

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга	
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01	
Название:	Ампулирование спорowego материала представителей рода <i>Bacillus</i>		Страница 1 из 7

Версия № 01	Дата введения: 15.12.2017
Причина пересмотра:	

Утверждение процедуры	Должность	Ф. И. О.	Подпись	Дата
Разработал	Главный научный сотрудник	Селянинов Ю.О.		«5» 12 2017 г.
Согласовал	Руководитель Государственной коллекции	Балышев В.М.		«05» 12 2017 г.
Согласовал	Начальник ОСМК	Бобкова Т.Е.		«5» 12 2017 г.
Согласовал	Заместитель директора по диагностическим исследованиям	Егорова И.Ю.		«06» 12 2017 г.
Утвердил	Директор института	Колбасов Д.В.		«14» 12 2017 г.

1. Цель.

Устанавливает порядок фасовки спорowego материала представителей рода *Bacillus*.

2. Область применения.

Данная стандартная операционная процедура применяется при фасовке подготовленного спорowego материала бациллярной микрофлоры при ее депонировании в Государственную коллекцию микроорганизмов или плановом переосвежении.

3. Распределение ответственности.

Ответственность за координацию работ, регламентированных настоящей СОП, несет начальник отдела Государственной коллекции микроорганизмов.

Ответственность за реализацию работ, регламентированных настоящей СОП, несут сотрудники, прошедшие обучение по фасовке в ампулы приготовленного спорowego материала представителей рода *Bacillus*.

Фасовку спорowego материала осуществляют научные сотрудники, имеющие высшее ветеринарное, биологическое или медицинское образование, прошедшие обучение на специализированных курсах по работе с микроорганизмами II-IV групп патогенности, сдавшие зачет по биологической безопасности и допущенные к работам приказом директора ФГБНУ ФИЦВиМ.

Техническое обеспечение работ (стерилизация и обеззараживание посуды, инструментов, подготовка боксовых помещений, приготовление дезинфицирующих растворов) проводят лаборанты-исследователи, прошедшие обучение работе с сосудами, работающими под давлением.

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01
Название:	Ампулирование спорowego материала представителей рода <i>Bacillus</i>	Страница 2 из 7

4. Требования безопасности

4.1. Работу проводят согласно требованиям СП 1.3.3118-13 и СП 1.3.2322-08;

4.2. Безопасность труда при работе с биологическими объектами должна соответствовать требованиям ГОСТ 12.1.008;

4.3. Соблюдение ветеринарно-санитарного режима должно соответствовать СОП ОО 00069.

4.4. Соблюдение техники безопасности должно соответствовать Инструкции по охране труда для сотрудников подразделений ГНУ ВНИИВВиМ.

5. Процедура

5.1. Общие положения

5.1.1. Все работы по фасовке культур микроорганизмов (возбудителя сибирской язвы) II группы опасности проводят в боксах микробиологической безопасности II класса (тип 2А) с соблюдением принципа парности. Отпайку ампул проводят в боксированных помещениях, аттестованных под работу с микроорганизмами II группы опасности.

5.1.2. Подготовку боксового помещения, в котором проводятся работы с ПБА, проводят до начала работ, обеззараживание - по их окончании в соответствии с требованиями Инструкции по соблюдению требований ветеринарно-санитарного режима и противоэпидемической безопасности в подразделении.

5.1.3. Перед проведением работ со спорообразующей микрофлорой готовят рабочий (6%) и аварийный (10%) растворы перекиси водорода по СОП АД-00011. Минимальный срок годности растворов перекиси водорода 2 суток. При удовлетворительных результатах контроля концентрации АДВ с помощью химических индикаторов срок годности растворов перекиси водорода может быть продлен.

Контроль концентрации АДВ в рабочих и аварийных растворах проводят при помощи химических индикаторов серии ДЕЗИКОНТ-ПЕРЕКИСЬ.

5.2. Оборудование и инвентарь:

- ведро;
- ветошь для мытья пола – 1 м;
- воронка полимерная диаметром 100 мм – 1 шт;
- горелка газовая ГОСТ 21204 – 1 шт;
- компрессор передвижной электрический – 1 шт;
- стерилизатор паровой автоматический ВКА-75 «ПЗ»;
- стерилизатор огневой – 1 шт;
- холодильник бытовой «Атлант» (с температурой рабочей камеры плюс

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга	
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01	
Название:	Ампулирование спорowego материала представителей рода <i>Bacillus</i>		Страница 3 из 7

4°С);

- швабра;
- шкаф ламинарного вертикального потока (БМБ);
- шприц непрерывного действия – 1 шт;
- штатив для лабораторных изделий – 1 шт;
- шкаф сушильный ШС-80-01 СПУ(+350°С);
- плита газовая.

5.3. Сырье и материалы:

- ампулы ШПР 3 – 5 см³ – 20 шт;
- бумага пергаментная, ГОСТ 1341-84 – 50 г;
- бумага фильтровальная лабораторная, ГОСТ 12026-76 -10 г;
- вата гигроскопическая по ГОСТ 5556 – 0,1 кг;
- ёмкость для общелабораторного применения – 1 шт;
- зажим для пакета для деструкции – 1 шт;
- индикатор МедИс-132/20 – 5 шт;
- комбинезон защитный противочумный одноразовый – 2 шт;
- корнцанг – 1 шт;
- маркер перманентный – 1 шт;
- маски медицинские (12-ти слойные) – 2 шт;
- мыло антибактериальное жидкое – 50 см³;
- очки защитные – 2 шт;
- перекись водорода 33%-ная - 1 кг;
- пакет для деструкции – 1 шт;
- перчатки латексные медицинские двукратного хлорирования – 2 пары;
- полотенце бумажное рулонное – 1 шт;
- порошок стиральный «Зифа» - 0,1 кг;
- спирт этиловый по ГОСТ Р 51652 – 100 см³;
- спички ГОСТ 1820-2001 - 1 кор;
- халат медицинский ГОСТ 24760-81 - 2 шт.
- химический индикатор серии ДЕЗИКОНТ-ПЕРЕКИСЬ – 8 шт.;
- цилиндры измерительные ГОСТ 25336-82Е – 2 шт;

5.4. Подготовка боксовых помещений и посуды к работе

Подготовку боксовых помещений к работе проводят по СОП АД-00003. Учет ресурса работы бактерицидных ламп, замеров показателей микроклимата в лабораторных помещениях, проведения текущих и генеральных уборок регистрируют в журналах соответствующих форм (Журнал учета работы бактерицидных облучателей, Журнал учета проведения текущих и генеральных уборок, Журнал приготовления дезрастворов, Журнал учета температуры и влажности в боксовых помещениях). Подготовку посуды к работе проводят по СОП АД 00167.

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга	
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01	
Название:	Ампулирование спорового материала представителей рода <i>Bacillus</i>	Страница 4 из 7	

5.5. Ампулирование спорового материала

Фасовку спорового материала производят в ампулы из нейтрального стекла для шприцевого наполнения с пережимом и раструбом (ШПР) объемом 5 или 3 см³. Подготовку стерильных ампул проводят по СОП НТ-00166.

Процедура ампулирования состоит из наполнения ампул споровым материалом, запайки ампул и проверки качества.

Наполнение ампул производят шприцевым способом при помощи дозатора или шприца. В каждую ампулу наливают по 1,0 см³ спорового материала с точностью дозирования ($\pm 2\%$). Для предотвращения контаминации спорового материала в раструб ампулы помещают стерильную вату.

Запайку ампул с использованием газовой горелки проводят способом оттяжки капилляра: у капилляра ампулы отпайвают с оттяжкой часть капилляра и в процессе отпайки запаивают ампулу. Для равномерного разогрева капилляра ампулу при запайке вращают.

Для приготовления газо-воздушной смеси при запайке ампул используют компрессор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации.

По окончании процедуры запайки ампулы просматривают на предмет нарушения их целостности и герметичности. Ампулы с нарушением целостности (непропаянный конец, микротрещины) отбраковывают (сбрасывают в емкость с 6%-ной перекисью водорода). Ампулы погружают в емкость с 6%-ным раствором перекиси водорода для обеззараживания на 15 мин. По окончании обеззараживания ампулы высушивают на фильтровальной бумаге и для предотвращения образования микротрещин концы отпаянных ампул опускают в расплавленный парафин. Три ампулы оставляют для контроля качества, а остальные ампулы маркируют при помощи перманентного маркера и помещают в коробки с разделительными перегородками, на которых должны быть указаны наименование микроорганизма, его условное обозначение, количество ампул, дата фасовки в ампулы. Коробки укладывают сначала в полиэтиленовый пакет, затем в металлический контейнер и помещают в холодильник для хранения ПБА с температурой $(2\pm 4)^{\circ}\text{C}$.

5.6. Обеззараживание посуды и одежды

Отбракованные и предварительно обезвреженные в перекиси водорода ампулы, флаконы из под споровых суспензий помещают в биксы для стерилизации. Использованные защитные противочумные комбинезоны, перчатки, маски медицинские предварительно обеззараженные в перекиси водорода (6%, 15 мин), помещают в пакет для деструкции, который перекрывают зажимом. Заполненные пакеты для деструкции и биксы для стерилизации помещают в стерилизатор паровой и автоклавируют в течение 2 часов при $(132 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ (2 кгс/см^2). Для контроля работы стерилизатора парового производят закладку термохимических тестов МедИС-132/20 в соответствии с

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01
Название:	Ампулирование спорового материала представителей рода <i>Bacillus</i>	Страница 5 из 7

«Методическими указаниями по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов» №15/6-5 от 28.02.1991 г.

Шприц непрерывного действия разбирают помещают в стерилизатор огневой с дистиллированной водой и перекисью водорода (до конечной концентрации 3%) и кипятят в течение газа.

5.7. Заполнение учетных форм

Все манипуляции, производимые с ПБА II группы опасности, должны в обязательном порядке регистрироваться в журналах по формам 514/у и 520/у.

6. Термины и определения.

Ампулы - тонкостенные контейнеры, которые после наполнения укупориваются запаиванием стекла.

Ампулирование - наполнение ампул суспензией спор представителей рода *Bacillus*.

7. Сокращения.

- 7.1. АДВ – активное действующее вещество;
- 7.2. ПБА – патогенные биологические агенты;
- 7.3. СОП - стандартная операционная процедура
- 7.4. ФГБНУ ФИЦВиМ – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии»

8. Ссылки или источники.

8.1. Методические указания по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов» №15/6-5 от 28.02.1991 г.

8.2. СП 1.3.3118-13 - "Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)".

8.3. СП 1.3.2322-08 - "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)".

8.4. ГОСТ 12.1.008 - Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Биологическая безопасность. Общие требования.

8.5. СОП АД - 00003- «Подготовка производственных помещений к работе. Уборка помещений класса чистоты С и Д».

8.6. СОП АД – 00167 - «Подготовка посуды к работе».

8.7. СОП НТ-00166 - Подготовка стерильных ампул и флаконов.

8.8. СОП АД - 00018- «Правила поведения персонала в помещениях С и Д классов чистоты».

8.9. СОП ВС 00069 - «Инструкция по ветеринарно-санитарному режиму и технике безопасности при работе в боксах».

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01
Название:	Ампулирование спорового материала представителей рода <i>Bacillus</i>	Страница 6 из 7

8.10. СОП АД-00011 Приготовление дезинфицирующих растворов перекиси водорода с добавлением (или без) моющих средств.

9. Приложения.

9.1. Лист ознакомления с требованиями СОП

10. История внесения изменений.

Отсутствует.

ФГБНУ ФИЦВиМ		Лаборатория Диагностики и Мониторинга	
СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА (СОП)		СОП 00583-01	
Название:	Ампулирование спорowego материала представителей рода Bacillus		Страница 7 из 7

Приложение 1

Лист ознакомления с требованиями СОП

№ п/п	Должность	ФИО	Подпись	Дата