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»

Байыр-оол Чимис Евгеньевна

ФИО

Место прохождения практики

Фармацевтический колледж, лабораторная диагностика

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

(медицинская организация, отделение)

с « 22 » Июня 2019 г. по « 28 » Июня 2019 г.

Руководители практики:

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**

**Таблица№ 1**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | **Количество** | |
| дней | часов |
| 1. | 1 этап. Отбор проб воды. 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**

**Таблица№ 2**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Даты | Часы работы | Подпись руководителя |
| 1 | 22.06.2019 | С 08:00 до 13:35 |  |
| 2 | 24.06.2019 | С 09:45 до 15:20 |  |
| 3 | 25.06.2019 | С 09:45 до 15:20 |  |
| 4 | 26.06.2019 | С 09:45 до 15:20 |  |
| 5 | 27.06.2019 | С 09:45 до 15:20 |  |
| 6 | 28.06.2019 | С 09:45 до 15:20 |  |

**ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Таблица№ 3**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 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 |  |  | 3 |
| Приготовление простых питательных сред. |  | 1 |  |  |  |  | 1 |
| Приготовление сложных питательных сред. |  | 1 |  |  |  |  | 1 |
| 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 |  |  |  |  |  |  | 0 |
| Изучение биохимических свойств (сахаролитических) |  |  |  | 1 | 1 |  | 2 |
| Утилизация отработанного материала. |  | 1 | 1 | 1 | 1 |  | 4 |

**Содержание** **практики**

**Таблица№ 4**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  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 Байыр-оол Чимис Евгеньевна

Группы 206-2 специальности Лабораторная диагностика Проходившего (ей) учебную практику с 22 июня по 28 июня 2019 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. **Цифровой отчет**

**Таблица№ 5**

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

**День 1 (22.06.2019)**

**Правила работы в микробиологической лаборатории**

1. Находиться и работать в лаборатории в халатах, колпаках и сменной обуви.
2. Пользоваться только отведенным рабочим местом и оборудованием, как меньше ходить по лаборатории.
3. Не выносить материал, посуду, оборудование из лаборатории.
4. Не принимать пищу.
5. После работы с заразными материалами, инструменты, посуду, предметные стекла подлежат обеззараживанию в дезинфицирующем растворе, либо в автоклаве, либо в пламени 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

**Нормативные документы:**

1. ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб». В данном документе отражены требования к оформлению результатов отбор проб.

2. СанПин 2.1.5.980-00. 2.1.5. «Водоотведение населенных мест, санитарная охрана водных объектов. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. Санитарные правила нормы».

В данном документе отражено, что настоящие санитарные правила имеют цель обеспечить предотвращение и устранение загрязнения поверхностных вод, которое может привести к нарушению здоровья населения, развитию массовых инфекционных, паразитарных и неинфекционных заболеваний, а также к ухудшению условий водопользования населения. К первой категории водопользования относится использование водных объектов или их участков в качестве источника питьевого и хозяйственно-бытового водопользования, а также для водоснабжения предприятий пищевой промышленности. Ко второй категории водопользования относится использование водных объектов или их участков для рекреационного водопользования.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Возбудители кишечных инфекций | Вода не должна содержать кишечных инфекций | | | |
| Жизнеспособные яйца гельминтов и жизнеспособные цисты патогенных кишечных простейших | Не должны содержаться в 25л воды | | | |
| Термотолерантные колиформные бактерии\*\* | Не более  100КОЕ/100мл\*\* | | Не более100  КОЕ/100мл | |
| Общие колиформные бактерии\*\* | Не более | | | |
| 100КОЕ/100мл\*\* | 500КОЕ/100мл | | |
| Колифаги\*\* | Не более | | | |
| 10БОЕ/100мл\*\* | | | 10БОЕ/100мл |

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

* Пробы отбирают в специально предназначенную для этих целей стерильные емкости. Емкости должны быть оснащены плотно закрывающимися пробками и защитным колпачком или завинчивающимися крышками.

Во время отбора пробка и края емкости не должны чего-либо касаться. Ополаскивать посуду не следует. При заполнении емкостей должно оставаться пространство между пробкой и поверхностью воды. Поверхностные пробы отбирают с глубины 10-15 см от поверхности воды. Придонные пробы отбирают в 30-50 см от дна. Отбор проб следует производить с использованием различных плавсредств, с мостов, помостов и т.п. в местах, где глубина водоемов не менее 0,5 м. Недопустимо производить отбор проб с берега.

* Отбор проб производит специалист после прохождения инструктажа по технике выполнения отбора проб для микробиологического анализа.

Отобранную пробу маркируют и сопровождают документом отбора проб воды.

Объем пробы зависит от того, какие микроорганизмы должны быть определены:

- на индикаторные микроорганизмы - не менее 500 мл;

* Доставку проб воды осуществляют в контейнерах при температуре (4-10) °С.

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 не может быть соблюдено время доставки пробы и температура хранения, анализ пробы по бактериологическим показателям не проводят.

* Общие колиформные бактерии (ОКБ) - грамотрицательные, оксидазоотрицательные, не образующие спор палочки, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре (37 ± 1) °С в течение 24-48 ч.
* Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) входят в число общих колиформных бактерий, обладают всеми их признаками и, кроме того, способны ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре (44 ± 0,5) °С в течение 24 ч.
* Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»

Отбор проб

Отбор проб производился на реке Енисей 22.06.19, которая расположен на острове Татышев возле БКЗ, г. Красноярска. Проба произведена точечным методом в 19:00. Проба взята для исследования воды на наличие 2 показателей:

1. Наличие в воде кишечной палочки
2. Общее микробное число

Пробу выполнил: студенка, Байыр-оол Ч.Е.

Отбор пробы производился с берега на расстоянии вытянутой руки и чуть ниже поверхности воды в количестве 500 мл. Собранная проба до исследования хранилась в холодильнике.

**Таблица№ 6.** **Объекты исследования воды**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Номер** | **Водный объект** | |
| 1 | | р. Кача с. Емельяново |
| 2 | | р. Енисей о-в Татышев (со стороны левого берега) |
| 3 | | р. Енисей р-н Южного берега (пляж) |
| 4 | | р. Енисей р-н Проток |
| 5 | | р. Енисей о-в Татышев (возле БКЗ) |
| 6 | | р. Енисей КрасРаб (возле торгового центра) |
| 7 | | р. Енисей КрасРаб возле торгового центра (прямо возле берега) |
| 8 | | р. Енисей о-в Татышев (где утки плавают) |

**День 2 (24.06.2019)**

**Первый этап бактериологического исследования посев исследуемого материала на питательные среды**

Проведение 1 этапа бактериологического исследования - посев исследуемого материала на питательные среды, среду накопления.

Для проведения 1 этапа бактериологического исследования требовалось:

* приготовить питательную среду Эндо и МПА (рисунок 1), соблюдая этапы приготовления питательной среды.



Рисунок 1-Приготовление питательных сред Эндо и МПА.

* Разлить питательную среду Эндо и МПА по чашкам Петри (рис. 2).

Рисунок 2-разлив питательных сред Эндо и МПА по чашкам Петри.

* произвести посев шпателем (рисунок 3,4).

Рисунок 3,4-посев шпателем на питательные среды МПА и Эндо

Техника приготовления посева шпателем

1. зажечь спиртовку
2. подобрать грушу, убрать бумагу с пипетки
3. набрать пипеткой воду
4. поместить воду в чашку Петри на середину питательной среды (если МПА-1 каплю, если Эндо-1мл)
5. прокалить шпатель над огнем
6. остудить его о крышку чашки Петри
7. круговыми движениями шпателя распределить воду по пит.среде
8. прокалить шпатель над огнем
9. убрать шпатель в спирт

* поставить чашки Петри с посевами в термостат

**День 3 (25.06.2019)**

**Проведение 2 этапа бактериологического исследования**

Изучили произведенные посевы в 1 день исследования, и дали характеристику роста.

Таблица №7. Наличие и характер роста микроорганизмов на питательных средах

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№ Объект исследования** | **Наличия и характер роста на МПА** | **наличие и характер роста на среде Эндо** |
| река Кача (с. Емельянова) | не большое количество колонии | колиформные бактерии |
| река. Енисей остров Татышев (со стороны левого берега) | незначительное число колонии(немного) | кишечные палочки в данной пробе отсутствуют |
| река Енисей в районе Пляже | незначительное число колонии(немного) | единичные колонии |
| река Енисей в районе Проток | единичные колонии | единичные колонии |
| река Енисей БКЗ | сплошной рост | сплошной рост |
| река Енисей( возле торгового центра) | обильный рост | кишечные палочки нет |
| река Енисей(там где утки плавают возле БКЗ) | не большое количество колонии | сплошной рост |
| река Енисей возле торгового центра (прямо возле берега) | обильный рост | кишечные палочки нет |

Исследования на реке Енисей (со стороны БКЗ).

В пробе воды было обнаружено:

-МПА (рис.5)сплошной рост полупрозрачных колонии микроорганизмов правильной формы, молочного цвета, поверхность их морщинистая, профиль плоский, характер края ровный.

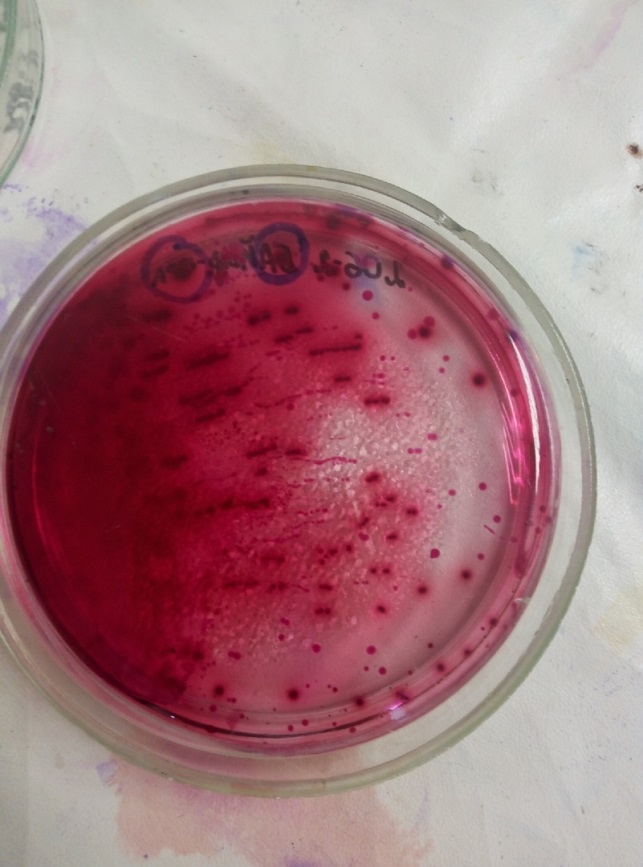
-Эндо (рис.6) роста колонии не обнаружено, что свидетельствует об отсутствии фекального загрязнения в реке Енисей. 

Рисунок 5,6.Рост колоний на среде МПА и сплошной рост на среде Эндо.

.

**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. Удалить бумагу, слить краситель и, не промывая мазок водой, налить раствор Люголя на 1 мин.
4. Краску слить и на мазок капнуть на 0,5 минуты этилового спирта (обесцвечивающий раствор).
5. Промыть препарат водой.
6. Окрасить разведенным фуксином (р-р сафранина) в течение 2 минут.
7. Промыть водой, подсушить и промикроскопировать. Гр(+) окрашиваются в синий цвет, а Гр(-) в красный.

****

Рисунок 7. (готовый мазок)

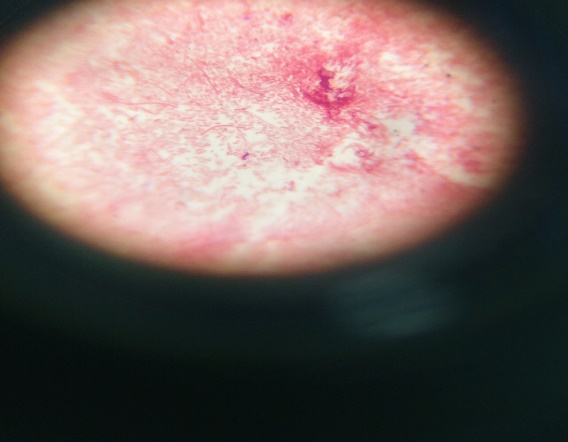
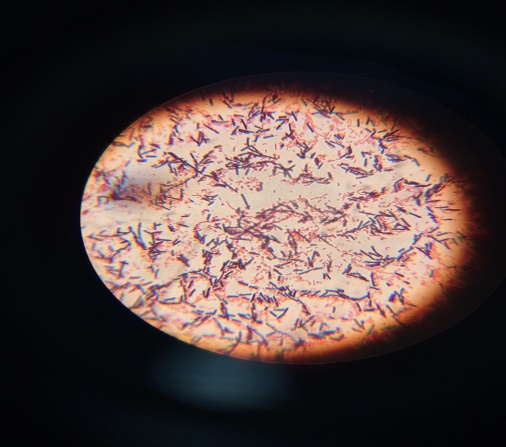


Рисунок 8.Окраска по Граму(МПА) рисунок 9. Окраска по Граму(Эндо)

Вывод:При микроскопировании по Граму, я обнаружила грамотрицательные палочки, которые окрашены в красный цвет и расположены в виде цепочек.

Для изучения подвижности микроорганизмов был приготовлен препарат по методу раздавленной капли. При микроскопировании препарата мы обнаружили, что данные микроорганизмы не подвижны.

Для выделения чистой культуры потребовалось:

* Приготовить питательную среду (Двухсахарный агар Клиглера с глюкозой, лактозой и индикатором).
* Разлить приготовленную среду, чтобы получился скошенный агар.
* Сделать пересев в пробирку на скошенный агар зигзагом

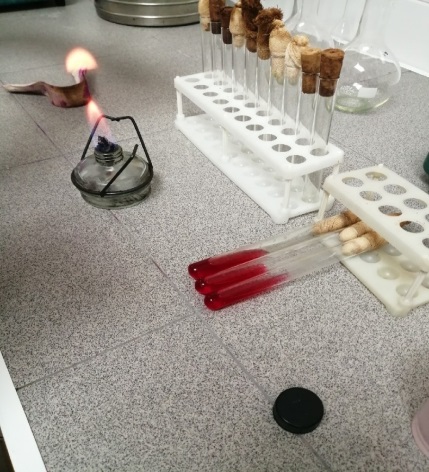
****

Рисунок 10,11,12. Сварили питательную среду «Двухсахарный агар Клиглера. Глюкоза и лактоза».



Рисунок 13 – розлив питательных сред.

Далее нужно пересеять в среды чистую культуру. В столбик пересеиваем методом укола, а на скошенный агар зигзагом (рисунок 14) 

Рисунок 14 - пересев культуры на скошенный агар.

Убираем посевы в термостат на один день при t 37 °С

**День 4**

**3 этап бактериологического исследования.**

Смотрим на изменение цвета среды.

Для проверки чистоты колонии проводим окраску по Граму.

Для того чтобы узнать, что ферментируют мои микроорганизмы нужно провести биохимические исследования. Для этого варим 4 питательные среды:

Среды Гисса нужно разлить столбиком, а ацетатный агар и агар Симмонса

Рисунок 15 – розлив питательных сред.

Далее нужно пересеять в среды чистую культуру. В столбик пересеиваем методом укола, а на скошенный агар зигзагом (рисунок 18) 

Рисунок 16 - пересев культуры на скошенный агар

Убираем посевы в термостат на один день при t 37°С.

**День 5**

**5 этап бактериологического исследования. Учет результатов биохимического исследования.**

В результате посева на дифференциально – диагностические среды, я получила следующие результаты (рисунки 17а и 17б)

**Рисунок 17а – среды до посева Рисунок 18б** - **среды после посева**

В ходе посевов, были получены результаты:

1. Лактоза – (расщепляется)
2. Глюкоза – (расщепляется)
3. Ацетат натрия – (расщепляется)

В результате этих биохимических исследований можно сделать вывод: в ходе биохимических исследований было выявлено, что мои микроорганизмы расщепляют глюкозу, лактозу, ацетат натрия. Из этого вывода следует, что микроорганизмы обладают активными ферментативными свойствами

В общем итоге в моем источнике реке Енисей были обнаружены грам (-) подвижные, обладающие активными ферментативными свойствами палочки.

Весь использованный материал после работы всегда нужно утилизировать. Для этого:

1. Предметные стекла нужно погрузить специальную емкость с дез. средством (рисунок 18).

Рисунок 18 - утилизация предметных стекол .

1. Чашки Петри и пробирки с посевами нужно открыть (пробки сбросить в бикс) также поместить в емкость с дез. средством, полностью заполнив их (рисунок 19)

Рисунок 19 - утилизация посевов.

1. Перчатки обработать спиртом и выбросить. После снятия перчаток помыть руки с мылом

**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