

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ РУКОВОДСТВО К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Под редакцией

профессора В.Б. Сбойчакова, доцента М.М. Карапаца

Министерство образования и науки РФ

Рекомендовано ГОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» в качестве учебника для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям 060101.65 «Лечебное дело» и 060103.65 «Педиатрия» по дисциплинам «Микробиология, вирусология», «Иммунология»; по специальности 060105.65 «Медико-профилактическое дело» по дисциплине «Микробиология. Вирусология. Иммунология»; по специальности 060201.65 «Стоматология» по дисциплинам «Микробиология. Вирусология», «Иммунология»

Регистрационный номер рецензии 143 от 11 мая 2011 года
ФГУ «Федеральный институт развития образования»



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2013

Занятие № 1

ПРАВИЛА РАБОТЫ И УСТРОЙСТВО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ. МЕТОДЫ МИКРОСКОПИИ. ТЕХНИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ. ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ МЕТОДЫ ОКРАСКИ

Знание и неукоснительное соблюдение правил работы с различными группами микроорганизмов являются гарантией отсутствия случаев внутрилабораторных заражений, а изучение техники приготовления микроскопических препаратов является основой микроскопического метода исследования.

Цель занятия

Ознакомление студентов с устройством микробиологических лабораторий, изучение правил работы в них, освоение техники приготовления и микроскопического исследования окрашенных препаратов.

Студент должен знать

1. Определение термина «микробиология». Задачи, достижения и проблемы данной научной сферы. Связь микробиологии с другими дисциплинами.
2. Принципы организации и оборудование микробиологической лаборатории.
3. Правила работы в микробиологической лаборатории.
4. Простые и сложные методы окраски бактерий.

Студент должен уметь

1. Содержать рабочее место в порядке.
2. Микроскопировать препараты, обнаруживать внутриклеточные включения, капсулы, элементы бактериальной клетки.
3. Работать с помощью иммерсионного объектива биологического микроскопа, с фазово-контрастной установкой и в темном поле.
4. Приготовить мазок-препарат, окрашенный простым способом по методам Грама, Циля—Нильсена.
5. Приготовить препараты для микроскопического исследования микроорганизмов в живом состоянии.

Правила работы и устройство микробиологической лаборатории

Бактериологические и вирусологические лаборатории входят в состав как лечебно-профилактических, так и санитарно-эпидемиологических учреждений. В лабораториях выполняются бактериологические, вирусологические, серологические и микологические анализы материалов, полученных от больных и контактных лиц, обследуются бактерионосители и проводятся санитарно-микробиологические исследования.

По степени опасности (патогенности) все микроорганизмы и вирусы разделены на 4 группы. Наиболее опасные отнесены к I и II группам. Работа с этими возбудителями проводится в специальных режимных лабораториях. Классификация, используемая Всемирной организацией здравоохранения, отличается от российской обратным порядком: микроорганизмы и вирусы наиболее высокой степени патогенности, наоборот, отнесены к IV группе.

Вирусологические лаборатории предназначены для исследований в интересах диагностики заболеваний вирусной, хламидийной и риккетсиозной природы.

Микробиологическая лаборатория в зависимости от ее профиля обеспечивается необходимым для работы количеством помещений, что регламентируется санитарно-эпидемиологическими правилами: «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (СП 1.3.2322-08).

Микробиологические лаборатории, где проводят работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности, должны размещаться в отдельно

стоящем здании или в изолированной части здания. На входной двери лаборатории должны быть обозначены название (номер) лаборатории и международный знак «Биологическая опасность» (рис. 1).

Размещение лабораторий в жилых зданиях не допускается. Производственные лаборатории, проводящие работу с патогенными биологическими агентами III группы, должны располагаться в отдельно стоящих зданиях или изолированном блоке здания, имеющем отдельный вход, а производственные лаборатории,



Рис. 1. Знак «Биологическая опасность»

работающие с микроорганизмами IV группы, могут располагаться в изолированном блоке производственного корпуса.

Диагностические лаборатории должны иметь два входа: один — для сотрудников, другой — для доставки материала на исследование. Допускается получение материала через передаточное окно. Лаборатория должна быть обеспечена холодным и горячим водоснабжением, канализацией, электричеством, отоплением и вентиляцией. Все помещения лаборатории должны иметь естественное и искусственное освещение в соответствии с требованиями действующих нормативных документов. Лаборатории должны иметь набор рабочих и вспомогательных помещений (комнат). Набор помещений и их оснащение оборудованием могут варьироваться в зависимости от конкретных целей и задач лаборатории. Помещения лабораторий разделяют на «заразную» зону, где осуществляются манипуляции с микроорганизмами III–IV групп и их хранение, и «чистую» зону, где не проводят работы с микроорганизмами и не осуществляется их хранение.

В «чистой» зоне лабораторий должны располагаться следующие помещения:

- гардероб для верхней одежды;
- помещения для проведения подготовительных работ (препараторская, моечная, комната приготовления и разлива питательных сред и др.);
- помещение для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды (стерилизационная);
- помещение с холодильной камерой или холодильниками для хранения питательных сред и диагностических препаратов;
- помещение для работы с документами и литературой;
- помещение для отдыха и приема пищи;
- кабинет заведующего;
- помещение для хранения и надевания рабочей одежды;
- подсобные помещения;
- туалет.

В «заразной» зоне должны размещаться:

- помещение для приема и регистрации материала (проб);
- боксированные помещения с предбоксами или помещения, оснащенные боксами биологической безопасности;
- помещение для проведения бактериологических (вирусологических) исследований;
- помещение для проведения иммунологических исследований;
- помещение для люминесцентной микроскопии;

- помещение для проведения зооэнтомологических работ;
- помещение для гельминтологических исследований;
- помещение для работы с лабораторными животными (осуществление процессов заражения, вскрытия);
- помещение для содержания инфицированных лабораторных животных;
- помещение для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностики);
- термостатная комната;
- помещение для обеззараживания (автоклавная).

На границе «чистой» и «заразной» зон должен располагаться санитарный пропускник. При отсутствии водопровода и канализации устраивают местный водопровод, канализацию и очистные сооружения с устройствами для обеззараживания сточных вод.

В лаборатории устанавливают водопроводные раковины для мытья рук персонала и раковины, предназначенные для мытья посуды и инвентаря.

Помещения лаборатории оборудуют легко открываемыми фрамугами (форточками), которые в летнее время закрываются мелкоячеистыми сетками.

Стены в лабораторных помещениях облицовывают кафелем на высоту 1,5 м или красят масляной краской светлых тонов; в боксах и виварии стены и потолок красят масляной краской. Полы покрывают линолеумом, в боксах и виварии — гладкой плиткой.

Лабораторную мебель красят масляной или эмалированной краской светлых тонов, рабочие поверхности столов покрывают пластиком или другим материалом, не портящимся от применения дезинфектантов. Внутренние и наружные поверхности мебели должны быть без щелей и пазов, затрудняющих проведение дезинфекции.

Приборы, оборудование и средства измерений, используемые в работе лаборатории, должны быть аттестованы, технически исправны, иметь технический паспорт и рабочую инструкцию по эксплуатации с учетом требований биологической безопасности. Температура воздуха в лабораторных помещениях поддерживается в пределах 18–21 °С, в районах с жарким климатом они оборудуются кондиционерами.

Помещения лаборатории должны быть непроницаемы для грызунов.

Каждый сотрудник лаборатории должен иметь закрепленное за ним рабочее место. Перед началом работы надевается спецодежда, которая хранится в индивидуальных шкафчиках отдельно от верхней одежды. Тип защитного костюма и частота его смены определяются в зависимости от характера работы.

Выполняя микробиологические исследования, необходимо соблюдать следующие правила:

- с инфицированным материалом работают только с помощью инструментов (пинцетов, петель, корнцангов и др.);
- прикасаться руками к исследуемому материалу и конденсату в засеянных чашках запрещается;
- перед работой тщательно проверяют целостность стеклянной посуды, проходимость игл и надежность поршней шприцев;
- при посеве материала делают надпись на пробирках, чашках Петри, колбах, флаконах с названием номера анализа (культуры) и даты посева;
- в пробирки и чашки Петри материал высевают вблизи от огня горелки с обжиганием петли, шпателя, краев пробирки;
- во время работы все чашки с посевами помещают в кюветы или на подносы, пробирки — в штативы;
- растворы, содержащие патогенные микроорганизмы, набирают пипеткой с помощью резинового баллона;
- насасывать ртом и переливать растворы из сосуда в сосуд через край нельзя;
- по окончании работы запрещается оставлять на рабочих столах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и другую посуду с инфицированным материалом.

Доставлять инфицированный материал в лабораторию и переносить его из одной лаборатории в другую на территории учреждения нужно в специально приспособленной посуде (металлических биксах, ящиках, баках).

В комнатах, предназначенных для обработки и посева инфекционного материала, нельзя проводить другие работы, выращивать цветы, держать домашних животных.

Принимать пищу, пить, курить, хранить продукты питания в помещениях, где работают с материалом, зараженным патогенными микроорганизмами или подозрительным на такое заражение, запрещается.

Центрифугирование инфекционного материала проводит специально обученный персонал. Если в процессе центрифугирования разбивается пробирка, содержащая инфекционный материал, центрифугу отключают от сети, выжидают время для того, чтобы осели капли аэрозоля, дезинфицируют, а загрязненные места очищают.

Термостаты и термостатные комнаты, предназначенные для выращивания патогенных микроорганизмов, дезинфицируют не реже одного раза в месяц.