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 03.01 «Теория и практика лабораторных биохимических исследований»**

 ФИО: Дывдык Юлия Николаевна

Место прохождения практики: Фармацевтический колледж

с «15» июня 2020 г. по «21» июня 2020 г.

Руководители практики:

Методический – Ф.И.О. (его должность) Кузовникова И.А.

 Красноярск 2020

**Содержание**

1. Цели и задачи практики

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

3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Содержание и объем проведенной работы

6. Манипуляционный лист

7. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цели и задачи практики:**

1. Ознакомление со структурой клинико-диагностической лаборатории и организацией работы среднего медицинского персонала;

2. Формирование основ социально-личностной компетенции путем приобретения студентом навыков межличностного общения с медицинским персоналом и пациентами;

3. Осуществление учета и анализа основных клиникодиагностических показателей;

4. Обучение студентов оформлению медицинской документации;

5. Формирование навыков общения с больным с учетом этики и деонтологии.

**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;

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 учебной практики обучающийся должен:

Приобрести практический опыт: ПО

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

Умения:

У1. Готовить материал к биохимическим исследованиям;

У2. Определять биохимические показатели крови, мочи, ликвора и так далее;

У3. Работать на биохимических анализаторах;

У4. Вести учетно-отчетную документацию;

У5. Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал;

Знания:

З1. Задачи, структура, оборудование, правила работы и техники безопасности в биохимической лаборатории;

З2. Особенности подготовки пациента к биохимическим лабораторным исследованиям;

З3. Основные методы и диагностическое значение биохимических исследований крови, мочи, ликвора и так далее;

З4. Основы гомеостаза, биохимические механизмы сохранения гомеостаза;

З5. Нормальная физиология обмена белков, углеводов, липидов, ферментов, гормонов, водно-минерального, кислотно-основного состояния, причины и виды патологии обменных процессов;

З6. Основные методы исследования обмена веществ, гормонального профиля, ферментов и другого;

**График выхода на практику**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Дата**  | **Часы работы**  | **Оценка**  | **Подпись**  |
| **1** | 15.06.2020 | 8:00-13:35 |  |  |
| **2** | 16.06.2020 | 8:00-13:35 |  |  |
| **3** | 17.06.2020 | 8:00-13:35 |  |  |
| **4** | 18.06.2020 | 8:00-13:35 |  |  |
| **5** | 19.06.2020 | 8:00-13:35 |  |  |
| **6** | 20.06.2020 | 8:00-13:35 |  |  |

**Лист лабораторных исследований**

|  |  |
| --- | --- |
| Виды исследований  | Кол-во исследований по дням  |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Итого  |
| Организация рабочего места  | + |  |  |  |  |  |
| Центрифугирование  |  | + |  |  |  |  |
| Фотометрирование  |  | + |  | + |  |  |
| Термостатирование  |  | + |  |  |  |  |
| Пипетирование  |  | + |  |  |  |  |
| Приготовление растворов |  |  | + |  |  |  |
| Построение калибровочных графиков  |  |  |  | + |  |  |
| Титрование  |  |  |  |  |  |  |
| Дезинфекция оборудования  |  |  |  |  | + |  |
| Утилизация отработанного материала  | + |  |  |  | + |  |

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

**Изучение нормативных документов, регламентирующие санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ:**

1. СанПиН 2.1.3.2630-10 от 18.05.2010г. «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».
2. СанПиН 1.3.2322-08 от 28.01.2008г. «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
3. СанПиН 2.1.2790-10 от 09.12.2010 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
4. Приказ Минздрава РФ № 380 от 25.12.1997г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ».

Изучение правил техники безопасности в КДЛ;

**Техника безопасности при работе с химическими реактивами.**

При работе в химической лаборатории необходимо соблюдать требования техники безопасности по [ГОСТ 12.1.007-76](http://docs.cntd.ru/document/5200233) "Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности".

1. При работе с химическими реактивами в лаборатории должно находиться не менее двух сотрудников.
2. Приступая к работе, сотрудники обязаны осмотреть и привести в порядок свое рабочее место, освободить его от ненужных для работы предметов.
3. Перед работой необходимо проверить исправность оборудования, рубильников, наличие заземления и пр.
4. Работа с едкими и ядовитыми веществами, а также с органическими растворителями проводится только в вытяжных шкафах.
5. Запрещается набирать реактивы в пипетки ртом, для этой цели следует использовать резиновую грушу или другие устройства.
6. При определении запаха химических веществ следует нюхать осторожно, направляя к себе пары или газы движением руки.
7. Работы, при которых возможно повышение давления, перегрев стеклянного прибора или его поломка с разбрызгиванием горячих или едких продуктов, также выполняются в вытяжных шкафах. Работающий должен надеть защитные очки (маску), перчатки и фартук.
8. При работах в вытяжном шкафу створки шкафа следует поднимать на высоту не более 20-30 см так, чтобы в шкафу находились только руки, а наблюдение за ходом процесса вести через стекла шкафа.
9. При работе с химическими реактивами необходимо включать и выключать вытяжную вентиляцию не менее чем за 30 минут до начала, и после окончания работ.
10. Смешивание или разбавление химических веществ, сопровождающееся выделением тепла, следует проводить в термостойкой или фарфоровой посуде.
11. При упаривании в стаканах растворов следует тщательно перемешивать их, так как нижний и верхний слои растворов имеют различную плотность, вследствие чего может произойти выбрасывание жидкости.
12. Во избежание ожогов, поражений от брызг и выбросов нельзя наклоняться над посудой, в которой кипит какая-либо жидкость.
13. Нагревание посуды из обычного стекла на открытом огне без асбестированной сетки запрещено.
14. При нагревании жидкости в пробирке держать ее следует отверстием в сторону от себя и от остальных сотрудников.
15. Ни при каких обстоятельствах нельзя допускать нагревание жидкостей в колбах или приборах, не сообщающихся с атмосферой.
16. Нагретый сосуд нельзя закрывать притертой пробкой до тех пор, пока он не охладится до температуры окружающей среды.

**Техника безопасности при работе с биологическим материалом**

Биологические материалы, исследуемые в лаборатории: (кровь, моча, желудочный сок и т.д.), могут содержать возбудителей инфекционных заболеваний (вирусных гепатитов, ВИЧ). Медицинские работники должны, относиться к биологическим жидкостям, как к потенциально зараженным.

Следует соблюдать следующие правила при работе с ними:

1. надевать резиновые перчатки при любом соприкосновении с кровью и другими биологическими жидкостями
2. повреждения на коже рук дополнительно под перчатками закрывать напальчниками или лейкопластырем
3. резиновые перчатки надевать поверх рукавов медицинского халата
4. после каждого снятия перчаток – тщательно мыть руки
5. не допускать пипетирования жидкостей ртом! Пользоваться для этого резиновыми грушами или автоматическими пипетками
6. исключить из обращения пробирки с битыми краями
7. поверхности столов в конце рабочего дня обеззараживать протиранием 3% раствором хлорамина или другим дез.средством. В случае загрязнения стола биологической жидкостью – немедленно двукратно с интервалом в 15 минут протереть поверхность дез.раствором
8. после исследования вся посуда, соприкасавшаяся с биоматериалом, а также перчатки, должны подвергаться обеззараживанию – дезинфекции, которая проводится путем погружения на 1 час в дез.раствор.

**Дезинфекция и утилизация отработанного материала**

Все отходы деятельности лаборатории по степени эпидемиологической и токсикологической опасности подразделяются на следующие классы (СанПиН 2.1.7.2527-09, СанПин 2.1.7.728-99):

***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.

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 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.

**Организация рабочего места для биохимического исследования**

1. Лаборатория должна быть оснащена современной лабораторной мебелью, вытяжными шкафами. Для реактивов выделяют отдельные полки и шкафы.

2. Поверхность производственных столов для работы с биологическим материалом должна быть из водонепроницаемого, кислото-щёлочеустойчивого и индифферентного к действию дезинфектантов материала. Лабораторный стол следует содержать в порядке и чистоте.

3. Рабочее место должно быть хорошо освещено: недалеко от окон и иметь осветительные лампы.

4. Рабочий стол лаб-рии должен быть приспособлен к условиям работы, оборудован водопроводными кранами и водостоком.

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

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

**Правила и последовательность работы с термостатом**

* Алгоритм работы:

1) Термостат включают в сеть поворотом тумблера в положении «Сеть» (при этом загорается правая сигнальная лампочка – нагреватель включен)

2) Выставляют нужную температуру

3) По движении заданной температуры загорается левая лампочка (нагреватель отключен), а правая выключается

4) Если надо, 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) Не 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

**Правила работы 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 40-50°C

4) Загружать, выгружать шкаф во время работы шкафа запрещается

5) Запрещается помещать в шкаф воспламеняющиеся и горючие материалы

6) Выгрузку шкафа производить при температуре не выше 40-60°C

**Правила и последовательность работы с центрифугой**

* Алгоритм работы:

1) Включить прибор 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 центрифуги должна быть плотно закрыта

3) Центрифугировать 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 в том же объеме, что и остальные)

4) После выключения центрифуги нужно подождать, пока не закончится вращение, а затем уже открывать крышку

**Правила и последовательность работы на приборе ФЭК**

1) Присоединить колориметр к сети

2) Включить тумблер «Сеть»

3) Открыть крышку кюветного отделения

4) Выдержать колориметр во включенном состоянии 15 мин

5) Нажать клавишу «Ш» (0), измерить нулевой отсчет

6)Установить в кюветное отделение кюветы с контрольным раствором (в дальнее гнездо кюветодержателя) и исследуемый раствор (в ближнее гнездо)

7) Установить необходимый светофильтр и соответствующий фотоприемник

8) Ручку кюветодержателя установить в правое положение

9) Закрыть крышку кюветного отделения, нажать клавишу «К» (1)

10) Ручку кюветодержателя установить в правое положение

11) Нажать клавишу «Д» (5). Отсчет на цифровом табло справа от мигающей запятой соответствует оптической плотности исследуемого раствора

**Правила и последовательность работы с градуированными пипетками**

1) Пипетку вертикально опускают в склянку с раствором, придерживая правой рукой.

2) В левую руку берут резиновый баллончик.

3) Сжав баллон­ чик, прижимают его открытую часть к верхнему концу пипетки. Медленно разжимая резиновый бал­лончик, насасывают жидкость в пипетку выше нулевой отметки на 1,5—2 см.

4) Баллончик убирают, а отверстие пипетки быстро закры­вают указательным пальцем. Ослаб­ляя напряжение пальца, немного приоткрыв отверстие пипетки, медленно спускают жидкость, подводя нижний мениск к нулевой отметке. Чтобы точно установить уровень жидкости на нужной отметке, пипетку нужно держать на уровне глаз.

5) Усилив нажим пальца, прекращают вытекание жидкости. Кончиком пипетки касаются стенок сосуда, из которого набирают жидкость, чтобы сбить капельки ра­створа на внешней поверхности пипетки.

6) Спускают жид­кость из пипетки по стенке сосуда.

**Правила и последовательность работы с мерными цилиндрами, колбами**

1) Для приготов­ления раствора заданной кон­центрации определенное ко­личество вещества в твердом или жидком состоянии вно­сят через воронку в сполос­нутую дистиллированной во­дой (или соответствующим растворителем) мерную колбу, наполняют ее не более, чем на 1/2 объема водой (или ра­створителем) и тщательно перемешивают до полного ра­створения вещества. 2) Затем добавляют необходимый ра­створитель почти до кольцевой отметки, не доходя до нее 0,3—0,5 см.

3) Колбу помещают на ровную поверхность и доводят объем по каплям из пипетки, так чтобы нижний мениск жидкости соприкасался с кольцевой отметкой. Кол­бу закрывают пробкой и производят перемешивание ра­створа путем многократного переворачивания колбы.

4) Мер­ные колбы не предназначены для хранения растворов.

5) Сразу после приготовления раствор переливается в под­ходящую склянку, а колбу следует вымыть и убрать на место.

Нельзя производить отмеривание растворов, резко от­личающихся по температуре от температуры калибров­ки, так как это может вызвать значительную ошибку в измерениях. При приготовлении точных растворов не сле­дует держать колбу за расширенную часть, так как под влиянием тепла руки происходит нагревание жидкости и колбы, что тоже приводит к погрешностям в измерениях.

**Правила и последовательность работы с дозаторами фиксированного и переменного объема**

1) Нижняя часть дозатора оснащена так называемым «посадочным конусом», к которому необходимо герметично присоединить наконечник. Не стоит одевать наконечник руками, особенно если вы работаете со стерильными наконечниками. Для удобства работы можно использовать специальные штативы для наконечников;

2) Во время работы необходимо избегать перепада температур между прибором, наконечником и дозируемой жидкостью, во-избежании повреждения прибора. Также перепад температур может сказаться на точности дозирования;

3) Затем, дозированным колесиком (если это механический дозатор переменного объема) необходимо установить необходимый объем дозирования и опустить наконечник в жидкость приблизительно на 5 мм;

4) Смочить наконечник перед началом основного дозирования путем неоднократного забора и сброса жидкости;

5) Произвести основной забор жидкости, равномерно нажимая и опуская поршень, и держа дозатор строго вертикально, чтобы избежать неточности дозирования. Дозаторы позволяют проводить прямое и обратное дозирование.

**День 3. Приготовление растворов заданной концентрации**

**Приготовление растворов приблизительной концентрации из навески;**

При приготовлении приблизительных растворов твердые вещества взвешивают на технических весах, жидкости отмеряют мерными цилиндрами.

а) растворы солей*.* Навеску соли переносят в колбу или стакан. Добавляют часть (треть или половину) необходимого количества растворителя. Энергично перемешивают до полного растворения навески (иногда для этого требуется нагревание). Добавляют оставшийся растворитель, раствор фильтруют в подготовленную бутыль.

б) растворы щелочей. При приготовлении растворов щелочей следует соблюдать следующие правила техники безопасности: взвешивать щелочь в стеклянной или фарфоровой посуде; не брать щелочь голыми руками; не класть щелочь на бумагу; для растворения нельзя использовать толстостенные бутыли, так как из-за сильного разогревания раствора бутыль может лопнуть.

Навеску щелочи помещают в стакан или большую фарфоровую чашку, добавляют воду, чтобы получился 35—40%-й раствор. Содержимое перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения щелочи. Раствор оставляют стоять до остывания и выпадения осадка (в осадок могут выпадать примеси). Раствор осторожно переливают в другой сосуд, куда добавляют нужное количество воды. Крепкие растворы щелочей хранят в полиэтиленовых бутылках.

в) растворы кислот. При приготовлении растворов кислот необходимо соблюдать следующие правила: нельзя использовать для растворения толстостенную посуду; нельзя лить воду в кислоту.

Кислоту и воду отмеряют мерными цилиндрами. В колбу наливают рассчитанное количество воды, затем постепенно, тонкой струйкой при помешивании добавляют нужное количество кислоты.

**Приготовление растворов точной концентрации из навески**

Точные растворы всегда готовят в мерных колбах и хранят в плотно закрытых бутылях или колбах с притертыми пробками.

Точную навеску делают на аналитических весах в бюксе или на часовом стекле. Через сухую воронку навеску очень аккуратно всыпают в чистую мерную колбу. Остатки вещества тщательно смывают через воронку в колбу. Обмывают внутренние стенки воронки. Объем жидкости в колбе не должен превышать половины. Колбу закрывают пробкой и вращательными движениями перемешивают содержимое до полного растворения навески. После этого доливают воду до метки на шейке колбы, как было описано выше.

**Приготовление растворов из фиксаналов**

Фиксанал — это запаянная стеклянная ампула с известным количеством какого-либо вещества. На ампуле написано название вещества и указана нормальная концентрация раствора. Для получения раствора необходимо содержимое ампулы поместить в мерную колбу объемом один литр и добавить воду.

В чистую мерную колбу помещают сухую воронку, в которую вставляют специальный стеклянный боек. Ампулу протирают спиртом, чтобы удалить надпись, моют и обмывают дистиллированной водой. Затем вставляют ампулу в воронку так, чтобы она своим тонким изогнутым дном касалась бойка, приподнимают ее и слегка ударяют о конец бойка, пробивая дно ампулы. При этом содержимое ампулы попадает через воронку в мерную колбу. С противоположного конца ампулы пробивают отверстие специальной стеклянной палочкой с острым концом. Через верхнее отверстие многократно маленькими порциями промывают дистиллированной водой из промывалки внутренние стенки ампулы, наружные споласкивают, ампулу выбрасывают, ополаскивают воронку и боек, вынимают воронку и обмывают верхнюю часть шейки колбы. Если вещество находилось в твердом состоянии, необходимо проследить за его полным растворением.

Осторожно мелкими порциями добавляют воду до тех пор, пока нижняя часть мениска не будет касаться метки на шейке колбы. Закрывают колбу пробкой и перемешивают раствор.

**Приготовление растворов методом разбавления**

Приготовление разбавленного раствора из концентрированного сопровождается этапами. Первый - определение объема концентрированного раствора, необходимого для приготовления раствора с заданной концентрацией, второй – разбавление раствора. В расчетах объема более концентрированного раствора необходимо учесть его концентрацию и плотность. Если неизвестна концентрация раствора, то ареометром измеряют плотность раствора, а затем, зная плотность раствора вещества по справочнику определяют концентрацию имеющегося раствора.

**День 4. Построение калибровочных графиков.**

**Приготовление стандартных растворов**

1. Метод точной навески. Предполагает работу с растворами, которые не меняют свою молекулярную массу и объем при взаимодействии с воздухом. К таким веществам относятся щавелевая кислота, сода, бура (Na2B4O7·10H2O), бихромат калия и ряд других веществ. На аналитических весах (погрешность таких весов составляет 0,0002г) точно взвешивают вещество и переносят в мерную колбу для растворения, доводят до метки растворителем (водой) и тщательно перемешивают.

2. Фиксанальный метод. Предполагает приготовление растворов из фиксаналов. Фиксанал - ампула с сухим веществом или раствором с точно известной концентрацией. Фиксанал разбивают и переносят в колбу для растворения. Этот метод считается наиболее точным и часто применяется в аналитической химии.

3. Метод приблизительной навески. Предполагает работу с растворами, которые меняют свою массу на воздухе, например, перманганат калия. Работать с такими растворами нельзя, поэтому перед применением их в качестве стандартных, необходимо оттитровать другим раствором с точно известной концентрацией.

4. Метод разбавления. Из раствора с точно известной концентрацией готовят разбавлением раствора другой концентрации. Концентрация полученного раствора зависит от концентрации исходного.

**Построение калибровочных графиков**

Для построения калибровочного графика готовят серию стандартных растворов, охватывающих диапазон измеряемых концентраций исследуемого вещества согласно методике.

Калибровочный график строят по 5-6 сериям шкал; количество концентраций в каждой шкале должно быть не мене 5. Резко отличающиеся значения оптической плотности не учитывают. Из остальных рассчитывают среднее арифметическое значение для каждой концентрации и строят график зависимости оптической плотности от концентрации вещества (рисунок 14).

Примерный размер графика 20-25x30 см; прямая должна проходить через начало координат под углом приблизительно 45°. В идеальном случае все точки располагаются на прямой, обычно часть точек располагается на прямой, часть выше и ниже ее, точки как бы чередуются.

На графике должны быть указаны условия фотометрирования: номер светофильтра или длины волны (нм); размер кюветы (мм); время фотометрирования. Кроме того, должна быть указана дата построения калибровочного графика. Калибровочный график необходимо периодически проверять по 2-3 концентрациям.

Рассчитывают Сmax и остальные значения С (1,2,3,4, и т.д); расчитывают Еmax и остальные значения Е (1,2,3,4, и т.д.)



Рис 1. пример калибровочного графика

Требования к калибровочному графику:

1 График начинается от 0

2 Прямая под углом 45°

3 Общий масштаб 20 клеток

4 Для точного построения не менее 3-хточек

5 Чтобы кривая располагалась под углом 45° к осям, берут максимальное значение экстенции и концентрации, если между ними в пределах этих значений сохраняется противоположность зависимости

6 После того, как построена система координат, приступить к нанесению результатов исследования серии калибровочных растворов к каждой из осей координат, в отмеченных точках восстанавливается перпендикуляр

7 В месте пересечения двух перпендикуляров из каждой взаимосвязанной парой становится карандашом точка.

**Правила и последовательность работы на приборе ФЭК**

1) Присоединить колориметр к сети

2) Включить тумблер «Сеть»

3) Открыть крышку кюветного отделения

4) Выдержать колориметр во включенном состоянии 15 мин

5) Нажать клавишу «Ш» (0), измерить нулевой отсчет

6)Установить в кюветное отделение кюветы с контрольным раствором (в дальнее гнездо кюветодержателя) и исследуемый раствор (в ближнее гнездо)

7) Установить необходимый светофильтр и соответствующий фотоприемник

8) Ручку кюветодержателя установить в правое положение

9) Закрыть крышку кюветного отделения, нажать клавишу «К» (1)

10) Ручку кюветодержателя установить в правое положение

11) Нажать клавишу «Д» (5). Отсчет на цифровом табло справа от мигающей запятой соответствует оптической плотности исследуемого раствора

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

**Определение витамина С в моче титриметрическим методом**

* Принцип метода.

Метод основан на окислении аскорбиновой кислоты в дегидроаскорбиновую кислоту 2,6-дихлорфенолиндофенолом, который в кислой среде восстанавливается в бесцветное лейкосоединение.

* Реактивы.

Моча

Концентрированная уксусная кислота

Дистиллированная вода

0,001 н раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола

* Оборудование:

колба на 50 мл

пипетки на 5 мл

бюретка.

* Ход исследования.

Наливают в коническую колбочку 10 мл мочи, добавляют 10 мл дистиллированной воды и 1 мл концентрированной уксусной кислоты. Содержимое колбы титруют из микробюретки 0,001 н раствором натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола до получения устойчивой розовой окраски.

Содержание витамина С в суточном количестве мочи вычисляют по формуле:



где х – количество аскорбиновой кислоты, выделенное с мочой за сутки, мг; 0,088 - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н раствора натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола, мг; V1 – общий объем мочи, собранной за сутки, мл; V2 - количество мочи, взятое для титрования, мл. Для женщин суточное количество мочи в среднем 1200 мл, для мужчин – 1500 мл.

* 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.

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

Жидкие отходы класса Б (рвотные массы, моча, фекалии) и аналогичные биологические жидкости допускается сливать без предварительного обеззараживания в систему централизованной канализации. При отсутствии централизованной канализации обеззараживание данной категории отходов проводят химическим или физическим методами.

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

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

Основные правила работы.

1. Уборка всех помещений лаборатории производится до начала и после окончания работы с использованием дезинфицирующих средств. Поверхности лабораторных столов, оборудование протираются 3% раствором хлорамина, хлорной извести, или 6% перекисью водорода, 0.5% ДП-2, пол моется с использованием 1% раствора хлорамина, хлорной извести. Один раз в месяц в помещениях, где проводится работа с нативной кровью, сывороткой, делают генеральную уборку с использованием 3% раствора хлорамина (хлорной извести). Во время генеральной уборки тщательно моются стены, оборудование, мебель, проводится очистка полов от пятен с помощью моющего раствора (50 г моющего средства на 10 л раствора), затем те же объекты увлажняются (или орошаются) дезинфекционным раствором. Через 1 час дезинфекционный раствор смывается чистой водой.
2. Персонал должен работать в специальной одежде (халат, сменная обувь, при работе с нативным материалом - в перчатках, при опасности разбрызгивания крови или других биологических жидкостей следует работать в масках).
3. Запрещается принимать пищу, пить, курить, пользоваться косметикой в рабочих помещениях клинико-диагностических лабораторий.
4. Каждый специалист клинико-диагностической лаборатории должен иметь индивидуальное полотенце для рук, сменяемое ежедневно, медицинский халат, меняющийся не реже 2 раз в неделю, в случаях загрязнения - немедленно.
5. Специальную одежду перед стиркой дезинфицируют, замачивая в 1% растворе хлорамина или 3% растворе перекиси водорода с 0.5% моющим средством (температура раствора 50 градусов C), на 3 часа или автоклавируются при температуре 120 градусов C +2, давлении 1.1 кг с/кв. см (0.1 МПа) в течение 45 минут. Пятна крови, попавшие на специальную одежду сразу же дезинфицируют 3% раствором хлорамина, промывают через 2 часа. Стирка халатов и другой специальной одежды на дому категорически запрещается.
6. Иглы, капилляры, предметные стекла, пробирки, меланжеры, кюветы фотоэлектрокалориметров, пипетки, наконечники, другая лабораторная посуда и инструменты после каждого использования подлежат дезинфекции в соответствии с приказом МЗ СССР от 12.07.1989 N 408 . Исключение составляют инструменты, используемые только для дозировки химических реактивов, не соприкасающиеся с биологическим материалом, которые следует обрабатывать в соответствии с технологическими требованиями.
7. Инструменты, загрязненные кровью, сывороткой перед дезинфекцией, подлежат предварительному промыванию в дезинфицирующем растворе той же концентрации. При дезинфекции изделий, имеющих внутренние каналы, раствор дезинфицирующего средства в объеме 5 - 10 мл пропускают через канал для удаления остатков крови, сыворотки и заполняют канал этим же раствором с помощью груши.
8. Емкости для проведения дезинфекции должны быть четко маркированы (указывается название дезинфицирующего раствора, его концентрация, дата приготовления).
9. В качестве дезинфицирующих растворов для изделий, указанных в п. 4.6 используются: 3% раствор хлорамина, хлорной извести, 6% перекиси водорода, 0.5% раствор ДП-2, экспозиция 60 минут. Дезинфицирующий раствор меняется по мере загрязнения, но не реже 1 раза в сутки.
10. Предметные стекла с фиксированным и окрашенным мазком после проведения микроскопии, подлежат дезинфекции в 6% растворе перекиси водорода 60 мин., и необходимой технологической обработке.
11. Остатки крови, мочи, других биологических жидкостей после исследования подлежат дезинфекции в специальной таре. Дезинфекция производится методом засыпания сухой хлорной известью, (нейтральным гипохлоритом кальция) в соотношении препарата и отходов 1:5 с экспозицией 60 мин.
12. При удалении сгустков крови следует предварительно отделить материал от пробирки металлическим или из другого материала, подвергающегося дезинфекции, шпателем, который затем обеззараживается погружением в 3% раствор хлорамина на 1 час.
13. После дезинфекции лабораторный инструментарий, соприкасающийся с раневой поверхностью или слизистыми оболочками подлежит предстерилизационной обработке, стерилизации. Посуда, соприкасающаяся с кровью или сывороткой и не предназначенная для последующего контакта с обследуемым, после дезинфекции промывается под проточной водой и проходит необходимую технологическую обработку.
14. Качество предстерилизационной очистки изделий оценивают путем постановки азопирамовой (амидопириновой) пробы на наличие скрытой крови, фенолфталеиновой - на наличие остаточного количества моющего средства ежедневно. Контролю подлежит 1% обработанного инструментария, но не менее 3 - 5 единиц.
15. При положительной пробе на кровь или моющее средство, всю группу контролируемых изделий подвергают повторной обработке.
16. Результаты контроля качества предстерилизационной обработки фиксируются в "Журнале учета предстерилизационной обработки" по ф. 366у, утвержденной Приказом МЗ СССР N 1030 от 04.10.1980.
17. Блоки кювет - анализатора ФП, кюветы измерительной аппаратуры, пластиковые пробирки обеззараживаются только 6% раствором перекиси водорода и промываются проточной водой.

**Качественные реакции на органические вещества**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Вещество, функциональная группа | Реактив | Схема реакции | Характерные признаки |
| Непредельные углеводороды (алкены, алкины, диены), кратные связи | р-р KMnO4 (розовый) | СН2=СН2 + Н2О + КMnO4 → КОН + MnO2↓+ СН2(ОН)-СН2(ОН) | обесцвечивание р-ра |
| р-р I2 (бурый) | СН2=СН-CН3 + I2 → СН2(I)-СН(I)-CH3 | обесцвечивание р-ра |
| р-р Br2 (желтый) | СН2=СН2 + Br2 → СН2(Br)-СН2(Br) | обесцвечивание р-ра |
| Ацетилен | аммиачныйр-р Ag2O | *СН≡СН + [Ag(NH3)2]OH → AgC≡CAg↓ + NH3↑ + H2O* | образование осадка желтого цвета (взрывоопасен) |
| Бензол | нитрующая смесь HNO3 + H2SO4 | *t0C, H2SO4(конц.)**C6Н6 + HNO3  → C6H5-NO2 + H2O* | образование тяжелой жидкости светло-желтого цвета с запахом горького миндаля |
| Толуол | р-р KMnO4 (розовый) | *C6Н5-СН3 + KMnO4 + H2SO4  → C6H5-COOH + H2O + K2SO4 + MnSO4* | обесцвечивание р-ра |
| Фенол (карболовая кислота) | р-р FeCl3 (светло-желтый) | *C6H5OH + FeCl3 → (C6H5O)3Fe + HCl* | окрашиваниер-ра в фиолетовый цвет |
| насыщенный р-р Br2 (бромная вода) | *C6H5OH + Br2 → C6H2Br3OH↓ + HBr* | образование белого осадка со специфическим запахом |
| Анилин (аминобензол) | р-р хлорной извести CaOCl2 (бесцветный) |  | окрашиваниер-ра в фиолетовый цвет |
| Этанол | насыщенный р-р I2 + р-р NaOH | *C2H5OH + I2 + NaOH → CHI3↓ + HCOONa + NaI + H2O* | образование мелкокристаллического осадка СНI3 светло-желтого цвета со специфическим запахом |
| CuO (прокаленная медная проволока) | *C2H5OH + CuO → Cu↓ + CH3-CHO + H2O* | выделение металлической меди, специфический запах ацетальдегида |
| Гидроксогруппа (спирты, фенол, гидроксикислоты) | Металлический Na | *R-OH + Na → R-O—Na+ + H2↑**C6H5-OH + Na → C6H5-O—Na+ + H2↑* | выделение пузырьков газа (Н2), образование бесцветной студенистой массы |
| Эфиры (простые и сложные) | Н2О (гидролиз) в присутствии NaOH при нагревании | *CH3-C(O)-O-C2H5 + H2O ↔ CH3COOH + C2H5OH* | специфический запах |
| Многоатомные спирты, глюкоза | Свежеосажденный гидроксид меди (II) в сильно щелочной среде | глицерат меди, качественная реакция на многоатомные спирты | ярко-синее окрашивание р-ра |
| Карбонильная группа – СНО (альдегиды, глюкоза) | Аммиачный р-р Ag2O | *R-CHO + [Ag(NH3)2]OH → R-COOH + Ag↓ + NH3↑ + H2O* | образование блестящего налета Ag («серебряное зеркало») на стенках сосудов |
| Свежеосажденный Сu(OH)2 | *R-CHO + Cu(OH)2 → R-COOH + Cu2O↓ + H2O* | образование красного осадка Сu2O |
| Карбоновые кислоты | лакмус |  | окрашивание р-ра в розовый цвет |
| р-р Na2CO3 | *R-COOH + Na2CO3 → R-COO—Na+ + H2O + CO2↑* | выделение СО2 |
| спирт +H2SO4 (КОНЦ.) | *R-COOH + HO-R1 ↔ RC(O)OR1 + H2O* | специфический запах образующегося сложного эфира |
| Муравьиная кислота | лакмус |  | окрашивание р-ра в розовый цвет |
| Свежеосажденный Сu(OH)2 | *HCOOH + Cu(OH)2 → Cu2O↓ + H2O + CO2↑* | образование красного осадка Сu2O |
| аммиачныйр-р Ag2O | *HCOOH + [Ag(NH3)2]OH → Ag↓ + H2O + CO2↑* | «серебряное зеркало» на стенках сосуда |
| Олеиновая кислота | р-р KMnO4 (розовый) или I2 (бурый) или Br2 (желтый) | *C17H33COOH + KMnO4 + H2O →**C8H17-CH(OH)-CH(OH)-(CH2)7-COOH + MnO2↓ + KOH**C17H33COOH + I2  → C8H17-CH(I)-CH(I)-(CH2)7-COOH* | обесцвечивание р-ра |
| Ацетаты (соли уксусной кислоты) | р-р FeCl3 | *CH3COONa + FeCl3 → (CH3COO)3Fe + NaCl* | окрашивание р-ра в красно-бурый цвет |
| Стеарат натрия (мыло) | Н2О (гидролиз) + фенолфталеин | *C17H35COONa + H2O ↔ C17H35COOH↓ + NaOH* | окрашивание р-ра в малиновый цвет |
| насыщенный р-р соли кальция | *C17H35COONa + Ca2+ ↔ (C17H35COO)2Ca↓ + Na+* | образование серого осадка |
| Концентрированная неорганическая кислота | *C17H35COONa + H+ ↔ C17H35COOH↓ + Na+* | образование белого осадка |
| Белок | пламя | *реакция горения* | запах «паленого», жженых перьев |
| НNO3 (конц.);t, °С | *ксантопротеиновая реакция (происходит нитрование бензольных колец в молекуле белка)* | без нагревания – появляется желтое окрашивание р-ра; при нагревании и добавлении раствора аммиака белок окрашивается в желтый цвет |
| Свежеосажденный Сu(OH)2 | *биуретовая реакция (образуется комплексное соединение)* | сине-фиолетовое окрашивание р-ра |