**بسمه تعالی**

**فرم طرح درس : كنترل ميكروبي دارو (عملي)**

**نام درس: كنترل ميكروبي فرآورده هاي دارويي (عملي) رشته و مقطع تحصیلی : داروسازی- دکتری حرفه ای کد درس: 87 ترم : 9**

**نیمسال اول 98-99 روز و ساعت برگزاری : 1شنبه -3شنبه ساعت 10 تا 12 محل برگزاری: دانشکده داروسازی تعداد و نوع واحد : 2 واحد- عملي**

**مدرس یا مدرسین: دكتر حلاج نژادی**

****

****

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

* **سیاست مسئول دوره در مورد برخورد با غیبت و تاخیر دانشجو در کلاس درس : گزارش به اداره آموزش**
  + - * **نحوه ارزشیابی دانشجو در پایان دوره :**
      1. **امتحان ایستگاهی**
      2. **گزارش کار در هر جلسه و انظباط**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

جلسه اول

عنوان مهارت: **آشنايي مقدماتي با كار در آزمايشگاه كنترل ميكروبي فرآورده هاي دارويي**

تعداد فراگيران:14 **نفر**

زمان:170دقيقه

رفرانس براي دانشجو:**Handbook of microbial quality control**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| زمان (دقيقه) | شيوه ارزيابي | فعاليتهاي دانشجو | فعاليتهاي مدرس | وسايل مورد نياز | رفتارهاي عيني ويژه | هدف كلي |
| 50 | امتحان كتبي و عملی | - | توضيح در مورد نحوه تهيه و استريل كردن محيط كشت جامد و مايع، فعال كردن، پاساژ دادن و ذخيره كردن ميكروب | - | - | 1-آشنايي با نحوه تهيه و استريل محيط كشت جامد و مايع،  2-فعال كردن، پاساژ دادن و ذخيره كردن ميكروب |
| 15 | تهيه محيط كشت جامد | نمايش دادن | پودر محيط كشت، ارلن ماير، آب مقطر، شعله، همزن | محيط كشت جامد را تهيه نمايد. |
| 15 | تهيه محيط كشت مايع | نمايش دادن | پودر محيط كشت، ارلن ماير، آب مقطر | محيط كشت مايع را تهيه نمايد. |
| 60 | استريل كردن محيطهاي كشت تهيه شده توسط اتوكلاو | نمايش دادن | اتوكلاو | محيطهاي كشت تهيه شده را توسط اتوكلاو استريل نمايد. |
| 15 | توزيع محيط كشت جامد استريل شده به پليتها | نشان دادن نحوه انجام كار | پليتهاي كشت يكبارمصرف، پي پت استريل | محيط كشت جامد استريل شده را به پليتها توزيع نمايد. |
| 15 | فعال كردن ميكروب ليوفيليزه | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر، انكوباتور،  محيط كشت آماده | فعال كردن ميكروب ليوفيليزه را فعال نمايد. |
| 15 | پاساژ دادن ميكروب از محيط كشت جامد به مايع | نشان دادن نحوه انجام كار | لوپ، محيط كشت آماده | ميكروب را از محيط كشت جامد به مايع پاساژدهد. |
| 25 | ذخيره كردن ميكروب | نشان دادن نحوه انجام كار | گليسرول استريل، سانتريفيوژ، ميكروتيوب سمپلر،  محيط كشت آماده | ميكروب را ذخيره نمايد. |

جلسه دوم

عنوان مهارت: **آزمايش مقدماتي جهت كنترل ميكروبي فرآورده هاي دارويي**

تعداد فراگيران: **14 نفر**

زمان: 145 دقيقه

رفرانس براي دانشجو: **Handbook of microbial quality control**

**United States Pharmacopeia**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **زمان (دقيقه)** | **شيوه ارزيابي** | **فعاليتهاي دانشجو** | **فعاليتهاي مدرس** | **وسايل مورد نياز** | **رفتارهاي عيني ويژه** | **هدف كلي** |
| **40** | بررسي نتايج جلسه قبل، ا امتحان كتبي و عملی | - | توضيح در مورد نحوه تهيه نمونه هاي دارويي،آزمايش تعيين تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي وآزمايش مقدماتي | - | - | 1-آشنايي با نحوه تهيه نمونه هاي دارويي،  2- آزمايش تعيين تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي(1) آزمايش مقدماتي |
| 15 | تهيه و استريل نمودن بافر  2/7 pH= | نمايش دادن | فسفات هيدروژن منو بازيك- فسفات هيدروژن دي بازيك- ارلن ماير، اتوكلاو | بافر فسفات2/7 pH=  تهيه و استريل نمايد. |
| 15 | تهيه نمونه هاي دارويي | نمايش دادن | محيط كشت نوترينت براث، ارلن ماير | نمونه دارويي را توسط بافر رقيق نمايد. |
| 10 | توزيع محيط كشت سويبين كازئين دايجست براث استريل و آماده به داخل لوله هاي آزمايش | نمايش دادن | محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش استريل | محيط كشت سويبين كازئين دايجست براث استريل و آماده را به داخل8 لوله آزمايش استريل توزيع نمايد. |
| 10 | انتقال 1 سي سي از نمونه دارويي رقيق شده به داخل هر يك از4 لوله اول حاوي محيط كشت مايع استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر، شربت اكسپكتورانت،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | 1 سي سي از نمونه دارويي رقيق شده به داخل هر يك از4 لوله اول حاوي محيط كشت مايع استريل انتقال دهد. |
| 10 | تهيه اينوكولوم و انتقال1 سي سي ازسوسپانسيون باكتري *Staphylococcus aureus*  به داخل لوله اول حاوي محيط كشت مايع استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | اينوكولوم باكتري *Staphylococcus aureus* را تهيه نمايد و  1 سي سي از  آن را به داخل لوله اول حاوي محيط كشت مايع استريل انتقال دهد. |
| 10 | تهيه اينوكولوم و انتقال 1سي سي ازسوسپانسيون باكتري*Salmonella*  به داخل به داخل لوله دوم حاوي محيط كشت مايع استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | اينوكولوم باكتري *Salmonella* را تهيه نمايد و  1 سي سي از  آن را به داخل لوله  دوم حاوي محيط كشت مايع استريل انتقال دهد. |
| 10 | تهيه اينوكولوم و انتقال 1سي سي ازسوسپانسيون باكتري*Pseudmonas aerogensa*  به داخل به داخل لوله سوم حاوي محيط كشت مايع استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | اينوكولوم باكتري *Pseudmonas aerogensa* را تهيه نمايد و  1 سي سي از  آن را به داخل لوله  سوم حاوي محيط كشت مايع استريل انتقال دهد. |
| 10 | تهيه اينوكولوم و انتقال 1 سي سي ازسوسپانسيون باكتري*E. coli*به داخل لوله چهارم حاوي محيط كشت مايع استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | اينوكولوم باكتري *E. coli*به را تهيه نمايد و  1 سي سي از  آن را به داخل لوله  چهارم حاوي محيط كشت مايع استريل انتقال دهد. |
| 10 | انتقال 1سي سي از هر سوسپانسيون باكتري  به داخليك لوله بعدي فاقد نمونه دارويي و حاوي محيط كشت مايع استريل بعنوان كنترل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | 1سي سي از هر سوسپانسيون باكتري  به داخل يك لوله فاقد نمونه دارويي و حاوي محيط كشت مايع استريل بعنوان كنترل انتقال دهد. |
| 5 | انتقال تمام لوله ها به انكوباتور | نمايش دادن | انكوباتور | تمام لوله ها رابه انكوباتور انتقال دهد. |

جلسه سوم

عنوان مهارت: **آزمايش تعيين تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي با روش Pour Plate**

تعداد فراگيران:14 **نفر**

زمان: 135دقيقه

رفرانس براي دانشجو: **Handbook of microbial quality control**

**United States Pharmacopeia**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **زمان (دقيقه)** | **شيوه ارزيابي** | **فعاليتهاي دانشجو** | **فعاليتهاي مدرس** | **وسايل مورد نياز** | **رفتارهاي عيني ويژه** | **هدف كلي** |
| 35 | بررسي نتايج جلسه قبل، امتحان كتبي و عملی | **-** | توضيح در مورد نحوه شمارش تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي  با روش pour plate | **-** | **-** | شمارش تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي با روش pour plate |
| 15 | تهيه و استريل نمودن بافر  2/7 pH= | نمايش دادن | فسفات هيدروژن منو بازيك- فسفات هيدروژن دي بازيك- ارلن ماير، اتوكلاو | بافر فسفات2/7 pH=  تهيه و استريل نمايد. |
| 15 | تهيه نمونه هاي دارويي | نمايش دادن | شربت اكسپكتورانت، بافر فسفات | نمونه دارويي را توسط بافر رقيق نمايد. |
| 15 | تهيه سه رقت مختلف از نمونه دارويي | نمايش دادن | سمپلر،  لوله هاي آزمايش استريل ، بافر فسفات | سه رقت مختلف از نمونه دارويي دربافر فسفات2/7 pH=  استريل تهيه نمايد. |
| 15 | انتقال 1 سي سي ازهر كدام از رقتها به داخل هر يك از3 پليت خالي | نمايش دادن | سمپلر، پليت | 1 سي سي ازهر كدام از رقتها را به داخل هر يك از3 پليت خالي انتقال دهد. |
| 20 | توزيع محيط كشت جامد ذوب شده و استريل با دماي حدود 45درجه در 3 پليت حاوي نمونه دارويي رقيق شده | نمايش دادن | سمپلر، پليت،  محيط كشت نوترينت آگار استريل | محيط كشت جامد ذوب شده و استريل با دماي حدود 45درجه را در 3 پليت حاوي نمونه دارويي رقيق شده توزيع نمايد. |
| 15 | همزدن پليتها به روش 8 لاتين | نمايش دادن | پليت | پليتها را به روش 8 لاتين هم بزند. |
| 5 | انتقال تمام پليت ها به انكوباتور | نمايش دادن | انكوباتور | تمام پليت ها رابه انكوباتور انتقال دهد. |

جلسه چهارم

عنوان مهارت: **آزمايش تعيين تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي با روش The Most Probable Number (MPN**

تعداد فراگيران:14 **نفر**

زمان: 90دقيقه

رفرانس براي دانشجو: **Handbook of microbial quality control**

**United States Pharmacopeia**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **زمان (دقيقه)** | **شيوه ارزيابي** | **فعاليتهاي دانشجو** | **فعاليتهاي مدرس** | **وسايل مورد نياز** | **رفتارهاي عيني ويژه** | **هدف كلي** |
| 30 | بررسي نتايج جلسه قبل، امتحان كتبي و عملی | - | توضيح در مورد نحوه شمارش تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي  با روش The Most Probable Number | - | - | شمارش تعداد ميكروبها در فرآورده هاي دارويي  با روش The Most Probable Number (MPN) |
| 5 | قرار دادن12 عدد لوله آزمايش استريل در 3 رديف 4 تايي | نمايش دادن | لوله هاي آزمايش استريل | 12 عدد از لوله هاي آزمايش استريل را در 3 رديف 4 تايي قرار دهد. |
| 15 | رقيق نمودن نمونه دارويي در بافر فسفات2/7 pH=  استريل به نسبت 1 به 10 | نمايش دادن | سمپلر | نمونه دارويي را در بافر فسفات2/7 pH=  استريل به نسبت 1 به 10 رقيق نمايد. |
| 15 | رقيق نمودن نمونه دارويي در بافر فسفات2/7 pH=  استريل به نسبت 1 به 100 | نمايش دادن | سمپلر، محيط كشت نوترينت براث | نمونه دارويي را در بافر فسفات2/7 pH=  استريل به نسبت 1 به 100 رقيق نمايد. |
| 15 | رقيق نمودن نمونه دارويي در بافر فسفات2/7 pH=  استريل به نسبت 1 به 1000 | نمايش دادن | سمپلر | نمونه دارويي را در بافر فسفات2/7 pH=  استريل به نسبت 1 به 1000 رقيق نمايد. استريل در رديف دوم بريزد. |
| 10 | انتقال تمام لوله ها به انكوباتور | نمايش دادن | انكوباتور | تمام لوله ها رابه انكوباتور انتقال دهد. |

جلسه پنجم

عنوان مهارت: **آزمايش تعيين هويت ميكروبها در فرآورده هاي دارويي**

تعداد فراگيران: **14 نفر**

زمان: 120دقيقه

رفرانس براي دانشجو: **Handbook of microbial quality control**

**United States Pharmacopeia**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **زمان (دقيقه)** | **شيوه ارزيابي** | **فعاليتهاي دانشجو** | **فعاليتهاي مدرس** | **وسايل مورد نياز** | **رفتارهاي عيني ويژه** | **هدف كلي** |
| 45 | بررسي نتايج جلسه قبل، امتحان كتبي و عملی ) | **-** | توضيح در مورد نحوه تعيين هويت ميكروبها در فرآورده هاي دارويي، كشت در محيطهاي غني كننده و اختصاصي | **-** | **-** | **تعيين هويت ميكروبها در فرآورده هاي دارويي، كشت در محيطهاي غني كننده و اختصاصي** |
| 30 | تهيه و استريل نمودن محيط كشت لاكتوز براث و سويبين براث | نمايش دادن | محيط كشت، لوله هاي آزمايش | محيط كشت لاكتوز براث و سويبين براث را تهيه و استريل نمايد. |
| 10 | انتقال 1 سي سي از از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=جهت رديابي باكتري*E. coli*به داخل لوله حاوي محيط كشت لاكتوز براث استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | 1سي سي از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=جهت رديابي باكتري*E. coli*  به داخل لوله حاوي محيط كشت لاكتوز براث استريل انتقال دهد. |
| 10 | انتقال 1 سي سي از از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=جهت رديابي باكتري*Salmonella* به داخل لوله حاوي محيط كشت لاكتوز براث استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | 1سي سي از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH= راجهت رديابي باكتري*Salmonella*  به داخل لوله حاوي محيط كشت لاكتوز براث استريل انتقال دهد. |
| 10 | انتقال 1 سي سي از از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=جهت رديابي باكتري *Staphylococcus aureus* به داخل لوله حاوي محيط كشت سويبين براث استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | 1سي سي از از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=راجهت رديابي باكتري *Staphylococcus aureus*  به داخل لوله حاوي محيط كشت سويبين براث استريل انتقال دهد. |
| 10 | انتقال 1 سي سي از از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=جهت رديابي باكتري *Pseudmonas aerogensa* ب*ه* داخل لوله حاوي محيط كشت سويبين براث استريل | نشان دادن نحوه انجام كار | سمپلر،  محيط كشت آماده، لوله هاي آزمايش | 1سي سي از از نمونه دارويي رقيق شده با بافر فسفات2/7 pH=راجهت رديابي باكتري *Pseudmonas aerogensa*  به داخل لوله حاوي محيط كشت سويبين براث استريل انتقال دهد. |
| 5 | انتقال تمام لوله ها به انكوباتور | نمايش دادن | انكوباتور | تمام لوله ها رابه انكوباتور انتقال دهد. |

جلسه 6

: آزمایش تعیین هویت میکروبها در فراورده دارویی - کشت در محیط های افتراقی و انتخابی

زمان:80 دقیقه

رفرانس برای دانشجو: hand book of pharmaceutical microbiology

تعداد فراگیران: 14 نفر

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| هدف کلی | رفتارهای عینی ویژه | وسایل مورد نیاز | فعالیت های مدرس | فعالیت های دانشجو | شیوه ارزشیابی | زمان |
| شناسایی استاف ارئوس ، سودوموناس آئروژینوز،سامونلا و اشريشيا كلي احتمالی موجود در فراورده دارویی را از طریق محیط کشتهای افتراقی انجام دهد. | شرایط استریل جهت کشت را ایجاد کند.  ازلاکتوز براث به تترا تیونات یا سلنیت سیستئین و مک کانکی آگار منتقل شود.  از SCDB به ستریماید آگار و مانیتول سالت آگار، برد پارکر اگارو وژل جانسون آگار منتقل شود.  پلیت ها و لوله های کشت داده شده را در انکوباتور قرار دهد.  میز کار را تمیز نماید. | الکل 70 درجه، پنبه و شعله گاز  انس، لوپ استریل ، نمونه دارویی در لاکتوز براث و محیط های کشت تترا تیونات، سلنیت سیستئین و مک کانکی آگار  انس، لوپ استریل ، نمونه دارویی در SCDB ،محیط کشت های مانیتول سالت آگار،برد پارکر اگار،  وژل جانسون آگار و  ستریماید آگار  انکوباتور  الکل 70 درجه، پنبه | توضیح دادن اهداف آزمایش،خصوصیات محیط های کشت و نحوه افتراق توسط آنها  نمایش دادن نحوه انجام کار  توضیح دادن خصوصیات محیط ها  ونمایش دادن نحوه انجام کار  توضیح دادن خصوصیات محیط ها  ونمایش دادن نحوه انجام کار  راهنمایی کردن  نمایش دادن نحوه انجام کار | ایجاد شرایط استریل  انتقال نمونه به محیط کشتها و انجام کشت سطحی در لوله وپلیت  انتقال نمونه به محیط کشتها و انجام کشت سطحی در لوله وپلیت  انکوباسیون محیط کشتها  تمیز کردن میز کار | پرسش و پاسخ کلاسی  بررسي نتايج جلسه قبل، امتحان كتبي و عملی | 45  5  10  10  5  5 |

جلسه 7

آزمایش تعیین هویت میکروبها در فراورده دارویی- کشت در محیط های افتراقی و انتخابی

زمان: 85دقیقه

رفرانس برای دانشجو: hand book of pharmaceutical microbiology

تعداد فراگیران: 14 نفر

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| هدف کلی | رفتارهای عینی ویژه | وسایل مورد نیاز | فعالیت های مدرس | فعالیت های دانشجو | شیوه ارزشیابی | زمان |
| شناسایی استاف ارئوس ، سودوموناس آئروژینوز،سامونلا وe.coli احتمالی موجود در فراورده دارویی را از طریق محیط کشتهای افتراقی انجام دهد. | نتایج جلسه قبل مشاهده شود.  شرایط استریل جهت کشت را ایجاد کند.  از مک کانکی آگار به EMBآگار منتقل شود.  از تترا تیونات یا سلنیت سیستئین به محیط های کشت آگاردارEMB، XLD، BG و TSIمنتقل شود.  از ستریماید آگار به سودوموناس آگار منتقل شود.  پلیت ها و لوله های کشت داده شده را در انکوباتور قرار دهد.  میز کار را تمیز نماید. | الکل 70 درجه، پنبه و شعله گاز  انس، لوپ استریل، نمونه باکتری در مک کانکی آگار  محیط های کشت آگاردار EMB، XLD، BG و TSI و  انس ، لوپ استریل  سودوموناس آگار، ستریماید آگارو انس  انکوباتور  الکل 70 درجه، پنبه | توضیح دادن اهداف آزمایش،خصوصیات محیط های کشت و نحوه افتراق توسط آنها  نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار | گزارش نتایج  ایجاد شرایط استریل  انتقال نمونه به محیط کشتها و انجام کشت سطحی در لوله وپلیت  انتقال نمونه به محیط کشتها و انجام کشت سطحی در لوله وپلیت  انتقال نمونه به محیط کشتها و انجام کشت سطحی در لوله  انکوباسیون محیط کشتها  تمیز کردن میز کار | پرسش و پاسخ کلاسی  بررسي نتايج جلسه قبل، امتحان كتبي و عملی | 30  10  5  10  15  5  5  5 |

جلسه 8

آزمایش تعیین هویت میکروبها در فراورده دارویی- تست های بیوشیمیایی و بررسی میکروسکوپی

زمان:120 دقیقه

تعداد فراگیران: 14 نفر

رفرانس برای دانشجو: hand book of pharmaceutical microbiology

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| هدف کلی | رفتارهای عینی ویژه | وسایل مورد نیاز | فعالیت های مدرس | فعالیت های دانشجو | شیوه ارزشیابی | زمان |
| دانشجو با نحوه انجام تست بیوشیمیایی کواگولاز،اکسیدازو رنگ آمیزی گرم آشنا شود. | روی لام میکروسکوپ 2سی سی سرم قرار داده شود.  با یک لوپ استریل،چند کلنی استاف ارئوس از محیط کشت (BPA,VGA , MSA) به لام منتقل شود.  ترکیب بهم زده شده و40 ثانیه صبر شود.  نتیجه گزارش شود.  کاغذ صافی به معرف اکسیداز آغشته شود.  سودوموناس آئروژينوزا توسط لوپ از سطح محيط ستريمايد آگار يا سودوموناس آگار برداشته شود.  باكتريها به کاغذ صافی تماس داده شود.  20-30 ثانیه صبر شده ونتیجه گزارش شود. | لام میکروسکوپ  کاغذ صافی،تترا متیلن پارا فنیلن دی آمین یا آلفا نفتول  کشت 24 ساعته سودوموناس آئروژینوزا، لوپ استریل، شعله | توضیح دادن اهداف آزمایش،نحوه انجام تستهای بیوشیمیایی و رنگ آمیزی گرم  نمایش دادن نحوه انجام تست کواگولاز  نحوه انجام تست | گزارش نتایج  انتقال خون به لام  انتقال کلنیها به لام  هم زدن  گزارش نتیجه  آغشتن کاغذ صافی به معرف  برداشتن باکتری  تماس باکتری با صافی  گزارش نتیجه | پرسش و پاسخ کلاسی  بررسي نتايج جلسه قبل، امتحان كتبي و عملی | 30  15  5  3  1  2  5  2  1  5 |
| دانشجو با نحوه انجام تست بیوشیمیایی کواگولاز،اکسیدازو رنگ آمیزی گرم آشنا شود. | لام تمیزی برداشته شود.  با پیست یک قطره آب مقطر روی لام گذاشته شود.  با لوپ استریل از باکتری 1-2 کلنی به لام منتقل شود.  لام 2-3 بار از روی شعله عبور داده شود.  .لام روی تشک رنگ آمیزی قرار داده شود.  با معرف کریستال ویوله روی گسترش را پوشانیده و 30-60 ثانیه صبر شود.  گسترش به ارامی با آب شسته شود.  با معرف لوگول روی گسترش را پوشانیده و 30-60 ثانیه صبر شود.  گسترش به ارامی با آب شسته شود.  با ترکیب الکل استن روی گسترش را پوشانیده و 30 ثانیه صبر شود.  با معرف فوشین فنیکه روی گسترش را پوشانیده و 30 ثانیه صبر شود.  گسترش به ارامی با آب شسته شود.  در هوای اطاق لام ها خشک شود. | لام  پیست  لوپ استریل،  کشت 24 ساعته E.coli , استاف ارئوس  لام  تشک رنگ  معرف کریستال ویوله  معرف لوگول  ترکیب الکل استن  معرف فوشین فنیکه | نمایش دادن نحوه انجام کار | برداشتن لام  گذاشتن  قطره آب مقطر روی لام  تهیه گسترش  قرار دادن لام روی تشک رنگ آمیزی  مرحله اول رنگ آمیزی  شستشو با آب  مرحله دوم رنگ آمیزی  شستشو با آب  مرحله سوم رنگ آمیزی  مرحله چهارم رنگ آمیزی  شستشو با آب  خشک کردن | نتایج مشاهده شده در جلسه بعد، کوییز کلاسی و  پرسش و پاسخ کلاسی | 5  2  5  2  2  2  2  2  2  2  2  2  5 |

جلسه 9عنوان: تعيين مقدار آنتي بيوتيك جنتامایسین با روش ميكروبي (ديفوزيون در آگار) (1)

زمان:160 دقیقه

رفرانس برای دانشجو: USP 30

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| هدف کلی | رفتارهای عینی ویژه | وسایل مورد نیاز | فعالیت های مدرس | فعالیت های دانشجو | شیوه ارزشیابی | زمان |
| دانشجو بتواند يك رابطه خطي بين قطر هاله عدم رشد و غلظت دارو پيدا كند. | از پودر استاندارد كلاريترومايسين در حلال اوليه ، استوك تهيه شود.  بافر فسفات استريل تهيه شود.  از استوك اوليه با رقيق كننده نهايي رقت S3  تهيه شود.  از S3  با رقيق كننده نهايي رقت هاي S1 S2,S4وS5 تهيه شود.  شرایط استریل جهت کشت را ایجاد کند.  دماي محيط كشت آنتي بيوتيك گار1 به 40-45درجه برسد.  از شيرابه ميكروبي باسيلوس سوبتيليس، 2 سي سي به محيط كشت انتي بيوتيك آگار شماره 1اضافه شود.  تركيب باكتري و محيط كشت بهم زده شود.  مخلوط مزبور به پليت افزوده شود.  پلیتها شماره گذاری شود. مثلا s1و یک درمیان s3  مدت زمان لازم سپري شده تا محيط جامد شود.  سيلندر گذاري بعد از جامد شدن محيط كشت انجام شود.  با پنس استريل چاهك ايجاد شود. | پودر استاندارد كلاريترومايسين  متانول  KH2po4,K2Hpo4  اب مقطر،بافر فسفات  بافر فسفات  فالكون استريل  بافر فسفات  فالكون استريل  الکل 70 درجه، پنبه  شيرابه ميكروبي، محيط كشت انتي بيوتيك آگار1  پليت  پلیت  سيلندر استريل  پنس استريل | توضيح نحوه انجام کار  توضيح  نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار  توضیح انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار | تهيه استوك  تهيه بافر فسفات واستريل كردن  تهيه كردن رقت استاندارد S3  تهيه كردن رقت هاي استاندارد  ایجاد شرایط استریل  انکوباسیون محیط کشتها  بهم زدن ارلن  افزودن به پليت  شماره گذاری  سيلندر گذاري  حفر چاهك | نتایج مشاهده شده در جلسه بعد، کوییز کلاسی و  پرسش و پاسخ کلاسی | 30  15  10  10  10  10  5  5  5  5  10  10  10 |

عنوان جلسه 10: تعيين مقدار آنتي بيوتيك كلاريترومايسين با روش ميكروبي (2)

زمان:58 دقیقه تعداد فراگیران: 14 نفر

رفرانس برای دانشجو: United States Pharmacopia 30

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| هدف کلی | رفتارهای عینی ویژه | وسایل مورد نیاز | فعالیت های مدرس | فعالیت های دانشجو | شیوه ارزشیابی | زمان |
| دانشجو بتواند يك رابطه خطي بين قطر هاله عدم رشد و غلظت دارو پيدا كند. | قطر هاله عدم رشد هر استاندارد در پلیت اندازه گیری شود.  میانگین قطرهاله عدم رشد در هر سری معین شود.  دو نوع میانگین در مورد s3  تعیین شود  فاکتور تصحیح برای هر سری داده تعیین شود.  فاکتور تصحیح با میانگین قطر هاله هر سری استاندارد جمع جبری شود.  رسم نمودار لگاریتم غلظت در برابر قطر هاله عدم رشد در کاغذ نیمه لگاریتمی  معادله خط ، r2  و RSD تعیین شود. | خط کش  ماشین حساب  کامپیوتر | توضیح نحوه انجام کار  توضیح نحوه انجام کار  توضیح نحوه محاسبه  توضیح نحوه محاسبه  توضیح نحوه محاسبه  توضیح نحوه محاسبه  توضیح نحوه محاسبه | اندازه گیری قطر هاله  تعیین میانگین  قطر هاله  تعیین دو نوع میانگین  تعیین فاکتور تصحیح  جمع جبری  رسم نمودار  تعیین معادله خط ، r2  وِ RSD | نتایج مشاهده شده | 20  15  10  10  15  15  15 |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | لام رنگ آمیزی شده را با روغن امرسیون وعدسی شیئی 100× مشاهده کنید.  نتیجه ازمایش را گزارش دهید.  میز کار را تمیز نماید. | روغن امرسیون  میکروسکوپ  الکل 70 درجه، پنبه | نمایش دادن نحوه انجام کار  نمایش دادن نحوه انجام کار | مشاهده کردن باکتری زیر میکروسکوپ  گزارش نتیجه  تمیز کردن میز کار |  | 5  5  5 |