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»

Королева Светлана Евгеньевна

ФИО

Место прохождения практики

Фармацевтический колледж, Лабораторная диагностика

(медицинская организация, отделение)

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

Руководители практики:

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

Красноярск, 2019

Содержание

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

**Цели и задачи практики:**

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

**Программа практики.**

В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:

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

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

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

**В результате учебной практики студент должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- применения техники бактериологических исследований.

**Освоить умения:**

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

**Знать:**

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

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

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

безопасности в лаборатории микробиологических исследований;

**Тематический план учебной практики**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **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 | 01.06.19 г | С 8:00  до 11:40 |  |
| 2 | 03.06.19 г | С 12:00  до 17:05 |  |
| 3 | 04.06.19 г | С 12:00  до 17:05 |  |
| 4 | 05.06.19 г | С 9:45  до 15:20 |  |
| 5 | 06.06.19 г | С 12:00  до 17:05 |  |
| 6 | 07.06.19 г | С 9:45  до 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 | 1 | 1 |  | 5 |
| Организация рабочего места |  | 1 | 1 | 1 |  |  | 3 |
| Приготовление простых питательных сред. |  | 1 |  |  |  |  | 1 |
| Приготовление сложных питательных сред. |  |  |  | 4 |  |  | 4 |
| Посев на питательные среды |  | 2 | 1 | 4 |  |  | 7 |
| Изучение культуральных свойств. |  |  | 1 | 1 |  |  | 2 |
| Изучение морфологических свойств |  |  | 1 | 1 |  |  | 2 |
| Определение подвижности микроорганизмов |  |  | 1 | 1 |  |  | 2 |
| Определение спор |  |  | 1 |  |  |  | 1 |
| Изучение биохимических свойств (сахаролитических) |  |  |  | 2 | 3 |  | 5 |
| 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 Королева Светлана Евгеньевна

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 | 4 |
| 2. | - приготовление питательных сред | 5 |
| 3. | - посев исследуемого материала на плотные питательные среды | 7 |
| 4. | - определение тинкториальных свойств | 2 |
| 5. | -изучение культуральных свойств | 2 |
| 6. | -изучение морфологических и тинкториальных свойств | 4 |
| 7. | -изучение биохимических свойств | 5 |
| 8. | Учет результатов исследования. | 3 |
| 9. | проведение мероприятий по стерилизации и дезинфекции лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;  - утилизация отработанного материала. | 4 |

**День 1**

Повторение техники безопасности для работы в микробиологической лаборатории:

1. Находиться и работать в лаборатории в халатах, колпаках и сменной обуви.
2. Пользоваться только отведенным рабочим местом и оборудованием, как меньше ходить по лаборатории.
3. Не выносить материал, посуду, оборудование из лаборатории.
4. Не принимать пищу.
5. После работы с заразными материалами, инструменты, посуду, предметные стекла подлежат обеззараживанию в дезинфицирующем растворе, либо в автоклаве, либо в пламени спиртовки.
6. Если разобьется посуда или разольется жидкость, содержащая заразный материал, необходимо сообщить об этом руководителю и тщательно все продезинфицировать.
7. Соблюдать чистоту и опрятность. До и после работы необходимо мыть руки и дезинфицировать стол

Были изучены нормативные документы:

1. МУК 4.2.1884-04 «Санитарно – микробиологический и санитарно – паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов»
2. СанПиН 2.1.5.980-00. 2.1.5 «Водоотведение населенных мест, санитарная охрана водных объектов. Гигиенические требования к охране поверхностных вод. Санитарные правила и нормы»
3. ГОСТ Р 51592–2000 «Вода. Общие требования к отбору проб»
4. Федеральный закон от 30 марта 1999 г. N 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»

В данных нормативных документах отражены правила отбора проб воды из поверхностных водных объектов для микробиологического анализа:

1. Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов
2. Емкости должны быть оснащены плотно закрывающимися пробками
3. Поверхностные пробы отбирают с глубины 10-15 см от поверхности воды и на расстоянии 1,5 метра от берега
4. Объем пробы должен быть минимум 500 мл

Также в этих документах указаны правила хранения (таблица 1), транспортировки, приема проб в лаборатории и требования к оформлению результатов:

Таблица 1

Правила хранения проб воды

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |
| Наимено- вание показателя | Материал, из которого изготовлена емкость для отбора и хранения проб | Метод хранения и консервации | Макси- мальнорекомен- дуемый срок хранения | Место проведения определений показателя |
| Общее число микроорганиз- мов;  общие колиформы; термотолерантныеколиформы; стрептококки; сальмонелла; шигелла и др. | Стерильная емкость | Охлаждение до 2-10 °С | 6 ч | Лаборатория |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

1. Пробы, поступающие в лабораторию для исследования, должны быть зарегистрированы в журнале учета
2. Результаты отбора проб заносят в акт об отборе

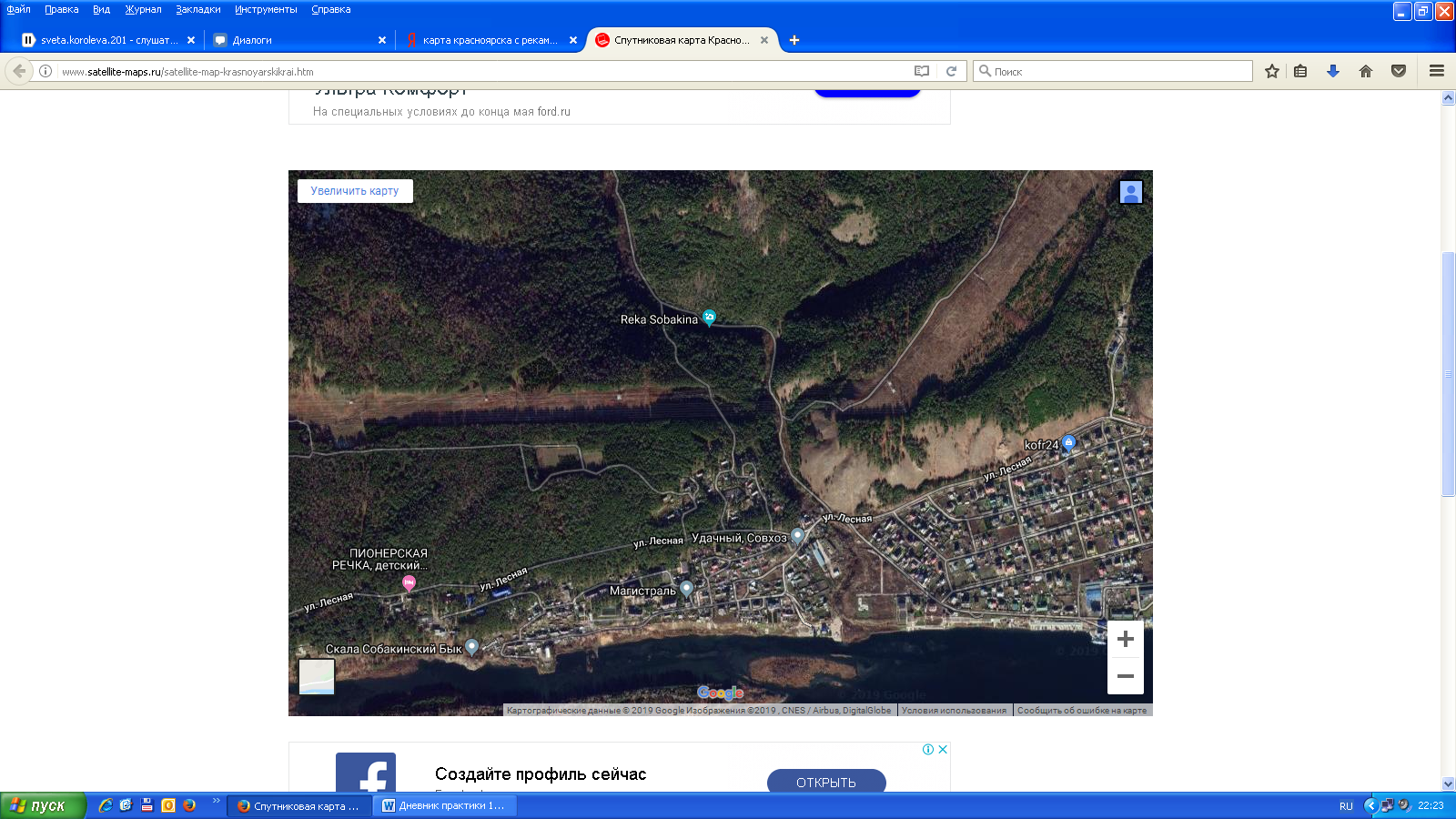
Был произведен отбор проб поверхностных вод из разных источников, которые представлены в таблице 2:

Таблица 2

Объекты исследования вод

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № | Место отбора | Отбор произвел |
| 1 | р. Мана | Бычкова Елизавета |
| 2 | р. Маклаковка | Ларионова Виктория |
| 3 | р. Березовка | Политова Вероника |
| 4 | Колодец из Республики Тыва | Седип Аяна |
| 5 | р. Собакина | Королева Светлана |
| 6 | Таргащинское водохранилище | Ярощук Александр |
| 7 | Ручей на реке Мана | Сидорова Нина |
| 8 | р. Енисей | Усов Максим |
| 9 | р. Кача | Юсупова Салихат |
| 10 | р. Муртушка | Шагдыр Саглаана |
| 11 | р. Серпа | Сарыглар Алдын-Сай |

Информация о моем источнике:

****

**Рисунок 1 - расположение реки Собакиной**

Река располагается в городе Красноярске, возле микрорайона Удачный (рисунок 1)

**День 2**

Были произведены посевы на среды Эндо и МПА, для исследования двух показателей:

1. Наличие в пробах кишечной палочки
2. Общее микробное число (ОМЧ)

Для начала 1 этапа исследования нужно приготовить питательные среды. Правила приготовления питательных сред (рисунок 2):

1. Соблюдать стерильность среды. Варить в колбе закрытой пробкой
2. Постоянно помешивать среду, чтобы предотвратить подгорание среды, используя прихватку
3. Варить до закипания, затем остудить среду и разлить по чашкам Петри
4. Разливать следует над спиртовкой , постоянно прокаливая края пробки и колбы

**Рисунок 2 - варка среды**

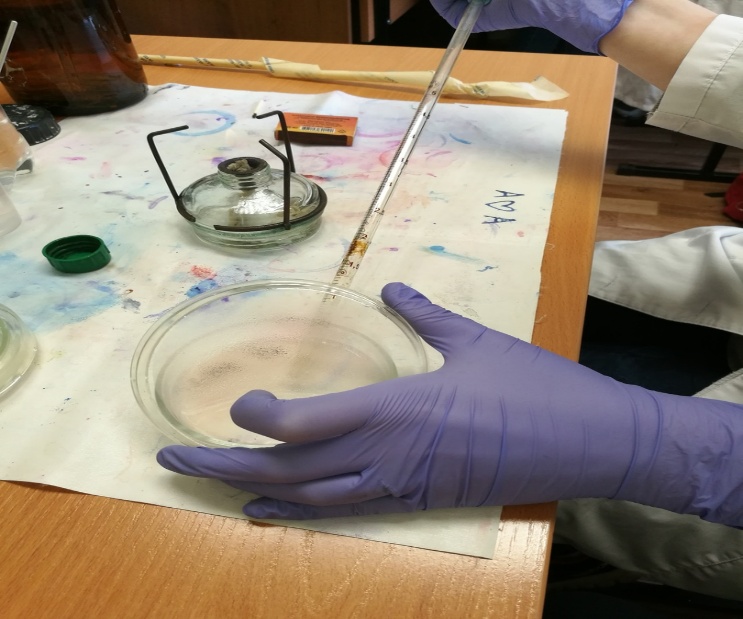
Далее проводим посев шпателем на питательные среды. Правила посева шпателем:

1. Подготовить рабочее место
2. Подготовить спиртовку к работе
3. Подобрать подходящую резиновую грушу для пипетки
4. Зажечь спиртовку (рисунок 3)

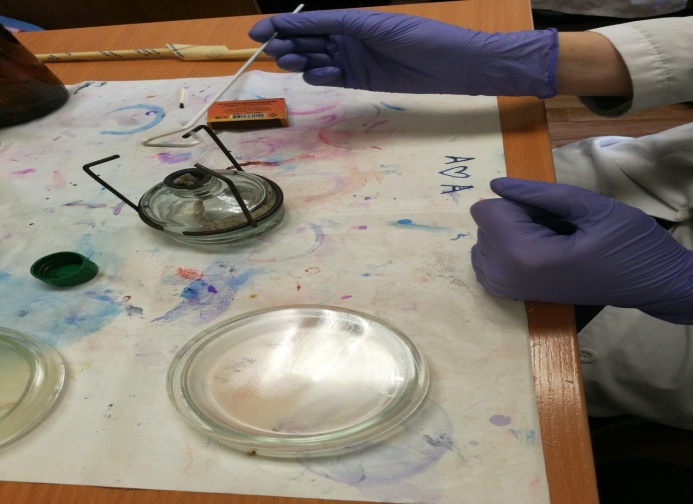


**Рисунок 3 - зажигание спиртовки**

1. Набрать пипеткой каплю (или 1 мл) исследуемой воды
2. Перенести каплю (или 1 мл) на питательную среду (рисунок 4)



**Рисунок 4 - перенесение капли воды на питательную среду**

1. Прокалить шпатель на спиртовке (рисунок 5)

**Рисунок 5 - прожигание шпателя**

1. Остудить шпатель о крышку чашки Петри
2. Круговыми движениями растереть воду по питательной среде, пока вода не впитается (рисунок 6)



**Рисунок 6 - посев**

1. Закрыть чашку, прокалить шпатель, потушить спиртовку
2. Посевы поместить в термостат при t 37°С

**День 3**

Начинаем 2 этап бактериологического исследования.

Результаты посевов представлены в таблице 3

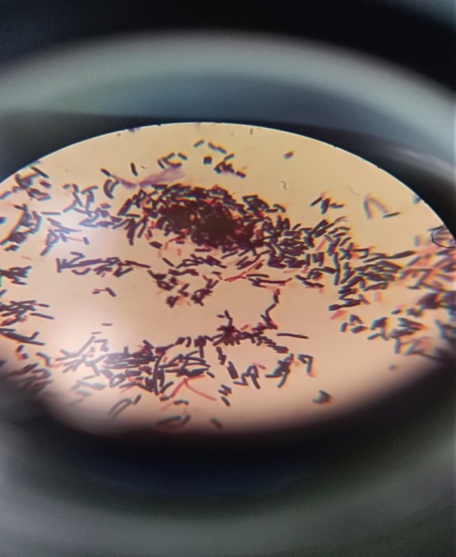
Таблица 3

Результаты посевов

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Название объекта | Наличие и характер роста на МПА | Наличие и характер роста на среде Эндо |
| 1 | р. Мана | + Небольшое количество | - |
| 2 | р. Маклаковка | + Небольшое количество | - |
| 3 | р. Березовка | + Обильный рост | + (25 колоний) |
| 4 | Колодец из Республики Тыва | + Сплошной рост | - |
| 5 | р. Собакина | + Небольшое количество | - |
| 6 | Таргащинское водохранилище | - (1 колония) | + Небольшое количество |
| 7 | Ручей на реке Мана | + Сплошной рост | - |
| 8 | р. Енисей | + Небольшое количество | + Обильный рост |
| 9 | р. Кача | + Сплошной рост | + Обильный рост |
| 10 | р. Муртушка | + Сплошной рост | - |
| 11 | р. Серпа | + Небольшое количество | - |

В ходе исследования моего объекта роста на среде Эндо обнаружено не было. На среде МПА был обнаружен небольшой рост. Колонии на среде МПА обладали такими характеристиками:

1. Форма – округлая
2. Размер – 1мм
3. Цвет – беловато-прозрачный
4. Профиль – плоская
5. Поверхность – гладкая
6. Характер края – ровный
7. Прозрачность – полупрозрачная

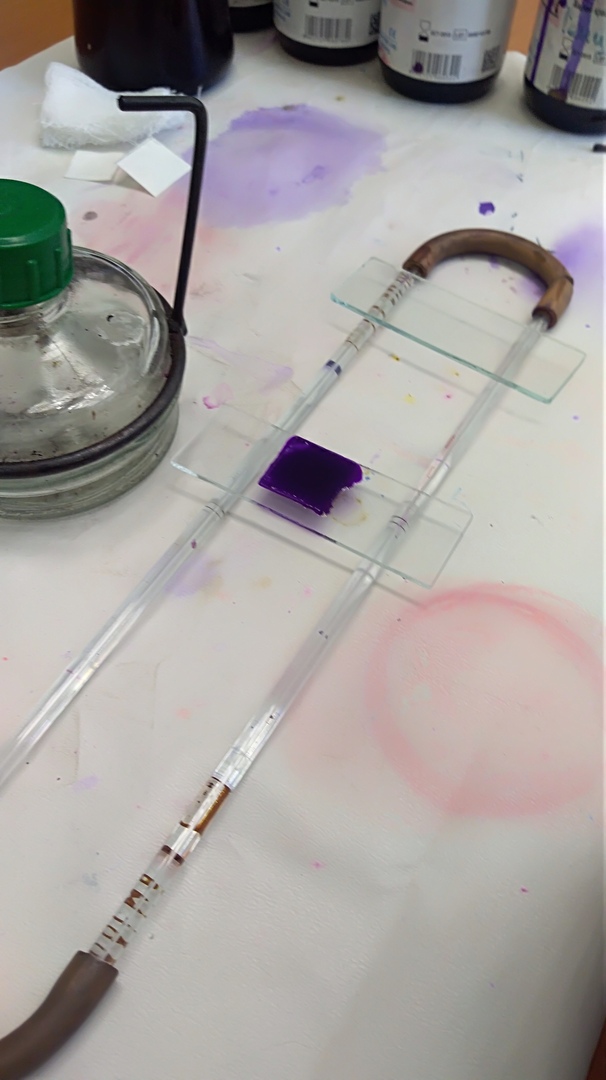
По морфологическим свойством изучаемые микробы - подвижные грам(+) длинные палочки, располагающиеся по-одиночке (рисунок 7)

**Рисунок 7 - микроскопия**

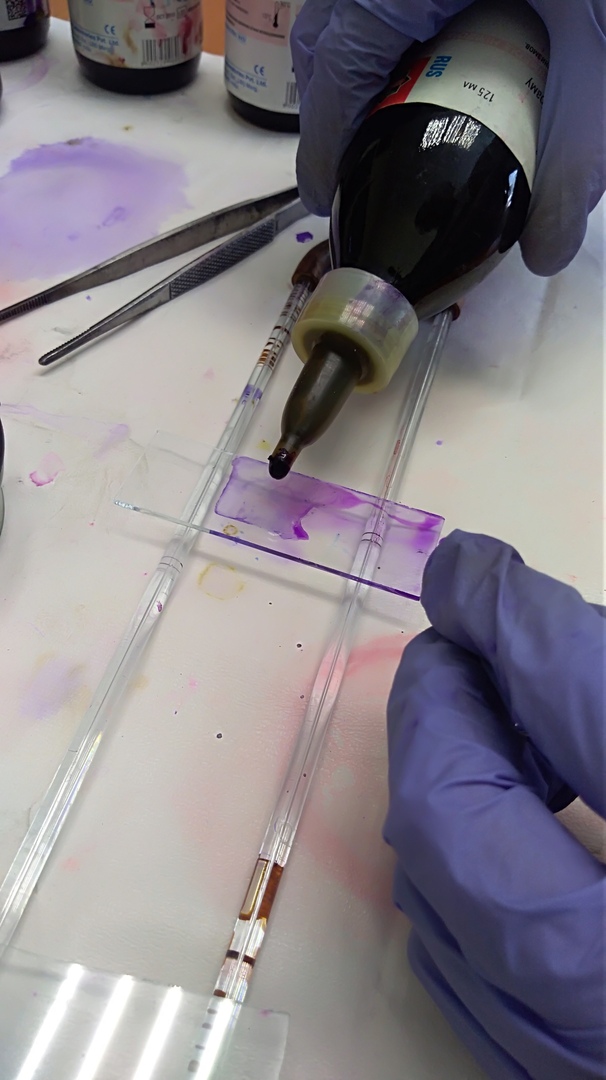
**Для определения морфологических свойств микроорганизмов были использованы методики:**

1. Окраска по Граму
2. Окраска по Цилю – Нильсену
3. Приготовление препарата «раздавленная капля»

**Методика окраски по Граму**

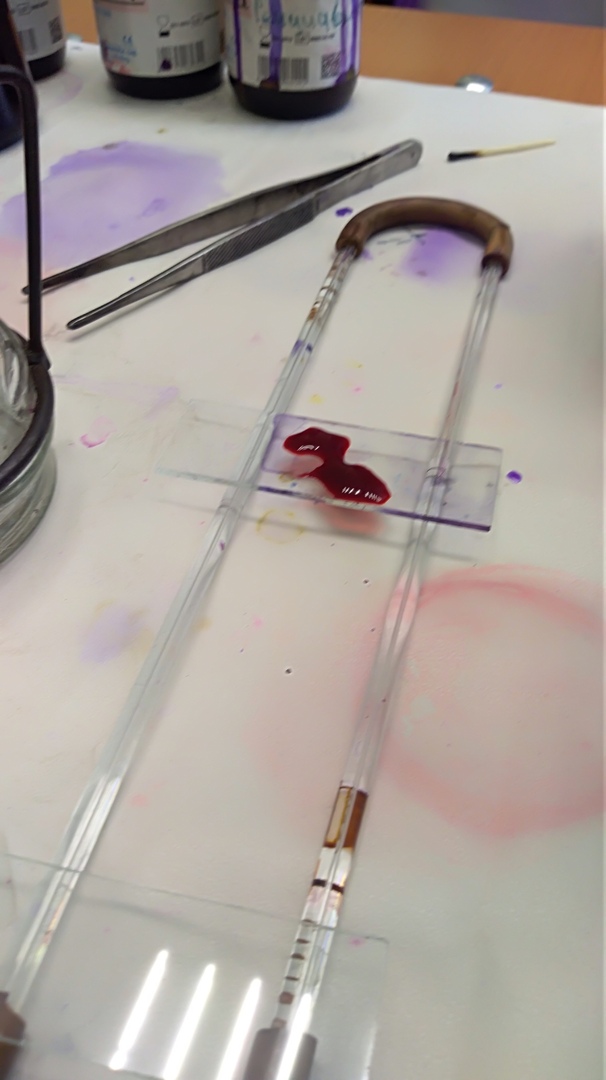
1. Приготовить фиксированный мазок.
2.  На мазок положить фильтровальную бумагу и налить 1-2 капли генцианвиоллета и окрасить в течение 1 минуты (рисунок 8)

**Рисунок 8 - окраска генцианфиоллетом**

1.  Удалить бумагу, слить краситель и, не промывая мазок водой, налить раствор Люголя на 1 мин.

**Рисунок 9 - окраска раствором Люголя**

1. Краску слить и на мазок капнуть на 0,5 минуты этилового спирта (обесцвечивающий раствор).
2. Промыть препарат водой.
3. Окрасить разведенным фуксином (р-р сафранина) в течение 2 минут (рисунок 10)



**Рисунок 10 - краска раствором Сафранина**

1. Промыть водой, подсушить и промикроскопировать

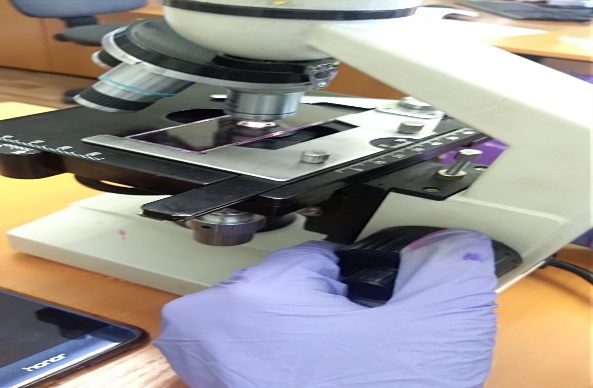
**Методика окраски по Цилю –Нильсену**

1. Приготовить фиксированный мазок.
2. На мазок положить кусочек фильтровальной бумаги и нанести 2-3 капли карболового фуксина Циля (рисунок 11)

**Рисунок 11 - окраска карболовым фуксином Циля**

1. Удерживая стекло пинцетом подогреть над пламенем спиртовки до образования паров (рисунок 12)

**Рисунок 12 - подогрев красителя**

1. Добавить новую порцию красителя и подогреть еще два раза до образования паров.
2. Препарат промыть водой.
3. 2-3 раза погрузить в 5% раствор серной кислоты для обесцвечивания.
4. Тщательно промыть водой.
5. Окрасить препарат метиленовым синим в течение 3-5 минут.
6. Промыть водой, просушить и промикроскопировать (рисунок 13) 

**Рисунок 13 - микроскопия спор**

**Методика приготовления препарата «раздавленная капля»**

1. В пробирку с физиологическим раствором капают 1-2 капли метиленовой сини.
2. В подкрашенный физ. раствор вносят петлей исследуемую культуру.
3. На предметное стекло наносят петлей большую каплю подкрашенной культуры и покрывают ее покровным стеклом.
4. Чтобы не образовалось пузырьков воздуха, покровное стекло подводят ребром к краю капли и резко опускают его (рисунок 14) 

**Рисунок 14 - приготовление нативного препарата**

1. Возможна подкраска препарата непосредственно на предметном стекле

Далее нам нужно вырастить чистые культуры. Для этого нужно приготовить среду Клиглера и разлить ее по пробиркам, сделав скошенный агар.

Затем мы делаем посев в пробирку на скошенный агар

**Посев в пробирку на скошенный агар.**

Материал, забранный петлей, опускают до дна пробирки со скошенным агаром, погружают в конденсационную жидкость и зигзагообразными движением петли проводят снизу-вверх, слегка касаясь поверхности среды (посев штрихом). При посеве материала уколом в столбик

среды, петлей с материалом или иглой прокалывают вертикально центру пробирки питательную среду, петлю или иглу вынимают, прожигают.

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

**День 4**

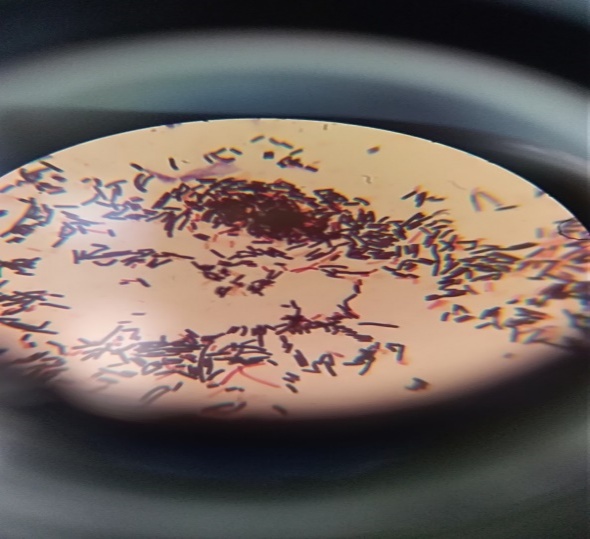
Начинаем 3 этап бактериологического исследования. Смотрим на изменение цвета среды.

У меня цвет среды не изменился, значит мои микроорганизмы не ферментируют глюкозу и лактозу (рисунок 15)

**Рисунок 15 - изменение среды**

Для проверки чистоты колонии проводим окраску по Граму. Колония чистая, состоит из подвижных Грам (+) клостридий.

(рисунок 16)

**Рисунок 16 - клостридии**

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

1. Гисса с маннитом
2. Гисса с сорбитом
3. Агар Симмонса
4. Ацетатный агар

Среды Гисса нужно разлить столбиком, а ацетатный агар и агар Симмонса скошено (рисунок 17)

**Рисунок 17 – розлив питательных сред**

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

**Рисунок 18 - пересев культуры на скошенный агар**

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

**День 5**

5 этап бактериологического исследования. Учет результатов биохимического исследования

В результате посева на дифференциально – диагностические среды, я получила следующие результаты (рисунки 19а и 19б)

**Рисунок 19а – среды до посева Рисунок 19б** - **среды после посева**

1. Сорбит – (не расщепляется)
2. Маннит + (расщепляется)
3. Цитрат натрия – (не расщепляется)
4. Ацетат натрия – (не расщепляется)

Также, в ходе предыдущих посевов, были получены результаты:

1. Лактоза – (не расщепляется)
2. Глюкоза – (не расщепляется)

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

В общем итоге в моем источнике реке Собакиной были обнаружены грам (+) подвижные, обладающие слабыми ферментативными свойствами клостридии.

Клостридии - Род грамположительных, облигатно анаэробных бактерий, способных продуцировать эндоспоры. Клостридии входят в состав нормальной флоры желудочно-кишечного тракта и женских половых путей

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

1. Предметные стекла нужно погрузить специальную емкость с дез. Средством (рисунок 20)

**Рисунок 20 - утилизация предметных стекол**

1. Чашки Петри и пробирки с посевами нужно открыть (пробки сбросить в бикс) также поместить в емкость с дез. средством, полностью заполнив их (рисунок 21)

**Рисунок 21 - утилизация посевов**

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

**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