**Приложение 1.**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ

УЧРЕЖДЕНИЕВЫСШЕГО 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»**

Удодова Варвара Алексеевна

ФИО

Место прохождения практики Фармацевтический колледж

с «25» июня 2022 г. по «1» июля 2022 г.

Руководители практики:

Методический – Ф.И.О. (его должность) Жукова М.В.

Красноярск, 2022

## Содержание

## 1. Цели и задачи практики

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

## 3. Тематический план

4. График прохождения практики

5. Содержание и объем проведенной работы

6. Манипуляционный лист

7. Отчет (цифровой, текстовой)

**Цель и задачи учебной практики:**

1.Ознакомление со структурой микробиологической лаборатории и организацией работы среднего медицинского персонала;

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

3.Осуществление учета и анализамикробиологических показателей;

4.Обучение студентов оформлению медицинской документации;

**Программа практики.**

*В результате прохождения практики студенты должны уметь самостоятельно:*

1. Организовать рабочее место для проведения микробиологических исследований.
2. Готовить препарат для окраски, выполнять методики окраски согласно алгоритмам
3. Готовить питательные среды и производить посев.
4. Делать выводы по проведенным исследованиям.
5. Пользоваться приборами в лаборатории.
6. Провести дезинфекцию биоматериала, отработанной посуды, стерилизацию лабораторной посуды.

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику;
2. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).

**В результате учебной практики обучающийся должен**

**Приобрести практический опыт:**

**ПО 1.** - применения техники бактериологических, вирусологических, микологических и иммунологических исследований.

**Освоить умения:**

У.1 Принимать, регистрировать, отбирать клинический материал, пробы объектов внешней среды и пищевых продуктов;

У.2 Готовить исследуемый материал, питательные среды, реактивы и оборудование для проведения микроскопических, микробиологических и серологических исследований;

У.3 Проводить микробиологические исследования клинического материала, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов;

У.4 Оценивать результат проведенных исследований, вести учетно-отчетную документацию;

У.8 Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию, используемой в лаборатории посуды, инструментария, средств защиты рабочего места и аппаратуры;

**Знания:**

З.1 Задачи, структура, оборудование, правила работы и техники безопасности в микробиологической лаборатории;

З.2 Общие характеристики микроорганизмов, имеющие значение для лабораторной диагностики;

З.3Требования к организации работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности;

Тематический план учебной практики

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | **Количество** | |
| дней | часов |
| 1. | 1 этап Забор материала для исследованияПриготовление 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 | 25.06.22 | 8.00-13.35 |  |
| 2 | 27.06.22 | 8.00-13.35 |  |
| 3 | 28.06.22 | 8.00-13.35 |  |
| 4 | 29.06.22 | 8.00-13.35 |  |
| 5 | 30.06.22 | 8.00-13.35 |  |
| 6 | 1.07.22 | 8.00-13.35 |  |

**Содержаниепрактики**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №  дни | Виды деятельности | Практический опыт | Умения |
| **Раздел Общая микробиология** | | | |
| 1. | 1. Правила техники безопасности.  2. Приготовление питательных среддлявыделение чистой культуры.  3.Посев исследуемого материала.  4.Оформление дневника. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.  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 |
| 3. | 1.Изучение чистой культуры.  2.Приготовление фиксированного мазка Физическим методом. 3.Окраска препарата по ГР. 4.Изучение тинкториальных свойств. 5.Приготовление питательных сред для изучения биохимических свойств 6.Оформление дневника. | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.  Владеть техникой микроскопических исследований  Владеть техникой работы бактериальной петлей. | Работа с биологическим материалом  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 исследованийВладеть 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.  Техника посевов на ППС и ЖПС | Оценивать биохимические свойства |
| 6. | Зачет | Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований. Техника посевов |  |
|  | | | |

День 1  
25.06.2022  
Правила техники безопасности; приготовление питательных сред для выделения чистой культуры; посев исследуемого материала; оформление дневника

*Правила техники безопасности*

Работа в микробиологической лаборатории требует строго соблюдения правил техники безопасности, потому что исследования проводятся с патогенными микроорганизмами.

1. Работа в микробиологической лаборатории требует строго соблюдения правил техники безопасности, потому что исследования проводятся с патогенными микроорганизмами. Соблюдение этих правил необходимо для обеспечения не только личной безопасности, но и безопасности окружающих людей.
2. Находиться и работать в лаборатории в халатах, чепчиках и сменной обуви.
3. Пользоваться только отведенным рабочим местом и оборудованием, как меньше перемещаться по лаборатории.
4. Не принимать пищу на рабочем месте.
5. Не выносить материал, посуду и оборудование из лаборатории.
6. Соблюдать чистоту и опрятность. До и после работы мыть руки с мылом и обрабатывать рабочее место дезсредством.
7. После работы с патогенным и условно патогенным материалом, инструменты и посуда, предметные стекла подлежат обеззараживанию в дез р-ре, или же в автоклаве, или в пламени спиртовой горелки.
8. В случае биться посуды или разлива жидкости, которая содержала условно патогенный материал, необходимо сообщить об этом руководителю и тщательно все продезинфицировать.

*Нормативные документы:*

1. Санитарно-эпидемиологические правила 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IVгрупп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
2. Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в КДЛ лечебно-профилактических учреждений».
3. Приказ МЗ РФ №8 от 19.01.1995г. «О развитии и совершенствовании деятельности лабораторий клинической микробиологии (бактериологии) ЛПУ».
4. ГОСТ Р ИСО 15189-2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности». 1 июня 2016г.

Бактериологические исследование используется для выделения м/о, изучение их свойств с целью определения их вида.

* Приготовление питательных сред для выявления чистой культуры и первичной посев исследуемого материала.
* Изучение культуральных свойств, приготовление дифференциально-диагностических сред, посев исследуемого материала и изучение морфологических и тинкториальныхсвойств.
* Изучение ферментативных свойств.
* Учет результатов.

*Забор материала перед отбором (питьеваяс дачного участка Солонцы)*

В соответствии сСанПиНом 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения», обследуем воду из водопровода посёлка Солонцы. Перед тем как набрать бутылку воды для исследования, нужно открыть кран и подождать 15 минут. После протереть кран для того, чтобы м/о находящиеся на кране не попали в бутылку. Набрать 0,5 л воды и закрыть крышкой.

*Приготовление питательных сред МПА и ЭНДО:*

МПА - основная плотная питательная среда, используемая для выращивания хемоорганотрофных бактерий. Готовят на основе МПБ, добавляя к нему 1,5-3% агара, или на мясной воде, добавляя к ней 1% пептона 0,5% Натрия Хлорида и 1,5-3%агара.

Для приготовления:

* Надо взвешать на аптечных весах 4 грамма питательной среды и развести на 100 мл дистиллированной воды.
* Довести трехкратно до кипения.
* Стерильно разлить около спиртовой горелки, возле пламени.
* Разлить по чашкам Петри и оставить до полного застывания.

ЭНДО – дифференциально-диагностическая питательная и элективная среда, для кишечной группы возбудителей, предназначенная для выделения энтеробактерий. Обладает слабым селективными свойствами, компоненты среды подавляют рост грамположительных бактерий.

Состав:  
мясопептонный агар, лактоза, фуксин, Сульфит Натрия, Гидрофосфат Натрия, Карбонат Натрия.

Для приготовления:

* Взвешиваем на аптечных весах 3,8 грамма питательной среды и разводим на 100мл дистиллированной воды.
* Доводим трехкратно до кипения.
* Стерильно разливаем около спиртовой горелки, у пламени.
* Разливаем по чашкам Петри и оставляем до полного застывания.

Рис 1. Приготовление среды МПА

*****Посев микроорганизмов:*

Когда мы приготовили питательные среды. Начали производить посев. Я взяла 1мл воды питьевой с дачного участка и произвела посев в чашку Петри, затем залила питательной средой МПА и оставила застывать.  
Во вторую чашку я налила 1мл воды назастывшую среду ЭНДО, посеила методом «Шпатель» и дала время просохнуть. Затем мы убрали свои посевы в термостат при температуре 37’С.

Рис 2. Приготовление среды ЭНДО

****

Рис 3-4. Розлив питательной среды МПА

****

Рис 5. Этапы посева шпателем

**Вывод:**На первом дне практики мы сварили питательные среды МПА и ЭНДО, произвели стерильный розлив питательных сред в чашки Петри и пробирки, сделали посев питьевой воды с дачного участка г. Красноярск на среду МПА, сделали посев смыва овощей на питательные среды МПА и ЭНДО с помощью шпателя, оставили чашки Петри в термостате на сутки.

**Задание.**

А) Заполнить таблицу «Классификация питательных сред».

**Классификация питательных сред**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Способ классификации | Виды питательных сред | Состав | Стерилизация | Примеры |
| По составу | простые | МПА,МПБ | Автоклавированаие | Пептонная среда |
| сложные | МПА,МПБ+доп в-ва | Автоклавирование | Кровяной агар, сывороточный агар, сахарный агар |
|  |  |  |  |
| По консистенции | Жидкие |  | Автоклавирование | МПБ,средыГисса |
| Полужидкие | МПБ+1% агар-агара | Автоклавирование | Полужидкий агар |
| Твердые, плотные | МПБ+3-4%агара | Автоклавирование | МПА, среда ЭНДО, кров агар |
| По назначению | 1.общеупотребительные | Простые МПА, МПБ | Автоклавирование, на закрытом огне | МПА МПБ |
| 2.специальные(для требовательных м/о) | МПА+кровь, сыворотка, углеводы, витамины(доп.в-ва) | Автоклавирование, на закрытом огне | Кровяной агар, среды для анаэробов Китта-Тароцци |
| 3.избирательные или элективные(для устойчив м/о) | МПА+соль,красители,антибиотики | Автоклавирование, на закрытом огне | Среда ЭНДО, щелочной агар, ЖСА, висмут сульфит, агар ВСН |
| 4.дифференциально-диагностические(для изучения биохимсв-в) | МПА, МПБ+углевод,краситель, индикатор | Автоклавирование, на закрытом огне | Среда ЭНДО, среда Расселя |
| 5.консервирующие(хромогенные среды) | Глицерин, хромогены | Автоклавирование, на закрытом огне | Глицериновая смесь, хромогенные среды |
|  |  |  |  |

Б) Запишите требования, предъявляемые к средам.

1. Должны содержать все необходимые питательные в-ва, факторы роста

2. Должны быть изотоничны – 0,9% натрия хлорид; оптимальная консистенция от жидкой до плотной

3. Оптимальная кислотность рН 7,2-7,4; стерильны

**3. Запишите этапы приготовление питательных сред**

1.Расчет и взвешивание ингредиентов в соответствии с рецептурой; варка питательной среды

2.Разлив по пробиркам и чашкам Петри

3.Стерилизация; контроль стерильности( в термостате на 2 суток при t37градусов

## День 2 27.06.2022 Изучение культуральных, морфологических и тинкториальных свойств

Чистая культура необходима для определения идентификации.   
**Идентификация**- это определение основных свойств м/о: культуральных, морфологических, биохимических, свойств патогенной структуры, взаимоотношения с фагами, с целью установления принадлежности, к определенному виду, роду или подвиду.

Перед началом изучения свойств, я извлекла Чашки Петри из термостата, организовала рабочее место и приступила к описанию культуральных свойств полученной колонии.

Культуральные свойства определяются, изучая характер роста простым методом «на глаз». К ним относятся:

* Форма. Бактериальные колонии по этой культуральной характеристике могут быть плоскими, округлыми, ризоидными (напоминать переплетение корней) или гирозными, напоминающими по форме головной мозг, иметь ровные, хорошо очерченные или рваные края.
* Размер. Важная характеристика морфологии колоний. Различают мелкие колонии диаметром 1-3 мм, средние размером от 2 до 4 мм и крупные, размер которых составляет 4 мм и более.
* Пропускание света. Бывают просвечивающие, или прозрачные, и непрозрачные бактериальные колонии.
* Поверхность. Может быть шероховатой или гладкой, морщинистой, блестящей, влажной, тусклой, слизистой или сухой.
* Структура. При изучении под микроскопом можно увидеть колонии различной морфологии – однородные, нитевидные или зернистые. Методы определения – микроскопия или исследование при помощи лупы.
* Цвет. Эта культуральная характеристика выявляется при наличии в бактериальных клетках пигментов. Цвет колоний иногда является видовым признаком и входит в название. Например, золотистый стафилококк, цианобактерии, пурпурные бактерии, синегнойная палочка и другие получили свои названия из-за характерной окраски их колоний, выращенных на питательной среде. Иногда пигменты бактерий выделяются в субстрат и окрашивают ее.
* Консистенция. Определяется при непосредственном контакте с колонией специального инструмента. Различают слизистые, мягкие, плотные и врастающие в агар.
* Профиль колонии может быть выпуклым или плоским, кратерообразным или конусовидным.
* Степень погружения в среду. Большинство колоний живут на поверхности субстрата. Однако существуют также глубинные, в виде чечевичек, погруженных в толщу среды, и донные бактерии, образующие пленки на дне сосудов с питательной средой.
* Люминесценция. Известны также несколько видов аэробных бактерий, способные к фосфоресценции (люминесценции). Их колонии способны до суток светиться желтоватым или зеленоватым цветом. Фотобактерии – жители различных водоемов, встречаются на чешуе и мясе рыбы. Их морфология может быть различной – среди светящихся видов встречаются кокки, вибрионы, палочки.
* В жидком субстрате морфология бактериальных колоний характеризуется образованием равномерной мути, пленки или осадка. В полужидких при посеве уколами подвижные бактерии вызывают помутнение в толще среды вокруг места посева, а неподвижные – только в самом месте укола. Некоторые бактерии в аэробных и анаэробных условиях выделяют различные газы (индол, скатол, меркаптан, сероводород, масляная кислота, диэтиловый эфир и тому подобное).

*Культуральные и морфологические свойства. Таблица 1*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Характеристики | № 1 (рисунок 3) | № 2 (рисунок 4) |
| Форма | Круглая- S | Круглая-S |
| Размер | 3 мм | 1 мм |
| Цвет | желтый | Розовый с металлическим отливом |
| Профиль | выпуклая | плоская |
| Поверхность | гладкая | гладкая |
| Характер края | ровный | ровный |
| Прозрачность | непрозрачная | непрозрачная |
| Структура | однородная | однородная |

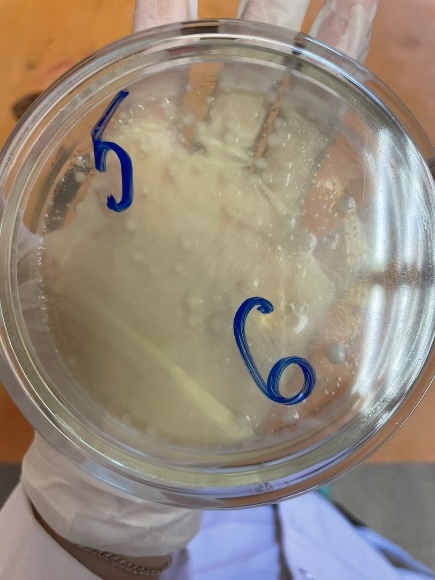


Рис 7. Рост колоний на среде ЭНДО

Рис 6. Рост колоний на среде МПА

**Вывод***:* Я провела исследование путём окраски по Граму для выявления тинкториальных свойств, а при микроскопии определила морфологические свойства.

Методика окраски по Граму:

1. На фиксированный мазок нанести карболово-спиртовой раствор генциановогофиолетового через полоску фильтровальной бумаги. Через 1-2 минуты снять её, а краситель слить.
2. Нанести раствор Люголя на 1-2 минуты (йод)
3. Обесцветить этиловым спиртом в течении 30-60 секунд до прекращения отхождения фиолетовых струек красителя
4. Промыть водой
5. Докрасить водным раствором фуксина в течении 2 минут, промыть водой, высушить
6. Микроскопируйте препарат в иммерсионной системе.

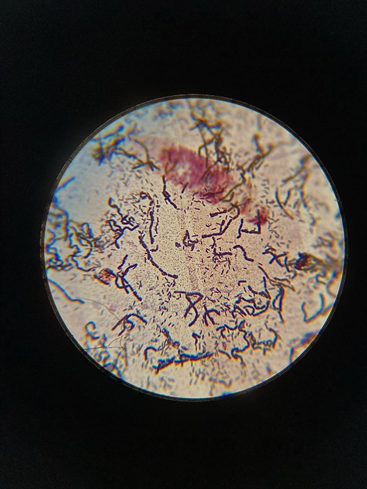


Рис 9.Грам+ бациллы

Рис 8. Грам- палочки

**Вывод:** после микроскопирования колонии на среде ЭНДО препарата №1 (рисунок 5) были выявлены грам- палочки, а в препарате №2 (рисунок 6) выявлены грам+ бациллы.

*Тинкториальные и культуральные свойства. Таблица 2*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатель | *1* | *2* |
| Форма | *s* | *s* |
| *Устойчивость во внешней среде* | *малоустойчивы* | *Малоустойчивы* |
| *Вирулентность* | *выражена* | *Выражена* |
| *Биохимическая активность* | *Активны* | *активны* |
| *Тинкториальность* | *Грам-* | *Грам+* |
| *Морфология* | *Кишечная палочка* | *бациллы* |

*Окраска капсул.*

Окраска по Бурри-Гинсу. Смешала на предметном стекле тушь разведенную в 10р с культурой. Ребром предметного стекла сделала тонкий мазок. Высушила и промикроскопировала в иммерсионной системе.

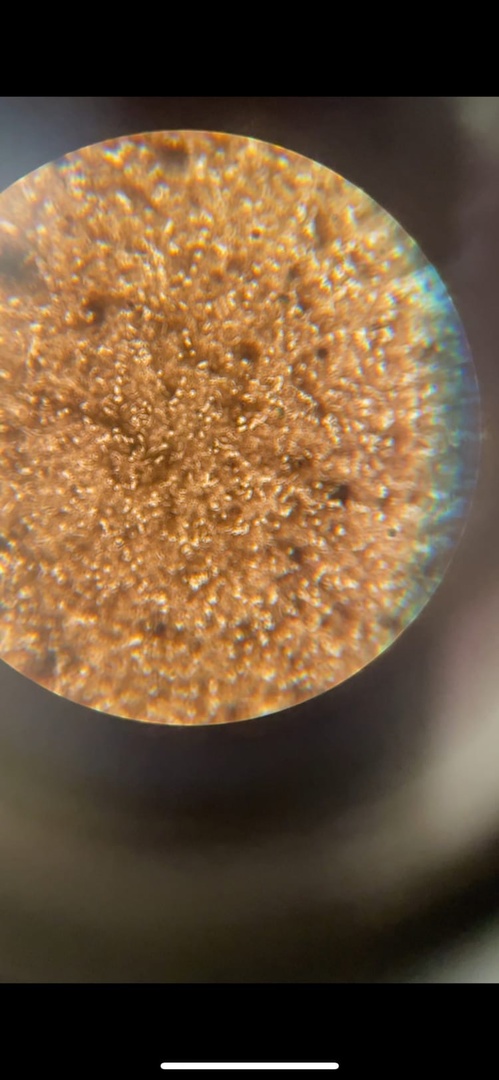
**

Рис 10. Окраска капсул по Бурри-Гинсу

*Изучение подвижности м/о методом раздавленной капли.*

К физ. р-ру добавила одну каплю метиленового синего и культуру, затем на покровное стекло нанесла каплю и покрыла покровным стеклом так, чтобы не образовалось пузырьков воздуха. И промикроскопировала в темном поле.

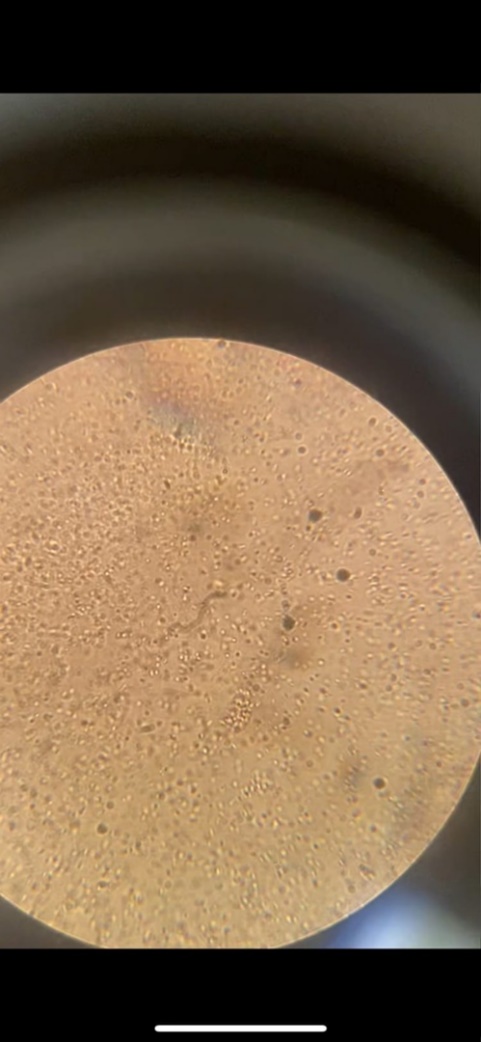
**

Рис 11. Метод раздавленной капли

**Вывод:** Изучила культуральные свойства колоний, в результате которых выявленаS-форма колоний (расм. в таблице 1), а также выявлены морфологические и тинкториальные свойства, обнаружены палочкив большом количестве, и бациллы, посеянные на скошенном МПА для выведения чистой культуры.

**Задание:**

1. Естественные питательные среды — это натуральный продукт животного или растительного происхождения.

Могут быть:

- Растительные (исходные продукты — соя, горох, картофель, морковь и т.п.).

- Животные (исходные продукты — мясо, рыба, яйца, молоко, животные ткани, желчь, сыворотка крови и т.п.).

- Смешанные (МПА, среда Левенштейна - Йенсена и т.п.).

2. Искусственные среды содержат переработанные естественные продукты (мясную воду, перевар), вещества, полученные из этих продуктов (пептон, дрожжевой и кукурузный экстракты) и различные добавки. Это самая большая и разнообразная по составу наиболее часто применяемая группа сред. Их готовят по определенным рецептам из различных настоев или отваров животного или растительного происхождения с добавлением неорганических солей, углеводов и азотистых веществ.

3. Синтетические среды (известного химического состава) состоят из химически чистых соединений в точно установленных концентрациях (с добавлением углеводов, солей, аминокислот, витаминов и т.п.). На основе этих сред, добавляя к ним естественные или искусственные среды, получают полусинтетические среды.

2- В лабораторных условиях микроорганизмы культивируются на питательных средах, поэтому питательная среда должна содержать все вещества, необходимые для их роста. Конструктивные и энергетические процессы у микроорганизмов разнообразны, поэтому разнообразны и их потребности в питательных веществах. Из этого следует, что универсальных сред, одинаково пригодных для роста всех микроорганизмов, не существует. Основными компонентами любой питательной среда для

культивирования микроорганизмов являются соединения углерода и азота.

3- По консистенции питательные среды бывают жидкие, полужидкие и твердые. Жидкие среды готовят на основе водных растворов каких-либо веществ, как правило, мясной воды. Для получении плотных сред к жидким добавляют уплотнители, чаще всего агар-агар. Он представляет собой полисахарид сложного состава, имеющий волокнистую структуру, получаемый из морских водорослей. Агар-агар плавится при температуре около 90 0С и затвердевает при температуре около 40 °С. Полужидкие среды имеют вязкую консистенцию благодаря добавлению к ним небольшого количества агар-агара (0,3-0,7 %). В плотных средах концентрация агар-агара составляет 1,5-2,0 %.

4- По происхождению питательные среды делят на естественные и искусственные. Естественные среды готовят из молока, мяса, яиц, картофеля, сыворотки крови человека, животных и др. продуктов. В практической бактериологии чаще используют искусственные питательные среды, представляющие собой сбалансированные смеси питательных веществ в концентрациях и сочетаниях, необходимых для роста и размножения микроорганизмов. В них в качестве универсального источника азота и углерода используют пептоны – продукты неполного расщепления белков с помощью пепсина или различные гидролизаты (рыбный, казеиновый, дрожжевой и др.).

5- Плотные – готовятся из жидких питательных сред, путем добавления желирующих веществ – агара или желатина (1,5–2,0%). Данные вещества при растворении в горячей воде формируют коллоидный раствор, дающий при охлаждении плотный гель (студень). Студеобразныесреды возможно расплавить при помощи нагревания. Плотные среды используют для выделения чистых культур микроорганизмов: в диагностических целях, для количественного учета микроорганизмов, определения протеолитической и антагонистической активности.

6- Сухие – выпускаются специализированными предприятиями, используются в микробиологических целях. Перед использованием в них добавляют воду и стерилизуют.

7- Углеводные среды применяют для дифференциации бактерий по способности ферментировать углеводные субстраты. При ферментации углеводов происходит образование смеси кислот (молочной, уксусной, углекислоты и др.), которые снижают значение pH. Конечными продуктами ферментации углеводов и спиртов в большинстве

случаев являются кислоты, спирты, альдегиды и газообразные вещества (H2 и

CO2). Для обнаружения ферментации углеводов в среды Гисса вводят индикатор

(индикатор Андреде, бромтимоловый синий и др.).

8- Автоклавирование (стерилизация текучим паром) включает обработку горячим паром (121 °С) под высоким давлением (1,2-1,5 атм); наиболее эффективно для стерилизации термостабильных жидкостей. Термоустойчивые споры микроорганизмов погибают в течение 15 мин. Обработка больших объёмов (более 500 мл) требует более длительной экспозиции.

9- Стерилизация текучим паром (дробная стерилизация). Данный способ применяют для стерилизации питательных сред, изменяющих свой состав и свойства под действием температур выше 100°С. Сущность дробной стерилизации состоит в том, что нагревание среды (или ее компонентов) проводят при 100 °С три раза по 30 мин трое суток подряд.

10- Пастериза́ция — процесс уничтожения вегетативных форм микроорганизмов (кроме термофильных) в жидких средах, пищевых продуктах путём однократного и непродолжительного их нагрева до температур ниже 100 °C,[1] обычно путём нагревания чаще всего жидких продуктов или веществ до 60 °C в течение 60 минут или при температуре 70—80 °C в течение 30 минут. Различают длительную (при температуре 63—65 °C в течение 30—40 минут), короткую (при температуре 82—85 °C в течение 0,5—1 минуты) и мгновенную пастеризацию (при температуре 92-98 °C в течение нескольких секунд).

11- Стерилизация фильтрованием Стерилизация фильтрованием через мембранные и глубинные фильт-ры, задерживающие микроорганизмы и их споры, используется для рас-творов веществ, нестабильных при термической или других видах стерилизации.

12- Мясо-пептонный бульон (МПБ). Для приготовления мясо-пептонных сред используют мясной бульон, который получают следующим образом: 500 г мелко изрубленного свежего мяса без костей, жира и сухожилий заливают в эмалированной кастрюле 1 л водопроводной воды, нагретой до 50°С, и оставляют настаиваться 12 ч при комнатной температуре или 1 ч при 50—55°С. Мясо отжимают, экстракт процеживают через марлю со слоем ваты, кипятят 30 мин для свертывания коллоидных белков и фильтруют дважды (первый раз через марлю с ватой, второй — через бумажный фильтр). Фильтрат доливают водой до 1 л, разливают в колбы, закрывают ватными пробками и стерилизуют при 120°С 20 мин (пробки колб закрывают сверху колпачками из бумаги). Ватные пробки должны быть плотными, так как они служат фильтром, препятствующим проникновению бактерий из воздуха после стерилизации.

Мясо-пептонныйагар (МПА). К 1 л МПБ добавляют 15— 20 г агара. Среду нагревают до растворения агара (температура его плавления — 100 °С, затвердевания — 40 °С), устанавливают слабощелочную реакцию среды 20%-ным раствором Na2CO3 и через воронку разливают в пробирки (приблизительно по 10 мл агара столбиком для последующего разлива по чашкам Петри и по 5 мл для получения скошенного агара — косяков).При разливе агара необходимо следить за тем, чтобы края пробирок оставались сухими, иначе пробки прилипнут к стеклу. Пробирки со средой стерилизуют в автоклаве при 120 °С 20 мин.

Мясо-пептонная желатина (МПЖ).В 1 л МПБ помешают 100—150 г желатины. Температура плавления желатины зависит от ее содержания в среде: в случае 10%-ной концентрации в среде она плавится при 24 °С; в случае 15%-ной — при 25 °С. В летнее время среды готовят, добавляя 15% желатины.После растворения желатины при осторожном нагревании устанавливают слабощелочную реакцию среды (как для МПБ и МПА), кипятят 5 мин, затем охлаждают до 40—50 °С. Взбитый, с небольшим количеством воды яичный белок вливают в охлажденную желатиновую среду, хорошо взбалтывают и снова нагревают. Среда после выпадения белков в осадок становится прозрачной. Ее фильтруют в горячем виде через бумажный фильтр, разливают в пробирки и стерилизуют в кипятильнике Коха текучим паром, прогревая среду 3 раза по 30 мин каждые 24 ч.

**День 3  
28.06.2022  
Изучение чистой культуры, окраска препарата по Граму, приготовление питательных сред для изучения биохимических свойств**

**Сахаролитические свойства –** способность расщеплять сахара и многоатомные спирты, с образованием кислоты и кислоты газа.  
**Протеолитические свойства** – способность расщеплять белки, полипептиды, жиры и липиды.  
**Гемолитические свойства –** способность разрушать эритроциты.

Я организовала свое рабочее место, где извлекла из термостата пробирки и начала окрашивать в них по Граму. Делала это для выявления чистой культуры, за счет микроскопирования.  
При микроскопировании были обнаружены Грам отрицательные(-) палочки красного цвета.

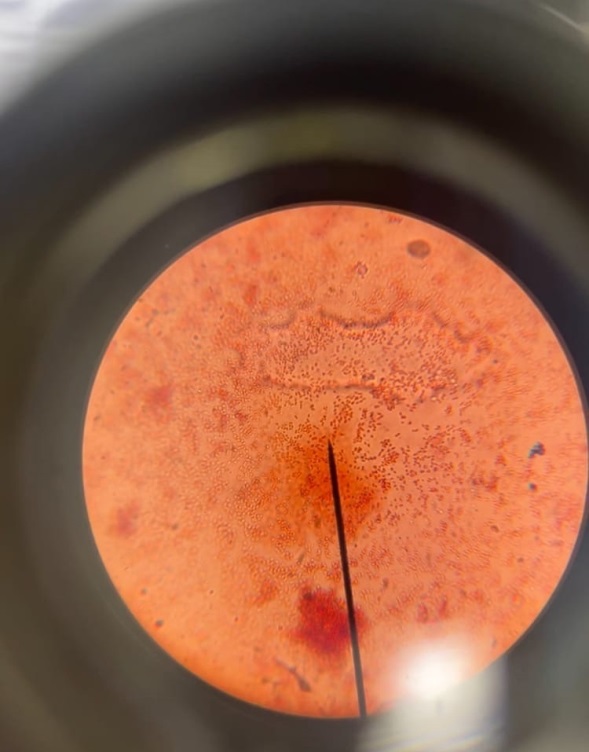
****

Рис 13. Грам(-) палочки, чистая культура на среде ЭНДО

Рис 12. Выросшая культура на скошенном МПА

Далее приготовили и разлили питательные среды по пробиркам.  
 1 среда – Клиглера  
*Для приготовления:* Взвесили 5,7г питательной среды и развели на 100мл дистиллированной воды.  
 Прокипятили.   
 Затем стерильно разлили и оставили до полного застывания.

2 среда – Маннит  
*Для приготовления:*Взвесили 1,7г питательной среды и развели на 100мл дистиллированной воды.   
Прокипятили.  
Затем стерильно разлили и оставили до полного застывания.

3 среда – сахароза  
*Для приготовления:*Взвесили 2,2г питательной среды и развели на 100мл дистиллированной воды.  
Прокипятили.   
Затем стерильно разлили и оставили до полного застывания.

После чего я взяла в работу чистую культуру и произвела посев. Убрала в термостат при t=37’.

****

Рис 14. Розлив среды Маннит

Рис 15. Приготовление среды сахароза

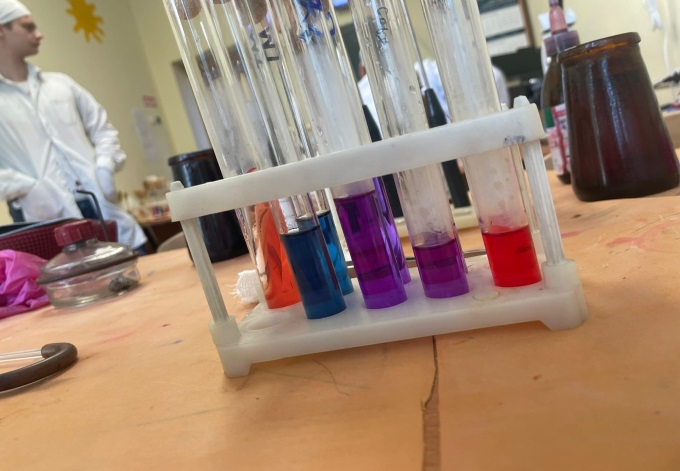
****

Рис 17. Посев чистой культуры на различные питательные среды

Рис 16. Розлив по пробиркам среды сахароза

**Вывод:** Изучила чистую культуру, окрасила препарат по Граму, приготовили питательные среды для изучения биохимических свойств

**Задание:**

**1. Приготовление фиксированного мазка из жидкой среды и из агаровой культуры**

***Этапы приготовления мазка:***Для работы необходимо иметь чистые и обезжиренные предметные стекла и покровные. Новые стекла кипятят 15-10 минут в 2-5% растворе соды или мыльной воде, споласкивают водой и помещают в слабую хлороводородную кислоту, затем тщательно помывают водой.

* Обезжиренное предметное стекло прожигают в пламени горелки и охлаждают.
* Зажигаем спиртовку, прокаливаем петлю
* Над пламенем спиртовки открываем пробирку с исследуемым материалом, прожигаем края пробирки
* Набираем каплю культуры петлей, закрываем над пламенем пробирку, ставим обратно в штатив
* Каплю культуры наносим на предметное стекло, распределяя равномерно параллельными движениями петли. Диаметр мазка должен составлять 1-1,5 см. Внимание! Мазок должен быть равномерно растертым, тонким и небольшим
* Стерилизуем петлю в пламени горелки
* Высушиваем предметное стекло или высоко над пламенем горелки, или просто на воздухе
* Фиксируем препарат, проводя трехкратно над пламенем спиртовки мазком вверх

**2. Окраска по Граму**

* Приготовить фиксированный мазок
* На мазок положить фильтровальную бумажку и налить на 1-2 капли генцианвиоллета и окрасить в течение 1 минуты
* Удалить бумагу, слить краситель и, не промывая мазок водой, налить раствор Люголя на 1 минуту
* Краску слить и на мазок капнуть на полминуты этилового спирта
* Промыть препарат водой
* Окрасить раствором сафранина в течение 2 минут
* Промыть водой, подсушить и промикроскопировать
* Грам(+) синие, Грам(-) красные

**3. Решите ситуационные задачи:**

1) Сухой порошок= 7,5г; дистил/вода= 250мл

2) Сухой порошок= 19,5г; дистил/вода= 300мл

3) Сухой порошок= 8,75г; дистил/вода= 250мл

**День 4  
29.06.2022  
Изучение выделенной культуры и биохимических свойств**

После того, как я достала из термостата посев воды с дачного участка микроорганизмов с питательными средами, было выявлено:  
*Среда Клиглера* из красного цвета стала желто - красная  *глюкоза +(КГ)  
лактоза -  
H2S–*

**

Рис 18. Среда Клиглера

*Среда Маннит+ (КГ)*из зеленого цвета стала желтая



Рис 19. Среда Маннит

*Мальтоза +(К)  
Сорбит +(КГ)  
Сахароза +(КГ)*

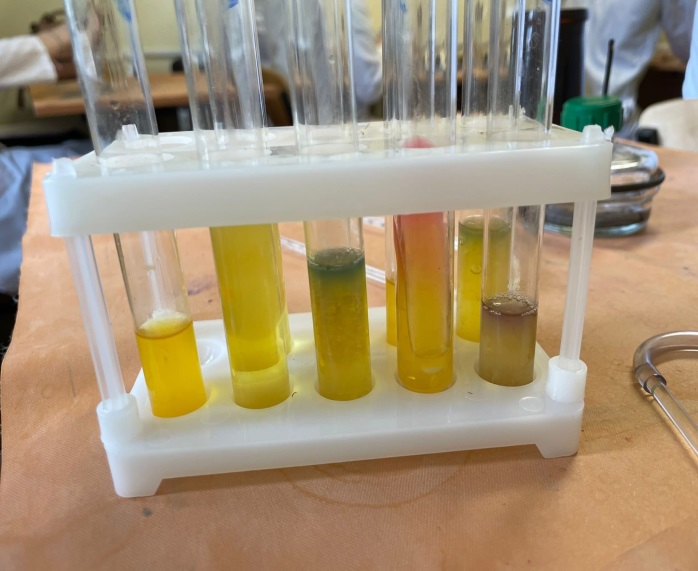
**

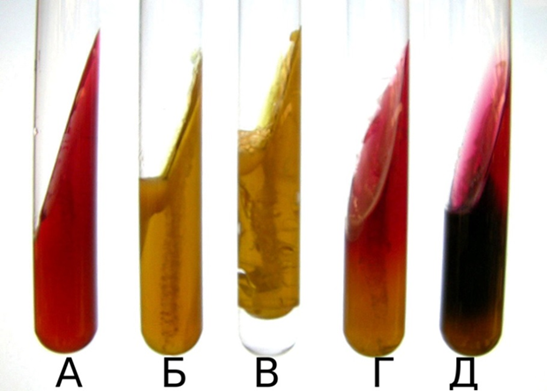
Рис 21. Биохимические свойства

Рис 20. Контроль

*Заключение:* такую воду употреблять нельзя

**Задания:**

1. **Посев произведен на двухсахарныйагар**



А Б В Г контроль

А – образование кислоты, газа  
Глюкоза-лактоза +(КГ)

Б – Глюкоза +(КГ), лактоза-

В – Лактоза-, глюкоза, сероводород+

Г – Глюкоза-, лактоза-  
Изменение цвета за счет ферментации углевода  
А,Б – биохимически активна, В – малоактивна, Г- не активна

1. **Посев произведен на цитратный агарСиммонса**

К – контроль

А Б К

А – Бромтимоловый синий, активна, биохимическая реакция образует цитрат  
Б –Бромтимоловый синий, не активна

Произошла биохимическая реакция, поэтому произошло изменение цвета

1. **Посев произведен на ацетатный агар**

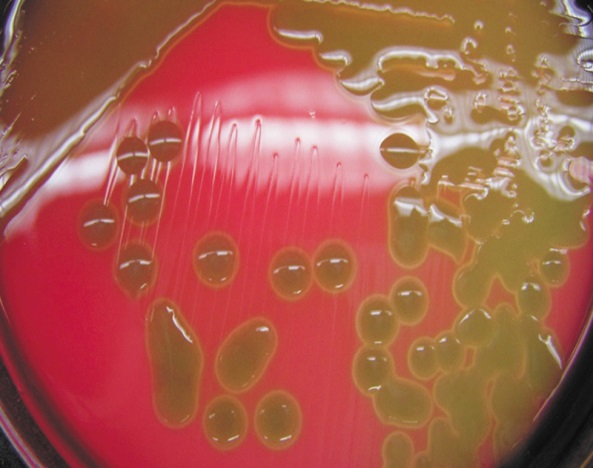


**А Б контроль**

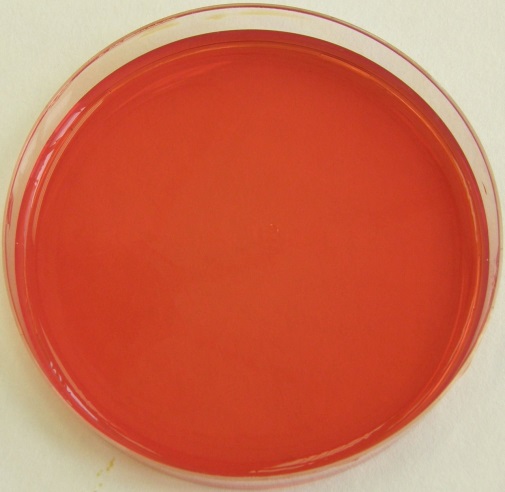
А – Не активна

Б – Активна, произошла биохимическая реакция, с образованием ацетата

1. **Гемолитическая активность:**



А Б



В контроль

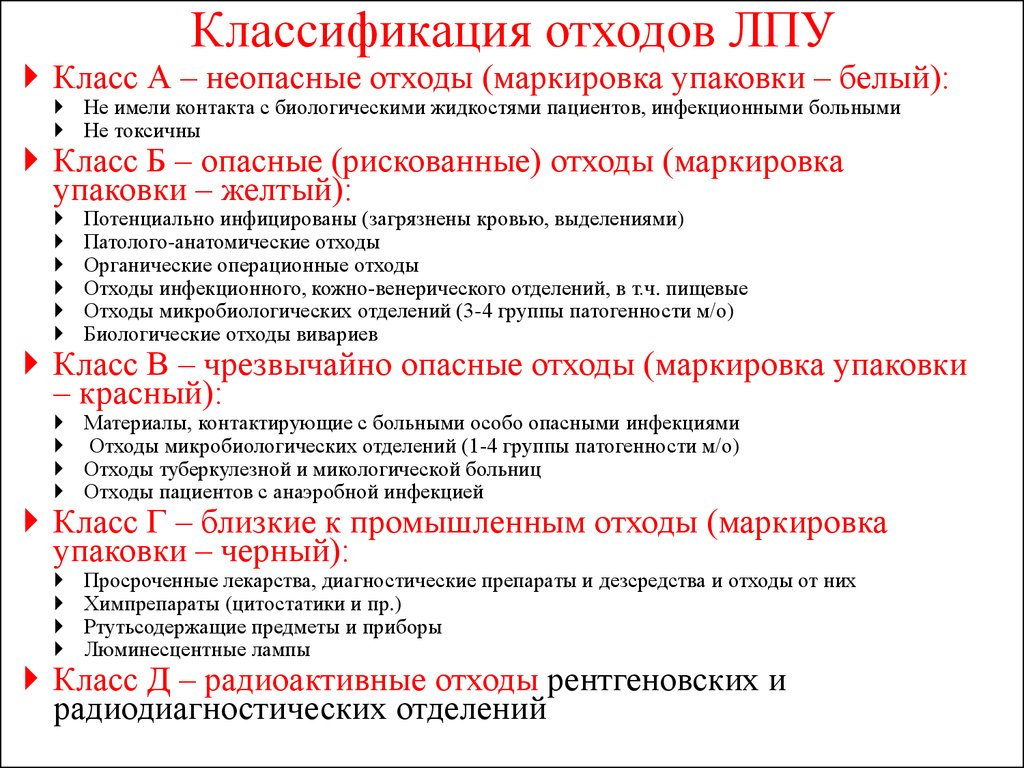
А – гемолиз-β (прозрачный, четкий)

Б – гемолиз-α (нечеткий)

В – без гемолиза

**Вывод:** При выделении поэтапной идентификации чистой культуры обнаружены БГКП очень биохимическиактивная.  
Использовались методы: микроскопирования, культуральный метод (бактериологический), биохимический, а также методики: окрашивание по Граму, Бурри-Гинсу, «раздавленная капля», посев шпателем и глубинный посев.

**День 5  
30.06.2022  
Утилизация отработанных материалов**

Утилизация отработанного материала проводится по требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».   
 Согласно классификации, медицинские отходы делятся на 5 классов: ****

*Стерилизация –*обработка объектов, при которой достигаетсяполное уничтожение всех микроорганизмов.   
 Существуют различные способы и методы стерилизации:  
1. Физический (воздействие высоких температур, УФ-лучей, использование бактериальных фильтров)  
2. Химический (использование различных дез средств, антисептиков)  
3. Биологический (применение антибиотиков)



Рис 22,23. Утилизация медицинских отходов

*Способы стерилизации с помощью высокой температуры*1. Фломбирование – представляет собой прокаливание на пламени спиртовки. С помощью этого метода можно простерилизовать игла и петли, пинцет и тд. Петлю или иглу поднести к пламени и держать пока она не покраснеет.  
2. Стерилизация паром под давлением (автоклавирование)   
При этой стерилизации происходит полное уничтожение спор, при t=120 градусов.  
3. Дробная стерилизация – повторное кипячение через 24 часа.  
4. Стерилизация сухим паром в сухожаровом шкафу   
t=160 градусов, длиться 2 часа.



Рис 24. Стерилизация в сухожаровом шкафу

*Дезинфекция –* уничтожение патогенных микроорганизмов в окружающей среде человека.

Есть механический, физический и химический способ дезинфекции

*Механический способ:* мытье рук с мылом и щеткой, влажная уборка помещений, стирка белья, проветривание помещений.  
*Физический способ:*кипячение, сжигание, обработка паром  
*Химический способ:*дезинфицирующие средства

*Приготовление пробок*

Пробка ватно-марлевая для пробирок – расходный материал, предназначенный для укупорки стерильных пробирок. Применяется в диагностических, исследовательских, аналитических лабораториях санитарного или медицинского назначения при проведении микробиологических исследований и контроля органических сред.

Обработка пробки может проводиться в сухожаровом шкафу при соблюдении температурного диапазона +169 - +179 градусов не менее 10 раз, и не меньше 40 раз в автоклаве при t= +119 - +121 градусов. При этом качественные свойства расходного материала сохраняются.   
 Пробки должны плотно входить в пробирку или колбу на 2-3 см, или на 2/3 своей длины. При открывании хорошо закрытой посуды раздается характерный хлопок.

*Ход работы:*1. Чтобы вата не скользила и хорошо скручивалась, поверхность стола смачиваем водой  
2. Взяв кусок ваты, скручиваем его в валик, сильно прижимая  
3. Когда вата была намотана до нужного диаметра, складываем кусок марли в два слоя и им обматываем ватный валик  
4. Плотно утрамбовав вату в марле, завязываем в конце ниткой и обрезаем излишки марли

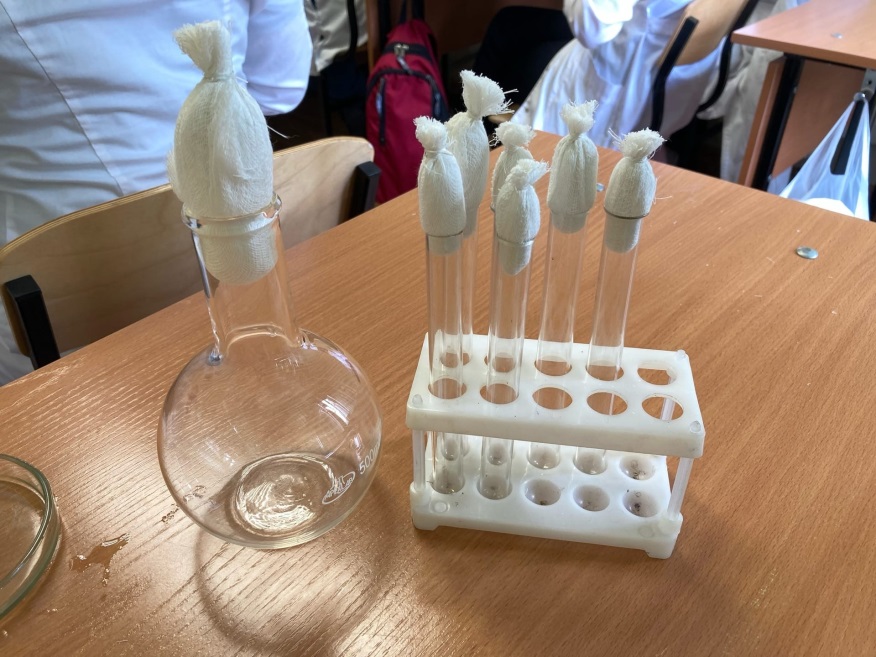


Рис 25. Готовые ватно-марлевые пробки

**Вывод**: В микробиологической лаборатории, которая находится в Фармацевтическом колледже утилизация отходов класса Б происходит погружением стеклянной посуды в средство 0,2% «Люир Хлор».

**Общий вывод:** Таким образом, проведя все этапы выявления и идентификации чистой культуры по дням можно сделать вывод, что в данном образце воды обнаружены бактерии группы кишечной палочки очень биохимически активны.

**Задания**

### Задача № 1 1. Отходы от пациентов с анаэробной инфекцией – В класс 2. Паталогоанатомические отходы – Б класс 3. Строительный мусор – Г класс 4. Отходы фтизиатрических больниц – В класс

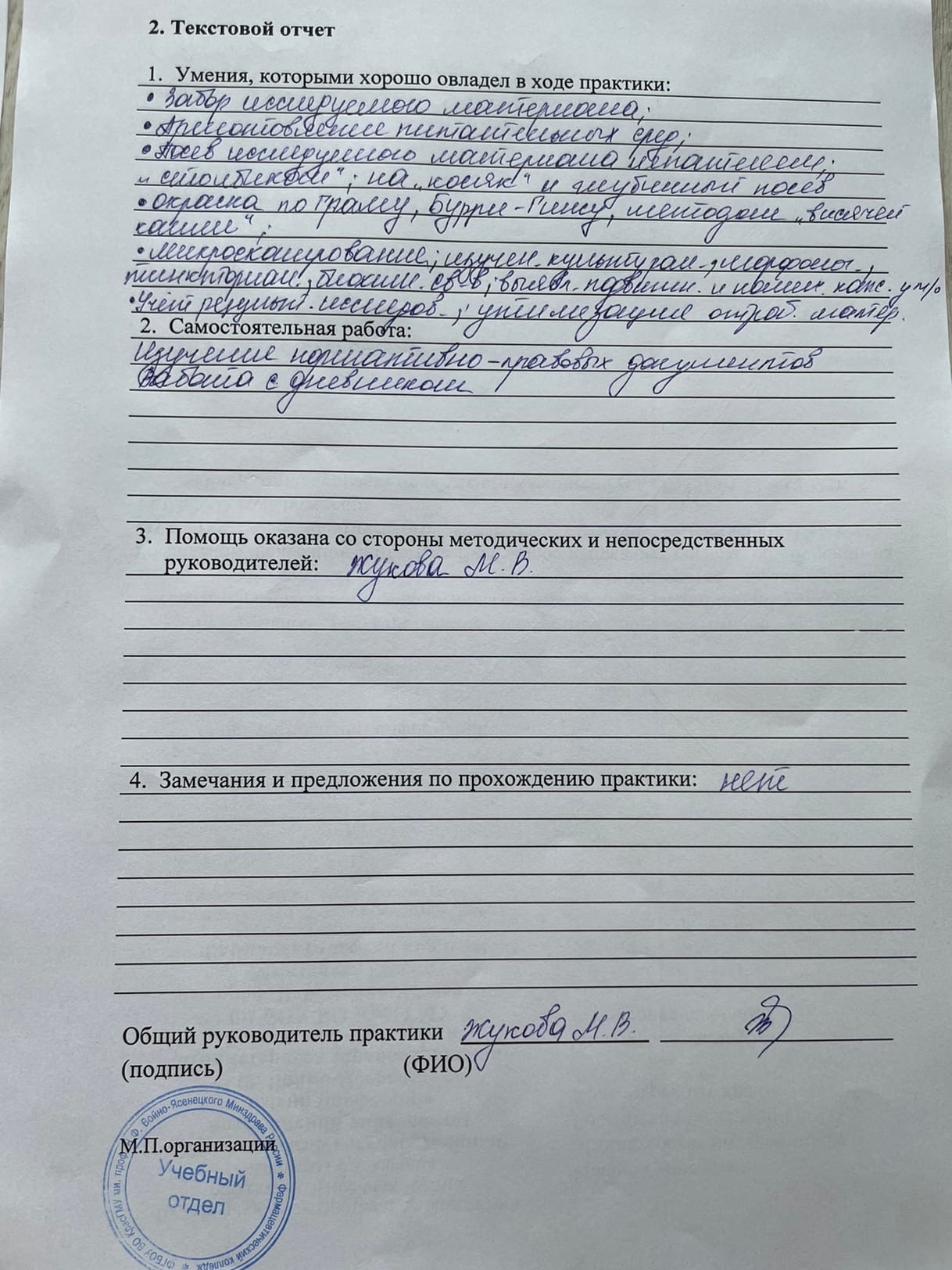
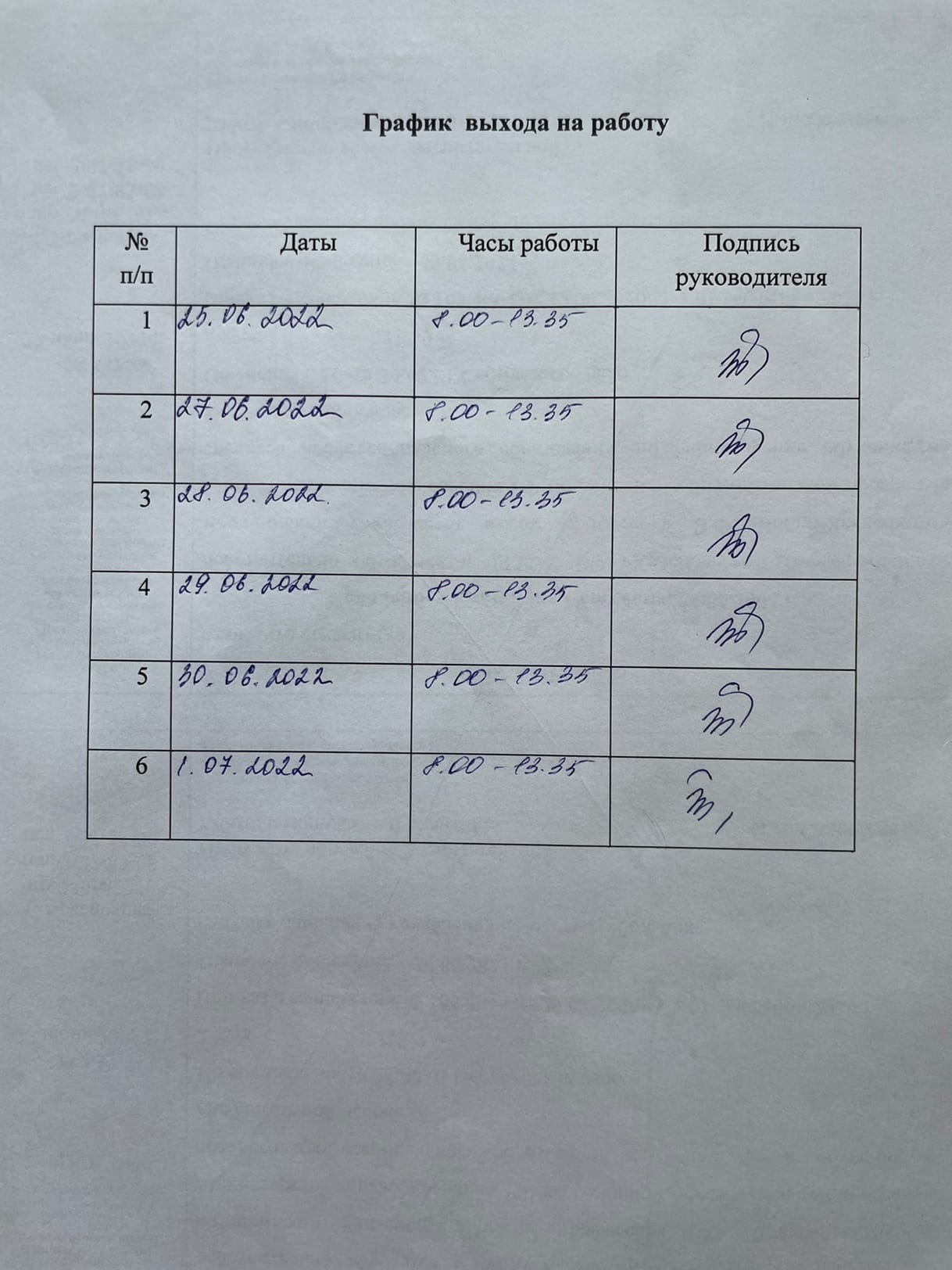
### Задача № 2

1. Приборы, имеющие резиновые части – автоклав 0,5 или 1,1 А
2. Бактериальные (платиновые) петли – пламя спиртовки
3. Чашки Петри, пипетки, пробирки – сухожаровой шкаф, печь Пастера +160-200 градусов
4. Физиологический раствор – текучий пар
5. Хирургический инструмент – тепловая обработка горячим паром вприменением влаги (автоклав)

**Задача № 3**

1. Медицинские халаты – пар под давлением в автоклаве
2. Среды, содержащие углеводы, мочевину – автоклав 0,5А
3. Среды, содержащие сыворотку крови, витамины – тиндализация на водяной бане 60-65 градусов в течение 5 дней или 70-80 градусов в течение 3 дней
4. Питательные среды с посевами патогенных микроорганизмов - автоклав
5. Простые питательные среды – автоклав

**День 6  
01.07.2022  
Дифференцированный зачет**

******

ПЕРЕЧЕНЬ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАДАНИЙ,

ВЫНОСИМЫХ НА ЗАЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ

1. Приготовление фиксированных мазков
2. Окраска препарата по Граму, спор, капсул
3. Приготовление нативного препарата, для определения подвижности
4. Приготовление питательных сред.
5. Посев на ЖПС, ППС.
6. Подготовка посуды к стерилизации.
7. Проведение дезинфекции лабораторного инструментария, посуды.

**ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследования. | Количество исследований по дням практики. | | | | | | Итог  итого |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |  |
| изучение нормативных документов | 5 |  |  |  | 1 |  | 6 |
| прием, маркировка, регистрация биоматериала. | 4 |  |  |  |  |  | 4 |
| Организация рабочего места | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |  | 5 |
| Приготовление простых сред. | 100мл | 500мл |  |  |  |  | 600 |
| Приготовление сложныхпитательных сред. | 150 |  |  |  |  |  | 150 |
| Посев на питательные среды | 12 | 30 | 12 |  |  |  | 54 |
| Изучение культуральных свойств. |  | 30 |  |  |  |  | 30 |
| Изучение морфологических свойств |  | 30 | 24 |  |  |  | 54 |
| Определение подвижности микрорганизмов |  | 10 |  |  |  |  | 10 |
| Определение спор |  |  | 12 |  |  |  | 12 |
| Изучение биохимических свойств(сахаролитических) |  |  |  | 12 |  |  | 12 |
| Изучение биохимических свойств(протеолитических) |  |  |  | 12 |  |  | 12 |
| Утилизация отработанного материала. |  | 12 | 12 | 12 | 12 |  | 48 |

**ОТЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Удодова Варвара Алексеевна

Группы 121 специальности Лабораторная диагностика

Проходившейучебную практику

с 25.06 по 1.07 2022 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

1. **Цифровой отчет**

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

Список литературы:

1.Санитарные правила СП 1.3. 2322-08 (с изменениями от 02.06.2009 г.) Безопасность работы с микроорганизмами III- IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней.

2.Санитарные правила СП 1.3.3118-13 Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности).

3.Санитарные правила СП 1.3.1318-03 Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I-IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами.

4.Санитарные правила СП 1.2.036-95 Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности.

5.СанПиН 2.1.3.2630-10 Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность

6.СП 1.1.1058-01 Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий (с изменениями и дополнениями).

7.СанПиН 3.2.3215-14 Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации.

8.СП 3.1./3.2.3146-13 Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных болезней.

9.СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий".

10.Черкес Ф.К - Микробиология