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»

Усов Максим Игоревич

ФИО

Место прохождения практики

Фармацевтический колледж, лабораторная диагностика

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

(медицинская организация, отделение)

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

Руководители практики:

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

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

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

Красноярск, 2019

Содержание

1. Цели и задачи практики
2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики
3. Тематический план
4. График прохождения практики
5. Инструктаж по технике безопасности
6. Содержание и объем проведенной работы
7. Манипуляционный лист (Лист лабораторных)
8. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цели и задачи практики:**

* 1. Закрепление в учебных условиях профессиональных умений и навыков по методам микробиологических и иммунологических исследований.
  2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам микробиологических и иммунологических исследований.
  3. Повышение профессиональной компетенции студентов и адаптации их на рабочем месте, проверка возможностей самостоятельной работы.
  4. Осуществление учета и анализ основных клинико-диагностических показателей, ведение документации.
  5. Воспитание трудовой дисциплины и профессиональной ответственности.
  6. Изучение основных форм и методов работы в бактериологических лабораториях.

**Программа практики.**

В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:

* 1. Организовать рабочее место для проведения лабораторных исследований.
  2. Подготовить лабораторную посуду, инструментарий и оборудование для анализов.
  3. Приготовить растворы, реактивы, дезинфицирующие растворы.
  4. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию инструментария и лабораторной посуды.
  5. Провести прием, маркировку, регистрацию и хранение поступившего биоматериала.
  6. Регистрировать проведенные исследования.
  7. Вести учетно-отчетную документацию.
  8. Пользоваться приборами в лаборатории.
  9. Выполнять методики согласно алгоритмам

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

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

**В результате учебной практики студент должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- применения техники бактериологических исследований.

**Освоить умения:**

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

**Знать:**

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

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

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

безопасности в лаборатории микробиологических исследований;

**Тематический план учебной практики**

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

**График выхода на работу**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Даты | Часы работы | Подпись руководителя |
| 1 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |
| 3 |  |  |  |
| 4 |  |  |  |
| 5 |  |  |  |
| 6 |  |  |  |

**ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследования. | Количество исследований по дням практики. | | | | |  | итого |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |  |
| Изучение нормативных документов | 4 |  |  |  |  |  | 4 |
| Прием, маркировка, регистрация биоматериала. |  | 1 | 1 | 1 |  |  | 3 |
| Организация рабочего места |  | 1 | 1 | 1 | 1 |  | 4 |
| Приготовление простых питательных сред. |  | 1 |  |  |  |  | 1 |
| Приготовление сложных питательных сред. |  |  |  |  |  |  | 0 |
| Посев на питательные среды |  | 2 | 2 | 4 |  |  | 8 |
| Изучение культуральных свойств. |  |  | 2 | 2 | 4 |  | 8 |
| Изучение морфологических свойств |  |  | 2 | 2 | 4 |  | 8 |
| Определение подвижности микроорганизмов |  |  |  |  |  |  | 0 |
| Определение спор |  |  |  |  |  |  | 0 |
| Изучение биохимических свойств (сахаролитических) |  |  | 2 | 2 |  |  | 4 |
| Утилизация отработанного материала. |  | 1 | 1 | 1 | 1 |  | 4 |

**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 Усова Максима Игоревича

Группы 205-2 специальности Лабораторная диагностика Проходившего (ей) учебную практику с 01 июня по 07 июня 2019 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

**1. Цифровой отчет**

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

**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.

Цель исследования: определение микробиологического качества воды из водоёма.

Задачи исследования:

* наличия кишечной палочки (фекального загрязнения)
* определение ОМЧ (общего микробного числа)

Для исследования воды был использован – микробиологический метод исследования.

В первый день практики были:

1. Повторены техники безопасности при работе со спиртовкой, а также общие правила безопасности в бактериологических лабораториях
2. Изучены нормативные документы
3. Собраны образцы воды из различных водоёмов для исследования

1. Техника безопасности

Техника безопасности при работе со спиртовкой:

1.Должен быть произведён внешний осмотр

2.Зажженную спиртовку нельзя переносить с места на место, нельзя также зажигать одну спиртовку непосредственно от другой.

3.Для зажигания спиртовки пользуйтесь спичками.

4.Гасить спиртовку можно только одним способом — накрывать пламя фитиля колпачком

5.При работе со спиртовкой окно должно быть закрыто

6.Нельзя оставлять зажжённую спиртовку без внимания

Правила работы в микробиологической лаборатории:

1. Находиться и работать в лаборатории в халатах, колпаках и сменной

обуви.

1. Пользоваться только отведенным рабочим местом и оборудованием, как

меньше ходить по лаборатории.

1. Не выносить материал, посуду, оборудование из лаборатории.
2. Не принимать пищу.
3. После работы с заразными материалами, инструменты, посуду,

предметные стекла подлежат обеззараживанию в дезинфицирующем

растворе, либо в автоклаве, либо в пламени спиртовки.

1. Если разобьется посуда или разольется жидкость, содержащая заразный

материал, необходимо сообщить об этом руководителю и тщательно все

продезинфицировать.

1. Соблюдать чистоту и опрятность. До и после работы необходимо мыть

руки и дезинфицировать стол.

2. Нормативные документы

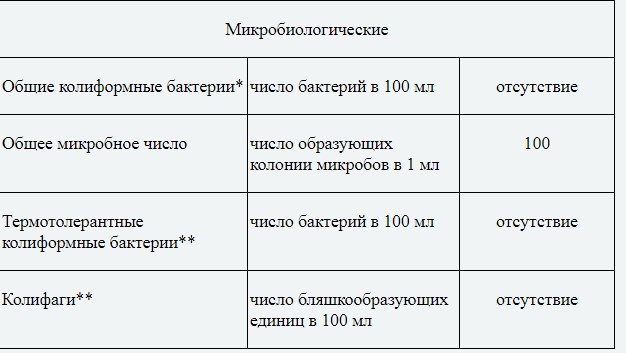
* ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения.»
* СанПиН 2.1.4.1175-02 «Гигиенические требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников.»
  + - IV. Требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения

Рисунок 1- вырезка из таблицы СанПиН 2.1.4.1175-02, 4.1

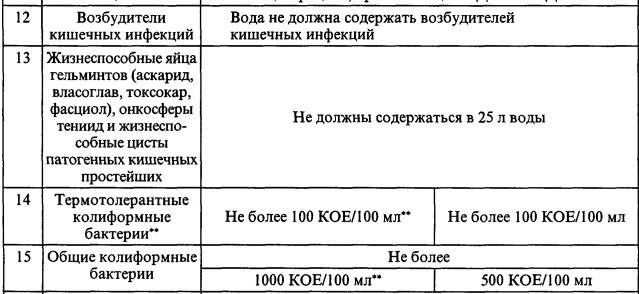
* СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод.»
  + - Приложение 1.

Рисунок 2-вырезка из таблицы СанПиН 2.1.5.980-00, Приложение 1

* МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов.»
* 2.1. Отбор, хранение и транспортирование проб.
* 2.2.5. Питательные среды.
* 2.7. Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий методом мембранной фильтрации. 2.7.1. Определение понятия показателей

Общие колиформные бактерии (ОКБ) - грамотрицательные, оксидазоотрицательные, не образующие спор палочки, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующие лактозу до кислоты и газа при температуре (37 ± 1) °С в течение 24-48 ч.

3. Отбор воды

Был собран образец воды из р. Енисея, возле территории Красноярской межрайонной клинической больницы №20 им. И.С. Берзона, в стерильную тару объёмом 0,5 л.

День 2.

Во второй день практики были:

1. Распределены водоёмы и ответственные за их исследование
2. Сварены и разлиты среды Эндо и МПА
3. Сделаны посевы в чашки Петри на среды Эндо и МПА с использованием шпателя и пипетки.
4. Распределение водоёмов

Таблица 1. Распределение водоёмов и ответственных за их исследование

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № | Водоём для отбора воды | Фамилия ответственного за исследования |
| 1 | Мана | Бычкова |
| 2 | Маклаковка | Ларионова |
| 3 | Берёзовка | Политова |
| 4 | Колонка из Тувы | Седип |
| 5 | Собакино | Королева |
| 6 | Торгашино | Ярощук |
| 7 | Ручей | Сидорова |
| 8 | Енисей | Усов |
| 9 | Кача | Юсупова |
| 10 | Мартушка | Шагдыр |
| 11 | Серпа | Сарыглар |

1. Варка и разлив сред

Для 1 этапа микробиологического исследования были необходимы среды Эндо и МПА.

Были сварены среды в объёме 200 мл каждая по 100 мл от одной пары студентов), после чего разлиты по чашкам Петри и пронумерованы.

Методика варки сред:

1. Расчёт необходимой массы сухой среды
2. Подготовка к работе весов
3. Подбор необходимых разновесов
4. Взвешивание сухой смеси
5. Пересыпание сухой среды в колбу
6. Заполнение колбы 100 мл воды
7. Варка среды на малом «огне»
8. Стерилизация
9. Розлив

Рисунок 3-варка среды

1. Посев

Методика посева при помощи шпателя и пипетки:

1. Зажечь спиртовку
2. Взять стерильную пипетку, набрать
3. Капнуть необходимое кол-во исследуемой воды в центр агара в чашке Петри
4. Погрузить пипетку в исследуемый материал
5. Взять погружённый в спирт шпатель и прокалить его на пламени спиртовки
6. Круговыми движениями распределить воду по поверхности агара
7. Прокалить шпатель и погрузить его в спирт
8. Закрыть спиртовку и чашку Петри

Для исследования было решено взять и добавить в среду Эндо-1 мл исследуемой воды, в МПА- 1 капли той же воды.

После чего посевы были убраны в термостат при температуре 37°C, сроком на 1 сутки.

День 3.

В третий день практики были определены:

1. Наличие и характеристика роста микроорганизмов на средах Эндо и МПА
2. Культуральные свойства микроорганизмов
3. Морфологические свойства
4. Сделан посев микроорганизмов на скошенный агар зигзагом для получения чистой культуры

В третий день практики был проведён 2-ой этап микробиологического исследования.

1. Наличие и характеристика роста микроорганизмов на средах Эндо и МПА

Таблица 2. Наличие и характеристика роста микроорганизмов на средах Эндо и МПА

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Водоём для отбора воды | Наличие и хар-ка роста на среде МПА | Наличие и хар-ка роста на среде Эндо |
| 1 | Мана | +, небольшое кол-во | - |
| 2 | Маклаковка | +, небольшое кол-во | - |
| 3 | Берёзовка | +, обильный рост | +(25) |
| 4 | Колонка из Тувы | +, сплошной рост | - |
| 5 | Собакино | +, небольшое кол-во | - |
| 6 | Торгашино | -, 1 колония | +, небольшое кол-во |
| 7 | Ручей | +, сплошной рост | - |
| 8 | Енисей | +, небольшое кол-во | +, обильный рост |
| 9 | Кача | +, сплошной рост | +, обильный рост |
| 10 | Мартушка | +, сплошной рост | - |
| 11 | Серпа | +, небольшое кол-во | - |

**2. Культуральные свойства микроорганизмов**

Таблица 3. Культуральные свойства микроорганизмов из образца №8 на средах Эндо и МПА

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Свойства | МПА | Эндо |
| Колонии | Выпуклые, изолированные | Выпуклые |
| Поверхность | Гладкие | Гладкие |
| Края | Ровные | Ровные |
| Цвет | Белые | Розовые |
| Размер | 0,1-0,5 см | 0,1 см |
| Форма | Круглые правильной и неправильной формы | Круглая правильная |

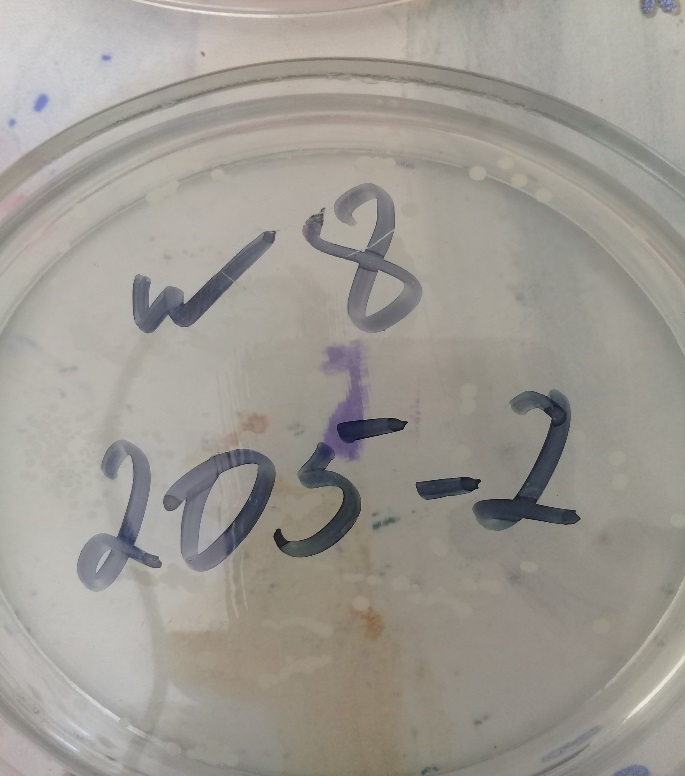




Рисунок 4-микроорганизмы выросшие на средах МПА и Эндо

1. Микроскопия методом по Граму

Для изучения микроорганизмов методом микроскопии необходимо было приготовить микропрепарат. Использовалась методика по Граму.

Методика окраски по Граму:

1. Приготовить фиксированный мазок.
2. На мазок положить фильтровальную бумагу и налить 1-2 капли

генцианвиоллета и окрасить в течение 1 минуты.

1. Удалить бумагу, слить краситель и, не промывая мазок водой, налить раствор Люголя на 1 мин.
2. Краску слить и на мазок капнуть на 0,5 минуты этилового спирта (обесцвечивающий раствор).

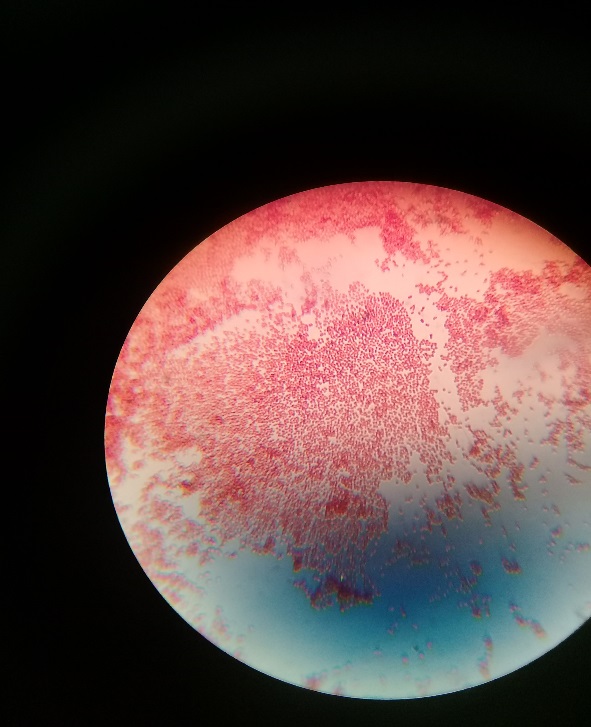
5. Промыть препарат водой.

6. Окрасить разведенным фуксином (р-р сафранина) в течение 2 минут.

7. Промыть водой, подсушить и промикроскопировать.

В ходе микроскопии были увидены:

* В Эндо - Гр- диплококки
* В МПА - Гр+, Гр- кокки



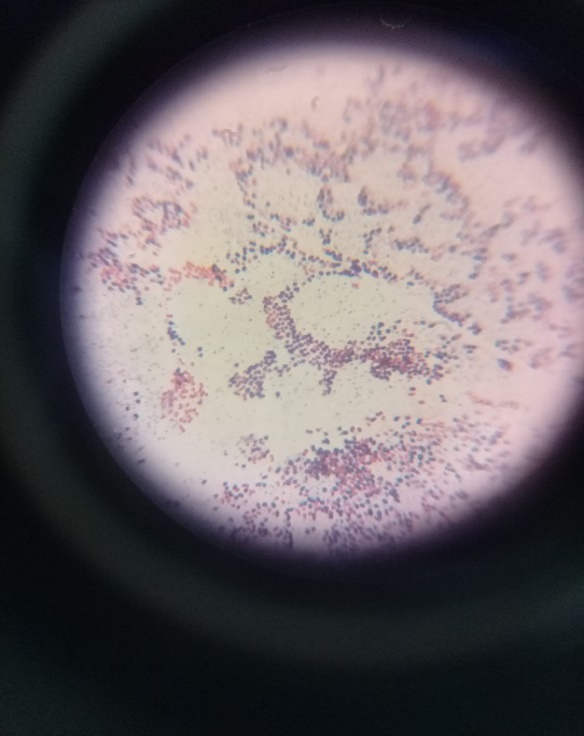


Рисунок 5-микроскопия микропрепаратов 1-Эндо, 2-МПА

4. Посев на скошенный агар

Для получения чистой культуры был сварен 2-хсахарный агар Клиглера (глюкоза + лактоза), разлит по пробиркам под углом.

Посев был произведён зигзагообразными движениями – методом «зигзага». После помещены в термостат.

День 4.

В четвёртый день практики была:

1. Проверена чистота культуры микрокоспированием микропрепарата по Граму
2. Сделаны посевы на пёстрый ряд
3. Проверка чистоты культуры

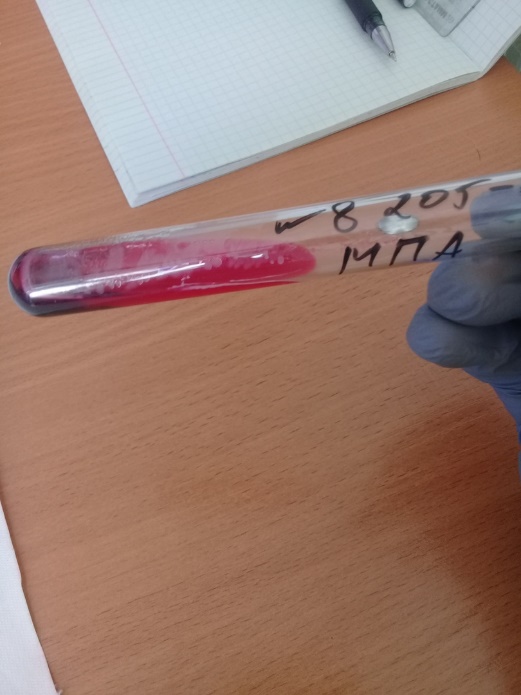


Рисунок 6-колонии выросших культур

В четвёртый день практики был проведён 3-ий этап микробиологического исследования.

Микроорганизмы, выросшие со среды Эндо в скошенном агаре образовали колонии не ферментирующие ни глюкозу, ни лактозу, это видно по не изменившемуся цвету среды. На дне среды образовалась аэробная колония, что свидетельствует о плохой стерилизации питательной среды.

Микроорганизмы, выросшие со среды МПА в скошенном агаре образовали колонии не ферментирующие ни глюкозу, ни лактозу, что видно по не изменённому цвету самой среды. Данные микроорганизмы в процессе жизнедеятельности производят сероводород. Рисунок 7-анаэробная колония

 После было произведено микроскопирование препарата по Граму (методика приготовления см. День 2)

Микрокоспирование показало, что обе культуры являются чистыми.

М/о из среды Эндо - маленькие Гр- диплококки.

М/о из МПА - маленькие Гр- кокки.

Рисунок 8-сероводород

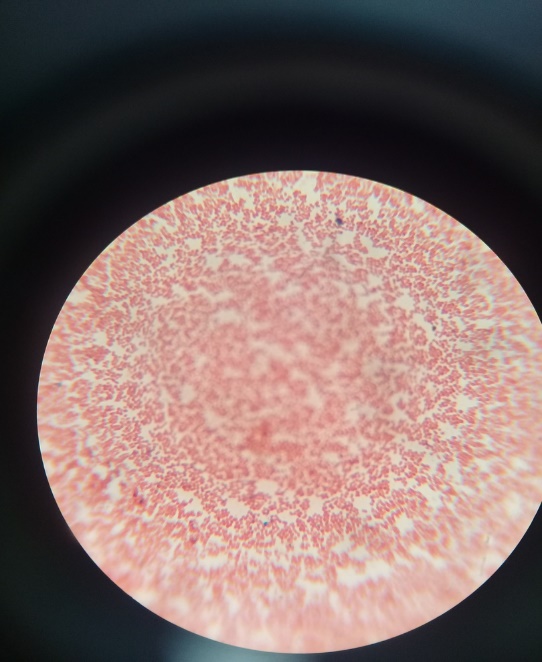


Рисунок 9-1-Эндо, 2-МПА

1. Посевы на пёстрый ряд

Пёстрый ряд состоял из 4-х различных сред:

1. Ацетатный агар (светло-зелёный, скошенный)
2. Среда Симонса (тёмно-зелёный, скошенный)
3. Среда Гисса с маннитом (синий, столбиком)
4. Среда Гисса с сорбитом ( фиолетовый, столбик)

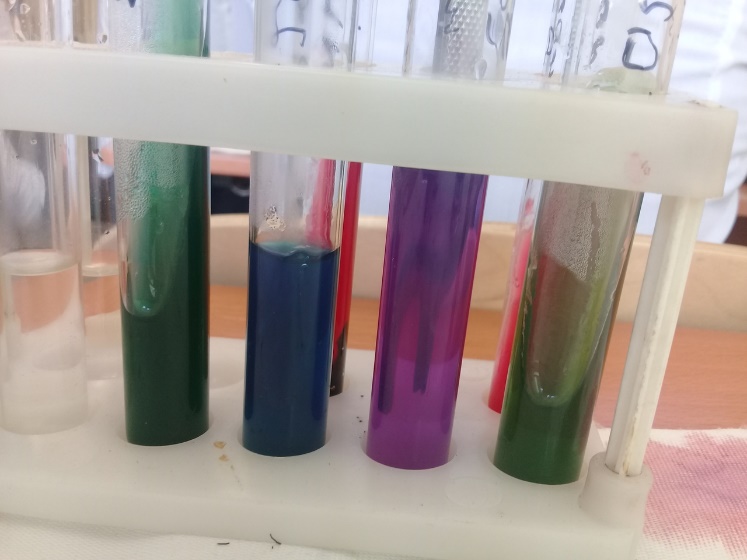
В пёстрый ряд были пересажены м/о из МПА зигзагом в скошенный и уколом в столбик.

Рисунок 10-пёстрый ряд

Пёстрый ряд был подписан и отправлен на сутки в термостат.

День 5.

В пятый день практики были:

1. Определены биохимические свойства микроорганизмов, выросших на пёстром ряду.

2. Сделан вывод по данным микроорганизмам

1. Биохимические свойства

В пятый день практики был проведён 4-ый этап микробиологического исследования.

Пёстрый ряд состоящий из 4 питательных сред изменился следующим образом.

Таблица 4. Изменение цвета питательных сред

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Название среды | Первичный цвет | Цвет через сутки после посева |
| Ацетатный агар | светло-зелёный | синий |
| Среда Симмонса | тёмно-зелёный | синий |
| Среда Гисса с маннитом | синий | синий |
| Среда Гисса с сорбитом | фиолетовый | фиолетовый |

Исследуемые кокки растут на поверхности агара, не уходя в толщу питательной среды. Что говорит о их аэробности.

Делая вывод из исследования пёстрого ряда и посева на 2-хсахарный агар Клиглера (глюкоза + лактоза) можно сказать, что данные Гр- кокки не ферментируют сахара, ферментируя цитрат натрия в среде Симмонса и ацетат натрия в Ацетатном агаре.

Ацетатный агар и среда Симмонса предназначены для идентификации энтеробактерий.

Энтеробактерии (Enterobacteriaceae) — большое семейство бактерий, включающее в себя такие известные патогены как: сальмонеллы, кишечная палочка, чумная палочка и т. д. Рисунок 11 – изменения в пёстром ряду

2. Вывод

В образце воды из реки Енисея, взятого около территории Красноярской межрайонной клинической больницы №20 им. И.С. Берзона, были обнаружены Гр- кокки из семейства Энтеробактерии (Enterobacteriaceae) - энтерококки. Энтерококки не ферментируют глюкозу, лактозу, миннит и сорбит, ферментируют ацетат натрия и цитрат натрия, а также образуют сероводород во процессе жизнедеятельности.

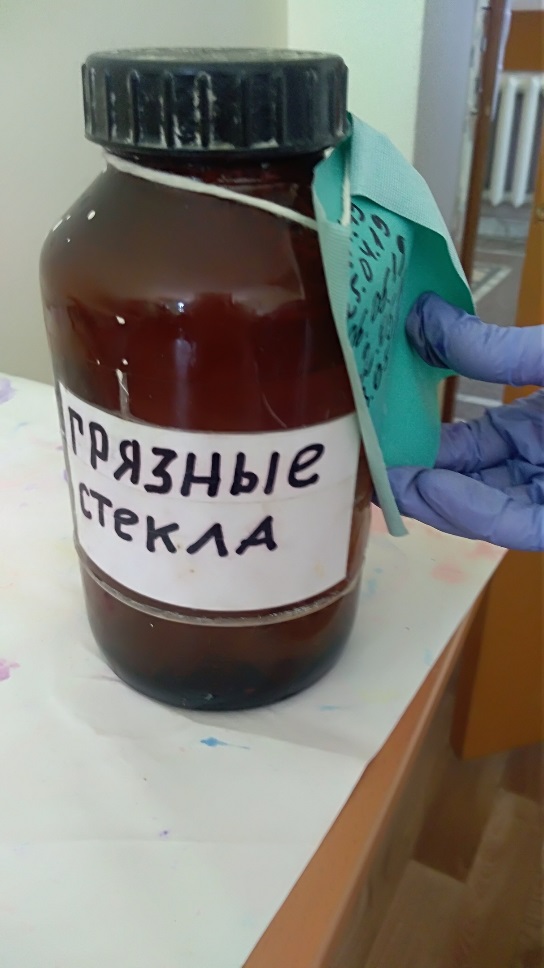
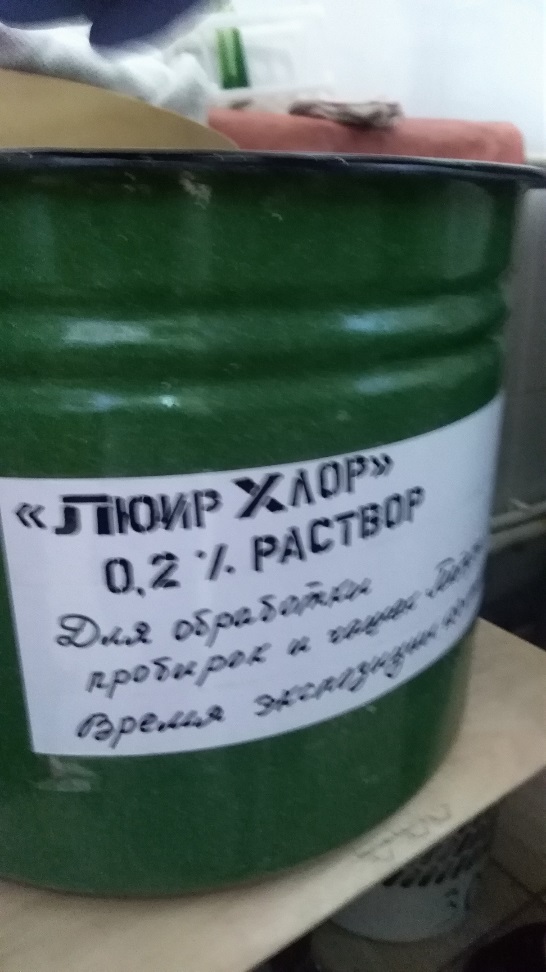
Все пробирки (а также чашки Петри) были утилизированы в специальный бак с дезраствором, пробки были отправлены в бикс. Во время микроскопии на предыдущих этапах исследования, использованные и более ненужные для работы предметные стёкла утилизировались в специальную банку, наполненную дезраствором.

Рисунок 12 – ёмкости для утилизации.