

Виробниче навчання 4.10.2024 група 25

Тема: Загальні правила роботи в мікробіологічній лабораторії. Мікробіологічна лабораторія та її обладнання

Мета роботи – ознайомлення з загальними правилами роботи в мікробіологічній лабораторії

Основні теоретичні положення

1 Загальні правила роботи в мікробіологічній лабораторії.

Особливістю мікробіологічних робіт є постійний контакт працівників лабораторії з біологічно небезпечним матеріалом: культурами патогенних мікроорганізмів, тканинами, кров'ю і виділеннями живих організмів тощо.

Тому всі працівники мікробіологічної лабораторії зобов'язані дотримуватись наступних правил роботи, які забезпечують стерильність в роботі і попереджують можливість зараження:

1. До приміщення мікробіологічної лабораторії заборонено заходити без спеціального халату.
2. Забороняється заносити до лабораторії сторонні речі.
3. Не дозволяється виходити за межі лабораторії в халатах або одягати верхній одяг на халат.
4. Двері мікробіологічної лабораторії повинні бути постійно зачиненими.
5. В приміщенні мікробіологічної лабораторії категорично заборонено палити, вживати їжу, зберігати продукти харчування.
6. Весь матеріал, який потрапляє до мікробіологічної лабораторії для аналізу повинен трактуватися як інфікований.
7. При використанні біологічного матеріалу не дозволяється ставити посуд, який містить матеріал для дослідження, безпосередньо на стіл. Для цього використовуються підноси або кювети, посуд попередньо протирають ззовні дезінфікуючим розчином.
8. Переливання рідин, які містять патогенні мікроорганізми, здійснюють над посудиною з дезінфікуючим розчином.
9. У випадках пошкодження посуду з мікробіологічним матеріалом або його витік слід негайно повідомити відповідальну особу і провести заходи для обеззараження забрудненого одягу, частин тіла, предметів робочого місця.

10. При роботі з мікробіологічним матеріалом необхідно використовувати загальноприйняті технічні прийоми, які виключають можливість контакту рук з мікробіологічним матеріалом.

11. По закінченні роботи непотрібний біологічний матеріал та культури мікроорганізмів повинні бути знищені. Інструменти, які використовувалися в роботі, та поверхню робочого столу необхідно дезинфікувати.

12. Необхідно також пильно слідкувати за чистотою рук по закінченні роботи руки дезинфікуються.

12. Мікробіологічний матеріал та культури мікроорганізмів, які потрібні для подальшої роботи, здаються відповідальній особі.

Специфіка мікробіологічних робіт вимагає, щоб приміщення лабораторії було ізольованим від інших кімнат.

До мікробіологічної лабораторії належать:

приміщення для бактеріологічних досліджень; стерильний бокс для виконання робіт в стерильних умовах; передбоксник, де знаходиться стерильний матеріал; автоклавна для стерилізації посуду, живильних середовищ та знешкодження відпрацьованого матеріалу; приміщення для миття посуду та приготування середовищ.

Бокс повинен бути обладнаний бактерицидною лампою, стіни і підлога вистелені плиткою або лінолеумом, що забезпечує можливість використання дезинфікуючих розчинів при прибиранні кімнати. До необхідних інструментів та обладнання мікробіологічної лабораторії відносять: термостати, центрифуги, мікроскопи з освітлювачами, шафи сушильні, спиртівки або газові пальники, піпетки пастерівські, шпателі скляні та металеві, пінцети, ножиці, предметні та покривні скельця, петлі бактеріологічні тощо.

2 Підготовка мікробіологічної лабораторії до роботи.

Мікробіологічну лабораторію необхідно тримати в чистоті. У ній не повинно знаходитися ніяких зайвих предметів. Слід регулярно проводити гігієнічне прибирання лабораторних приміщень. Забезпечити повну стерильність лабораторії дуже важко і це не завжди необхідно, але значно знизити кількість мікроорганізмів в повітрі і на різних поверхностях в лабораторних приміщеннях можливо. Для цього застосовують різні способи дезінфекції. Слово «дезінфекція» означає знезараження, тобто знищення збудників інфекційних хвороб на об'єктах зовнішнього середовища. Проте при дезінфекційній обробці гинуть не тільки патогенні, але і сапрофітні бактерії. Іноді процес дезінфекції надає стерилізуючу дію.

Підлога, стіни і меблі в мікробіологічній лабораторії протирають розчинами різних дезінфікуючих речовин. Як дезінфікуючий розчини найчастіше користуються 2—3%-вим розчином соди (бікарбонату натрію), 3—5%-вим розчином фенолу (карболової кислоти) або лізолу (препарат фенолу з додаванням зеленого мила), 0,5—3%-вим водним розчином хлораміну і деякими іншими дезінфікантами.

Повітря в лабораторії найпростіше дезінфікувати провітрюванням. Тривала вентиляція приміщення через кватирку (не менше 30—60 хвилин) призводить до різкого зниження кількості мікроорганізмів в повітрі, особливо при значній різниці в температурі між зовнішнім повітрям і повітрям приміщення.

Ефективний і найпоширеніший спосіб дезінфекції повітря — опромінювання ультрафіолетовими променями з довжиною хвилі від 200 до 400 нм. Ці промені володіють високою антимікробною активністю і можуть викликати загибель не тільки вегетативних клітин, але і спор мікроорганізмів.

Дія ультрафіолетових променів повинна бути досить тривалою. Це пов'язано перш за все з тим, що ультрафіолетові промені володіють слабкою проникаючою здібністю. Вони не проходять, наприклад, через звичайне скло, легко поглинаються частинками пилу. Крім того, деякі предмети, такі як білий папір, пластини, з полірованого алюмінію або хрому можуть помітно відображати ультрафіолетові промені. Тому залежно від ступеню забрудненості повітря для його стерилізації потрібне опромінювання від 30 хв до декількох годин.

Робоче місце, де безпосередньо проводиться робота з культурами мікроорганізмів, вимагає особливо ретельною обробки. Робочий стіл слід дезінфікувати не тільки до початку роботи, але і після її закінчення. Для протирання поверхні столу можна використовувати розчини лізолу і хлораміну, а також 70%-ві (за об'ємом) розчини ізопропілового або етилового спиртів. Спирти ефективні відносно вегетативних форм мікроорганізмів. Названі спирти можна також застосовувати для дезінфекції рук. Поверхню робочого столу можна дезінфікувати і ультрафіолетовими променями. При цьому слід враховувати, що бактеріоцидна дія променів тим вище, чим ближче опромінювана поверхня до джерела випромінювання.

3 Правила роботи з культурами мікроорганізмів

У лабораторії мікроорганізми вирощують на щільних і в рідких живильних середовищах, які розливають в пробірки, колби, матраци і чашки Петрі (рис. 1). Посуд і живильні середовища заздалегідь стерилізують.

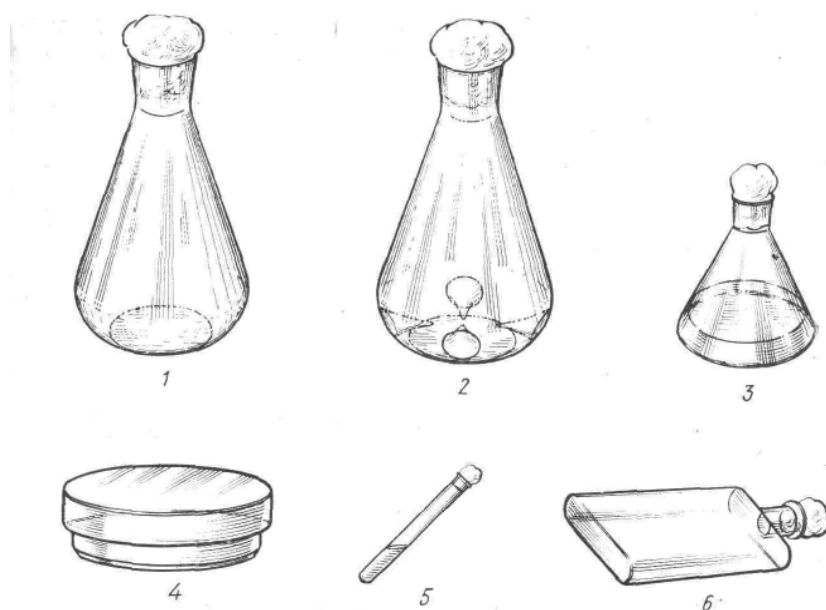


Рис. 1. Посуд для культивування мікроорганізмів: 1 — качалочна колба; 2 — качалочна колба с відбійниками; 3 — конічна колба; 4 — чашка Петрі; 5 — пробірка; 6 — матрац.

Внесення мікроорганізмів до стерильного середовища називається посівом, інокуляцією. Посів мікроорганізмів вимагає певних правил, які необхідно виконувати, щоб запобігти забрудненню сторонніми мікроорганізмами досліджуваної культури. Перед посівом слід написати на пробірці (колбі або чашці Петрі) назву мікроорганізма і дату посіву. Напис роблять чорнилом по склу або на наклеєній етикетці.

Клітини мікроорганізмів для посіву або приготування препаратів беруть бактеріологічною петлею або голкою (рис. 2), якщо мікроорганізми вирощені на щільному середовищі. В тому разі, коли потрібно приготувати препарат або пересіяти культури мікроорганізмів, що вирости в рідкому живильному середовищі, краще користуватися не петлею, а стерильною піпеткою. Бактеріологічні петлі і голки роблять, використовуючи тонкий дрід з вольфраму або ніхрому, яку закріплюють в металевому або скляному, утримувачі. Діаметр бактеріологічної петлі — 4—5 мм.

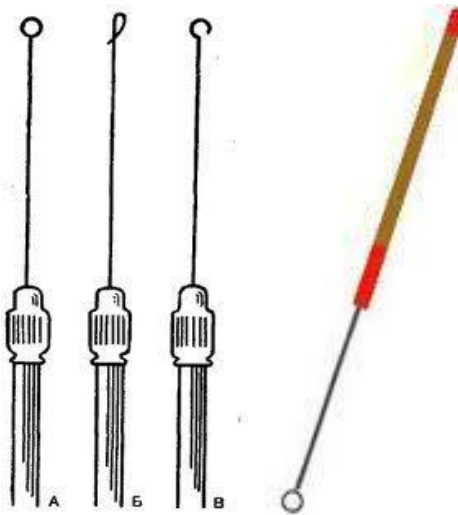


Рис. 2. Бактеріологічні петлі

Бактеріологічну петлю (голку) перед роботою стерилізують. Петлю рекомендується тримати в полум'ї пальника майже вертикально. Необхідно пам'ятати, що найвища температура розвивається у верхній і периферичній частинах полум'я (рис. 3), тому не слід опускати петлю безпосередньо до пальника. Щоб не пошкодити клітини мікроорганізмів, петлю (голку) спочатку охолоджують, торкаючись нею до внутрішньої поверхні посудини або до живильного середовища, вільного від клітин мікроорганізмів, і тільки після цього захоплюють невелику кількість мікробної маси.

Відбір клітин мікроорганізмів, проводять таким чином. Пробірку з культурою беруть в ліву руку так, щоб поверхня живильного середовища з мікроорганізмами була обернена догори. Пробірку тримають в горизонтальному або декілька похилому положенні. У праву руку беруть петлю так, як тримають олівець, і прожарюють в полум'ї пальника. Потім, не випускаючи петлі, мізинцем і безіменним пальцем правої руки притискують пробку до долоні, виймають її з пробірки і тримають так

під час подальших маніпуляцій. Краї відкритої пробірки з культурою мікроорганізмів обпалюють в полум'ї спиртівки і після цього вводять в пробірку стерильною петлею. Узнявши невелику кількість мікробної маси з поверхні субстрата, виймають петлю з пробірки, не торкаючись стінок або країв пробірки. Край пробірки знову обпалюють в полум'ї пальника, потім обпалюють пробку і закривають нею пробірку. Її потрібно швидко ввести в пробірку, де вата сама потухне. У жодному випадку не можна дути на пробку, що зажевірла, оскільки це тільки підсилить горіння. Якщо у момент пересівання пробка впаде на стіл або на підлогу, то не слід знову вставляти її у пробірку. Необхідно узяти нову стерильну пробку. Закрити пробкою пробірку з культурою ставлять в штатив, а матеріал, що відібрали із пробірки використовують для приготування препарату або для пересівання культури в свіже середовище.

Якщо культуру пересівають на агаризоване середовище, то петлю вводять в пробірку до кінця і, злегка торкаючись нею поверхні агару, проводять від низу до верху. При цьому прагнуть не пошкодити поверхню щільного середовища. У разі пересіву в рідке середовище (у колби або пробірки) петлю з мікробною масою занурюють безпосередньо в середовище. Залишок мікроорганізмів на петлі після пересівання або приготування препарату ретельно спалюють в полум'ї пальника. Прокалення петлі в цьому випадку починають з участка дроту, що примикає до кільця, для того, щоб мікробна маса, що залишилася на петлі, підсохла. Потім петлю переводять у вертикальне положення і прокалюють. Такий порядок стерилізації петлі необхідний тому, що при швидкому нагріванні вологої мікробної маси відбувається її розбризкування і утворюється аерозоль, що забруднює повітря. Тільки після прокалення петлю можна покласти на місце.

З рідкого середовища клітини беруть таким чином: піпетку за верхній кінець виймають з паперу або пеналу, в яких її стерилізували, і вводять в пробірку або колбу з культурою, дотримуючись правил обережності, описані вище. Відбирати рідку культуру піпеткою можна за допомогою гумової груші. Використану піпетку слід негайно перенести в дезінфікуючий розчин, наприклад 3—5%-вий водний розчин фенолу або 2%-вий розчин хлораміну.

Коли необхідно провести пересів мікроорганізмів з рідкого живильного середовища на поверхню щільного середовища в чашці Петрі, поступають таким чином. Розплавлене на киплячій водяній бані стерильне живильне середовище, що містить агар або желатин, розливають в стерильні чашки Петрі. Для цього ємкість з середовищем беруть в праву руку, виймають з нього пробку, утримуючи її мізинцем і безіменним пальцем лівої руки, обпалюють горло судини в полум'ї пальника і, прочинивши великим і середнім пальцями лівої руки кришку чашки Петрі, швидко наливають в чашку розплавлене середовище в такій кількості (20—30 мл), щоб дно чашки було повністю покрите. Кришку негайно закривають і чашку залишають на горизонтальній поверхні до тих пір, поки не захолоне середовище. Для посіву припіднімають кришку чашки Петрі і на поверхню твердого середовища

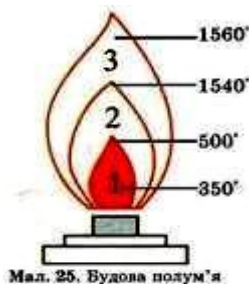


Рис. 3. Значення температури (у градусах Цельсія) в різних ділянках полум'я газового пальника

наносять краплю рідкої культури, яку обережно розподіляють скляним стерильним шпателем (шпатель Дрігальського) або петлей.

Всі описані маніпуляції слід проводити біля полум'я пальника (але не в полум'ї), по можливості швидко, щоб не забруднити культуру сторонніми мікроорганізмами. Не рекомендується робити різкі рухи і ходити біля особи, яка працює з чистою культурою, оскільки рух повітря збільшує вірогідність випадкового її забруднення. Після пересівання пробірку або інші судини, в яких вирощують мікроорганізми, поміщають в термостати, де за допомогою терморегуляторів підтримується постійна температура. Посуд з культурами мікроорганізмів, які підлягають утилізації, необхідно автоклавувати, щоб убити клітини мікроорганізмів, і лише після цього мити. Культури на щільних живильних середовищах можна заливати на добу дезінфікуючим розчином, після чого їх викидають і посуд миють.

ВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАПИСІВ

Журнал лабораторних робіт є документом, що дозволяє контролювати правильність отриманих результатів. У ньому повинні бути записані відомості, що мають відношення до виконання даної роботи. Запис необхідно вести акуратно, чітко і в певному порядку, наприклад:

1. Назва досліді і його мета, дата його постановки і закінчення.
2. Об'єкт дослідження.
3. Умови проведення досліді.
4. Основний принцип використовуваного методу аналізу.
5. Отримані результати.

Цифровий матеріал приводять в таблицях. Якщо необхідно, будують графіки, діаграми, роблять малюнки. Кожна лабораторна робота повинна закінчуватися власними спостереженнями і висновком, записаними в журналі.

Реактиви, сировина, матеріали

- Покривні і предметні скельця;
- Чашки Петрі;
- Фільтрувальний папір;

- Бактеріологічна петля;
- Бактеріологічна голка.

Контрольні запитання

1. У чому полягають основні принципи організації мікробіологічної лабораторії та робочого місця мікробіолога?
2. У чому полягають правила техніки безпеки під час роботи в мікробіологічній лабораторії?
3. Як має бути обладнана мікробіологічна лабораторія?
4. Правила роботи з культурами мікроорганізмів.