

Федеральное медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
среднего профессионального образования
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»
(ФГБОУ СПО СПб МТК ФМБА России)

Тема лекции №3:

Основы
микробиологии и
иммунологии

Классификация
микроорганизмо
в по степени из
биологической
опасности..ТБ
при работе с
инфицированн
ым материалом.

Преподаватель:
Гуц Н.И.
2017г

- Меры биобезопасности при работе с инфицированным материалом.

Биологическую опасность, или риск для здоровья людей и окружающей среды, могут представлять инфицированные организмы или биологический материал, содержащий микроорганизмы или токсины биологического происхождения.

Биологическая безопасность – порядок осуществления лабораторных исследований и специальное оснащение микробиологических лабораторий, которые защищают персонал лабораторий и окружающую среду при работе с потенциально инфекционными микроорганизмами.

Уровень биобезопасности – уровень мер предосторожности, необходимых при работе с потенциально опасными биологическими агентами. Различают 4 уровня биобезопасности (табл. 1). В зарубежных странах более высокий номер уровня биобезопасности означает возрастающий риск при выполнении лабораторных исследований.

Таблица 1
Характеристика уровней биобезопасности

<p>1 группа (наиболее высокий)</p>	<p>Опасные и экзотические агенты, вызывающие тяжёлые заболевания, в отношении которых не разработаны вакцины и способы лечения.</p>	<p>Боксы безопасности 3 класса или «костюмы космонавтов» с автономной системой подачи воздуха.</p>	<p><i>Y. pestis</i> <i>вирусы геморрагических лихорадок (в. крымской геморрагической лихорадки (вирус Конго), в. Ласса, в. лихорадки Денге, в. Марбург, в. Мачупо, в. Хунин, в. Эбола, Хантавирусы)</i> <i>в. птичьего гриппа (H5N1)</i></p>
--	---	--	--

<p>2 группа (опасные)</p>	<p>Биологические агенты, которые могут вызывать серьёзные или потенциально летальные заболевания в результате ингаляционного заражения, в отношении которых существуют вакцины и способы лечения.</p>	<p>Боксы безопасности 2 класса</p>	<p><i>Bacillus anthracis</i> <i>Coxiella burnetii</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Rickettsia rickettsii</i> <i>Salmonella typhi</i> в. атипичной пневмонии (SARS) в. венесуэльского лошадиного энцефаломиелита в. жёлтой лихорадки в. лихорадки долины Рифт в. лихорадки Западного Нила в. Пятнистой лихорадки Скалистых гор в. натуральной оспы <i>Plasmodium falciparum</i> <i>Trypanosoma cruzi</i></p>
-------------------------------	---	------------------------------------	--

<p>3 группа (потенциально опасные)</p>	<p>Биологические агенты, обладающие потенциальным риском для персонала и окружающей среды. Часто вызывают серьёзные заболевания, эффективное лечение и профилактика которых доступны.</p>	<p>Оснащение соответствует классу 1. Требуются строгие меры предосторожности при проведении процедур, при которых могут создаваться инфекционный аэрозоль или брызги. Особые меры предосторожности применяют в отношении острых и режущих предметов.</p>	<p><i>Bacillus subtilis</i> <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Mycobacterium other than tuberculosis</i> <i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus (MRSA и VRSA)</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> в. гепатитов А, В, С ВИЧ в. группа А в. кори в. эпидемического паротита прионы генетически модифицированные организмы</p>
--	---	--	--

Уровень биобезопасности	Описание	Оснащение лабораторий	Микроорганизмы
4 группа (наиболее низкий)	Биологические агенты, которые обладают минимальным риском для персонала и окружающей среды.	Не требуется специального оснащения. Должны быть приспособления для мытья рук, легко обеззараживаемые рабочие поверхности, прочная мебель, окна с противомоскитными сетками, отсутствие автоматической вентиляции, личная защитная одежда (перчатки, халаты), автоматические дозаторы, защита глаз и лица, автоклавы, безопасные центрифуги.	<i>Agrobacterium radiobacter</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Escherichia coli K12</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Micrococcus leuteus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Aspergillus niger</i>

Таблица 1
Характеристика уровней биобезопасности

В России по степени опасности для человека и окружающей среды также выделено **4 группы возбудителей инфекционных заболеваний**, однако, наоборот, более низкий номер группы означает возрастающий риск при выполнении лабораторных исследований.

I группа – возбудители ООИ: чумы, натуральной оспы, геморрагических лихорадок (Ласса, Эбола и др.).

II группа – возбудители высококонтагиозных бактериальных, грибковых и вирусных инфекций: сибирской язвы, бруцеллеза, туляремии, холеры, сыпного тифа, бластомикоза, бешенства, СПИДа, гепатитов В и С и др., ботулотоксины и столбнячный токсин.

III группа – возбудители других инфекций: коклюша, столбняка, ботулизма, туберкулёза, трихомониаза, малярии, лейшманиоза, гриппа, полиомиелита, герпесвирусы и др.

IV группа – условно-патогенные (возбудители газовой гангрены, клебсиеллы, стафилококки, стрептококки, синегнойная палочка, некоторые кандиды и аспергиллы, амебиаза, аденовирусы, ротавирусы, энтеровирусы и др.) и непатогенные микроорганизмы.

Аттенуированные штаммы возбудителей I–II групп относятся к микроорганизмам III группы патогенности, **а аттенуированные** штаммы III–IV групп – к IV группе патогенности.

Работа с материалом, содержащим микроорганизмы I–II групп патогенности, требует соблюдения строгих мер безопасности для предупреждения случаев внутрилабораторного заражения, выноса инфекции за пределы лаборатории и предупреждения контаминации окружающей среды, поэтому исследования проводятся в специально оборудованных режимных микробиологических лабораториях специально обученным и вакцинированным персоналом (если существуют вакцины).

Работа с материалом, содержащим микроорганизмы III–IV групп патогенности, регламентируется Санитарными правилами «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и гельминтами», которые приняты к исполнению на территории РБ Постановлением Главного государственного санитарного врача № 40 от 27.07.2000 года. Исследования проводятся в бактериологических лабораториях при лечебно-профилактических учреждениях и при центрах гигиены и эпидемиологии.

В зависимости от выполняемых исследований, **микробиологические** лаборатории подразделяют на **диагностические, производственные и научно-исследовательские**. В соответствии с типами микроорганизмов, изучаемых в микробиологических лабораториях, выделяют бактериологические, вирусологические, микологические и протозоологические лаборатории.

В зависимости от уровня безопасности работы с микроорганизмами микробиологические лаборатории подразделяют на **четыре группы риска**.

I группа – лаборатории особого режима (максимально изолированные) с высоким индивидуальным и общественным риском.

II группа – режимные лаборатории (изолированные) с высоким индивидуальным и низким общественным риском.

III группа – базовые (основные) лаборатории с умеренным индивидуальным и ограниченным общественным риском.

IV группа – базовые (основные) лаборатории с низким индивидуальным и общественным риском.

На практических занятиях студенты работают с микроорганизмами IV группы патогенности в микробиологической лаборатории, где

необходимо соблюдать следующие правила:

1. В помещение бактериологической лаборатории нельзя входить без специальной одежды - медицинского халата и шапочки, запрещается приносить в практикум верхнюю одежду. Запрещается посещение студентов, работающих в лаборатории, посторонними лицами. Каждый студент должен работать на закреплённом за ним рабочем месте. Во время работы в лаборатории следует соблюдать тишину, порядок и чистоту.

2. В помещении бактериологической лаборатории категорически ***запрещается*** принимать пищу, курить, использовать косметические средства. Ежедневная тщательная уборка помещения производится влажным путём с применением дезинфицирующих жидкостей.

3. В каждой группе назначается постоянный дежурный студент, который осуществляет контроль за поддержанием чистоты и порядка студентами группы на рабочих местах.

4. Всё необходимое для работы на занятии (чашки, пробирки, пипетки, бактериальные петли) студенты берут на специальном столе, туда же ставится выполненная на занятии работа. Пробирки и чашки с инфицированным материалом обязательно подписывают (характер материала, название культуры, дата, № группы, ф. и. о. исследователя). После окончания работы рабочее место должно быть приведено в полный порядок.

5. Перед выполнением работ и после завершения необходимо вымыть руки с мылом. Весь материал, поступающий в лабораторию, должен рассматриваться как инфицированный.

Работа с биоматериалами проводится в резиновых перчатках. *Запрещается прикасаться к биоматериалу и микробным культурам руками.*

Если контакт с кровью или другими биологическими жидкостями произошел с нарушением целостности кожных покровов (укол, порез), пострадавший должен:

- снять перчатки рабочей поверхностью внутрь;
- выдавить кровь из раны;
- обработать повреждённое место (70% спиртом, или 5% йодом, или 3% раствором перекиси водорода, или другим разрешенным антисептиком);
- руки вымыть под проточной водой с мылом;
- на рану наложить пластырь;
- надеть напальчник;
- при необходимости продолжить работу, надев новые перчатки.

При отсасывании жидкого материала необходимо пользоваться резиновыми грушами, при этом пипетки должны быть закрыты ватными тампонами. ***Пипетирование ртом строго запрещено!***

6. Посевы проводят у спиртовки, фламбируя при этом края пробирок, петли, шпатели!

Запрещается держать вблизи работающих спиртовок легковоспламеняющиеся материалы и вещества, оставлять без присмотра работающие спиртовки. Перед зажиганием спиртовки необходимо удостовериться, что её корпус исправен, фитиль выпущен на нужную высоту и распущен, а горловина и держатель фитиля сухие. Фитиль должен плотно входить в направляющую трубку держателя (иначе возможна вспышка паров внутри спиртовки и взрыв). Зажжённую спиртовку **нельзя** переносить с места на место, **нельзя** зажигать одну спиртовку от другой. Гасить спиртовку нужно, накрывая пламя фитиля колпачком, если это невозможно – залить водой. Задувать пламя **запрещается**.

7. При работе с биоматериалами необходимо пользоваться инструментами (петлями, шпателями, пинцетами, иглами). Инструменты, имевшие контакт с инфицированным материалом, фламбируются в пламени спиртовки, или полностью погружаются в емкости с дезраствором.

По окончании работы использованная стеклянная посуда и ватно-марлевые пробки сбрасывается в отдельные биксы. Ежедневно посуда, в которой содержался инфицированный материал, поступает в мойку после предварительной стерилизации автоклавированием.

8. Окрашивание препаратов проводится в специально отведённых местах. Отработанные предметные стёкла помещаются в эксикатор.

9. Микроскоп – точный оптический прибор, требующий строгого соблюдения правил работы с ним:

- поднимают конденсор до уровня предметного столика;

- открывают диафрагму;

- регулируют яркость встроенного осветителя или освещают поле зрения при помощи зеркала (при малой освещенности используют вогнутое зеркало, при достаточной – плоское);

- на предметное стекло с окрашенным препаратом наносят каплю иммерсионного масла, в которую под контролем глаза осторожно погружают объектив;

- поднимая тубус, смотрят в окуляр и вначале макро-, а потом микровинтом устанавливают чёткое изображение объекта;

- по окончании работы поднимают тубус, снимают препарат, марлевой салфеткой удаляют иммерсионное масло с фронтальной линзы объектива;

– микроскоп ставят в шкаф.

10. При аварии с посудой, содержащей инфицированный материал, или пролипании жидкого инфицированного материала надо сообщить преподавателю. Немедленно проводится дезинфекция контаминированных поверхностей и предметов:

– осколки стекла помещают в бикс,

– на место аварии наносят дезраствор, время экспозиции 5–10 мин,

– затем дезраствор вытирают влагопоглощающей тканью.

Проводят антисептическую обработку контаминированных частей тела – мытьё с мылом.

11. При работе с электрооборудованием и электроприборами запрещается проверять наличие напряжения пальцами, переносить включённые приборы, находящиеся под напряжением, пользоваться неисправным электрооборудованием и электропроводкой. При нарушении правил работы с электрооборудованием и электроприборами возможно поражение людей электрическим током и возникновение пожара.

12. Обязательно проводится инструктаж по технике безопасности при работе с микробными культурами, биоматериалами, спиртовками и электроприборами. Инструктаж фиксируется в журнале личной подписью студента и заверяется подписью преподавателя

ВНИМАНИЕ!

С целью профилактики внутрибольничных инфекций *запрещается* посещение занятий на клинических базах в халате, в котором студент работал в микробиологической лаборатории!

Пути распространения инфекции

1. Воздушно-капельное (аэрозольный) путь заражения;
2. Риск алиментарного заражения в лаборатории;
3. Контактное заражение.

Риски образования аэрозолей

1. открывание контейнера с материалом; между наружной стенкой горлышка контейнера и внутренней поверхностью крышки находятся частицы высохшей мокроты или если непосредственно перед открыванием контейнер подвергался встряхиванию во время транспортировки;
2. приготовление мазков путем нанесения материала на предметное стекло и распределение его по поверхности стекла;
3. прожигание бактериологических петель, неочищенных от остатков материала;
4. попытки фиксировать над горелкой невысохший влажный мазок, что приводит к вскипанию и разбрызгиванию частичек материала;

В целях безопасности необходимо:
минимизировать образование и
рассеивание аэрозоля;
оградить лабораторных работников от
вдыхания аэрозольных частиц

Риск алиментарного заражения в лаборатории

Инфицирование может произойти при засасывании инфицированной жидкости пипеткой или в результате занесения инфекционного агента в рот грязными руками.

Руки можно испачкать не только в боксе, но и о наружную поверхность контейнера для мокроты. Рекомендуется работать с контейнерами в перчатках, проводить обработку контейнеров дез.средствами снаружи и часто мыть руки.

Контактное заражение

Возможен укол иглой, загрязненной МБТ, поэтому избегайте использования шприцев с иглами вместо пипеток. Возможны также порезы об отбитые края стеклянной посуды или пипеток. Следует избегать использования битой посуды. Наиболее опасны пастеровские пипетки, поэтому по возможности нужно использовать пластиковые пастеровские пипетки.

Вентиляция

```
graph TD; A[Вентиляция] --> B[Местная  
предназначена для  
захвата источника  
инфекции]; A --> C[Общеобменная  
основана на принципе  
разности давления];
```

Местная
предназначена для
захвата источника
инфекции

Общеобменная
основана на принципе
разности давления

Назначение вентиляции

- Удаление воздушно – капельных примесей
- Подмешивание свежего воздуха
- Целенаправленное движение воздуха, исключая застойные зоны и движение инфицированного воздуха в направлении персонала
- Подогрев, увлажнение и осушение

Местная вытяжная вентиляция

- Вытяжные шкафы
- Защищающие вытяжные зонты
- Местные укрытия (кабины для сбора мокроты)

ВЫТЯЖНОЙ ЗОНТ





Бокс биологической безопасности I класса

В ходе проводимых микробиологических работ внутри рабочего пространства бокса образуется аэрозоль, содержащий потенциально опасные агенты. Этот аэрозоль захватывается воздушным потоком, поступающим в рабочую зону бокса, и проходит через специальную систему фильтрации. Таким образом, воздушный поток, выходящий из бокса, является очищенным от всех частиц. Система фильтрации представляет собой комбинацию префильтра и HEPA-фильтра.

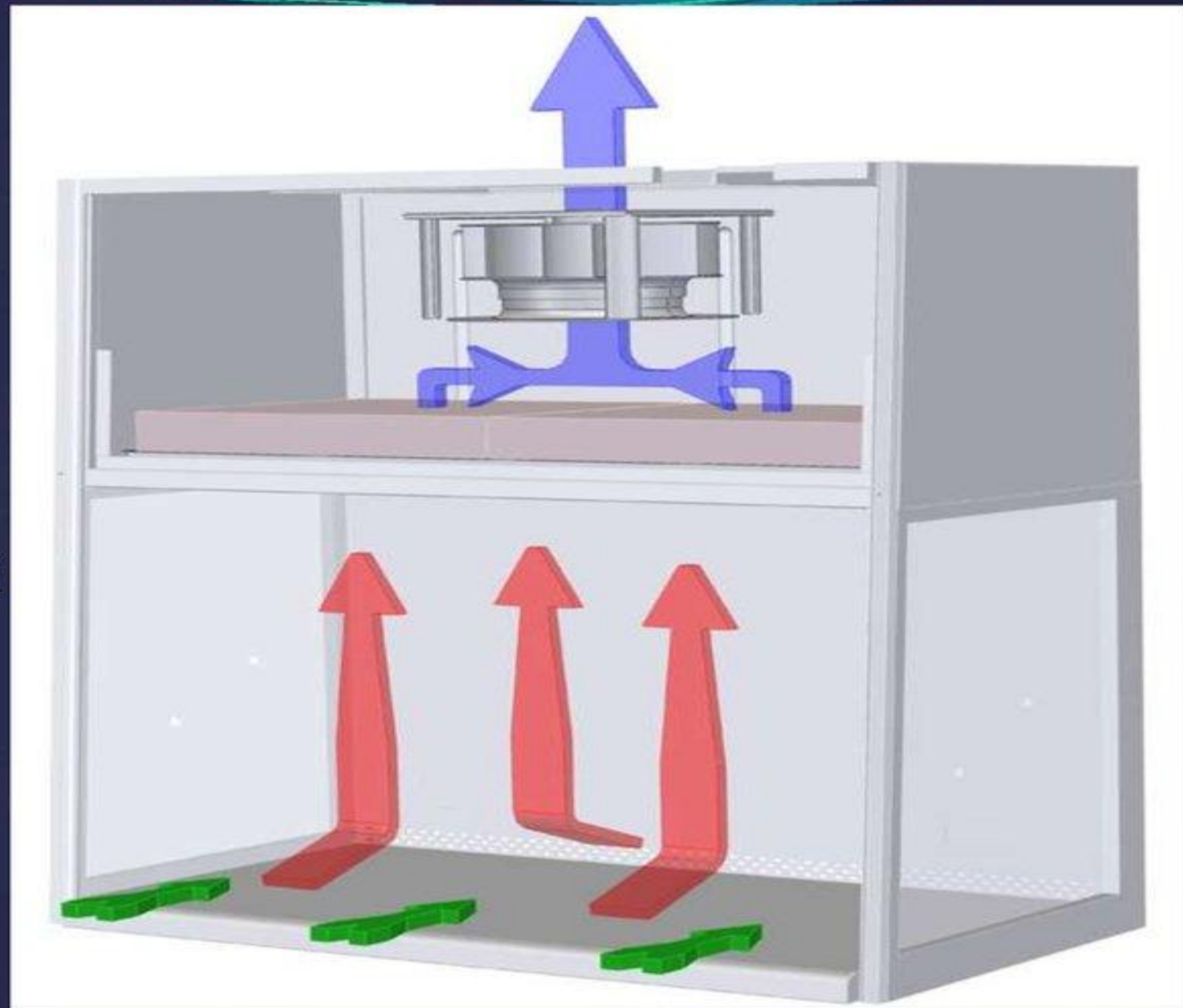
БББ I класса –

- Защищают оператора
- Защищают окружающую среду
- Не защищают от загрязнения внешним воздухом продукт, с которым проводится работа в боксе

Результаты исследования могут быть искажены возможной контаминацией и кросс-контаминацией!

Все БББ I класса могут быть использованы для работы с микроорганизмами 1,2 и 3 уровней биобезопасности.

- Защита оператора
- Защита помещений



Помимо инженерных средств обеспечения безопасности от аэрозольной инфекции в каждой лаборатории должны быть средства индивидуальной защиты – такие, как защитная маска, перчатки, халат, шапочка, обеспечивающие защиту персонала лаборатории от инфицирования в случае аварии, а также при невозможности обеспечить достаточную инженерную защиту персонала при выполнении опасных манипуляций.

Персональные защитные маски следует надевать при выполнении процедуры приготовления мазков из мокроты, а также в процессе приема, осмотра и разбора поступающего в лабораторию

диагностического материала



Респираторы

Респираторы представляют собой особый тип маски, которая обеспечивает необходимый уровень фильтрации и плотно прилегает к лицу, создавая должную герметизацию вдоль кромок. Если респиратор подогнан неправильно, инфекционные аэрозоли могут свободно проникать в дыхательные пути человека и фактически могут обусловить его инфицирование.

Особенности респираторов

- респираторы относятся к одноразовым средствам, но их можно использовать повторно в течение нескольких месяцев при условии надлежащего хранения
- Эффективность масок – респираторов снижается при увлажнении, загрязнении и нарушении их целостности
- Респираторы для индивидуальной защиты используются при высоком риске заражения (комнаты сбора мокроты, микробиологические



7200S

7300S

9332 (3M США)

95,99 (США)

Хирургические маски

обеспечивают профилактику распространения микроорганизмов от их источника (например, туберкулезного больного) к другим лицам путем захвата крупных влажных частиц возле носа и рта;

не обеспечивают защиту организма пользователя (например, медработника, пациента, члена семьи) от вдыхания взвешенных в воздухе капельных частиц, содержащих инфекционный агент.



Аварии

1 тип

- Образование ограниченного количества аэрозоля
(Разбивание контейнера с мокротой и разлив мокроты)

В этих случаях вязкая консистенция мокроты значительно ограничивают образование аэрозоля

2 тип

- Образование большого объема потенциально заразного аэрозоля

(Разбивание пробирки с жидкой культурой или суспензией МБТ)

Примерный план действий в случае аварии 1 - го типа

- ❧ Немедленно накройте разлитый материал, во избежание дальнейшего образования аэрозоля
- ❧ Смочите ветошь дезинфектантом и нанесите дезинфектант вокруг места разлива
- ❧ Оставьте не менее чем на 2 часа, смачивая покрытие дезинфектантом в случае высыхания
- ❧ Поместите все (разбитые пробирки и использованную ветошь) в контейнер и проавтоклавируйте
- ❧ Вымойте полы и оборудование с добавлением дезраствора

Лабораторная гигиена

- Ограничение доступа в лабораторию
- Личная гигиена (частое мытье рук, использование бумажных полотенец, обработка рук 70 % спиртом)
- В инфицированной зоне **запрещается!** Есть, пить, курить, пользоваться косметикой и контактными линзами...
- Соблюдение мер персональной защиты (спец. одежда: резиновые перчатки, халат, маска, колпак)
- Использование УФО и стандартизированных дезинфицирующих средств

Дезинфекция – комплекс мероприятий, направленный на уничтожение патогенных и условно-патогенных возбудителей на объектах внешней среды.

Методы дезинфекции

1. Физический – использование методов физического воздействия, обладающих бактерицидным действием
 - термическое воздействие (замораживание, кипячение, сухой и влажный горячий воздух)
 - электрический ток
 - ультразвук
 - токи ультравысокой частоты
 - лучистая энергия
2. Химический – уничтожение возбудителей воздействием химических препаратов (протираание, орошение, замачивание в дезинфицирующих растворах). К химическим относятся хлорсодержащие препараты (Дезхлорантин, Сульфохлорантин, Жавель-Абсолют и т.д), фенолы, альдегиды, поверхностно-активные и газообразные вещества
3. Комбинированный – мытье, затем замачивание в дезрастворах; химический в сочетании с ультразвуком.

Методы дезинфекции

Метод	Дезинфектант	Экспозиция (мин)	Вид инфекции	Срок годности рабочих растворов
1. Физический а) кипячение	2 % раствор пищевой соды (20 гр. соды до 1 л воды)	30 15	Все инфекции Все инфекции, кроме анаэробной	Не хранится
	2 % мыльно – содовый р-р (20 г. соды и 20 г. хоз. мыла до 1 л. воды)	90	Анаэробная инфекция	
	б) паровой	Водяной насыщенный пар под давлением 0,5 атм. + 110°С	20	
в) воздушный	Сухой горячий воздух 120°С	45	Все инфекции	

Условия проведения дезинфекции:

1. Время кипячения отсчитывается от момента кипячения
2. При химическом методе дезинфекции температура дезрастворов должна быть $18^{\circ} - 20^{\circ} \text{C}$
3. Дезинфекционные растворы (хлорамин, перекись водорода) применяются однократно. Современные – бианол, лизафин и другие используются многократно до изменения окраски препарата.
4. Выдерживается определенная экспозиция (время дезинфекции)
5. Перед проведением дезинфекции проводится контроль концентрации дезинфицирующего раствора химическим индикатором, предназначенным только для данного раствора.

Автоклавирование

Для обеззараживания загрязненной посуды и материала может быть использован такой метод, как автоклавирование. Отработанную посуду помещают в автоклав и проводят ее стерилизацию при определенном режиме. Автоклавирование является оптимальным стерилизационным методом, поэтому персонал должен быть обучен правильной работе этим методом. Автоклав должен находиться внутри лаборатории для предотвращения выноса контаминированных материалов за ее пределы. В случае если автоклав находится вне лаборатории, потенциально инфицированный материал должен доставляться туда в закрытых биксах (контейнерах, ведрах, баках).

- При проведении дезинфекции образующихся в лабораториях ПТУ отходов допускается применение установок УОМО – 01/150 (УОМО – 02/90), действие которых основано на использовании воздействия на микроорганизмы электромагнитного излучения сверхвысокой частоты и влажного пара при температуре 100⁰ С. Установку применяют в соответствии с методическими рекомендациями «Использование электромагнитного излучения сверхвысокой частоты для обеззараживания инфицированных медицинских отходов», утвержденными ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» № 02.007.06 от 22.05.2006

Установка СВЧ для обеззараживания медицинских отходов УОМО-01/150 - "ОЦНТ"



Самое дорогостоящее и современное оборудование не может заменить выполнение сотрудником правил техники безопасности и его разумную осторожность.

Каждый лабораторный работник несет ответственность за соблюдение требований гигиены, а также строгое выполнение правил техники безопасности.

Спасибо за внимание!