**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ**

**УЧРЕЖДЕНИЕВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**«КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**ИМЕНИ ПРОФЕССОРА В.Ф. ВОЙНО-ЯСЕНЕЦКОГО»**

**МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ**

**Дневник учебной практики**

**по МДК 03.01 «Теория и практика лабораторных биохимических исследований»**

\_\_\_\_\_\_\_Ондар Алантос Кимовна\_\_\_\_\_\_\_\_\_

ФИО

Место прохождения практики КрасГМУ Фармацевтический колледж

с «29» июня 2020 г. по «4» июля 2020 г.

Руководители практики: Кузовникова Инга Александровна

Методический – Ф.И.О. (его должность) Кузовникова Инга Александровна

Красноярск, 2020

## **Содержание**

## 1. Цели и задачи практики

## 2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики

## 3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Инструктаж по технике безопасности

6. Содержание и объем проведенной работы

7. Манипуляционный лист

8. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цели и задачи практики:**

1. Закрепление в производственных условиях профессиональных умений и навыков по методам биохимических исследований.
2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам биохимических исследований.
3. Повышение профессиональной компетенции студентов и адаптации их на рабочем месте, проверка возможностей самостоятельной работы.
4. Осуществление учета и анализ основных клинико-диагностических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в биохимических лабораториях.

**Программа практики.**

*В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:*

1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных исследований.
2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
6. Регистрировать проведенные исследования.
7. Вести учетно-отчетную документацию.
8. Пользоваться приборами в лаборатории.
9. Выполнять методики определения веществ согласно алгоритмам
10. Строить калибровочные графики.

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
3. Выполненную самостоятельную работу.

**В результате производственной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- определения показателей белкового, липидного, углеводного и минерального обменов, активности ферментов, белков острой фазы, показателей гемостаза

**Освоить умения:**

- готовить материал к биохимическим исследованиям;

- определять биохимические показатели крови, мочи, ликвора;

- работать на биохимических анализаторах;

- вести учетно-отчетную документацию;

- принимать, регистрировать, отбирать клинический материал;

**Знать:**

- задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в биохимической лаборатории;

- особенности подготовки пациента к биохимическим лабораторным исследованиям;

- основные методы и диагностическое значение биохимических исследований крови, мочи, ликвора и т.д.;

- основы гомеостаза; биохимические механизмы сохранения гомеостаза;

- нормальную физиологию обмена белков, углеводов, липидов, ферментов, гормонов, водно-минерального, кислотно-основного состояния; причины и виды патологии обменных процессов;

**Тематический план учебной практики**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | **Количество** | |
| дней | часов |
| 1. | Ознакомление с правилами работы в КДЛ:  - ТБ при работе в биохимической лаборатории.  - Правила безопасной работы с электроприборами и нагревательными приборами.  - Дезинфекция. Проведение дезинфекции лабораторного инструментария, посуды, оборудования.  - Организация рабочего места для проведения клинико-биохимических исследований | 1 | 6 |
| 2. | Работа с аппаратурой и приборами в КДЛ (термостат, центрифуга, ФЭК, сушильный шкаф). Работа с мерной посудой  Правила работы с дозаторами фиксированного и переменного объема. | 1 | 6 |
| 3. | Приготовление растворов заданной концентрации (точной и приблизительной) | 1 | 6 |
| 4 | Построение калибровочного графика | 1 | 6 |
| 5 | Определение витаминов и  гормонов в биологических жидкостях | 1 | 6 |
| 6 | Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ. Качественные реакции на органические вещества  Зачет по итогам практики. | 0.5  0.5 | 3  3 |
| **Итого** | | **6** | **36** |

**График выхода на практику**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Дата | Часы работы | Оценка | Подпись руководителя |
| 1 | 29.06.2020 | с 8:00 до 13:35 |  |  |
| 2 | 30.06.2020 | с 8:00 до 13:35 |  |  |
| 3 | 02.07.2020 | с 8:00 до 15:20 |  |  |
| 4 | 03.07.2020 | с 8:00 до 15:20 |  |  |
| 5 | 04.07.2020 | с 8:00 до 15:20 |  |  |

**ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Количество исследований по дням** | | | | | |
| **Виды исследований** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **итого** |
| Организация рабочего места |  |  |  | 1 | 1 | 2 |
| Пипетирование |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Приготовление растворов |  |  | 15 |  |  | 15 |
| Построение калибровочных графиков |  |  |  | 6 |  | 6 |
| Титрование |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Дезинфекция оборудования |  |  |  | 1 | 1 | 2 |
| Утилизация отработанного материала |  |  |  | 1 |  | 1 |

**День 1. Ознакомление с правилами работы в КДЛ.**

**1. Изучение нормативных документов, регламентирующие санитрно-противопидемический режим.**

* Приказ № 380 от 25.12.97 МЗ РФ «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения, диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»
* Приказ № 118 Минздрава РФ «О введение в действие санитарно – эпидемиологических правил и нормативов – СанПиН» от 03.06.2003г.;
* СанПин 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов».
* СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с мед. отходами».9 дек. 2010г.

**2. Изучение правил техники безопасности в КДЛ.**

*ТБ при работе с химическими реактивами.*

1.Техника безопасности при работе с кислотами

• Работать в перчатках

• При попадании кислоты на кожу промыть проточной водой

• Обработать 5% раствором питьевой соды

• При разбавлении концентрированной серной кислоты сначала наливают воду, затем кислоту

2. Техника безопасности при работе со щелочами.

• Работа должна проходить в вытяжном шкафу при включенной вытяжной вентиляции;

• Щелочь наливается в сосуд на вытянутых руках;

• Нюхать вещества, содержащие кислоты или щелочи не рекомендуется. При расстоянии, и движением руки направляя к себе пары вещества;

• Отбелы используются несколько раз. Использованный отбел сливают в специальную посуду;

• Посуда, в которой хранится кислоты и щелочи должна быть специальной с притертыми пробками, иметь четкие надписи;

• Индивидуальные средства защиты при работе с кислотами: халат, резиновые перчатки, резиновый фартук, специальная обувь;

• Сливать неразбавленные кислоты и щелочи в канализацию категорически запрещается.

*ТБ при работе с биологическим материалом.*

Основные правила работы с биологическим материалом:

- работать с биологическим материалом необходимо в спецодежде (медицинский халат, шапочка, сменная обувь), при угрозе разбрызгивания крови - в маске, защитных очках, клеенчатом фартуке;

- все повреждения на коже рук должны быть заклеены лейкопластырем, необходимо избегать порезов и уколов;

- запрещается пипетирование крови ртом, необходимо использовать резиновые груши или автоматические пипетки;

- запрещается пить, курить и пользоваться косметикой на рабочем месте;

- в случае загрязнения рук кровью их следует обработать тампоном, смоченным 1 % ратвором хлорамина или 70 % раствором спирта в течение 2 минут. А затем вымыть проточной водой с мылом и проткреть индивидуальным полотенцем;

- при загрязнении кровью перчаток, их протирают тампоном, смоченным в 3% растворе хлорамина или 6 % перикисью водорода;

- при загрязнении стола кровью, егонемедленно протирают дезраствором дважды с интервалом 15 минут;

- по окончании работы необходимо провести дезинфекцию рабочей поверхности стола, перчаток;

- лабораторный инструментарий, иглы, капиляры, предметные стекла, кюветы ФЭКа, пипетки, резиновые груши и т.д. после работы должны подвергаться дезинфекции и стерилизации.

**3. Дезинфекция и утилизация отработанного материала.**

*Отходы класса А* (неопасные) не требуют специального обеззараживания. Их собирают в пластиковые пакеты белого цвета, герметично закрывают и в твердых емкостях (например, баках) с крышками переносят к мусороприемнику для дальнейшего вывоза на полигон твердых бытовых отходов (ТБО).

*Отходы класса Б* (опасные) подвергают обязательной дезинфекции на месте их образования в соответствии с действующими нормативными документами (СП I. 3.1285-03). Обеззараженные отходы собирают в одноразовую герметичную упаковку желтого цвета. Для твердых отходов, имеющих острые края (битая стеклянная посуда, пипетки и т.п.), используют твердую упаковку, для игл от шприцов испльзуют специальные одноразовые контейнеры. Одноразовые емкости желтого цвета с отходами класса Б маркируют надписью «Опасные отходы – «Класс Б» с указанием названия лаборатории, кода учреждения, даты, фамилии ответственного за сбор отходов лица. Заполненные емкости помещают во влагонепроницаемые баки желтого цвета с той же маркировкой, герметично закрывают крышкой и переносят к металлическим контейнерам, которые размещены на специальной площадке хозяйственного двора учреждения (лаборатории). Дальнейшую утилизацию отходов проводят централизовано специальным автотранспортом на полигон ТБО или децентрализовано к месту кремации, если учреждение имеет крематорий для сжигания отходов.

Использованные для переноса (перевоза), временного хранения многоразовые емкости (баки, контейнеры) дезинфицируют и моют.

*Отходы класса В* (чрезвычайно опасные) подвергают обязательной дезинфекции на месте их образования в соответствии с действующими нормативными документами (СанПиН 2.1.7.2527-09, СП 1.3.1285-03; СанПин 2.1.7.728-99). Обеззараживание отходов проводят автоклавированием или обработкой дезрастворами. Эффективность работы автоклавов контролируют с помощью химических (каждый цикл автоклавирования) или биологических (ежемесячно) тестов. Путем автоклавирования обеззараживают жидкие и плотные питательные среды с посевами ПБА I-IV групп патогенности и без посевов; вскрытые ампулы из-под лиофилизированных культур (предварительно обеззараженные в дезрастворе); пробирки, флаконы, колбы с бактериальными взвесями; сыворотки; лабораторную посуду; обгоревшие ватно-марлевые пробки и другой материал, инфицированный или подозрительный на зараженность ПБА I-IV групп.

*Жидкие питательные среды с посевами микроорганизмов* после обеззараживания автоклавированием разводят водопроводной водой 1:2 и сбрасывают в канализацию. Рабочие растворы отработанных дезсредств после экспозиции в течение не менее 24 ч разводят водопроводной водой 1:2 и сливают в канализацию.

*Лабораторные отходы класса В* (из блока для работы с инфицированными животными) после обеззараживания в дезрастворах могут содержать ватные и ватно-марлевые тампоны, салфетки, вскрытые трупы мелких экспериментальных животных, трупы отловленных в природе грызунов, остатки корма и подстилочный материал из садков, где содержались лабораторные животные до и после экспериментов, шприцы, ампулы и флаконы с остатками вакцинных препаратов, сколы концов пастеровских пипеток и ампул и др.

После обеззараживания отходы класса В собирают в одноразовую упаковку красного цвета. Одноразовая упаковка может быть мягкой (пакеты) и твердой (одноразовые емкости). Каждая упаковка маркируется надписью «Чрезвычайно опасные отходы – «Класс В» с указанием названия лаборатории, кода, даты и фамилии ответственного сотрудника. Бактериальные культуры, вирусологически опасный материал, различные острые предметы, экспериментальных животных складывают в твердую герметичную упаковку, нетвердые отходы – в герметичную мягкую упаковку.

Все заполненные емкости укладывают в маркированные водонепроницаемые металлические баки (контейнеры) с плотно закрывающимися крышками и хранят до кремирования в специально отведенном месте в пределах лаборатории. Транспортирование отходов класса В для утилизации осуществляют только в закрытых кузовах специально применяемых для этих целей автомашинах, которые после вывоза подвергают спецобработке.

Подготовку обеззараженных отходов лабораторной деятельности к утилизации (сбор, упаковка, герметизация, размещение в емкости для временного хранения) осуществляет ответственное лицо из числа работников лаборатории в средствах индивидуальной защиты (противочумный костюм III типа, дополненного при необходимостиреспиратором и прорезиненным фартуком).

*Отходы лаборатории класса Г* по степени токсичности делятся на следующие подклассы (Сан ПиН № 4286-87, Приказ МПР РФ от 02.12.2002 г. № 786):

1 – ртуть, термометры, лампы люминесцентные

2 – масла, серная кислота, электролиты

3 – медицинские отходы

4 – картонная упаковка

Использованные люминесцентные лампы, ртутьсодержащие приборы собирают в закрытые влагонепроницаемые емкости черного цвета с маркировкой «Отходы – «Класс Г» и хранят в специально выделенном помещении до утилизации, которая осуществляется в соответствии с действующими нормативными документами. Если во время работы повреждена целостность ртутьсодержащих приборов или термометров и ртуть вылилась, необходимо немедленно провести демеркуризацию.

Масла, минеральные (хлорводородная, азотная, серная) и сильные органические кислоты, щелочи утилизируют согласно действующим нормативным документам.

Вакцинные, диагностические и лекарственные препараты с истекшим сроком годности после обеззараживания путем автоклавирования измельчают, помещают в пакеты черного цвета и хранят до утилизации в водонепроницаемом герметически закрытом контейнере с маркировкой «Отходы – «Класс Г». В эти же контейнеры складывают ненужную картонную упаковку в мягких одноразовых маркированных пакетах черного цвета. Вывоз этих отходов на полигон ТБО осуществляют централизованно специализированным автотранспортом.

**4. Организация рабочего места для биохимического исследования.**

На рабочем мест каждого лаборанта должно быть все необходимые для проводимых в данный момент анализов. Должны быть подготовлены риборы, посуда, инструментарий, реактивы.

Лаборант обязан бережно относиться к оборудованию, экономно расходавать реактивы, соблюдать правила пользования ими, а также правила безопасности при использовании растворов кислот и щелочей.

Хранить склянки с реактивами следует в определенном месте. После использования приборы и взятые для работы реактивы или растворы необходимо возвращать на их постоянные места.

Рабочее место нельзя загромождать лишней посудой и оборудованием.

**День 2. Работа с аппаратурой и приборами в КДЛ.**

**1. Изучение инструкции при работе с центрифугой, ФЭКом, термостатом, сушильным шкафом;**

*- Работа с термостатом:*

**Алгоритм работы:**

1. Термостат включают в сеть поворотом тумблера в положение «Сеть» (при этом загорается правая сигнальная лампочка – нагреватель включен);
2. Выставляют нужную температуру;
3. По достижению заданной температуры загорается левая лампочка (нагреватель отключен), а правая выключается;
4. Если нужно, включают кнопку «ускоренный разогрев, при этом загораются обе лампочки;

**Правила работы:**

1. Не включать термостат без заземления;
2. Запрещается помещать в камеру термостата материалы, воспламеняющиеся при температуре термостатирования;
3. При работе на аппарате необходимо стоять на сухом полу и резиновом коврике;
4. Прикасаться к приборам и розеткам мокрыми руками;
5. Не снимать кожух с включенного в сеть аппарата;
6. Запрещается открывать термостат во время работы;
7. Исследуемый материал помещают в термостат в стеклянной или пластиковой посуде;
8. Запрещается помещать посуду на дно термостата;

*- Работа с сушильным шкафом:*

**Алгоритм работы:**

1. Перед началом эксплуатации сушильного шкафа необходимо произвести его сушку (нагревают шкаф до 149 – 200°C и выдерживают 1 – 2 часа)
2. Установить загрузку на полки рабочей камеры, для равномерного нагрева необходимо, чтобы объем садки был не более 70% от объема рабочего пространства
3. Плотно закрыть дверцу
4. Установить указатель терморегулятора шкафа на нужную температуру
5. Перевести терморегулятор на положение 1
6. Включить нагреватели сушильного шкафа при помощи универсального переключателя

**Правила работы:**

1. Проверить заземление
2. Проверить исправность токоведущих частей
3. Загрузку шкафа производить при температуре не выше 40°C
4. Загружать, выгружать шкаф во время работы шкафа запрещается
5. Запрещается помещать в шкаф
6. Выгрузку шкафа производить при температуре не выше 40 – 60°C

*- Работа с центрифугой:*

**Алгоритм работы:**

1. Включить в сеть
2. Нажать кнопку «Сеть», открыть крышку
3. Составить пробирки, в соответствии с правилом
4. Закрыть крышку
5. Задать время и скорость вращения ротора (скорость от 200 об/мин до 3000 об/мин)
6. Нажать кнопку «Старт»
7. Открыть крышку можно после полной остановки

**Правила работы:**

1. Центрифуга должна стоять на устойчивом, тяжелом столе
2. Во время центрифугирования крышка должна быть плотно закрыта
3. Центрифурировать можно только четное число пробирок, с равным количеством по весу вещества, поставленных одни против другой (если число пробирок нечетное, ставят одну пробирку с дистиллированной водой)
4. После выключения центрифуги нужно подождать, пока не закончится вращение, а затем уже открывать крышку.

*-* *Работа с ФЭКом:*

1. При открытой крышке кюветного отделения нажать на крайнюю правую кнопку в нижнем ряду. На табло высветиться значение темнового тока ФЭУ.
2. Установить ручкой 2 длину волны, на которой производится измерение. Длина волны высветится на верхнем световом табло.
3. При закрытой крышке кюветного отделения нажать клавишу «Г». На нижнем световом табло слева от мигающей запятой высветиться символ «Г». Нажать клавишу «П» или «Е». Слева от мигающей запятой высветятся соответственно значения «100±0.2» или «0.000±0.002», означающие, что начальный отсчет пропускания (100%) или оптической плотности (0,000) установился на фотометре правильно. Если отсчеты «100±0.2» или «0.000±0.002» установились с большим отклонением, нажать на клавиши «Г», «П» или «Е» повторно через 3-5 секунд.
4. Рукоятку 4 установить вправо до упора, при этом в световой пучок вводится кювета с исследуемым раствором. Отсчет на световом табло справа от мигающей запятой соответствует коэффициенту пропускания или оптической плотности исследуемого раствора.
5. Повторить операции по пп. 1-4 три раза, вычислить среднее арифметическое значение измеряемой величины.
6. Для построения спектральной кривой коэффициента пропускания или оптической плотности образца измерения произвести по методике пп. 1-4 на разных длинах волн.
7. Построить спектральную кривую светопропускания или оптической плотности исследуемого раствора, откладывая по горизонтальной оси длины волн в нанометрах, а по вертикальной – светопропускание или оптическую плотность.

*-Работа с градуирированными пипетками:*

1. Взять пипетку в левую руку;
2. Промыть пипетку дистиллированной водой;
3. Ополоснуть пипетку 2 раза рабочим раствором;
4. Заполнить пипетку жидкостью с помощью резиновой груши до соответствующей метки.
5. Проверить точность взятия соответствующего объема жидкости по нижнему уровню мениска, не забыая, что мениск устанавливается на уровне глаз;
6. Перенести ипетку к подготовленному сосуду и держа ее вертикально дать вытечь жидкости.
7. ! НЕ выдувать из пипетки оставшуюся каплю жидкости.

*- Работа с мерными цилиндрами, колбами:*

1. Наполняем водой химический стакан;
2. Берем химический стакан в правую руку, а в левую – цилиндр и держим на уровне глаз;
3. Медленно наливаем воду из стакана в цилиндр, ориентируясь по нижнему мениску.

*- Работа с мерными колбами:*

1. Наполняем водой химический стакан;
2. Взять колбу в левую руку и заполнить колбу водой до уровня на 0,3 – 0,5 см ниже кольцевой метки;
3. Поднять колбу так, чтобы кольцевая метка оказалась на уровне глаз;
4. Довести объем в колбе по каплям из пипетки.

*- Работа с дозаторами фиксированного и переменного объема:*

1. Установить требуемый объем жидкости с помощь операционной кнопки;
2. Надеть наконечник и смочить его перед дозированием 3-5 раз жидкостью, которую будут отбирать;
3. Нажать большим пальцем на кнопку до первой остановки;
4. Опустить наконечник дозатора в раствор и медленно освободить кнопку;
5. Вытолкнуть раствор из наконечника дозатора в пробирку путем нажатия операционной кнопки до упора большим пальцем;
6. Снять наконечник нажатием большого пальца на удалитель наконечника;
7. По окончанию работы дозатор установить в штатив.

**День 3. Приготовление растворов заданной концентрации.**

*- Приготовление растворов приблизительной концентрации из навески:*

Для получения такого раствора на аптечных или технохимических весах берут рассчитанную навеску с точностью до второго десятичного знака. Растворяют навеску в мерной колбе, а точную концентрацию определяют титрованием.

*- Приготовление растворов точной концентрации из навески:*

Этим способом можно готовить растворы солей. Соль должна быть чистой, не содержать примесей. Состав ее должен соответствовать формуле. Соль не должна быть гигроскопичной (без воды). Все точные растворы всегда готовят в мерных колбах. А рассчитанную навеску берут на аналитических весах.

1. Приготовить посуду: мерная колба, химический стакан. Оборудование: аналитические весы;
2. Взять соответствующие навески вещества;
3. Всыпать в мерную колбу вещество;
4. Обмыть внутреннюю стенку воронки;
5. Доводят раствор до метки дистиллированной водой и перемешивают содержимое колбы.

*- Приготовление растворов из фиксаналов:*

Фиксонал – это стеклянная ампула, в которой находится определенное количество вещества. Обычно это 0,1 моль. Эту ампулу разбивают бойком и раствор готовят в мерной колбе на 1 литр.

*- Приготовление растворов методом разбавления:*

1. Приготовить посуду: градуированная пипетка, мерная колба, воронка, химический стакан;
2. В мерную колбу налить 1/3 объема воды;
3. Градуированную пипетку промыть водой, а затем раствором , который будут отмеривать;
4. Градуированной пипеткой отмерить рассчитанный объем раствора;
5. Перенести отмеренный объем в мерную колбу через воронку;
6. Довести объем в колбе до метки дистиллированной водой и перемешать содержимое колбы.

**День 4. Построение калибровочных графиков.**

*- Приготовление стандартных растворов:*

Стандартные растворы должны готовиться с особой тщательностью из навески, полученной с особой тщательностью из навески, полученной на весах для точного взвешивания (аналитических). При этом следует обратить внимание на то, чтобы стандартные вещества строго отвечали своей химической формуле, имели высокую степень чистоты, не были гигроскопичны и не взаимодействовали с газами воздуха.

*- Построение калибровочных графиков:*

Для построения калибровочного графика измеряют поглощение серии окрашенных растворов известной, но различной концентрации, оптические плотности которых охватывают требуемый интервал.

С этой целью применяют стандартные растворы определяемого вещества. На миллиметровой (калибровочной) бумаге вычерчивают оси координат. На оси ординат откладывают значения экстинкции, на оси абсцисс – концентрации. Чтобы считываемые с калибровочной кривой значения были более точными, следует брать масштаб графика достаточно крупным.

Масштаб калибровочного графика должен быть 20 см и более на общих осях.

Чтобы кривая располагалась под углом 45% к осям, берут максимальные значения концентрации и экстинкции, если между ними в пределах этих значений сохраняется прямо пропорциональная зависимость.

Например, ряд стандартных растворов с концентрацией 20, 40, 60, 80, 100, 120.

Отрезок из 20 крупных клеток на оси абсцисс составляет 120 г/л, а на оси ординат максимальное из полученных для 6 определений значение экстинкции равно 0,6.

На основании этих данных находят факторы калибровки по формулам:

Смакс/20 = 120/20 = 6г/л

Емакс / 20 = 0,6/20 = 0,03

6г/л и 0,03 – значения концентрации и екстинции, соответствующие масштабу 1 см (одна крупная клетка).

Чтобы облегчить процедуру откладывания на оси ординат значений экстинкции рекомендуется разделить величину экстинкции например 0,2/0,03 = 6,67. Полученное число показывает, на каком удалении от нулевой точки в сантиметрах следует сделать отметку для восстановления из нее перпендикуляра: отмеряют отрезок в 6 крупных (1см) клеток и 7 мм.

Также поступают со всеми остальными значениями, чтобы их разместить на вертикальной и горизонтальной осях. Из отложенных на осях значений восстанавливают перпендикуляры, места пересечений тонких линий обозначают крестиками; ориентируясь на них, проводят калибровочную кривую.

*- Работа на ФЭКе:*

1. При открытой крышке кюветного отделения нажать на крайнюю правую кнопку в нижнем ряду. На табло высветиться значение темнового тока ФЭУ.
2. Установить ручкой 2 длину волны, на которой производится измерение. Длина волны высветится на верхнем световом табло.
3. При закрытой крышке кюветного отделения нажать клавишу «Г». На нижнем световом табло слева от мигающей запятой высветиться символ «Г». Нажать клавишу «П» или «Е». Слева от мигающей запятой высветятся соответственно значения «100±0.2» или «0.000±0.002», означающие, что начальный отсчет пропускания (100%) или оптической плотности (0,000) установился на фотометре правильно. Если отсчеты «100±0.2» или «0.000±0.002» установились с большим отклонением, нажать на клавиши «Г», «П» или «Е» повторно через 3-5 секунд.
4. Рукоятку 4 установить вправо до упора, при этом в световой пучок вводится кювета с исследуемым раствором. Отсчет на световом табло справа от мигающей запятой соответствует коэффициенту пропускания или оптической плотности исследуемого раствора.
5. Повторить операции по пп. 1-4 три раза, вычислить среднее арифметическое значение измеряемой величины.
6. Для построения спектральной кривой коэффициента пропускания или оптической плотности образца измерения произвести по методике пп. 1-4 на разных длинах волн.
7. Построить спектральную кривую светопропускания или оптической плотности исследуемого раствора, откладывая по горизонтальной оси длины волн в нанометрах, а по вертикальной – светопропускание или оптическую плотность.

**День 5. Определение витаминов в биологической жидкости.**

*- Исследовательская работа*

*- Определение витамина С в моче титриметрическим методом:*

**Принцип метода:**

Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать краситель 2,6 – дихлорфенолиндлфенол. Окисленная форма красителя обладает окраской (в кислой среде - розовой), восстановленная форма – бесцветная. Количество витамина С определяют, титруя исследуемый подкисленный раствор дихлорфенолиндлфенолом до появления розовой окраски. Пока в растворе есть аскорбиновая кислота, краситель обесцвечивается, когда вся аскорбиновая кислота будет окислена, титруемый раствор приобретает розовую окраску.

|  |  |
| --- | --- |
| **Оборудование:**   1. колба на 50 мл 2. пипетки на 5 мл 3. бюретка. | **Реактивы:**   1. уксусная кислота – 3% 2. дихлорфенолиндлфенол – 0,001н 3. дистиллированная вода 4. моча |

**Ход определения:**

В колбу наливают 1 мл мочи, 7 мл дистиллированной воды, 3 мл уксусной кислоты и титруют смесь дихлорфенолиндлфенолом до появления окраски, устойчивой 30 с.

Для расчета содержания витамина С в суточной моче используют формулу:

**А \* 0.088 \* 1500 = витамин С. мг,**

1500 – суточный диурез;

0,088 – количество мг аскорбиновой кислоты, соответствующей 1 мл 0,001 н раствора дихлорфенолиндлфенола;

А – количество мл дихлорфенолиндлфенола, пошедшего на титрование исследуемого раствора.

0,3 \* 0,088\*1500 = 39,6 мг

**Норма:** с мочой за сутки выделяется от 20 до 40 мг витамина С.

**Диагностическое значение**: определение содержания витамина С в моче дает представление о запасах этого витамина в организме.

**Вывод:** при определении количества витамина С в моче исследования показали, что содержание витамина С в моче равно 39,6 мг. Данное число соответствует норме (20 – 40мг).

*- Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты:*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Предмет дезинфекции** | **Дез.средство,**  **Концентрация (%)** | **Экспозиция, мин** | **Частота обработки** |
| Руки | Лизонин, Исосепт, Стериллиум | 30 сек – 1 мин | Несколько раз в день |
| перчатки | Раствор 3% хлорамина  Раствор 6% перекиси водорода | 1 час | 1 раз в день |
| Спец.одежда | Раствор 1% хлорамина  Аламинол – 1 8% | 1час  60 – 90 минут | 1 раз в день |
| Пробирки | Дезаксон – 1 1%  Бианол 20%  Глутарал  КолдСпор 20% | 45 минут  15 минут  240 – 600 минут  540 минут | 1 раз в день |
| Дозаторы | Бианол 20%  Лизоформин 3000 8% | 15 минут  1 час | 1 раз в день |
| Наконечники дозатора | Сайдекс 4%  Раствор формалина 4% | 240 – 600 минут  1 час | 1 раз в день |
| Кюветы ФЭКа | Раствор 6% перекиси водорода | 1 час | 1 раз в день |
| Поверхность столов | Аламинол 1 8% | 60 – 90 минут | После каждого исследования |
| Полы | Анолит АНК Супер 0,02 – 0,05% | 20 минут | 1 раз в день |
| кровь | Септустин М 18 – 18,5%  Кальция гипохлорид | 90 – 120 минут  1 час | 1 раз в день |
| Моча | Октава 2 – 6% | 30 – 90 минут | 1 раз в день |
| Пипетки | Дезаксон – 4 1% | 45 минут | 1 раз в день |

**День 6. Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ.**

*- Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ.*

Медицинскому персоналу КДЛ следует избегать контакта кожи и слизистых с кровью и другими биологическими жидкостями, для чего необходимо:

1. Работать в халатах, шапочках, сменной обуви, а при угрозе забрызгивания кровью или другими биожидкостями – в масках, очках, клеенчатом фартуке.
2. Работать с исследуемым материалом в резиновых перчатках, избегать уколов и порезов, все повреждения кожи должны быть закрыты лейкопластырем или напальчниками.
3. Проводить разборку, мойку, прополаскивание лабораторного инструментария и посуды после предварительной дезинфекции.
4. В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биожидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 мин. тампоном, смоченным 70 % спиртом, вымыть с мылом под проточной водой и вытереть индивидуальным полотенцем.
5. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина или 6% раствором перекиси водорода.
6. При попадании крови на слизистые оболочки, их немедленно промывают водой, 1% раствором борной кислоты, слизистую носа обрабатывают 1 % раствором протаргола, рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором борной кислоты или 0,06% раствором марганцевокислого калия.
7. Запрещается пипетирование крови ртом. Следует использовать автоматические пипетки, а при их отсутствии – резиновые груши.
8. Запрещается принимать пищу, пить, курить и пользоваться косметикой на рабочем месте.
9. Поверхность рабочих столов в конце каждого рабочего дня, а в случае загрязнения биологическим материалом, немедленно подвергаются дезинфекции.

Мероприятия при ранениях, контактах с кровью, другими биологическими материалами пациентов

Любое повреждение кожи, слизистых, загрязнение их биологическими материалами пациентов должно квалифицироваться как возможный контакт с материалом, содержащим ВИЧ или другой агент инфекционного заболевания.

Если контакт с кровью или другими жидкостями произошел *с нарушением целостности кожных покровов* (укол, порез), пострадавший должен:

* снять перчатки рабочей поверхностью внутрь;
* выдавить кровь из раны;
* поврежденное место обработать одним из дезинфектантов (70% спирт, 5% настойка йода при порезах, 3% раствор перекиси водорода при уколах и др.);
* руки вымыть под проточной водой с мылом, а затем протереть спиртом 70%;
* на рану наложить пластырь, надеть напальчники;
* при необходимости продолжить работу, надеть новые перчатки.

*- Качественные реакции на органические вещества:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Органическое вещество | Качественная реакция | Цвет |
| Белок | Биуретовая | Сине - фиолетовый |
|  | Нингидриновая | Сине - фиолетовый |
|  | Ксантопротеиновая | Желтый |
|  | Реакция Фоля | Черный |
| Глюкоза | Троммера | Коричнего – красный |
| Сахароза | Троммера | Голубой |
| Мальтоза | Троммера | Желто – оранжевый |
| Крахмал | С йодом | Фиолетовый |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Название реакции | Реактивы | Открываемая группа |
| Биуретовая | В пробирку наливают 5мл раствора яичного белка , 3 капли NaOH и 1 каплю CuSO4. Встряхнуть. | Пептидные связи (-CO-NH-) |
| Нингидриновая | В пробирку наливают 5 капель раствора яичного белка и 5 капель раствора нингидрина. Встряхнуть, нагреть до кипения. | Альфа – аминогруппа |
| Реакция Фоля | В пробирку наливают 5 капель яичного белка и 5 капель реактива Фоля. Смесь нагревают до кипения и охлаждают под струей холодной воды. | Сульфидные мостики |
| Ксантопротеиновая | В пробирку налить 5 капель яичного белка и 3 капли конц. HNO3. Осторожно нагрейте, затем охладите под струей холодной воды и добавьте 10 капель NaOH. | Циклические АК |
| Реакция Троммера | Возмите 3 пробирки. Добавьте по 10 капель растворов в 1 – глюкозы, во 2 – мальтозу, в 3 – сахарозу. Затем во все пробирки добавить по 10 капель NaOH и 2 капли CuSO4. Смешать, все пробирки нагреть на спиртовке. | Карбоксильная группа |
| С йодом | Возьмите пробирку. Добавьте 10 капель крахмала, прилить 5 капель йода. |  |

*- Зачет*

**ОТЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Ондар Алантос Кимовна

Группы 206-1 специальности Лабораторная диагностика Проходившего (ей) учебную практику

с 29 июня по 4 июля 2020 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № | Виды работ | Количество |
| 1. | Ознакомление с правилами работы в КДЛ:  - ОТ при работе в биохимической лаборатории.  - Правила безопасной работы с электроприборами и нагревательными приборами.  - Дезинфекция. Проведение дезинфекции лабораторного инструментария, посуды, оборудования.  - Организация рабочего места для проведения клинико-биохимических исследований | 1  1  2  2 |
| 2. | Работа с аппаратурой и приборами в КДЛ (термостат, центрифуга, ФЭК, сушильный шкаф),  Работа с мерной посудой  Правила работы с дозаторами фиксированного и переменного объема. | 4  1  1 |
| 3. | Приготовление растворов заданной концентрации (точной и приблизительной) | 15 |
| 4. | Построение калибровочного графика | 6 |
| 5. | Определение витаминов, гормонов в биологических жидкостях | 1 |
| 6. | Выполнение мер санитарно – эпидемиологического режима в КДЛ | 2 |

**2. Текстовый отчет**

1. Умения, которыми хорошо овладела в ходе практики:

* Определяла биохимические показатели мочи;
* Готовила растворы по точной навеске;
* Строила калибровочные графики;
* Проводила качественные реакции на органические соединения;
* Вела учетно – отчетную документацию.

2. Самостоятельная работа:

Работа с нормативными документами и законодательной базой:

* Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в КДЛ ЛПУ от 17 января 1991 г;
* Сан ПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно – эпидемические требования к обращению с медицинскими отходами» от 9 декабря 2010 г.

Поиск электронных источников информации

3.Помощь оказана со стороны методического и непосредственного

руководителя Кузовниковой И.А.

4. Замечания и предложения по прохождению практики нет. В ходе практики мною были хорошо усвоены и закреплены знания по дисциплине «Теория и практика лабораторных биохимических исследований»

Общий руководитель практики

(ФИО)

(подпись)

М. П. организации