

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

**Б2.В.04(У) Учебная практика по получению первичных профессиональных умений и
навыков (Цитология и гистология)**

Направление подготовки 06.03.01 Биология

Профиль образовательной программы Микробиология

Форма обучения очная

Введение

Учебная практика по получению первичных профессиональных умений и навыков (Цитология и гистология) (далее по тексту – практика) входит в состав практики основной образовательной программы высшего профессионального образования (далее по тексту ОПОП ВО) и учебного плана подготовки бакалавров по направлению подготовки/ 06.03.01 Биология, профилю подготовки Микробиология.

1. Цели и задачи практики

1.1. Целями практики являются:

- сформировать у студентов фундаментальных теоретических знаний о структурной организации процессов жизнедеятельности на клеточном и тканевом уровнях, раскрытие закономерностей их развития и в связи с этим - возможности целенаправленного воздействия на них.
- освоить общие методы исследования в цитологии и гистологии, закрепить теоретические знания, программный материал и навыки полученные при изучении курса «Цитология и гистология»;
- отработать вопросы по видовым особенностям тканей, анатомической топографии органов и тканей в общей структуре организма домашних животных, изготовлении гистопрепараторов. Детально изучить гистологическую технику и получить навыки анализа гистологических препаратов.
- освоить реферирование научной литературы по тематике практики, составление библиографического списка по ГОСТ-стандарту.

1.2. Задачи практики

- освоить правила работы с научным оборудованием. Приобретение навыков приготовления гистологических препаратов для световой микроскопии;
- приобретение навыков и умения в микроскопирования гистологических препаратов и идентификации тканей, определения общих закономерности гистогенеза, строения, гистофизиологии и регенерации тканей
- получение навыков анализа гистологических препаратов и сопоставления полученных результатов с ранее опубликованными в научной литературе, освоения правил работы с научной и учебной литературой.
- уметь анализировать электронно-микроскопические фотографии.

2. Место прохождения практики и время:

Учебная практика по получению первичных профессиональных умений и навыков (Цитология и гистология) проводится стационарным и выездным способом.

Стационарная практика проводится на кафедре морфологии, физиологии и патологии факультета ветеринарной медицины ОГАУ, или в иных организациях, расположенных на территории населенного пункта, в котором расположена образовательная организация или филиал.

Выездная практика проводится в том случае, если место ее проведения расположено вне населенного пункта, в котором расположена образовательная организация или филиал.

Время проведения практики согласно - календарного учебного графика. Продолжительность практики составляет 2 недели.

3. Краткая инструкция студенту-практиканту при прохождении практики

Перед выходом на практику необходимо:

Подробно выяснить: характер и сроки практики; подробный адрес базы практики;

Получить инструктаж о технике безопасности, организации и программе практики;

Получить индивидуальные задания, которые необходимо выполнить;

Обязанности студента в период практики:

1. Пройти инструктаж по технике безопасности и приступить к работе;

2. При пользовании техническими материалами кафедры строго руководствоваться установленным порядком эксплуатации и хранения этих материалов;

3. Все полученные инструменты, приборы, оставшиеся расходные материалы, реактивы, должны быть своевременно возвращены по принадлежности;

По окончании практики необходимо представить и защитить отчет по практике

4. Этапы выполнения практики

4.1. Подготовительный этап (инструктаж по технике безопасности)

Преподавателем проводится инструкции по технике безопасности работы в гистолабораториях, с трупным материалом, гистологическими препаратами.

По методам цитологии и гистологии объясняются разделы приготовления гистологических препаратов: техника вырезки материала для гистопрепарата, общие принципы его фиксации, использование простых фиксирующих жидкостей.

Объясняется техника приготовления гистопрепаратов по следующим этапам:

1. Взятие материала;
2. Фиксация;
3. Промывка в воде;
4. Обезвоживание и уплотнение;
5. Заливка;
6. Приготовление срезов;
7. Окрашивание;
8. Заключение срезов.

1. Взятие материала.

Для гистологического исследования берут кусочки органов и тканей величиной не более 1 см³. Материал желательно получать как можно раньше после смерти животных.

2.Фиксация.

Фиксация – метод обработки ткани с целью закрепления ее прижизненной структуры. Взятый для гистологического исследования материал сразу же подвергается фиксации в нейтральном 10% растворе формалина.

3.Помывка в воде.

После фиксации материал промывают в течение нескольких часов в проточной воде с целью избавления его от избытка фиксатора.

Для микроскопирования, необходимо с помощью микротомов делать срезы, толщиной в микрометрах. Для этого кусочек ткани надо обезводить и уплотнить, путем пропитывания расплавленным парафином, и только затем пропитывать.

4. Обезвоживание.

Обезвоживание ткани производится постепенно (чтобы не произошло сморщивания) путем проведения ее через спирты возрастающей крепости: 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 96°, 100°. В каждом спирте кусочки находятся от нескольких часов до 1 суток в зависимости от величины кусочка.

5.Уплотнение (заливка).

При заливке кусочки предварительно пропитываются ксилолом или толуолом.

При заливке в парафин кусочки из абсолютного спирта переносятся в смесь абсолютного спирта с хлороформом или ксилолом, взятых поровну, затем в чистый ксилол и в расплавленный насыщенный раствор парафина в хлороформе, где они находятся в термостате при температуре 37° до 1 суток и более. Дальнейшая заливка проводится в термостате при температуре 54° - 56° в трех порциях парафина.

Окончательная заливка проводится в парафин с добавлением воска, который наливают в специальные бумажные коробочки, затем коробочки после появления на поверхности парафина пленки, погружают в воду. Происходит полное затвердение парафина. Кусочки с окружающим их парафином извлекают из коробочек и с помощью расплавленного парафина, наклеивают на деревянные кубики - парафиновые блоки.

6. Приготовление срезов.

Срезы с блоков изготавливаются на микротоме. В микротоме зажимается парафиновый блок и микротомный нож. За счет механизма, поднимающего объектодержатель с блоком на заданное количество микрометров, получают срезы толщиной 5-10 микрометров.

7. Окрашивание.

Изготовленные на микротоме срезы окрашиваются для того, чтобы отчетливо выявить под микроскопом тонкие структуры ткани. Перед окраской из парафиновых срезов удаляют парафин (растворением в ксилоле).

По окрашиванию определенных гистологических структур используют краски для окрашивания ядра - гематоксилин, и цитоплазмы - эозин (раствор гематоксилина (приготовленным по методу Бемера) и эозина).

8. Заключение среза.

Окрашенные и промытые в воде срезы обезвоживают в спиртах (70°, 96°), просветляют в карбол-ксилоле, ксилоле, а затем на предметное стекло, где находится срез, помещают каплю бальзама (канадский бальзам) и срез накрывают покровным стеклом.

В целом схема окраски препаратов гематоксилин — эозином по времени.

1. Парафиновые или замороженные срезы доводят до воды.
2. Окраска гематоксилином — в течении 3-5 минут.
3. Промывка в воде – 2 минуты.
4. Дифференцировка в спирте, подкисленном соляной кислотой (1% раствор соляной кислоты в 70 % спирте), несколько секунд с последующим восстановлением подщелоченной водой (около 1 минуты). Этот этап не обязательен.
5. Промывка в проточной воде.
6. Ополаскивание дистиллированной водой.
7. Окраска 1 % эозином – 1-2 минуты.
8. Ополаскивание дистиллированной водой.
9. Обезвоживание в спирте – 2мин.
10. Просветление в ксилоле – 2 мин.
11. Заключение среза – капля бальзама, покровное стекло.

4.1.2. Производственный этап.

Содержание практики

Экскурсия в анатомические музеи ОренГМУ и ОГАУ.

Анатомический музей ОГАУ Цель экскурсии последовательно описать структуру организма животного. Строение скелета, строение костной ткани на микроскопическом уровне. Формирование костей из компактной и губчатой ткани. Расположение хрящевой ткани в скелете животных, ее строение, классификация, функции. Участие плотной соединительной ткани в формировании костномышечного аппарата и соединении костей - формировании суставов.

Музей кафедры нормальной анатомии человека. Цель экскурсии: -ознакомить студентов с морфологией человека, строением его органов и их систем в норме и при патологиях, инициированных непосредственно вредными привычками - употребление алкоголя и табакокурения,. С профилактической целью используется лекция по воздействию на организма вредных веществ. Исследование макро и микропрепараторов легких в норме и курильщика, печень в норме и при циррозе вызванного алкоголем. Дать сравнительную характеристику тканей органов в норме и при патологии.

- ознакомление с влажными анатомическими препаратами органов, их строением выяснить какие ткани их образуют.
- ознакомление с коллекцией препаратов пренатального и постнатального эмбриогенеза, в норме и при патологии.
- ознакомление с историей кафедры анатомии человека и ученых-анатомов университета, их научной деятельностью.

Экскурсия в морфологическую лабораторию Оренбургского областного онкодиспансера

Цель экскурсии: изучение методик изготовления цито- и гистопрепараторов и оборудования лаборатории.

Этапы экскурсии:

1. Порядок приема материала.
2. Отбор материала для гистологических исследований
3. Фиксация.
4. Рассмотрение порядка проведения проводки.
5. Методика заливки в парафин.
6. Приготовление парафиновых срезов и наклейка их на предметное стекло
7. Окраска парафиновых срезов (Гематоксилин и Эозин)
8. Работа с микроскопами – изучение гистопрепараторов в норме и при патологиях.
9. Посещение архива гистопрепараторов лаборатории.
10. Изучение утилизации патологоанатомического материала на специальном оборудовании.

«Чтение» электронных микрофотографий клеток и неклеточных структур; устное и письменное описание электронных микрофотографий

Электронные фотографии клеток.

Цель: Определить на электроннограммах органоиды клетки, зарисовать. описать строение, функцию органоидов. Рассмотреть строение мембранны клеток и ядра, джать сравнительную характеристику. Рассмотреть поры ядра, найти отличия в их строении.

Определение на гистопрепаратах виды тканей и их характеристика.

Микроскопы.

Гистопрепараты тканей.

На гистопрепаратах определить вид ткани. Зарисовать. Описать строение, функцию.

Реставрация и ремонт гистопрепараторов музейной коллекции, обновление плакатов и таблиц.

Оборудование:

Деформированные гистологические препараты.

Белок куриного яйца.

Спиртовка.

Раствор полистерола.

Предметное стекло.

Ход работы: Обезжирить предметное стекло. Нанести 4 капли белка, тонко размазать на стекле. Провести стекло с белком 3-4 раза над пламенем спиртовки. Отделить гистосрез ткани для реставрации от старого стекла, положить его на подготовленное стекло и дать высохнуть в течение 2 часов. Затем гистосрез покрыть разведенным в толуоле до вязкой консистенции полистеролом, высушить и отделить от стекла. Получиться гистосрез покрытый с двух сторон пленкой, которую нужно обрезать. Хранить препарат в сухой посуде.

Провести ремонт плакатов и таблиц (подклейте скотчем надорванные части, поменять веревку- крепление при необходимости).

Реферирование научной литературы и оформление списка библиографических источников по темам практики, разбор ошибок в оформлении списка литературы

Оборудование: Компьютеры, экран стационарный, мультимедия-проектор.

Темы:

1. Околоушная слюнная железа свиньи и крупного рогатого скота, гистологическое строение, сравнительная характеристика.
2. Подъязычная слюнная железа собаки и крупного рогатого скота, гистологическое строение, сравнительная характеристика.
3. Кровь – основные компоненты как ткани плазма и форменные элементы.
4. Функции крови.
5. Сердечная мышечная ткань, ее проводящая система.

Выбрать тему для подготовки реферативной работы, найти с помощью поисковой системы интернет источники научной литературы. Оформить список использованной научной литературы по Госту и предоставить отчет.

4.1.3. Заключительный этап. Обработка и анализ полученной информации. Оформление и защита отчета по практике.

Основным документом, отображающим всю практическую деятельность студента-практиканта, является отчёт. В период учебной практики он ежедневно делает записи о том, что он изучал, в чём принимал участие или, что выполнил самостоятельно за день. Оформление отчёта по практике (см. Приложение 1).

Все запланированные мероприятия студент-практикант осуществляет под руководством руководителя практики, который пишет рецензию на учебную практику (см. Приложение 2).

5. Схема составления отчёта практике

Общие требования к структуре отчета. При написании отчёта студент должен придерживаться следующих требований:

- четкость и логическая последовательность изложение материала;
- краткость и точность формулировок, исключающих возможность

- неоднозначного толкования;
- конкретность изложения результатов работы;
- обоснованность рекомендаций и предложений.

Структура отчета. Структурными элементами отчета являются:

- титульный лист;
- содержание;
- введение;
- основная часть;
- заключение;
- список использованных источников;
- приложения.

Описание элементов структуры отчета.

Титульный лист отчета. Титульный лист является первым листом отчета. Пример оформления титульного листа листом отчета приведен в Приложение 1.

Содержание. Содержание - структурный элемент отчета, кратко описывающий структуру отчета с номерами и наименованиями разделов, подразделов, а также перечислением всех приложений и указанием соответствующих страниц.

Заключение. «Заключение» не включается в общую нумерацию разделов и размещают на отдельных листах. Слово «Заключение» записывают посередине страницы с первой прописной буквы.

В разделе «Заключение», студенты должны кратко, сделать вывод о результатах проведённой ими работы за время учебной практики, а также приводится сводная таблица о выполнении заданий в период прохождения учебной практики (Приложение 3).

Основная часть. Основная часть - структурный элемент отчета, необходимо составлять по окончании каждого этапа практики.

Список использованных источников. Список использованной литературы должен быть выполнен в соответствии ГОСТ-стандартом

Рекомендуется представлять единый список литературы к работе в целом. Список обязательно должен быть пронумерован.

Литература на иностранных языках ставится в конце списка после литературы на русском языке, образуя дополнительный алфавитный ряд.

Для каждого документа предусмотрены следующие элементы библиографической характеристики: фамилия автора, инициалы; название; подзаголовочные сведения (учебник, учебное пособие, словарь и т. д.); выходные сведения (место издания, издательство, год издания); количественная характеристика (общее количество страниц в книге).

Приложение. Некоторый материал отчета допускается помещать в приложениях. Приложениями могут быть, например, фотографии.

Приложения оформляют как продолжение работы на последующих листах. Каждое приложение должно начинаться с нового листа с указанием наверху посередине страницы слова «Приложение» и его обозначения.

Требования к оформлению листов текстовой части. Текстовая часть отчета выполняется на листах формата А4 без рамки, соблюдением следующих размеров полей:

- левое - 30 мм,
- правое - 15 мм,
- верхнее - 20 мм,
- нижнее - 20 мм.

Страницы текста подлежат обязательной нумерации, которая проводится с соблюдением сквозной нумерации по всему тексту. Первой страницей считается титульный лист, но номер страницы на нем не проставляется.

При выполнении текстовой части работы на компьютере текст должен быть оформлен в текстовом редакторе *Word for Windows*.

Тип шрифта: *Times New Roman Cyr*. Шрифт основного текста: обычный, размер 14 пт. Шрифт заголовков разделов: полужирный, размер 14 пт. Шрифт заголовков подразделов: полужирный, размер 12 пт.

Межсимвольный интервал: обычный. Межстрочный интервал: одинарный.

5. Примерный перечень вариантов индивидуальных заданий на практику

Определить на неизвестном гистологическом препарате (без обозначения) вид ткани, дать морфофункциональную характеристику, гистогенез, регенерацию.

Препараты:

Препарат № 92. Однослойный кубический эпителий мочевых каналцев почек.

Препарат № 93. Многорядный мерцательный эпителий трахеи кошки.

Препарат № 110. Многослойный плоский неороговевающий эпителий роговицы глаза.

Препарат № 31. Многослойный плоский ороговевающий эпителий мякиша кошки.

Препарат № 45. Многослойный плоский ороговевающий эпителий твердого неба быка.

Препарат № 94. Переходный эпителий мочевого пузыря крупного рогатого скота.

Препарат № 109. Мезенхима (карункул и котиледон овцы).

Препарат № 24. Кровь млекопитающих (мазок крови лошади)

Препарат № 25. Кровь птиц (мазок крови птиц).

Препарат № 45 Грубоволокнистая рыхлая соединительная ткань (твердое небо быка).

Препарат № 62 Рыхлая волокнистая неоформленная соединительная ткань (книжка быка).

Препарат № 19 Ретикулярная ткань лимфатического узла овцы.

Препарат № 115 Плотная оформленная коллагеновая соединительная ткань (сухожилие в продольном разрезе).

Препарат № 116 Поперечный разрез сухожилий.

Препарат № 117 Плотная оформленная эластическая соединительная ткань (выйная связка в продольном разрезе).

Препарат № 118 Плотная оформленная эластическая ткань (выйная связка - поперечный разрез).

Препарат № 81 Эластический хрящ (ушная раковина свиньи)

Препарат № 83 Волокнистый хрящ (соединение связки с костью).

Препарат № 85 Гиалиновый хрящ (трахея кошки).

Препарат № 29 Развитие кости на месте гиалинового хряща (продольный разрез бедренной кости зародыша)

Препарат № 122 Развитие кости на месте гиалинового хряща (поперечный разрез).

Препарат № 119 Грубоволокнистая костная ткань (ребро рыбы).

Препарат № 120 Пластинчатая тонковолокнистая костная ткань (диафиз трубчатой кости на поперечном разрезе

Препарат № 66. Гладкая мышечная ткань (тонкая кишка щенка).

Препарат № 67. Гладкая мышечная ткань (двенадцатиперстная кишка кролика).

Препарат № 68. Гладкая мышечная ткань (толстая кишка).

Препарат № 46. Поперечнополосатая мышечная ткань (язык кролика).

Препарат № 47. Мышцы сердца.

Препарат № 161 Поперечный разрез нерва.

Препарат № 158 Эпендимоглия (в канале спинного мозга)

Препарат № 159 Астроглия (в коре больших полушарий)

Препарат № 160 Олигодендроглия (в спинномозговом ганглии).

7. Учебно-методическое и информационное обеспечение практики

7.1 Основная литература:

1. Васильев Ю.Г. Цитология. Гистология. Эмбриология. / Ю.Г. Васильев, Е.И. Трошин, В.В. Яглов; Учебник, - СПб.: Изд. «Лань», 2013.– 576 с. – ЭБС «Лань».

2. Донкова Н.В. Цитология, гистология и эмбриология. Лабораторный практикум / Н.В. Донкова, А.Ю. Савельева; Учебное пособие. - Изд. «Лань», 2014. –144 с. – ЭБС «Лань».

7.2 Дополнительная учебная литература

1. Цитология с основами молекулярной биологии: учебное пособие / Л.Л. Абрамова [и др.]. - Оренбург: Изд. центр ОГАУ, 2010. - 178 с.

2. Абрамова Л.Л., Верхошенцева Л.Д., Калякина Р.Г. Словарь терминов по цитологии и молекулярной биологии./ Л.Л. Абрамова, Л.Д. Верхошенцева, Р.Г. Калякина. - Оренбург. Изд. центр ОГАУ. 2010 – 148с.

3. Вракин, В.Ф. Практикум по анатомии и гистологии с основами цитологии и эмбриологии сельскохозяйственных животных. Учебные

пособия / В.Ф. Вракин, М.В. Сидорова, В.П. Панов, А.Э. Семак.– СПб. : Лань, 2013. – 384с.

4. Константина, И.С. Основы цитологии, общей гистологии и эмбриологии животных. Учебные пособия / И.С. Константина, Э.Н. Булатова, В.И. Усенко. – СПб.: Лань, 2015. – 240с. – ЭБС «Лань».

7.3 Программное обеспечение и информационные справочные системы Open Office.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Оренбургский государственный аграрный университет»**

Факультет ветеринарной медицины

ОТЧЕТ ПО ПРАКТИКЕ

**Б2.В.04(У) Учебная практика по получению первичных профессиональных
умений и навыков (Цитология и гистология)**

	<p>Исполнитель студент _____ гр. ФИО дата Курс ____ Направление (специальность) подпись,</p>
--	---

Оренбург 20__

Приложение 2

Форма индивидуального задания на практику

ОГАУ-СМК-Ф-2.6-04

ФГБОУ ВО «ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Индивидуальное задание на _____ практику

На студента(ку) _____

(Ф.И.О. полностью, № группы)

Факультет ветеринарной медицины

Кафедра морфологии, физиологии и патологии

Наименование предприятия (организации) _____

Срок прохождения практики с _____ по _____

Содержание задания на практику (перечень подлежащих рассмотрению вопросов):

Цель: _____

Индивидуальное задание:

Подпись руководителя практики от кафедры: _____ Ф.И.О.

«_____» 20 ____ г.
«_____» 20 ____ г.

Ознакомлен _____

(подпись студента)

Отметка о выполнении индивидуального задания

Приложение 3

РЕЦЕНЗИЯ

на учебную практику по получению первичных профессиональных умений и навыков
(Цитология и гистология)

студента _____

Рецензент _____

№	Наименование дисциплины	Соблюден ие сроков сдачи 20 баллов	Качество оформлени я документо в 20 баллов	Полнота представленного материала согласно программе практики 30 баллов	Сумма баллов
1	Анатомия животных				
2	Биология с основами экологии				

Комментарии: _____

Рецензент _____ «_____» 201__ г.
(подпись)