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»

Богоченко Екатерина Андреевна

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, 2020

Содержание

1. Цели и задачи практики
2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики
3. Тематический план
4. График прохождения практики
5. Инструктаж по технике безопасности
6. Содержание и объем проведенной работы
7. Манипуляционный лист (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  |  22.06.2019 | 9:45-15:20  |   |
| 2  | 24.06.2019 |  9:45-15:20  |   |
| 3  | 25.06.2019 |  9:45-15:20  |   |
| 4  | 26.06.2019 | 9:45-15:20  |   |
| 5  | 27.06.2019 |  9:45-15:20  |   |
| 6  | 28.06.2019 |  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.  |   |  2 | 1  |   |   |   |  3 |
| Приготовление сложных питательных сред.  |   | 1  | 1  | 2 | 1 |   |  4 |
| Посев на питательные среды  |   | 2  | 1  |   |   |   |  3 |
| 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 |

**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 Богоченко Екатерина Андреевна

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**

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

**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

**День 1**

**Ознакомление со структурой**

микробиологической лаборатории

Помещения разделяют на “чистую” и “грязную” зоны.

В "чистой" зоне лабораторий должны располагаться следующие помещения:

• гардероб для верхней одежды;

• помещения для проведения подготовительных работ

• (препараторская, моечная, приготовление и розлив питательных сред и др.);

• помещение для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды (стерилизационная);

• помещение с холодной камерой или холодильниками для хранения питательных сред и диагностических препаратов;

• помещения для работы с документами и литературой;

• помещение отдыха и приема пищи;

• кабинет заведующего;

• помещение для хранения и одевания рабочей одежды;

• подсобные помещения;

• туалет.

 В "заразной" зоне должны размещаться:

• помещения для приема и регистрации материала (проб);

• боксированные помещения с предбоксами или помещения, оснащенные боксами биологической безопасности;

• помещения для люминесцентной микроскопии;

• помещения для гельминтологических исследований;

• помещения для ПЦР-диагностики;

• термостатная комната;

• помещения для обеззараживания (автоклавная)

**День 2**

Ознакомление с нормативными документами микробиологической лаборатории

1.СанПиН от 18 мая 2010 г. N58.2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям осуществляющим медицинскую деятельность».

2.СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и возбудителям паразитарных болезней» от 28 января 2008.

3.СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов ЛПУ».

Документы бактериологической лаборатории

1. Инвентарная книга музейных штаммов культур.

2. Журнал учета движения материала в лаборатории.

3. Журнал учета стерилизации и уничтожения инфицированного материала.

4. Журналы исследований (экспертиз).

**День 3**

Приготовление питательных сред

Этапы приготовление питательных сред

1. Подготовка и стерилизация посуды и пробок для питательных сред.

Стеклянную посуду (колбы, флаконы, пробирки), используемую дляприготовления питательных сред, необходимо стерилизовать в сухожаровом шкафу или автоклавировать.

Пробирки, колбы, флаконы, бутыли закрывают ватными стерилизуемыми пробками, которые готовят следующим образом: кладут на стол продолговатую четырехугольную пластинку ваты соответствующей величины, загибают внутрь все четыре края так, чтобы получилась ленточка, по ширине равная длине пробки, и скатывают валик по диаметру пробирки или колбы. Ватную пробку обертывают кусочком марли в один-два слоя. Концы марли снаружи над пробкой крепко связывают ниткой. Можно использовать специальные автоматизированные устройства для изготовления ватных пробок нужного размера, а также коммерческие целлюлозные и автоклавируемые пластиковые пробки.

Перед приготовлением питательных сред ватные пробки предварительно стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 40 мин и затем тщательно высушивают в сушильном шкафу.

При использовании стеклянных чашек Петри, их необходимо предварительно простерилизовать в автоклаве 1 час при 1 атм. (или в сухожарочном шкафу 1 час при 180 °С).

Стерилизацию проводят либо в специальных биксах, либо стопки чашек заворачивают в плотную бумагу крафт.

2. Отвешивание: отбирают навеску указанную на упаковке с коммерческой средой на весах.

Сухие питательные среды в целом не являются безопасными. Они содержат такие вредные/токсичные вещества, как соли желчных кислот, азид, селенит, красители и т.д., а также порошок. Рекомендуется принять меры предосторожности во избежание воздействия порошковых сухих питательных сред. Вдыхание пыли от порошка, возникающей при взвешивании, может быть опасным и его следует не допускать. Применение лицевой маски дает некоторую защиту от пыли в воздухе. Рекомендуется использовать при взвешивании сред вытяжной шкаф. Он дает хорошую защиту от пыли в воздухе. Перед отвешиванием проверьте содержимое контейнера, дату первого открывания на этикетке, срок годности, название среды. Точно следуйте инструкциям производителя по приготовлению, указанным на этикетке. Рекомендуется не отвешивать большее количество, чем требуется для приготовления максимум 1 литра среды. Сухую питательную среду следует взвешивать в лодочке для взвешивания или в чистой мензурке. Необходимо использовать лабораторные весы с точностью ±0,1 г. При отвешивании

отдельных компонентов, красителей и т.д. надо применять аналитические весы с точностью ±0,001 г. Все весы ежегодно поверяются и калибруются , результаты поверки записываются в книгу обоудования отдела контроля/обеспечения качества. Весы должны устанавливаться на прочную ровную поверхность. Проводите уборку после взвешивания. Остающийся на весах порошок может загрязнить их внутренние детали, что приведет к ухудшению точности весов. Для чистки следует использовать воду или дезинфицирующее средство для поверхностей, например 70% этанол.

3. Растворение: навеску питательной среды растворяют в предварительно нагретой до 70 °С дистиллированной воде в колбе/кастрюле. Вода, используемая при приготовлении сухих питательных сред, должна быть очищена и деионизирована и не содержать никаких питательных и/или токсичных (ингибирующих) веществ. Водопроводную воду использовать нельзя!!!.

4. Кипячение: растворы питательных сред кипятят на электро-плите в течении 2 мин.

5. Установление pH: Значение pH во многом зависит от состава питательной среды, температуры замера pH (обычно, 25°C) и процессов, которым среда подвергалась при восстановлении (растворении) и стерилизации.

В целом, нет необходимости регулировать pH коммерчески выпускаемой питательной среды. Сухие питательные среды имеют типичный состав, и pH могло быть отрегулировано до требуемых значений. Однако, для питательных сред, приготовленных из отдельных компонентов, может потребоваться регулирование pH. pH должно регулироваться так, чтобы после стерилизации и охлаждения до 25°C у среды было требуемое pH ±0,2 единиц pH, если только в инструкции производителя не предусмотрено иное.

Проверка pH проверяется специальными индикаторными тестовыми полосоками. При необходимости, pH должно быть отрегулировано до заданного значения. pH следует корректировать добавлением 1 молярной доли или 1/10 молярной доли соляной кислоты (1 молярная доля или 1 моль – 36,5 г HCl в 1 литре воды) или 1 молярной доли или 1 моли раствора едкого натра (40 г в 1 литре воды) к образцу известного объема, взятому из восстановленной питательной среды (например, 50 мл). По объему добавленной кислоты или щелочи можно рассчитать количество, необходимое для регулирования pH приготовленной питательной среды (раствор кислоты или щелочи должен стерилизоваться при добавлении к уже стерилизованной среде). Поэтому среда должна быть в жидком состоянии при замере pH образца.

6. Фильтрация жидких и расплавленных плотных сред производят через влажный бумажный или матерчатый фильтры. Фильтрация агаровых сред затруднена – они быстро застывают, их фильтруют через ватно-марлевый фильтр.

7. Розлив сред для стерилизации: питательные среды разливают не более чем

на 3/4 флакона (так как при стерилизации могут намокнуть пробки и среды утратят стерильность), и по пробиркам в зависимости от нужной высоты столбика.

8. Стерилизация: это процедура, применяемая в целях полной ликвидации жизнеспособных микроорганизмов в материале или среде.

Для стерилизации питательный сред используют термический способ: стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование).

Режим стерилизации зависит от состава среды и указан в инструкции на упаковке.

Питательные среды чувствительны к температуре, и чрезмерная стерилизация, длительное нагревание и охлаждение, неправильная загрузка в автоклав могут изменить состав среды. Перегрев может вызвать ряд недостатков в среде, например, неверное значение pH, карамелизацию, ненормальную окраску, невозможность затвердевания и т.д. Поэтому важно контролировать общее проникновение теплоты в среду. Расстояние между флаконами определяет поток пара и, соответственно, удаление воздуха и проникновение теплоты. Следовательно, автоклавы не должны перегружаться. Флакон должен размещаться так, чтобы обеспечить свободное прохождение пара. Пробирки и флаконы закупориваются не поглощающей влагу ватой или неплотно закрываются колпачками. Пробирки следует размещать в держателях или неплотно – в корзинках. Флаконы не должны наполняться более, чем на две трети. При автоклавировании 3–5 % жидкости теряется в результате испарения, поэтому рекомендуется в приготавливаемые среды добавлять сверх объема примерно 5 % дистиллированной воды. Тогда после стерилизации среда будет иметь требуемую концентрацию.

9. Добавление компонентов (стерильных добавок) после стерилизации.

После автоклавирования стерильную среду остужают до температуры 40-45 градусов при комнатной температуре, либо в водяной бане.

Чувствительные к температуре стерильные добавки, например, кровь или яично-желтковая эмульсия, стерилизованные фильтрованием растворы антибиотиков или добавки с антибиотиками, вносятся в среды после стерилизации. Перед добавлением растворов их нужно проверить на полноту растворения и, в случае крови и яично- желтковой эмульсии, визуально на отсутствие микроорганизмов. Добавки следует вносить в среды при температуре не выше 44 - 47°C. Добавляемые растворы должны адаптироваться к комнатной температуре (25°C). Холодный раствор прямо из холодильника может вызвать образование хлопьев в агаровой среде или загустевание. Это помешает должному смешиванию.

10. Заливка агаровых чашек.

Перед заливкой агаровых чашек среда должна быть охлаждена до 44 - 47°C. Заливка при более высокой температуре приводит к появлению излишнего конденсата воды на крышках чашек Петри. Среду перед заливкой следует взболтать для обеспечения ее гомогенности. В чашки Петри заливают по 15 – 18 мл жидкой агаровой среды так, чтобы получить слой агара толщиной не менее 2 - 3 мм, с соблюдением стерильных условий. Дайте агару остыть и затвердеть. Переверните чашки и пометьте на их дне дату приготовления и вид среды. Готовые среды разносят в холодильник по отделам лаборатории,1% сред отдают на контроль.

11. Пробирки после стерилизации.

Пробирки после автоклавирования, вынимают из автоклава, дожимают до упора колпачки и раскладывают горячими на бортик подноса для получения скоса среды примерно на 45° до застывания агара. Пробирки с полужидкими и жидкими средами, оставляют при комнатной температуре до полного остывания. Застывшие и остывшие пробирки маркируют, (дата приготовления и наименование) и хранят в холодильнике. 1% от партии идет на контроль.

12. Повторное расплавление приготовленной агаровой среды во флаконах.

Расплавьте агаровую среду, поместив сосуд или пробирку с неплотно закрытым колпачком в кипящую воду (водяную баню), или в автоклаве при 0,5 атм 10 мин. Следует избегать перегрева. Среда полностью расплавлена, когда при взбалтывании пузырьки воздуха проходят через центр. Расплавленная среда должна использоваться как можно быстрее. Не расплавляйте среду дважды!

13. Контроль: для контроля стерильности среды ставят на 2 суток в термостат, после чего их просматривают. · химический контроль окончательно устанавливает pH, для биологического контроля несколько образцов среды засевают специально подобранными культурами, и по их росту судят о питательных свойствах среды.

Готовила МПА , разливала в 60 пробирок. Стерилизовала 15-20 мин в автоклаве при температуре 115-120°С.

**День 4**

Приготовление питательных сред

Готовила элективную среду- ЭНДО, для выявления возбудителей кишечных инфекций. Разливала среду в 25 чашек Петри. Стерилизовала в течение 30 минут при t° 110.

**День 5**

Прием биоматериала

Участвовала в приеме и разборе биологического материала. Все направления вбивала в базу qMS.

Микробиологическая диагностика возбудителей

инфекционных заболеваний

Staphylococcus aureus

Исследуемый материал засевала на чашки с желточно-солевым (ЖСА) и кровяным МПА, инкубировала при 370С сутки.

На 2 день врачи учитывают характер роста колоний на обеих средах. На желточно-солевом агаре колонии стафило¬кокка имеют ровные края, гладкую поверхность, вокруг колонии образуется радужный венчик в результате расщепления лецитина яичного желтка ферментом лецитовителлазой; цвет пигмента колоний варьирует от золотистого до белого. На кровяном МПА вокруг колоний образуются зоны гемолиза. Из типичных для стафилококка колоний делают мазок, окрашивают его по Граму, микроскопируют. Оставшуюся часть колонии пересевают на скошенный МПА для получения чистой культуры. На 3 день проводят идентификацию выделенной культуры стафилококка с дифференциацией основных видов, определяют чувствительность к антибиотикам методом бумажных дисков и фаговар (набор для фаготипирования состоит из фагов 21 типа, разделенных на 4 группы; при внутрибольничных инфекциях наиболее часто встречаются фаговары 77 и 80).

Дезинфекция

 После завершения работы проводила дезинфекцию рабочего места ветошью с дезинфицирующим раствором.

В конце рабочего дня перчатки обработала антисептиком и утилизировала в отходы класса Б. Руки мыла с мылом.

**День 6**

Работа с дневником.

**День 7**

Приготовление сред

Сахарный бульон

Данная среда используется для исследования крови на стерильность, а также для стрептококков и других бактерий. К МПБ добавляла 40% стерильный раствор глюкозы. Разливала во флаконы (15 шт) и ставила стерилизовать в течение 30 мин при температуре 112оC.

Среда Сабуро

Селективная питательная среда для выращивания патогенных грибков.

Готовую среду разливала во флаконы (25 шт) и ставила стерилизовать в течение 20 мин при температуре 112оC.

**День 8**

Прием биоматериала

Участвовала в приеме и разборе биологического материала. Все направления вбивала в базу qMS.

Приготовление желточно-солевого агара

ЖСА- элективная для стафилококков среда.

Для изготовления ЖСА к стерильному, расплавленному иохлажденному до 48°С МПА (рН 7,2 7,4) с 7,5- 10% натрия хлорида добавляла 15- 20% по объему стерильнойжелточной эмульсии (из хорошо вымытого и обожженного спиртом яйца извлекают желток и разбивают его в150 - 200 мл стерильного физраствора).

Среду быстро перемешивала и разливала в чашки Петри (50 шт).

Кровяной агар

Среда для выявления микроорганизмов, вызывающих гемолиз. К расплавленному и охлажденному до 45 °С МПА (2% агара) стерильно добавляла 5-10% дефибринированной стерильно взятой крови человека.

Среду быстро перемешивала и разливала в чашки Петри (40 шт) .

**День 9**

Микробиологическая диагностика

Streptococcus pyogenes

Исследуемый материал (гной) за¬севала на кровяной агар в чашку Петри. После инкубации при 37 °С в течение 24 ч отмечают характер колоний и наличие вокруг них зон гемолиза. Из части материала, взятого из коло¬ний, готовят мазок, окрашивают по Граму и микроскопируют. Для получения чистой культуры 1—3 подозрительные колонии пересевают в пробирки со скошенным кровяным агаром и сахарным бульоном. На кровяном агаре Streptococcus pyogenes образует мелкие мутноватые круглые колонии. В бульоне стрептококк дает придонно-пристеночный рост в виде хлопьев, оставляя среду прозрачной. По характеру гемолиза на кровяном агаре стрептококки делятся на три группы: 1) негемолитические; 2) а-гемолитиче-ские 3) β-гемолитические, образующие вокруг колонии пол¬ностью прозрачную зону гемолиза. Заключительным этапом бактериологического исследования является идентификация выделенной культуры по антигенным свойствам. По данному признаку все стрептококки делят на серологические группы (А, В, С, D и т. д.). Серогруппу определяют в реакции преципитации с полисахаридным преципитиногеном С. Серовар определяют в реакции агглютинации. Выявленную культуру стрептококка проверяют на чувствительность к антибиотикам методом дисков.

Дезинфекция

После завершения работы проводила дезинфекцию рабочего места ветошью с дезинфицирующим раствором.

В конце рабочего дня перчатки обработала антисептиком и утилизировала в отходы класса Б. Руки мыла с мылом.

**День 10**

Микробиологическая диагностика

Pseudomonas aeruginosa

Биологический материал засевала на питательный агар и бульон. Ставила в термостат на сутки при температуре 37 градусов. На второй день врач смотрит рост и отбирает чашки,в которых среда окрашена в синевато-зеленоватый цвет и имеет запах жасмина. Дают ориентировочный ответ: выделена культура Pseudomonas aeruginosa. Выделяют колонии на пробирки с лактозой и на пробирки со скошенным агаром, а так же ставят пробу на цитохромоксидазу. Если лактоза отрицательна, имеется запах жасмина, проба на цитохромоксидазу положительна, дают положительный ответ на синегнойную палочку.

Дезинфекция

После завершения работы проводила дезинфекцию рабочего места ветошью с дезинфицирующим раствором.

В конце рабочего дня перчатки обработала антисептиком и утилизировала в отходы класса Б. Руки мыла с мылом.

**День 11**

Микробиологическая диагностика

возбудителей инфекционных заболеваний

Salmonella enteritidis

Исследуемый материал (испражнения) засевала на чашки с висмут-сульфитным агаром и в среды накопления (маг¬ниевую, селенитовую), из которых через 6— 10 ч делают пересев на висмут-сульфит агар. Посевы выращивают при температуре 370 С, на второй день отбирают колонии черного цвета и пере¬севают на среду Олькеницкого (или Ресселя) для накопления чистой культуры. На 3-й день исследования выделенные чистые культуры пересевают в сре¬ды «пестрого» ряда и ставят РА с поливалентными и групповыми (А, В, С, Д, Е) адсорбированными сальмонеллезными сыворотками. Если получен положительный результат с одной из групп сывороток, проводят РА с адсорбированными О-сыворотками, характерными для данной группы, а затем с монорецепторными Н-сыворотками (неспецифической и специфической фазами) для определения серогруппы и серовара сальмонеллы в соответствии со схемой Ка¬уфмана-Уайта.

На 4-й день исследования учитывают изменения сред «пестро¬го» ряда (. Возбудители сальмонеллез не ферментируют лактозу и сахарозу, расщепляют глюкозу, маннит и мальтозу с образованием кисло¬ты и газа, не образуют индола и (за небольшим исключением) выделяют сероводород.

Дезинфекция

 После завершения работы проводила дезинфекцию рабочего места ветошью с дезинфицирующим раствором.

В конце рабочего дня перчатки обработала антисептиком и утилизировала в отходы класса Б. Руки мыла с мылом.

Участвовала в проведение внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований.

**День 12**

Микробиологическая диагностика

Proteus mirabilis

Биоматериал (мокрота) от больного засевала на жидкие и твердые питательные среды. Первичный посев осуществляют на простые среды — Эндо, Плоскирева, висмут-сульфитный агар. Для выделения и накопления чистой культуры подозрительные колонии пересевают на трехсахарную среду Олькеницкого. Протей ферментирует глюкозу до кислоты и газа, не расщепляет лактозу и продуцирует сероводород. Биохимические свойства определяют на средах Гисса. Первичную дифференциацию культур протея обосновывают ползучим ростом на скошенном агаре. В конденсат скошенного МПА засевают культуру. Протей, размножаясь, распространяется из конденсационной воды вверх по агару – «вползает» на его поверхность. Патогномоничным диагностическим признаком протея является его способность дезаминировать фенилаланин. После выделения возбудителя из биоматериала определяют его чувствительность к различным антибактериальным препаратам.

Escherichia coli

Материалы (исключая кровь) высевала на среду Эндо и помещают в термостат при температуре 37°С. Через 18–24 ч инкубации в термостате с этой среды отбирают красные лактозоположительные колонии эшерихий и агглютинируют их на стекле в поливалентной ОК–сыворотке, содержащей антитела к 22 сероварам энтеропатогенных кишечных палочек (ЭПКП). При положительной реакции агглютинации колонии пересевают на скошенный агар и на следующие сутки выделенную культуру агглютинируют в поливалентных сыворотках с меньшим набором антител, а затем в каждой из тех, которые входили в смесь, вызвавшую агглютинацию выделенных эшерихий. На заключительном этапе серологической идентификации ЭПКП ставят развернутую реакцию агглютинации в специфической сыворотке. Для этого диагностическую сыворотку разводят в двух рядах пробирок до титра, который указан на этикетке ампулы. В один из них добавляют смытую со скошенного агара гретую культуру, в другой – ее прокипяченную взвесь. Пробирки помещают на сутки в термостат при температуре 37°С. Гомологичные сыворотке штаммы ЭПКП должны агглютинироваться в ней хотя бы до половины титра.

Давшая положительную развернутую реакцию агглютинации культура засевается в среды ряда Гисса для изучения ее сахаролитических и протеолитических свойств. Escherichia coli расщепляет лактозу, глюкозу, сахарозу, маннит, мальтозу до образования кг, образует индол и створаживает молоко.

Дезинфекция

 После завершения работы проводила дезинфекцию рабочего места ветошью с дезинфицирующим раствором.

В конце рабочего дня перчатки обработала антисептиком и утилизировала в отходы класса Б. Руки мыла с мылом.

**День 13**

Работа с дневником.

**День 14**

Микробиологическая диагностика кишечного дисбактериоза

Образец кала, доставленный в лабораторию, разводила физиологическим раствором, обрабатывала на центрифуге и высевала на специальные питательные среды-агары (Мюл¬лера-Хитона, селенитовый бульон, магниевую среду; для культивирования – среды Плоскирева, Эндо и Левина (одна из них градиентная), КА, среду Цейсслера, среду Сабуро, среду Блаурткаили тиогликолевый бульон и др)). Затем чашки со средами ставила в термостат, где создаются благоприятные условия для роста и размножения микроорганизмов. Через 5-7 дней врачи оценивают результат.

Участвовала в проведение внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований.

**День 15**

Исследование смывов с рук и объектов

окружающей среды

Брала смывы с рук на стерильность у анестезиологов, медицинских сестер, хирургов перед операцией, а также смывы с операционного поля.

Взятие смывов производится с помощью стерильных ув¬лажненных ватных тампонов. Стерильные ватные тампоны на стеклянных, металлических или деревянных палочках, вмонтированных в пробирки с ватными пробками, заготав¬ливают заранее в лаборатории. В день взятия смывов в каж¬дую пробирку с тампоном наливают (в условиях бокса над горелкой) по 5 мл стерильного 0,1% водного раствора пептона таким образом, чтобы ватный тампон не касался жид¬кости. Смывы с крупного оборудования и инвентаря берут с по¬верхности 100 см2, для ограничения поверхностей использу¬ют шаблон (трафарет), сделанный из проволоки. Трафарет имеет площадь 25 см2, чтобы взять смывы с площади в 100 см2 его накладывают 4 раза в разных местах поверхнос¬ти контролируемого объекта.

При взятии смывов с мелких инструментов обтирается вся поверхность предмета, при заборе смывов с тарелок про¬тирают всю внутреннюю поверхность. При взятии смывов с мелких предметов одним тампоном протирают три одноимен¬ных объекта — три тарелки, три ложки и т. п. У столовых приборов протирают их рабочую часть.

При исследовании стаканов протирают внутреннюю по¬верхность и верхний наружный край стакана на 2 см вниз.

При взятии смывов с рук протирают тампоном ладон¬ные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каж¬дой ладони и пальцам, затем протирают межпальцевые про¬странства.

При взятии смывов с санитарной одежды протирают 4 площадки по 25 см2 — нижнюю часть каждого рукава и 2 площадки с верхней и средней частей передних пол спе¬цовки. С различных мест полотенца берут 4 площадки по 25 см2.

Взятие воздуха аспирационным методом.

Брала воздух в ожоговой реанимации.

1) Открывают крышку прибора и устанавливают на вращающийся столик чашу Петри с питательной средой. Закрывают крышку и включают прибор.

2) После установления поплавка ротаметра на заданной величине объема засеваемого воздуха начинают счет времени. Струя воздуха, проходя через узкую клиновидную щель, с большой скоростью ударяется о влажную поверхность питательной среды, и к ней прибиваются и прилипают частицы и капли, содержащие бактерии. Равномерное обсеменение поверхности чашек достигается вращением столика, на котором находится чашка с питательной средой. Скорость вращения столика устанавливают специальным винтом.

3) После посева необходимого объема воздуха, равного произведению показателя ротаметра на время, выключают прибор, открывают крышку, после остановки столика берут чашку со средой, закрывают крышку и помещают в термостат на двое суток с последующим выдерживанием при комнатной температуре в течение 2 суток.

4) На МПА определяют ОМЧ

День 16 (20.06.20)

Исследование смывов с объектов

окружающей среды

Ходила на смывы в бокс гнойной реанимации. Брала стерильную пробирку с МПА, в которой находилась палочка и обходила все предметы ,которые указаны в направлении. Затем в лаборатории их ставила в термостат на сутки при температуре 37 градусов.

Разливала готовый шоколадный агар по чашкам Петри (25 шт). Среда представляет собой питательную среду, обогащённую лизированной высокой температурой кровью или гемоглобином, которая применяется для выделения и культивирования патогенных бактерий с высокими питательными потребностями.

**День 17**

Исследование смывов с рук и объектов

окружающей среды.

Ходила в ожоговую реанимацию для взятия смывов с объектов окружающей среды. А так же для взятия проб воздуха аспирационным методом. В перевязочных брала инструменты на проверку стерильности.

Участвовала в проведение внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований.

**День 18**

Работа с дневником.