Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

### Дневник

производственной практики

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

Каневой Елизавета Дмитриевны

ФИО

Место прохождения практики: ООО «Красноярская лаборатория микробиологических исследований»

с «08» июня 2023 г. по «21» июня 2023 г.

Руководители практики:

Общий – Тарараева А.Г.

Руководитель испытательной лаборатории

Непосредственный – Тарараева А.Г.

Руководитель испытательной лаборатории

Методический – Чуфтаева И.А.

Преподаватель

Красноярск, 2023

## **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 / химических исследований)

8. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цели и задачи практики**

1. Закрепление в производственных 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 микробиологических показателей, ведение документации.
5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
6. Изучение основных форм и методов работы в бактериологической лаборатории.

**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.

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

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Характеристику, заверенную подписью руководителя практики и печатью ЛПУ.
3. Аттестационный лист.
4. Цифровой и текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).

**В результате производственной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- приготовления питательных сред для культивирования различных групп микроорганизмов с учетом их потребностей

- техники посевов на чашки Петри, скошенный агар и высокий столбик агара.

**Освоить умения:**

- готовить материал к микробиологическим исследованиям;

- определять культуральные и морфологические свойства;

- вести учетно-отчетную документацию;

- производить забор исследуемого материала;

- принимать, регистрировать материал;

- утилизировать отработанный материал.

**Знать:**

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

- основные методы и диагностическое значение исследования протеолитических , сахаролитических, гемолитических свойств микроорганизмов, антигенной структуры.

**Тематический план**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | | **Всего часов** |
| 1 | Ознакомление с правилами работы в бак лаборатории | | 6 |
| 2 | Подготовка материала к микробиологическому исследованиям: прием , регистрация биоматериала | | 3 |
| 3 | Приготовление питательных сред общеупотребительных, элективных, дифференциально-диагностических. | | 3 |
| 4 | Микробиологическая диагностика возбудителей инфекционных заболеваний (гнойно-воспалительных, кишечных) | | 20 |
| 5 | Дисбактериоз. Этапы исследования . | | 22 |
| 5 | Иммунодиагностика : РА, РП, РСК,РИФ | | 6 |
| 6 | Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. | | 6 |
| **Вид промежуточной аттестации** | | Дифференцированный зачет | 6 |
| **Итого** | | | **72** |

**График прохождения практики**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ п/п** | **Дата** | **Часы** | **Оценка** | **Подпись руководителя** |
| 1 | 08.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 2 | 09.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 3 | 10.06.23 | Методический день |  |  |
| 4 | 12.06.23 | Методический день |  |  |
| 5 | 13.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 6 | 14.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 7 | 15.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 8 | 16.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 9 | 17.03.23 | Методический день |  |  |
| 10 | 19.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 11 | 20.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |
| 12 | 21.06.23 | 9:00-13:30 |  |  |

**День 1 (08.06.23): ознакомление с устройством микробиологической лаборатории**

Мы проходили производственную практику по микробиологии в ООО «Красноярская лаборатория микробиологических исследований».

В первый день нам провели экскурсию по лаборатории. Были представлены «чистая» и «грязная» зоны.

В «чистую» зону входят комната для отдыха и приема пищи персонала, санузел, гардероб, автоклавная для стерилизации питательных сред, комната для варки питательных сред.  


Рисунок 1 Рисунок 2

Рисунок 1 – автоклав для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды

Рисунок 2 – дистиллятор

В «грязную» зону входят кабинет для санитарно-бактериологических исследований, 3 кабинета для микробиологических исследований, моечная, комната для приема биоматериала, автоклавная для утилизации биоматериала.

Изображение выглядит как в помещении, раковина, стена, Кухонная стойка

Автоматически созданное описаниеИзображение выглядит как в помещении, полка, пластик, Стеллаж

Автоматически созданное описаниеИзображение выглядит как в помещении, кухонный прибор, керамический, Бытовая техника

Автоматически созданное описание

Рисунок 3 Рисунок 4 Рисунок 5



Рисунок 6 Рисунок 7 Рисунок 8

Рисунок 3 – рабочее место лаборанта

Рисунок 4 – комната для приема материала

Рисунок 5 – холодильник с готовыми питательными средами

Рисунок 6 – комната забора материала

Рисунок 7 – термостаты

Рисунок 8 – автоклав для утилизации

**День 2 (09.06.23): прием и регистрация материала**

Прием биологического материала: работник передает промаркированные контейнеры с биологическим материалом лаборанту. В кабинете лаборант открывает крышку контейнера и извлекает оттуда пробирки со смывами, предметные стекла с мазками и соскобами, папки с направлениями на исследования. Сортирует пробирки по штативам.

Регистрация биоматериала проходит вручную. Лаборант заполняет журнал регистрации биоматериала и сортирует пробирки в соответствии с направлением исследования.

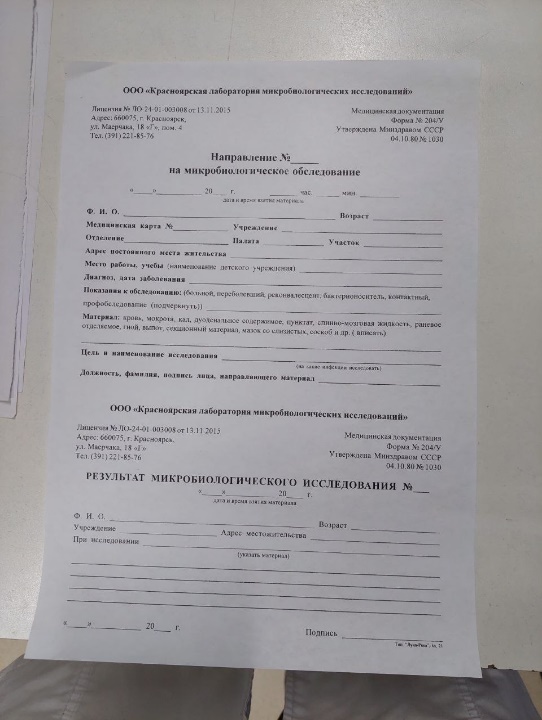
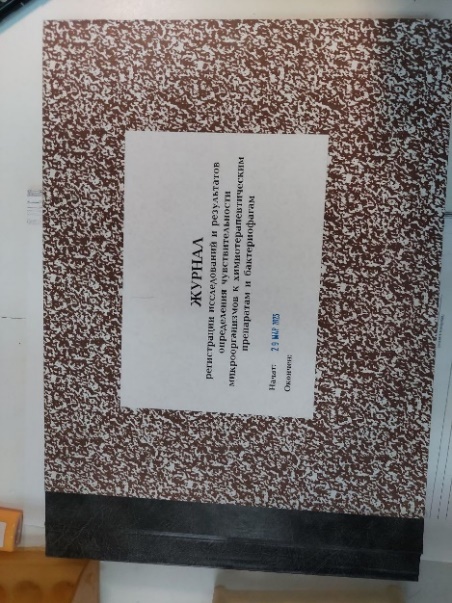
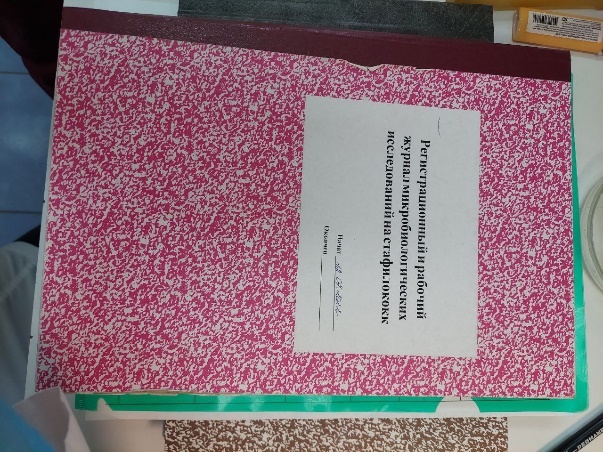


Рисунок 9 Рисунок 10 Рисунок 11

Рисунок 9 – журнал регистрации микробиологических исследований на стафилококк

Рисунок 10 – журнал регистрации микробиологических исследований на чувствительности микроорганизмов к химическим препаратам и бактериофагам

Рисунок 11 – бланк направления на микробиологические исследование

**День 3 (10.06.23): изучение нормативных документов**

Документы, регламентирующие работу микробиологической лаборатории:

1. ФЗ №323 от 21.10. 2011 г. «Об основах охраны здоровья граждан РФ»
2. ФЗ№ 326 от 29.10.2010 г «Об обязательном медицинском страховании в РФ.
3. Приказ Минздрава РФ № 9от 26.01.1994г "О совершенствовании работы по внешнему контролю качества клинических лабораторных исследований"
4. Приказ Минздрава РФ № 60 от 19.02.1996г "О мерах по дальнейшему совершенствованию Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований"
5. Приказ Минздрава РФ № 117 "Об участии клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений России в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований" от 03.05.1995 г.
6. Приказ № 45 Минздрава РФ от 07.02.2000г "Правила внутрилабораторного контроля качества количественных клинических лабораторных исследований"
7. Приказ Минздрава РФ № 220 от 26.05.2003"Об утверждении отраслевого стандарта "Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов (ОСТ 91500.13.0001-2003)"
8. Приказ Минздрава РФ № 380 от 25.12.1997г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учрежденгиях здравоохранения РФ»;
9. Приказ Минздрава РФ № 109 от 21 марта 2003 г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»
10. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно- эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»

**День 4 (12.06.23): самостоятельное изучение РА И РП**

Реакция агглютинации — это склеивание и выпадение в осадок м/о в присутствии электролита (0.9% р-р NaCl). Осадок называется агглютинат.

Ингредиенты:

* Антитела – в сыворотке больного или в иммунной сыворотке
* Антигены – взвесь м/о (диагностикум или выделенные от больного м/о)
* 0.9% р-р NaCl

Механизм реакции основан на склеивании между собой соответствующих антител и антигенов и выпадении комплекса АТ+АГ в осадок. При обнаружении осадка реакция считается положительной, при отсутствии – отрицательной. Антитела строго специфичны и могут соединяться только с определенным АГ.

Если склеиваются О-антигены – О-агглютинация (осадок мелкозернистый), если склеиваются Н-антигены – Н-агглютинация (осадок крупнозернистый)

Виды РА в зависимости от способа постановки:

* РА на стекле или ориентировочная – не дает количественный результат
* Развернутая РА – позволяет определить титр антител в сыворотке больного
* Реакция прямой и непрямой гемагглютинации (РПГА и РНГА)
* Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)
* Латекс-агглютинация

Реакция преципитации – это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого преципитатом.

Ингредиенты:

* В качестве антигена используются экстракты тканей и органов, т.е. неочищенные белки-антигены
* В качестве антител иммунные диагностические сыворотки с высоким титром антител (преципитины)
* Изотонический раствор

Используется для диагностики сибирской язвы, дифтерии, сифилиса (реакция микропреципитации).

Методы постановки РП: реакция кольцепреципитации, РП в геле или агаре.

Реакция кольцепреципитации: в пробирку пипеткой вносят сыворотку (сибиреязвенную), сверху наслаивают антиген (экстракт шерсти больного животного). При + результате между сывороткой и антигеном образуется кольцо преципитации. Обязательны 2 контроля – КС и КА.

Реакция преципитации в геле: взаимодействие между а/т и а/г происходит в агаре. Преципитат дает в толще среды мутную полоску («усы» преципитации). Определяют токсигенность палочки дифтерии.

**День 5 (13.06.23):** **приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков**

Для культивирования стафилококка мы варили желточно-солевой агар. Для этого мы отделяли желтки куриных яиц от белков и добавляли их в готовую питательную среду (МПА). После чего тщательно перемешивали и разливали по чашкам Петри.

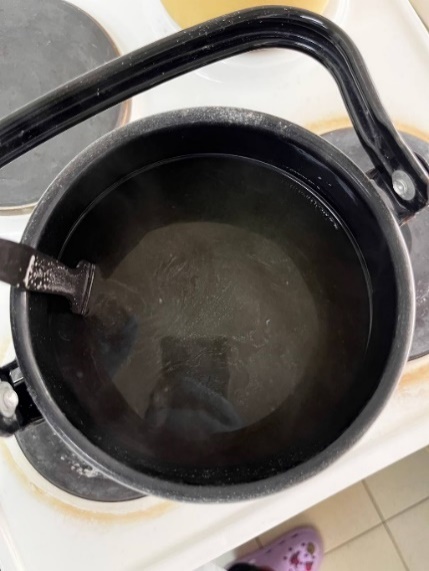


Рисунок 12 Рисунок 13 Рисунок 14

Рисунок 12 – приготовление МПА

Рисунок 13 – разлитие МПА

Рисунок 14 – разлитая по чашкам Петри среда МПА

Также для культивирования патогенных кокков используют кровяной агар. Для его приготовления используют готовую среду (МПА) с последующим добавлением донорской крови.



Рисунок 15 Рисунок 16

Рисунок 15 – приготовление кровяного агара

Рисунок 16 – чашки Петри с кровяным агаром

**День 6 (14.06.23):** **посев на чистую культуру и изучение культуральных свойств патогенных кокков**

Посев на чистую культуру мы осуществляли на кровяном агаре. Для этого мы использовали бактериологическую петлю.

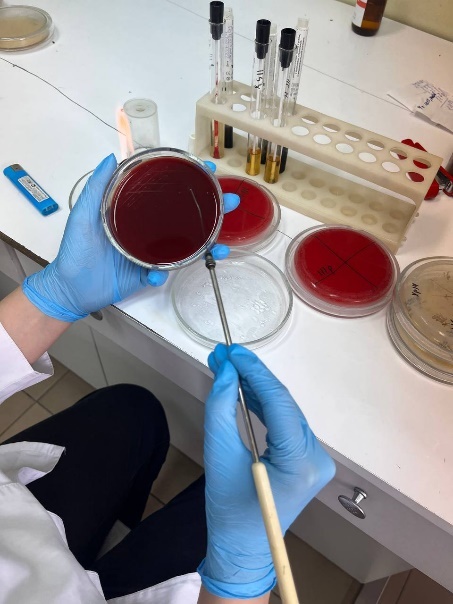


Рисунок 17

Рисунок 17 – посев на чистую культуру

Также мы изучали культуральные свойства стафилококка: на МПА и ЖСА колонии имеют цвет от белого до желтого и имеют S-форму; на кровяном агаре видны зоны полного гемолиза.

По морфологии клетки стафилококка круглые, собранные кучками в виде виноградных гроздей, грам+, неподвижные, спор и капсул не образуют.

**День 7 (15.06.23****): изучение биохимической активности патогенных кокков и постановка антибиотикограммы**

Для изучения биохимической активности мы ставим пестрый ряд. Пестрый ряд состоит из подвижности с индикаторной бумажкой на индол, цитрата Симмонса, ацетата, лизина, мочевины, фенолфталеина.



Рисунок 18

Рисунок 18 – пестрый ряд на стафилококк

Также мы ставили антибиотикограммы на среду Мюллер-Хилтона для определения резистентности возбудителя стафилококка



Рисунок 19 Рисунок 20

Рисунок 19 – антибиотики на стафилококковые инфекции

Рисунок 20 – среагировавшие антибиотики

**День 8 (16.06.23): приготовление питательных сред для культивирования** **возбудителей кишечных инфекций**

Для культивирования возбудителей кишечных инфекций мы варили среду Эндо и висмут-сульфитный агар.

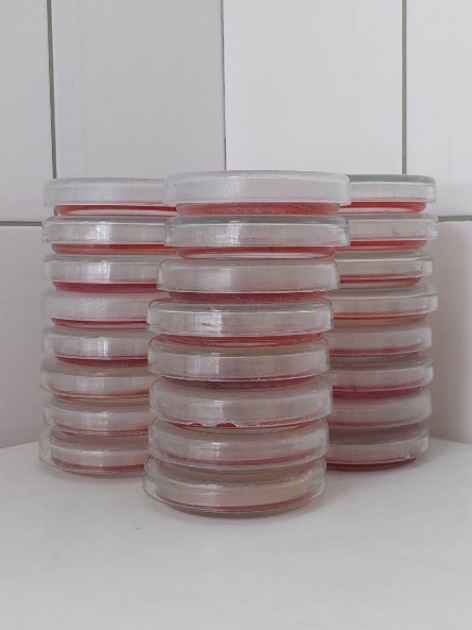


Рисунок 21 Рисунок 22 Рисунок 23

Рисунок 21 – варка среды Эндо

Рисунок 22 – разлитая по чашкам Петри среда Эндо

Рисунок 23 – разлитый в чашку Петри висмут-сульфитный агар.

Висмут-сульфатный агар является элективной средой для возбудителя сальмонеллеза.

Также был проведен внтрилабораторный контроль качества рН дистиллированной воды и калибровки электронных весов.

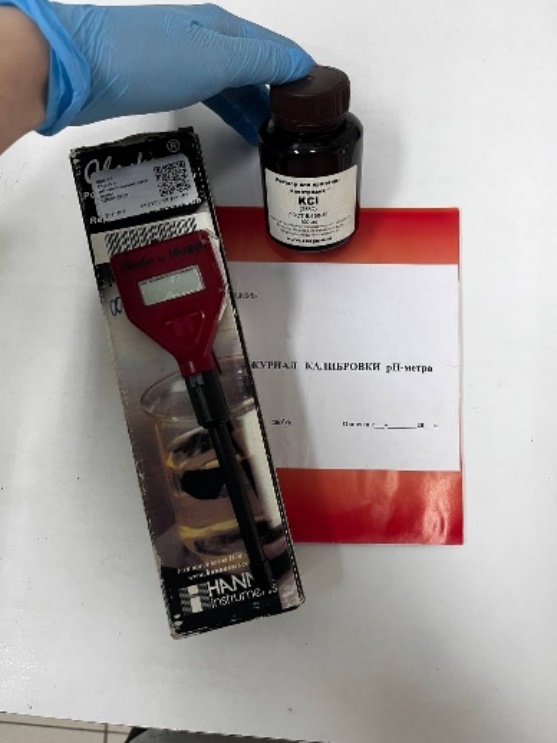


Рисунок 24 Рисунок 25

Рисунок 24 – приборы для контроля качества рН дистиллированной воды

Рисунок 25 – приборы для контроля качества электронных весов

**День 9 (17.06.23): самостоятельное изучение РСК, РИФ, РНГА**

Реакция связывания комплемента

Реакция связывания комплемента – это основана на том, что а/т и а/г взаимодействуют друг с другом только в присутствии комплемента (фермент).

Состоит из двух фаз:

1 фаза – невидимая (специфическая) а/г + а/т + комплемент

2 фаза – видимая (неспецифическая). В качестве индикатора (чтобы комплекс антитело/антиген был виден) добавляют гемолитическую сыворотку и эритроциты (гемолитическая система)

Ингредиенты:

* Сыворотка больного
* Диагностикум
* Комплемент
* Гемолитическая сыворотка
* Эритроциты
* Изотонический раствор

Если в первой фазе не произошло взаимодействие между а/т и а/г, то комплемент свободен и происходит лизис эритроцитов (лаковая кровь) – результат отрицательный. Лизис эритроцитов идет только в присутствии комплемента. Если комплемент связан в 1 фазе, то лизиса нет и эритроциты выпадают в осадок – реакция +, в сыворотке больного есть антитела к данному м/о.

Учет проводят по 4-х крестной системе

++++ - эритроциты оседают на дно, жидкость сверху прозрачная

+++ - лизировано 25% эритроцитов, осадок меньше, жидкость слегка розовая

++ - лизировано 50% эритроцитов, осадок небольшой, жидкость розовая (результат +)

+ - незначительный осадок, жидкость красная (сомнительный результат)

- - осадка нет, жидкость красная и прозрачная (лаковая кровь)

Реакция иммунофлюоресценции

Реакция иммунофлюоресценции - экспресс-метод выявления инфекции, точнее антигена, которым представлена инфекция. Нужен люминисцентный микроскоп и люминисцентные диагностические сыворотки, содержащие флюорохромы. При взаимодействии а/т и а/г образуются светящиеся комплексы, видные в микроскоп.

Методика: на предметное стекло наносят исследуемый материал от больного и флюоресцирующую сыворотку. При положительном результате под микроскопом видно зеленоватое свечение.

Преимущества метода ИФА:

* Высокая специфичность и чувствительность
* Возможность определения заболевания и отслеживания динамики процесса, то есть сравнивание количества антител в разных временных промежутках.
* Доступность ИФА-диагностики в любом медицинском учреждении.

Относительный недостаток:

* Выявление иммунного ответа (антител), но не самого возбудителя.

Реакция непрямой гемагглютинации

В РНГА выявляют антитела сыворотки крови с помощью антигенного эритроцитарного диагностикума, который представляет собой эритроциты с адсорбированными на них антигенами.

Эритроциты + антигены = эритроцитарный диагностикум.

В осадок выпадают эритроциты, которые хорошо видно. И по ним уже делается заключение.

4-х крестная система оценки результата:

++++ - резко положительная

+++ - положительная

++ - сомнительная

Пуговка - отрицательная

**День 10 (19.06.23): посев на чистую культуру и изучение культуральных свойств возбудителей кишечных инфекций**

Для посева на чистую культуру мы использовали висмут-сульфитный агар и среду Эндо. Для этого мы использовали бактериологическую петлю.



Рисунок 26 Рисунок 27

Рисунок 26 – посев на чистую культуру, среда Эндо и ВСА

Рисунок 27 – проросшая среда с сальмонеллезом

**День 11 (20.06.23): изучение биохимической активности возбудителей кишечных инфекций и постановка антибиотикограммы**

Для изучения биохимической активности мы ставим пестрый ряд. Пестрый ряд состоит из подвижности с индикаторной бумажкой на индол, цитрата Симмонса, ацетата, лизина, мочевины, фенолфталеина.

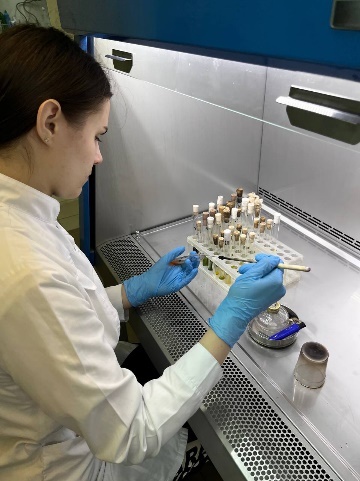


Рисунок 28 Рисунок 29 Рисунок 30

Рисунок 28 – постановка биохимического ряда на идентификацию кишечных инфекций

Рисунок 29 – пестрый ряд на кишечные инфекции.

Рисунок 30 – среагировавший пестрый ряд, выявлен сальмонеллез

Также мы ставили антибиотикограммы на среду Мюллер-Хилтона для определения резистентности возбудителей кишечных инфекций.

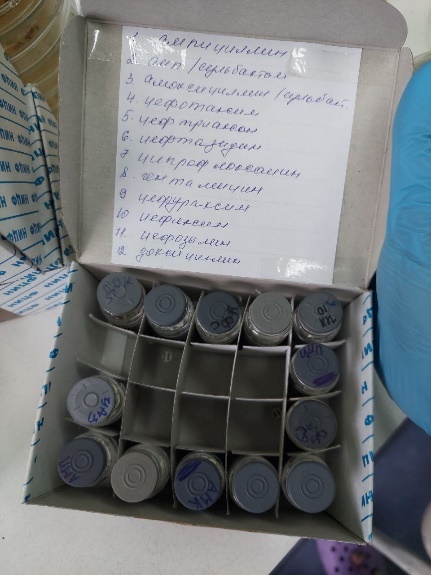


Рисунок 31 Рисунок 32

Рисунок 31 – антибиотики на кишечные инфекции

Рисунок 32 – постановка антибиотиков на питательные среды

Также мы проводили тест на резистентность кишечных возбудителей к бактериофагам. Для этого бактериальной петлей наносят каплю бактериофага на среду с нанесенной колонией.



Рисунок 33

Рисунок 33 – бактериофаги

**День 12 (21.06.23): утилизация отработанного материала**

Все отходы деятельности лаборатории по степени эпидемиологической и токсикологической опасности подразделяются на следующие классы:

* класс А (неопасные)
* класс Б (опасные)
* класс В (чрезвычайно опасные)
* класс Г

Стерилизация – это обеспложивание, т. е. полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор.

Стерилизацию производят различными способами:

1. физическими (воздействие высокой температуры, УФ-лучей, использование бактериальных фильтров);
2. химическими (использование различных дезинфектантов, антисептиков);
3. биологическим (применение антибиотиков).

В лабораторной практике обычно применяют физические способы стерилизации.

Возможность и целесообразность использования того или иного способа стерилизации обусловлена особенностями материала, подлежащего стерилизации, его физическими и химическими свойствами.

1. Стерилизация с помощью высокой температуры.

Эта стерилизация представляет собой прокаливание на пламени спиртовки. С помощью этого метода можно простерилизовать иглы и петли для посева, пинцет идр. Петлю или иглу поднести к пламени и держать до тех пор, пока она не покраснеет, после этого инструмент считается стерильным.

1. Кипячение.

Кипячение с добавлением в воду 1% соды В этот раствор помещают инструментарии и кипятят в течение 30 минут.

1. Стерилизация паром под давлением.

При этой стерилизации происходит полное уничтожение спор, при температуре 120 градусов.

1. Дробная стерилизация.

Это повторное кипячение через 24 часа.

1. Стерилизация текучим паром под давлением в аппарате Коха.

Здесь температура достигает 100 градусов.

1. Стерилизация сухим паром в печи Пастера.

Температура 170 градусов, стерилизация должна длится 2 часа.

1. Пастерилизация.

Стерилизация при температуре 60 – 70 градусов. Этим методом уничтожаются только вегетативные формы микроорганизмов.

**Лист лабораторных исследований**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследования |  | | | | | | | | | | | | Итог |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ. | - | - | - | - | 6 | - | - | 4 | - | - | - | - | **10** |
| Изучение культуральных, морфологических свойств | - | - | - | - | - | 12 | 3 | - | - | 11 | 2 | 1 | **29** |
| Изучение сахаролитической, протеолитической, гемолитической активности | - | 5 | - | - | - | 3 | 12 | - | - | 5 | 11 | 3 | **39** |
| Серодиагностика, РА | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | **1** |
| РП | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | **1** |
| РСК | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | **1** |
| РИФ | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | **1** |
| РНГА | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | **1** |
| Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. | - | 1 | 1 | - | - | 1 | 1 | 1 | - | 1 | 1 | 1 | **8** |
| Участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований | - | - | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | **2** |

**ОТЧЕТ ПО ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Канева Елизавета Дмитриевна

группы 323-9 специальности Лабораторная диагностика

Проходившего (ей) производственную (преддипломную) практику

с «08» июня 2023 г. по «21» июня 2023 г.

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. Цифровой отчет

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | Виды работ | **Количество** |
| 1 | Изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ. | 1 |
| 2 | Прием, маркировка, регистрация биоматериала. | 1 |
| 3 | Приготовление питательных сред для культивирования патогенных кокков, возбудителей кишечных инфекций, ВКИ. | 10 |
| 4 | Изучение культуральных, морфологических свойств исследуемой культуры. | 29 |
| 5 | Изучение сахаролитической, протеолитической, гемолитической активности исследуемой культуры. | 39 |
| 6 | Серодиагностика. РА | 1 |
| 7 | РП | 1 |
| 8 | РСК | 1 |
| 9 | РИФ | 1 |
| 10 | РНГА | 1 |
| 11 | Утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты. | 8 |
| 12 | Участие в проведении внутрилабораторного контроля качества лабораторных исследований. | 2 |