

1-2 День.

Знакомство с больницей и техникой безопасности в лаборатории.

Я проходила практику в КГБУЗ «Краевая клиническая больница». Лаборатория делится на две зоны: чистую и грязную. К чистой зоне относятся :комната персонала, кабинет заведующей лаборатории, сан.узел. Лаборатория оснащена определённым набором оборудования: термостатами, сушильными шкафами, холодильниками, ГК 103 (паровыми и воздушными стерилизаторами), весами лабораторными, рН-метрами, денситометрами. Работа лаборатории осуществляется по документам :

1.СанПиН от 18 мая 2010 г. N 58 2.1.3.2630-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность".

2.СП 1.3.2322-08 "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней" от 28 января 2008.

Правила работы в микробиологической лаборатории.

1. К работе в бактериологической лаборатории допускаются лица, которые ознакомлены с правилами работы в ней.

2. Персонал лаборатории должен иметь индивидуальную спецодежду (халат, шапочку, обувь). Личные вещи работающих сохраняются в специально приспособленном помещении.

3. Каждый должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения преподавателя не допускается.

4. Рабочее место следует поддерживать в чистоте, не загромождать его посудой и побочными вещами.

5. Приступая к работе, необходимо: осознать методику работы, правила её безопасного выполнения; проверить соответствие взятых веществ тем веществам, которые указаны в методике работы.

6. При работе в лаборатории следует соблюдать следующие требования: аккуратность, внимательность, экономность, быть наблюдательным, рационально и правильно использовать время.

7. Отработанные культуры микробов, заразный материал подлежат обязательному ежедневному уничтожению.

8. По окончании работы следует привести в порядок своё рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, закрыть водопроводные краны, выключить электрические приборы, помыть руки.

Правила проведения и работы в микробиологической лаборатории

1. К работе допускают сотрудников только после ознакомления с правилами проведения и режимом работы.

2. Все работники подвергаются профилактическим прививкам, главным образом против кишечных инфекций.

3. Каждый сотрудник имеет мед костюм, шапочку, сменную спец. обувь, перчатки.

4. Каждый сотрудник обязан строго соблюдать личную гигиену, содержать в чистоте рабочее место.

5. Поступающий в лабораторию материал регистрируют в специальный журнал и маркируют.

6. Весь поступающий материал для исследования считают инфицированным. Его ставят на специальный поднос, а емкость с материалом протирают дез. раствором снаружи.

7. Переливать исследуемый материал из одной емкости в другую следует над дез. раствором. Жидкий материал отсасывают с помощью резинового баллона, надетого на пипетку.

8. При попадании исследуемого материала на руки, стол или другие предметы их обрабатывают дез. раствором.

9. По окончании работы руки, инструменты, рабочее место обрабатывают дез раствором. Культуры обезвреживают или, при необходимости, сохраняют в холодильнике, который опечатывают. Материал,

требующий продолжения исследования, ставят в термостат, который тоже опечатывают. При хранении патогенных культур в лаборатории их регистрируют в специальном журнале.

10. В лаборатории категорически запрещается принимать пищу.

11. В лаборатории ежедневно проводят влажную уборку с применением дез растворов. Ежедневно моют стены, полы, инвентарь горячей водой с мылом. Бокс убирают в конце рабочего дня, а перед работой облучают бактерицидными лампами.

3-4 День.

Дезинфекция и стерилизация изделий медицинского назначения.

Дезинфекцию изделий медицинского назначения осуществляют физическим (кипячение, водяной насыщенный пар под избыточным давлением, сухой горячий воздух) и химическим (использование растворов химических средств) методами. Выбор метода дезинфекции зависит от особенностей изделия и его назначения.

Физический метод дезинфекции надёжен, экологически чист и безопасен для персонала, поэтому в тех случаях, когда позволяют условия (оборудование, номенклатура изделий и т.д.) при проведении дезинфекции изделий предпочтение следует отдать этому методу. Дезинфекцию с использованием физического метода выполняют способом кипячения в дистиллированной воде или в воде с добавлением натрия двууглекислого (сода пищевая) паровым методом (в паровом стерилизаторе-автоклаве) и воздушным методом (в воздушном стерилизаторе).

Дезинфекции способом кипячения подвергают изделия из стекла, металлов, термостойких полимерных материалов и резин. Перед кипячением изделия очищают от органических загрязнений, промывая водопроводной водой с соблюдением мер противоэпидемиологической защиты. Отсчет времени дезинфекционной выдержки начинают с момента закипания воды.

Паровым методом дезинфицируют изделия из стекла, металлов, резин, латекса, термостойких полимерных материалов. Предварительная отчистка изделий не требуется, их складывают в стерилизационные коробки и

помещают в паровой стерилизатор. Дезинфекция осуществляется под воздействием водяного насыщенного пара под избыточным давлением.

Дезинфекцию воздушным методом изделий из стекла, металлов, силиконовой резины проводят без упаковки в воздушных стерилизаторах. Этим методом можно дезинфицировать только изделия, не загрязнённые органическими веществами.

Дезинфекцию с использованием химических средств проводят способом погружения изделий в раствор в специальных емкостях из стекла, пластмасс или покрытых эмалью без повреждения. Наиболее удобно применение специальных контейнеров, в которых изделия размещают на специальных перфорированных решётках. Разъёмные изделия дезинфицируют в разобранном виде. Каналы и полости изделия заполняют дезинфицирующим раствором.

Для дезинфекции изделий разрешены к применению дезинфицирующие средства отечественного и зарубежного производства из следующих основных химических групп соединений: катионных поверхностно-активных веществ (ПАВ), окислителей, хлорсодержащих средств, средств на основе перекиси водорода, спиртов, альдегидов.

Непосредственно мы в лаборатории пользовались химическим методом дезинфекции.

Подготовка лабораторной посуды к стерилизации.

1. Перед стерилизацией лабораторную посуду тщательно моют и сушат.
2. Пробирки, флаконы, бутылки, матрацы, колбы закрывают ватно-марлевыми пробками. Поверх пробки на каждый сосуд (кроме пробирок) надевают бумажный колпачок.

3. Чашки Петри стерилизуют завернутыми в бумагу по 1-5 штук или в пеналах.

4. Пастеровские пипетки по 3-5-10-15 штук заворачивают в плотную оберточную бумагу. В верхнюю часть каждой пипетки вкладывают кусочек ваты. Во время работы пипетки из пакета вынимают за верхний конец.

Лабораторную посуду стерилизуют:

1. Сухим жаром при $t=160$ и 180°C соответственно 1-1,5 часа.
2. В автоклаве при давлении 1 атм. в течение 20-30 минут.

Стерилизация питательных сред.

1. Синтетические среды и все агаровые среды, не содержащие в своём составе нативного белка и углеводов, стерилизуют 15-20 мин в автоклаве при $t=115-120^{\circ}\text{C}$.

2. Среда с углеводами и молоком, питательный желатин стерилизуют текущим паром при $t=100^{\circ}\text{C}$ дробно или в автоклаве при $t=112^{\circ}\text{C}$.

3. Среда, в состав которых входят белковые вещества (сыворотка крови, асцитическая жидкость), обеспложиваются тиндализацией или фильтрованием.

Утилизация отработанного материала.

Правила обращения с медицинскими отходами регламентируются СанПиНом N2.1.7.2790-10 от 12 декабря 2010 года "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

В лаборатории образуются отходы класса А и Б.

Класс А- неопасные отходы. Отходы, не имевшие контакта с биологическими жидкостями пациентов, инфекционными больными, нетоксические отходы. Пищевые отходы всех подразделений ЛПУ, кроме инфекционных. Сбор отходов осуществляется в многоразовые емкости или одноразовые пакеты. Цвет пакетов может быть любой, за исключением желтого и красного. Одноразовые пакеты располагаются на специальных тележках или внутри многоразовых контейнеров. Емкости для сбора отходов и тележки должны быть промаркированы "Отходы. Класс А".

Класс Б- опасные отходы. Инфекционные отходы. Материалы и инструменты, загрязнённые выделениями, в том числе кровью.

Патологические и органические операционные отходы. Отходы из микробиологических лабораторий, работающих с микроорганизмами 3-4 групп патогенности

5 день

Бактериологическое исследование воздуха.

Проводили сан – бактериологическое исследование воздуха в палате реанимации. Данное исследование проводится с помощью аспиратора ПУ – 1Б.

Устройство и работа ПУ-1Б

ПУ 1Б состоит из двух основных узлов, конструктивно объединенных в общем блоке: пробоотборника, в качестве которого используется однокаскадный импактор, и аспиратора-центробежного вентилятора. Управление режимами отбора проб осуществляется электронной схемой, выполненной на печатной плате.

Работа устройства ПУ-1Б заключается в следующем:

При включении аспиратора с помощью кнопки "Пуск" центробежный вентилятор просасывает пробу воздуха из атмосферы через многосопловую решетку импактора. Аэрозольные частицы определенного размера, содержащиеся в пробе воздуха, импактируются на плотную питательную среду, залитую в стандартную стеклянную чашку Петри. Затем воздух выбрасывается в атмосферу через кольцевую щель корпуса. Контроль за объемом отбираемой пробы осуществляется автоматически при помощи электронного счетного устройства, смонтированного на печатной плате. При достижении определенного количества оборотов вентилятора, соответствующих заданному объему отбираемой пробы (которое заранее задано на дисплее), происходит автоматическое отключение вентилятора.

Подготовка к работе и порядок работы ПУ-1Б

Подготовка чашек Петри:

В стандартную стеклянную чашку Петри заливается 20-21 мл питательной среды. При этом поверхность агара будет находиться в 3мм от нижней плоскости многосопловой решетки.

Снимите верхнюю часть корпуса пробоотборника, для чего поверните ручку против часовой стрелки до отделения от нижней части корпуса. Снимите защитную крышку, для чего нажмите на 2 фиксатора.

Увлажните многосопловую решетку этиловым спиртом с обеих сторон и профломбируйте ее в пламени спиртовки до полного сгорания спирта на решетке.

Установите чашку с питательной средой в держатели пробоотборника и наверхните верхнюю часть корпуса, соблюдая осторожность, чтобы не повредить резьбу. Прибор готов к эксплуатации.

Порядок работы устройства ПУ 1Б

Включить блок питания в сеть 220В, 50Гц и включить тумблер питания (при использовании аспиратора ПУ-1Б исп.1 со встроенным аккумулятором можно включить прибор только тумблером).

Установить соответствующий объем отбираемой пробы (100 или 250л)

Нажать кнопку "Пуск". После выполнения заданного режима аспиратор выключится.

После отбора пробы снимите чашку Петри, закройте ее крышкой и поместите в термостат для образования колоний.

При исследовании 1м³ воздуха равноценно могут использоваться два режима отбора указанного объема: отбор на одну чашку Петри путем пропускания над ней 250л воздуха четыре раза подряд или отбор с подстановкой на каждые из четырех 250л воздуха новой чашки Петри.

6 День

Работа с дневником

7 День

Взятие смывов в малой операционной

Перед походом в малую операционную готовим контейнер для исследований. В нем должно содержаться : этиловый спирт для обработки рук,

стерильные перчатки, стерильные пинцеты, направление на исследование, стерильные пробирки для смыва с рук медицинской сестры и врача и марлевые тампоны в физ.растворе для смыва рук врача и операционного поля.

Провела смыв с поверхностей операционной. Смывы проводились смоченным тампоном в среде МПБ. После взятия смывов в малой операционной идем в бактериологическую лабораторию и фиксируем все то, с чего проводились смывы. После посева ставим в термостат на 24 часа при $t = 37$ гр. и затем вынимаем. Затем врач лаборант даёт предварительное заключение. (анализирует цвет колоний, форму и тд.)

8-11 день

Смывы в большой операционной.

Перед походом в большую операционную готовим контейнер для исследований. В нем должно содержаться : этиловый спирт для обработки рук, стерильные перчатки, стерильные пинцеты, направление на исследование, стерильные пробирки для смыва с рук медицинской сестры и врача и марлевые тампоны в физ.растворе для смыва рук врача и операционного поля.

Провела смыв с поверхностей операционной. Смывы проводились смоченным тампоном в среде МПБ. После взятия смывов в операционной идем в бактериологическую лабораторию и фиксируем все то, с чего проводились смывы. После посева ставим в термостат на 24 часа при $t = 37$ гр. и затем вынимаем. Затем врач лаборант даёт предварительное заключение. (анализирует цвет колоний, форму и тд.)

12 День

Работа с дневником

13 день

Достаем посевы с поверхностей операционной. Делаю пересев на среду Эндо и на ЖСА петлей. Чашку со стороны дна расчерчивают на секторы. Посев производят зигзагообразными движениями от края чашки к центру. Необходимо следить, чтобы штрихи не заходили на соседний сектор. Грязные пробирки относим в грязную автоклавную.

14 день

Работа в приемном отделении

Перед приемом биоматериала лаборант должен надеть средства индивидуальной защиты (халат, перчатки, маска, сменная обувь, шапочка) и приступить к работе. Медицинская сестра приносит направления и сам анализ в контейнерах с других отделений на диагностику. Лаборант должен забрать анализ и поставить его в подписанный лоток для анализов. (кал, моча, кровь, половые органы, мокрота, посевы из носа и зева и тд). После этого передать каждое направление в систему QMS.

15-16 день приготовление сред

Посуда для приготовления сред не должна содержать посторонних веществ. Большие количества среды готовят в специальных варочных котлах или реакторах. Перед использованием посуду необходимо тщательно вымыть, прополоскать, высушить. Новую стеклянную посуду предварительно кипятят 30 мин в 1 – 2% растворе хлороводородной кислоты или погружают в этот раствор на ночь, после чего в течение часа прополаскивают в проточной воде.

Основные питательные бульоны готовят на мясной воде или на различных переварах, полученных при кислотном или ферментативном гидролизе исходного сырья. Бульоны из переваров в 5 – 10 раз экономичнее, чем из мясной воды. Среды на переварах богаче и следовательно, питательнее, обладают большей буферностью.

Этапы приготовления:

- Варка
- Установление оптимальной pH
- Осветление
- Фильтрация
- Разлив
- Стерилизация
- Контроль

Варят среды на открытом огне, водяной бане, в автоклаве или варочных котлах, подогреваемых паром.

Готовим среду ЭНДО: как и все среды в лаборатории готовим её по инструкции на банке. Делаем навеску на 1 литр, перемешиваем до полного растворения и кипятим несколько минут.

Фильтрацию жидких и расплавленных желатиновых сред производят через влажный бумажный или через матерчатые фильтры.

Разливают среды в пробирки (по 3 – 5 мл или по 10 мл), флаконы, колбы, и бутылки не более чем на 2/3 емкости, т.к. при стерилизации могут намокнуть пробирки и среды утратят стерильность.

Посуду со средой закрывают ватно - марлевыми пробками, поверх которых надевают бумажные колпачки. Важно, чтобы при разливе среда не смачивала края посуды, иначе к ним могут прилипнуть пробки. Каждый сосуд обязательно маркируют (название среды, дата приготовления). Режим стерилизации зависит от состава среды и указан в ее рецепте. (Пример 110 гр. на 20 мин. И 120гр. на 15 мин)

17 методический день

