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»

Юсупова Салихат Надировна

ФИО

Место прохождения практики

Фармацевтический колледж, лабораторная диагностика

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(медицинская организация, отделение)

с « 01 » Июня 2019 г. по « 07 » Июня 2019 г.

Руководители практики:

Общий – Ф.И.О. (его должность) Тюльпанова О.Ю.(преподаватель)

Непосредственный – Ф.И.О.(его должность) Тюлбпанова О.Ю. (преподаватель)

Методический – Ф.И.О. (его должность) Тюльпанова О.Ю.(преподаватель)

Красноярск, 2019

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 (Лист лабораторных)
8. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цели и задачи практики:**

* 1. Закрепление в учебных условиях профессиональных умений и навыков по методам микробиологических и иммунологических исследований.
  2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам микробиологических и иммунологических 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 бактериологических 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 согласно алгоритмам

**По окончании практики студент должен представить следующие документы:**

* 1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью руководителя
  2. Текстовый отчет по практике
  3. Выполненную самостоятельную работу.

**В результате учебной практики студент должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- применения техники бактериологических исследований.

**Освоить умения:**

* + - готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических исследований;
    - осуществлять подготовку реактивов, лабораторного оборудования и аппаратуры для исследования;
    - проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты, рабочего места и аппаратуры;

**Знать:**

* + - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории;

- основы техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории; нормативно-правовую базу по соблюдению правил санитарно - эпидемиологического режима в микробиологической лаборатории;

* + - задачи, структуру, оборудование, правила работы и техники

безопасности в лаборатории микробиологических исследований;

**Тематический план учебной практики**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | **Количество** | |
| дней | часов |
| 1. | 1 этап. Приготовление простых и сложных питательных сред. Посев на питательные среды. Выделение чистой культуры. | 1 | 6 |
| 2 | 2 этап. Изучение культуральных свойств. Изучение морфологических свойств. | 1 | 6 |
| 3 | 3 этап. Изучение биохимических свойств | 1 | 6 |
| 4 | 4 этап. Учет результатов. | 1 | 6 |
| 5 | Утилизация отработанного материала. | 1 | 6 |
| 6 | Зачет | 1 | 6 |
| **Итого** | | **6** | **36** |

**График выхода на работу**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Даты | Часы работы | Подпись руководителя |
| 1 | 1.06.2019 | 8:00 – 13:35 |  |
| 2 | 3.06.2019 | 12:00 – 17:05 |  |
| 3 | 4.06.2019 | 12:00 – 17:05 |  |
| 4 | 5.06.2019 | 9:45 – 15:20 |  |
| 5 | 6.06.2019 | 12:00 – 17:05 |  |
| 6 | 7.06.2019 | 9:45 – 15:20 |  |

**ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

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

**ДЕНЬ 1**

**Отбор пробы воды на бактериологическое исследование**

Правила техники безопасности:

1. Находиться и работать в лаборатории в халатах, колпаках и сменной обуви;
2. Пользоваться только отведенным рабочим местом и оборудованием;
3. Не выносить материал, посуду, оборудование из лаборатории;
4. Не принимать пищу в лаборатории;
5. После работы с заразными материалами, инструменты, посуда, предметные стекла подлежат обеззараживанию в дезинфицирующе растворе, либо в автоклаве, либо над пламенем спиртовки;
6. Если разобьется посуда или разольется жидкость, содержащая заразный материал, необходимо сообщить об этом руководителю и тщательно все продезинфицировать;
7. Соблюдать чистоту и опрятность. До и после работы необходимо мыть руки и дезинфицировать стол.

Бактериологическое исследование состоит из четырех этапов:

1. Приготовление питательных сред для выделения чистой культуры и первичный посев исследуемого материала;
2. Микроскопия выросших колоний. Изучение культуральных и морфологических свойств, посев чистой культуры;
3. Определение чистоты культуры, приготовление сред для определения биохимических свойств и посев на них чистой культуры;
4. Учет результатов биохимических тестов, определение вида микроорганизма.

**Нормативные документы**

1. ГОСТ Р 5159 – 2000 «Вода. Общие требования к отбору проб». В нем представлены требования к оформлению результатов отбора проб.
2. СанПиН 2.1.5.980 – 00. « Водоотведение населенных мест, санитарная охрана водных объектов. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. Санитарные правила и нормы». В данном документе отражено, что настоящие санитарные правила имеют целью обеспечить предотвращение и устранения загрязнения поверхностных вод, которое может привести к нарушению здоровья населения, развитию массовых инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваний, а также к ухудшению условий водопользования населения.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Возбудители кишечных инфекций | Вода не должна содержать возбудителей кишечных инфекций | |
| Жизнеспособные яйца гельминтов (аскарид, фасциол и т.д.) и жизнеспособные цисты патогенных кишечных простейших. | Не должны содержаться в 25л воды | |
| Термотолерантные колиформные бактерии | Не более  100КОБ/100мл | Не более  100КОБ/100мл |
| Общие колиформные бактерии | Не более  1000КОЕ/100мл | Не более  500КОЕ/100мл |
| Колифаги | Не более  10БОЕ/100мл | Не более  10БОЕ/100мл |

1. МУК 4.2.1884 – 04 « Санитарно – микробиологический и санитарно – паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». В данном документе представлены правила отбора, хранения и транспортировки проб, а также определение понятия показателей.

* Пробы для санитарно – микробиологического анализа отбирают в стерильные емкости, они должны быть оснащены плотно закрывающимися пробками и защитным колпачком или завинчивающимися крышками. Во время отбора пробка и края емкости не должны ничего касаться, после наполнения емкость закрывают стерильной пробкой, обеспечивая герметичность. При заполнении емкостей должно оставаться пространство между пробкой и поверхностью воды.
* Отбор проб следует производить с использованием различных плавсредств , с мостов, помостов, где глубина водоема не менее 0,5м (поверхностные пробы с глубины 10-15 см от поверхности воды, природные – 30-50 см от дна). Недопустимо производить отбор проб с берег.
* Отбор проб производит специалист после прохождения инструктажа по технике выполнения отбора проб для микробиологического анализа.
* Отобранную пробу маркируют и сопровождают документом отбора проб воды с указанием места, даты, времени забора, фамилии специалиста, отбиравшего пробу, и другой информации (температуры воды, погодных условий).

Объем пробы зависит от того, какие микроорганизмы должны быть определены

* Доставку проб воды осуществляют в контейнерах-холодильниках при температуре (4-10) °С. В холодный период года контейнеры снабжают термоизолирующим прокладкиами. В лаборатории, если анализ по каким-либо причинам откладывают, пробы следует поместить в холодильник.

При соблюдении указанной температуры транспортирования и хранения срок начала исследований от момента отбора проб не должен превышать 6 ч. Если пробы нельзя охладить, их анализ проводят в течение 2 ч после забора.

Если указанные требования были не соблюдены, то анализ пробы по бактериологическим показателям не проводят.

1. Федеральный закон «О санитарно – эпидемиологическом благополучии населения».

**Отбор проб воды для бактериологического исследования**

Отбор пробы проводился 1.06.2019 на реке Кача, г. Красноярск. Проба была отобрана точечным методом в метре от берега реки, на глубине 15см от поверхности воды.

Проба взята для исследования воды на наличие 2 показателей:

1. Наличие в воде кишечной палочки
2. Общее микробное число (ОМЧ)



Рисунок 1 – река Кача

Таблица 1. Исследуемые водные объекты

|  |  |
| --- | --- |
| Номер | Водный объект |
| 1. | Река Мана |
| 2. | Река Маклаковка |
| 3. | Река Березовка |
| 4. | Колодец (респ. Тыва) |
| 5. | Река Собакина |
| 6. | Торгашинское Водохранилище |
| 7. | Ручей (на р. Мана) |
| 8. | Река Енисей |
| 9. | Река Кача |
| 10. | Река Муртушка |
| 11. | Река Серта |

**День 2**

**Проведение 1 этапа бактериологического исследования**

Для проведения 1 этапа бак. исследования необходимо:

* приготовить питательную среду ЭНДО и МПА соблюдая этапы приготовления питательных сред



Рисунок 2 – Взятие навески Рисунок 3 – Варка среды

Приготовление питательных сред:

Для приготовления МПА и среды ЭНДО берут 4г питательной среды и разводят в 100мл воды. Стерилизуют, доводят до кипения и убирают с плитки (колба должна быть плотно закрыта пробкой; в процессе варки среду необходимо помешивать, используя специальную прихватку, чтобы не допустить взрывоопасной ситуации). Затем среду охлаждают и разливают в стерильные чашки Петри и пробирки.

* произвести посев шпателем



Рисунок 4 - Методика посева шпателем

Техника посева шпателем

1.Взять чашку Петри с питательной средой (стоит на столе крышкой вниз), промаркировать соответственно пробирке с разведенным биоматериалом и перевернуть крышкой вверх;

2. Зажечь спиртовку;

3. Взять стерилизованную пипетку (предварительно подобрать грушу);

4. Забрать пипеткой исследуемый материал (в данном исследовании речная вода);

5. Приоткрыв левой рукой крышку чашки Петри (должна стоять на столе) с одной стороны, внести материал по центру на поверхность среды (МПА – 1 капля, ЭНДО – 1мм), аккуратно извлечь пипетку, чашку закрыть;

7. Стерильным шпателем (шпатель предварительно находится в стакане со спиртом, затем его обжигают в пламени спиртовки и остужают о внутреннюю поверхность крышки чашки Петри) аккуратно растирают каплю по поверхности агара круговыми движениями. Шпатель обжигают и помещают обратно в спирт;

8. Чашку с посевом перевернуть крышкой вниз и поместить в термостат

* Убрать рабочее место, продезинфицировать стол, оборудование, перчатки, вымыть руки.

**ДЕНЬ 3**

**Проведение 2 этапа бактериологического исследования**

Таблица 2. Результаты исследований различных проб воды

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Номер | Наличие и характер роста на МПА | Наличие и характер роста на ЭНДО |
| 1.река Мана | +, небольшое количество | - |
| 2.Маклаковка | +, небольшое количество | - |
| 3.Березовка | +, обильный рост | +, (около 25) |
| 4.Колодец | +, сплошной рост | - |
| 5.Собакина | +, небольшое количество | - |
| 6.Торгашинское водохранилище | - (1 колония) | +, небольшое количество |
| 7.Ручей р.Мана | +, сплошной рост | - |
| 8.Енисей | +, небольшое количество | +, обильный рост |
| 9.Кача | +, сплошной рост | +, обильный рост |
| 10.Муртушка | +, сплошной рост | - |
| 11.Серта | +, небольшое количество | - |

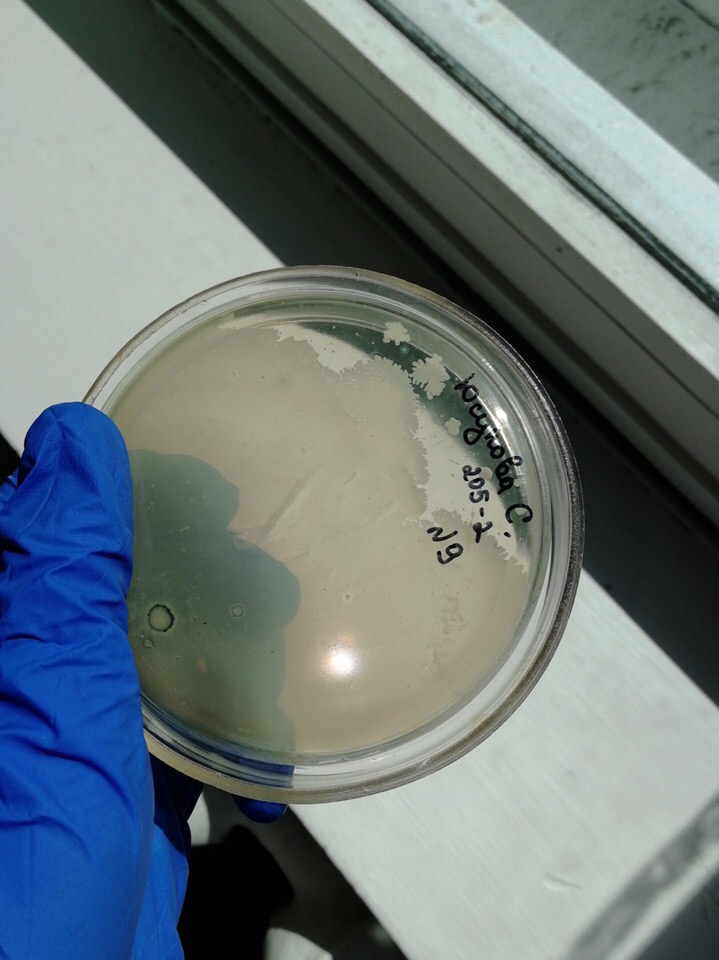


Рисунок 5 – Рост колоний на средах МПА и Эндо

Изучение культуральных свойств колоний микроорганизмов на среде МПА

Таблица 3. Культуральные свойства колонии

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| форма | цвет | края | прозрачность | профиль | поверхность | размер |
| Неправильная | Кремовая (желтоватая) | Фестончатые | Непрозрачная | Плоская | Гладкая | 1 см |

Проводится окраска по Граму, для определения тинкториальных свойств выбранной колонии микроорганизмов.

Методика окраски по Граму:

1. Приготовить фиксированный мазок;
2. На мазок положить фильтровальную бумагу и налить 1-2 капли генцианвиоллета и окрасить в течение 1 минуты;
3. Убрать фильтровальную бумагу, слить краситель и, не промывая мазок водой, налить раствор Люголя на 1 минуту;
4. Краску слить и на мазок капнуть на 0,5 минуты обесцвечивающего раствора;
5. Промыть препарат водой;
6. Окрасить раствором сафранина в течение 2 минут;
7. Промыть водой,подсушить и промикроскопировать.

Рисунок 6 – Окраска по Граму

В ходе микроскопии были обнаружены грамположительные бактерии



Рисунок 7 – Грамположительные бактерии под микроскопом

Приготовить препарат по методу раздавленной капли для изучения подвижности микроорганизмов

Рисунок 8 – Приготовление препарата по методу раздавленной капли

В ходе микроскопии были обнаружены подвижные бактерии Кишечной палочки

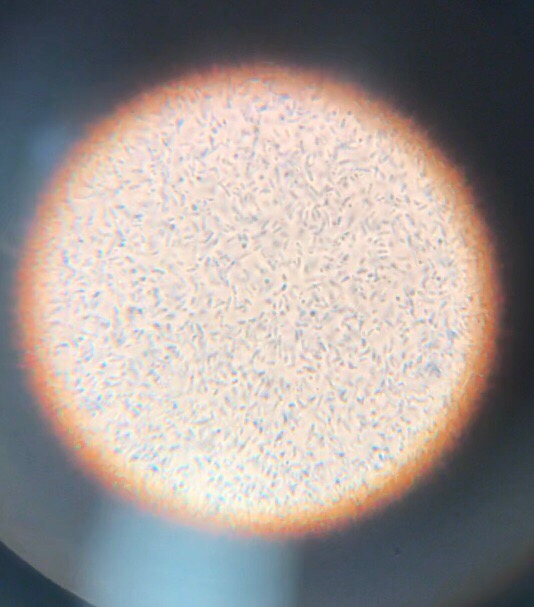


Рисунок 9 – подвижные бактерии

Для выделения чистой культуры необходимо:

* + - Приготовить питательную среду (двухсахарный агар Клиглера с глюкозой, лактозой и индикатором)
    - Разлить питательную среду, чтобы получился скошенный агар
    - Сделать пересев в пробирку на скошенный агар зигзагом
    - Поставить в термостат.

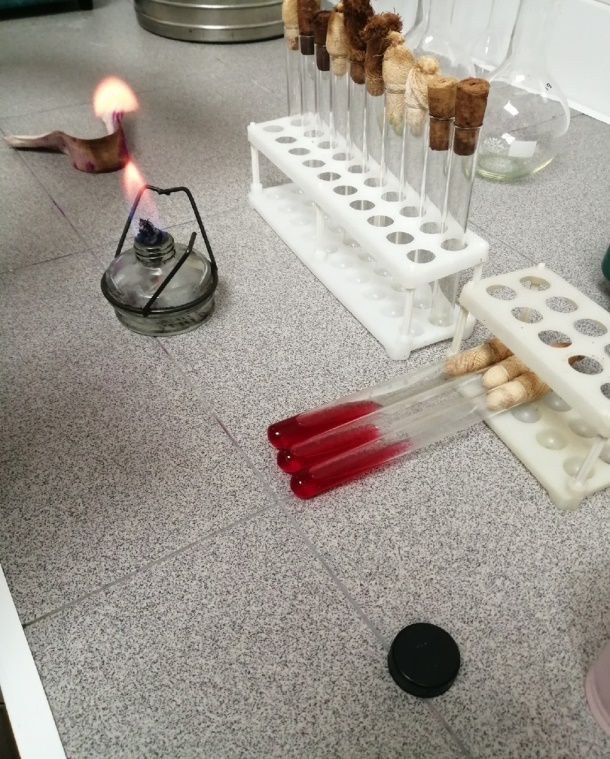
 

Рисунок 10 – Приготовление скошенного агара

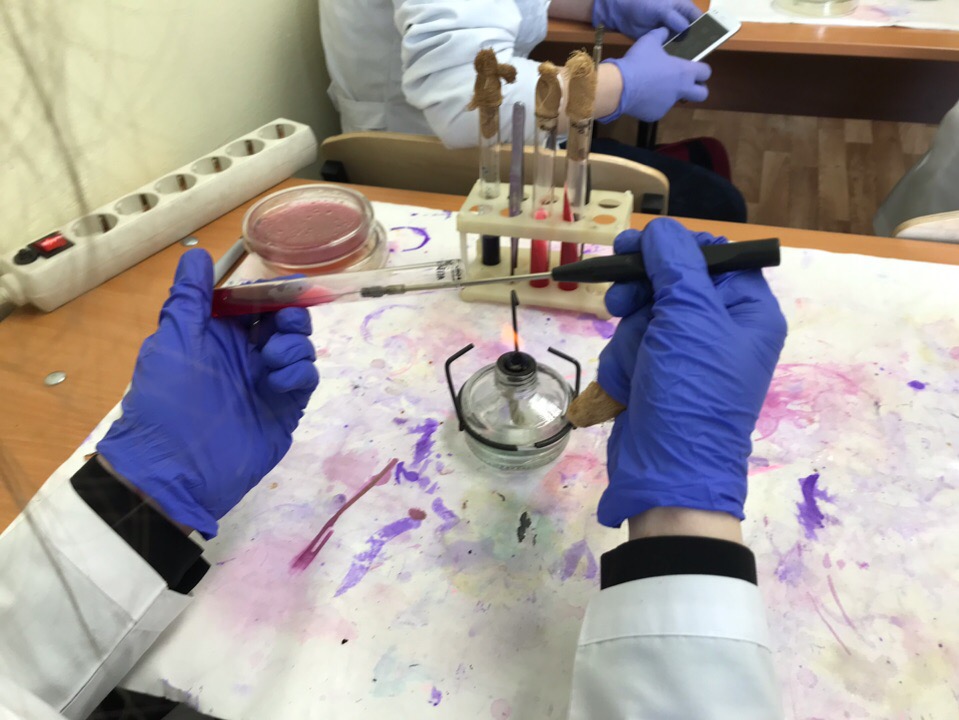


Рисунок 11 – Пересев микроорганизмов на скошенный агар зигзагом.

**ДЕНЬ 4**

**Проведение 3 этапа бактериологического исследования**

При пересеве микроорганизмов со среды МПА на скошенный агар (среда Клиглера с глюкозой, лактозой и индикатором) было выявлено, что данные микроорганизмы не ферментируют глюкозу и лактозу, а также в питательной среде образовалась колония анаэроб, что говорит, о плохой стерильности питательной среды. На среде Эндо микроорганизмы ферментируют лактозу и глюкозу, также происходит интенсивное газообразование.



Рисунок 12 – Колония микроорганизмов на среде Клиглера

При микроскопии данной культуры были обнаружены грамотрицательные палочки

Кишечная палочка (лат. Escherichia coli) – вид грамотрицательных палочковидных бактерий, широко распространенных в нижней части кишечника теплокровных животных. Большинство штаммов E.coli являются безвредными, однако серотип 0157:H7 может вызывать тяжелые пищевые отравления у людей.

Для изучения биохимических свойств необходимо сварить питательные среды

Использовались 4 питательные среды:

* Среда Гисса с маннитом
* Среда Гисса с сорбитом
* Агар Симмонса
* Ацетатный агар



Рисунок 13 – Готовые питательные среды

Посев материала на скошенный агар

Материал, забранный петлей, опускают до дна пробирки со скошенным агаром, погружают в конденсационную жидкость и зигзагообразными движениями петли проводят снизу вверх, слегка касаясь поверхности среды.

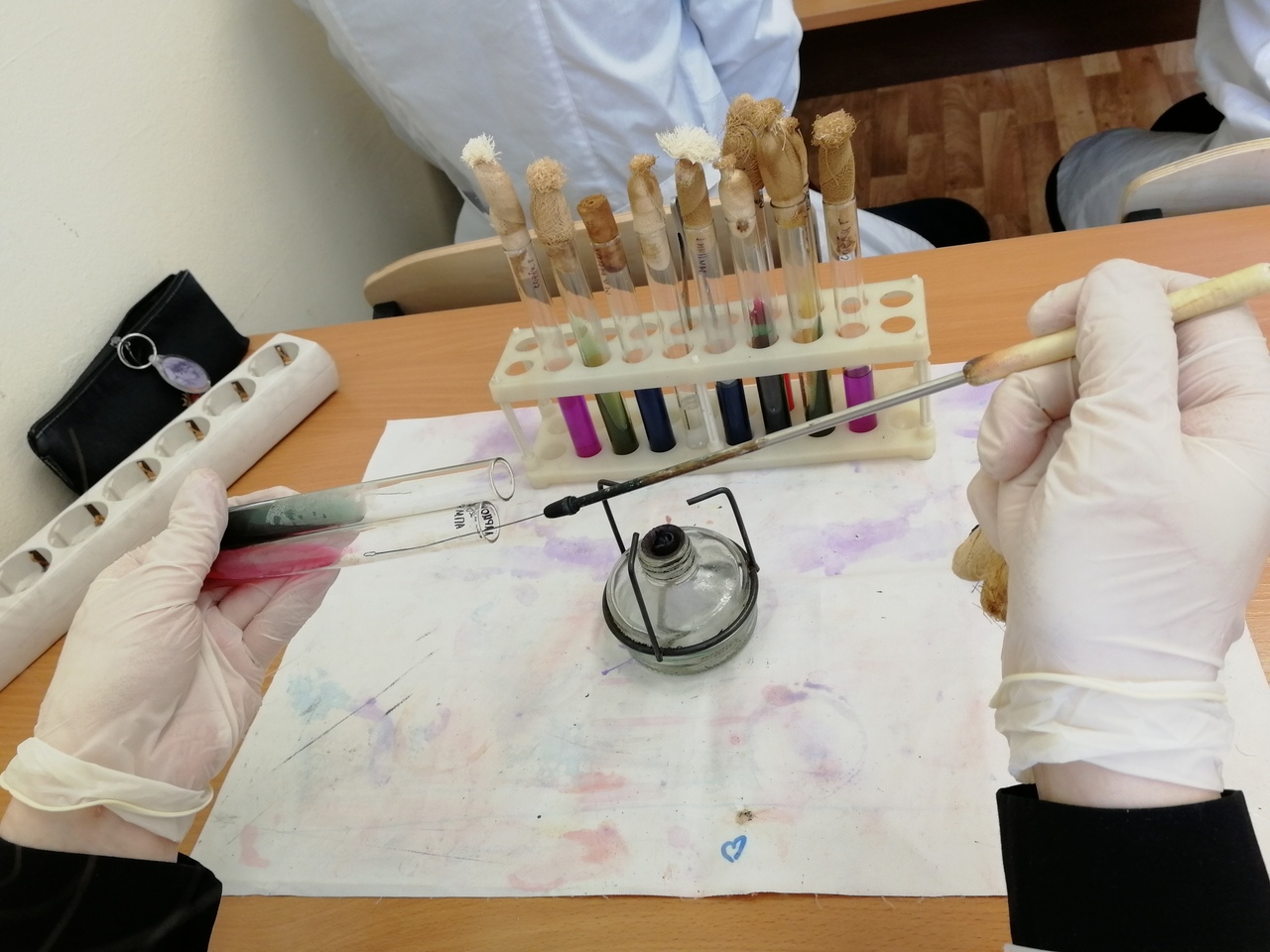


Рисунок 14 – Посев микроорганизмов на скошенный агар

При посеве материала уколом в столбик среды, петлей с материалом прокалывают вертикально центру пробирки питательную среду, петлю вынимают, прожигают.



Рисунок 15 – Посев уколом

**ДЕНЬ 5**

**Учет биохимических тестов**

Таблица 4. Учет результатов биохимических тестов

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Номер | Питательные среды | Учет результатов |
| 1 | Среда Гисса с маннитом | + |
| 2 | Агар Симмонса | - |
| 3 | Ацетатный агар | - |
| 4 | Среда Гисса с сорбитом | - |

Рисунок 16 – Учет результатов

Утилизация отработанного материала

Перед стерилизацией лабораторную посуду моют и сушат. Пробирки, флаконы, бутыли и колбы закрывают ватно – марлевыми пробками.

* Обработка предметных стекол

1. Стекла моют в мыльном растворе щеткой, прополаскивают;
2. Кипятят в мыльном растворе в течение 1-2 часов;
3. Тщательно промывают проточной водой;
4. Помещают в смесь Никифорова для обеззараживания на 2-3 часа.



Рисунок 15 – Емкость с дезинфицирующим раствором

* Стерилизация патогенных культур микробов

Пробирки и чашки, содержащие культуры микробов, не нужные для дальнейшей работы, складывают в металлический бак ( в пробирки не должен попадать воздух, так как стерильность в таком случае не будет соблюдена).

* Перчатки обрабатывают дезинфицирующим раствором и утилизируются.

**Содержание** **практики**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  дни | Виды деятельности | Практический опыт | Умения |
|  | **Раздел Общая микробиология** | |  |
| 1. | 1. Правила техники безопасности. 2. Приготовление питательных сред для выделение чистой культуры. 3. Посев исследуемого материала. 4. Оформление дневника. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований. Готовить общеупотребительные питательные среды, для культивирования микроорганизмов.  Владеть техникой работы бактериальной петлей. Владеть техникой микроскопических исследований | Определять вспомогательные структуры бактериальной клетки |
| 2. | 1. Изучение культуральных свойств. 2. Приготовление дифференциально диагностических сред. 3. Посев исследуемого материала. 4. Изучение морфологических, тинкториальных свойств. 5. Оформление дневника. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.  Владеть техникой работы бактериальной петлей. Владеть техникой микроскопических исследований | Работа с биологическим материалом  Производить посев петлей  Определять тинкториальные и морфологические  свойства исследуемой культуры. |
| 3. | 1. Изучение чистой культуры. 2. Приготовление фиксированного мазка 3. Физическим методом. 4. Окраска препарата по ГР. 5. Изучение тинкториальных свойств. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.  Владеть техникой микроскопических исследований | Работа с биологическим материалом  Определять  культуральные  свойства на жидких и плотных питательных |
|  | 1. Приготовление питательных сред для 2. Изучения биохимических свойств 3. Оформление дневника. | Владеть техникой работы бактериальной петлей. | средах  Работа с электроприборами, термостатом и другим оборудованием |
| 4 | 1. Изучение выделенной культуры. 2. Изучение биохимических свойств. 3. Оформление дневников. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.  Владеть техникой микроскопических исследований.  Владеть техникой работы бактериальной петлей. | Работа с биологическим материалом |
| 5 | 1. Учет результатов 2. Утилизация отработанного материала. 3. Оформление дневников. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований. | Оценивать ферментативную активность микроорганизмов. |
| 6. | Зачет | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований. Техника посевов, микроскопия, культивирование, изучение ферментативной активности бактерий. |  |

**ОТЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Юсупова Салихат Надировна

Группы 205-1 специальности Лабораторная диагностика Проходившего (ей) учебную практику с 01 июня по 07 июня 2019 г

За время прохождения практи

ки мною выполнены следующие объемы работ:

**1. Цифровой отчет**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | **Виды работ** | **Кол -во** |
| 1. | -изучение нормативных документов | 4 |
| 2. | - приготовление питательных сред | 1 |
| 3. | - посев исследуемого материала на плотные питательные среды | 4 |
| 4. | - определение тинкториальных свойств | 1 |
| 5. | -изучение культуральных свойств | 1 |
| 6. | -изучение морфологических и тинкториальных свойств | 1 |
| 7. | -изучение биохимических свойств | 1 |
| 8. | Учет результатов исследования. | 6 |
| 9. | проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;  - утилизация отработанного материала. | 5 |

**2. Текстовой отчет**

1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики:

1. Самостоятельная работа:

1. Помощь оказана со стороны методических и непосредственных руководителей:

1. Замечания и предложения по прохождению практики:

Общий руководитель практики **\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

(подпись) (ФИО)

М.П.организации