoje patalpoje (drėgmė 30–80%), kambario temperatūroje. Galiojimo laikas nurodytas ant juostelės vokelio arba dėžutės techniniame pase.

Biologiniai indikatoriai, pasibaigus galiojimo laikui, nukenksminami, kaip ir visos mikrobiologinės atliekos.

ATI karšto oro sterilizatoriaus cheminiai indikatoriai:

- ***Juostelės.*** Tai popierinės juostelės su dažais, kurie, veikiami sterilizavimo agento, keičia spalvą arba fizinį būvį. Šie indikatoriai parodo, kad gaminys buvo sterilizuotas karšto oro sterilizatoriuje, tačiau nenurodo, kad buvo pasiektos reikiamos sterilizavimo sąlygos, t. y. sterilizacija įvyko. Juostelė įdedama į kiekvienos pakuotės vidų (centrą). Sterilizuojant gelsvai rudos spalvos juosteles (per 5 min) 170ºC ir panašioje temperatūroje turi pasikeisti į juodą. Indikatoriaus juostelė neturi trupėti ar apdegti.
- ***Etiketės,*** kaip ir juostelės, parodo, kad gaminiai sterilizuoti karštu oru, bet nerodo, kad būtinos sterilizavimo sąlygos (temperatūra) pasiektos. Etiketės lengvai priklijuojamos prie gaminio (metalo, stiklo ir kt.), patvarios karštam orui ir lengvai nuplėšiamos po sterilizavimo. Etiketė – cheminė dėmė, kuri po teisingos sterilizacijos tampa juodos spalvos. Etiketė neturi trupėti ar apdegti. Tai patogi ir pigi priemonė sterilizacijos kontrolei.

Indikatoriai – lipdukai sterilizavimo garais kontrolei. Tai pigi cheminės kontrolės priemonė. Tinka visiems sterilizavimo garais procesams – 121ºC, 132ºC ir 141ºC temperatūros režimams. Lipdukai yra išoriniai cheminiai indikatoriai, naudojami pažymėtų gaminių sterilizavimo kontrolei. Kiekviename ritinyje yra po 1000 lipdukų. Lipdukas atplėšiamas iš ritinio (1,9x3,2 cm). Indikatorius lipdomas prie sterilizuojamų gaminių paketų, įvyniotų sterilizavimo popieriuje arba audinyje. Juos galima lipinti ant įvairių talpyklų, pvz. biksų, dėžučių, kasečių ir kt. Indikatorius – lipdukas, turintis purpurinės spalvos cheminių

dažų, kurių spalva sterilizuojant keičiasi į žalią. Tai patvirtina, jog paketai, talpyklos yra sterilios.

ATI Steam–Clox 121 C ir Steam–Clox 134 C cheminiai indikatoriai garų sterilizatorių darbo kontrolei. Steam-Clox indikatoriai – vienkartiniai vidiniai cheminiai indikatoriai, skirti sterilizavimo garais sąlygų kontrolei. Steam-Clox 121 C indikatoriai skirti gravitacijos tipo garo sterilizatorių kontrolei, o Steam-Clox 134 C – prevakuumo tipo garo sterilizatoriams. Šiais indikatoriais tikrinamos sterilizavimo sąlygos, ar tinkami garai (ne per sausi arba ne per drėgni), ar jie įkaitina per nurodytą laiką iki 121ºC arba 134ºC temperatūros.

Indikatoriai gaminami iš sluoksniuoto plastiko. Tai 5,9 cm ilgio ir 2,2 cm pločio juostelės su purpurinės spalvos cheminių dažų dėmėmis, pažymėtomis skaičiais.

Steam-Clox 121 C indikatoriai turi keturias tokias dėmes („1”, „2”, „3”, „4”), Steam-Clox 134 C – tris („1”, „2”, „3”). Indikatorių plastikinis sluoksnis yra laidus garams, bet nelaidus dažams, todėl dažai į sterilizuojamus daiktus nepatenka. Dažai yra nedegūs. Indikatoriai įdedami į kiekvienos pakuotės (maišelio ar kitų įvyniotų gaminių paketo) vidų (geometrinį centrą).

Sterilizavimo procesas efektyvus, jei Steam-Clox 121 C „1-3“ ar „1-4“dėmės nusidažo žalia spalva. Dėmių „1-3“ nusidažymas žalia spalva rodo, kad garai įkaitino paketą iki 121ºC ir jį veikė 13–17 min. Jei nusidažė ir dėmė „4”,121ºC garai veikė ilgiau nei 18 min., žalia spalva nusidažė tik „1” dėmė – garai neįšildė paketo ir sterilizavimo sąlygos nepasiektos, dėmė „2” nenusidažė arba nusidažė šiek tiek žalia spalva – sterilizacija neįvyko.

Sterilizacija garais prevakuumo tipo sterilizatoriuose yra patikima, kai dėmės „1-3” nusidažo žalia spalva – garai paketą įkaitino iki 134ºC, nusidažius dėmėms „1-2” – sterilizavimo sąlygos pasiektos per 2–3 min, o jei nusidažo ir dėmė „3” – prisotinti garai veikė ilgiau nei 3 min.

Indikatorinės juostos sterilizavimo garais kontrolei. Indikatorinės lipnios juostos yra skirtos sterilizavimo garais 121ºC temperatūros režimo cheminei kontrolei. Jos naudojamos paketams sutvirtinti ir žymėti. Indikatorinės juostos yra išoriniai cheminiai indikatoriai, parodantys, kad gaminiai buvo sterilizuoti. Indikatorinės juostos yra įvairaus pločio (1,3 cm, 1,9 cm, 2,5 cm). Jos yra susuktos į ritinius. Viename ritinyje yra 55 m juostos. Vienos juostos paviršius yra lipnus, nes padengtas klijais, kitame paviršiuje – balsvos spalvos cheminių dažų linijos, kurios, veikiamos garų, tampa juodos spalvos. Iš ritinio atkerpama reikalingo ilgio juosta ir prilipdoma ant sterilizuojamų gaminių pakuočių (paketų, biksų, dėžučių, kasečių). Ant juostos galima pažymėti sterilizavimo datą, sterilizatoriaus ir krovinio numerį bei kitus reikalingus duomenis. Po teisingos sterilizacijos garais juostų cheminių dažų

linijos nusidažo juoda spalva. Tai patvirtina, kad pakuotė ar talpykla su gaminiais buvo sterilizuota. Atidarant paketus, juostos lengvai nuplėšiamos.

Darbo aprašymas.

Priemonės:

- instrumentai,
- sterilizatorius,
- kontroliniai indikatoriai.

Paruoštus sterilizacijai instrumentus būtina rūšiuoti, pakuoti ir sterilizuoti autoklave. Prieš sterilizaciją priklijuoti ir į pakuotę įdėti indikatorių sterilumo kontrolei vertinti. Po sterilizacijos reikia vertinti indikatoriaus pokyčius ir įklijuoti jį į krovinio registracijos kortelių žurnalą Nr.3.

Užduotys:

1. Supakuoti instrumentus ir įdėti indikatorius.
2. Pasirinkti sterilizacijos režimą.
3. Po sterilizacijos įvertinti sterilumo kontrolę.

Kontroliniai klausimai

1. Kas yra sterilizacija?
2. Kokie yra galimi sterilizacijos metodai?
3. Kokie yra autoklavo veikimo principas ir režimas?
4. Kokie yra karšto oro sterilizatoriaus veikimo principas ir režimas?
5. Nuo ko priklauso sterilizacijos autoklavu efektyvumas?
6. Išvardinkite autoklavo sterilumo patikros būdus.

7. BAKTERINIŲ INFEKCIJŲ MIKROBIOLOGINĖ DIAGNOSTIKA

Tikslas – supažindinti su bakteriologinio tyrimo metodais ir jų reikšme infekcijų diagnostikai.

Komentaras. Mikrobiologijos laboratorijoje tam tikrais tyrimo metodais iš klinikinės tiriamosios medžiagos išskiriami infekcijų sukėlėjai ir identifikuojami, t. y. nustatomas jų priklausymas konkrečiai genčiai ir rūšiai. Infekcijų laboratorinė diagnostika priklauso ne tik nuo teisingo patologinės medžiagos paėmimo, gabenimo, bet ir nuo personalo, dirbančio klinikinės mikrobiologijos laboratorijoje, kvalifikacijos, kompetencijos bei techninių galimybių. Tiriamoji medžiaga imama laikantis aseptikos ir antiseptikos reikalavimų.

Laboratorinio tyrimo metodai, naudojami infekcinių ligų diagnostikai

A. Mikroskopinis tyrimo metodas. Imamas klinikinės tiriamosios medžiagos tepinėlis, dažomas Gramo būdu, nustatoma ne tik sukėlėjo morfologija (forma, dydis, išsidėstymas, ar turi kapsulę, ar sudaro sporas), bet ir ląstelės sienelės struktūra. Ląstelės sienelės struktūros žinojimas yra svarbus skiriant antimikrobinį gydymą.

B. Bakteriologinis tyrimo metodas. Šio tyrimo **tikslas** – išskirti iš klinikinės tiriamosios medžiagos infekcijos sukėlėją, išauginti jo grynąją pagausintą kultūrą, ją identifikuoti ir nustatyti atsparumą antibiotikams (antibiogramą).

Tyrimo etapai:

1. Tiriamosios medžiagos paėmimas gabenamosiomis terpėmis.
2. Gabenimas į mikrobiologijos laboratoriją.
3. Grynosios infekcijos sukėlėjo kultūros išauginimas. Sėjimas į pasirinktas tam tikras mitybines terpes (remiantis žiniomis, kas gali sukelti tiriamą infekciją),siekiant gauti pavienes kolonijas, kurias pagausinus, gaunama grynoji pagausinta infekcijos sukėlėjo kultūra.
4. Išskirtos grynosios pagausintos kultūros identifikavimas:
   - nustačius išskirtos bakterijų kultūros biocheminius savybes (atlikus biocheminius testus).
   - jei nepakanka biocheminio aktyvumo nustatymo, nustatomi išskirtų bakterijų antigenai (atliekami imunologiniai testai).
5. Identifikuotų infekcijos sukėlėjų atsparumo antibiotikams (antibiogramos) nustatymas.

C. Imunologinis tyrimo metodas. Taikomas identifikuojant ir kiekybiškai nustatant antigenus (ar antikūnus) klinikinėje tiriamojoje medžiagoje, vertinant imuninį atsaką į

infekcijų sukėlėjus. Antigeno-antikūno sąveika specifiška ir jautri daugelyje imunologinių tyrimų. Šiuo tyrimo metodu tiriamojoje medžiagoje, remiantis antigenine sandara, identifikuojami infekcijų sukėlėjai, nustatoma sukėlėjo serogrupė ir/ar serovariantas. Naudojami imunologiniai testai su žinomais antigenų ar antikūnų diagnostikumais. Šiuo tyrimo metodu galima nustatyti ne tik antikūnus, bet ir jų koncentraciją (titrą) ligonio kraujo serume.

D. Molekulinė diagnostika (geninė analizė). DNR, RNR arba infekcijos sukėlėjo baltymai padeda identifikuoti sukėlėją, net jeigu jo negalima išskirti iš tiriamosios medžiagos arba identifikuoti imunologiniais testais. Molekulinės diagnostikos privalumai yra jautrumas, specifiškumas ir saugumas. Metodas saugus, kadangi infekcijos sukėlėjo nebūtina išskirti iš tiriamosios medžiagos, tyrimas atliekamas su chemiškai fiksuotais (inaktyvintais) mėginiais arba ekstraktais. Metodas jautrus, aptinkamos net pavienės DNR molekulės, pvz., viruso DNR nustatoma audiniuose net tuomet, kai sukėlėjas nesidaugina arba nesintetina patogeniškumo veiksnių. Metodas specifiškas, todėl atskiriamos mikroorganizmų padermės, remiantis jų genotipo skirtumais (mutantai). Tai svarbu išskiriant antivirusines, vaistams atsparias padermes, kurios gali skirtis tik vienu nukleotidu. Molekuliniai tyrimo metodai, kaip DNR-DNR ar DNR-RNR hibridizacija naudojami infekcijų sukėlėjams identifikuoti. DNR-DNR ar DNR-RNR hibridizacija atliekama siekiant nustatyti tiriamojoje medžiagoje sukėlėjo nukleorūgštį. Šis tyrimas vertingas identifikuojant sukėlėjus, kurie ilgai auga, neauga ar sunkiai auga mitybinėse terpėse. DNR hibridizacijos technologija sparčiai tobulėja, šis tyrimo metodas tapo rutininiu infekcijų mikrobiologinėje diagnostikoje.

Kontroliniai klausimai:

1. Kuo svarbus morfologinis tyrimo metodas?
2. Apibūdinkite bakteriologinio tyrimo etapus ir svarbą.
3. Kada naudojama geninė analizė infekcijų diagnostikoje?
4. Ką nustatome imunologiniais testais?

8. KRAUJO PAĖMIMAS IR GABENIMAS MIKROBIOLOGINIAM TYRIMUI

Tikslas – išmanyti kraujo bakteriologinio tyrimo reikšmę, gebėti paimti kraujo mikrobiologiniam ištyrimui ir tinkamai pristatyti į laboratoriją, laikantis metodinių rekomendacijų.

Komentaras. Sepsis – infekcinis procesas, vyraujant klinikiniam morfologiniam sindromui, pasireiškiančiam mikroorganizmams iš kraujo patekus į organus, čia dauginantis ir vėl pakartotinai patekus į kraują. Kraujotakos sistemos infekcijos yra didėjančio sergamumo ir mirštamumo priežastis. Jį sukelia stafilokokai, streptokokai, gramneigiamos bakterijos, grybeliai. Bakterijų ir grybelių sukeltas sepsis yra viena pavojingiausių infekcinių ligų, todėl mikroorganizmų nustatymas kraujyje bei jų identifikavimas yra labai svarbi mikrobiologijos laboratorijų funkcija. Taigi sėkmingai šių infekcijų baigčiai reikalinga greita etimologinė diagnostika ir laiku pradėtas gydymas tinkamais antibiotikais. Šiuo metu kraujo pasėlis laikomas aukso standartu kraujo infekcijoms nustatyti. Jo specifiškumas didelis, tačiau jautrumą mažina išankstinis gydymas plataus spektro antibiotikais ir lėtai augantys, lepūs kultivavimui sepsio sukėlėjai. Sepsio diagnostika kraujo pasėliu yra ilgas procesas – reikia laukti, kol mikroorganizmai dauginasi ir pasiekia didelį ląstelių skaičių. Dažniausiai praeina 48–72 val., kol patvirtinama bakterinės kilmės infekcija (identifikuojamas sukėlėjas ir įvertinamas jo atsparumas antibiotikams), o grybinės infekcijos atveju užtrukama ilgiau nei 72 val., ir gali būti, kad kraujo pasėlis bus neigiamas. Anksčiau sepsio diagnozei patvirtinti pakakdavo nustatyti bakteriemiją, leukocitozę, karščiavimą. Tačiau jau antrą dešimtmetį yra plačiai naudojami 1991 m. ACCM/SCCM (Amerikos krūtinės ląstos gydytojų kolegija ir Kritinių būklių medicinos draugija) sutarimo konferencijos rekomenduoti sepsio diagnostikos kriterijai.

Klinikinę lokalios infekcijos diagnozę rekomenduojama patvirtinti mikrobiologinio tyrimo rezultatais, paėmus medžiagos iš infekcijos židinio. Sepsio diagnozei patvirtinti gali užtekti klinikinių simptomų, tačiau kraujo pasėlyje rastos bakterijos padeda pagrįsti diagnozę ir skirti tikslingą antibiotikų terapiją. Bakteriemija apibūdinama kaip gyvybingų bakterijų radimas kraujyje, tačiau ji nėra nei būtina, nei pakankama sepsio diagnozei nustatyti. Bakteremija dažnai esti trumpalaikė, kartais praeina be reikšmingų padarinių. Kitais atvejais pasireiškia sunki lokali infekcija su neabejotinomis sunkiausiomis sepsio komplikacijomis, o bakteriemijos nustatyti nepavyksta. Pirminė bakteriemija nustatoma, kai kraujo pasėlyje randama gyvybingų bakterijų, tačiau nei klinikiniais, nei mikrobiologiniais tyrimais

nepavyksta patvirtinti pirminės infekcijos lokalizacijos. Pasėlis yra patikimas metodas infekcijai patvirtinti, tačiau jo tyrimo rezultatai nerodo organizmo atsako ir nepadeda atskirti bakterijų kolonizacijos nuo infekcijos. Įtarus sepsį atliekama:

- tiriamosios medžiagos tepinėlis, dažomas Gramo metodu,
- sukėlėjų iš kraujo pasėlio išauginimas ir identifikavimas,
- sukėlėjų atsparumo antibiotikams nustatymas.

Infekciją patvirtinti padeda mikrobiologiniai tyrimai, tačiau tikslių jų rezultatų reikia laukti kelias dienas. Mikrobiologiniais tyrimais nustatyta infekcija, esant sisteminio uždegimo atsako sindromo simptomams, patvirtina sepsio diagnozę. Tačiau bakterijų augimo pasėliuose galima nerasti dėl netinkamos tyrimo metodikos ar anksčiau skirtos antibakterinės terapijos. Tyrimais nustatyta, kad esant sunkiam sepsiui, kai mikrobiologiniais tyrimais nepavykta atpažinti infekcijos sukėlėjų, gydymo rezultatai yra blogesni. Vien tik mikrobiologinių tyrimų duomenimis, be klinikinio įvertinimo negalima atsakyti į klausimą, ar tai yra infekcija, ar tik kolonizacija (pvz., kateterio, endotrachėjinio vamzdelio). Tiriant mikrobiologiškai, bakterijų augimo pasėliuose gali nebūti, nors medžiaga pasėliui buvo paimta tiksliai iš infekcijos židinio. Tai gali būti susiję su prieš tyrimą skirtų efektyvių antibiotikų poveikiu, netiksliai iš židinio paimta medžiaga (trachėjos sekreto aspiracija, o ne sekretas iš smulkiųjų bronchų, esant židininei pneumonijai) arba pasėlis atliktas į mitybinę terpę, kurioje infekcijos sukėlėjas neauga (pvz., *Pneumocystis carinii*). Kadangi mikrobiologiniai tyrimai užtrunka ilgiau, o tikslus sepsio diagnozės patvirtinimas gali paveikti antibiotikų terapiją, infekcijos židinio gydymo taktiką, pasėliui paimtos medžiagos (skreplių, šlapimo) tyrimas Gramo metodu ne visada atitinka galutinius pasėlių rezultatus ir gali lemti neadekvačią antibiotikų terapiją. Klinicistai yra linkę skirti sunkių būklių (sunki trauma, būklė po sudėtingų operacijų, pankreatitas) pacientams antibiotikų terapiją, kai yra sisteminio uždegimo atsako simptomai, bet dar nėra patvirtintos bakterinės infekcijos. Tokia gydymo taktika skatina gausesnį antibiotikų vartojimą, atsparumo antibiotikams didėjimą. Ankstyvai sepsio diagnostikai ir gydymo taktikos parinkimui reikalingi tikslesni ir greitai atliekami diagnostiniai tyrimai.

Sepsio diagnostikos kriterijai nurodyti LR sveikatos apsaugos ministro 2005 m. spalio 27 d. įsakyme Nr. V-820 „Dėl sepsio gydymo stacionarinių paslaugų teikimo asmens sveikatos priežiūros įstaigose reikalavimų, bazinių kainų ir apmokėjimo tvarkos aprašo patvirtinimo“ (6 lentelė).

6 lentelė. Sepsio diagnostikos kriterijai Lietuvos Respublikos sveikatos apsaugos ministro 2005 m. spalio 27 d. įsakyme Nr. V-820 „Dėl sepsio gydymo stacionarinių paslaugų teikimo asmens sveikatos priežiūros įstaigose reikalavimų, bazinių kainų ir apmokėjimo tvarkos aprašo patvirtinimo“

Sepsis (ligos kodai pagal Tarptautinės statistinės ligų ir sveikatos problemų klasifikacijos dešimtąją redakciją – A39.2, A39.4, A40, A41)	Tai organizmo sisteminis uždegimo atsakas į infekciją, kuriam būdinga: – kūno temperatūra >38 °C arba <36 °C; – širdies susitraukimų dažnis >100 k/min. (naujagimių >180 k./min., kūdikių ir vaikų iki 12 m. >160 k/min.); – kvėpavimo dažnis >20 k/min. (naujagimių >60 k/min., kūdikių ir vaikų iki12 m. >40 k./min.); – leukocitų kiekis kraujyje >15 × 109 /l arba <4 × 109 /l
Sepsio diagnozė patvirtinama nustačius	– bakteriemiją (bent kartą gavus teigiamą kraujo pasėlio rezultatą); – teigiamą intraveninio gydymo antibakteriniais vaistais poveikį.
Jei kraujo pasėlio rezultatas neigiamas, sepsis diagnozuojamas nustačius	– šio aprašo pirmame punkte išvardytus rodiklius; – C reaktyviojo baltymo koncentraciją >100 mg/l ir (ar) prokalcitonino koncentracija >2 nmg/ml; – teigiamą intraveninio gydymo antibakteriniais vaistais poveikį; – dauginį (daugiau nei dviejų organų) pakenkimą: – inkstų – kreatinino klirensą <60 ml/min. ir (ar) >150 μmol/l kreatinino koncentraciją kraujyje; – kepenų – asparagininės transaminazės (serumo – gliutamatoksaloacetattransaminazės) koncentraciją >40 u/l ir (ar) alanininės transaminazės (serumo liutamatpiruvattransaminazės) koncentraciją kraujyje >40 u/l, ir (ar) šarminės fosfatazės koncentraciją kraujyje >120 u/l, ir (ar) gama gliutamiltranspeptidazės koncentraciją >40 u/l, naujagimių – viršijančią amžiaus normą; – širdies ir kraujagyslių sistemos – sistolinį kraujo spaudimą <90 mmHg (jei nėra kitų priežasčių, dėl kurių gali sumažėti kraujospūdis) ir(ar) ritmo sutrikimą, ir(ar) kairiojo skilvelio išmetimo frakciją <30%, naujagimių ir kūdikių – mažesnį nei amžiaus norma sistolinį kraujo spaudimą; – kvėpavimo sistemos – parcialinį deguonies slėgį arteriniame kraujyje <60 mmHg ir (ar) parcialinį anglies dvideginio slėgį arteriniame kraujyje >50 mmHg, ir (ar) jei taikoma dirbtinė plaučių ventiliacija; – krešumo sistemos – trombocitų skaičių <100 × 109/l ar >500 ×109/l ir (ar) < 30% protrombino indeksą, jei nebuvo vartojama peroralinių antikoaguliantų.

Kraujo bakteriologinio tyrimas. Kraujas yra sterilus. Kraujo pasėlių tyrimai atliekami siekiant išskirti sepsio sukėlėją, jį identifikuoti ir nustatyti atsparumą antibiotikams.

Skiriami du – teigiamame kraujo pasėlyje ir tiesiogiai kraujyje – sepsio sukėlėjų nustatymo būdai. Vaikų, sergančių sepsiu, kraujyje bakterijų kiekis yra didesnis – daugiau nei 100 KSV/ml. Nustatyta, kad sergančių sepsiu suaugusių žmonių kraujyje yra nuo 1 iki 30 sukėlėjų 1 ml, t.y. kolonijas sudarančių vienetų – KSV/ml. Šis rodiklis nurodo kraujyje esančius tik gyvus sepsio sukėlėjus. Žuvusių sukėlėjų ir jų DNR kiekio šis rodiklis nenurodo. Teigiamame kraujo pasėlyje sepsio sukėlėjai nustatomi atliekant bakteriologinį tyrimą ar molekuliniais metodais identifikuojant sukėlėjo baltymus ir nukleorūgštis. Vienas iš pagrindinių kraujo pasėlius ribojančių veiksnių yra laikas nuo pasėlio pradžios iki tyrimo rezultatų gavimo ir jų vertinimo, kuris gali trukti 48–72 val. ir ilgiau. Todėl per pastaruosius

dešimtmečius siūlomi įvairūs nauji sepsio molekuliniai tyrimo metodai, lemiantys greitesnę sepsio diagnostiką, nustatant sukėlėją tiesiogiai kraujyje.

Kraujo paėmimas ir tyrimo eiga. Oda iš pradžių nuvaloma 70%etanoliu, po to 2% jodo tinktūra ir paliekama nudžiūti 1 min. Paėmus kraują, odą reikėtų dar kartą nuvalyti 70%etanoliu, kad jodui neišsivystytų alerginė reakcija. Kraujas imamas *BD Vacutainer®* – vakuuminiais kraujo pasėlio mėgintuvėliais. Pageidautina, kad kraujas bakteriologiniam tyrimui turėtų būti paimtas prieš antimikrobinių vaistų vartojimą. Kraujas (5–10 ml) imamas aseptinėmis sąlygomis iš venos ir sėjamas į du tam tikrus mitybinės terpės buteliukus (vienas buteliukas skirtas aerobinėms ir fakultatyvinėms anaerobinėms bakterijoms, o antrasis– obligatinėms (molekulinis deguonis yra žalingas) anaerobinėms bakterijoms .Kraujo ir mitybinės terpės santykis turėtų būti apie 1:10. Tam tikros kraujo kultūrų identifikavimo sistemos turi 0,05% natrio polietanolio sulfato, neutralizuojančio tiriamajame kraujyje esančias antimikrobines medžiagas. Sėjamo kraujo tūris nurodytas buteliuko etiketėje.

Pasėliai kultivuojami 37 °C temperatūroje. Naudojant šiuolaikines automatizuotas VITEK, ESP Culture Trek Diagnostic Systems, BACTEC ir BACT/ALERT kraujo pasėlio sistemas, bakterijų augimą kraujo pasėliuose aptikti galima po 12–24 val. Be to, šios pažangios technologijos gali aptikti bakterijas kraujyje esant 1–2 KSV/ml koncentracijai. Kai automatinis termostatas užfiksuoja kraujo pasėlyje išaugusias bakterijų ar mielinių grybelių kultūras (maždaug po 24–48 val. inkubavimo), šie mikroorganizmai identifikuojami, remiantis biologinių savybių nustatymo testais ir, jei reikia, imunologiniais testais. Remiantis kraujo tepinėliu, dažytu Gramo būdu, nustatoma, kas yra pasėlyje, t. y. gramteigiamos ar gramneigiamos bakterijos, kokai ar lazdelės, bakterijos ar mieliagrybiai. Ši informacija leidžia gydytojams parinkti antibiotikus empirinei terapijai. Sepsio sukėlėjai gali būti visiškai identifikuoti vidutiniškai per dvi paras, bet gali užtrukti ir ilgiau, jei mikroorganizmai išrankūs, lėtai augantys arbai netipiniai. Papildomos 24 val. yra būtinos ištirti mikroorganizmų atsparumą antibiotikams, nepaisant daugelio patobulinimų ir standartizavimų šiems procesams paspartinti.

Kontroliniai klausimai

1. Kas yra bakteriemija?
2. Kokios sąlygos lemia bakteriemijos išsivystymą?
3. Kurios bakterijos dažniausiai sukelia naujagimių sepsį?
4. Kaip reikia imti kraują mikrobiologiniam tyrimui?

Pastaba! Praktikos darbai, esant galimybei, vyksta Kauno klinikinės ligoninės Mikrobiologijos laboratorijoje.

9. ŠLAPIMO SURINKIMAS IR GABENIMAS MIKROBIOLOGINIAM TYRIMUI

Tikslas – susipažinti su šlapimo takų infekcijų sukėlėjais, šlapimo takų infekcijų laboratorine diagnostika, gebėti surinkti šlapimą bakteriologiniam tyrimui.

Komentaras. Šlapimo takų infekcijos (ŠTI) – vienos dažniausių infekcinių ligų, kuriomis serga įvairaus amžiaus žmonės: 1–15 m. amžiaus grupėje – apie 4 proc. mergaičių ir 0,5 proc. berniukų; 16–35 m. – 20 proc. moterų ir 0,5 proc. vyrų; daugiau nei 65 m. – 40 proc. moterų ir 35 proc. vyrų. Sveikoms ikimenopauzinio amžiaus moterims ŠTI lemia dažni lytiniai santykiai (≥ 3 k. per sav.), jau buvusi ŠTI per paskutinius 12 mėn., naujas seksualinis partneris, spermicidinių priemonių naudojimas, o vyresnėms moterims – šlapimo nelaikymas. Nėščios moterys taip pat dažniau serga ŠTI. Tai lemia šlapimo takų atonija, nėštumo sukelta imunosupresija, gimdos spaudimas į šlapimo pūslę ir šlapimo takus.

ŠTI sukelia įvairūs mikroorganizmai: gramteigiami kokai (pav., *Staphylococcus saprophyticus*), gramneigiamos lazdelės (pvz., apie 80 proc. visų ŠTI atvejų sukelia *Escherichia coli*, kiti galimi sukėlėjai yra *Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis* ir kt. bakterijos), taip pat grybeliai (pvz., *Candida albicans*).Dažniausiai mikroorganizmai į šlapimo takus patenka ascendentiniu būdu iš tarpvietės, sepsio metu – hematogeniniu, daug rečiau – limfogeniniu.

Anksčiau laikyta, kad kliniškai reikšminga bakteriurija yra būklė, kai šlapime randama daugiau nei 10^5 kolonijas sudarančių vienetų 1 mililitre (KSV/ml.) mikroorganizmų. Per pastaruosius kelerius metus požiūris pasikeitė. Šiandien pripažįstama, kad nėra vieno konkretaus bakterijų skaičiaus, būdingo kliniškai reikšmingai bakteriurijai. Kad moterims ir vyrams būtų patvirtinta simptominės ŠTI diagnozė, pakanka rasti mažiau nei 10^3–10^4sukėlėjų KSV/ml.

Besimptomė bakteriurija diagnozuojama tik tikslingai tiriant rizikos grupių pacientus. Klinikinių ŠTI požymių nebūna, nerandama ir pakitimų (leukociturijos) šlapimo tyrime. Diagnozę patvirtina teigiamas šlapimo pasėlis, kai nustatoma, jog šlapime yra 10^3–10^5 KFV/ml mikroorganizmų. Vyrų besimptomės bakteriurijos diagnozę patvirtina vienas teigiamas šlapimo pasėlis, o moterų – du, paimti ne dažniau kaip kas 24 val. Nėščias moteris, esant besimptomei bakteriurijai, rekomenduojama tirti 12–16 nėštumo savaitę.

Šlapimo mėginio pasėliui paėmimo metodika. Bakteriologiniam tyrimui tiek vyrams, tiek moterims geriausiai tinka vidurinė rytinio šlapimo porcija. Iki gabenimo į mikrobiologijos laboratoriją, šlapimo mėginius pasėliui privalu laikyti šaldytuve. Surinkimo

metu šlapimas gali užsiteršti odos, šlaplės arba makšties mikroflora. Todėl siūloma paruošti šlapimo ėmimo instrukciją ir ją pateikti tiriamajam asmeniui.

Vengiant klaidų šlapimo tyrimo metu, reikia laikytis tam tikrų reikalavimų:

- prieš renkant šlapimą nesišlapinti 4–6 val. ir mažiausiai 48 val. nevartoti antimikrobinių preparatų;
- prieš renkant šlapimą švariu vandeniu būtina gerai apsiplauti išorinius lytinius organus (nenaudoti aseptikų, muilo ir kt. ploviklių);
- šlapimas turi būti surinktas tik į vienkartinius indus;
- tyrimui rekomenduojama naudoti tik rytinį šlapimą, nes rytinės porcijos šlapimas užtikrina, kad jis pakankamai ilgą laiką buvo šlapimo pūslėje, o ir jo sudėtis palyginti nedaug priklauso nuo maisto ir kitų veiksnių;
- į šlapimo indelį surenkama šlapimo *„vidurinė porcija“*, t. y. pirmąją čiurkšlę nuleisti į tualetą, paskui į indelį (apie 20–40 ml) ir baigti į tualetą. Indelis būtinai turi būti sterilus (nusipirkti vaistinėje arba gauti laboratorijoje);
- nerekomenduojama tirti ką tik paimto šilto šlapimo, nes tai turi įtakos tyrimo kokybei;
- nerekomenduojama atlikti tyrimą moterims mėnesinių metu. Reikia atkreipti dėmesį, kad dar 2–3 dienas po mėnesinių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs;
- paimtą šlapimą reikia ištirti per 2 val., nes laikant ilgiau vyksta eritrocitų, leukocitų irimas, šlapime dauginasi iš išorės patekusios bakterijos, kurios skaido gliukozę, kinta šlapimo pH, o visa tai lemia netikslius tyrimo rezultatus;
- tyrimui atlikti reikia 30–50 ml šlapimo (minimalus kiekis – 10 ml);
- renkant kūdikio šlapimą, negalima šlapimo spausti iš įklotų, vatos ar kitos skystį sugeriančios medžiagos;
- kūdikio šlapimui surinkti patogiausia naudoti specialius vienkartinius prilipinamus indelius;
- indelį su šlapimu sandariai uždaryti, laikyti šaltai (šaldytuve)ir per dieną pristatyti į laboratoriją.

Tiksliausiai šlapimas bakteriologiniam tyrimui paimamas adata punktuojant šlapimo pūslę. Šis metodas tinka kūdikiams ir ligoniams, kuriems kitais būdais sudėtinga paimti šlapimą. Kateteriu šlapimą rinkti nerekomenduojama, nes šios procedūros metu šlaplės mikroorganizmai gali infekuoti šlapimo pūslę.

Mikroorganizmai šlapime dauginasi labai greitai, todėl reikia kuo greičiau pristatyti į mikrobiologijos laboratoriją – per 1 val. po surinkimo. Jei to padaryti neįmanoma, laikyti šaldytuve +4 °C temperatūroje ne ilgiau nei 8 val., išskirtiniais atvejais – iki 18 val. Jei nėra

galimybės tuoj pat pristatyti šlapimą į laboratoriją, rekomenduojama naudoti specialius šlapimo gabenimo indus, turinčius mikroorganizmų dauginimosi stabilizatorius, kuriuos galima laikyti kambario temperatūroje24 val. Šlapimo kiekis šiuose induose neturėtų būti mažesnis nei 3 ml.

Siuntimo pažymoje turi būti pažymėtas tikslus šlapimo paėmimo laikas (data, valanda, minutės), paėmimo būdas. Jei šių rodiklių nėra, reikia pakartoti bandinį. Bandinį pakartoti reikia ir tuo atveju, jei pažymoje nenurodyta, kad bandinys laikytas +4 °C temperatūroje, paimtas daugiau nei prieš 2 val.

Jei naujo pakartoto bandinio gauti negalima, o tiriamasis bandinys buvo paimtas, gabentas ar laikytas netinkamai, atsakyme rašoma, kad tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.

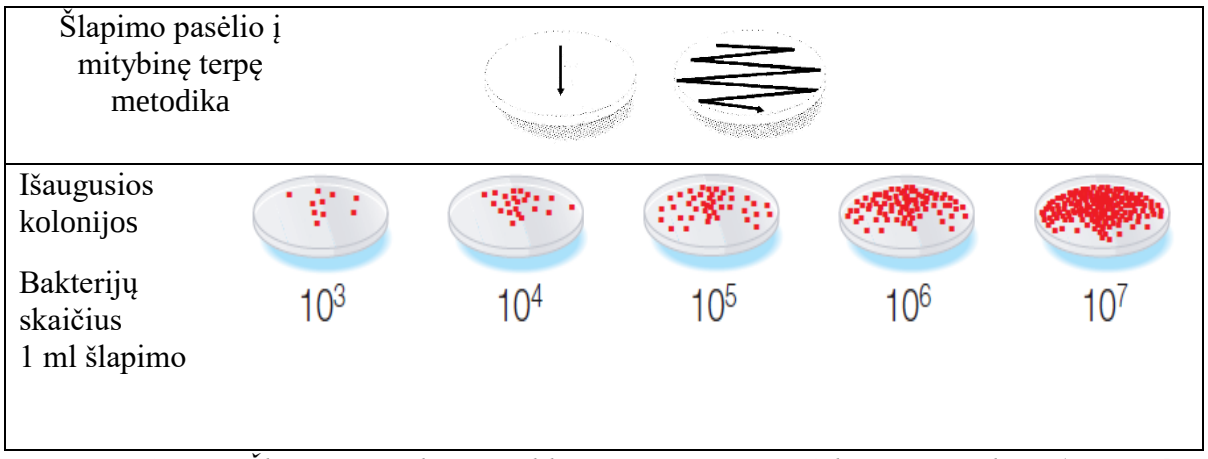
Šlapimo bakteriologinis tyrimas. Dažnai mikrobiologijos laboratorijoje šlapimo pasėlis atliekamas dviem etapais. Pirmiausia atliekamas atrankinis šlapimo pasėlio tyrimas – šlapimas, surinktas į sterilų indelį, sėjamas ant URICULT (Orion Diagnostica, Suomija) juostelių, padengtų dviejų rūšių mitybine terpe. Bakterijos ant juostelės terpių auga vizualiai matomomis kolonijomis. Po 24 val. inkubacijos bakterijų koncentracija įvertinama lyginant su kontroliniais paveikslėliais. Esant mažesnei nei 10^4 bakterijų/ml koncentracijai, vertinama kaip normali nereikšminga mikroflora. Jei bakterijų koncentracija didesnė nei 10^4 bakterijų/ml, toks mėginys siunčiamas patvirtinti klasikinio bakteriologinio pasėlio metodu. Jei bakterijų kolonijos yra skirtingų spalvų, įtariamas šlapimo užterštumas pašaline mikroflora, šiuo atveju tyrimą reikia kartoti.

Šlapimo ėminio mikroskopinis tyrimas. Vieno ar daugiau sukėlėjo ląstelių nustatymas regėjimo lauke atitinka $\geq 10^5$mikroorganizmų 1 ml šlapimo. Orientacinės pirminės mikroskopijos ir bakteriurijos atitikimas (padidinimas 1000 kartų):

1. 1–3 mikroorganizmai regėjimo lauke 10^5KSV/ml;
2. 10–30 mikroorganizmai regėjimo lauke 10^6 KSV/ml;
3. >30 mikroorganizmai regėjimo lauke $>10^6$KSV/ml.

Vienas ar daugiau leukocitų viename regėjimo lauke rodo, kad yra šlapimo takų infekcija. Visame sveiko žmogaus šlapimo tepinėlyje randama tik keletas mikroorganizmų ar leukocitų. Moterų šlapimo tepinėliuose radus daugiau epitelinių ląstelių, nepaisant daug ar mažai mikroorganizmų, įtariama, kad šlapimas užterštas makšties mikroflora. Būtinas šlapimo ėminio pakartojimas.

Šlapimo ėminio pasėlio bakteriologinis tyrimas. Šlapimas mikrobiologijos laboratorijoje 10 µl sterilia plastikine bakteriologine kilpele sėjamas į tam tikras mitybines terpes, kuriose auga galimi šlapimo takų infekcijos sukėlėjai. Šlapimo pasėlis kultivuojamas 18–24 val.37 °C temperatūroje. Šlapimo pasėlio metodika ir vertinimas Bio-Rad firmos UriSelect™ 4 Medium Kit mitybinėje terpėje pateikta 15 pav.



15 pav. Šlapimo pasėlio metodika ir vertinimas UriSelect™ 4 Medium (Bio-Rad) terpėje (Bio-Rad Laboratories, 2012)

Daug metų manyta, kad tik 10^5 mikroorganizmų 1 ml vidurinės porcijos švariai paimto šlapimo patikimai patvirtina šlapimo takų infekcijos diagnozę. Kai kurie ekspertai mano, kad ir 10^4 ar net mažesnis kiekis taip pat rodo šlapimo takų infekcijos užuomazgas. Literatūroje yra duomenų, kad ne 10^4, bet 10^3 ar net 10^2KSV/ml reikėtų taip pat laikyti referentine normos reikšme. Tačiau sumažinus normos reikšmę, neretai patologiniu gali būti laikomas ir toks šlapimas, kuriame yra „minimali bakteriurija“,t. y. pakeitus normos reikšmę ir padidėjus tyrimo jautrumui, sumažėja jo specifiškumas. Kita vertus, 10^5 CFU nustatymas rodo ryškią bakteriuriją, o ypač jeigu išauga tapatus sukėlėjas net keletą kartų atlikus pasėlį.

Yra nuomonių, kad labai svarbus infekcijos rodiklis yra polimorfonuklearų nustatymas šlapime. Žinomi atvejai, kai pacientų šlapime nustatoma aiški bakteriurija, nors ligos simptomų ir nėra. Todėl neįmanoma tiksliai nustatyti minimalaus bakterijų skaičiaus 1 ml šlapimo, kuris įrodytų šlapimo takų infekciją, taip pat negalima teigti, kad leukocitai, esantys šlapime, taip pat yra akivaizdus šlapimo takų infekcijos įrodymas.

Nustačius ŠTI sukėlėją, būtina nustatyti jo atsparumą antibiotikams.

Kontroliniai klausimai

1. Kaip ŠTI sukėlėjai patenka į šlapimo takus ir inkstus?
2. Išvardinkite reikšmingiausius ŠTI sukėlėjus.
3. Kaip paruošti ligonį šlapimo ėminio mikrobiologiniam tyrimui surinkimui?
4. Kokios yra šlapimo laikymo ir transportavimo sąlygos?
5. Apibūdinkite šlapimo mikroskopinio tyrimo rezultatų vertinimą.
6. Apibūdinkite šlapimo bakteriologinio tyrimo rezultatų vertinimą

10. MEDŽIAGOS PAĖMIMAS CHLAMIDIOZĖS LABORATORINEI DIAGNOSTIKAI

Tikslas – susipažinti su chlamidiozės diagnostikos principais, tiriamosios medžiagos paėmimu ir laboratoriniais tyrimo metodais.

Komentaras. Urogenitaline chlamidioze užsikrečiama visų rūšių (vaginalinių, oralinių, analinių, heteroseksualių arba homoseksualių) lytinių santykių metu. Buityje, ypač laikantis asmens higienos, chlamidine infekcija neužsikrečiama. Užsikrėtusi motina kūdikiui infekciją gali perduoti gimdymo metu. Infekcijos šaltinis yra chlamidioze užsikrėtęs žmogus. Inkubacijos laikotarpis svyruoja nuo 7 iki 21 dienos. Iki 80%. moterų ir 50% vyrų nepasireiškia jokių požymių. *Chlamidia trachomatis* sukeltos urogenitalinės infekcijos diagnozei yra taikomi šie metodai:

1. Klinikinės medžiagos tyrimas ląstelių kultūros metodu. Nors tyrimo specifiškumas siekia beveik 100%., tačiau tyrimo jautrumas nėra pakankamas – apie 65–80%.

2. Tiesioginės imunofluorescencijos testas (TIFT). Testo jautrumas yra apie 50–90%, o specifiškumas – 96–99%.Tai yra chlamidiozės greitos diagnostikos testas, nereikalaujantis didelių sąnaudų. Nustatomi chlamidijų antigenai ar antikūnai.

3. Imunofermentinis testas (IFT). Testo jautrumas yra apie 20–85%, o specifiškumas – 90–95%. Nustatomi chlamidijų antigenai.

4. DNR (nuklerūgščių) hibridizacijos testas. Testo jautrumas yra apie 70–85%, o specifiškumas – 95–99%. Šis tyrimas tinka, kai reikia greitai automatiniu būdu ištirti daug mėginių, taip pat invaziniams mėginiams tirti. Trūkumai: tiriami mėginiai paimti iš lytinių ir šlapimo takų (šlapimas netinka).

5. ***Nukleorūgščių amplifikacijos testai (NRAT).*** Šie testai yra paremti chlamidijų DNR ar RNR aptikimu naudojant amplifikacijos reakcijas, tokias kaip polimerazės grandininė reakcija (PGR) ar ligazės grandininė reakcija (LGR). Naudojant šiuos testus, gali būti tiriami invaziniai (šlaplės, gimdos kaklelio tepinėliai) ir neinvaziniai mėginiai (pirma šlapimo porcija, mėginiai iš makšties). Kaip rodo tyrimai, moterys gali pačios paimti makšties mėginius, ir šių tyrimų rezultatai yra pakankamai tikslūs. NRAT yra 40–50% jautresni nei audinių ląstelių kultūra ar imunofermentinis testas. NRAT jautrumas tiriant gimdos kaklelio tepinėlį siekia 81–100%, moterų šlapimą – 80–96%, vyrų šlapimą – 85–96%. *Chlamidia trachomatis* NRAT būdu galima aptikti net 1–10 chlamidijų ląstelių, audinių ląstelių kultūrose kultivuojant nustatoma esant 10–100 chlamidijų ląstelių, TIT metodu chlamidijos nustatomos, kai jų yra 50–1000 ląstelių, o IFT – esant 1000–10 000

chlamidijų ląstelių. Chlamidiozės diagnozę lemia tiriamosios medžiagos paėmimo technika, gabenimo į mikrobiologijos laboratoriją sąlygos ir pasirinkti tyrimo metodai.

Bandinio paėmimas – vienas iš svarbiausių etapų visoje diagnostikos grandinėje.

Bandinio paėmimo priemonės:

- specialūs tamponėliai,
- specialūs objektyviniai stikleliai,
- dėžutė stikleliams laikyti,
- kateteris.

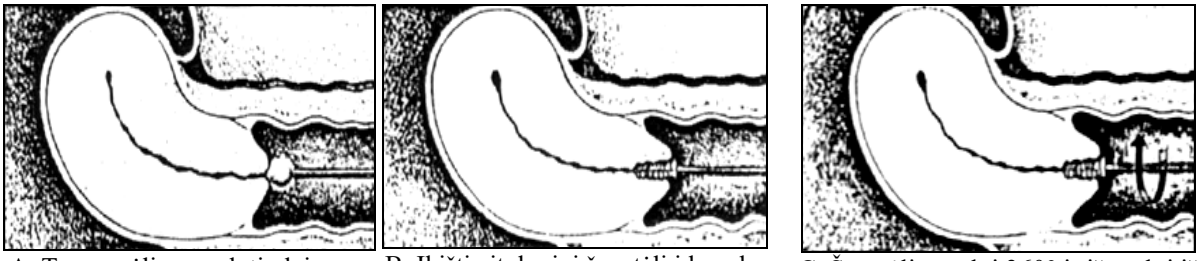
Tiriamoji medžiaga:

- tepinėlis iš šlaplės,
- tepinėlis iš gimdos kaklelio.

Prieš imant tiriamąją medžiagą reikia atminti, kad chlamidijos yra viduląsteliniai parazitai, kurie dauginasi epitelio ląstelėse ir jas pažeidžia, todėl nuo to, kaip bus paimtas bandinys, t.y. kiek ląstelių pateks į bandinį, priklausys ir laboratorinio tyrimo tikslumas.

Moterims patartina imti vienu metu du bandinius: iš gimdos kaklelio ir iš šlaplės.

Paėmus du bandinius, galimybė aptikti chlamidijas didėja iki 20%. Bandiniui paimti naudojami du tamponėliai, kuriais pašalinamos gleivės ir kitos išskyros. Šiuos tamponėlius galima panaudoti *Neisseria gonorrboeae* tyrimui. Naujas tamponėlis (šepetėlis) įkišamas į gimdos kaklelį ar šlaplę, laikomas 15 s sukant ir prispaudžiant prie gleivinės, kad būtų paimta kuo daugiau epitelio ląstelių. Tamponėlį ištraukiant iš gimdos kaklelio, svarbu neprisiliesti prie makšties sienelės (16 pav.).



A. Tamponėliu nuvalyti gleives nuo gimdos kaklelio prieangio

B. Įkišti citologinį šepetėlį į kanalą, palaukti 2–3 sek.

C. Šepetėlį pasukti 360° ir ištraukti iš gimdos kanalo (ištraukiant šepetėlį, neliesti makšties senelės)

16 pav. Bandinio paėmimas citologiniu šepetėliu iš gimdos kaklelio (nenėščioms moterims) (Putramentienė, 2003)

Paruošiamas tepinėlis ant objektinio stiklelio TIFT. Tamponėlis (šepetėlis) su mėginiu dedamas į mėgintuvėlį su transportine (gabenamaja) terpe IFT ar chlamidijų kultivavimui ląstelių kultūroje.

Bandinys naujagimiams imamas iš akių. Naudojamas didelis tamponėlis. Eksudatas (išskyros) šalinamos steriliu tamponėliu. Jei bandinys imamas iš abiejų akių, pirmiausia reikia imti iš mažiau pažeistos akies. Bandinį imti nuo apatinio voko vidinės pusės patrinant į voko gleivinę, kad būtų paimtos epitelio ląstelės, o po to nuo viršutinio voko (17 pav.).

17 pav. Bandinio paėmimas iš akių gleivinės (naujagimiams) (Putramentienė, 2003)

Pastaba. Siunčiant mėginį į laboratoriją būtina nurodyti, ar tyrimas atliekamas prieš, ar po gydymo. Reikia žinoti, kad tyrimas prieš gydymą atliekamas TIFT, IFT arba ląstelių kultūros metodu, o po gydymo rekomenduojamas chlamidijų išskyrimas ląstelių kultūroje. Taip yra todėl, kad po gydymo dar kurį laiką (2–3 sav., o kartais ir ilgiau) galima TIFT ar IFT aptikti chlamidijų antigeną ir klaidingai diagnozuoti buvusią infekciją. Naudojantis ląstelių kultūros metodu, aptinkamos tik gyvos chlamidijos ir tai yra aktyvios infekcijos įrodymas. Po sėkmingo gydymo gyvų chlamidijų organizme nebeaptinkama.

Preparato paruošimas imunofliorescentinei mikroskopijai– TIFT:

1. Ant sauso objektyvinio stiklelio, kuris laikomas kairiąja ranka, daromas tepinėlis. Dešiniąja ranka tepinėlis ritinamas pašildyto stiklelio paviršiumi, kad ląstelės nuo tamponėlio priliptų prie stiklelio;
2. Tepinėlis džiovinamas kambario temperatūroje;
3. Fiksuojamas šaltu acetonu, etilo ar metilo alkoholiu (užlašinant ant tepinėlio apie 50 mikrolitrų fiksatoriaus ir laukti kol išgaruos);
4. Tepinėlis džiovinamas kambario temperatūroje, pastačius jį vertikaliai;
5. Tepinėlį laikyti šaldytuve kelias dienas arba, jei galima, tuoj pat siųsti į laboratoriją liuminescentinei mikroskopijai. Laboratorijoje su paruoštu tepinėliu atliekamas TIFT.

Elementarių kūnelių, esančių epitelinėse ląstelėse, vertinimo kriterijai:

1. 200–300 nm dydis;
2. Fluorescuojanti „obuolio žalumo” spalva.

Atsakymas galimas, jei preparate yra pakankamai ląstelių ir specifinė fluorescencija:

1. Teigiamas – jei yra ≥5 elementarių kūnelių (EK);
2. Neigiamas – jei nėra EK.

Pastaba. Jei tam pačiam pacientui mėginyje iš šlaplės randami 2 EK – atsakymas teigiamas. Tačiau jei nepakanka ląstelių arba visai nėra, tai atsakyme rašoma – ląstelių nėra. Todėl mėginio vertinti negalima, tyrimą reikia kartoti. Tai reiškia, kad tiriamoji medžiaga blogai paimta, tepinėlyje nėra epitelinių ląstelių.

Tepinėlio paruošimas imunofermentiniam tyrimo metodui. Tamponavimas iš gimdos kaklelio ir šlapimtakio. Klinikinė medžiaga imama specialiais tamponėliais. Iki tyrimo mėgintuvėlis su tamponėliu laikomas užšaldytas -20 °C temperatūroje.

Tepinėlio paruošimas ląstelių kultūros užkrėtimui. Steriliu tamponėliu paimta tiriamoji medžiaga dedama į specialią transportinę terpę, esančią mėgintuvėlyje. Iš mėgintuvėlio išlindusi tamponėlio dalis nukerpama, paliekant terpėje vatos galiuką. Mėgintuvėlis užsukamas. Laikomas šaldytuve (+4 °C), jeigu bus persiųstas ne vėliau kaip per 24 val., arba šaldymo kameroje (-20 °C ar -70 °C), jei siunčiama tyrimui vėliau.

Bandinių gabenimas į laboratoriją. Bandinius būtina gabenti esant tai pačiai temperatūrai, kurioje jie buvo saugomi iki gabenimo. Dėl netinkamogabenimo arba per ilgo laikymo iki tyrimo, rezultatai gali būti netikslūs:

1. TIFT – tepinėlis įgauna matinę spalvą, vertinimas gerokai sunkesnis, galimos paklaidos.
2. IFT – ilgiau palaikius bandinius, prasideda bakterijų augimas, todėl rezultatai gali būti neteisingi.
3. Chlamidijos žus ir laboratorijoje ląstelių kultūroje jos nesidaugins, atsakymas bus klaidingas.

Įtarus chlamidiozę, rekomenduojama atlikti laboratorinius tyrimus:

- lytiškai aktyviems vyrams ir moterims;
- nėščioms moterims;
- motinoms, užsikrėtusioms chlamidijomis, ir naujagimiams;
- moterims, turinčioms vaisingumo problemų dėl sąrangų kiaušintakiuose;
- asmenims, turintiems užsikrėtimo chlamidijomis požymių;
- asmenims, turintiems kelis lytinius partnerius;
- asmenims, kurių lytiniai partneriai užsikrėtę chlamidijomis ar turi chlamidiozei būdingų simptomų;
- vyrams, sergantiems negonokokiniu uretritu ar epididimitu;
- asmenims, sergantiems kitomis lytiškai plintančiomis ligomis.

Kontroliniai klausimai

1. Apibūdinkite chlamidiozių laboratorinės diagnostikos metodus.
2. Tiriamosios medžiagos surinkimas ir gabenimas į laboratoriją.
3. Kurie asmenys tiriami dėl chlamidiozės grėsmės?

Pastaba! Praktikos darbai turi būti atliekami chlamidiozių diagnostikos centruose.

11. APLINKOS MIKROBINĖS TARŠOS TYRIMAI

Tikslas – gebėti nustatyti mikroorganizmų paplitimą gydymo įstaigų ore ir ant aplinkos objektų paviršių.

Uždaviniai:

1. *Gebėti imti oro mėginius sedimentacijos ir aspiraciniu metodu bei nustatyti:*
   1.1. bendrą bakterijų skaičių (KSV),
   1.2. *Staphylococcus aureus,*
   1.3. mielinius ir pelėsinius grybus,
   1.4. Pagalparodymus žarnyno grupės bakterijas bei kitasgramneigiamas ir gramteigiamas bakterijas.
2. *Imti plovinius nuo aplinkos objektų ir juose nustatyti:*
   2.1. koliformines bakterijas,
   2.2. *Staphylococcus aureus,*
   2.3. patogenines žarnyno bakterijas,
   2.4. patogeninius anaerobus ir kt.,
   2.5.*Pseudomonas aeroginosa*.
3. Registruoti mėginius ir įvertinti jų tinkamumą tyrimui;
4. Atlikti mėginių pasėlius į mitybines terpes;
5. Atlikti testus iš mėginių išskirtiems mikroorganizmams atpažinti;
6. Vertinti rezultatus;
7. Teikti atsakymus.

Darbo priemonės:

- oro siurblys,
- mėgintuvėliai,
- spiritinė lempelė,
- pipetės,
- Petri lėkštelės,
- bakteriologinės kilpelės,
- objektiniai stikleliai,
- Gramo dažų rinkinys,
- 70° ir 90° etanolis,
- kolonijų skaičiuoklis.

Mitybinės terpės:

- 6,5%NaCl buljonas,
- selenito buljonas,
- kodo terpė,
- kraujo agaras,
- kiaušinio trynio druskos agaras,
- manitolio druskos agaras,
- salmonelių–šigelių agaras (SSA terpė),
- Endo agaras,
- Hectoen enteric agaras,
- Plate count agaras,
- terpė mielių ir pelėsiniams grybams kultivuoti,
- trijų cukrų geležies agaras.

11.1. Oro mikrobinės taršos tyrimas

Darbo eiga. Oras tiriamas operacinėse, reanimacijos ir intensyviosios terapijos skyriuose bei palatose, perrišimo kambariuose ir pooperacinėse palatose.

Oro mėginiuose nustatomas bendras bakterijų skaičius arba kolonijas sudarančių vienetų skaičius (KSV) ir *Staphylococcus aureus* 1 m^3 oro. Esant epidemiologiniams parodymams gali būti nustatomi ir kiti patogeniniai bei sąlygiškai patogeniniai mikroorganizmai – mieliniai ir pelėsiniai grybeliai, *Streptococcus pyogenes*, gramteigiamos ir gramneigiamos bakterijos ir kt.

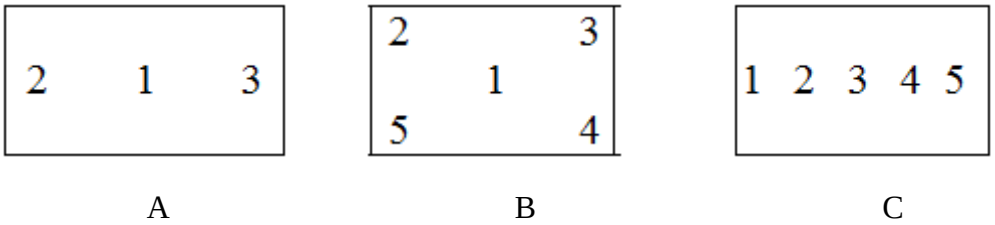
Oro mikrobinė tarša tiriama šiais metodais:

1. Sedimentacijos t.y. nusodinimo metodu. Oro mikrobinė tarša, nustatyta šiuo metodu, išreiškiama mikroorganizmų skaičiumi 1 m^3 oro. Nustatyta, kad ant 100 cm^3 paviršiaus ploto per 5 min. nusėda tiek mikroorganizmų, kiek jų yra 10 dm^3 oro. Šis būdas nėra tikslus, jo paklaida gali siekti apie 30%.

Nusodinimo metodu oro mėginiai imami pagal 17 pav. nurodytą schemą:

- Jei patalpų plotas iki 15 m^2, tai oro mėginys mikrobinei taršai nustatyti imamas pagal 17 pav. A schemą 1 taške.
- Kai patalpų plotas nuo 15 m^2 iki 100 m^2, oro mėginiai imami pagal 17 pav. A schemą 2 ir 3 taške.

- Jei patalpų plotas didesnis nei 100 m^2, tai oro mėginiai imami pagal 17 pav. B schemą 1, 2, 3, 4 ir 5 taškuose.
- Ilgose ir siaurose patalpose (kur ilgio ir pločio santykis 1:5) oro mėginiai imami pagal 17 pav. C schemą 2, 3 ir 4 taškuose. Atstumai tarp tų taškų turi būti ne didesni kaip 5 metrai, tačiau mėginiai gali būti imami ir visuose penkiuose taškuose.



17 pav. Oro mėginių ėmimo schema

Mikroorganizmų skaičius lm^3 oro apskaičiuojamas pagal formulę:

$$x = \frac{A * 100 * 1000 * 5}{B * t}$$

A – kolonijų skaičius Petri lėkštelėje;

B – Petri lėkštelės plotas, cm3;

t – ekspozicijos trukmė, min.

Staphylococcus aureus nustatyti naudojamas *5%* kraujo agaras. Pasėliai inkubuojami 37 °C temperatūros termostate 24 val., o dar 24 val.– kambario temperatūroje. Suskaičiuojamos visos S formos geltonos ar pilkos su hemolizės zona kolonijos, daromas jų tepinėlis ir dažomas Gramo būdu. Aptikus gramteigiamų kokų, išsidėsčiusių vynuogių kekės pavidalu, atliekami šie tapatumo nustatymo testai:

1. Plazmokoaguliazės testas.
2. DNR-azės testas.
3. Latexagliutinacijos testas.

Jeigu šie testai yra teigiami, aptiktos *Staphylococcus aureus* kolonijos perskaičiuojamos 1 m^3 oro pagal anksčiau nurodytą formulę.

2. Aspiraciniu metodu. Oro mėginiai gali būti imami oro mikrobiologinės taršos matavimo prietaisais. *Biotest RCS HIGH FLOW* – oro kokybės matuoklis yra naudojamas mikrobiologinei aplinkos oro kokybei, oro valymo prietaiso veiksmingumui ir

nukenksminimo priemonių efektyvumui nustatyti. Šiais prietaisais lengvai nustatoma ore esančių mikroorganizmų koncentracija. Pastaroji procedūra taikoma šiose srityse:

- farmacinės pramonės steriliose ir aseptinėse gamybos linijose,
- ligonių operacinėse ir intensyviosios priežiūros skyriuose,
- maisto ir gėrimų pramonėje,
- kosmetikos pramonėje,
- pakavimo pramonėje,
- bendrai vidaus ir lauko oro kokybei nustatyti.

Oro kokybės matuoklis siurbia orą pagal nustatytą programą – per tam tikrą laiką susiurbia tam tikrą kiekį oro. Siurbimo metu ore esančios bakterijos ir grybeliai patenka ant aparate įdėto Petri lėkštelėje esančio tam tikro agaro paviršių. Baigus siurbimą Petri lėkštelė išimama iš aparato, dedama į termostatą ir kultivuojama 1–5 paras (7 lentelė). KSV skaičiui nustatyti naudojamas triptozės sojos agaras – auga bakterijos, kraujo agaras – auga reiklios bakterijos (pvz., streptokokai), manitolio druskos agaras – *Staphylococcus aureus*, pelėsiniams grybams ir mielėms – Saburo agaras.

7lentelė. Oro mėginių kultivavimotermostate trukmė ir temperatūra

Mikroorganizmai	Temperatūra	Inkubacijos trukmė
Bakterijos	35 °C	2–3 paros
Staphylococcus aureus	35 °C	20–24 val.
Mielės ir pelėsiniai grybai	20–25 °C	3–5 paros

Po kultivavimo skaičiuojamos išaugusios mikroorganizmų kolonijos. Mikroorganizmų skaičius priklauso nuo mėginio tūrio. Mikroorganizmų skaičius (KSV), atitinkantis pasirinktą mėginio tūrį, yra išreiškiamas kaip KSV/mėginio tūryje ir turi būti registruojamas. Norint nustatyti KSV 1 m^3 oro galima naudoti skaičiavimo formulę:

$$\text{KSV} = \frac{\text{KSV skaičius agaro paviršiuje}}{\text{Mėginio tūris, litrais}} = \text{x } 1000, \text{litrų}$$

P.S. Skaičiuojant KSV/l m^3, naudojamas konversijos faktorius:
1000 litrų = l m^3 – 35,3 ft^3; l ft^3 = 28,3 litrai
Norint KSV/1 m^3 paversti KSVS/ft^3, rezultatus reikia dalinti iš 35

Nurodyta formulė naudojama mielinių ir pelėsinių grybelių bei *Staphylococcus aureus* kiekiui apskaičiuoti 1 m^3 oro. *Staphylococcus aureus* tapatumui patvirtinti atliekami tie patys testai, kaip ir sedimentacijos metodu.

8 lentelė. Sterilizacijos skyrių oro ir paviršių mikrobinės taršos vertinimas

Zona	**Patalpa**	**Mėginių paėmimo laikas**	**Mikroorganizmų skaičius**	
			1 m^3 oro, ne daugiau kaip	**100 cm^3 paviršiaus, ne daugiau kaip**
Nesterili	Priėmimo patalpa, plovykla, paruošiamasis, sterilizacinė (pakrovimo pusė)	Prieš darbą Darbo metu	750	250
		Darbo metu	1500	500
Sterili	Sterilizacinė (iškrovimo pusė), sterilios medžiagos laikymo patalpa	Prieš darbą	500	100
		Darbo metu	750	150

Pastaba. Jeigu *sterilizacinėje nėra išskirtos sterilios* ir *nesterilios zonos, tada* oro *tarša vertinama pagal rodiklius, skirtus nesteriliai zonai.*

9 lentelė. Galima mikrobinė tarša aseptikos skyriuose

Oro apykaita 50 kartų per val.				
Mėginių ėmimo vieta	**Mėginių ėmimo laikas**	**KSV/m^3 oro, ne daugiau**	***Staphylococcus aureus*skaičius 250 l oro**	**Gramneigiamų bakterijų skaičius m^3 oro**
Aseptikos palatos (boksai)	Prieš paguldant ligonį į palatą	50	Turi nebūti	Turi nebūti
	Ligoniui esant palatoje	250	Ne daugiau kaip 2	Ne daugiau kaip 2
Procedūrų kabinetas	Prieš darbą	50	Turi nebūti	Turi nebūti
	Darbo metu	200	Turi nebūti	Turi nebūti
Koridorius	Prieš darbą	100	Turi nebūti	Turi nebūti
	Darbo metu	350	Ne daugiau kaip 4	Turi nebūti
Oro apykaita 300 kartų per val.				
Aseptikos skyriai palatos (boksai)	Prieš paguldant ligonį į palatą	20	Turi nebūti	Turi nebūti
	Ligoniui esant palatoje	50	Turi nebūti	Turi nebūti
Procedūrų kabinetas	Prieš darbą	25	Turi nebūti	Turi nebūti
	Darbo metu	55	Turi nebūti	Turi nebūti
Koridorius	Prieš darbą	30	Turi nebūti	Turi nebūti
	Darbo metu	60	Turi nebūti	Turi nebūti

Pastaba. Aseptikos skyriai (boksai) – palatos, skirtos ligoniams su imunodeficitiniu sindromu hospitalizuoti ir gydyti.

10 lentelė. Akušerijos skyrių oro mikrobinės taršos vertinimo kriterijai

Mėginių paėmimo vieta	**Mėginių paėmimo laikas**	**Bendras mikroorganizmų skaičius 1 m^3 oro, ne daugiau kaip**	***Staphylococcus aureus*skaičius 250 m^3 oro**
Operacinės, gimdyklos	Prieš darbą	500	Turi nebūti
	Darbo metu	1000	Turi nebūti
Neišnešiotų ir traumuotų vaikų palatos	Palatos paruoštos vaikų priėmimui	750	Turi nebūti

11 lentelė. Galima mikrobinė tarša operacinėse, intensyviosios terapijos skyriuose, boksuose, procedūrų kabinetuose

Mėginių paėmimo vieta	**Mėginių paėmimo laikas**	**Bendras mikrobų skaičius 1 m^3 oro, ne daugiau kaip**	***Staphylococcus aureus* skaičius 250 l oro**	**Gramneigiamų bakterijų skaičius 1 m^3 oro**
Reanimacijos palatos		100	Ne daugiau kaip 2	
Boksai	Prieš paguldant ligoni i skyrių	50	Turi nebūti	Turi nebūti
	Ligoniui esant palatoje	250	Ne daugiau kaip 2	Ne daugiau kaip 2
Procedūrų kabinetas	Prieš darbą	50	Turi nebūti	Turi nebūti
	Darbo metu	200	Turi nebūti	Ne daugiau kaip 1

12 lentelė. Chirurgijos klinikų oro mikrobinės taršos vertinimo kriterijai

Mėginių ėmimo vieta	**Mėginių ėmimo laikas**	**Bendras mikroorganizmų kolonijų skaičius 1 m^3 oro, ne daugiau kaip**	***Staphylococcus aureus* skaičius 250 1 oro**
Operacinės	Prieš darbą	500	Turi nebūti
	Darbo metu	1000	Turi nebūti

13 lentelė. Patalynės ir baltinių užterštumo mikroorganizmais dydžiai aseptikos skyriuose

Mėginių paėmimo laikas	**Bendras mikroorganizmų skaičius 4cm^2**	***Staphylococcus aureus* skaičius 4cm^2**	**Gramneigiamų mikroorganizmų skaičius 4cm^2**
Prieš patenkant ligoniui į aseptikos palatą	0	0	0
Ligoniui esant aseptikos palatoje (4–5) val.	Ne daugiau kaip 10	Ne daugiau kaip 3–5	Ne daugiau kaip 1–2

Apibendrinimas. Oro ir aplinkos objektų mikrobinės taršos tyrimai padeda įvertinti ore esančių mikroorganizmų koncentraciją ligoninių operacinėse, intensyviosios priežiūros skyriuose, maisto ir gėrimų pramonėje, kosmetikos pramonėje, higienos lygį farmacijos pramonės steriliose ir aseptikos gamybos linijose, nustatyti hospitalinių infekcijų sukėlėjus, hospitalinių infekcijų šaltinius bei plitimo būdus.

Kontroliniai klausimai

1. Mikroorganizmų ekologija. Mikroorganizmų paplitimas gamtoje.
2. Natūrali atmosferos ir uždarų patalpų mikroflora.
3. Oro mikroflora ir ją veikiantys veiksniai.
4. Oro svarba infekcinių ligų plitimui.
5. Kurie patogeniniai mikroorganizmai plinta oro lašiniu būdu?
6. Oro indikatoriniai mikroorganizmai.

Užduotys:

1. Nustatyti uždarų patalpų oro mikrobinę taršą.
2. Duomenis surašyti 14 lentelėje.

14 lentelė. Uždaros patalpos oro mikrobinės taršos tyrimo duomenys.

X patalpos oro mikrobinė tarša	Prieš darbą	Po darbo
Bakterijos (KSV)		
Staphylococcus aureus(KSV)		
Pelėsiniaiir mieliniai grybeliai (KSV)		

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Adomaitienė, D., Janulevičiūtė, N., Kazakevičius, R., & Vaičiuvėnas, V. (2001). *Klinikinės imunologijos įvadas*. Kaunas: Šviesa.
2. Auškalnis, S, & Jasinauskaitė, D. (2010). Šlapimo ir lyties organų chlamidinė infekcija. *Lietuvos bendrosios praktikos gydytojas* [interaktyvus], 14(4), 274–277. [žiūrėta 2017 m. rugsėjo 7 d.]. Prieiga per internetą: http://www.vitaelitera.lt/ ojs/index.php/bedrosios-praktikos-gydytojas/article/view/654/618
3. Bio-Rad Laboratories. (2012). *UriSelect ™ 4 Medium Direct Identification Visibly Reliable* [interaktyvus]. [žiūrėta 2017 m. rugsėjo 6 d.]. Prieiga per internetą: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/cdg/literature/ 16364_B_UriSelect4.pdf
4. Bone, RC, Balk, RA, Cerra, FB, Dellinger, RP, Fein, AM, Knaus, WA, . . . Sibbald WJ. (1992). Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*; 101: 1644–1655.
5. Bottone, Edward J. (2006). *Atlas of the Clinical Microbiology of Infectious Diseases: Viral, Fungal and Parasitic Agents.* Verlag: CRC Press
6. Chlamydia. *European Centre for Disease Prevention and Control* [interaktyvus]. [žiūrėta 2017 m. rugsėjo 6 d.]. Prieiga per internetą: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/chlamydia/Pages/ index.aspx
7. *Chlamidiozės (lytinių organų chlamidinės infekcijos) profilaktikos metodinės rekomendacijos* [interaktyvus]. [žiūrėta 2017 m. rugsėjo 6 d.]. Prieiga per internetą: http://www.ulac.lt/uploads/downloads/Chlamidioze%20-%20WEB.pdf
8. Dėl sepsio gydymo stacionarinių paslaugų teikimo asmens sveikatos priežiūros įstaigose reikalavimų, bazinių kainų ir apmokėjimo tvarkos aprašo patvirtinimo. (2005 m. spalio 29 d. Nr. V-820). (2005). *Valstybės žinios*, nr. 128–4642.
9. Lasinskaitė-Čerkašina A., Čerkašina G., Pavilonis A., Vaičiuvėnas V. (2000). *Mikrobiologijos, virusologijos ir imunologijos laboratorinių darbų metodika*. Kaunas: Kauno Medicinos universitetas.
10. Lasinskaitė-Čerkašina, A., Pavilonis, A., & Vaičiuvėnas, V. P. (2003). *Medicinos mikrobiologija ir virusologijos pagrindai*. Kaunas: Kauno medicinos universiteto Spaudos ir leidybos centro leidykla.
11. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Kobayashi, G. S., &Pfaller M. A. (2002). *Medical Mikrobioloy*. London: Mosby
12. Pavilonis, A, Lasinskaitė-Čerkašina, A., Vaičiuvėnas, Vytautas P., & Akramas, L. (2000). *Medicinos mikrobiologijos pagrindai*. Kaunas.

13. Putramentienė, A. (2003). *Mikrobiologija, dezinfekcijos ir sterilizacijos pagrindai* Kaunas: Kauno kolegija.
14. Skarupskienė,I. (2013). Šlapimo organų infekcijų diagnostika ir gydymas. E medicina [interaktyvus]. [žiūrėta 2017 m. rugsėjo 6 d.]. Prieiga per internetą: http://emedicina.lt/lt/gydytojui/lietuvos_naujienos/slapimo_organu_infekciju_diagnostika_ir_gydymas.html
15. Vaičiulevičienė, A. (2003). *Mikrobiologijos ir imunologijos praktikos darbų metodika*. Kaunas: Kauno kolegijos leidybos centras.
16. Vaičiulevičienė, A. (2005). *Aplinkos ir maisto mikrobinės taršos tyrimai*. Kaunas: Kauno kolegijos leidybos centras.
17. Vitkauskienė, A., Jusevičiūtė, V., Jeroch, J., Valiukevičienė, S., Kučinskienė, V., Bylaitė, M., . . . Unemo, M. (2008). *Laboratorinė gonorėjos diagnostika* Kaunas: Kauno medicinos universiteto leidykla.
18. Vosylius, S. (2008). Sepsio diagnostika. *Lietuvos chirurgija*, 6(4), 242–257.
19. World Health Organization. (2016). *Sexually transmitted infections (STIs)* [interaktyvus]. [žiūrėta 2017 m. rugsėjo 6 d.]. Prieiga per internetą: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>.
20. Zaleskis, G. (2002). *Pagrindinių laboratorinių tyrimų žinynas.* Vilnius: Vaistų žinios.

Angelika Putramentienė, Žaneta Maželienė

MIKROBIOLOGIJOS PRAKTIKOS DARBAI

Mokomoji knyga

Mikrobiologijos praktinio mokymo priemonė yra parengta akušerijos, bendrosios praktikos slaugos ir medicininės kosmetologijos studentams. Mokymo priemonėje nagrinėjama mikroorganizmų morfologija, fiziologija, sterilizacija, dezinfekcija, antiseptika. Studentai susipažins su mikrobiologijos laboratorijose atliekamais mikrobiologinės diagnostikos tyrimo metodais. Mokymo knygoje pateikiami tiriamosios medžiagos, paimtos iš šlapimo ir lytinių takų, mikrobiologinio tyrimo metodai. Daug dėmesio skiriama tiriamosios medžiagos ėmimui, remiantis normatyviniais higienos reikalavimais.

ISBN 978-9955-27-527-5

Kaunas, 2018. Užsakymas I-2135.

Leido Kauno kolegijos Reklamos ir medijų centras,

Pramonės pr. 20, LT-50468 Kaunas