

ИНСТРУКЦИЯ

По технике безопасности при проведении микробиологических исследований
в бактериологической лаборатории

1. Общие требования

1.1 Работа с ПБА может проводиться только в лабораториях, имеющих разрешение, выданное в установленном порядке.

1.2 Для работы с материалом 3-4 групп патогенности допускаются специалисты с высшим и средним медицинским, биологическим образованием.

1.3 Сотрудники лаборатории должны вакцинироваться в соответствии с действующим законодательством.

1.4 Все сотрудники, работающие с материалом 3-4 групп патогенности, должны находиться на диспансерном наблюдении.

1.5 Приборы, оборудования и средства измерений, используемые в работе лаборатории, должны быть аттестованы, технически исправны, подвергаться метрологическому контролю в установленные сроки, иметь технический паспорт.

1.6 В лаборатории должны использоваться дезинфицирующие средства, допущенные к применению в установленном порядке.

1.7 Для работы с ПБА каждый сотрудник должен быть обеспечен рабочей одеждой и сменной обувью: халатами медицинскими 2 шт., косынками или колпаками, другими средствами индивидуальной защиты в зависимости от характера выполняемых работ и в соответствии с действующими нормами.

1.8 Смена рабочей одежды должна проводиться по мере загрязнения, но не реже одного раза в неделю.

2. Требования безопасности перед началом работы

2.1 Каждый работник должен быть обеспечен рабочим местом и индивидуальной спецодеждой.

2.2 Лабораторное оборудование и мебель должны быть прочными, без острых краёв и шероховатостей, изготовленными из устойчивых к действию дезинфектантов материалов.

2.3 Лабораторные столы должны быть покрыты пластиком или другим материалом, устойчивым к действию дезинфицирующих средств и фламбированию горящим спиртовым факелом.

2.4 До начала работы в помещении лаборатории проводят уборку влажным способом.

2.5 Перед началом работы сотрудники проверяют исправность оборудования и контрольно-измерительных приборов, освещение на рабочем месте.

3. Требования безопасности во время работы

3.1 Доставка в лабораторию материалов для исследования осуществляется в контейнерах, биксах или сумках-холодильниках.

3.2 Приём и разборка материала, доставленного на исследование, проводится с соблюдением мер предосторожности на специальном столе.

3.3 Во время работы двери боксов и предбоксов должны быть закрыты.

3.4 При проведении микробиологических исследований необходимо соблюдать следующие правила:

- работу с инфекционным материалом проводить с помощью инструментов

- посев материала проводить около горячей спиртовки с обжиганием краёв пробирки, петли, иглы

- для насасывания растворов и жидкостей в пипетки использовать резиновые груши или автоматические пипетки

- использованную посуду погружать в банки с дез. раствором на сутки

- для переливания веществ пользоваться воронкой

- делать надписи при посеве инфекционного материала на пробирках, чашках Петри, колбах, флаконах с указанием названия материала, номера культуры и даты посева или соответствующего регистрационного номера

3.5 При работе с ПБА запрещается:

- работать без спецодежды, средств индивидуальной защиты, предохранительных приспособлений

- касаться руками и другими открытыми участками тела исследуемого материала

- переливать инфицированные жидкости из сосуда в сосуд через край

- проводить уборку инфицированного материала без резиновых перчаток и инструментов

-насосывать жидкости ртом в пипетки

-переносить горящие горелки

-курить, принимать пищу

3.6 Во время работы персонал принимает следующие способы дезинфекции:

-фламбирование в пламени горелки

-погружение в ёмкости с дез. растворами на сутки

-автоклавирование посуды инвентаря при 1 атм.(121°C) 15-20 минут, для питательных сред в соответствии с НД

3.7 По окончании отдельных этапов исследования персонал обязан вымыть руки мылом, при необходимости обработать их 70% раствором спирта.

4. Требования безопасности по окончании работы

4.1 По окончании работы, все объекты, содержащие ПБА, должны быть убраны в хранилища.

4.2 Использованные пипетки полностью вертикально погружаются в дезинфицирующий раствор, избегая образования в каналах пузырьков воздуха.

4.3 Остатки ПБА, использованная посуда, твёрдые отходы из «заразной зоны» лаборатории должны собираться в закрывающиеся ёмкости и передаваться в автоклавную или дезинфицироваться на месте.

4.4 Перенос ПБА и использованной посуды для обеззараживания должен осуществляться в закрывающих ёмкостях, исключающих инфицирование во время транспортирования.

4.5 Пробирки и флаконы со сгустками крови обеззараживаются только с использованием дез. раствора.

4.6 По окончании работы запрещается оставлять на рабочем месте нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с инфицированным материалом.

4.7 Рабочий стол по окончании работ с ПБА обрабатывают дез.раствором или 70% раствором спирта или фламбируют горящим спиртовым факелом.

4.8 В конце рабочего дня проводят влажную уборку помещения с применением дез.растворов и моющих средств.

4.9 После уборки помещения облучают бактерицидными лампами в течение 30-60 минут

4.10 По окончании рабочей смены персонал моет руки, снимает спецодежду и снова моет руки. Запрещается выходить из помещения в спецодежде.

Подпись общего руководителя _____

Подпись студента _____

День 2.

06.06.19

1. Дезинфекция дез.раствором.
2. Приготовление посуды для исследования мокроты.

Для этого в чистые стеклянные маленькие баночки кладётся по 3 небольших кусочка стекла и закрываются крышками.



3. Взятие смывов с поверхности подоконника, стола, выключателей света, ручки двери и полки термостата.



Смыв – это образец микрофлоры с твердой поверхности, растворенный в питательной жидкости для выращивания бактериального посева.

Методика взятия смывов и их исследования закреплена в правилах производственного контроля.

Техника взятия смывов

Взятие смывов производится с помощью стерильных увлажненных ватных тампонов. Стерильные ватные тампоны на стеклянных, металлических или деревянных палочках, вмонтированных в пробирки с ватными пробками, заготавливают заранее в лаборатории. В день взятия смывов в каждую пробирку с тампоном наливают (в условиях бокса над горелкой) по 5 мл стерильного 0,1% водного раствора пептона таким образом, чтобы ватный тампон не касался жидкости.

Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняют средой.

Смывы с крупного оборудования и инвентаря берут с поверхности 100 см², для ограничения поверхностей используют шаблон (трафарет), сделанный из проволоки. Трафарет имеет площадь 25 см², чтобы взять смывы с площади в 100 см² его накладывают 4 раза в разных местах поверхности контролируемого объекта.

При взятии смывов с мелких инструментов обтирается вся поверхность предмета, при заборе смывов с тарелок протирают всю внутреннюю поверхность. При взятии смывов с мелких предметов одним тампоном протирают три одноименных объекта — три тарелки, три ложки и т. п. У столовых приборов протирают их рабочую часть.

При исследовании стаканов протирают внутреннюю поверхность и верхний наружный край стакана на 2 см вниз.

При взятии смывов с рук протирают тампоном ладонные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой ладони и пальцам, затем протирают межпальцевые пространства.

При взятии смывов с санитарной одежды протирают 4 площадки по 25 см² — нижнюю часть каждого рукава и 2 площадки с верхней и средней частей передних пол спецовки. С различных мест полотенца берут 4 площадки по 25 см².

После взятия смывов пробирки в штативе убираются в термостат при t=37°C на 24 ч.

День 3.

07.06.19

1. Дезинфекция кабинета.
2. Наполнение бикса чистыми пробирками.



3. Приготовление среды Левенштейна.



4. Разлитие среды Левенштейна по пробиркам.



Основа **среды Левенштейна–Йенсена** с добавлением яичной эмульсии используется для выращивания микобактерий, выделения чистой культуры и для оценки чувствительности к противотуберкулезным препаратам.

Способ приготовления среды

Раствор малахитового зеленого готовят, растворяя в 100 мл дистиллированной стерильной воды 2 г малахитового зеленого. Помещают раствор в термостат на 1-2 часа и затем стерилизуют при 1 атм 30 минут

Яичную массу готовят из свежих диетических куриных яиц без трещин и дефектов, моют в мыльном растворе и оставляют в нем на 30 минут, промывают в проточной воде и погружают в 70% этиловый спирт на 30 минут. Затем в стерильном боксе разбивают яйца стерильным ножом в стерильную посуду, доводя их количество до 1 литра (20-25 яиц) и тщательно взбивают стерильным венчиком.

Далее в стерильную емкость помещают водный раствор солей с глицерином в количестве 600 мл, затем гомогенизированную яичную массу в количестве 1000 мл, перемешивают, фильтруют. К фильтрату добавляют водный раствор малахитового зеленого, еще раз фильтруют, перемешивают, разливают в пробирки емкостью 4-5 мл. Для образования скоса питательной среды пробирки укладывают в наклонном положении в аппарат для свертывания

типа «АСИС», предварительно нагретый до 85°C. Среду коагулируют 45 минут при температуре 85°C.

Питательная среда, приготовленная по известному способу, до коагуляции может храниться не более 2 суток, а после коагуляции (в свернутом виде) до 3-4 недель до использования, при этом уже после недели хранения ростовые свойства среды (биологическая активность) начинают снижаться.

День 4.

08.06.19

Самостоятельное заполнение дневника

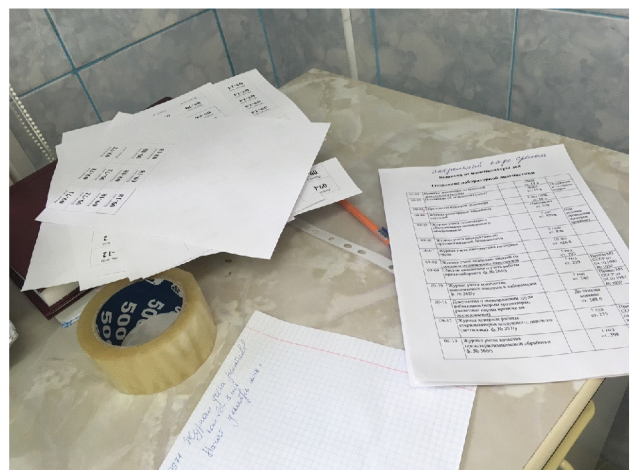
День 5.

10.06.19

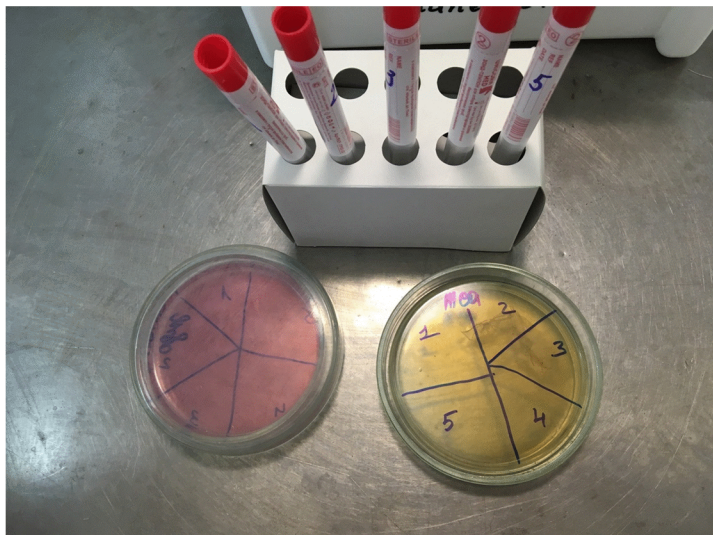
1. Дезинфекция кабинета.
2. Заполнение бикса чистыми пробирками.



3. Заполнение различных журналов учёта.



4. Пересев смывов на чашки Петри со средой Эндо и Сабуро.



Среда Эндо — дифференциально-диагностическая питательная среда, предназначенная для выделения энтеробактерий.

Сабуро среды — элективные среды для выращивания патогенных грибков.

Пересев заключается в переносе культуры **микроорганизмов**, выращенной на одной питательной среде, на другую свежую питательную среду.

Техника посева на чашку Петри

Пробирку держат в наклонном положении в левой руке между большим и указательным пальцем. Правой рукой берут петлю или пипетку. Непосредственно перед взятием материала бактериальную петлю прокалывают на огне. Для того чтобы остудить горячую петлю, ее погружают в конденсационную жидкость внутри пробирки или прикасаются к поверхности питательной среды свободной от микроорганизмов (остуженная петля при соприкосновении с агаровой средой не вызывает ее расплавления). Мизинцем и мякотью ладони правой руки вынимают пробку из пробирки. Края пробки при вынимании пробки прожигают. Набирают материал для посева и вносят его в чашку Петри.

Чашки Петри при пересеве должны лежать на столе вверх крышкой. Крышку фиксируют большим, средним и указательным пальцами и приоткрывают настолько, чтобы в образовавшуюся щель свободно входила петля или пипетка. Полностью крышку с чашки Петри во время работы не снимают во

избежание попадания посторонних микроорганизмов в стерильную питательную среду или исследуемый материал.

После окончания посева на чашках Петри со стороны дна стеклографом подписывают название засеянного материала, ставят номер анализа или проставляют дату посева.

День 6.

11.06.19

1. Дезинфекция кабинета дез.средством.
2. Заполнение бикса чистой стерильной посудой для исследования мокроты.



3. Приготовление ингредиентов для варки среды Левенштейна.

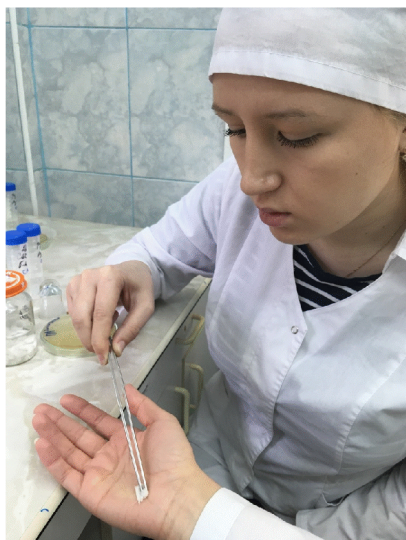
Для этого мы мыли яйца с мылом под проточной водой, обтирали их спиртом и складывали в чистую кастрюлю.



4. Разливка дистиллированной воды в стеклянную тару.



5. Производство смывов с рук.



Смывы с рук работников берутся следующим образом: сначала тампоном протираются ладони и пальцы рук (обеих, причем тампоном проводят не менее пяти раз), также протираются межпальцевые области, ногти и участки под ногтями

День 7.

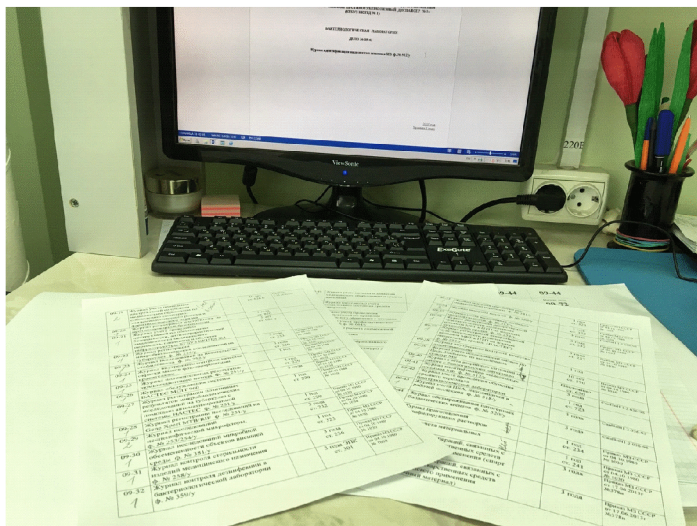
12.06.19

Самостоятельное заполнение дневника.

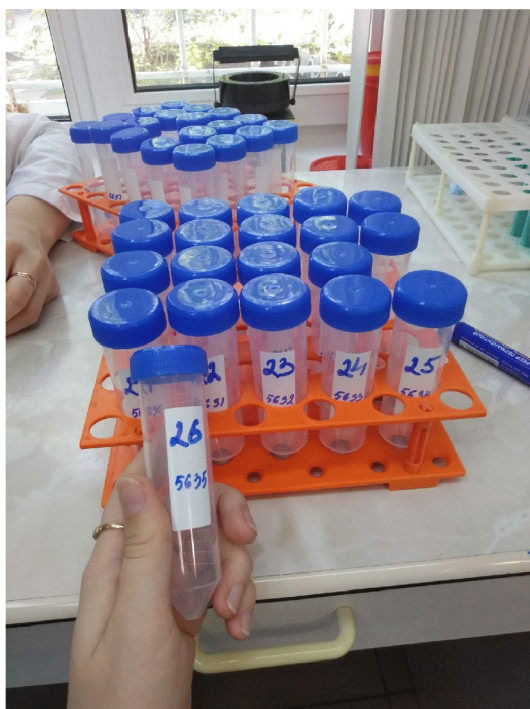
День 8.

13.06.19

1. Дезинфекция кабинета.
2. Работа с документацией.



3. Маркировка пробирок.



4. Подготовка стерильной посуды к исследованию мокроты.



5. Заполнение бикса чистыми стерильными пробирками.



День 9.

14.06.19

Самостоятельное заполнение дневника.

День 10.

15.06.19

Самостоятельное заполнение дневника.

День 11.

17.06.19

Сдача дневника на подпись руководителю практики.