

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Центральный НИИ туберкулеза РАМН

Фонд «Российское здравоохранение»

Рекомендуется
Учебно-методическим объединением по медицинскому
и фармацевтическому образованию вузов России
в качестве учебного пособия для системы
послевузовского профессионального образования врачей

КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Учебное пособие
для проведения базового курса обучения
специалистов бактериологических лабораторий
учреждений противотуберкулезной службы



УДК 616-002.5-078(078)

ББК 55.4:52.64я75

К90

Под редакцией чл.-корр. РАМН, профессора **В.В. Ерохина**

Составители:

д. м. н., проф. **В.И. Голышевская** (ЦНИИТ РАМН); д. б. н. **М.В. Шульгина** (ЦВКК ФСВОК); к. т. н. **Э.В. Севастьянова** (ЦНИИТ РАМН); д. м. н., проф. **В.Г. Акимкин** (ММА им. И.М. Сеченова); к. б. н. **Г.М. Ванина** (Новосибирский НИИТ); к. б. н. **Д.В. Вахрушева** (Уральский НИИФП); д. м. н., проф. **Б.И. Вишневский** (С-Пб. НИИФП); д. м. н., проф. **М.А. Владимирский** (НИИФП ММА им. И.М. Сеченова); к. м. н. **О.А. Иртуганова** (Миссия МОМ в Москве); к. б. н. **М.А. Кравченко** (Уральский НИИФП); д. м. н., проф. **Т.Ф. Оттен** (С-Пб. НИИФП); к. м. н. **С.А. Попов** (НИИФП ММА им. И.М. Сеченова); д. б. н. **С.Г. Сафонова** (медицинское управление ФСИН России); д. м. н. проф. **Л.С. Федорова** (НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора)

К90 **Культуральные методы диагностики туберкулеза.** Учебное пособие для проведения базового курса обучения специалистов бактериологических лабораторий учреждений противотуберкулезной службы. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. – 208 стр.
ISBN 978-5-94789-308-3

ББК 55.4:52.64я75

Настоящее учебное пособие разработано по инициативе и при технической поддержке Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), финансовой поддержке Агентства США по международному развитию (USAID) и издано при финансовой поддержке Фонда «Российское здравоохранение» в рамках программы «Развитие стратегии лечения населения, уязвимого к ВИЧ/СПИДу и туберкулезу» (донор – Глобальный фонд для борьбы со СПИДом, туберкулезом и малярией, IV раунд).

Подписано к печати 30.07.2008 г.
Гарнитура Miniature. Печать офсетная. Бумага мелованная. Формат 62×94 1/8.
Усл. печ. л. 26. Тираж 999 экз.

ООО «Издательство «Триада». ИД № 06059 от 16 октября 2001 г.
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 504, тел./факс: (4822) 42-90-22, 35-41-30. E-mail: triada@stels.tver.ru
<http://www.triada.tver.ru>

Отпечатано в ООО «Тверская фабрика печати» (г. Тверь, Беляковский пер., д. 46). Заказ №

© Коллектив авторов, 2008

ISBN 978-5-94789-308-3

© Оформление ООО «Издательство «Триада», 2008



Предисловие	5
Введение	8
1. Организация работы бактериологической лаборатории для проведения культуральных исследований	
1.1. Структура лабораторной сети.....	11
1.2. Документация по организации работы бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы.....	14
1.3. Устройство лаборатории, выполняющей микробиологические исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза	16
1.3.1. Помещение бактериологической лаборатории.....	16
1.3.2. Размещение в лаборатории оборудования и инструментов	22
1.3.3. Оснащение лаборатории	30
1.3.4. Описание основного оборудования микробиологической лаборатории противотуберкулезной службы.....	34
1.4. Обеспечение безопасности работы в бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы.....	51
1.4.1. Пути распространения туберкулезной инфекции	51
1.4.2. Мероприятия, направленные на снижение риска внутрилабораторного заражения	54
1.4.3. Методы обеззараживания объектов	58
1.4.4. Организация обращения с отходами лабораторий, работающих с возбудителем туберкулеза.....	62
1.4.5. Основное оборудование и спецодежда, обеспечивающие безопасность.....	63
1.4.6. Чрезвычайная ситуация в лаборатории	67
2. Культуральные методы исследования с применением плотных питательных сред	
2.1. Виды диагностического материала для микробиологических исследований при туберкулезе....	71
2.2. Организация сбора, хранения и транспортировки диагностического материала	73
2.3. Прием и регистрация поступившего материала.....	77
2.4. Обработка диагностического материала, деконтаминация и концентрация образцов.....	79
2.4.1. Стандартные методы разжижения и деконтаминации.....	80
2.4.2. Другие методы обработки материала	84
2.4.3. Материалы, не нуждающиеся в деконтаминации.....	86
2.4.4. Внутрилабораторный контроль качества деконтаминации	86
2.5. Питательные среды, посев и культивирование.....	87
2.5.1. Характеристика питательных сред	87
2.5.2. Приготовление питательных сред для культивирования микобактерий	90
2.5.3. Внутрилабораторный контроль качества приготовленных яичных сред.....	95
2.5.4. Техника посева и инкубации.....	96
2.5.5. Оценка и учет результатов посева диагностического материала.....	99
2.6. Дифференциация микобактерий туберкулезного комплекса, видовая идентификация микобактерий	104

2.6.1. Предварительная идентификация комплекса <i>M. tuberculosis</i> (родовая идентификация).....	104
2.6.2. Дифференциация <i>M. tuberculosis complex</i> от нетуберкулезных микобактерий	107
2.6.3. Видовая идентификация микобактерий туберкулезного комплекса	110
2.6.4. Внутрилабораторный контроль качества предварительной идентификации и определения вида микобактерий	118
2.7. Исследование лекарственной чувствительности микобактерий	119
2.7.1. Основные понятия.....	119
2.7.2. Механизмы развития лекарственной устойчивости	121
2.7.3. Организация исследования лекарственной чувствительности микобактерий.....	122
2.7.4. Методы исследования лекарственной чувствительности микобактерий	124
2.7.5. Определение лекарственной чувствительности микобактерий непрямым методом абсолютных концентраций.....	125
2.7.6. Альтернативные методы исследования лекарственной чувствительности микобактерий	132
2.7.7. Ускоренный метод определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза с помощью реактива Грисса	133
2.7.8. Исследование лекарственной чувствительности микобактерий прямым методом абсолютных концентраций	137
2.7.9. Контроль качества исследования лекарственной чувствительности микобактерий	138
2.8. Регистрация бактериологических исследований и их результатов	139
2.9. Планирование работы бактериологической лаборатории. Расчет потребностей лаборатории в расходных материалах и реагентах	147
3. Исследования с применением жидких сред	
3.1. Автоматические и полуавтоматические анализаторы.....	151
3.2. Основные принципы культивирования микобактерий на жидких средах.....	156
4. Методы молекулярно-генетической диагностики микобактерий туберкулеза. Общая характеристика и место в цикле диагностических исследований	158
5. Обеспечение качества исследований в бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы	
5.1. Внутрилабораторный контроль качества микробиологических исследований.....	163
5.2. Внешняя оценка качества исследований.....	167
5.3. Улучшение качества исследований	168
Приложение 1. Списки оборудования и расходных материалов для микробиологической лаборатории противотуберкулезной службы	170
Приложение 2. Прописи дополнительных сред для культивирования микобактерий	176
Приложение 3. Приготовление питательных сред с противотуберкулезными препаратами	179
Приложение 4. Видовая идентификация нетуберкулезных микобактерий	184
Приложение 5. Культуральная диагностика туберкулеза с помощью автоматизированной системы BACTEC MGIT 960	196
Приложение 6. Стандарты мутности	208

В рамках реализации Фондом «Российское здравоохранение» проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа, компонент «туберкулез», финансируемого из средств займа МБРР, а также Программы Глобального Фонда «Развитие стратегии лечения населения РФ, уязвимого к туберкулезу» были подготовлены комплекты учебных материалов, предназначенные для специалистов по лабораторной диагностике туберкулеза, проходящих обучение на курсах: «Выявление туберкулеза методом микроскопии» и «Культуральные методы диагностики туберкулеза».

Настоящее учебное пособие предназначено для обучения врачей-бактериологов противотуберкулезной службы бактериологическим методам диагностики туберкулеза. Пособие является продолжением учебного пособия для курса «Выявление туберкулеза методом микроскопии». Предполагается, что слушатели курса «Культуральные методы диагностики туберкулеза» прошли обучение по программе курса «Выявление туберкулеза методом микроскопии».

Комплект учебных пособий для курса «Культуральные методы диагностики туберкулеза» включает в себя четыре части.

1. Базовое учебное пособие, состоящее из разделов, посвященных описанию организации бактериологических исследований, вопросам биобезопасности, описанию проведения всех этапов бактериологического исследования, системе обеспечения качества в противотуберкулезной лаборатории. В базовое учебное пособие включены главы, содержащие общую информацию о применении жидких сред и автоматизированных систем детекции роста микобактерий, а также молекулярно-генетических методах исследования.

В приложения к базовому учебному пособию включены: списки оборудования и расходных материалов для лабораторий; прописи некоторых дополнительных питательных сред для культивирования микобактерий; детальные методические рекомендации по приготовлению яичных сред с противотуберкулезными препаратами для исследования лекарственной чувствительности микобактерий, а также по проведению видовой идентификации нетуберкулезных микобактерий и выполнению исследований с применением автоматических систем детекции роста микобактерий на жидких средах.

2. Учебное пособие «Люминесцентная микроскопия», которое может быть использовано как дополнительный материал к курсу «Культуральные методы диагностики туберкулеза» или к курсу «Выявление туберкулеза методом микроскопии». Учебное пособие включает в себя описание проведения процедур, связанных с люминесцентной микроскопией для выявления кислотоустойчивых микобактерий, в том числе детальное описание принципов работы, устройства и ухода за люминесцентным микроскопом.
3. Методическое руководство для преподавателей курса обучения «Культуральные методы диагностики туберкулеза» является приложением к методическому руководству для преподавателей курса «Выявление туберкулеза методом микроскопии». Руководство представляет преподавателям программу курса, план проведения семинарских и практических занятий по бактериологической диа-

гностике туберкулеза, вопросы для тестирования учащихся до начала обучения и после его окончания. Рекомендации по планированию и организации курса, методологии проведения занятий, организации проведения оценки курса учащимися, содержащиеся в руководстве для преподавателей курса «Выявление туберкулеза методом микроскопии», применимы и для курса обучения «Культуральные методы диагностики туберкулеза».

4. Теоретическое учебное пособие «Микробиологические методы диагностики туберкулеза», входящее в комплект учебных пособий к курсу «Выявление туберкулеза методом микроскопии», может быть использовано слушателями курса «Культуральные методы диагностики туберкулеза».

В основу настоящего учебного пособия были положены:

1. Приложения № 9, № 11 к Приказу № 109 от 21.03.03 МЗСР РФ.
2. Методические рекомендации ВОЗ:

Лабораторная служба в программах борьбы с туберкулезом. Часть 1. Организация и менеджмент.

Лабораторная служба в программах борьбы с туберкулезом. Часть 3. Культуральное исследование.

При подготовке учебных материалов для курса «Культуральные методы диагностики туберкулеза» дополнительно к вышеперечисленным материалам использовалась следующая литература.

По разделам 1.3. «Устройство лаборатории, выполняющей микробиологические исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза» и 1.4. «Обеспечение безопасности работы в бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы»:

1. Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы МЗ СССР от 02.10.81 г.
2. Санитарные правила СП 1.2.731-99 «1.2. Эпидемиология. Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и гельминтами».
3. Инструкция по проектированию санитарно-эпидемиологических станций СН 538–81 от 20.06.1987 г.
4. Laboratory Biosafety Manual. Second edition (revised)/ WHO/CDS/CSR/LYO/ 2003–4.
5. Goals for Working Safety with Mycobacterium tuberculosis Complex Species in Clinical, Public Health, and Research Laboratories. CDC and NIH, 1997.
6. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 3rd. ed. CDC and NIH, 1993.

По разделу 2.4. «Обработка диагностического материала, деконтаминация и концентрация образцов»:

Kent P.T., Kubica G.P. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, USA, 1985.

По разделу 2.6. «Дифференциация микобактерий туберкулезного комплекса, видовая идентификация микобактерий»:

1. Оттен Т.Ф., Васильев А.В. Микобактериоз. – СПб.: Медицинская пресса. – 2005. – 220 с.
2. Diagnosis and treatment of disease caused by nontuberculosis mycobacteria (American Thoracic Society) // Am. J. Respir. Crit. Care Med. (Supplement) – 1997. – Vol. 156. – № 2. – 1–25.
3. Shinnick T.M., Good R.C. Diagnostic mycobacteriology laboratory practices // Clin. Infect. Dis. – 1995. – 21. – P. 291–299.
4. Wolinsky E. Mycobacterial diseases other than tuberculosis // Clin. Infect. Dis. – 1992. – Vol. 15. – P. 1–12.

По разделу 2.8. «Регистрация бактериологических исследований и их результатов»:

1. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 2 октября 2006 г. № 690 «Об утверждении учетной документации по выявлению туберкулеза методом микроскопии».
2. Методические рекомендации по проведению микробиологических исследований на туберкулез. Для бактериологических лабораторий уголовно-исполнительной системы Министерства юстиции Российской Федерации. Москва, 2004.

По разделу 2.9. «Планирование работы лаборатории. Расчет потребностей баклаборатории в расходных материалах и реагентах»:

1. Национальная референс-лаборатория по туберкулезу в системе общественного здравоохранения и национальная лабораторная сеть. Минимальные потребности, роль и организация работы в стране с ограниченными возможностями. – Международный Союз по борьбе с туберкулезом и заболеваниями легких, 1998.

По разделу 5. «Обеспечение качества исследований в бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы»:

1. Внешняя оценка и внутрилабораторный контроль качества микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий в мокроте. Отраслевой стандарт / Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации. М., 2004.
2. Инструмент оценки лаборатории по туберкулезу. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 2003.
3. Лабораторная служба в программах по борьбе с туберкулезом. Всемирная организация здравоохранения, 1998.
4. Fadda G., Virgilio G.D., Mantellini P., Piva P., Sertoli M. The organization of laboratory services for a tuberculosis control programme. JPMA, 1988, 38 – 7.
5. Mitchison D.A., Keyes A.B., Edwards E.A. et al. Quality control in tuberculosis bacteriology: The origin of isolated positive cultures from the sputum of patients in four studies of short course chemotherapy in Africa. Tubercle 1980; 61.
6. Rieder H., Chonde T., Myking H. et al. The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. Minimum Requirements, Role and Operation in a Low-Income Country / International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1998.

Разработчики учебного пособия выражают благодарность специалистам ВОЗ за оказанную помощь и техническую поддержку в подготовке учебного пособия.

Разработчики учебного пособия выражают глубокую благодарность К. Фельдману, Д. Чирилле, С. Хоффнеру, Р. Урбанчику за предоставленные материалы и рисунки.

Разработчики учебного пособия также выражают глубокую благодарность за высказанные замечания и пожелания всем членам тематической рабочей группы «Лабораторная диагностика туберкулеза» и российским и зарубежным экспертам и специалистам, принимавшим участие в рецензировании и обсуждении настоящего учебного пособия.

Микробиологические исследования для диагностики туберкулеза являются важнейшей составляющей диагностического процесса как на этапе постановки диагноза «туберкулез», так и при контроле эффективности химиотерапии. В соответствии с существующей в настоящее время в РФ поэтапной системой лабораторных исследований для диагностики туберкулеза предусмотрено три этапа:

1. Первичное (микроскопическое) исследование диагностического материала в учреждениях ОЛС и в противотуберкулезных учреждениях.
2. Комплексное микроскопическое и культуральное исследование диагностического материала в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений.
3. Определение лекарственной чувствительности к противотуберкулезным препаратам и идентификация выделенного возбудителя в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений.

Микробиологическое исследование, выполняемое в бактериологических лабораториях противотуберкулезной службы, включает в себя:

- микроскопическое исследование мазка из осадка обработанного диагностического материала;
- культуральное исследование (посев);
- предварительную идентификацию выделенных штаммов микобактерий как относящихся к комплексу микобактерий туберкулеза;
- проведение окончательной видовой идентификации выделенных микобактерий;
- определение лекарственной чувствительности выделенных микобактерий.

В лаборатории, в зависимости от уровня, которому эта лаборатория принадлежит (см. ниже), могут выполняться все или только некоторые из перечисленных выше исследований. Микроскопическое исследование и посев входят в обязательный список исследований, проводимых в бактериологических лабораториях всех уровней. Видовая идентификация микобактерий и исследование их лекарственной чувствительности проводится преимущественно в лабораториях регионального и межрегионального уровней.

Культуральный метод исследований до сих пор остается «золотым стандартом» в диагностике туберкулеза. Обнаружение микобактерий туберкулеза (МБТ) в диагностическом материале микробиологическими методами позволяет подтвердить достоверность поставленного диагноза «туберкулез».

В связи с родовыми особенностями для культивирования МБТ требуются особые условия, отличные от условий культивирования других микроорганизмов. Время удвоения числа МБТ на широко используемых средах достигает 18–24 часов. Кроме того, микобактерии туберкулеза требуют особого состава среды для роста. Наиболее широко используется среда, в состав которой входят куриные яйца, аспарагин и глицерин. Длительное время роста культуры обуславливает необходимость предварительной обработки материала с целью уничтожения в пробе немикобактериальной флоры. Относительная устойчивость микобактерий к воздействию щелочей и кислот позволяет по-

добрать такие условия обработки, при которых снижение жизнеспособности микобактерий сравнительно невелико, а нетуберкулезные микроорганизмы гибнут. Однако подобрать идеальные условия обработки не удастся: процедура обработки мокроты (деконтаминация) существенно влияет на результативность этого метода. Недостаточная деконтаминация увеличивает число посевов с проростом (более 5%). Слишком жесткая обработка может оказать неблагоприятное воздействие на жизнеспособность МБТ. Если процент проростов менее 2%, метод деконтаминации может ингибировать рост МБТ или убивать их, приводя к ложноотрицательным результатам.

По сравнению с методом микроскопии культуральный метод исследования имеет ряд преимуществ.

- С помощью культурального метода удастся выявить на 20–50% больше случаев бациллярного туберкулеза. Метод посева более чувствителен, чем метод микроскопии: он позволяет выделить культуру из диагностических материалов, полученных от олигобациллярных больных, в том числе и от больных внелегочным туберкулезом и детей. При хорошо организованном исследовании удастся получить культуру из материалов, содержащих несколько сотен клеток микобактерий. В случае использования жидких сред порог чувствительности снижается до нескольких десятков клеток МБТ.
- Культуральный метод позволяет выделить культуру возбудителя, которую можно подвергнуть детальному исследованию: определению ее видовой принадлежности и спектра лекарственной чувствительности.

Вместе с тем культуральный метод исследования имеет ряд недостатков.

- Время получения результата культурального исследования (посева) значительно выше, чем при микроскопии. При использовании классических плотных питательных сред на яичной основе среднее время появления роста составляет 3–5 недель, однако для отдельных культур, особенно выделенных от пациентов, проходящих курс химиотерапии, это время превышает 10 недель. В соответствии с Приказом МЗ №109 в РФ отрицательный результат выдается после 10 недель культивирования. Использование жидких питательных сред значительно уменьшает сроки появления роста – до 10–20 дней для большинства культур, время выдачи отрицательного результата, по рекомендациям производителей автоматических и полуавтоматических систем регистрации роста микобактерий, работающих на основе жидких сред Middlebrook, составляет 42 дня.
- Проведение культуральных исследований в 5–7 раз превышает стоимость микроскопического исследования (при использовании автоматических или полуавтоматических анализаторов с жидкими средами стоимость исследования возрастает в несколько раз по сравнению с исследованиями на плотных яичных средах). Культуральные исследования требуют значительно более сложного оборудования и более высокой квалификации персонала. Организация бактериологической лаборатории для проведения безопасных исследований для диагностики туберкулеза требует значительных затрат на обеспечение и поддержание инженерных устройств, обеспечивающих отток зараженного воздуха из помещений и его очистку. Проведение исследований с жидкими средами и автоматическими или полуавтоматическими системами регистрации роста микобактерий требует существенно больших затрат на оборудование и расходные материалы по сравнению с исследованиями, проводящимися с использованием плотных яичных сред.

1. Какие исследования входят в перечень микробиологических исследований для диагностики туберкулеза?
2. Какие преимущества перед микроскопическим исследованием для диагностики туберкулеза имеет культуральный метод?
3. Какие недостатки имеет культуральный метод?

1.1. Структура лабораторной сети

Все лаборатории (вне зависимости от их ведомственной подчиненности), участвующие в выявлении, диагностике и контроле химиотерапии туберкулеза микробиологическими методами, объединены в единую лабораторную сеть. Стержнем построения подобной сети является система обеспечения качества исследований.

Лабораторная сеть по микробиологической диагностике туберкулеза организована по территориальному принципу и включает в себя клиничко-диагностические лаборатории общей лечебной сети и лаборатории противотуберкулезных учреждений, которые подразделяются на уровни, различающиеся по своим функциям.

Первый этап исследований по выявлению больных туберкулезом осуществляется клиничко-диагностическими лабораториями общей лечебной сети (КДЛ ОЛС) либо так называемыми центрами микроскопии, которые могут быть организованы как на базе лечебно-профилактических учреждений, так и на базе противотуберкулезных учреждений. Вышеперечисленные лаборатории образуют **начальный уровень лабораторной сети** Федеральной Программы борьбы с туберкулезом (периферийные лаборатории). КДЛ ОЛС и центры микроскопии проводят микроскопическое исследование мокроты по Цилю–Нильсену при выявлении больных туберкулезом и контроле химиотерапии на амбулаторной фазе лечения.

Функциями лабораторий начального уровня являются:

- регистрация образцов, направленных для исследования в соответствии с установленными формами;
- приготовление и окраска мазков из нативной мокроты по методу Циля–Нильсена;
- микроскопия мазков и оценка результатов;
- регистрация результатов исследований и их своевременное доведение до лечебных подразделений;
- осуществление внутрилабораторного контроля качества исследований;
- поддержание оборудования в рабочем состоянии, соблюдение правил использования и хранения реактивов;
- соблюдение правил техники безопасности при работе с инфекционным материалом и опасными химическими веществами;
- сохранение мазков для проведения реанализа в соответствии с рекомендациями координатора лабораторной службы.

Что касается специализированных бактериологических лабораторий, выполняющих на уровне региона микробиологические исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, то их можно разделить на:

- бактериологические лаборатории, осуществляющие только микроскопические исследования и посев диагностического материала;
- лаборатории противотуберкулезных учреждений регионального уровня, проводящие весь комплекс микробиологических исследований.

Бактериологические лаборатории первого уровня – это бактериологические (или клиничко-диагностические) лаборатории, организованные на базе центральных

районных и областных больниц (имеющих, как правило, противотуберкулезные отделения или койки) или на базе районных (городских) противотуберкулезных диспансеров, а также противотуберкулезных больниц.

Функциями лабораторий первого уровня являются:

- оценка качества, отбор и регистрация образцов, направленных для исследования в соответствии с установленными формами;
- проведение предварительной обработки материала;
- посев осадка диагностического материала на стандартные среды, инкубация, еженедельный просмотр посевов и оценка результатов посева;
- приготовление и окраска мазков из осадка для выявления КУМ (или из нативной мокроты с окраской по методу Циля–Нильсена);
- микроскопия мазков и оценка результатов микроскопии;
- регистрация результатов исследований и их своевременное доведение до лечебных подразделений;
- передача всех выделенных культур микобактерий (в том числе и пигментированных) для дальнейших исследований в лаборатории второго уровня в сроки не более 5–7 дней с момента обнаружения роста);
- регистрация результатов идентификации культур и их лекарственной чувствительности, полученных из лаборатории более высокого уровня;
- осуществление внутрилабораторного контроля качества исследований и регистрация его результатов;
- поддержание оборудования в рабочем состоянии, соблюдение правил использования и хранения реактивов;
- соблюдение правил техники безопасности при работе с инфекционным материалом и опасными химическими веществами;
- участие в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований;
- предоставление ежегодных статистических отчетов в курирующую лабораторию.

Первичная идентификация культур (по морфологии колоний, скорости роста и кислотоустойчивости), выделенных в лабораториях первого уровня, должна проводиться на месте. Сотрудник лаборатории первого уровня может выдать предварительный результат о выделении культуры, относящейся к комплексу *M. tuberculosis*.

Профессиональная подготовка сотрудников лаборатории первого уровня должна быть достаточной для того, чтобы обеспечить правильность проведения первичной идентификации выделенных культур и квалифицированного проведения микробиологических манипуляций, исключающих загрязнение культуры при взятии образца для микроскопии.

Для обеспечения качества исследований и экономии реактивов лаборатории первого уровня могут взять на себя централизованное приготовление растворов красителей для микроскопии и распределение готовых растворов по клиничко-диагностическим лабораториям ОЛС.

Лаборатории первого уровня осуществляют свою деятельность в тесном сотрудничестве с центральной лабораторией региона в организации обеспечения качества исследований, как в своей лаборатории, так и в подведомственных КДЛ ОЛС и центрах микроскопии.

Бактериологические лаборатории второго уровня – это центральные бактериологические лаборатории регионов РФ. Обычно это бактериологическая лаборатория при областном, краевом или республиканском противотуберкулезном диспансере,

которая возглавляет лабораторную сеть данного региона. Однако в крупных регионах с населением в несколько миллионов человек помимо центральной лаборатории могут функционировать и другие лаборатории, выполняющие функции лабораторий второго уровня.

Функции лабораторий второго уровня:

- оценка качества, отбор и регистрация образцов, направленных для исследования в соответствии с установленными формами;
- проведение предварительной обработки материала;
- посев осадка диагностического материала на стандартные среды, инкубация, еженедельный просмотр посевов и оценка результатов посевов;
- приготовление и окраска мазков из осадка для выявления КУМ (или из нативной мокроты с окраской по методу Циля–Нильсена);
- микроскопия мазков и оценка результатов;
- предварительная идентификация выделенных штаммов как относящихся к комплексу микобактерий туберкулеза;
- дифференциация культур по принадлежности к видам внутри комплекса микобактерий туберкулеза;
- определение лекарственной чувствительности выделенных в лаборатории и полученных из лабораторий первого уровня культур к основным и резервным противотуберкулезным препаратам (определение чувствительности к препаратам резервного ряда целесообразно проводить только в централизованных лабораториях регионального уровня – краевых, республиканских, областных);
- регистрация результатов исследований и их своевременное доведение до лечебных подразделений;
- передача выделенных культур нетуберкулезных микобактерий для дальнейших исследований в межрегиональные лаборатории (третьего уровня);
- осуществление внутрिलाбораторного контроля качества исследований и регистрация его результатов;
- поддержание оборудования в рабочем состоянии, соблюдение правил использования и хранения реактивов;
- соблюдение правил техники безопасности при работе с инфекционным материалом и опасными химическими веществами;
- участие в Федеральной системе внешней оценки качества клинических лабораторных исследований;
- курация и контроль за функционированием системы обеспечения качества исследований для диагностики туберкулеза в КДЛ ОЛС, центрах микроскопии и лабораториях первого уровня, включенных в зону курации централизованной лаборатории;
- подготовка кадров для бактериологических лабораторий первого уровня и участие в подготовке кадров клиничко-диагностических лабораторий ОЛС;
- предоставление ежегодного статистического отчета в курирующую лабораторию третьего уровня (межрегиональную);
- полицейской (персонифицированный) учет обследуемых пациентов с положительными результатами микробиологического исследования (микроскопического или культурального) – ведение бактериотеки.

Бактериологические лаборатории третьего уровня – это бактериологические лаборатории Федеральных НИИ туберкулеза/фтизиопульмонологии, курирующие

микробиологические исследования для диагностики туберкулеза в федеральных округах. Лаборатории третьего уровня проводят полный спектр микробиологических исследований с привлечением молекулярно-генетических методов, проводят научно-практические исследования, оказывают организационно-методическую и информационную помощь курируемым региональным лабораториям.

В дополнение к функциям лабораторий второго уровня межрегиональные лаборатории проводят:

- видовую идентификацию туберкулезных и нетуберкулезных микобактерий (штаммы, выделенные как в самой лаборатории, так и полученные из лабораторий 1-го и 2-го уровней);
- экспертные и консультативные лабораторные исследования материала, предоставляемого лечебно-профилактическими учреждениями регионов федерального округа для решения спорных вопросов диагностики туберкулеза;
- сбор и анализ ежегодной информации о работе лабораторий курируемого федерального округа по выявлению туберкулеза;
- предоставление экспертных заключений, справок о состоянии лабораторной диагностики в курируемом федеральном округе и внесение в территориальные органы здравоохранения предложений по совершенствованию деятельности по лабораторной диагностике туберкулеза;
- организацию совещаний, тематических конференций и семинаров для специалистов лабораторий, участвующих в лабораторной диагностике туберкулеза в курируемом федеральном округе.

1. К какому уровню относится лаборатория, в которой вы работаете?
2. Какие исследования должны проводиться в вашей лаборатории? Какие исследования проводятся в настоящее время?
3. Какая лаборатория курирует вашу лабораторию?
4. Какую помощь вы можете получить от курирующей вас лаборатории?
5. Какие из перечисленных выше функций, соответствующих уровню вашей лаборатории, она выполняет? Какие функции не выполняются и почему?

1.2. Документация по организации работы бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы

Документация бактериологической лаборатории должна отражать организацию ее деятельности в соответствии с требованиями, изложенными в Санитарных правилах устройства бактериологических лабораторий и проведения исследований микроорганизмов III–IV группы учета патогенности, а также в Приложении 11 Приказа МЗ РФ № 109 от 21 марта 2003 года.

В лаборатории, проводящей исследования для диагностики туберкулеза, должны быть документы, утвержденные руководством медицинской организации и определяющие качество проведения сертифицируемых процессов. Эти документы должны быть собраны в единый пакет (файл), называющийся «Руководство по обеспечению качества».

«Руководство по обеспечению качества» должно содержать информацию, составляющую паспорт лаборатории:

1. Реквизиты лаборатории и медицинского учреждения, в структуру которого входит лаборатория.
2. Список проводимых исследований.
3. Действующие лицензии или иные разрешения на проведение исследований.
4. Список сотрудников с указанием образования и пройденных курсов постдипломного образования и аттестационных курсов (с датами аттестаций), курсов обучения по специальности и прочих для каждого сотрудника; номера сертификатов, дипломов, удостоверений, указания организаций, проводивших обучение.
5. Функциональные обязанности каждого сотрудника.

Кроме того, в «Руководстве по обеспечению качества» должны содержаться:

1. Копии нормативных документов, определяющие безопасность и порядок проведения работ в лаборатории.
2. Инструкции по проведению всех этапов проведения исследований:
 - этапа сбора и транспортировки диагностического материала, согласованные с главным врачом медучреждения;
 - инструкции по проведению лабораторных исследований (аналитических методов);
 - инструкции по интерпретации результатов исследования, формы лабораторного заключения.
3. Инструкции по технике безопасности, разработанные инженером по технике безопасности совместно с руководством лаборатории.
4. Инструкции по использованию оборудования лаборатории.

Сотрудники лаборатории и клинических подразделений, действия которых непосредственно влияют на качество лабораторных исследований, должны быть проинструктированы относительно использования «Руководства по обеспечению качества» и применения всех включенных в него документов. «Руководство по обеспечению качества» должно периодически пересматриваться и дополняться в соответствии с изменениями в структуре лаборатории, в применяемых методах, нормативных документах, регламентирующих работу лаборатории.

На рабочих местах должны находиться краткие СОПы – стандартные операционные процедуры, излагающие последовательность проводимых процедур, а также инструкции по поведению при возникновении аварийных ситуаций.

Помимо «Руководства по обеспечению качества» в лаборатории должны вестись журналы, в которых регистрируются техническое обслуживание оборудования, контроль за адекватной работой, аттестация приборов, журнал проведения инструктажа по технике безопасности, журналы регистрации проводимых исследований и другие документы.

Вопросы

1. Какие документы должны входить в «Руководство по обеспечению качества»?
2. Какие документы по технике безопасности ведутся в вашей лаборатории? Чем и как часто проводится инструктаж по технике безопасности в вашей лаборатории?
3. Какие документы, регистрирующие техническое обслуживание оборудования, ведутся в вашей лаборатории?
4. Что такое СОПы? Составьте список СОПов для вашей лаборатории.

1.3. Устройство лаборатории, выполняющей микробиологические исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза

1.3.1. Помещение бактериологической лаборатории

Планирование помещения лаборатории

При организации микроскопических и культуральных исследований по диагностике и контролю химиотерапии туберкулеза необходимо руководствоваться Федеральными санитарными правилами и нормами Российской Федерации и помнить, что к работе с возбудителем туберкулеза допускаются лаборатории, подготовленные для работы с микроорганизмами III – IV группы учета патогенности.

Это связано с высоким эпидемиологическим риском аэрозольной передачи микобактерий туберкулеза при проводимых в лаборатории манипуляциях. Устройство лаборатории, расположение и организация рабочих мест должны не только снижать риск контаминации рабочих мест и материала, но и обеспечивать необходимые меры безопасности при работе персонала с возбудителем туберкулеза, предотвращая внутрилабораторное инфицирование.

Работу с патогенными биологическими агентами III–IV группы патогенности (в том числе с диагностическим материалом, подозрительным на содержание таких) могут производить только лаборатории, имеющие разрешение (лицензию) Государственного санитарно-эпидемиологического надзора и нормирования МЗ и СР РФ. Микобактерии туберкулеза отнесены к III группе учета патогенности. Лаборатории должны быть оборудованы согласно Федеральным санитарным правилам, нормам и гигиеническим нормативам (СанПиН) СП 1.2.731 – 99.

При организации микробиологических исследований по диагностике и контролю химиотерапии туберкулеза необходимо также руководствоваться требованиями Строительных норм и правил, предъявляемыми к бактериологическим лабораториям (СНиП 535-81). Лаборатории, выполняющие микробиологические исследования, должны иметь соответствующий набор производственных и вспомогательных помещений (с соблюдением требуемого метража этих помещений).

Имеющиеся в РФ отечественные нормативные документы регламентируют, как правило, общие требования, предъявляемые к бактериологическим лабораториям центров санитарно-эпидемиологического надзора, а также бактериологическим лабораториям, работающим с микроорганизмами определенной группы учета патогенности, не конкретизируя при этом требования, предъявляемые к работе тех или иных специализированных лабораторий. В то же время бактериологические лаборатории, выполняющие исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, имеют свои специфические особенности. В связи с этим ниже приведены рекомендации по устройству специализированных бактериологических лабораторий противотуберкулезных учреждений, выполняющих микробиологические исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза. Указанные рекомендации были специально разработаны для таких лабораторий с учетом как существующих в настоящее время отечественных нормативных документов, так и специфики работы этих лабораторий. Кроме того, при составлении данных рекоменда-

ций учитывался опыт работы зарубежных лабораторий и общепринятые международные стандарты.

Рекомендуется соблюдать следующие основные требования к устройству и помещениям лаборатории, выполняющей микробиологическую диагностику туберкулеза.

- Желательно, чтобы общая площадь лаборатории составляла не менее 300 м².
- Лаборатория должна быть разделена на инфицированную («заразную») зону, где происходит движение и обработка поступающего в лабораторию диагностического (потенциально заразного) материала, и неинфицированную («чистую») зону с отдельным входом в каждую.
- В лаборатории должен быть создан эпидемиологически безопасный путь движения исследуемых материалов в процессе приема, обработки и исследования – поточность проведения исследования.
- Для выполнения микробиологических исследований по диагностике и контролю химиотерапии туберкулеза лаборатория должна располагать полным набором помещений, имеющих соответствующее назначение и требуемый метраж и обеспечивающих соблюдение норм санитарно-гигиенического режима. Необходимый перечень и метраж помещений предусмотрен санитарными требованиями к бактериологическим лабораториям.

Набор помещений и требования к ним

Ниже представлен примерный рекомендуемый перечень рабочих и вспомогательных помещений специализированной бактериологической лаборатории противотуберкулезного учреждения, выполняющей весь комплекс микробиологических исследований с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, с указанием ориентировочного метража каждого помещения.

В «заразной» зоне:

- помещение для приема анализов и (возможно) их разбора и первичной регистрации (6–12 м²);
- помещение для разбора и первичной регистрации материала, а также (возможно) начального этапа обработки поступившего материала деkontаминантами (10–12 м²);
- помещение для предобработки поступившего материала, проведения посевов, приготовления и окраски мазков (16–20 м²);
- термальная (не менее 7 м²) или термостатная комната;
- помещение для просмотра посевов (10–12 м²);
- помещение для световой микроскопии (12 м²);
- помещение для люминесцентной микроскопии (12 м²);
- помещение для постановки тестов на ЛЧ МБТ (14 м²);
- помещение для работы врачей (12 м²);
- комната для обеззараживания материала в автоклавах (16 м²);
- кладовая для дезсредств (4–6 м²);
- санузел.

В «чистой» зоне:

- моечная (18 м²);
- препаратная (подготовка посуды) (12 м²);
- стерилизационная (в сухожаровых шкафах) (15 м²);

- средоварка (18 м²);
- автоклавная (16 м²);
- ординаторская для врачей (12 м²);
- кабинет старшего лаборанта (10 м²);
- кабинет заведующего лабораторией (12 м²);
- комната для холодильников (8–10 м²);
- складское помещение (5–10 м²);
- санузел;
- комната для персонала (прием пищи) (14 м²);
- комната для надевания рабочей одежды (12 м²);
- гардероб для верхней одежды (12 м²).

Планируя устройство лаборатории, рекомендуется предусмотреть следующие моменты.

- В лаборатории должен быть тамбур при переходе из «заразной» зоны в «чистую», где сотрудники лаборатории могли бы вымыть руки и переодеться.
- Желательно наличие в лаборатории санпропускника.
- Помещение лаборатории должно быть снабжено водопроводом и канализацией. В каждой комнате лаборатории должен быть подвод воды и раковина для мытья рук. В ряде комнат (автоклавная в «заразной» зоне, моечная комната) следует предусмотреть наличие специальных (широких) канализационных стоков (например, для слива воды после уборки лаборатории и других нужд).
- Рекомендуется использовать хирургические или сенсорные водопроводные краны. Запрещается использовать «воздушные полотенца». Для вытирания рук после мытья следует пользоваться одноразовыми бумажными полотенцами.
- Ширина коридора лаборатории должна быть не менее 2 м. В лаборатории не должно быть порогов. Двери из комнат с автоклавами должны открываться наружу.
- Стены, потолок и полы лаборатории должны быть покрыты гладким, неадсорбирующим материалом, который можно легко мыть и дезинфицировать. Кроме того, этот материал должен быть устойчивым к химическим реактивам, используемым в лаборатории. Пол не должен быть скользким, межкомнатные пороги должны отсутствовать.
- При возможности желательно все рабочие помещения лаборатории выложить кафелем до потолка (в крайнем случае – на высоту 1,5–1,8 м). В случае если это не представляется возможным, рекомендуется наличие кафеля, как минимум, в следующих рабочих помещениях:
 - в «заразной зоне» – помещения для приема анализов, первичной предобработки, проведения посевов и приготовления мазков, просмотра посевов, постановки тестов на ЛУ МБТ, обеззараживания инфицированного материала в автоклавах, а также в термостатной (термальной) комнате.
 - в «чистой зоне» – моечная, средоварка, автоклавная.
- На окна (особенно в комнатах для микроскопии) следует повесить жалюзи, которые могут быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами. Окна, выходящие на южную сторону, также можно закрыть специальной алюминиевой фольгой или водостойкой светозадерживающей пленкой.
- В каждой комнате должны быть настенные ультрафиолетовые (УФ) облучатели.

Персонал лабораторий, работающий с МБТ, подвергается риску внутрилабораторного заражения аэрозольным путем, поэтому правильная проектировка помещений лаборатории в значительной степени предотвращает подобные случаи.

Планирование лабораторных помещений зависит от размера, формы имеющихся помещений и функций каждой конкретной лаборатории. Тем не менее наиболее важным аспектом проектирования лаборатории является обеспечение поточности поступления анализов и работы с ними из «чистой» зоны в «заразную».

«Заразная» зона лаборатории – это помещения, работа в которых наиболее опасна для персонала. В этих помещениях проводят работы с диагностическим материалом и культурами микобактерий. Наиболее «заразным» является помещение, в котором производится обработка диагностического материала (деконтаминация и посев). В лабораториях, проводящих исследование лекарственной чувствительности, наиболее инфекционно опасной является зона, в которой готовят микобактериальную суспензию для засева. В «заразных» помещениях персонал должен быть одет в специальную одежду. При переходе в «чистую» зону верхняя одежда должна меняться.

Посев на МБТ всегда должен осуществляться в отдельном, изолированном помещении. Во время работы с инфицированным материалом и культурой микобактерий воздух должен постоянно выводиться наружу через биологические шкафы безопасности (БШБ). Лаборатория должна быть оборудована автономной приточно-вытяжной вентиляцией, гарантирующей невозможность попадания инфекционных аэрозолей из «заразной» зоны лаборатории в «чистую» зону лаборатории, а также в другие помещения медучреждения и вентиляционную систему медучреждения.

«Чистая» зона лаборатории – помещения, в которых не проводятся работы с инфицированным материалом или культурами. Движение воздуха должно быть от «чистой» зоны к наиболее «заразным» помещениям. Движение инфекционного материала по лаборатории нигде не должно пересекать поток воздуха в «чистое» помещение.

Устройство вентиляции

Общие положения

В соответствии с действующим Приказом МЗ РФ № 109, устройство бактериологической лаборатории по диагностике туберкулеза должно обеспечивать необходимые (в том числе – инженерные) меры безопасности при работе персонала с возбудителем туберкулеза.

Инженерные мероприятия (проектные и технические) направлены на снижение концентрации инфекционных аэрозолей в воздухе и включают в себя (по мере возрастания сложности):

- удаление и обмен воздуха путем естественной вентиляции, что допустимо только для неинфицированных помещений;
- организацию в лаборатории принудительной вентиляции воздуха в помещениях и на рабочих местах (общая и локальная вентиляция), исключающей попадание инфекционного аэрозоля в коридоры и другие смежные помещения;
- удаление и обеззараживание инфекционного аэрозоля, находящегося в воздухе помещений, с использованием технических средств.

Общая принудительная вентиляция (приточная, вытяжная или приточно-вытяжная) должна обеспечивать удаление загрязненного (инфицированного) воздуха из помещения и препятствовать возникновению застойных зон.

В случае использования приточной вентиляции в качестве единственного инженерного мероприятия по очистке воздуха она должна обеспечивать шестикратный воздухообмен в инфицированной зоне лаборатории. С этой целью места поступления и отбора воздуха должны быть размещены таким образом, чтобы чистый воздух вначале направлялся в те части комнаты, где работает персонал, а затем, обтекая источник инфекции, поступал на выброс.

Локальная вентиляция должна обеспечивать удаление инфицированного воздуха из зоны работы с инфицированным материалом. Она может быть организована в виде локальных вытяжных зонтов, колпаков, вытяжек и других технических устройств.

При работе с инфицированным материалом локальная вытяжная вентиляция должна быть оснащена бактерицидными фильтрами или другими устройствами, предотвращающими выброс инфекционного аэрозоля наружу, а также обратный ток воздуха в момент выключения вентиляции. Линейная скорость потока воздуха таких устройств обычно составляет 0,3–1 м/с.

Обеззараживание воздуха и системы рециркуляции воздуха внутри помещений. Системы обеззараживания воздуха должны обеспечивать снижение концентрации инфекционного аэрозоля в воздухе и поддержание ее на заданном нормативными документами уровне.

Устройства обеззараживания воздуха могут использоваться как в системе общей вентиляции, так и в автономном режиме рециркуляции воздуха в помещении. Преимуществом использования устройств обеззараживания воздуха рециркуляционного типа является возможность уменьшения кратности воздухообмена и затрат электроэнергии по сравнению с системами общей вентиляции, а также простота эксплуатации и технического обслуживания. Конструкции внутрикомнатных систем рециркуляции могут различаться, поэтому их применение должно контролироваться специалистами.

Стационарные и портативные установки на основе высокоэффективных («HEPA») фильтров эффективны, однако являются дорогостоящими и требуют постоянного инженерного обслуживания. При использовании таких устройств необходимо контролировать состояние фильтров и осуществлять их своевременную замену и утилизацию. Кроме того, такие устройства должны гарантировать высокую эффективность фильтрации инфекционного аэрозоля и работать непрерывно для исключения возможности вторичного попадания отфильтрованного инфекционного аэрозоля в воздух помещения.

Устройства, инактивирующие микроорганизмы, должны обеспечивать разрушение микробных клеток в процессе обработки воздуха и не оказывать отрицательного влияния на воздушную среду, материалы, оборудование и человека. Кроме того, системы рециркуляции не должны создавать турбулентных и короткозамкнутых потоков воздуха и не должны нарушать схему потоков общей или локальной вентиляции.

В связи с изложенным такие установки должны иметь необходимые документы, разрешающие их использование в противотуберкулезных учреждениях, а также методическую документацию по правилам эксплуатации и рекомендации по их исполь-

зованию в помещении. Указанные системы могут быть представлены ламинарными шкафами, фильтрующими или обеззараживающими устройствами и/или приборами, сочетающими указанные функции.

Основные требования к вентиляции

В соответствии с Санитарными правилами СП 1.2.731–99 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и гельминтами» во вновь строящихся и реконструируемых лабораториях, выполняющих микробиологические исследования по диагностике и контролю химиотерапии туберкулеза, следует предусматривать устройство автономной приточно-вытяжной вентиляции с установкой фильтров тонкой очистки воздуха, выбрасываемого из «заразной» зоны.

При этом окна и двери помещений «заразной» зоны лаборатории должны быть герметичными. Имеющаяся вытяжная вентиляция из «заразной» зоны лаборатории должна быть изолирована от других вентиляционных систем и оборудована фильтрами тонкой очистки воздуха. При использовании в лаборатории боксов биологической безопасности только II класса и отсутствии других локальных вытяжных систем, общая система вытяжной вентиляции может быть использована без установки фильтров.

Эксплуатация вентиляционных устройств должна проводиться в соответствии с Инструкцией по эксплуатации и контролю эффективности вентиляционных устройств на объектах здравоохранения.

Что касается кратности воздухообмена, то, согласно имеющимся в настоящее время отечественным нормативам, в «заразной» зоне бактериологической лаборатории должна быть обеспечена 6–8-кратная замена воздуха в час (зарубежные нормативы предусматривают наличие 12-кратного обмена воздуха в час).

В соответствии с Методическими рекомендациями ВОЗ (1998) и Международного Союза борьбы с туберкулезом (1998) для лабораторных служб в рамках национальных программ борьбы с туберкулезом в бактериологических лабораториях, работающих с возбудителем туберкулеза, рекомендуется предусматривать устройство системы вентиляции с отрицательным давлением в «заразной» зоне. Это позволит предотвратить возможность попадания инфицированного воздуха в «чистую» зону лаборатории.

Согласно вышеуказанным рекомендациям, движение воздушных потоков в лаборатории должно быть полностью контролируемо и настроено так, чтобы воздушный поток направлялся из «чистой» зоны в «заразную». Вентиляционная система должна быть сбалансирована таким образом, что свежий фильтрованный уличный воздух направляется в «чистые» зоны, в то время как равный по объему воздух удаляется через «загрязненные» зоны лаборатории (в том числе через вытяжные шкафы и ламинарные боксы первого класса биологической безопасности). Благодаря этому будет существовать постоянный воздушный поток из «чистой» зоны лаборатории в «заразную».

Воздух, поступающий в лабораторию, должен быть очищен от пыли с помощью фильтра грубой очистки и в зимнее время подогрет в калориферах. Удаляемый из лаборатории воздух должен перед выходом пройти через фильтры тонкой очистки воздуха. Локальные вытяжные системы (вытяжные шкафы, зонты, боксы биобезопасности I класса) подключаются к системе вытяжной вентиляции «заразной» зоны. Исключение могут составить только боксы II класса биобезопасности,

которые могут как подключаться к общей вытяжной системе, так и работать автономно.

Стандарты воздухообмена и разницы давления следует устанавливать в зависимости от числа анализов в год и процента положительных анализов среди них. Если бактериологические методы выполняются в строгом соответствии со стандартами безопасности и все потенциально опасные процедуры выполняются в биологическом шкафу безопасности, риск инфицирования будет минимальным.

6–12-кратный воздухообмен в час достаточен для удаления из помещения 99% аэрозолей в течение 30–45 минут. Оборудование, подающее и удаляющее воздух из лаборатории, следует располагать на противоположных стенах, при этом направление движения воздуха осуществляется из «чистой» зоны в «заразную»: воздух подается в чистые помещения, а удаляемый воздух забирается из «заразной» зоны. Избыток подаваемого и равный объем удаляемого воздуха достаточен для создания необходимой разницы давления между «чистыми» и «заразными» помещениями.

Воздух должен выводиться непосредственно наружу на уровне не менее 3 метров над поверхностью земли. Выводное отверстие вентиляционной трубы не должно находиться перед или под окнами жилых или рабочих помещений.

Такое планирование помещений лаборатории позволяет снизить риск инфицирования не только сотрудников лаборатории, но и людей, находящихся в других помещениях данного медучреждения.

Монтаж вентиляционной системы желательно проводить одновременно с внутренней отделкой помещений лаборатории. Это позволит убрать вентиляционные трубы под потолок и обеспечить тем самым удобство санитарной обработки рабочих помещений (мытьё и дезинфекцию).

1.3.2. Размещение в лаборатории оборудования и инструментов

Ниже приведено описание помещений специализированной бактериологической лаборатории и размещаемого в них оборудования и лабораторной мебели.

Описание носит рекомендательный характер и должно использоваться с учетом индивидуальных особенностей и общей площади помещения, в котором размещается лаборатория.

1. Помещение для приема анализов

Анализы, поступающие в лабораторию, могут подаваться через окно/люк или через дверь в отдельное помещение (приемная для анализов), находящееся в «заразной» зоне лаборатории. При этом на входной двери в лабораторию необходимо наличие звонка для вызова сотрудника лаборатории.

В комнате для приема анализов рекомендуется иметь стол для приема анализов (над которым в обязательном порядке следует повесить УФ-облучатель), шкаф для хранения ежедневного запаса стерильных контейнеров для сбора мокроты, раздаваемых в отделения диспансера, и оборотных биксов с контейнерами, раздаваемых в районы.

Если позволяет площадь, в этом помещении может быть установлен вытяжной шкаф (или ламинарный шкаф 1-го класса биологической безопасности) для проведения в нем первичного разбора материала и нумерации контейнеров и направлений.

2. Помещение для разбора и первичной регистрации поступившего материала

В этой комнате производится разбор поступающих в лабораторию анализов. Лабораторный работник должен достать контейнеры из бикса, осмотреть их, обработать поверхность контейнеров раствором дезинфектанта, а затем обработать бикс. Для обеспечения безопасности сотрудника эти манипуляции рекомендуется выполнять в вытяжном шкафу (или в ламинарном шкафу 1-го класса биобезопасности).

Далее сверяются данные на лабораторном направлении, сопроводительном листе и контейнере, нумеруются контейнеры и направления, и необходимые данные заносятся в лабораторный регистрационный журнал. По завершении этих операций анализы отправляются в основную зону для дальнейшей работы.

Данное помещение может быть оборудовано специальными, выдерживающими обработку дезинфектантами, лабораторными столами для разбора материала с устройством над ними местной вытяжной вентиляции (местных вытяжных зонтиков). Однако более предпочтительный вариант – установка в данном помещении вытяжного шкафа или биологического шкафа 1-го класса безопасности, в котором при желании можно будет не только разбирать поступившие пробы материала, но и сразу же заливать в контейнеры деконтаминант для обработки материала.

В данном помещении рекомендуется иметь отдельный стол для первичной регистрации анализов в журнале и небольшой сухожаровой шкаф для обработки направлений на проведение анализов.

Кроме того, здесь же можно поставить холодильник для хранения проб мокроты.

3. Помещение для проведения предобработки диагностического материала, проведения посевов, приготовления и окраски мазков

Если лаборатория располагает достаточным количеством помещений и оборудования, рекомендуется выделить отдельное помещение для выполнения в нем процедуры предварительной обработки поступившего в лабораторию диагностического материала. В этом случае указанное отдельное помещение должно быть оборудовано ламинарным шкафом 1-го класса биологической безопасности, в котором будет производиться заливка деконтаминанта в контейнеры с диагностическим материалом. В указанном помещении устанавливаются также термостат, в который будут помещаться пробы, залитые деконтаминантом, для проведения обработки материала и центрифуги для центрифугирования проб диагностического материала после его первичной обработки.

В том случае, если имеющаяся площадь лаборатории не позволяет выделить отдельное помещение для проведения предварительной обработки материала, эту производственную операцию следует проводить в помещении, предназначенном для выполнения посевов, выделив в нем отдельную рабочую зону, в которой будет находиться все необходимое для этой манипуляции оборудование (термостат, центрифуги). Для выполнения процедуры заливки деконтаминанта в контейнеры может быть использован либо отдельный ламинарный шкаф биобезопасности, либо – в случае отсутствия такового – биологический шкаф безопасности, предназначенный для проведения посевов.

В помещении должно иметься все необходимое для приготовления мазков и посева на питательные среды. Желательно, чтобы зона, где выполняются наиболее опасные этапы, располагалась в самой дальней части основной рабочей зоны. Здесь устанавливаются ламинарный шкаф 1-го или (что предпочтительнее) 2-го класса биологической

безопасности, предназначенный для проведения посевов и приготовления мазков. Оптимальная ширина рабочей поверхности такого шкафа, обеспечивающая максимальное удобство в работе, составляет 1,5 м. В этой же зоне должен находиться выход вытяжной вентиляции (эту функцию может выполнять шкаф 1-го класса биологической безопасности, обеспечивая поток воздуха в помещениях от «чистой» зоны в «заразную»).

В данном помещении должен быть установлен сухожаровой шкаф для фиксации мазков.

Также в этой комнате рекомендуется иметь лабораторные столы (для подписывания предметных стекол, пробирок и т. д.) и шкафы для хранения ежедневного запаса лабораторной посуды и инструментов.

Для окраски приготовленных мазков рекомендуется выделить в помещении изолированное рабочее место – это может быть мойка с установленным над ней вытяжным зонтом, но предпочтительнее всего использовать для этих целей вытяжной шкаф с встроенной в него специальной двухсекционной мойкой для окрашивания мазков. Для проведения процедуры окрашивания мазков также может быть выделено отдельное небольшое помещение (если позволяет общий метраж лаборатории).

4. Термальная комната

Термальная комната для поддержания стабильной температуры 37 °С предназначена для инкубации посевов (рис. 1). Указанная температура должна поддерживаться на постоянном уровне во всем объеме данного помещения. При возможности вход в термальную комнату рекомендуется оборудовать предбоксиком для предотвращения резкого снижения температуры при открывании двери в термальную комнату.

Стены, потолок, пол комнаты, а также стеллажи для культур должны быть выполнены из материала, который может быть подвергнут дезинфекционной обработке.



Рис. 1 Термальная комната для инкубации посевов

5. Помещение для просмотра посевов и описания выросших культур (комната для работы врача с выделенными культурами может быть отдельной)

Для проведения просмотров культур в помещении рекомендуется установить большой лабораторный стол (или столы), имеющие поверхность, легко поддающуюся обработке дезинфектантами. Для записей результатов просмотра рекомендуется использовать отдельный стол, специально отведенный для этих целей.

При отсутствии специально выделенного помещения оформление выдаваемых результатов может проводиться здесь, а затем данные могут передаваться в «чистую» зону для внесения их в компьютерную картотеку и лабораторный журнал.

6. Помещение для световой микроскопии

В помещении устанавливаются световые микроскопы и шкафчики для хранения мазков. Рекомендуется иметь отдельный стол для регистрации результатов анализов.

При отсутствии специально выделенного помещения, и если позволяет метраж данной комнаты, в ней можно разместить столы и шкафчики для хранения и заполнения ручной картотеки, а также для регистрации результатов исследований в журналах и заполнения всевозможной документации. В этой комнате может проводиться оформление выдаваемых результатов, а затем данные могут передаваться в «чистую» зону для внесения их в компьютерную картотеку.

7. Помещение для люминесцентной микроскопии

Для люминесцентной микроскопии рекомендуется иметь отдельную комнату. Это связано с тем, что проводить микроскопическое исследование препаратов на люминесцентном микроскопе следует в затемненном помещении. Оно оборудуется люминесцентным микроскопом и столом для работы с документацией.

При отсутствии в лаборатории достаточного количества помещений люминесцентный микроскоп может быть установлен в комнате для световой микроскопии.

8. Помещение для постановки тестов на ЛЧ МБТ

Постановка тестов на лекарственную чувствительность является наиболее опасной с эпидемической точки зрения процедурой в бактериологической лаборатории, проводящей исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза.

Данное помещение оборудуется ламинарным шкафом 2-го класса биологической безопасности для постановки тестов на лекарственную чувствительность. Оптимальная ширина рабочей поверхности такого шкафа, обеспечивающая удобную работу двух операторов, составляет 1,8 м. В непосредственной близости от шкафа рекомендуется установить лабораторный стол для проведения подготовительных операций к постановке теста на ЛЧ МБТ и расстановки на нем всего необходимого для работы. Кроме того, в этом помещении нужен шкаф или тумбочка (для хранения, например, требуемого запаса стерильной посуды, пипеток и других расходных материалов для постановки теста на ЛЧ МБТ).

В этом помещении можно поставить холодильник, где в холодильной камере будут храниться культуры микобактерий туберкулеза.

При наличии в лаборатории автоматического анализатора ВАСТЕС MGIT 960 его можно установить в данном помещении.

Если в лаборатории нет возможности выделить отдельное помещение для постановки тестов на ЛЧ МБТ, то эти исследования можно выполнять в помещении, предназначенном для проведения посевов (при условии, что оно имеет достаточный метраж, позволяющий установить в нем все необходимое оборудование, а также может быть разделено на отдельные рабочие зоны с изолированными рабочими местами).

9. Помещение для работы врачей

Данное помещение предназначено, в первую очередь, для работы врачей с документацией и может быть выделено при наличии в лаборатории достаточного количества свободной площади.

В этом случае данное помещение может быть использовано для оформления врачами результатов исследований, выдаваемых в клинические подразделения, а также для регистрации результатов исследований в журналах и заполнения различной документации. Здесь же может быть размещена картотека на больных.

Помещение также может быть использовано для работы врача с выделенными культурами микобактерий (в том случае если в помещении, предназначенном для просмотра посевов, недостаточно места). Для выполнения этой работы требуется выделить в помещении отдельную рабочую зону и установить в ней специальный лабораторный стол, имеющий поверхность, легко поддающуюся обработке дезинфицирующими средствами. Над этим столом рекомендуется смонтировать УФ-облучатель.

10. Помещение для обеззараживания инфицированного материала в «грязных» автоклавах

Помещение оборудуется автоклавами, а также в нем устанавливают обрабатываемый дезинфектантами стол (металлический или с поверхностью из обрабатываемого пластика) для грязных биксов и инфицированной посуды, и еще один стол – для простерилизованной посуды.

В комнате должен быть оборудован специальный канализационный сток для слива воды после уборки «заразной» зоны лаборатории.

Из комнаты № 10 материал после автоклавирования передают через окно (рис. 2) в моечную комнату № 13.



Рис. 2 Окно для передачи материала из «заразной» зоны в «чистую»

Окно для передачи в моечную комнату обеззараженной посуды должно быть достаточно широкое и герметично закрывающееся. Для удобства передачи биксов не рекомендуется располагать окно слишком высоко, предпочтительно – на уровне стола.

11. Кладовая в «заразной» зоне

Используется для хранения дезинфицирующих средств и уборочного инвентаря для «заразной» зоны.

12. Тамбур-шлюз при переходе из «заразной» зоны в «чистую» и наоборот.

Санпропускник

Персонал лаборатории входит в «заразный» блок лаборатории через тамбур. Перед началом работы в «заражном» блоке сотрудники снимают и оставляют в тамбуре халаты, предназначенные для работы в «чистом» блоке, и надевают халаты, предназначенные для работы в «заражном» блоке. В свою очередь, по окончании работы в «заражном» блоке, выходя из него, сотрудники оставляют в тамбуре те халаты, в которых они работали в «заражной» зоне, и опять надевают свои халаты для работы в «чистой» зоне.

Халаты, предназначенные для работы в «чистом» блоке, рекомендуется менять не реже 1 раза в неделю или по необходимости. Халаты, предназначенные для работы в «заражном» блоке, рекомендуется менять ежедневно, по окончании работы с инфицированным материалом.

В тамбуре должен иметься запас одноразовых халатов, шапочек и бахил. В тамбуре рекомендуется установить 2 отдельных шкафа для халатов (в одном вешать халаты, предназначенные для работы в «чистом» блоке, в другом – для работы в «заражном» блоке лаборатории). Кроме того, в тамбуре должны быть контейнеры для сброса халатов, использованных в «заражной» зоне и подлежащих дезинфекции и стирке, а также для одноразовых халатов, шапочек и бахил, подлежащих дезинфекции и выбросу.

В тамбуре должна быть раковина для мытья рук, с тем чтобы там работник мог переодеться и сразу же вымыть руки.

При возможности рекомендуется также обеспечить наличие санпропускника при выходе из «заражной» зоны. В этом случае персонал лаборатории на свое усмотрение может покинуть «заразную» зону и перейти в «чистую» как через санпропускник, так и через тамбур.

13. Моечная комната

Рекомендуется оборудовать данную комнату глубокими и широкими двухсекционными мойками для мытья посуды, столами для посуды, сушильно-стерилизационным шкафом для подсушивания вымытой посуды, шкафом для хранения чистой вымытой посуды, биксов, штативов и т. д., электрической плитой (под вытяжкой) для кипячения посуды и стекол.

В этой комнате может быть установлен дистиллятор.

Дистиллированная вода нужна в лаборатории для ополаскивания посуды после мытья, для заливки ее в автоклавы и для приготовления растворов солей для питательных сред и реактивов. Поэтому если в лаборатории имеется только один дистиллятор, то он может быть установлен (в зависимости от метража имеющихся помещений) как в моечной комнате, так и в средоварке или в чистой автоклавной (что практикуется чаще всего).

В моечной комнате (при отсутствии подсобных помещений) может быть поставлен специальный шкаф для хранения дезсредств и уборочного инвентаря для уборки «чистой» зоны лаборатории.

Комнату рекомендуется оборудовать специальным канализационным стоком для слива воды после уборки «чистой» зоны лаборатории и остатков питательных сред после автоклавирования.

14. Препараторская для подготовки посуды

Данное помещение рекомендуется оборудовать лабораторными столами для работы с посудой и машинкой для изготовления ватных пробок. Кроме того, здесь может быть установлен шкаф для хранения ваты, марли, бумаги и др. материалов.

Стерилизацию посуды в сухожаровых шкафах желательно проводить в отдельном, специально предназначенном для этих целей помещении. В том случае, если это невозможно, допускается устанавливать сухожаровой шкаф в препараторской.

15. Стерилизационная

Данное помещение оборудуют сухожаровыми шкафами для стерилизации посуды. Помимо этого, в помещении может быть установлен шкаф для хранения простерилизованной посуды, а также шкаф для хранения подготовленных к раздаче в районы оборотных биксов с контейнерами.

16. Средоварка

При возможности в средоварке желательно иметь специальный ламинарный шкаф, предназначенный для приготовления и розлива питательных сред в стерильных условиях. Рядом с этим шкафом рекомендуется разместить лабораторный стол для приготовления сред (с УФ-облучателем над ним). При отсутствии ламинарного шкафа рекомендуется для приготовления и розлива в стерильных условиях питательных сред выделить в средоварке отдельную рабочую зону (по возможности с отделением ее в боксированное помещение).

Для установки в средоварке технических и аналитических весов для взвешивания навесок рекомендуется иметь два специальных отдельных столика.

Также в средоварке рекомендуется установить аппараты для свертывания питательных сред (АСПС).

В средоварке рекомендуется иметь электрическую плиту для варки сред.

Если позволяет метраж помещения, то в средоварке устанавливают шкаф для хранения стерильных солевых растворов, шкаф для хранения реактивов, лабораторный холодильник для хранения приготовленных питательных сред и реактивов.

В этой же комнате (при условии достаточных ее размеров), у раковины, можно установить дистиллятор. Дистиллятор может быть установлен не в средоварке, а в «чистой» автоклавной либо в моечной комнате.

17. Чистая автоклавная

В автоклавной комнате устанавливают автоклавы (для чистой стерилизации) и лабораторный стол.

Помимо автоклавов, в автоклавной комнате разрешается устанавливать только дистиллятор.

18. Ординаторская для врачей

Данное помещение предназначено, в первую очередь, для работы врачей с документацией в «чистой» зоне и может быть выделено как отдельное помещение при наличии в лаборатории достаточного количества свободной площади.

В этом случае данное помещение может быть использовано для работы с документацией на компьютере (при наличии компьютерной базы данных), а также для работы врачей с литературой и составления отчетов.

19. Кабинет для старшего лаборанта

В этой комнате старший лаборант заполняет таблицу и другую документацию (заявки, журналы и пр.), а также отпускает сотрудникам лаборатории спирт и расходные материалы. В комнате могут быть размещены сейфы и шкафы для хранения спирта, дорогостоящих реактивов, небольшого запаса расходных материалов (в т. ч. ваты, марли и т. д.).

20. Кабинет заведующего лабораторией

21. Комната для холодильников

Если метраж лаборатории позволяет, рекомендуется выделить в «чистой» зоне лаборатории отдельное помещение для холодильников (в них хранятся приготовленные питательные среды, реактивы и т. д.). В этой комнате также может быть установлен специальный запираемый шкаф для хранения кислот и щелочей.

22. Складское помещение. Материальная комната

Используется как складское помещение. В помещении хранится имеющийся в лаборатории запас реактивов и расходных материалов.

23. Комната для персонала

Комната отдыха и приема пищи для сотрудников лаборатории.

24. Комната для надевания рабочей одежды

Для каждого сотрудника лаборатории в комнате должен быть установлен двухсекционный шкаф: одна секция предназначена для рабочей одежды (халат, рабочий костюм и др. спецодежда), вторая секция – для обычной одежды, в которой сотрудник пришел в лабораторию.

25. Гардероб для верхней одежды

Для каждого сотрудника в комнате должен быть установлен отдельный шкаф для верхней одежды, уличной обуви и сумок.

Вход персонала в лабораторию должен проходить через офисные («чистые») помещения.

До начала работы микробиологической лаборатории необходимо убедиться в удобном и безопасном расположении оборудования, отвечающем требованиям точности от «чистого» к «заразному». Все манипуляции необходимо стандартизировать, и размещение инструментов и оборудования всегда должно быть постоянным, что гарантирует максимальную безопасность. Например, для левшей следует размещать все необходимые инструменты в зеркальном относительно обычного порядке.

Устройство лаборатории должно быть согласовано с органами Госсанэпиднадзора.

1. Расскажите об основных требованиях, которыми следует руководствоваться, планируя устройство лаборатории, выполняющей микробиологическую диагностику туберкулеза.
2. Перечислите помещения специализированной бактериологической лаборатории и укажите их ориентировочный метраж.
3. Изобразите на схеме и опишите эпидемиологически безопасное движение исследуемого материала в лаборатории, осуществляющей только посев (бактериологическая лаборатория первого уровня).
4. Опишите устройство вентиляции в бактериологической лаборатории, выполняющей микробиологическую диагностику туберкулеза.

1.3.3. Оснащение лаборатории

Оснащение бактериологических лабораторий противотуберкулезной службы современным оборудованием является важнейшим элементом обеспечения качества и безопасности их работы. Лаборатории, выполняющие микробиологические (микроскопические и культуральные) исследования по диагностике и контролю химиотерапии туберкулеза, должны быть оснащены всеми необходимыми для безопасного и эффективного выполнения данного исследования видами оборудования и расходными материалами.

Оборудование

В соответствии с современными правилами работы в бактериологических лабораториях манипуляции с инфекционным материалом, содержащим возбудитель туберкулеза, и тем более с выделенными культурами возбудителя, рекомендуется проводить только в промышленно изготовленных и сертифицированных шкафах биобезопасности. Имеющиеся в настоящее время во многих лабораториях России боксированные помещения, как правило, непригодны для работы с инфекционным материалом и клиническими изолятами микобактерий, поскольку не оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией, обеспечивающей поток воздуха, сходный с имеющимся потоком в шкафах биобезопасности. Условия работы в таких боксах практически не позволяют полностью защитить работающий в них персонал от опасности инфицирования туберкулезом. Чтобы исключить возможность профессионального заболевания персонала лаборатории туберкулезом, необходимо ликвидировать не соответствующие требованиям биобезопасности боксированные помещения и оснастить лаборатории промышленно изготовленными и сертифицированными шкафами безопасности, преимущества которых перед сделанными на месте боксированными помещениями очевидны.

Эффективность и безопасность предпосевной обработки во многом зависят от применяемых для осаждения микобактерий центрифуг. **Для обеспечения безопасности персонала в лабораториях могут использоваться только центрифуги с антиаэрозольной защитой!** Эффективность посева зависит от полноты осаждения микобактериальных клеток, температуры и времени центрифугирования. Оптимальные условия обеспечивают центрифуги с относительной силой центрифугирования не менее 3000 g и охлаждением.

В каждой баклаборатории должны быть средства индивидуальной защиты, обеспечивающие защиту персонала лаборатории от инфицирования в случае аварии, а также при невозможности обеспечить достаточную инженерную защиту персонала при выполнении опасных манипуляций.

В *Приложении 1* (таблица 1) представлен минимальный стандартный список оборудования, необходимого для бактериологической лаборатории регионального противотуберкулезного диспансера, выполняющей микроскопические исследования мазков люминесцентным методом и методом Циля–Нильсена, посевы диагностического материала, определение лекарственной чувствительности и первичную идентификацию выросших культур микобактерий. Также в *Приложении 1* (таблица 2) представлен расширенный список оборудования, использование которого в значительной степени способствует повышению эффективности исследования.

Лаборатория в обязательном порядке должна быть оснащена оборудованием в соответствии с минимальным стандартным списком, представленным в таблице 1 *Приложения 1*. Также рекомендуется наряду с основным оборудованием по возможности оснастить лабораторию дополнительными видами оборудования в соответствии со списком, представленным в таблице 2 *Приложения 1*. Указанное дополнительное оборудование не является предметом первой необходимости, и, в крайнем случае, лаборатория может работать и без него. Однако его наличие в лаборатории крайне желательно, поскольку оно облегчает работу лабораторных специалистов и, следовательно, позволяет повысить эффективность работы лаборатории.

Для выполнения каждой рабочей операции в лаборатории рекомендуется иметь отдельное, оборудованное соответствующим образом рабочее место. Однако при отсутствии возможности приобрести отдельные ламинарные шкафы биобезопасности для процесса пробоподготовки и для посевов допускается использовать один шкаф для выполнения обеих операций.

Количество некоторых видов оборудования (таких как микроскопы, центрифуги, автоклавы, сухожаровые шкафы, холодильники, коагуляторы АСПС, облучатели и др.) при возможности рекомендуется увеличивать в соответствии с потребностями лаборатории, определяемыми производственной нагрузкой.

Подробное описание основного оборудования специализированной микробиологической лаборатории противотуберкулезной службы (такого, как биологические шкафы безопасности, центрифуга, термостат, автоматический свертыватель, автоклав, весы и др.) представлено ниже, в разделе 1.3.4.

В ходе выполняемого в настоящее время Проекта «Профилактика, диагностика, лечение туберкулеза и СПИДа», финансируемого из средств займа МБРР, проведено оснащение современным лабораторным оборудованием порядка 160–170 региональных бактериологических лабораторий противотуберкулезной службы РФ, включая лаборатории ФСИН. Тем не менее реализация данного Проекта из-за ограниченности имеющихся финансовых средств не позволит полностью удовлетворить все имеющиеся в настоящее время потребности в оснащении бактериологических лабораторий противотуберкулезной службы всем требующимся для них оборудованием и материалами. Большинство лабораторий, безусловно, будут нуждаться в дооснащении, и недостающее оборудование необходимо будет дополнительно закупать за счет средств местного бюджета, изыскивая для этой цели финансовые средства. Это касается как основного оборудования, перечисленного в минимальном стандартном списке, так и некоторых дополнительных видов оборудования.

Лабораторная посуда, инструменты и расходные материалы

Помимо оборудования, для работы лаборатории требуется также наличие в ней лабораторной посуды и инструментов, а также расходных материалов и реактивов, запас которых должен периодически пополняться. В *Приложении 1* (см. таблицу 3 *Приложения 1*) представлен рекомендуемый список лабораторной посуды, инструментов и расходных материалов, необходимых для бактериологической лаборатории регионального противотуберкулезного диспансера, выполняющей микроскопические исследования мазков люминесцентным методом и методом Циля–Нильсена, посеvy диагностического материала, определение лекарственной чувствительности и первичную идентификацию выросших культур микобактерий.

В специализированной микробиологической лаборатории противотуберкулезной службы рекомендуется использовать одноразовую пластиковую посуду. Использование такой посуды является более предпочтительным с точки зрения обеспечения биологической безопасности и заметно облегчает труд лаборантов. На рис. 3 в качестве примера показана безопасная посуда и пастеровские пипетки, используемые для деконтаминации образцов.

В том случае, если лаборатория использует пластиковые инструменты или пластиковую посуду многократного использования (например, штативы для пробирок, промывочные бутылки, цилиндры и др.), они должны быть изготовлены из автоклавируемого пластика.

Используемые лабораторией центрифужные пробирки, предназначенные для центрифугирования диагностического материала, должны быть изготовлены только из пластика, поскольку стеклянные пробирки не выдерживают требуемого режи-

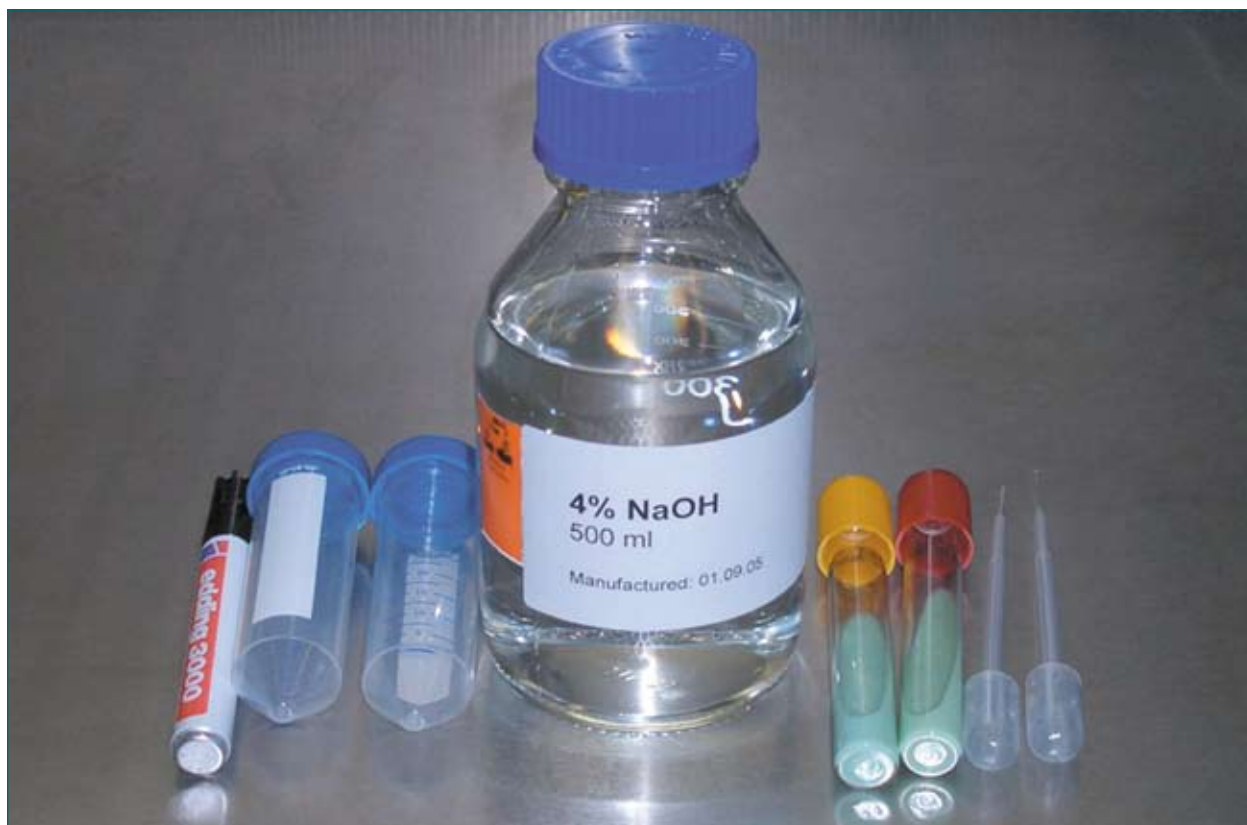


Рис. 3 Пластиковая посуда одноразового применения, используемая при деконтаминации образцов

ма центрифугирования и бьются, в результате чего образуются инфекционные аэрозоли. Для того чтобы во время центрифугирования избежать образования трещин на пластиковых центрифужных пробирках и подтекания диагностического материала, рекомендуется использовать пробирки, изготовленные из полипропилена, который является более надежным, стойким и качественным материалом по сравнению с полистиролом.

Рекомендуемый объем центрифужных пробирок – 50 мл. Использование центрифужных пробирок, имеющих объем 50 мл, позволяет проводить центрифугирование всего объема поступающей на исследование пробы диагностического материала в один прием. Кроме того, центрифужные пробирки объемом 50 мл можно одновременно использовать как в качестве пробирок для центрифугирования, так и в качестве контейнеров для сбора мокроты. В этом случае отпадает необходимость в дополнительном приобретении одноразовых контейнеров для сбора мокроты, а также в переливании диагностического материала из контейнера в центрифужную пробирку. Диагностический материал, собранный и доставленный в лабораторию в центрифужной пробирке, заливают деконтаминантом и после проведения обработки центрифугируют в этой же пробирке.

В продаже имеется большое количество различных моделей пластиковых центрифужных пробирок объемом 50 мл – стерильные и нестерильные, конические или с «юбочкой», с плоской или вогнутой крышкой, с различной градуировкой, из различного материала и в различной упаковке (рис. 4).

Закупаемые центрифужные пробирки должны быть совместимы с имеющейся центрифугой. В том случае, если лаборатория оснащена центрифугой в соответствии с изложенными в списке оборудования рекомендациями, следует приобретать одно-



Различные модели центрифужных пробирок объемом 50 мл и пластиковый автоклавируемый штатив для конических пробирок

Рис. 4

разовые пробирки из полипропилена (маркировка РР) объемом 50 мл, стерильные, конические, с завинчивающейся крышкой (плоской или вогнутой), с яркой градуировкой, размер пробирок 114×28 мм. Экономичнее покупать пробирки, упакованные по 25–50 штук в полиэтиленовые пакеты (без упаковочных штативов одноразового использования, изготовленных из пенопласта). При этом лаборатория должна располагать достаточным количеством пластиковых автоклавируемых штативов многократного использования для указанных пробирок (рис. 4).

Для более эффективного соблюдения мер по обеспечению биологической безопасности рекомендуется по возможности использовать в лаборатории не только одноразовые перчатки и маски-респираторы, но также и одноразовые халаты, шапочки и бахилы.

1.3.4. Описание основного оборудования микробиологической лаборатории противотуберкулезной службы

Биологический шкаф безопасности

Обязательным компонентом оборудования в лаборатории противотуберкулезной службы, занимающейся посевами, является хорошо отлаженный и правильно функционирующий биологический шкаф безопасности (БШБ). Эти системы были специально разработаны для обеспечения комплексной защиты персонала, окружающей среды и материала при проведении микробиологических исследований.

БШБ снабжены фильтрами тонкой фильтрации HEPA, через которые проходит воздух, как поступающий в рабочую зону, так и удаляемый из БШБ. Применяемые в микробиологической лаборатории HEPA-фильтры удерживают частицы, равные или более 3 мкм, что позволяет уловить все бактерии, споры и вирусы с эффективностью до 99,97%.

В микробиологической лаборатории противотуберкулезной службы могут применяться биологические шкафы безопасности 1-го и 2-го класса. Биологический шкаф безопасности 1-го класса защищает от инфицирования оператора и окружающую среду, но не исследуемый материал. Уровень защиты такого шкафа достаточен для выполнения в лаборатории некоторых из производственных операций, например, таких, как предобработка материала, приготовление мазков, проведение посевов. Тем не менее рекомендуется (если имеется такая возможность) использовать для выполнения процедуры посева ламинарный шкаф 2-го класса биобезопасности, который обеспечивает защиту не только персонала и окружающей среды, но и исследуемого материала. Такой шкаф удобен тем, что позволяет при выполнении посевов работать без горелки Бунзена (спиртовки). Ламинарные шкафы 2-го класса биобезопасности обязательны для использования в тех случаях, когда имеется повышенный риск контаминации материала, например, при постановке тестов на ЛЧ МБТ и при работе с жидкими питательными средами.

Биологический шкаф безопасности 1-го класса

В БШБ 1-го класса (рис. 5) нефильтрованный воздух из помещения протягивается через рабочую зону БШБ. Поток воздуха движется из помещения мимо лаборанта внутрь БШБ через фронтальное отверстие, унося от него образовавшийся аэрозоль

и обеспечивая таким образом защиту лаборанта. Защита персонала обеспечивается, когда скорость потока воздуха, затягиваемого в БШБ, составляет 22,8 м/с. При этом аэрозоли с бактериями подхватываются, уносятся в вентиляцию и оседают на фильтре. БШБ 1-го класса защищает от инфицирования лаборанта и окружающую среду, но не исследуемый материал. Уровень защиты такого БШБ достаточен для работы в микробиологической лаборатории. БШБ 1-го класса жестко соединяются с системой вентиляции здания, и общий вентилятор обеспечивает необходимое отрицательное давление, втягивающее воздух в БШБ. Современные БШБ имеют индикаторы, отмечающие создаваемое разрежение и оповещающую систему о недостаточно эффективной вентиляции. НЕРА-фильтры должны быть заменены, как только скорость воздушного потока падает ниже минимального значения.



Ламинарный шкаф 1-го класса биологической безопасности Рис. 5

Биологический шкаф безопасности 2-го класса

БШБ 2-го класса (рис. 6) обеспечивает защиту персонала, окружающей среды и исследуемого материала. Поток воздуха движется из помещения мимо лаборанта внутрь БШБ через фронтальное отверстие, унося от него образовавшийся аэрозоль и обеспечивая защиту лаборанта. Кроме того, поток очищенного HEPA-фильтрами воздуха поступает в рабочую зону. Воздух, прошедший через HEPA-фильтр, не содержит микроорганизмов, что и обеспечивает защиту материала, с которым работает лаборант, и позволяет избежать проростов и перекрестного заражения образцов. Поскольку перед выбросом из БШБ воздух пропускается через HEPA-фильтры, он может либо возвращаться в лабораторию (тип А) либо выбрасываться наружу (тип В).



Рис. 6 Ламинарный шкаф 2-го класса биологической безопасности

ВНИМАНИЕ! Ни один шкаф безопасности не позволяет полностью очистить выбрасываемый воздух от инфекционных аэрозольных частиц! Поэтому встраивание выводящего воздуховода шкафа безопасности в автономную систему вентиляции лаборатории позволяет наиболее полно обеспечить безопасность персонала лаборатории. Установка шкафа безопасности не исключает необходимость создания систем вентиляции в лаборатории!

Установка БШБ

Место установки БШБ должно быть удалено от входа в лабораторию и располагаться в стороне от проходов (движение воздуха от проходящих мимо людей может нарушать потоки воздуха). БШБ также не следует располагать вблизи открытых окон или оборудования, создающего движение воздуха (центрифуги).

Выброс воздуха из шкафа безопасности 1-го класса защиты должен осуществляться наружу.

Необходимо обеспечить бесперебойное электропитание шкафа безопасности: при отключении электроэнергии в процессе работы инфекционные аэрозольные частицы не будут оседать на НЕРА-фильтрах, а будут накапливаться в рабочей зоне и в случае изменения направления потока воздуха на оператора создавать значительную опасность для его здоровья. Отключение электропитания шкафа безопасности в процессе проведения в нем микробиологических работ должно рассматриваться как аварийная ситуация!

Работа в БШБ

Поскольку при посеве возрастает риск образования аэрозоля, все манипуляции по проведению посева выполняются в БШБ. Однако БШБ не в состоянии защитить лаборанта при разливе материала и/или от следствия неграмотного и безответственного отношения к соблюдению правил техники безопасности и правил работы в БШБ.

Правила работы в БШБ

- При проектировании БШБ учитывается возможность 24-часовой работы для поддержания требуемого воздушного баланса. В случае отключения света или после замены фильтра необходимо дать шкафу проработать 15 минут перед началом работы. Рабочие поверхности протирают дезинфицирующим раствором в концентрации, обеспечивающей гибель микобактерий, а затем промывают стерильной водой.
- Приготовьте список материалов, требуемых для посева. Во время работы это сведет к минимуму движение рук за пределы БШБ, что может нарушить занавес стерильного воздуха, поступающего от фильтра.
- Поместите в БШБ только те материалы, которые будете использовать немедленно, дополнительные среды и реактивы располагают вне шкафа. Материалы и оборудование, помещенные внутрь БШБ, могут вызвать искажения и завихрения воздушного потока, что может привести к перекрестной контаминации.
- Перед началом работы проверьте интенсивность потока воздуха в шкафу безопасности.
- Перед началом работы, после того как внесли руки в БШБ, сделайте небольшую паузу (60 секунд). За это время БШБ вытянет весь загрязненный воздух.

- Убедитесь, что имеется свободный доступ воздуха в БШБ (фронтальная часть не захламлена упаковочными материалами и т. д.).
- Выполняйте все манипуляции, по крайней мере, на расстоянии 10 см от фронтальной поверхности шкафа.
- На рабочую поверхность помещают бумажное полотенце. Это упростит обработку и предотвратит разбрызгивание и образование аэрозоля в случае пролития. После работы полотенце сворачивают и автоклавируют.
- Поместите все материалы и оборудование, при работе которого образуется аэрозоль (например, вортекс), как можно дальше от фронтальной части, но так, чтобы им удобно было пользоваться.
- Расположите все массивные предметы (автоклавируемые контейнеры, подносы с пипетками и колбы) по одну сторону БШБ.
- Сориентируйте оборудование и материалы в порядке, не допускающем перекрестной контаминации, соблюдая поток от «чистой» зоны в «заразную».

Избегайте следующей практики:

- Во время работы не рекомендуется выбрасывать материалы, требующие дезинфекции, за пределы БШБ, располагать контейнер с использованными пипетками за пределами БШБ либо сразу напротив входа в него. Подобная практика создает завихрения воздушного потока, подвергает риску инфицирования лаборанта и нарушает стерильность материала, с которым он работает.
- Используйте только горизонтальные лотки для использованных пипеток, содержащие достаточный объем дезраствора (5% хлорамин или раствор другого средства, эффективный в отношении микобактерий).
- Внимательно следуйте правилам выполнения микробиологических методик, особенно обращая внимание на этапы с повышенным риском (разлив, разбрызгивание материала, образование аэрозоля). Это сведет к минимуму вероятность инфицирования персонала. Манипуляции с инфицированными материалами должны проводиться на расстоянии не менее 12 см от зоны посева, что сведет к минимуму перекрестную контаминацию.
- Не оставляйте пробирки и контейнеры для мокроты открытыми, закрывайте их как можно скорее.
- После окончания работ обработайте рабочие поверхности шкафа безопасностью 70% спиртом.

Каждый раз перед заменой фильтра, при ремонте и техобслуживании обязательно дезинфицируйте БШБ.

Центрифуга

Центрифуга в лаборатории противотуберкулезной службы является необходимым для проведения исследования оборудованием. Применение центрифуги повышает эффективность исследования по сравнению с методами деконтаминации и прямого (без центрифугирования) посева мокроты на питательные среды.

Основные требования, предъявляемые к центрифуге:

- наличие ускорения 3000 g (что позволяет добиться осаждения 95% бактериальных клеток);

- *рефрижераторная* (при центрифугировании температура исследуемого образца может значительно повышаться, и наличие охлаждения препятствует гибели клеток микобактерий и, соответственно, снижению высеваемости);
- *антиаэрозольная* (позволяет обеспечить безопасную работу в связи с наличием крышек с зажимами, а также использованием пластиковых центрифужных пробирок).

Для оснащения лаборатории рекомендуется модель центрифуги, имеющая максимально возможное количество гнезд для центрифугирования пробирок объемом 50 мл. Если лаборатория выполняет ежедневно в среднем около 100 исследований и более, включающих в себя процедуру центрифугирования диагностического материала, рекомендуется оснастить ее двумя центрифугами на 14–16 гнезд и более, что дает возможность проводить технологический процесс в оптимальном режиме. В этом случае объемы имеющихся центрифуг позволят быстро и своевременно обработать поступающий в лабораторию диагностический материал.

При покупке центрифуги необходимо обратить внимание на ее комплектацию (крышки с зажимами для каждого стакана ротора, адаптеры для пробирок и т. д.).

Потребностям специализированной бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы наилучшим образом соответствует напольная или настольная центрифуга с охлаждением, с крышкой и угловым или бакет-ротором, снабженным закрывающимися центрифужными стаканами (рис. 7, 8).

При установке центрифуги необходимо предусмотреть достаточное пространство вокруг нее, чтобы обеспечить нормальный обмен воздуха и снизить вероятность ее перегрева. Центрифуга должна быть установлена на устойчивой строго горизонтальной поверхности, вдали от весов.

Для обеспечения безопасной работы необходимы специальные закрывающиеся центрифужные стаканы.



Настольная антиаэрозольная центрифуга с бакет-ротором

Рис. 7



Рис. 8 Настольная антиаэрозольная центрифуга с угловым ротором

Для углового ротора предусматривается наличие индивидуальных центрифужных стаканов для каждого из гнезд ротора, отдельно для каждой центрифужной пробирки (рис. 9).



Рис. 9 Индивидуальные центрифужные стаканы для каждого из гнезд углового ротора; подходят для разного типа пробирок (в стакане имеется адаптер для конических пробирок, пробирки с «юбочкой» вставляются в стакан без адаптера)

В бакет-роторе используются центрифужные стаканы, каждый из которых предназначен для размещения в нем нескольких центрифужных пробирок (рис. 10).



Бакет-ротор и безопасные центрифужные стаканы **Рис. 10**

Как правило, центрифужные стаканы изготовлены из нержавеющей стали и снабжены резиновыми прокладками. Обычно центрифужные стаканы изготавливаются и используются попарно, причем на каждом стакане указан его вес. Такие закрывающиеся центрифужные стаканы располагаются в роторе попарно друг напротив друга. Целесообразно заранее пометить каждую пару краской одного цвета для быстрого выбора пар. Пары центрифужных стаканов целесообразно пометить и в случае использования бакет-ротора.

Центрифужные стаканы должны иметь адаптеры для центрифужных пробирок. Благодаря значительно большей, по сравнению с центрифужными пробирками, массе стаканов допустимо центрифугирование пробирок с незначительной разницей в весе ($\pm 5\%$ от веса/объема центрифугируемого образца), которая не вызывает сильной вибрации и/или повреждения пробирок. При использовании бакет-ротора и ускорения 3000 g разница в весе стаканов не должна превышать 4–5 г.

Крышка центрифуги должна быть оборудована специальным замком, который предупреждает случайное открывание крышки во время вращения ротора.

Во многих руководствах при описании процедуры центрифугирования приведены скорости вращения ротора в оборотах в минуту (об./мин). Однако эта величина отражает только скорость вращения данного ротора, но не характеризует интенсивность осаждения (седиментации) или «относительную силу центрифугирования» (ОСЦ). ОСЦ, со-

зданная вращающимся ротором, зависит от скорости вращения ротора (об./мин) и расстояния от оси вращения до точки, в которой производится измерение этой силы, т. е. при одинаковой скорости вращения ОСЦ различна для роторов различных размеров и типов. ОСЦ можно увеличить как путем увеличения скорости вращения ротора, так и увеличением расстояния от оси ротора до центрифугируемой жидкости. Для характеристики ОСЦ используют величину ускорения g – например, 3000 g .

Для расчета ОСЦ можно использовать следующую формулу:

$$ОСЦ = 1,12R_{max} (об./мин : 1000)^2,$$

где R_{max} – это радиус вращения, т. е. расстояние от оси вращения ротора до дна центрифужной пробирки в мм.

Скорость вращения ротора, необходимую для получения требующейся ОСЦ, можно определить по следующей формуле:

$$об./мин = 1000 \times \sqrt{ОСЦ : 1,12R_{max}}$$

Если величина ОСЦ будет недостаточной, многие микобактерии после центрифугирования останутся во взвешенном состоянии в надосадочной жидкости и будут удалены вместе с нею. Для получения наилучшего результата при выделении культуры микобактерий необходимо добиться осаждения 95% бактериальных клеток. Для этого требуется проводить центрифугирование с ОСЦ 3000 g .

В зависимости от типа ротора и скорости его вращения температура воздуха в центрифуге и, соответственно, температура исследуемого образца может повышаться на 4–18 °С. При этом температура образца в угловом роторе меняется незначительно, однако температура содержимого пробирки в центрифужных стаканах бакет-ротора может превышать 40 °С. Такое повышение температуры может привести к гибели клеток микобактерий и снижению высеваемости. Поэтому рекомендуется использование центрифуг с охлаждением.

Под воздействием центробежной силы стеклянные пробирки могут разрушиться. При этом происходит разбрызгивание жидкости и образование аэрозоля. Поэтому при обработке потенциально инфекционного материала необходимо использовать пластиковые пробирки с завинчивающимися крышками или специальные центрифужные пробирки из боросиликатного стекла.

Стаканы центрифуги перед началом работы должны быть хорошо уравновешены. Если это не сделано, может возникнуть сильная вибрация, которая приведет к разрушению ротора. Если проводится исследование одной пробы, то с противоположной стороны ротора должна быть помещена аналогичная пробирка, имеющая такой же вес. Проще всего это сделать, если на центрифужных пробирках имеются метки, указывающие одинаковые объемы жидкости.

Никогда не прикасайтесь к ротору, который еще продолжает вращаться, так как это не только может послужить причиной травмы, но и привести к ресуспендированию осадка из-за резкой остановки пробирки. Некоторые центрифуги оборудованы специальным тормозом, который обеспечивает плавную остановку ротора.

Работа с центрифугой

Выберите пару центрифужных пробирок одинаковой длины и диаметра.

Поместите центрифугируемый материал в одну пробирку. Во вторую пробирку поместите второй образец. *Никогда не центрифугируйте пробирки, заполненные более чем на 2/3 объема!*

Поместите пробирки в соответствующие центрифужные стаканы и уравновесьте центрифужные стаканы, добавляя в них воду. При большой разнице в весе стаканов добавьте в стакан с меньшим весом еще одну пробирку с водой. *Никогда не уравновешивайте стаканы, добавляя воду в пробирки с образцами!*

Разместите уравновешенные центрифужные стаканы в диаметрально расположенных положениях ротора.

Закройте крышку и убедитесь, что до запуска спидометр показывает нулевое значение (многие модели оборудованы системой, блокирующей запуск, пока центрифуга не загружена).

Медленно установите требуемую скорость.

Меры предосторожности

- Проследите, чтобы резиновые уплотнители в стаканах были на месте, иначе пробирки побьются.
- Аккуратно уравновесьте пробирки.
- Убедитесь, что уравновешенные стаканы расположены напротив друг друга.
- Никогда не пытайтесь остановить или запустить центрифугу руками.
- Следуйте указаниям производителя при установке скорости.
- После окончания центрифугирования осторожно перенесите закрытые центрифужные стаканы (не пробирки!) в БШБ. Избегайте резкого встряхивания стаканов, которое может привести к ресуспендированию осадка.
- Дайте стаканам постоять несколько минут, чтобы дать возможность образовавшемуся аэрозолю осесть. Открывайте стаканы только во включенном БШБ.

Центрифужные стаканы с прозрачными крышками удобны тем, что позволяют увидеть разрушение пробирок с инфекционным материалом до их открытия и подготовиться к проведению аварийных мероприятий.

После работы поверхности центрифуги, ротор, центрифужные стаканы и адаптеры должны быть обработаны 70% спиртом.

Термостат с температурой 36–37 °C

Инкубацию посевов производят при температуре 36–37 °C в течение 10 недель в термостатах (рис. 11) или специальной термостатированной (термальной) комнате (рис. 1).

Помните, что в термостатах с маленьким объемом при открывании дверцы происходят резкие колебания температуры воздуха. Старайтесь обеспечить правильную циркуляцию воздуха внутри термостата, не перегружая термостат и используя решетчатые полки. Поддерживайте постоянную температуру, избегая ненужного открывания термостата.

В лабораториях с большими объемами культуральных исследований целесообразно использовать термостатированную (термальную) комнату. *Все оборудование в термостатированной комнате должно быть сделано в пожаробезопасном исполнении, а сама комната отвечать нормам противопожарной безопасности.* Нецелесообразно использовать деревянные полки и перегородки. При высокой влажности воздуха на них могут расти плесневые грибы. Более предпочтительны металлические или пластиковые полки, которые могут быть изготовлены непосредственно на месте. Полки не должны быть фиксированы, чтобы их можно было легко удалять и мыть. Между



Рис. 11 Термостаты

полками и стенами помещения следует оставить зазоры для обеспечения хорошей циркуляции воздуха.

Термостатированную комнату необходимо дезинфицировать не реже одного раза в месяц.

Автоматический свертыватель

При подготовке яичных сред, необходимых для выделения возбудителей туберкулеза, приходится использовать оборудование, позволяющее четко дозировать количество тепла для обеспечения коагуляции белка. Паронагреватели не пригодны для этих целей, так как нагревают питательную среду слишком быстро и температура может быть чрезмерно высокой.

Автоматический свертыватель (АС) для приготовления яичных сред должен обеспечивать нагревание до температуры 80–85 °С и поддержание такой температуры в течение 45 минут. Современные АС имеют автоматическую регулировку температуры и оснащены большим внутренним вентилятором. Внутренние штативы (касеты), в которых размещаются пробирки в наклонном положении, должны быть изготовлены из алюминиевых пластин или из проволоки, чтобы не препятствовать циркуляции горячего воздуха. АС должен иметь плотно закрывающуюся стеклянную дверцу, которая обеспечивает поддержание внутри необходимой температуры, и термометр внутри для возможности контролировать температуру свертывания среды. Рекомендуется заранее включать АС, чтобы к моменту загрузки в нем уже была достигнута необходимая температура.

Автоклавы являются устройством с повышенной опасностью. К работе с лабораторными автоклавами допускаются лица, прошедшие специальное обучение и имеющие официальное разрешение на работу с ними.

Микобактерии туберкулеза быстрее погибают в условиях высокой температуры и влажности (насыщенный пар), чем при использовании сухого жара. Пар убивает микобактерии туберкулеза, денатурируя их белки. Существенное значение на эффективность стерилизации паром оказывает воздух, так как его присутствие изменяет взаимоотношения между давлением и температурой.

Например, температура насыщенного пара при 1 атм. составляет 121°C, но только в том случае, если предварительно воздух был удален из автоклава. Если же будет удалена только половина воздуха, температура паро-воздушной смеси составит всего лишь 112 °С. Кроме того, наличие воздуха между помещенными в автоклав предметами будет препятствовать проникновению пара в эти пространства.

Весь воздух, находящийся в автоклаве, до начала процесса стерилизации паром должен быть удален. Поэтому подлежащий стерилизации материал не следует слишком плотно упаковывать. Контаминированный материал (например, пробирки или отработанные чашки Петри) должен быть помещен в контейнер с плотным дном глубиной не более 20 см. Между контейнерами следует оставить как можно больше свободного места и *ни в коем случае* нельзя закрывать флаконы крышками.

Автоклавы подлежат обязательному ежегодному техническому освидетельствованию представителями уполномоченных инженерных организаций, манометры автоклавов – ежегодной проверке в уполномоченных органах технадзора. К работе с автоклавами допускаются сотрудники, прошедшие курс обучения по обслуживанию сосудов под давлением (паровых медицинских стерилизаторов) и имеющие удостоверение на право обслуживания сосудов под давлением (паровых медицинских стерилизаторов), выданное не менее 5 лет назад. ***Сотрудники, обслуживающие автоклавы, должны проходить курсы повышения квалификации по обслуживанию сосудов под давлением каждые 5 лет.***

Следует использовать только специальные лабораторные автоклавы, в которые можно поместить различную использованную посуду. В лабораториях применяются автоклавы двух типов:

- простые модели типа скороварки;
- более совершенные модели с автоматическим удалением воздуха и конденсата.

Автоклавы типа скороварки (тип 1)

Чаще всего применяют автоклавы, в которых осуществляется кипячение воды под давлением. В этом автоклаве имеется вертикальная металлическая камера, которая закрывается прочной металлической крышкой, имеющей плотную резиновую прокладку. На крышке располагаются кран для выпуска воздуха и пара, манометр и предохранительный клапан. Вода на дне сосуда нагревается за счет внешнего источника обогрева (газовые горелки), иммерсионного электронагревателя или парового змеевика.

Автоклавы с замещением воздуха паром (тип 2)

Эти автоклавы обычно имеют горизонтальное расположение и прямоугольную форму, благодаря чему упрощается процесс загрузки и выгрузки (рис. 12). Крышка автоклава должна быть оборудована предохранительным устройством, не допускающим ее открывания при наличии в камере избыточного давления.



Рис. 12 Автоклав горизонтальной загрузки

Весы

Химические весы предназначены для точного определения веса (массы) вещества. Весы имеют хрупкий механизм и требуют осторожного обращения.

В лабораторной практике применяются весы различной степени точности взвешивания и различные по диапазону взвешиваемых навесок. Для бактериологических лабораторий, проводящих исследования только методом посева, наиболее пригодны весы с точностью взвешивания не менее 0,01 г и возможностью взвешивания не менее 100 г. Для лабораторий, проводящих исследование лекарственной чувствительности и видовую идентификацию микобактерий (бактериологические лаборатории 2-го и 3-го уровней), дополнительно требуются весы, обеспечивающие анали-

тическую точность взвешивания (не менее 0,0001 г) с возможностью взвесить не менее 1 г.

Весы должны быть установлены на устойчивом столе со строго горизонтальной поверхностью, вдали от возможных источников вибрации и движения воздуха. Чем выше точность весов, тем строже требования к их защите от внешних воздействий, особенно в процессе взвешивания. В наиболее распространенных в настоящее время одночашечных электронных весах дополнительно применяется экран, защищающий взвешиваемое вещество и чашку весов от потоков воздуха (рис. 13 а, б).

Весы должны проходить ежегодную поверку в уполномоченных органах. Перед началом взвешивания необходимо убедиться в правильности работы весов (провести их калибровку): взвесьте гирию массой, соответствующей массе взвешиваемых вами навесок, из набора поверенных разновесов.

При взвешивании веществ соблюдайте следующие правила:

- взвешивайте навески с учетом чувствительности весов;
 - проводите взвешивание в специальном контейнере или на бумаге для взвешивания;
 - учтите вес контейнера (бумаги для взвешивания) до того, как вы поместите на него взвешиваемое вещество;
 - обеспечьте наиболее полный перенос взвешенного вещества в сосуд для его последующего растворения;
 - для навесок менее 10 мг взвесьте контейнер для взвешивания (бумагу) после того, как вы перенесли взвешенное вещество, и учтите остаток вещества в контейнере (на бумаге);
 - для каждого индивидуального вещества используйте свой контейнер для взвешивания (бумагу для взвешивания) и шпатель для забора вещества. **Не допускайте загрязнения реактивов!**
 - не допускайте переноса вещества из контейнера для взвешивания (с бумаги для взвешивания) обратно в банку с веществом. В случае небольшого избытка вещества лучшим выходом является пересчет объема приготавливаемого раствора.
- Оберегайте весы и разновесы от пыли, загрязнений и влаги!

После работы всегда закрывайте весы чехлом!



Аналитические электронные весы Рис. 13

Аквадистиллятор

Аквадистиллятор предназначен для производства дистиллированной воды (Госфармакопея РФ ФС 42-2619-89, СанПиН 2.1.4.559-96) путем тепловой перегонки водопроводной воды (рис. 14). Во время работы аквадистиллятор должен быть обеспечен непрерывной подачей водопроводной воды, сливом воды в канализацию и электрическим током в соответствии с требованиями, изложенными в техническом паспорте прибора.

Мощность аквадистиллятора (количество производимой дистиллированной воды, л/час) должна соответствовать потребностям лаборатории (объему производимых исследований).



Рис. 14 Аквадистиллятор

Водяная баня

Содержимое пробирки, помещенной в водяную баню, согревается до необходимой температуры значительно быстрее, чем в термостате. Поэтому водяная баня может быть очень полезной в тех случаях, когда требуется кратковременная инкубация при повышенной температуре, например, при постановке некоторых биохимических тестов.

Современные водяные бани оборудованы приспособлениями для автоматического перемешивания жидкости, а в некоторых банях термометр и мешалка объединены

в один блок, который легко удаляется для сервисного обслуживания. Термоизоляция рабочей ванны предупреждает чрезмерные потери тепла через стенки. Самодельные водяные бани могут быть теплоизолированы с помощью полистироловых пластин.

Водяная баня должна быть снабжена крышкой, чтобы предупредить потери тепла и излишнее испарение воды. Крышка должна располагаться наклонно, чтобы капли конденсата не падали на содержимое бани. Для предупреждения образования накипи на нагревательных элементах и стенках водяной бани следует использовать только дистиллированную воду.

Штативы и корзинки

В лаборатории необходимо иметь два типа штативов:

- *горизонтальный* – для специальной укладки пробирок непосредственно при засеве материала в пробирки с плотной питательной средой; наклон штатива должен быть отрегулирован таким образом, чтобы не смачивать пробку посевной суспензией и одновременно обеспечивать горизонтальное положение поверхности косяка питательной среды;
- *вертикальный* – для длительной инкубации пробирок с материалом или культурами.

Предпочтительнее пользоваться штативами для пробирок и флаконов, изготовленными из автоклавируемого пластика (рис. 15). Кроме того, это способствует уменьшению боя стеклянной посуды, что нередко происходит при использовании металлических штативов. Деревянные штативы плохо поддаются дезинфекции.

Традиционные проволочные корзинки небезопасны при работе с пробирками. В них пробирки нередко бьются; кроме того, разлитый материал вытекает из таких корзинок. При работе с культурами значительно безопаснее пластиковые коробки различных размеров.



Вертикальные штативы из автоклавируемого пластика **Рис. 15**

Вопросы

1. Перечислите основное оборудование, которым должна быть оснащена специализированная микробиологическая лаборатория противотуберкулезного учреждения.
2. В чем состоит принципиальное различие шкафов биологической безопасности 1-го и 2-го классов? Какие шкафы рекомендуется использовать в лаборатории для проведения различных видов исследований?

3. На рисунке 16 приведена фотография шкафа безопасности 2-го класса во время работы. Какие ошибки, создающие угрозу инфицирования аэрозолями, допустил лаборант?



Рис. 16 Работа в БШБ 2-го класса безопасности – найдите ошибки

Вопросы

4. Какие требования и почему предъявляются к центрифугам, используемым для получения осадка диагностического материала?
5. На рисунке 17 показана используемая в лаборатории для осаждения деконтамированного материала центрифуга и центрифужные пробирки. Безопасно ли такое центрифугирование инфекционного материала? Укажите, какие отклонения от требований к безопасному центрифугированию Вы видите на рисунке.



Рис. 17 Лабораторная центрифуга. Можно ли использовать такую центрифугу для центрифугирования инфекционного материала?

6. Какова чувствительность весов, которые должны использоваться при приготовлении питательных сред для культивирования микроорганизмов?
7. Какова чувствительность весов, используемых для взвешивания навесок противотуберкулезных препаратов при приготовлении растворов лекарственных средств?
8. Можно ли взвешивать навеску в 500 мг на весах аналитического класса точности?

1.4. Обеспечение безопасности работы в бактериологической лаборатории противотуберкулезной службы

Манипуляции в лаборатории, проводящей исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, могут приводить к опасным для здоровья персонала последствиям. В связи с этим помимо мер безопасности, предотвращающих риск поражающего воздействия физических и химических факторов, в лабораториях, проводящих исследования патологических биологических агентов (ПБА – патологический материал биологического происхождения, предположительно содержащий инфекционные агенты), подозрительных на содержание микобактерий туберкулезного комплекса, должен быть разработан и применяться комплекс мероприятий, направленных на минимизацию риска внутрилабораторного заражения персонала.

По данным Центра по контролю за заболеваемостью США, заболеваемость туберкулезом среди персонала лабораторий, работающих с культурой микобактерий туберкулеза, в 3–5 раз выше, чем у сотрудников лабораторий, не проводящих манипуляций с этой бактериальной культурой. Потенциальная угроза заразиться мультирезистентным штаммом туберкулеза усугубляет существующую проблему и выдвигает задачу соблюдения мер безопасности в лаборатории как наиболее важную.

1.4.1. Пути распространения туберкулезной инфекции

Возбудитель туберкулеза относится к III группе патогенности (СП 1.2.731-99).

Аэрозольный механизм передачи туберкулезной инфекции

Наиболее распространенным механизмом передачи туберкулезной инфекции является аэрозольный: заражение туберкулезом происходит при вдыхании аэрозольных частиц, в результате чего инфекционные частицы проникают в мелкие бронхи и адсорбируются на бронхиальных стенках. Дозы бактерий, приводящие к инфицированию человека туберкулезом, малы – 1–10 бактерий, которые могут содержаться в 1–3 аэрозольных частицах.

При выполнении многих микробиологических методик образуются аэрозоли (при переливании жидкостей, при ударе капли жидкости о поверхность). Крупные аэрозольные частицы размером более 5 мкм быстро оседают и загрязняют кожу, одежду и поверхности оборудования, однако наиболее опасны крошечные частицы размером менее 5 мкм, содержащие жизнеспособные МБТ, – капельные ядра. Капельные ядра могут носиться в воздухе неопределенно долго и при вдохе проникают в альвеолы, где оседают и вызывают инфекцию.

Риск внутрилабораторного заражения зависит от типа выполняемой в лаборатории работы. Степень риска определяется концентрацией возбудителя в потенциально возникающих аэрозолях и частотой встречаемости инфицированных материалов, поступающих для исследования. Очевидно, что степень опасности производимых в лаборатории манипуляций с ПБА зависит не только от их природы и содержащегося в них инфекционного агента, но и от частоты встречаемости ПБА, фактически содержащих инфекционный агент, или от его концентрации в образцах. Например, риск внутрилабораторного заражения в лабораториях, проводящих приготовление мазков непосредственно из мокроты, значительно ниже, чем в лабораториях, готовящих мазки из концентрированного материала или производящих его посев. Риск заражения значительно меньше в лабораториях микроскопии с частотой выявления мазков, содержащих КУМ, менее 1% по сравнению с теми, в которых положительные мазки составляют более 10% от всех исследованных. Наибольший риск заражения (и, соответственно, наиболее строгие меры безопасности и защиты персонала) должны применяться в лабораториях, проводящих исследования культуры возбудителя, например, при исследованиях его лекарственной чувствительности и/или видовой принадлежности.

Наибольший риск представляют манипуляции с культурой возбудителя, например, при приготовлении бактериальной суспензии для исследования лекарственной чувствительности или видовой идентификации выделенного штамма. Концентрация возбудителя в потенциально возникающих аэрозолях при приготовлении мазка из диагностического материала существенно ниже. В случае же концентрирования материала методом центрифугирования опасность заражения существенно возрастает.

Риск аэрозольного заражения зависит от частоты встречаемости образцов, инфицированных микобактериями туберкулеза: он выше в лабораториях, где доля диагностических материалов, содержащих микобактерии туберкулезного комплекса, высока и достигает 10% и более по сравнению с лабораториями, в которых доля положительных образцов не превышает 3%.

Аэрозоль образуется в процессе следующих манипуляций.

- При сборе мокроты от кашляющих больных.
- При открытии плотно закрытых контейнеров с мокротой, если мокрота затекла между крышкой и стенкой контейнера.
- Добавление растворов для деконтаминации к инфицированному диагностическому материалу. Их следует добавлять осторожно и никогда не смешивать, пока контейнер или пробирка открыты. По окончании процедуры осторожно сливают надосадочную жидкость в контейнер с дезинфицирующим раствором через воронку во избежание разбрызгивания.
- Встряхивание жидких материалов или бактериальных суспензий микобактерий туберкулезного комплекса.
- Переливание инфицированных жидкостей. При переливании инфицированного материала в дезинфектант может произойти разбрызгивание и образование аэрозоля. Использование воронки с опущенным в жидкость концом позволит избежать этого.
- Работа с бактериологической петлей. Работайте с петлей, избегая энергичных и резких движений. Петля с культурой или остатками диагностического материала в первую очередь очищается в чашке с песком и 70% спиртом. Затем в пламени спиртовки обугливают остающиеся частицы.

- Работа с пипеткой (в том числе и автоматической). Никогда не набирайте жидкость в пипетку ртом. При этом существует опасность не только заглатывания инфицированной жидкости, но и вдыхания образовавшегося при пипетировании аэрозоля. Нельзя выдувать жидкость из пипетки, дайте ей стечь самотеком, иначе последняя капля при отрыве создаст пузырьки, которые лопаются и создают аэрозоль (особенно часто это происходит при использовании пастеровских пипеток).
- Центрифугирование. Рекомендованный тип центрифуги в туберкулезной лаборатории – напольная (или настольная) модель с крышкой и фиксированным углом ротора, с подстаканниками с крышками, препятствующими распространению аэрозоля. Предпочтительна модель, где невозможно открытие крышки до останова ротора. Пробирки следует закрывать и уравнивать во избежание их разрушения при центрифугировании. Если во время центрифугирования пробирка разобьется или прольется, то образуется облако инфекционного аэрозоля. Закрытые центрифужные стаканы предотвратят его распространение.

Большинство случаев инфицирования в лаборатории, выполняющей исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, происходит из-за недооценки опасности образования инфекционных аэрозолей, содержащих МБТ.

В целях уменьшения опасности инфицирования туберкулезом необходимо:

- минимизировать образование и рассеивание аэрозоля;
- оградить лабораторных работников от вдыхания инфекционных аэрозольных частиц.

Алиментарное заражение

Инфекционный материал может быть проглочен при засасывании инфицированной жидкости пипеткой или занесен 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 снаружи, часто мыть и дезинфицировать руки с применением кожных антисептиков.

Контактное заражение

Пациенты с туберкулезом все чаще оказываются инфицированы ВИЧ, и диагностические материалы от них – такие, как мокрота с кровью, кровь и спинномозговая жидкость, – могут быть непосредственным фактором передачи вируса. В связи с этим необходимо также обратить внимание на минимизацию не только возможного инфицирования сотрудников лаборатории туберкулезом, но и на предотвращение возможного инфицирования ВИЧ.

Контактное заражение может произойти при уколе иглой, загрязненной МБТ или кровью ВИЧ-инфицированного пациента, поэтому никогда не используйте шприцы с иглами вместо пипеток. Возможны также порезы об отбитые края стеклянной посуды или пипеток. *Следует избегать использования битой посуды.* Наиболее опас-

ны стеклянные пастеровские пипетки, поэтому по возможности их следует заменять пластиковыми пипетками.

Все процедуры с инфицированным материалом в микробиологической лаборатории следует производить только в резиновых перчатках!

1.4.2. Мероприятия, направленные на снижение риска внутрилабораторного заражения

В каждой лаборатории должны быть разработаны правила обеспечения безопасной работы, учитывающие существующие в данной лаборатории угрозы здоровью сотрудников и возможности загрязнения окружающей среды.

Меры по обеспечению биологической безопасности в лаборатории должны включать в себя:

- **административные мероприятия** (предотвращающие распространение инфекционных аэрозолей из загрязненных зон в неинфицированные помещения лаборатории и лечебного учреждения в целом);
- **инженерные (проектные и технические) мероприятия** (направленные на снижение концентрации инфекционных аэрозолей в воздухе – принудительная вентиляция, использование эффективных устройств обеззараживания воздуха путем фильтрации, облучения и др.);
- **персональные меры** (меры защиты органов дыхания персонала).

Административные мероприятия

Организация безопасной работы в клиничко-диагностической или бактериологической лаборатории должна начинаться **на административном уровне**.

Административные меры включают в себя:

- разделение лаборатории на инфицированную зону, где происходит движение и обработка заразного материала, и неинфицированную зону с отдельным входом в каждую;
- создание эпидемической цепочки движения исследуемых материалов в процессе приема, обработки и исследования;
- соответствующее назначение помещений лабораторий; соблюдение норм санитарно-гигиенических мероприятий и выбор адекватных дезинфицирующих средств, имеющих документацию, разрешающую их применение для дезинфекции объектов, контаминированных микобактериями туберкулеза;
- образовательную подготовку персонала, включающую ознакомление с особенностями трансмиссии микобактерий туберкулеза;
- соблюдение правил сбора материала (в первую очередь мокроты);
- выбор методов, сокращающих время работы с заразным материалом и повышающих безопасность лабораторных манипуляций.

Обязанностью руководителя лаборатории является:

- разработать правила техники безопасности с учетом существующих опасностей и рисков конкретной лаборатории;

- обеспечить качественное обучение персонала методам безопасной работы;
- информировать персонал об особо опасных методиках, требующих специальных мер;
- информировать персонал о возрастающем риске ВИЧ-инфицирования;
- обеспечить персонал адекватной защитой (инженерным оборудованием, индивидуальными средствами защиты и спецодеждой);
- обучить персонал действиям при возникновении аварии или инцидента, могущего привести к внутрилабораторному заражению;
- проводить контроль за правильностью выполнения процедур персоналом, соблюдению точности исследований и правил по обеспечению безопасности;
- обеспечить персонал регулярным прохождением медосмотров.

Сотрудник лаборатории отвечает:

- за соблюдение установленных в лаборатории правил безопасной работы;
- аккуратное проведение исследования, гарантирующее собственную эпидемиологическую безопасность и безопасность других сотрудников лаборатории;
- правильное использование оборудования, обеспечивающего эпидемиологическую безопасность;
- использование средств индивидуальной защиты;
- своевременную информацию руководства лаборатории о возникших авариях и инцидентах, которые могут привести к инфицированию персонала и окружающей среды.

Инженерные мероприятия

По мере возрастания сложности инженерные мероприятия условно можно разделить на следующие группы:

- организация принудительной вентиляции воздуха в помещениях и на рабочих местах (общая и локальная вентиляция), исключающей попадание инфекционного аэрозоля в коридоры и другие смежные помещения;
- удаление или инактивация инфекционного аэрозоля, находящегося в воздухе помещений, с использованием технических средств, позволяющих производить обеззараживание (фильтрация воздуха, его облучение, другая инактивация микобактерий туберкулеза, приводящая к их разрушению и др.);
- обеззараживание поверхностей в лаборатории (облучение, другие методы эффективной инактивации микобактерий туберкулеза).

Некоторые из указанных мер подробно описаны в разделе 1.3.1, подраздел «Устройство вентиляции. Общие положения».

Ультрафиолетовые (УФ) облучатели

При установке УФ-облучателей необходимо быть уверенным, что они снабжены УФ-лампами со спектром, обеспечивающим обеззараживающий эффект в отношении микобактерий туберкулеза. Ультрафиолетовые установки изготавливаются в виде открытых бактерицидных облучателей, в виде экранированных облучателей, а также в виде закрытых облучателей с принудительным воздухообдувом. Для противотуберкулезных мероприятий допускается использование только тех УФ-облучателей, на которые имеются документы, подтверждающие их эффективность в отноше-

нии микобактерий туберкулеза. Выраженный бактерицидный эффект в отношении микобактерий зарегистрирован при облучении объектов излучением с длиной волны, составляющей 253,7 нм.

Как правило, бактерицидный эффект УФ-облучения воздуха зависит от интенсивности его обмена в помещении. Дополнительное использование вентиляторов в закрытых облучающих системах может удвоить наблюдаемый бактерицидный эффект, однако большие скорости перемешивания уменьшают время воздействия УФ-облучения на единицу объема воздуха, что снижает эффективность прибора. Дополнительное условие успешного применения экранированных УФ-облучателей – наличие большой кубатуры помещения и их длительная работа.

При облучении поверхностей, непосредственно используемых для работы с заразным материалом, необходимо помнить, что эффективность прямого облучения поверхности обратно пропорциональна квадрату расстояния до нее. В связи с этим необходимо правильно пользоваться расчетами, определяющими обеззараживающий эффект энергии облучения на единицу облучаемой поверхности.

Следует также учитывать, что только излучатели с абсолютно чистой, свободной от пыли поверхностью способны эффективно обеззараживать воздух и поверхности помещения. По этой причине очистку бактерицидных облучателей следует производить марлевым тампоном, смоченным 96° этиловым спиртом.

Влажность помещений является критическим параметром при использовании УФ-облучателей, а также обеззараживающих и фильтрующих приборов, действующих на основе электростатических взаимодействий (HEPA-фильтры) или иных электромагнитных принципов. УФ-облучение наиболее эффективно при общей влажности воздуха 60–65%. Увеличение влажности воздуха до 95% делает дезинфекцию посредством облучения труднодостижимой задачей. Это справедливо также в отношении электростатических фильтров и приборов на основе электромагнитных взаимодействий. В связи с этим влажную гигиеническую уборку помещений не следует совмещать с различного рода облучающей или иной электромагнитной обработкой воздуха помещений.

Персональная защита органов дыхания

Эти меры являются обязательными для защиты обслуживающего персонала. Однако без соответствующих административных и инженерных мер респираторы не обеспечивают надежную защиту медперсонала от инфекции.

Защитные персональные маски типа матерчатых или бумажных хирургических предотвращают распространение микроорганизмов, захватывая крупные жидкие частицы около рта или носа, но не обеспечивают защиту человека в маске от вдыхания подсохших капельных ядер. В связи с этим рекомендуется, чтобы такие маски использовали больные-бактериовыделители в случае пребывания их вне больничных палат или изоляторов.

Респираторы

Респираторы – это специальные виды масок, которые обладают способностью задерживать аэрозольные частицы размером свыше 1 мкм и плотно прилегают к лицу, предотвращая боковое подсосывание воздуха. Медицинскому персоналу, контактирующему с инфекционным материалом, рекомендуется использовать респираторы,

обеспечивающие 95% задержку частиц диаметром 3 мкм и более. Например, маски 9332 (3М, США) или №95, №99 (США) или аналогичные.

Изготовленные промышленным способом защитные маски (респираторы № 95 и № 99, сертифицированные Национальным институтом профбезопасности и здравоохранения (США); № 9332, 3М, США) способны задерживать более 95% частиц диаметром от 3 мкм и используются при выполнении всех манипуляций с загрязненным материалом и культурами. Эффективность подобных масок-респираторов снижается при увлажнении и загрязнении, поэтому их рекомендуется использовать одноразово, в крайнем случае – хранить завернутыми в чистую ткань, а не в пластиковых пакетах, удерживающих влагу, поскольку при хранении маски-респираторы должны быть сухими и не иметь складок от перегибов. Время эффективной работы невосстанавливаемых респираторов во многом определяется степенью загрязненности и влажности воздуха и обычно составляет не более 50 часов. Маски-респираторы не должны использоваться дольше срока, указанного в инструкции по их применению. В случае использования невосстанавливаемых масок-респираторов рекомендуется их одноразовое использование.

Данные маски-респираторы не подлежат обеззараживанию теплом, дезинфицирующими растворами, спиртом или другими растворителями, ультрафиолетом или иным ионизирующим или радикал-образующим излучением. Их запрещается обрабатывать термически, помещать в зоне работающего бактерицидного облучателя, сгибать для ношения в рабочей одежде или хранения, передавать в пользование другим лицам.

Более удобным является использование специальных респираторов со сменным фильтром.

Никакое самое дорогое и современное оборудование не заменит соблюдения мер безопасности!

Соблюдение гигиены и мер безопасности вменяется в обязанность каждому лабораторному работнику.

Лабораторная гигиена

В специализированной бактериологической лаборатории, выполняющей микробиологические исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, необходимо соблюдать следующие требования лабораторной гигиены.

- Вход в лабораторию должен быть разрешен только работникам лаборатории. *Вход посторонних лиц в лабораторию категорически воспрещен!*
- В рабочих помещениях лаборатории запрещается принимать пищу, пить, курить, применять косметические средства.
- Категорически запрещается использование пипеток и наклеивание этикеток с помощью рта.
- Рекомендуется использовать хирургические или сенсорные водопроводные краны.
- Руки следует мыть специальным бактерицидным мылом сразу после работы с потенциально инфицированной лабораторной посудой, после всех микробио-

логических процедур, снятия защитной одежды, а также перед тем как покинуть помещение лаборатории. Для вытирания рук после мытья следует пользоваться одноразовыми бумажными полотенцами. Запрещается использовать «воздушные полотенца».

- Чистку, сервисное обслуживание и проверку оборудования для обеспечения безопасности этих операций следует проводить только в присутствии технического специалиста.
- Все поверхности в лаборатории и лабораторное оборудование должны рассматриваться как потенциально инфицированные и подвергаться регулярной дезинфекции с использованием соответствующих средств.
- Полы лаборатории не следует натирать или подметать. Во избежание образования лишней пыли в лаборатории следует регулярно производить только влажную уборку.
- Обязательно проведение ежедневной влажной уборки помещений с применением дезинфицирующих средств в концентрациях и режимах, воздействующих на микобактерии туберкулеза.
- Дезинфекция воздуха и поверхностей помещений с помощью инженерных устройств (на основе электромагнитных, электростатических фильтров, ультрафиолетового излучения и т. д.) должна проводиться после просушки помещений.

1.4.3. Методы обеззараживания объектов

В связи с широким распространением возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и увеличением частоты случаев заболеваний, вызванных микобактериями, не относящимися к *Mycobacterium tuberculosis complex*, характеризующихся высокой естественной резистентностью, важнейшим элементом комплекса неспецифических противозидемических мероприятий является эффективное обеззараживание различных объектов с целью разрыва путей передачи возбудителя инфекции от источника инфекции к восприимчивому макроорганизму.

К основным методам надежного обеззараживания объектов, контаминированных микобактериями, относятся следующие:

- химические методы (применение химических препаратов – дезинфицирующих средств, обладающих туберкулоцидным действием);
- физические методы (кипячение, автоклавирование, сжигание).

Химические методы

В настоящее время для дезинфекции, проводимой в лечебно-профилактических учреждениях, предлагается большое количество зарегистрированных дезинфицирующих препаратов (около 500 наименований). Эти средства различаются составом действующих веществ (альдегиды, хлорактивные соединения и пр.), механизмом действия на микробную клетку, степенью антимикробной активности и безопасностью для персонала (например, некоторые средства необходимо применять с использованием средств индивидуальной защиты) и назначением (дезинфекция поверхностей, выделений больного, воздуха, изделий медицинского назначения – ИМН и т. д.).

Для того чтобы из этого разнообразия обоснованно выбрать эффективное и безопасное средство, необходимо руководствоваться следующими критериями:

- характеристика подлежащего обеззараживанию объекта как фактора передачи инфекции;
- характеристика дезинфицирующего средства: по эффективности в отношении микобактерий; по воздействию на конструкционные материалы обеззараживаемого объекта; по опасности для персонала и пациентов в процессе обработки; по экономическим затратам при его использовании.

Характеристика химических соединений (действующих веществ – ДВ), применяемых в составах современных дезинфицирующих средств, представлена в таблице 1.

Таблица 1

Основные характеристики действующих веществ дезинфицирующих средств

Действующее вещество	Активность	Преимущества	Недостатки	Преимущественное использование
Катионные поверхностноактивные вещества (КПАВ): четвертичные аммониевые соединения; соли аминов; производные гуанидина и пр.	Бактерии, грибы, некоторые вирусы	Не повреждают обрабатываемые объекты; стабильны при хранении; имеют относительно низкую токсичность, особенно при ингаляционном воздействии; наличие моющих свойств; остаточное антимикробное действие	Избирательное вирулицидное и слабое туберкулоцидное (кроме солей аминов) действие, отсутствие спороцидного действия; нейтрализация мылами и синтетическими моющими средствами	Дезинфекция поверхностей в помещениях, предметов обстановки, аппаратов, приборов, санитарно-технического оборудования
Хлорактивные соединения	Бактерии, вирусы, грибы, споры микроорганизмов	Низкая стоимость; широкий спектр антимикробного действия, включая микобактерии; высокая активность и быстрота действия; наличие дезодорирующего и отбеливающего эффекта	Снижение активности в присутствии органических веществ; резкий запах; раздражающее действие на слизистые оболочки глаз и верхних дыхательных путей; образование в воде устойчивых галогенорганических соединений, опасных как потенциальные канцерогены, мутагены, тератогены; повреждающее действие на объекты (металлы, ткани и пр.).	Дезинфекция санитарно-технического оборудования, выделений (фекалии, моча, мокрота), биологических жидкостей и других органических субстратов, посуды из-под выделений, медицинских отходов
Кислородсодержащие соединения (перекись водорода, пероксигидрат фторида калия и др.)	Бактерии, вирусы, грибы, споры микроорганизмов	Широкий спектр антимикробного действия, включая микобактерии; отсутствие запаха; распад в окружающей среде на нетоксичные продукты – молекулярный кислород и воду	Проявление антимикробного действия в высоких концентрациях; раздражающее действие на слизистые оболочки и кожу; повреждающее действие на металлы, ткани и др. материалы; низкая стабильность	Дезинфекция, предстерилизационная очистка и стерилизация ИМН

Действующее вещество	Активность	Преимущества	Недостатки	Преимущественное использование
Надкислоты	Бактерии, вирусы, грибы, споры микроорганизмов	Широкий спектр антимикробного действия, включая микобактерии; высокая активность, быстрота действия	Резкий запах, раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки глаз и верхних дыхательных путей. Возможно повреждающее действие на некоторые материалы изделий; низкая стабильность	Дезинфекция и стерилизация ИМН
Альдегиды (глутаровый, ортофталевый и др.)	Бактерии, вирусы, грибы, споры микроорганизмов	Широкий спектр антимикробного действия, включая микобактерии; хорошая совместимость с материалами, позволяющая обрабатывать изделия из любых материалов	Высокая токсичность; иногда необходима активация средства перед применением; фиксирует белковые загрязнения; сорбируется материалами (пластмассы, резины и др.), в связи с чем требует тщательного отмыва с обработанных объектов, длительного проветривания	Дезинфекция и стерилизация ИМН
Фенолы	Бактерии, некоторые вирусы, грибы	Эффективность в отношении микобактерий. Не повреждает обрабатываемые объекты	Неприятный стойкий запах. Избирательное действие на вирусы, отсутствие спороцидного действия	Дезинфекция поверхностей в помещениях, выделений больных
Спирты (этиловый, пропиловый и др.)	Бактерии, вирусы	Относительно низкая токсичность	Слабое туберкулоцидное и фунгицидное действие, отсутствие спороцидного действия; фиксируют белковые загрязнения; повреждают объекты, нестойкие к спиртам (оргстекло, краски, лаки, клей и др.); пожароопасность	Кожные антисептики; дезинфекция небольших по площади поверхностей

В случае разработки на основе указанных в таблице соединений композиционных дезинфицирующих препаратов (сочетание нескольких ДВ, функциональных добавок) большинство недостатков устраняются, что позволяет значительно расширить возможную сферу их применения.

В лаборатории должен храниться как минимум полугодовой запас дезинфицирующих средств из различных химических групп и различного назначения. Во избежание развития устойчивости микобактерий к дезинфицирующим средствам необходима их смена (ротация) через 3–6 месяцев применения, или одновременно следует применять несколько дезинфицирующих средств с разным механизмом действия на микробные клетки.

Дезинфицирующие средства применяют строго в соответствии с инструкцией / методическими указаниями по их применению, утвержденными в установленном порядке.

Наиболее перспективными для фтизиатрической практики являются композиционные препараты, включающие третичные амины, кислородсодержащие и хлорактивные соединения, надкислоты и альдегиды.

Подробное описание некоторых наиболее часто применяемых в отечественной практике дезинфицирующих средств приведено в базовом учебном пособии «Выявление туберкулеза методом микроскопии», раздел 2.1.3.

Физические методы

Так как эти методы более надежные и безопасные, им отдают предпочтение при обеззараживании объектов в микробиологических лабораториях. Наиболее часто применяют кипячение, паровой метод (в паровом стерилизаторе – автоклаве) и сжигание.

Способом кипячения в воде или 2% растворе натрия двууглекислого (сода пищевая) обеззараживают лабораторную посуду, контейнеры для сбора мокроты, посуду из-под выделений, резиновые шланги, пробки, груши для пипетирования, инструменты после вскрытия животных, спецодежду персонала, марлевые респираторы, полотенца, уборочную ветошь. Обеззараживание проводится в течение 15–45 минут с момента закипания.

Автоклавированию подвергают лабораторную посуду, контейнеры для сбора мокроты, мокроту, бактериологические посевы, воздушные бактериальные фильтры, трупы лабораторных животных, банки и бачки для животных, подстилочный материал, жидкие отходы, инструменты. *Автоклавирование с целью стерилизации инфицированных материалов проводят при температуре $126 \pm 2^\circ\text{C}$ ($1,5 \text{ кгс/см}^2$) в течение 30–60 минут в зависимости от вида объекта.*

Сжиганию подвергают медицинские отходы: трупы лабораторных животных, подстилочный материал, мусор.

Автоклавирование

В специализированных бактериологических лабораториях противотуберкулезной службы для обеззараживания загрязненной посуды и материала, как правило, используют такой метод, как автоклавирование. Отработанную посуду помещают в автоклав и проводят ее стерилизацию при определенном режиме.

Автоклавирование является оптимальным методом стерилизации, 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).

Автоклавы следует периодически тестировать для гарантии того, что в них создается необходимая температура. Тестирование следует проводить с использованием индикаторных капсул или бумаги, меняющих цвет при правильном проведении стерилизационного процесса.

Одноразовые материалы после автоклавирования сжигаются либо утилизируются иным способом. Стеклопосуда моется, стерилизуется и может использоваться повторно.

1.4.4. Организация обращения с отходами лабораторий, работающих с возбудителем туберкулеза

1. Все отходы лабораторий противотуберкулезных учреждений относятся к *классу В* (чрезвычайно опасные отходы лечебно-профилактических учреждений).
2. Все отходы лабораторий противотуберкулезных учреждений подлежат дезинфекции в соответствии с действующими нормативными документами.
3. Отходы *класса В* должны быть подвергнуты обязательной дезинфекции перед сбором в одноразовую упаковку непосредственно на местах первичного сбора отходов методом погружения в дезинфицирующий раствор, подготовленный в специально выделенной для этой цели емкости.
4. Для дезинфекции следует использовать зарегистрированные в установленном порядке и рекомендованные к применению в медицинских учреждениях дезинфицирующие средства в концентрациях и времени экспозиции, указанных в соответствующих методических указаниях/инструкциях по их применению. Для проведения дезинфекции отходов *класса В* следует использовать режимы, обеспечивающие уничтожение возбудителя туберкулеза.
5. При проведении дезинфекции образующихся в лабораториях противотуберкулезных учреждений отходов допускается применение специально выделенных для этих целей автоклавов, а также установок УОМО-01/150 (УОМО-02/90), действие которых основано на использовании воздействия на микроорганизмы электромагнитного излучения сверхвысокой частоты и влажного пара при температуре 100 °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 06.05.2006 г.
6. Сбор отходов *класса В* осуществляется в герметичную одноразовую упаковку *красного цвета*. Мягкая упаковка (одноразовые пакеты) должна быть закреплена только на специальных стойках-тележках. После заполнения пакета примерно на 3/4 из него удаляется воздух, и сотрудник, ответственный за сбор отходов в данном медицинском подразделении, не снимая пакета со стойки-тележки, осуществляет его герметизацию и маркировку, с соблюдением требований техники безопасности при работе с возбудителями 3–4-й групп патогенности.
7. Микробиологические культуры и штаммы, вакцины должны собираться в герметичную одноразовую твердую упаковку (емкости) *красного цвета*.
8. Одноразовая упаковка (пакеты, емкости) *красного цвета* с отходами *класса В* должна иметь надпись «*Чрезвычайно опасные отходы. Класс В*», а после заполнения и герметизации на ней закрепляется бирка (наносится надпись) с кодом лаборатории ЛПУ, названием учреждения, датой и фамилией ответственного за сбор отходов лица.
9. Удаление пакетов (емкостей), заполненных отходами *класса В*, из мест их образования осуществляется по мере заполнения, но не реже чем раз в смену.
10. Все отходы *класса В* в лабораториях накапливаются в транспортных внутрикорпусных тележках либо мини-контейнерах с соответствующей цветовой маркировкой, располагающихся в местах промежуточного сбора. Транспортирование всех видов отходов *класса В* вне пределов медицинского подразделения осуществляется только в герметичной одноразовой упаковке (пакеты, емкости) *красного*

цвета в транспортных внутрикорпусных тележках либо мини-контейнерах с соответствующей цветовой маркировкой.

11. Транспортными внутрикорпусными тележками либо мини-контейнерами отходы отделений *класса В* доставляются к местам установки (меж) корпусных контейнеров, где отходы отделений корпуса перегружаются в указанные контейнеры, предназначенные для сбора отходов *класса В*.
12. При проведении сбора отходов в соответствии с требованиями статьи 24 Закона РФ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии» не допускается:
 - пересыпать отходы *класса В* из одной емкости в другую;
 - устанавливать одноразовую упаковку (пакеты на стойках-тележках, емкости) и многоразовые баки для сбора отходов на расстоянии менее одного метра от электронагревательных приборов и менее пяти метров от источников открытого пламени;
 - использовать мягкую упаковку (одноразовые пакеты) для сбора острого медицинского инструментария и иных острых предметов;
 - утрамбовывать любые отходы руками;
 - осуществлять сбор отходов без перчаток.
13. При нарушении целостности одноразового пакета (разрыв, порез) его необходимо поместить в другой одноразовый пакет и произвести повторную герметизацию.
14. При обнаружении рассыпания отходов *класса В* дезинфекция данного места производится немедленно. Для этой цели ЛПУ должно иметь запас готовых к применению дезинфицирующих средств.
15. Рекомендуемым методом обезвреживания (уничтожения) отходов лабораторий противотуберкулезных учреждений является термический с использованием пиролизных установок (печей).

1.4.5. Основное оборудование и спецодежда, обеспечивающие безопасность

Биологический шкаф безопасности

Основным оборудованием, обеспечивающим безопасность в лаборатории, выполняющей культуральные исследования с целью диагностики и контроля химиотерапии туберкулеза, является тщательно обслуживаемый, правильно функционирующий БШБ (см. раздел 1.3.4). В лаборатории, осуществляющей посев, могут быть использованы 2 типа БШБ.

Ламинарный шкаф 1-го класса – это БШБ, работающий под отрицательным давлением, протягивающий минимум 22 кубических метра воздуха в минуту через фронтальную открытую часть и выбрасывающий 100% воздуха наружу, за пределы лаборатории. БШБ 1-го класса обеспечивает защиту оператора (лабораторного работника), но не защищает рабочий материал (среды, культуры) от загрязнения посторонней микрофлорой. При использовании этого БШБ требуется применение специальных мер для асептической работы с материалом, чтобы избежать контаминации посевов и сред.

БШБ 2-го класса с рециркуляцией воздуха обеспечивает двойную защиту – оператора и диагностического материала или культур микроорганизмов, с которыми про-

водится работа. Это достигается тем, что в таком БШБ действуют 2 воздушных потока: фронтальный, втягивающий воздух от оператора, защищая его, и внутренний вертикальный ниспадающий, обеспечивающий движение воздушного потока через фильтры «HEPA» над рабочей зоной. Ламинарный вертикальный БШБ 2-го класса подает в рабочую зону профильтрованный, очищенный от бактерий и спор воздух. Отработанный воздух поступает под давлением через фильтр, очищается, и большая его часть вновь поступает в рабочую зону. Часть отработанного воздуха (от 15 до 25%, в зависимости от модели шкафа) выбрасывается наружу. Поскольку отработанный воздух очищается и остается стерильным, его поступление в лабораторию безопасно (либо возможно удаление отработанного воздуха за пределы лаборатории).

Сила тяги БШБ устанавливается производителем при его изготовлении и составляет: в БШБ 1-го класса – 30 см/с, в БШБ 2-го класса – 40–50 см/с. Технические характеристики БШБ (в первую очередь – объем протягиваемого воздуха) подлежат ежегодной проверке и должны тестироваться квалифицированным специалистом. Регулярные проверки (ежеквартальные или чаще, в зависимости от степени запыленности атмосферы) воздушного потока должны производиться с использованием анемометра или иного специально предназначенного для этого прибора. Существенное снижение скорости воздушного потока говорит о засорении фильтра и необходимости его замены.

Оценка скорости воздушного потока на рабочей поверхности БШБ

В этом тесте дается оценка рассчитанной, либо непосредственно измеренной скорости воздушного потока, проходящего через рабочую зону. Определяется и устанавливается приемлемая скорость воздушного потока, поступающего в БШБ и подаваемого с фильтра.

Воздушный поток в БШБ 1-го класса необходимо измерить не менее чем в 5 точках сечения рабочего окна, после чего вычисляется среднее значение. Ни в одном показании прибора расхождения не должны превышать 0,1 м/с. Наличие подобных расхождений свидетельствует о неравномерности потока и как результат – приведет к турбулентности внутри БШБ.

При работе с БШБ следует соблюдать следующие меры предосторожности.

- Использовать микробиологические методы, исключая формирование аэрозолей. Это сведет к минимуму контакт персонала с инфекционным материалом.
- Для исключения перекрестной контаминации чистые материалы *всегда* следует держать на расстоянии не менее 12 см от места образования аэрозолей. Не держать пробирки открытыми, закрывать их как можно скорее. Это снизит вероятность перекрестного засева.
- Не использовать открытое пламя в БШБ. Это образует завихрения, прерывающие поток воздуха, поступающего к рабочей поверхности. Внутри БШБ предпочтительно использование небольших электрических горелок для обжига петь.
- Помещать отработанные пипетки и загрязненную посуду в емкость с дезраствором внутри БШБ. Погружение в емкость проводить с максимальной осторожностью во избежание разбрызгивания. Выдержать необходимое время дезинфекции.

- БШБ следует обеззараживать не менее 1 раза в год, фильтр удаляется, для этого необходимо создать формальдегидные пары, которые уничтожат МБТ, осевшие на фильтре. Такая обработка необходима всегда при замене фильтра или внутренней починке. Наиболее широко используется метод получения формальдегидных паров путем добавления перманганата калия к раствору формальдегида.

Методика обеззараживания БШБ перед удалением фильтра, ремонтом
(рекомендации ВОЗ и Центра по контролю за заболеваемостью США)

- 1) Удалите все материалы и оборудование из БШБ и в непосредственной близости от него. *Убедитесь, что БШБ включен.*
- 2) Заклейте все щели и вентиляционные решетки полиэтиленом, проклейте скотчем вокруг дверного проема во избежание проникновения паров в соседние помещения.
- 3) На кубический метр деконтаминируемого объема берется 25 мл 40% раствора формальдегида и 15 г перманганата калия. Поместите кристаллы перманганата в глубокий металлический контейнер внутри БШБ. Облейте перманганат раствором формальдегида и покиньте лабораторию немедленно, поскольку в ходе реакции быстро высвобождается тепло и газ. Закройте и запечатайте дверь.
- 4) Оставьте формальдегид взаимодействовать на ночь, а лучше на выходные, *не выключая БШБ.*
- 5) Удалите весь полиэтилен, скотч, проветрите комнату до полного удаления формальдегида, помойте полы, стены и оборудование. Если обнаруживаются остатки белого порошка, протрите поверхности 10% раствором аммиака (используйте перчатки).
- 6) Выключите БШБ и выполняйте замену фильтра либо ремонт.

Индивидуальные средства защиты. Защитная одежда

Во время работы в лаборатории персоналу надлежит носить специальную защитную одежду. Каждому сотруднику необходимо иметь отдельную спецодежду для работы в «чистом» и «заразном» блоках лаборатории.

При входе в «заразную» зону лаборатории все лица должны полностью заменить свою верхнюю одежду и обувь, в которых они ходят по улицам или в других помещениях, на *специальную рабочую*: халат или специальный костюм, головной убор, бахилы, а также, при необходимости, защитный фартук, перчатки, защитная маска-респиратор. По окончании работы в «заразной» зоне лаборатории и переходе в «чистую» зону эту защитную одежду следует снять и поместить в закрытый контейнер или специальный мешок для автоклавирования или дезинфекции и последующей стирки.

Халат должен закрывать все тело, верхнюю часть грудной клетки, шею, рукава доходить до запястий.

Перчатки следует надевать при работе с потенциально заразным материалом, поверхностями, оборудованием. Перчатки также защищают порезы на руке от инфицирования. Перчатки должны закрывать края рукавов халата. При повреждении или видимом загрязнении перчаток их следует немедленно удалить и перед использованием другой пары тщательно вымыть руки с мылом. *Одноразовые перчатки не следует мыть или использовать повторно!*

Специальные маски, фильтрующие до 95% частиц размером от 1 до 5 мкм, всегда надеваются при работе с инфицированным материалом, когда возможно образование аэрозоля.

Защитную одежду, используемую в «чистом» блоке, следует снимать перед выходом из лаборатории, грязную одежду перед отправкой в стирку помещают в закрывающийся контейнер.

На рис. 18 показано использование в «заразной» зоне лаборатории оборудования и спецодежды, обеспечивающих биологическую безопасность.



Рис. 18 Биологический шкаф безопасности и индивидуальные средства защиты персонала лаборатории

1.4.6. Чрезвычайная ситуация в лаборатории

В основе мероприятий должно лежать понимание того, что аварии могут и будут происходить. В связи с этим в каждой лаборатории должен быть разработан план действий для устранения потенциально опасных последствий до возникновения аварии, а также должна постоянно проводиться оценка выполняемых лабораторных манипуляций с целью поиска путей сведения к минимуму подобных ситуаций.

Лучшим путем защиты в случае аварии будет хорошо продуманный план быстрых и согласованных действий по устранению последствий. Никакой инцидент в бактериологической лаборатории нельзя рассматривать как незначительный, однако в каждом случае необходима оценка ситуации для выработки надлежащих действий.

Аварии, случающиеся в лаборатории, можно разделить на 2 типа: первые образуют ограниченное количество аэрозоля, при других формируются большие объемы потенциально заразного аэрозоля.

К первым можно отнести, например, случай разбивания пробирки с культурой или контейнера с мокротой или разлив мокроты. В этих примерах твердая среда и вязкая консистенция мокроты значительно ограничивают образования аэрозоля.

При аварии второго типа большие объемы инфекционного аэрозоля образуются, когда разбиваются пробирки с жидкой культурой или суспензией МБТ.

Мероприятия по локализации и ликвидации последствий аварий

1. При авариях работу с ПБА немедленно прекращают, ставят в известность руководителя лаборатории или лицо, его замещающее, и принимают следующие меры:
 - все открытые части тела обрабатывают дезинфицирующим раствором или 70% спиртом;
 - при попадании инфекционного материала на слизистые оболочки их немедленно обрабатывают: глаза – 1% раствором борной кислоты, несколькими каплями 1% раствора азотнокислого серебра или струей воды; в нос закапывают, а рот и горло прополаскивают 0,05% раствором марганцовокислого калия или 1% раствором борной кислоты.
2. При аварии, связанной с ранением или другим повреждением кожных покровов, перчатки (если работа проводилась в них) обрабатываются дезраствором, снимаются, из ранки выдавливается кровь, руки обрабатываются 70% спиртом, затем моются водой с мылом, ранка смазывается раствором йода.
3. Проводится обеззараживание места аварии. По окончании работ защитная одежда замачивается в дезинфицирующем растворе. Все сотрудники, находившиеся в зоне аварии, должны принять душ.
4. При аварии во время работы на центрифуге крышку медленно открывают только через 30–40 мин (после оседания аэрозоля). Центрифужные стаканы и разбитое стекло помещают в дезинфицирующий раствор, поверхность крышки, внутренние части центрифуги, ее наружную поверхность дезинфицируют. Дезинфекция центрифуги проводится после отключения ее от электросети.
5. При аварии с разбрызгиванием ПБА лица, находившиеся в помещении, где произошла авария, покидают помещение, обрабатывают открытые части тела и слизистые, замачивают СИЗ в дезинфицирующем растворе, принимают душ.

Мероприятия по ликвидации последствий аварии осуществляют сотрудники лаборатории, одетые в противочумный (хирургический) халат, косынку, сапоги (галоши, пластиковые бахилы), резиновые перчатки, очки и респиратор.

При проведении дезинфекции способом орошения в качестве СИЗ органов дыхания используются респираторы марки РУ-60 М или РПГ-68 с патроном, соответствующим применяемому дезинфектанту, или противогаз типа ГП-5.

6. О происшедшей аварии и проведенных мероприятиях руководитель лаборатории направляет докладную записку на имя руководителя организации и председателя комиссии по контролю за соблюдением требований *биологической безопасности*, в которой указывает час и дату происшедшей аварии, ее характер, перечисляет сотрудников, находившихся на месте аварии, в том числе лиц, проводивших дезинфекционные мероприятия, а также принятые меры.
7. В лабораториях для ликвидации последствий аварии, а также профилактики возможного поражения персонала, необходимо иметь: аптечку для оказания экстренной медицинской помощи, запас дезинфицирующих средств, СИЗ, емкости для замачивания СИЗ, гидропульт или автомакс, которые хранятся в специально отведенном месте.

В аптечке экстренной помощи должны находиться: 70% этиловый спирт, раствор йода, сухие навески марганцовокислого калия, азотнокислого серебра и борной кислоты, которые в случае аварии можно растворить в мерном объеме дистиллированной воды, стерильная дистиллированная вода, глазные пипетки, ножницы, перевязочные средства, бактерицидный пластырь.

В лабораториях НИИ, проводящих исследования с микроорганизмами III–IV групп патогенности с измененными свойствами, должен быть запас средств для проведения экстренной профилактики и лечения (антибиотики, сыворотки, иммуноглобулины и др.) на 2–4 человека.

Ответственным за комплектование аптечки экстренной медицинской помощи является руководитель подразделения.

8. За лицами, находившимися в помещении, где произошла авария, устанавливается медицинское наблюдение на срок инкубационного периода.
9. В лаборатории должен быть *журнал регистрации аварий*, где отмечается: дата, время, место, характер аварии, фамилия, имя и отчество лиц, находившихся непосредственно в зоне ее воздействия, а также проведенные мероприятия.

Примерный план действий в случае аварии 1-го типа (в дополнение к вышеперечисленному)

- Немедленно накройте разлитый материал во избежание дальнейшего образования аэрозоля.
- Смочите покрывало (газета, тряпка, халат) 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 использованное покрытие) в контейнер и проавтоклавируйте.
- Вымойте полы и оборудование с добавлением дезраствора.

Примерный план действий при аварии 2-го типа

- Покинуть помещение всем, кроме виновника инцидента.
- Остановить циркуляцию воздуха, закрыть все щели, вентиляционные решетки (полиэтиленом, скотчем).
- Включить распылитель дезраствора, покинуть комнату и запечатать дверь.
- Дать аппарату израсходовать весь объем дезраствора, оставить комнату не менее чем на 2 часа.
- Надеть все элементы защитной одежды перед возвращением в комнату.
- Залить пролитую культуру дезраствором и оставить на время, необходимое для дезинфекции.
- Поместить осколки пробирок, остатки дезраствора в соответствующий контейнер.
- Вымыть пол, стены и поверхности оборудования.

Примерный план действий при авариях внутри БШБ

В случае пролития инфекционного материала внутри БШБ шкаф не выключать.

При небольшом образовании аэрозоля рекомендуется следующий план действий:

- накройте залитый участок во избежание дальнейшего образования аэрозоля;
- пропитайте использованный материал (тряпка, халат) дезраствором и залейте им вокруг;
- покиньте комнату минимум на 2 часа, БШБ за это время вытянет весь образовавшийся аэрозоль;
- поместите все разбитые пробирки, тряпки в соответствующий контейнер;
- вымойте внутреннюю часть шкафа с дезраствором, а также пол и оборудование, немедленно покиньте комнату.

В случае образования большого объема аэрозоля рекомендуется следующий план действий:

- БШБ не выключать и не входить в комнату, по крайней мере, 4 часа – за это время БШБ вытянет или разбавит профильтрованным воздухом воздух комнаты;
- включить аппарат для распыления дезраствора, оставить помещение до оседания аэрозоля;
- использовать формальдегид, как для обеззараживания фильтра, как описано выше.

Вопросы

1. Какие механизмы и пути инфицирования микобактериями туберкулеза реализуются в условиях лабораторий?
2. Какова структура мероприятий, направленных на снижение риска внутрилабораторного заражения?
3. Перечислите основные правила лабораторной гигиены сотрудников лаборатории.
4. Охарактеризуйте основные методы обеззараживания объектов, контаминированных микобактериями.
5. Какие группы дезинфицирующих средств наиболее часто используются для обеззараживания объектов, контаминированных микобактериями?
6. Определите основные положения, обеспечивающие безопасное обращение с отходами лабораторий противотуберкулезных учреждений.
7. Перечислите мероприятия, проводимые при аварийных ситуациях в лабораториях.

8. Какие нарушения правил техники безопасности допускает сотрудник лаборатории на фотографии внизу (рис. 19)?



Рис. 19 В инфекционной зоне лаборатории