Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

**Дневник**

**Учебной практики**

**по МДК 04.01 «Теория и практика лабораторных микробиологических и иммунологических исследований»**

Ладвинской Елизаветы Васильевны

ФИО

Место прохождения практики: Фармацевтический колледж

с «29» мая 2023г. по «03» июня 2023г.

Руководитель практики: преподаватель Тюльпанова О. Ю.

Красноярск, 2023

Оглавление

[Программа учебной практики 4](#_Toc73610390)

[Цель учебной практики: 4](#_Toc73610391)

[Задачи учебной практики 5](#_Toc73610392)

[Тематический план учебной практики 5](#_Toc73610393)

[График выхода на работу 6](#_Toc73610394)

[ПЕРВЫЙ ЭТАП БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 7](#_Toc73610395)

[Забор материала для исследования с выходом на внешние объекты. 7](#_Toc73610396)

[ВТОРОЙ ЭТАП БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 8](#_Toc73610397)

[Приготовление простых питательных сред. Посев на питательные среды исследуемых объектов различными способами. 8](#_Toc73610398)

[ТРЕТИЙ ЭТАП БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 10](#_Toc73610399)

[Изучение морфологических и культуральных свойств выращенных культур. Приготовление дифференциально-диагностических сред. Пересев на чистую культуру. 10](#_Toc73610400)

[ЧЕТВЕРТЫЙ ЭТАП БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 12](#_Toc73610401)

[Проверка чистоты культуры. Приготовление дифференциально-диагностических сред. Пересев на дифференциально-диагностические среды. 12](#_Toc73610402)

[ПЯТЫЙ ЭТАП БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 14](#_Toc73610404)

[Учет результатов. Утилизация отработанного материала. 14](#_Toc73610405)

[ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 16](#_Toc73610406)

[ОТЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ 17](#_Toc73610407)

[Цифровой отчет 17](#_Toc73610408)

[Текстовой отчет 18](#_Toc73610410)

[ХАРАКТЕРИСТИКА 19](#_Toc73610411)

**В результате учебной практики обучающийся должен**

**Приобрести практический опыт:**

**ПО 1.** - применения техники бактериологических, вирусологических, микологических и иммунологических исследований.

**Освоить**

**Умения:**

У.1 Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов;

У.2 Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований;

У.3 Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов;

У.4 Оценивать результат проведенных исследований, вести учетно-отчетную документацию;

У.8 Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры;

**Знания:**

З.1 Задачи, структура, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории;

З.2 Общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики;

З.3Требования к организации работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности;

## Программа учебной практики

В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:

1. Организовать рабочее место для проведения микробиологических исследований.
2. Готовить препарат для окраски, выполнять методики окраски согласно алгоритмам
3. Готовить питательные среды и производить посев.
4. Делать выводы по проведенным исследованиям.
5. Пользоваться приборами в лаборатории.
6. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию лабораторной посуды.

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику;
2. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).

## **Цель учебной практики:**

Ознакомление со структурой микробиологической лаборатории и организацией работы среднего медицинского персонала. Формирование основ социально-личностной компетенции путем приобретения студентом навыков межличностного общения с медицинским персоналом и пациентами;

## Задачи учебной практики

1. изучить нормативную документацию;
2. регистрировать исследуемый материал;
3. готовить рабочее место;
4. проводить микробиологические исследования, проб объектов внешней среды или пищевых продуктов;
5. оценить результат проведенных исследований;
6. проводить утилизацию отработанного материала.

## Тематический план учебной практики

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | **Количество** | |
| дней | часов |
| 1. | Забор материала для исследования с выходом на внешние объекты.  Оформление электронного дневника | 1 | 4  2 |
| 2 | Приготовление простых питательных сред. Посев на питательные среды исследуемых объектов различными способами  Оформление электронного дневника | 1 | 4  2 |
| 3 | Изучение морфологических и культуральных свойств выращенных культур. Приготовление дифференциально-диагностических сред. Пересев на чистую культуру  Оформление электронного дневника | 1 | 4  2 |
| 4 | Проверка чистоты культуры. Пересев на дифференциально-диагностические среды.  Оформление электронного дневника | 1 | 4  2 |
| 5 | Учет результатов. Утилизация отработанного материала.  Оформление электронного дневника | 1 | 4  2 |
| 6 | Зачет | 1 | 6 |
| **Итого** | | **6** | **36** |

## График выхода на работу

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Даты | Часы работы | Подпись руководителя |
| 1 | 29.05.2023 | 9:45-15:20 | Тюльпанова О.Ю |
| 2 | 30.05.2023 | 9:45-15:20 | Тюльпанова О.Ю |
| 3 | 31.05.2023 | 12:00-17:05 | Тюльпанова О.Ю |
| 4 | 01.06.2023 | 9:45-15:20 | Тюльпанова О.Ю |
| 5 | 02.06.2023 | 9:45-15:20 | Тюльпанова О.Ю |
| 6 | 03.06.2023 | 9:45-15:20 | Тюльпанова О.Ю |

## ПЕРВЫЙ ДЕНЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

## Забор материала для исследования с выходом на внешние объекты.

Инструктаж:

Была изучена следующая нормативно правовая документация:

* СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий" (с изменениями на 14 февраля 2022 года);
* Санитарно-эпидемические правила СП 1.3.2322-08 (с изменениями 20.07.2011года) «Безопасность работы с микроорганизмами 3 и 4 группы патогенности и возбудителями паразитарных болезней»

ОТБОР ПРОБ С ОБЪЕКТОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ

ИССЛЕДОВАНИЯ НА МИКРОБНУЮ ОБСЕМЕНЕННОСТЬ

2.1. Отбор проб с поверхностей различных объектов осуществляют методом смывов.

2.2. Для контроля микробной обсемененности и эффективности санитарной обработки смывы с объектов окружающей среды проводят до начала работы, либо во время производственного процесса после проведения надлежащей обработки поверхности. В случае необходимости выявления источника обсеменения при установленной микробной контаминации отбор производят с необработанных поверхностей.

2.3. Техника взятия смывов.

При отборе смывов с поверхности необходимо использовать стерильный тампон, увлажненный стерильной пептонной водой (пункт 1 приложения 1 к настоящим МР), внесенной в каждую пробирку в количестве не менее 2,0 мл. Допускается смачивание тампона (материала для отбора) стерильным изотоническим раствором хлорида натрия или иной допустимой транспортной средой, а также использование стерильных зонд-тампонов (свабов, тупферов и т.д.) промышленного производства. Тампон увлажняют наклонением пробирки или опусканием тампона в жидкость непосредственно перед взятием смыва.

Взятие смывов для предприятий, выпускающих и реализующих пищевые продукты, производится в первую очередь с зон контакта поверхности с продукцией и/или зон хвата руками для прочих объектов (приложение 2 к настоящим МР).

Рекомендации по взятию смыва:

- смывы с площади меньше или равной 10 x 10 см (100 см2) отбирают стерильным тампономс хлопком или синтетическим материалом;

- при отборе смывов с площади более 100 см2 следует использовать салфетку (5 \* 5 см);

- смывы с мелких объектов (поверхность которых менее 100 см2) берут со всей поверхности; при необходимости - с нескольких единиц одноименных предметов (вилки, ножи и т.д.);

- смывы с перчаток берут только с наружной стороны ладонной поверхности перчатки;

- при взятии смывов с рук протирают тампоном ладонные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой ладони и пальцам, потом протирают межпальцевые пространства, ногти и подногтевые пространства;

- при взятии смывов с мелких инструментов обтирается вся поверхность предмета, при заборе смывов с тарелок протирают всю внутреннюю поверхность. При взятии смывов с мелких предметов одним тампоном протирают три одноименных объекта - три тарелки, три ложки и т.п.

У столовых приборов протирают их рабочую часть;

- смывы с санитарной одежды отбирают с помощью тампонов с четырех участков, каждый из которых должен быть не менее 25 см2, а именнонижняя часть каждого рукава и две площадки с верхней и средней частей передних пол одежды;

- если при взятии смывов с ровной поверхности используются металлические

рамки-трафареты, ограничивающие площадь взятия смывов, то такие рамки-трафареты должны быть стерильны. При взятии смывов составляется документ, включающий в себя информацию, необходимую для однозначной идентификации объекта, места взятия, основания и условий отбора, даты и

времени взятия проб, условия и сроки доставки и иные дополнительные сведения (например, техническое и санитарное состояние оборудования, инвентаря, посуды и т.п.). Документ подписывают специалист, проводивший отбор, представитель объекта, на котором производилось взятие смывов, иные заинтересованные лица.

Время доставки смывов в лабораторию не должно превышать 6 часов с момента взятия, если иное не валидировано аккредитованной лабораторией в установленном порядке, как обеспечивающее достоверный результат.

Провелся отбор двух проб в 8:30 утра 29.05.2023 года в легкоатлетическом манеже по адресу ул. Остров Отдыха, 15а в городе Красноярске. Пробы были собраны тампоном заранее смоченные в физ. растворе. Первая проба была взята в самом манеже с потолка, вторая проба была взята в тренерской комнате с потолка.



Рисунок 1- легкоатлетический манеж, рисунок 2- тренерская комната.

**Вывод: проведен отбор проб в легкоатлетическом манеже г.Красноярске с целью определения наличия в нем патогенных микроорганизмов.**

## ВТОРОЙ ДЕНЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

## I ЭТАП: Приготовление простых питательных сред. Посев на питательные среды исследуемых объектов различными способами.

Непосредственно перед посевом было приготовлено рабочее место.

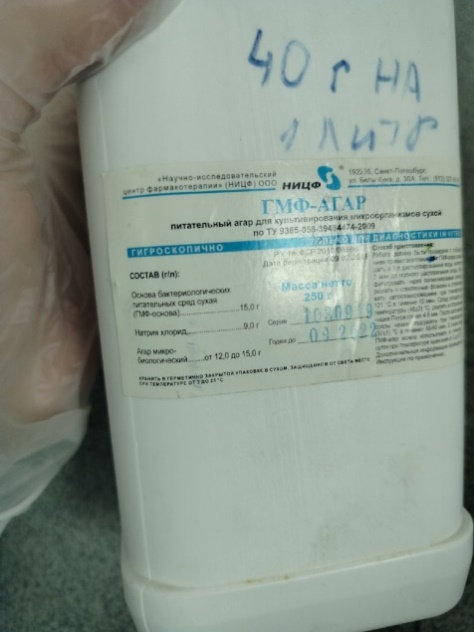
**Для посева воды были приготовлены среды:**

**МПА**

Для определения общего микробного числа. (ОМЧ)

**Общее микробное число (ОМЧ)** – это общее количество микроорганизмов в единице объема или массы исследуемого объекта.

Состав среды МПА: на основе МПБ, добавляя к нему 1,5 - 3% агара.



Рисунок№1

**Среда ЭНДО**

Для дифференцировки бактерий кишечной группы по их способности сбраживать лактозу.

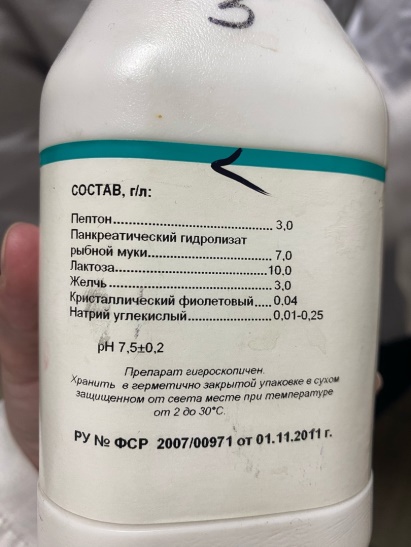
Состав среды ЭНДО: МПА, краситель (фуксин), лактоза, индикатор.



**Среда Кесслера**

Для обнаружения бактерий группы кишечной палочки при санитарном обследовании объектов внешней среды.

Состав среды Кесслера: пептон, панкреатические гидролизат рыбной муки, лактоза, желчь, кристаллический фиолетовый, натрий углекислый.



Алгоритм приготовления питательной среды:

1. Берется навеска сухой основы (из расчета кал-во в граммах указанного на литр,согласно инструкции по приготовлению). Мы взвесили навеску для сред: МПА, ЭНДО и Кесслера.
2. Наливаем необходимое количество дистиллированной воды в стеклянную колбу, сверху добавляем навеску.
3. Нагреваем на электроплите, помешивая (варим до закипания и растворения 3 раза).(Рисунок 3,4)
4. Разливаем среду по пробиркам, чашкам Петри (Рисунок 5) и маркируем их.

Расчёт количества порошка для приготовления сред на примере МПА:

Составлена пропорция

1000 мл- 40 г.

120 мл- х

Х= 120\*40/1000

Х= 4,8 г

Было приготовлено 120 мл среды МПА (с использованием 5 г порошка), 120 мл среды ЭНДО (с использование 5 г порошка), 100 мл среды Кесслера ( с использование 2,5 г порошка)



Рисунок 3- Варка среды ЭНДО; Рисунок 4- среда Кесслера



Рисунок 5- Разлив сред и деление на сектора

**Проведен посев исследуемого материала:**

Посев **тампоном** пробы на среду МПА.

Исследуемый материал №1 был нанесен на поверхность среды тампоном и тщательно распределен на одной половине чашки.



Рисунок 6- Посев тампоном

Произведен **посев «газоном»** на среду Эндо.

Исследуемый материал №1 был нанесен на поверхность среды тампоном и тщательно распределен на одной половине чашки.

Произвели посев на среду Кесслера.

Тампон поместили в пробирку со средой и перемешали содержимое.

**После работы посевы были помещены в термостат, рабочее место убрано.**

**Всего в группе было посеяно 8 проб .(см таблица 2)**

**Вывод:** Произведён посев материала на среды МПА, ЭНДО и Кесслера. Для определения общего микробного числа, и количества колиморфных бактерий.

## ТРЕТИЙ ДЕНЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

**II ЭТАП: Определение культуральные и морфологических свойств исследуемых микроорганизмов.**

**Определили культуральные свойства микроорганизмов на средах МПА и ЭНДО. (Рисунок 7)**

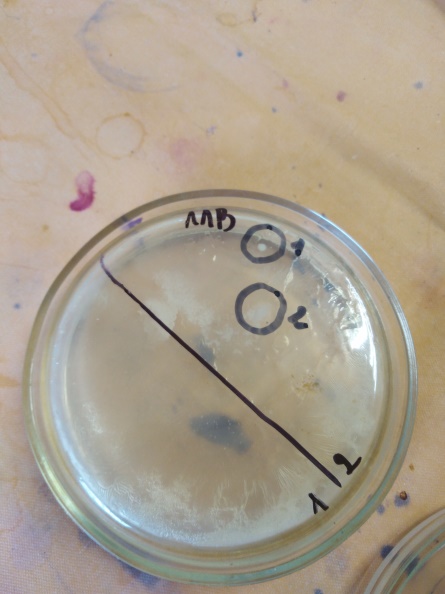




Таблица 1. Характеристика колоний

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Форма | Размер колонии | Поверхность | Характер края | Цвет | Структура | Профиль | Прозрачность |
| 1 | Правильная круглая | 1 мм | Гладкая | Ровный | Бледно-желтая | Однородная | Выпуклый | Непрозрачная |
| 2 | Правильная круглая | 9 мм | Гладкая | Ровный | Бледно-желтая | Однородная | Выпуклый | Полупрозрачная |

**Определили морфологические свойства исследуемых культур, посредством микроскопии по Грамму.**

Колония номер 1 — это грамположительные палочки цепочками. (см рис 8)

Колония номер 2 — Это грамположительные палочки цепочками. (см рис 9)

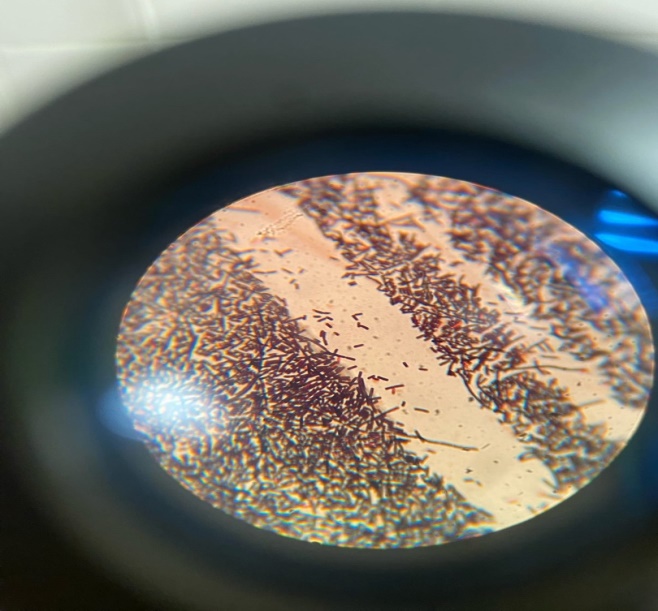


Рисунок 10-Микроскопия колонии номер1; Рисунок 11- Микроскопия колонии номер 2.

Таблица 2- Пробы из разных источников

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ пробы** | **Объект** | **Количество проб** | **Количество на МПА** | **Рост на Эндо** | **Рост Кесслера** | **Микрофлора** |
| 1 | Легкоатлетический манеж | 1 | - | - | - | Не исследовалась |
| 2 | + | - | - | Грамположительные палочки |
| 2 | Лифт жилого дома |  |  |  |  |  |
| 3 | Жилой дом |  |  |  |  |  |
| 4 | Общежитие |  |  |  |  |  |
| 5 | Общественные места общежития |  |  |  |  |  |
| 6 | Автобус |  |  |  |  |  |
| 7 | Стол в кафе |  |  |  |  |  |

Техника **посева на скошенный агар**:

При посеве на скошенный агар петлю с находящимся на ней пересеваемым материалом вводили в пробирку до дна, опускали плашмя на поверхность питательной среды и скользящими движениями наносили штрихи снизу вверх зигзагом.

Все посевы были помещены в термостат с температурой 37 °С на 24 ч.,рабочее место было убрано, отработанный материал утилизирован.

**Вывод:** были изучены культуральные и морфологические свойства выращенных микроорганизмов, и их посев на дифференциально-диагностические среды. На среде Эндо и Кесслера ничего не выросло.

## ЧЕТВЕРТЫЙ ДЕНЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

**III ЭТАП: Проверка чистоты культуры и посев материала на дифференциально-диагностические среды.**

**Была проведена проверка чистоты культуры:**

Культура чистая.

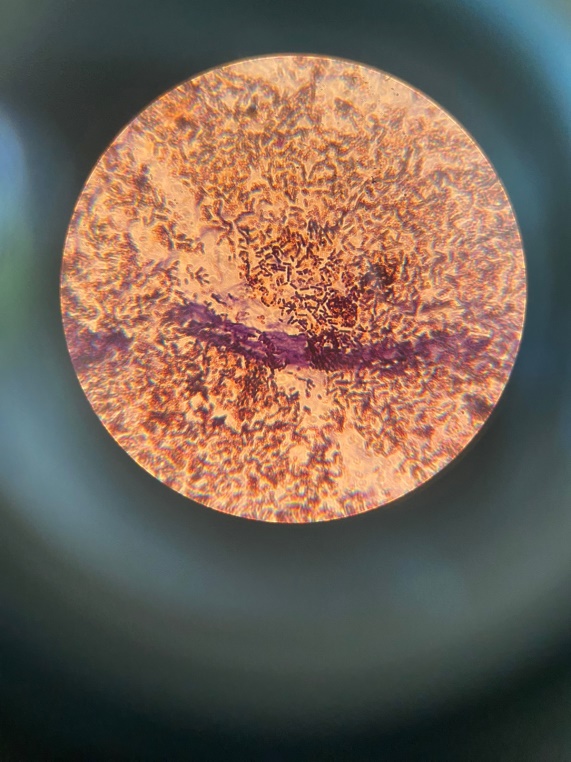
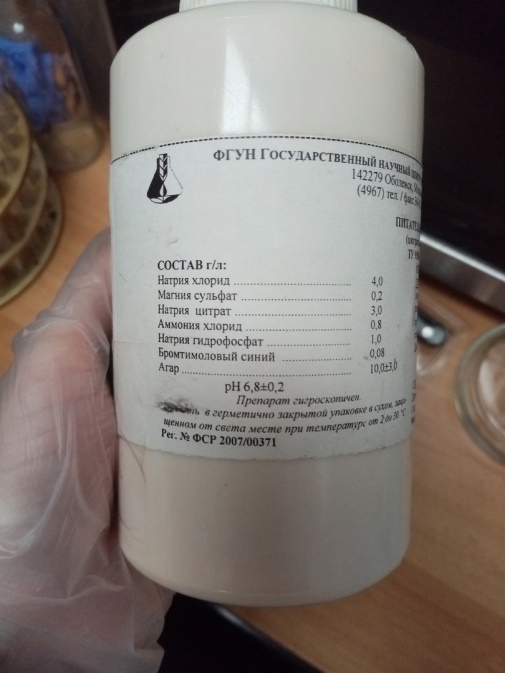


Рисунок 12- проверка чистоты культуры,

**Были приготовлены среды (Рисунки 13-15 )**

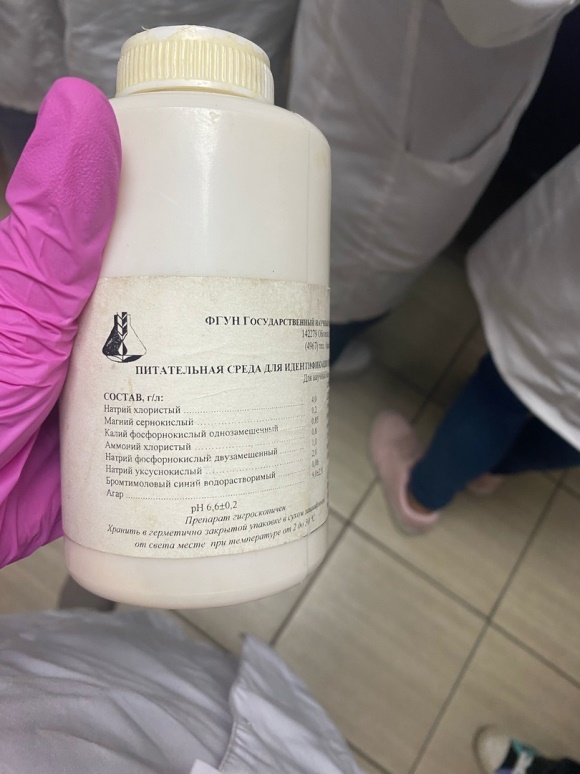
**Среда Симмонса** для родовой идентификации энтеробактерий. Состав среды обеспечивает необходимыми компонентами для обильного роста видов, способных использовать цитрат натрия в качестве единственного источника углерода, сопровождается изменением цвета столбика скошенной среды с зеленого на синий.

Состав середы: Натрия хлорид, магния сульфат, натрия цитрат, аммония хлорид, натрия гидрофосфат, бромтимоловый синий, агар.



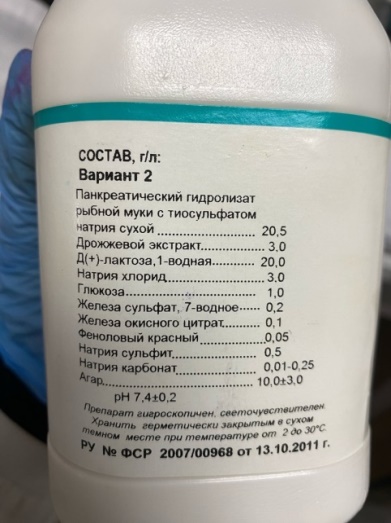
**Ацетатный агар:** Для идентификации микроорганизмов по способности утилизировать ацетат.

Состав среды: Натрия хлорид, магний сернокислый, аммоний фосфорнокислый двухзамещённый, калий, дигидроортофосфат, натрия ацетат плавленный, бромтимоловый синий водорастворимый, агар микробиологический.



**Клиглера** для первичной идентификации энтеробактерий по их способности ферментировать лактозу, глюкозу, образовывать газ и сероводород.

Состав среды: панкреатические гидролизат рыбной муки с тиосульфатом натрия, дрожжевой экстракт, лактоза, натрия хлорид, глюкоза, железа сульфат, железа окисного цитрат, феноловый красный, натрия сульфит, натрия карбонат, агар.



**Полужидкий агар** для определения подвижности микроорганизма.

Состав среды: основа бактериологических питательных сред сухая, натрия хлорид, агар микробиологический.

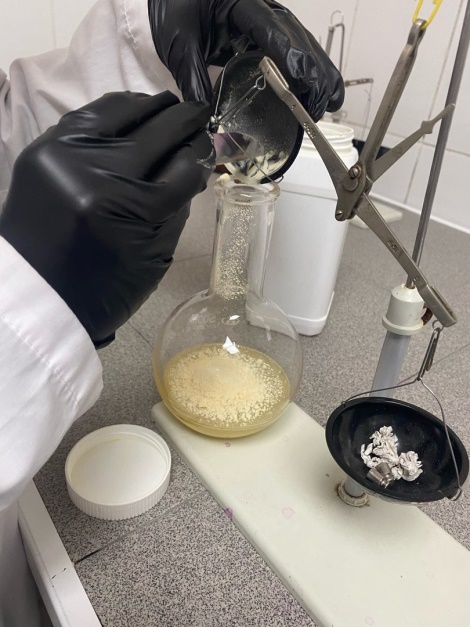


Рисунок 16-Процесс варки сред (расчет количества порошка)

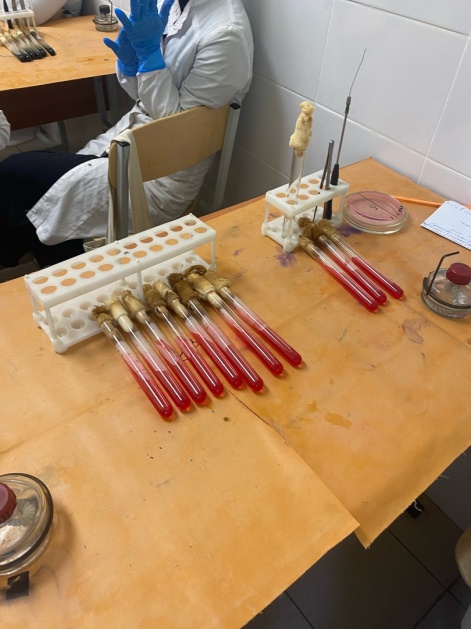


Рисунок 17-Симмонса; рисунок18- Клиглера; Рисунок 19-Ацетатный;

**Произвелся посев на дифференциально-диагностические среды: среда Симмонса - скошенный агар с уколом; скошенный ацетатный агар с проколом; полужидкий агар - проколом; среда Клиглера - скошенный агар с проколом;.**

Техника **посева в жидкую питательную среду**:

Петлю с находящимся на ней материалом была погружена в среду и перемешана. Далее содержимое пробирки было взболтано для однородного распределения материала.

Техника **посева уколом**:

В пробирку с застывшей средой в центр столбика был произведен укол бактериальной петлей, с находящейся на ней материалом, почти до дна пробирки.

**Все посевы были отправлены в термостат при температуре 37 градусов на 24 часа. Рабочее место было убрано, отработанный материал утилизирован.**

**Вывод:** В ходе работы была проведена проверка чистоты культур: грамположительные палочки в цепочке. Приготовлены дифференциально-диагностические среды и посев на них для определения ферментативной активности изучаемого микроорганизма.

## ПЯТЫЙ ДЕНЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

## IV ЭТАП: Учет результатов. Утилизация отработанного материала.

**Был произведен учёт результатов: биохимической активности микроорганизмов по цветным рядам.(см таблицу 4)**

**Результат на среде Симмонса**

Состав среды обеспечивает необходимыми компонентами для обильного роста видов, способных использовать цитрат натрия в качестве единственного источника углерода, сопровождается изменением цвета столбика скошенной среды с зеленого на синий. Так как в состав входит бромтимоловый синий. Рост Escherichia coli подавляется.

Культура микроорганизма биохимически не активна.

**Результат на среде Клиглера**

На агаре Клиглера можно отличать бактерии, ферментирующие и не ферментирующие лактозу и глюкозу. Тиосульфат натрия и сульфат железа усиливают образование сероводорода. Феноловый красный – индикатор рН. О ферментации глюкозы свидетельствует желтый столбик, лактозы – желтый скос, об образовании сероводорода – почернение столбика.

Наша культура биохимически не активна в отношении.

**Результат на ацетатном агаре**

Ферментация натрия ацетата происходит с образованием щелочных продуктов, изменяющих цвет присутствующего индикатора бромтимолового синего. Рост энтеробактерий, не ферментирующих ацетат, подавляется.

Культура микроорганизма биохимически не активна в отношении ацетата натрия, так как цвет среды не изменился.(Рисунки 23,24)

**Результат на полужидком агаре**

Выделено большое количество газа. Подвижность микроорганизма точно определить невозможно, поэтому дополнительно была выполнена микроскопия нативного препарата методом раздавленной капли. (см рис 25)

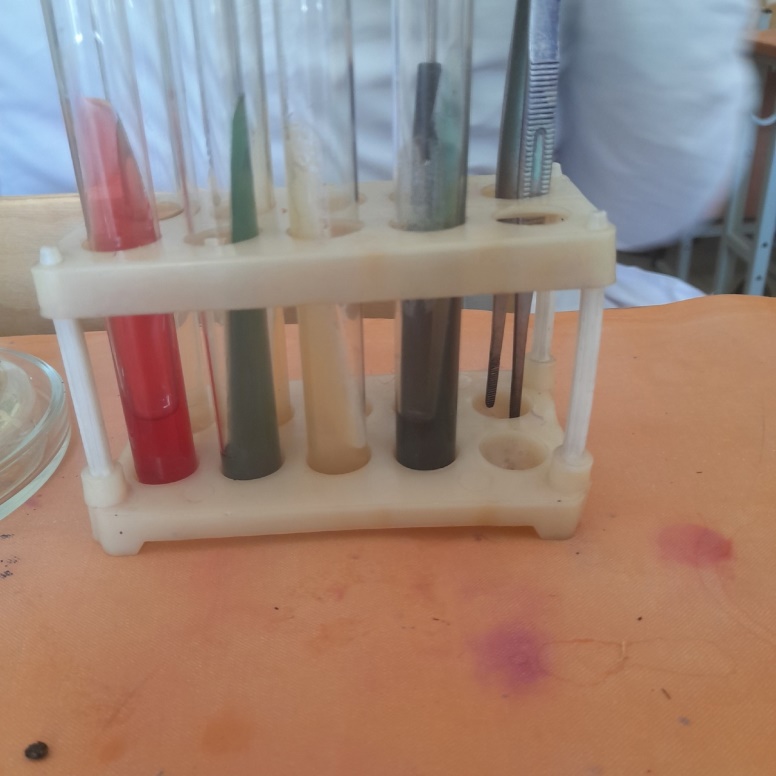


Таблица 4-Биохимические свойства микроорганизма

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Глюкоза | Лактоза | Ацетатный агар | Симонса |
| - | - | - | - |

Исходя из результатов таблицы, микроорганизм обладает низкой биохимической активностью.

**Проведена утилизация отработанного биоматериала в отходы класса А и Б.**

**Выводы:** Был проведён учет результатов и окончательно идентифицирован вид и род изучаемого микроорганизма. Бактерии палочки, низкой ферментативной активности, лактозонегативные, грамположительные палочки.

## ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследования. | Количество исследований по дням практики. | | | | | | Итог  итого |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |  |
| изучение нормативных документов | 1 | 1 |  |  | 1 |  | 3 |
| прием, маркировка, регистрация биоматериала. | 1 | 1 | 1 | 1 |  |  | 4 |
| Организация рабочего места |  | 1 | 1 | 1 | 1 |  | 4 |
| Приготовление простых и сложных питательных сред. |  | 1 | 1 | 1 |  |  | 3 |
| Приготовление сложных питательных сред. |  | 1 |  | 1 |  |  | 2 |
| Посев на питательные среды |  | 1 | 1 | 1 |  |  | 3 |
| Изучение культуральных свойств. |  |  | 1 | 1 |  |  | 2 |
| Изучение морфологических свойств |  |  | 1 | 1 | 1 |  | 3 |
| Определение подвижности микроорганизмов |  |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Определение спор |  |  | 1 |  |  |  | 1 |
| Изучение биохимических свойств( сахаролитических) |  |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Изучение биохимических свойств(протеолитических) |  |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Утилизация отработанного материала. |  | 1 | 1 | 1 | 1 |  | 4 |

## 

## C:\Users\User\Desktop\EW_t8bLcMl4.jpg

