**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ**

**ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**«КРАСНОЯРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ПРОФЕССОРА В.Ф. ВОЙНО-ЯСЕНЕЦКОГО»**

**МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ рОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ**

### Дневник учебной практики

**МДК 03.01. «Теория и практика лабораторных биохимических исследований»**

Полякова Ева Владиславовна

ФИО

Место прохождения практики Фармацевтический колледж

с «29» июня 2020г. по «4» июля 2020 г.

Руководители практики:

Методический – Ф.И.О. (его должность) Лихошерстова Е.В.

Красноярск, 2020

## **Содержание**

## 1. Цели и задачи практики …………………………………………………..3

## 2. Знания, умения, практический опыт, которыми должен овладеть студент после прохождения практики…………………………..……………………4

## 3. Тематический план…………………………………………………………5

4. График прохождения практики…………………………………………….6

6. Содержание и объем проведенной работы……………………………….7

7. Манипуляционный лист ……………………………………………………8

8. Отчет (цифровой, текстовой)……………………………………………….30

**Цели и задачи практики**

1. Закрепление в производственных условиях профессиональных умений и навыков по методам биохимических исследований.
2. Расширение и углубление теоретических знаний и практических умений по методам биохимических 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 биохимических 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 определения веществ согласно алгоритмам
10. Строить калибровочные графики.

**По окончании практики студент должен**

**представить в колледж следующие документы:**

1. Дневник с оценкой за практику, заверенный подписью общего руководителя и печатью ЛПУ.
2. Текстовый отчет по практике (положительные и отрицательные стороны практики, предложения по улучшению подготовки в колледже, организации и проведению практики).
3. Выполненную самостоятельную работу.

**В результате производственной практики обучающийся должен:**

**Приобрести практический опыт:**

- определения показателей белкового, липидного, углеводного и минерального обменов, активности ферментов, белков острой фазы, показателей гемостаза

**Освоить умения:**

- готовить материал к биохимическим исследованиям;

- определять биохимические показатели крови, мочи, ликвора;

- работать на биохимических анализаторах;

- вести учетно-отчетную документацию;

- принимать, регистрировать, отбирать клинический материал;

**Знать:**

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

- особенности подготовки пациента к биохимическим лабораторным исследованиям;

- основные методы и диагностическое значение биохимических исследований крови, мочи, ликвора и т.д.;

- основы гомеостаза; биохимические механизмы сохранения гомеостаза;

- нормальную физиологию обмена белков, углеводов, липидов, ферментов, гормонов, водно-минерального, кислотно-основного состояния; причины и виды патологии обменных процессов;

**Тематический план учебной практики**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Наименование разделов и тем практики** | **Количество** | |
| дней | часов |
| 1. | Ознакомление с правилами работы в КДЛ:  - ТБ при работе в биохимической лаборатории.  - Правила безопасной работы с электроприборами и нагревательными приборами.  - Дезинфекция. Проведение дезинфекции лабораторного инструментария, посуды, оборудования.  - Организация рабочего места для проведения клинико-биохимических исследований | 1 | 6 |
| 2. | Работа с аппаратурой и приборами в КДЛ (термостат, центрифуга, ФЭК, сушильный шкаф). Работа с мерной посудой  Правила работы с дозаторами фиксированного и переменного объема. | 1 | 6 |
| 3. | Приготовление растворов заданной концентрации (точной и приблизительной) | 1 | 6 |
| 4 | Построение калибровочного графика | 1 | 6 |
| 5 | Определение витаминов и  гормонов в биологических жидкостях | 1 | 6 |
| 6 | Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ. Качественные реакции на органические вещества  Зачет по итогам практики. | 0.5  0.5 | 3  3 |
| **Итого** | | **6** | **36** |

**График выхода на практику**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Дата | Часы  работы | Оценка | Подпись  руководителя |
| 1 | 29.06.2020 | 6 |  |  |
| 2 | 30.06.2020 | 6 |  |  |
| 3 | 1.07.2020 | 6 |  |  |
| 4 | 2.07.2020 | 6 |  |  |
| 5 | 3.07.2020 | 6 |  |  |
| 6 | 4.07.2020 | 6 |  |  |

**ЛИСТ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Количество исследований по дням** | | | | | |
| **Виды исследований** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **итого** |
| Организация рабочего места |  |  |  | 1 | 1 | 2 |
| Пипетирование |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Приготовление растворов |  |  | 15 |  |  | 15 |
| Построение калибровочных графиков |  |  |  | 6 |  | 6 |
| Титрование |  |  |  | 1 |  | 1 |
| Дезинфекция оборудования |  |  |  | 1 | 1 | 2 |
| Утилизация отработанного материала |  |  |  | 1 |  | 1 |

|  |
| --- |
| **Учебная практика по теме: «Химия биоорганических соединений»** |
| **Виды работ:** |
| **День 1. Ознакомление с правилами работы в КДЛ:**   * изучение нормативных документов, регламентирующие санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ: * изучение правил техники безопасности в КДЛ; * дезинфекция и утилизация отработанного материала   - организация рабочего места для биохимического исследования;  **День 2. Работа с аппаратурой и приборами КДЛ**  - изучение инструкции при работе с центрифугой, ФЭКом, термостатом, сушильным шкафом;  - работа с термостатом  - работа с сушильным шкафом  - работа с центрифугой  - работа с ФЭКом  - работа с градуированными пипетками  - работа с мерными цилиндрами, колбами  - работа с дозаторами фиксированного и переменного объема  **День 3. Приготовление растворов заданной концентрации**  - приготовление растворов приблизительной концентрации из навески;  - приготовление растворов точной концентрации из навески;  - приготовление растворов из фиксаналов;  - приготовление растворов методом разбавления  **День 4. Построение калибровочных графиков.**  - приготовление стандартных растворов  - построение калибровочных графиков  - работа на ФЭКе  **День 5. Определение витаминов в биологической жидкости**  - исследовательская работа  - определение витамина С в моче титриметрическим методом.  - утилизация отработанного материала, дезинфекция и стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;  **День 6. Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ.**  - Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ.  - качественные реакции на органические вещества  - зачет |

ПЕРЕЧЕНЬ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАДАНИЙ,

ВЫНОСИМЫХ НА ДИФЗАЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ

**Теория и практика лабораторных биохимических исследований**

1. Центрифугирование образца. Отделение осадка от надосадочной жидкости
2. Фотометрирование образца.
3. Построение калибровочного графика.
4. Выбор дозатора, установление необходимого объема, работа дозатором.
5. Приготовление раствора приблизительной концентрации из навески
6. Приготовление раствора приблизительной концентрации разбавлением
7. Приготовление раствора точной концентрации из навески
8. Приготовление раствора точной концентрации разбавлением
9. Приготовление раствора из фиксанала.
10. Проведение титриметрического метода исследования.

11. Проведение дезинфекции лабораторного инструментария, посуды.

**День 1**

**Тема: Техника безопасности при работе в КДЛ**

**Изучение нормативных документов, регламентирующих санитарно-противоэпидемический режим в КДЛ:**

- Приказ МЗ России № 380 от 25.12.1997 г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»;

- Приказ МЗ России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях Российской Федерации»

- СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

**Основные правила работы в КДЛ**

Медицинскому персоналу КДЛ следует избегать контактов кожи и слизистых оболочек с кровью и другими биологическими жидкостями, для чего необходимо:

1. Работать в медицинских халатах, шапочках, сменной обуви, а при угрозе забрызгивания кровью или другими биологическими жидкостями - в масках, очках, клеенчатом фартуке.

2. Работать с исследуемым материалом в резиновых перчатках, все повреждения кожи на руках должны быть закрыты лейкопластырем или напальчником. Избегать уколов и порезов.

3. Проводить разборку, мойку, прополаскивание лабораторного инструментария, посуды после предварительной дезинфекции в резиновых перчатках.

4. В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биологическими жидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 мин тампоном, обильно смоченным 70% спиртом, вымыть под проточной водой с мылом и вытереть индивидуальным тампоном. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина, 6% раствором перекиси водорода.

При подозрении на попадание крови на слизистые оболочки их немедленно обрабатывают струей воды, 1% раствором протаргола; рот и горло прополаскивают 70% спиртом, или 1% раствором борной кислоты, или 0,05% раствором перманганата калия.

5. Запрещается есть, пить, курить и пользоваться косметикой на рабочем месте.

6. Запрещается пипетирование крови ртом; следует использовать автоматические пипетки, а при их отсутствии - резиновые груши.

7. Поверхность рабочих столов в конце каждого рабочего дня подвергается дезинфекции, а в случае загрязнения биологическим материалом - немедленно.

**Дезинфекция и утилизация отработанного материала**

Все отходы деятельности лаборатории по степени эпидемиологической и токсикологической опасности подразделяются на следующие классы (СанПиН 2.1.7.2527-09, СанПин 2.1.7.728-99):

- класс А (неопасные) – отходы, не имеющие контакта с зараженными или условно зараженными ПБА I-IV групп патогенности (различная макулатура, упаковочный материал, негодная мебель, строительный мусор и др.);

- класс Б (опасные) – биологические отходы вивариев, иммуноклиник, мусор из помещений лаборатории, где не проводится работа с живыми ПБА I-IV групп патогенности, стеклянная лабораторная посуда из препараторских, стерильные отработанные ватно-марлевые материалы, бумажная макулатура из письменных комнат и др.;

- класс В (чрезвычайно опасные) – медицинские отходы из лабораторий, работающих с ПБА I-IV групп патогенности: отработанные посевы, остатки диагностического материала (сыворотки, сгустки крови, трупный материал и др.), вскрытые биопробные животные, остатки их корма, подстилочный материал от экспериментальных животных, пипетки, шприцы, тест-контроли работы автоклавов, ампулы из-под лиофилизированных культур, ватно-марлевый материал, макулатура из письменных комнат и другой отработанный материал, зараженный или подозрительный на зараженность бактериальными и вирус содержащими ПБА;

- класс Г – просроченные медицинские и иммунобиологические препараты (МИБП), питательные среды с истекшим сроком годности, химические реактивы, ртутьсодержащие предметы, приборы, оборудование.

**ТРЕБОВАНИЯ К ОРГАНИЗАЦИИ РАБОЧЕГО МЕСТА.**

1. Лаборатория должна быть оснащена современной лабораторной мебелью, вытяжными шкафами. Для реактивов выделяют отдельные полки и шкафы.

2. Поверхность производственных столов для работы с биологическим материалом должна быть из водонепроницаемого, кислото-щёлочеустойчивого и индифферентного к действию дезинфектантов материала. Лабораторный стол следует содержать в порядке и чистоте.

3. Рабочее место должно быть хорошо освещено: недалеко от окон и иметь осветительные лампы.

4. Рабочий стол лаборатории должен быть приспособлен к условиям работы, оборудован водопроводными кранами и водостоком.

Очень важно рационализировать свое рабочее место. Нередко небольшие количества жидкости содержатся в больших бутылях, что вызывает не только загромождение стола, но и создает неудобства в работе; из большой бутыли выливать жидкость значительно труднее, чем из малой, и гораздо легче разлить. Поэтому всегда небольшие количества жидкости нужно хранить в небольших сосудах. Далее, у многих бывает стремление собрать у себя максимальное количество химической посуды, что неизбежно приводит к ее бою. Около себя нужно иметь только самое необходимое, не создавая лишних запасов.

Нужно приучить себя к аккуратному обращению с химической посудой. Грязную химическую посуду следует мыть тотчас же после окончания работы, а не оставлять до того момента, когда она снова будет необходима.

Работа в лаборатории требует тишины. Всякий шум, громкие разговоры, не относящиеся к делу, отвлекают внимание работающего и могут привести к ошибкам, особенно при расчетах. Поэтому всегда следует требовать, чтобы в лаборатории было тихо. Каждый работающий в лаборатории должен иметь халат; он предохраняет от порчи и загрязнения одежду. Там, где работа связана с возможностью загрязнения, лучше иметь темные халаты, а где работа чистая, например, в аналитических лабораториях, рекомендуется иметь белые халаты.

В лабораторной практике чрезвычайно важным условием является чистота. Случается, что неряшливость работающего портит опыт или анализ потому, что грязь со стола попадает в посуду, применяемую в работе. Поэтому необходимо быть требовательным к себе и к окружающим, следя, чтобы в лаборатории было чисто.

Нужно заботиться также о чистоте склянок с реактивами, на наружных стенках которых оседают соли аммония, всегда присутствующие в воздухе лабораторных помещений. Склянки, особенно их горла, следует обтирать чистой влажной тряпкой.

Все химические стаканы, колбы, чашки и т. л. при работе должны быть прикрыты часовым стеклом или чистой бумагой, чтобы предотвратить попадание в них пыли или каких-либо загрязнений. Совершенно недопустимо брать какую-либо посуду, приборы, термометры, и т. д. из чужой собранной установки, так как это может привести к порче работы товарища.

Около рабочих столов и водопроводных раковин обязательно должны быть глиняные банки ёмкостью 10—15 л для сливания ненужных растворов, реактивов и т. д., а также корзины для битого стекла, бумаги и прочего сухого мусора.

Кроме рабочих столов, в лабораториях должны быть письменный стол, где хранятся все тетради и записи, и, при необходимости, титровальный стол. Около рабочих столов должны быть высокие табуреты или стулья.

Важно рационально и правильно использовать рабочее время. Если определение или опыт почему-либо задерживаются, следует начать другое определение или подготовку к другому опыту. Но рационально использовать время не значит спешить, так как спешка в конечном итоге может нередко привести к еще большей потере времени. Особенно вредна спешка при аналитических работах. Нужно принять за правило: если сделана какая-нибудь ошибка или потеряна часть исследуемого вещества, работу следует немедленно прекратить и начать ее снова.

Необходимо следить, чтобы лаборатория всегда была в порядке. Уходя из лаборатории, надо убедиться, что все краны закрыты; все моторы и электронагревательные приборы выключены; дверцы вытяжных шкафов опущены; стол чист и убран; все дорогие приборы и аппараты закрыты или спрятаны; никаких огнеопасных веществ на столах нет. Надо проверить, на месте ли противопожарные средства, закрыть краны, выключить рубильники от подводок к приборам, выключить свет и тогда только оставить лабораторию.

**День 2**

**Тема: Работа с аппаратурой и приборами КДЛ**

- изучение инструкции при работе с центрифугой, ФЭКом, термостатом,

сушильным шкафом;

- работа с термостатом

- работа с сушильным шкафом

- работа с центрифугой

- работа с ФЭКом

- работа с градуирированными пипетками

- работа с мерными цилиндрами, колбами

- работа с дозаторами фиксированного и переменного объема

**Правила и последовательность работы на приборе ФЭК**

1)Присоединить колориметр к сети;

2)Включить тумблер «Сеть»;

3)Открыть крышку кюветного отделения;

4)Выдержать колориметр во включенном состоянии 15 мин;

5)Нажать клавишу «Ш» (0), измерить нулевой отсчет;

6)Установить в кюветное отделение кюветы с контрольным раствором (в дальнее гнездо кюветодержателя) и исследуемый раствор (в ближнее гнездо);

7)Установить необходимый светофильтр и соответствующий фотоприемник;

8)Ручку кюветодержателя установить в правое положение;

9)Закрыть крышку кюветного отделения, нажать клавишу «К» (1);

10)Ручку кюветодержателя установить в правое положение;

11)Нажать клавишу «Д» (5). Отсчет на цифровом табло справа от мигающей запятой соответствует оптической плотности исследуемого раствора.

**Правила и последовательность работы с термостатом**

**Алгоритм работы:**

1. Термостат включают в сеть поворотом тумблера в положении «Сеть» (при этом загорается правая сигнальная лампочка – нагреватель включен);
2. Выставляют нужную температуру;
3. По движении заданной температуры загорается левая лампочка (нагреватель отключен), а правая выключается;
4. Если надо, включают кнопку «ускоренный разогрев», при этом загораются обе лампочки.

**Правила работы:**

1. Не включать термостат без заземления;
2. Запрещается помещать в камеру термостата материалы, воспламеняющиеся при температуре термостатирования;
3. При работе на аппарате необходимо стоять на сухом полу и резиновом коврике;
4. Не прикасаться к приборам и розеткам мокрыми руками;
5. Не снимать кожух с включенного в сеть аппарата;
6. Запрещается открывать термостат во время работы;
7. Исследуемый материал помещают в термостат в стеклянной или пластиковой посуде;
8. Запрещается помещать посуду на дно термостата.

**Правила и последовательность работы с центрифугой**

**Алгоритм работы:**

1. Включить прибор в сеть;
2. Нажать кнопку «Сеть», открыть крышку;
3. Составить пробирки, в соответствии с правилом;
4. Закрыть крышку;
5. Задать время и скорость вращения ротора (скорость от 200 об/мин до 3000 об/мин);
6. Нажать кнопку «Старт»
7. Открыть крышку можно после полной остановки.

**Правила работы:**

1. Центрифуга должна стоять на устойчивом, тяжелом столе;
2. Во время центрифугирования крышка центрифуги должна быть плотно закрыта;
3. Центрифугировать можно только четное число пробирок, с равным количеством по весу вещества, поставленных одни против другой (если число пробирок нечетное ставят одну пробирку с дистиллированной водой в том же объеме, что и остальные);
4. После выключения центрифуги нужно подождать, пока не закончится вращение, а затем уже открывать крышку.

**Правила работы с сушильным шкафом**

**Алгоритм работы:**

1. Перед началом эксплуатации сушильного шкафа необходимо произвести его сушку (нагревают шкаф до 149-200°C и выдерживают 1-2 часа);
2. Установить загрузку на полки рабочей камеры, для равномерного нагрева необходимо, чтобы объем садки был не более 70 % от объема рабочего пространства;
3. Плотно закрыть дверцу;
4. Установить указатель терморегулятора шкафа на нужную температуру;
5. Перевести терморегулятор на положение 1;
6. Включить нагреватели сушильного шкафа при помощи универсального переключателя.

**Правила работы:**

1) Проверить заземление;

2) Проверить исправность токоведущих частей;

3) Загрузку шкафа производить при температуре не выше 40-50°C;

4) Загружать, выгружать шкаф во время работы шкафа запрещается;

5) Запрещается помещать в шкаф воспламеняющиеся и горючие материалы;

6) Выгрузку шкафа производить при температуре не выше 40-60°C.

**Правила работы с дозаторами переменного объема**

1. Установить требуемый объем жидкости с помощью операционной кнопки;
2. Надеть наконечник и смочить его перед дозированием 3-5 раз жидкостью, которую будут отбирать;
3. Для наполнения наконечника нажать на кнопку в верхней части дозатора до первого упора;
4. Опустить наконечник дозатора в раствор и медленно отпустить кнопку.
5. Вытолкнуть раствор из наконечника дозатора в пробирку путем нажатия операционной кнопки до упора большим пальцем;
6. Снять наконечник нажатием большого пальца на удалитель наконечника;
7. По окончанию работы дозатор установить в штатив.

**Работа с градуирированными пипетками**

1. На горлышко пипетки насаживают резиновую грушу, сжимают её до должного удаления воздуха. Затем пипетку помещают в сосуд с отбираемым раствором (как можно глубже, вплоть до касания носиком пипетки дна сосуда), отпускают грушу и ждут пока уровень жидкости в пипетке не поднимется на 3-4 см выше верхней нулевой отметки.

2. Снимают грушу. Быстро закрывают верхнюю часть пипетки (или её горлышко) указательным пальцем и, удерживая саму пипетку большим и средним пальцами, быстро достают её из сосуда с раствором.

3. Пипетку переносят в другой сосуд (чаще всего в колбу для титрования) и, ослабив нажим указательного пальца, дают из неё вытечь нужному объёму жидкости.

4. Окончив работу промыть пипетку дистиллированной водой.

**Работа с мерными цилиндрами, колбами**

**Правила работы с мерными колбами.**

При приготовлении раствора соответствующую навеску вещества вносят в мерную колбу, которую предварительно заполняют на % или растворителем. Содержимое колбы тщательно перемешивают до полного растворения вещества и доводят уровень раствора водой до метки. Если при растворении вещества выделяется тепло, необходимо выждать, пока раствор охладится и только тогда доводят его до метки.  После взвешивания колбу вторично помещают в стакан с горячей водой и нагревают в течение 5—7 мин за это время находящаяся в колбе жидкость испаряется. Затем вносят новую порцию того же вещества и повторяют определение (испарение, запись температуры, охлаждение, взвешивание). Данные 1-го и 2-го опытов записывают в тетрадь, после чего подсчитывают молекулярную массу вещества по данным каждого опыта отдельно. Необходимый для расчета объем колбы легко найти, заполнив колбу по окончании работы водой до уровня пробки и перелив затем эту воду в мерный цилиндр. При работе с мерной колбой можно поступить иначе объем колбы до черты (метки) известен, а объем горла колбы от метки до пробки подсчитывают как объем цилиндра (с точностью до 1 мл), измерив диаметр и высоту этой части горла линейкой или полоской миллиметровой бумаги.

**Правила работы с мерными цилиндрами.**

Мерные цилиндры– стеклянные и пластиковые толстостенные сосуды с нанесенными на внешней стенке делениями, указывающими объем в см3 (5 – 2000 см3). Чтобы отмерить нужный объем жидкости, ее наливают в мерный цилиндр до тех пор, пока нижний край мениска не достигнет уровня нужного деления. Иногда встречаются цилиндры, снабженные притертыми пробками. Обычно их применяют только при специальных работах.

**День 3**

**Тема: Приготовление растворов технических и аналитических концентраций**

**Приготовление растворов приблизительной концентрации из навески**

1. Приготовить посуду: химический стакан, стеклянная палочка, аптечные весы, разновес, мерный цилиндр, склянка.

2. Взвешиваем вещество на левой чаше весов.

3. Вещество помещаем в химический стакан.

4. Берем растворитель и отмериваем его в цилиндре.

5. Наливаем растворитель в вещество до половины.

6. Перемешиваем вещество стеклянной палочкой и доливаем оставшийся растворитель.

Навеску взвешивают на технохимических или аптечных весах. Рассчитанную массу записывают до сотых.

**Приготовление растворов точной концентрации из навески**

Точную навеску делают на аналитических весах в бюксе или на часовом стекле. Через сухую воронку навеску очень аккуратно всыпают в чистую мерную колбу. Остатки вещества тщательно смывают через воронку в колбу. Обмывают внутренние стенки воронки. Объем жидкости в колбе не должен превышать половины. Колбу закрывают пробкой и вращательными движениями перемешивают содержимое до полного растворения навески. После этого доливают воду до метки на шейке колбы

**Приготовление растворов из фиксаналов**

В чисто вымытую мерную колбу вставляют воронку, тщательно вымытую и сполоснутую дистиллированной водой; если в ампуле содержится не раствор, а сухое вещество, то воронка должна быть сухой. Затем в воронку вставляют специальный стеклянный боек (обычно прилагается к коробке с фиксаналами), также сполоснутый дистиллированной водой. Ампулу протирают спиртом, чтобы удалить надпись, и обмывают дистиллированной водой. Затем ее вставляют в воронку так, чтобы она своим тонким, втянутым внутрь дном касалась бойка, приподнимают ее и слегка ударяют о конец бойка. Содержимое ампулы попадает через воронку в колбу.Сбоку в ампуле имеется углубление, в котором пробивают отверстие стеклянной палочкой с заостренным концом. Через это отверстие многократно обмывают дистиллированной водой из промывалки стенки ампулы маленькими порциями. После этого споласкивают стенки ампулы снаружи и ампулу выбрасывают.Ополаскивают воронку и боек, затем поднимают воронку и обмывают наружную часть трубки воронки. Обмывают верхнюю часть шейки мерной колбы.Производя все эти операции по промыванию, следят, чтобы количество воды в мерной колбе к концу всех операций не превысило 2/3 объема колбы. Осторожно вращательным движением перемешивают содержимое колбы.Дистиллированной водой доводят содержимое колбы до метки так, как это было описано выше, и перемешивают содержимое колбы 12-15 раз.

**Приготовление растворов методом разбавления**

Разбавле́ние — уменьшение концентрации химического вещества в растворе добавлением растворителя или смешиванием с менее концентрированным раствором. При разбавлении сохраняется количество растворенного вещества.

Запись концентраций по «правилу креста» показывает, сколько массовых или объемных частей компонентов нужно для раствора и массой.

Друг над другом пишутся процентные концентрации (массовые или объемные) соответственно разбавляемого раствора и разбавителя (для чистого растворителя пишется 0 %). Справа посередине пишется желаемая концентрация (её значение должно быть между концентрациями разбавляемого раствора и разбавителя). Далее производится вычитание по диагоналям от большего значения меньшего и полученные разности записываются напротив исходных растворов. Полученные цифры являются массами (если были взяты массовые проценты) или объемами (если были взяты объемные проценты) соответствующих растворов, которые необходимо взять для приготовления раствора, с концентрацией записанной в середине. Затем полученные значения приводят к необходимым массам или объемам по условиям задания (для перевода массовых единиц в объемы может понадобится знать плотность растворов).

**День 4**

**Тема: Построение калибровочных графиков**

**Приготовление стандартных растворов**

Первичные растворы готовят в мерных колбах. В горлышко колбы вставляют чистую сухую воронку. Взвешивают на аналитических весах чистый, сухой бюкс или весовой стаканчик с точностью до 0.0002 г, переносят его на технические весы и отвешивают рассчитанное количество стандартного вещества. После этого бюкс с веществом взвешивают на аналитических весах. Нет необходимости добиваться, чтобы взятая навеска точно соответствовала рассчитанной. Важно знать ее истинную величину.

Навеску вещества осторожно, не распыляя, пересыпают через воронку в колбу и очень тщательно многократно ополаскивают водой стенки бюкса над воронкой. Ополаскивают воронку и вынимают ее из горлышка колбы. Доводят объем раствора до метки. Держат колбу таким образом, чтобы метка и глаза наблюдателя были на одном уровне. Затем определяют титр (Т) путем деления массы навески (в граммах) на емкость колбы ( в мл ):

Т =m/V ( г/мл)

На практике концентрацию титранта чаще всего выражают через эквивалентную (нормальную) концентрацию - N. Зная титр, находят нормальность:

N = 1000 Т /Э

Вторичные стандартные растворы готовят приблизительной концентрации взвешиванием на технических весах кристаллических веществ с их последующим растворением или разбавлением более концентрированных растворов. При приготовлении вторичных стандартных растворов нет необходимости брать точную навеску вещества, так как при всей тщательности взятия навески нельзя получить раствор с известной концентрацией. Например, твердый NaOH всегда содержит неконтролируемое количество Na2CO3 и H2O, поэтому даже взвешивание на аналитических весах не позволяет получить раствор с точно известной концентрацией.

**Построение калибровочных графиков**

Для построения калибровочного графика измеряют поглощение серии окрашенных растворов известной, но различной концентрации, оптические плотности которых охватывают требуемый интервал.

На миллиметровой (калибровочной) бумаге вычерчивают оси координат. На оси ординат откладывают значения экстинкции, на оси абсцисс – концентрации. Чтобы считываемые с калибровочной кривой значения были более точными, следует брать масштаб графика достаточно крупным.

Масштаб калибровочного графика должен быть 20 см и более на общих осях.

Чтобы кривая располагалась под углом 45% к осям, берут максимальные значения концентрации и экстинкции, если между ними в пределах этих значений сохраняется прямо пропорциональная зависимость.

Например, ряд стандартных растворов с концентрацией 20, 40, 60, 80, 100, 120.

Отрезок из 20 крупных клеток на оси абсцисс составляет 120 г/л, а на оси ординат максимальное из полученных для 6 определений значение экстинкции равно 0,6.

На основании этих данных находят факторы калибровки по формулам:

Смакс/20 = 120/20 = 6г/л

Емакс / 20 = 0,6/20 = 0,03

6г/л и 0,03 – значения концентрации и екстинции, соответствующие масштабу 1 см (одна крупная клетка).

Чтобы облегчить процедуру откладывания на оси ординат значений экстинкции рекомендуется разделить величину экстинкции например 0,2/0,03 = 6,67. Полученное число показывает, на каком удалении от нулевой точки в сантиметрах следует сделать отметку для восстановления из нее перпендикуляра: отмеряют отрезок в 6 крупных (1см) клеток и 7 мм.

Также поступают со всеми остальными значениями, чтобы их разместить на вертикальной и горизонтальной осях. Из отложенных на осях значений восстанавливают перпендикуляры, места пересечений тонких линий обозначают крестиками; ориентируясь на них, проводят калибровочную кривую

**Работа на ФЭКе**

Присоединить фотоэлектроколориметр (рис. 1) к сети 220 В и включить тумблер 1 СЕТЬ (с правой стороны фотоэлектроколориметра).

Нажать клавишу ПУСК на микропроцессорном блоке 5. На цифровом табло вверху появится значение длины волны. Ниже слева символ «Г» (оптическая плотность), справа – соответствующее ему значение.

Открыть крышку кюветного отделения и установить кювету с растворителем в дальнее гнездо кюветодержателя, а кювету с исследуемым раствором в ближнее гнездо кюветодержателя. Закрыть крышку кюветного отделения.

Установить ручкой (на передней панели слева внизу) длину волны (l), на которой проводится измерение (длина волны высвечивается на верхнем цифровом табло). Устанавливаемая длина волны зависит от цвета раствора.

В световой пучок установить кювету с растворителем, рукоятка перемещения кювет передвигается в крайнее левое положение (она находится на передней панели в центре внизу) (4, рис.1). Нажать клавишу «Г», а затем клавишу «П» (оптическая проницаемость). На нижнем цифровом табло высветится символ «П» и правее значение 100.0±0.2, означающие, что начальный отсчет светопропускания установился на фотометре правильно.

Затем рукоятку перемещения кювет установить вправо до упора, при этом в световой пучок вводится кювета с исследуемым раствором и на световом табло справа появляется значение оптической проницаемости (П, %) исследуемого раствора.

При построении калибровочного графика и определении концентрации растворов необходимо проводить измерения по методике, указанной выше, для каждого раствора в отдельности.

**День 5**

**Тема: Определение витамина С в моче**

**Методы титрования:**

1. Кислотно-основное титрование

В основе метода лежит реакция нейтрализации, точка эквивалентности определяется при помощи индикатора, изменяющего свою окраску в зависимости от реакции среды. Основное уравнение + =

В зависимости от используемого титранта различают:

* ацидемитрическое титрование – для определения сильных и слабых оснований; основных солей; солей, образованных катионами сильных оснований и анионами слабых кислот. Титрант: 0,1 моль/л растворы кислот (соляная и серная)
* алкалиметрическое титрование – для определения сильных и слабых кислот; кислых солей; солей, образованных анионами сильных кислот и катионами слабых оснований, органических соединений с кислотными свойствами. Титрант: 0,1 моль/л растворы щелочей

2) Окислительно-восстановительное титрование

В основе метода лежит изменение потенциала окислительно-восстановительной системы при изменении соотношений концентраций окислительной и восстановленных форм в процессе титрования.

Перманганатометрия Mn + 8+ 5e = +4. Титрант: 0,1 моль/л раствор перманганата калия. Метод без индикаторный.

3) Комплексонометрия

В основе метода лежит реакция комплексонообразования. В качестве титранта используются 0,05 моль/л трилона Б. Основное уравнение *+ = Me+2* Реакция определения проводят в аммиачно буферном растворе ph=10.

**Определение витамина С в моче**

**Принцип метода:**

Метод основан на способности аскорбиновой кислоты восстанавливать краситель 2,6 – дихлорфенолиндофенол. Окисленная форма красителя обладает окраской (в кислой среде - розовой), восстановленная форма – бесцветная. Количество витамина С определяют, титруя исследуемый подкисленный раствор дихлорфенолиндофенолом до появления розовой окраски. Пока в растворе есть аскорбиновая кислота, краситель обесцвечивается, когда вся аскорбиновая кислота будет окислена, титруемый раствор приобретает розовую окраску.

|  |  |
| --- | --- |
| **Оборудование:**   1. колба на 50 мл 2. пипетки на 5 мл 3. бюретка | **Реактивы:**   1. уксусная кислота – 3% 2. дихлорфенолиндофенол – 0,001н 3. дистиллированная вода 4. моча |

**Ход определения:**

В колбу наливают 1 мл мочи, 7 мл дистиллированной воды, 3 мл уксусной кислоты и титруют смесь дихлорфенолиндофенолом до появления окраски, устойчивой 30 с.

Для расчета содержания витамина С в суточной моче используют формулу:

**А \* 0.088 \* 1500 = витамин С. мг,**

1500 – суточный диурез;

0,088 – количество мг аскорбиновой кислоты, соответствующей 1 мл 0,001 н раствора дихлорфенолиндофенола;

А – количество мл дихлорфенолиндофенола, пошедшего на титрование исследуемого раствора.

**Норма:** с мочой за сутки выделяется от 20 до 40 мг витамина С.

**Диагностическое значение**: определение содержания витамина С в моче дает представление о запасах этого витамина в организме.

0,3 \* 0,088 \* 1500 = 39,6 мг

**Вывод:** при определении количества витамина С в моче, выявлено, что содержание витамина С в моче равно 39, 6 мг. Данное количество витамина С соответствует норме (20-40 мг).

**Дезинфекция и утилизация отработанного материала**

Все отходы деятельности лаборатории по степени эпидемиологической и токсикологической опасности подразделяются на следующие классы (СанПиН 2.1.7.2527-09, СанПин 2.1.7.728-99):

- класс А (неопасные) – отходы, не имеющие контакта с зараженными или условно зараженными ПБА I-IV групп патогенности (различная макулатура, упаковочный материал, негодная мебель, строительный мусор и др.);

- класс Б (опасные) – биологические отходы вивариев, иммуноклиник, мусор из помещений лаборатории, где не проводится работа с живыми ПБА I-IV групп патогенности, стеклянная лабораторная посуда из препараторских, стерильные отработанные ватно-марлевые материалы, бумажная макулатура из письменных комнат и др.;

- класс В (чрезвычайно опасные) – медицинские отходы из лабораторий, работающих с ПБА I-IV групп патогенности: отработанные посевы, остатки диагностического материала (сыворотки, сгустки крови, трупный материал и др.), вскрытые биопробные животные, остатки их корма, подстилочный материал от экспериментальных животных, пипетки, шприцы, тест-контроли работы автоклавов, ампулы из-под лиофилизированных культур, ватно-марлевый материал, макулатура из письменных комнат и другой отработанный материал, зараженный или подозрительный на зараженность бактериальными и вирус содержащими ПБА;

- класс Г – просроченные медицинские и иммунобиологические препараты (МИБП), питательные среды с истекшим сроком годности, химические реактивы, ртутьсодержащие предметы, приборы, оборудование.

**Стерилизация использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты;**

Использованные изделия промываются в ёмкости с водой. Промывные воды обеззараживаются кипячением в течение 30 минут или засыпают сухой хлорной известью, известью белильной термостойкой, нейтральным гипохлоритом кальция (НГК) в соотношении 200 г на 1 л воды, перемешивают и обеззараживают в течение 60 минут. Промытые изделия кипят в закрытой емкости в воде в течение 30 минут, или в 2% растворе соды, дальнейшая предстерилизационная очистка не проводится.

Лабораторные инструменты могут быть обеззаражены погружением в раствор с дезинфицирующим раствором. . В качестве дезинфицирующих используются следующие растворы: 3% раствор хлорамин, 6% перекись водорода, 6% перекись водорода с 0,5% моющего средства ("Прогресс", "Астра". "Айна", "Лотос", "Лотос-автомат"), 4% формалин, 0,5% НГК, 0,5% сульфохлорантин; время обеззараживания 60 мин. Емкости для проведения дезинфекции должны быть четко маркированы, иметь крышки. Перчатки после окончания работы обеззараживают погружением в 3% раствор хлорамина или 6% раствор перекиси водорода на 1 час или кипячением в течение 30 мин. Одноразовый инструментарий (плашки, наконечники, автоматические пипетки и т.д.) обеззараживают и утилизируют в паровом стерилизаторе при 2,0 кг/2 (132° С) в течение 60 минут. СИЗ стирают.

**День 6.**

**Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ**

**Меры санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ.**

1. Медицинскому персоналу КДЛ следует избегать контакта кожи и слизистых с кровью и другими биологическими жидкостями, для чего необходимо:
2. Работать в халатах, шапочках, сменной обуви, а при угрозе забрызгивания кровью или другими биожидкостями – в масках, очках, клеенчатом фартуке.
3. Работать с исследуемым материалом в резиновых перчатках, избегать уколов и порезов, все повреждения кожи должны быть закрыты лейкопластырем или напальчниками.
4. Проводить разборку, мойку, прополаскивание лабораторного инструментария и посуды после предварительной дезинфекции.
5. В случае загрязнения кожных покровов кровью или другими биожидкостями следует немедленно обработать их в течение 2 мин. тампоном, смоченным 70 % спиртом, вымыть с мылом под проточной водой и вытереть индивидуальным полотенцем.
6. При загрязнении перчаток кровью их протирают тампоном, смоченным 3% раствором хлорамина или 6% раствором перекиси водорода.
7. При попадании крови на слизистые оболочки, их немедленно промывают водой, 1% раствором борной кислоты, слизистую носа обрабатывают 1 % раствором протаргола, рот и горло прополаскивают 70% спиртом или 1% раствором борной кислоты или 0,06% раствором марганцевокислого калия.
8. Запрещается пипетирование крови ртом. Следует использовать автоматические пипетки, а при их отсутствии – резиновые груши.
9. Запрещается принимать пищу, пить, курить и пользоваться косметикой на рабочем месте.
10. Поверхность рабочих столов в конце каждого рабочего дня, а в случае загрязнения биологическим материалом, немедленно подвергаются дезинфекции.

**Качественные реакции на органические вещества**

**1. Реакции на кратные связи.**

Обесцвечивание бромной воды.

Обесцвечивание водного раствора перманганата калия с появлением бурого осадка диоксида марганца.

Если тройная связь находится у концевого углеродного атома, то ее можно распознать аммиачным раствором оксида серебра(I) или хлорида меди(I).

В результате реакций образуются осадки.

**2. Реакция на арены.**

При добавлении к ароматическому углеводороду формалина и концентрированной серной кислоты появляется красный осадок.

Гомологи бензола окисляются подкисленным раствором перманганата калия при нагревании, фиолетовая окраска перманганата при этом исчезает (раствор обесцвечивается).

**3.Реакции на спирты.**

Окисление одноатомных спиртов хромовой смесью приводит к изменению цвета с оранжевого в зеленый.

Реакция многоатомных спиртов со свежеприготовленным гидроксидом меди(II), в результате которой происходит растворение осадка и окрашивание раствора в ярко-синий цвет.

**4.Реакции на фенол.**

Взаимодействие фенола с бромной водой приводит к образованию осадка белого цвета.

В результате реакции фенола с водным раствором хлорида железа (III) образуется комплекс фиолетового цвета.

**5.Реакции на альдегидную группу.**

Реакция альдегида со свежеосажденным гидроксидом меди(II) при нагревании с образованием красного осадка оксида меди (I) .

Реакция “серебряного зеркала” – взаимодействие альдегида с аммиачным раствором оксида серебра(I)

О

Н

(реактив Толленса) .

Действие фуксинсернистой кислоты (реактив Шиффа) на альдегиды дает розовое окрашивание. С помощью данной реакции можно отличить альдегиды от моносахаридов, содержащих альдегидную группу.

**6. Реакции на карбоновые кислоты.**

Низшие кислоты изменяют окраску индикаторов.

Взаимодействие растворимых кислот с гидрокарбонатом натрия приводит к выделению углекислого газа.

Муравьиная кислота дает реакцию “серебряного зеркала” и окисляется раствором перманганата калия с выделением углекислого газа.

**7. Реакция на анилин.**

Взаимодействие водного раствора анилина с насыщенным раствором хлорной извести дает сине-фиолетовое окрашивание.

**8. Реакции на белки.**

Ксантопротеиновая: образование желтого осадка при взаимодействии белка с концентрированной азотной кислотой.

Биуретовая: взаимодействии белка с раствором медного купороса и избытком щелочи дает красно-фиолетовое окрашивание.

**ОТЧЕТ ПО УЧЕБНОЙ ПРАКТИКЕ**

Ф.И.О. обучающегося Полякова Ева Владиславовна

группы 206-2 специальности Лабораторная диагностика

Проходившего (ей) учебную практику

с 29 июня по 4 июля 2020 г

За время прохождения практики мною выполнены следующие объемы работ:

* + 1. Цифровой отчет

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | Виды работ | **Количество** |
| 1. | Ознакомлен с правилами работы в КДЛ:   * ОТ при работе в биохимической лаборатории. * Правила безопасной работы с электроприборами и нагревательными приборами. * Дезинфекция. Проведение дезинфекции лабораторного инструментария, посуды, оборудования. * Организация рабочего места для проведения клинико-биохимических исследования | 1  1  2  2 |
| 2. | Работа с аппаратурой и приборами в КДЛ (термостат, центрифуга, ФЭК, сушильный шкаф).  Работа с мерной посудой.  Правила работы с дозаторами фиксированного и переменного объема | 4  1  1 |
| 3. | Приготовление растворов заданной концентрации (точной и приблизительной) | 15 |
| 4. | Построение калибровочного графика | 6 |
| 5. | Определение витаминов, гормонов в биологических жидкостях | 1 |
| 6. | Выполнение мер санитарно-эпидемиологического режима в КДЛ | 2 |

1. **Текстовой отчет**
   * 1. Умения, которыми хорошо овладел в ходе практики:

* определяла биохимические показатели мочи;
* готовила растворы по точной навеске;
* строила калибровочные графики;
* проводила качественные реакции на органические соединения;
* вела учетно-отчетную документацию.
  + 1. Самостоятельная работа:

Работа с нормативными документами и законодательной базой:

* Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в КДЛ ЛПУ от 17 января 1991 г;
* СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемические требования к обращению с медицинскими отходами» от 9 декабря 2010 г;

Поиск электронных источников информации.

1. Помощь оказана со стороны методического и непосредственного руководителя Лихошерстовой Е.В.
2. Замечания и предложения по прохождению практики нет. В ходе практики мною были хорошо усвоены и закреплены знания по дисциплине «Теория и практика лабораторных биохимических исследований»

|  |  |
| --- | --- |
| Общий руководитель практики | \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Лихошерстова Е.В. |
|  | (подпись) (ФИО) |

М.П. организации