Rus-LASA
АССОЦИАЦИЯ
СПЕЦИАЛИСТОВ ПО
ЛАБОРАТОРНЫМ
ЖИВОТНЫМ

MITOTECH
SKQ

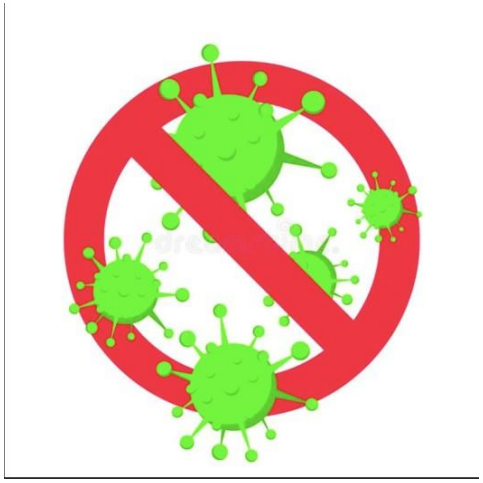
МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени
М.В.ЛОМОНОСОВА

Деконтаминация в современном виварии

Кушнир Е.А., к.б.н.,
руководитель ООК ИЦ ВЭК

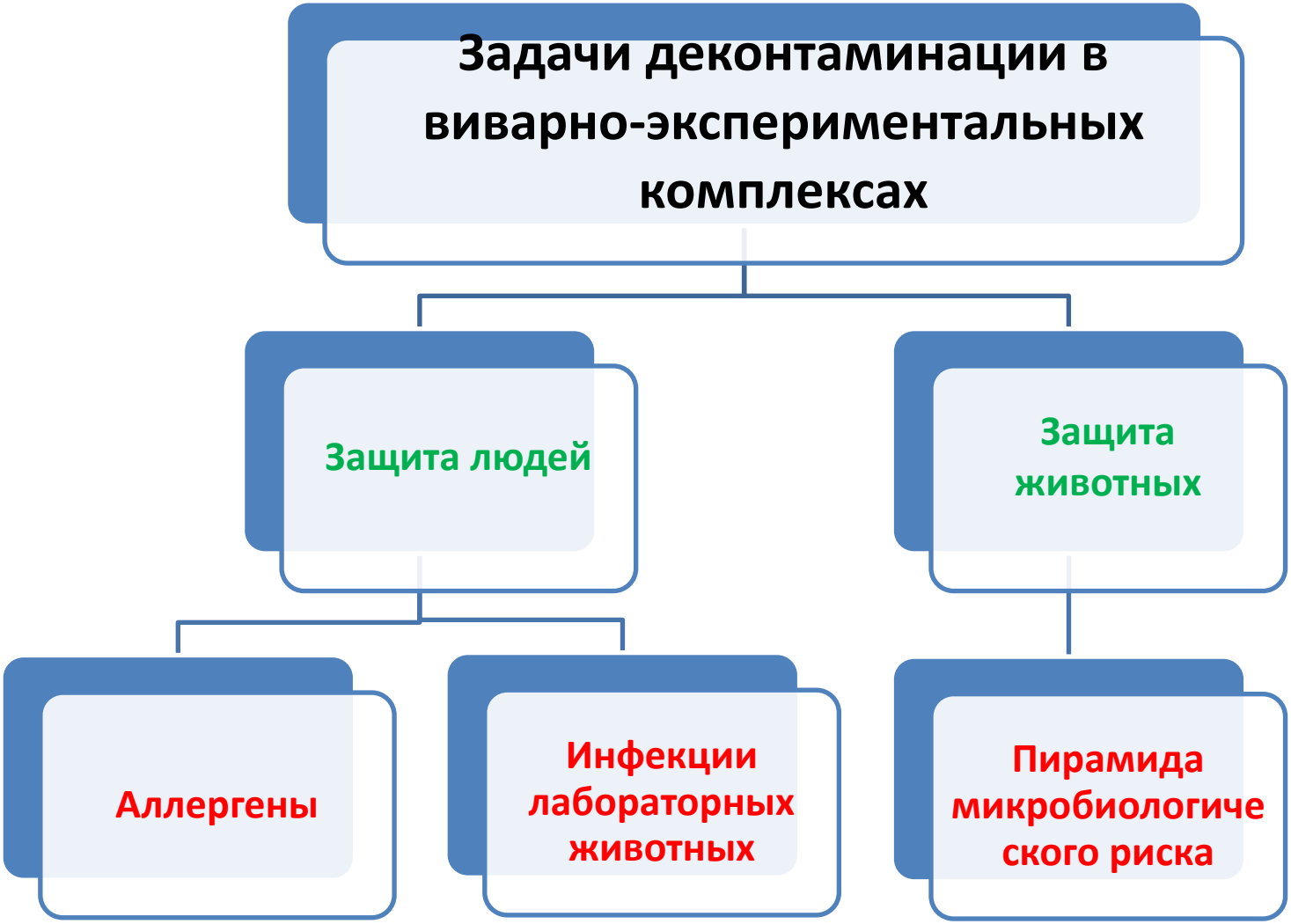
Деконтаминация

совокупность процедур по удалению видимых и предполагаемых загрязнений, делающая предметы бактериологически безопасными в обращении и хранении



Очистка+Дезинфекция+Стерилизация+ превентивные меры

Деконтаминация в виварии



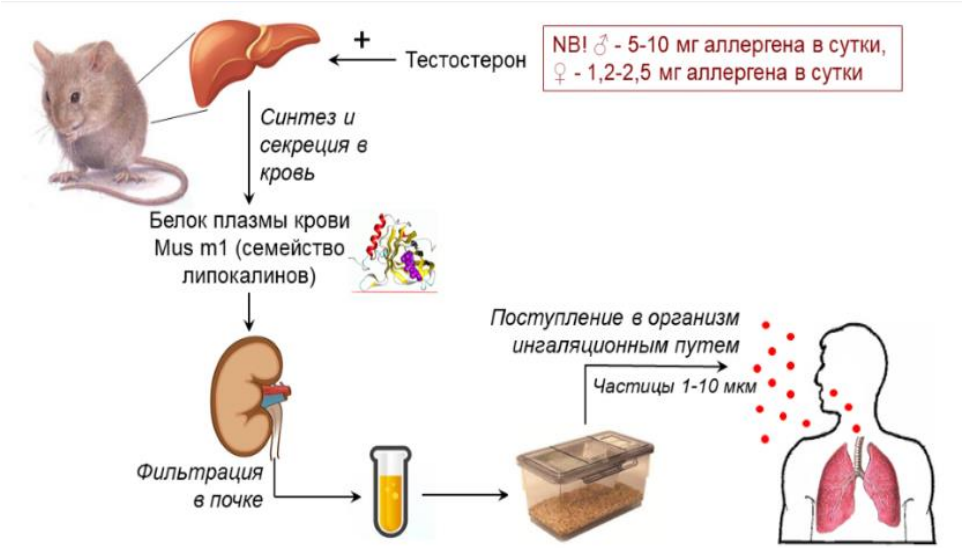
Деконтаминация в виварии

Цели деконтаминации в виварно-экспериментальных комплексах

Защита людей

Аллергены

Аллергические реакции при работе в виварии



✓***Неспецифическая реакция*** на: пыль от корма и подстила, дезинфектанты

✓***Специфическая:*** аллергены семейства липокалинов

Специфические аллергены грызунов:

•Выделяются с ***мочой*** (у мышей и морских свинок) и со ***слюной*** (у крыс).

•Определенное количество липокалинов содержится также в ***слущенном эпидермисе***.

•Выделения грызунов сорбируется на ***подстилочном материале.***

•***Перекрестная реактивность к аллергенам животных другого вида*** даже при отсутствии предшествующего контакта с ними

•*Васютина МЛ, Бреднева ОГ, Иванова СА, Салминьш ДА, Галагудза ММ. Аллергия на лабораторных грызунов: недооцененная проблема. Лабораторные животные для научных исследований. 2019;(4):1.*

Симптомы аллергии и распространенность

Поражают организм человека при вдыхании, вызывают реакцию гиперчувствительности:

•**заложенность носа, насморк, чихание, зуд в глазах, астма, различные кожные проявления** (покраснение, зуд и шелушение кожи, крапивница).

✓*у 10% развивается развернутая картина клинически выраженной формы аллергии*

✓*У 15% работников вивариев обнаруживаются специфические IgE*

✓*у 17% отмечаются отдельные симптомы аллергии и признаки сенсибилизации*

✓ *у 25% отмечаются клинические симптомы, но отсутствуют специфические антитела*

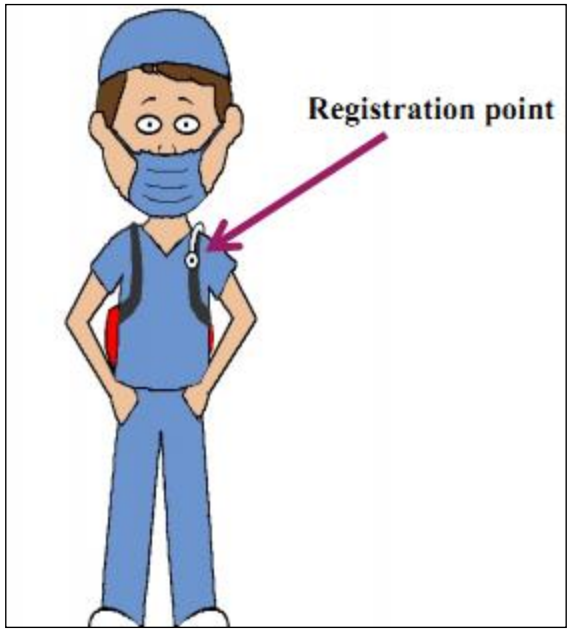
•Наиболее высок риск аллергии у работников, контактирующих с ***самцами мышей*** (взрослые самцы мышей выделяют 5–10 мг аллергенного белка с мочой в день, самки в 4 раза меньше)

•У работающих с лабораторными животными обнаружены значительно более ***высокие уровни аллергенов в материале домашних подушек и матрасов***, чем у людей других профессий.

Krop E.J., Doekes G., Stone M.J., Aalberse R.C., van der Zee J.S. Spreading of occupational allergens: laboratory animal allergens on hair-covering caps and in mattress dust of laboratory animal workers. Occup Environ Med. 2007; 64 (4):267–72.

Контроль за аллергенами животного происхождения

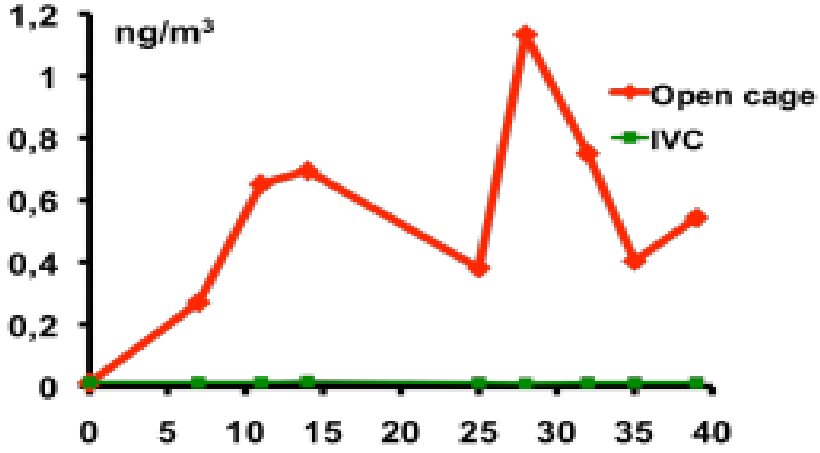
Открытые клетки



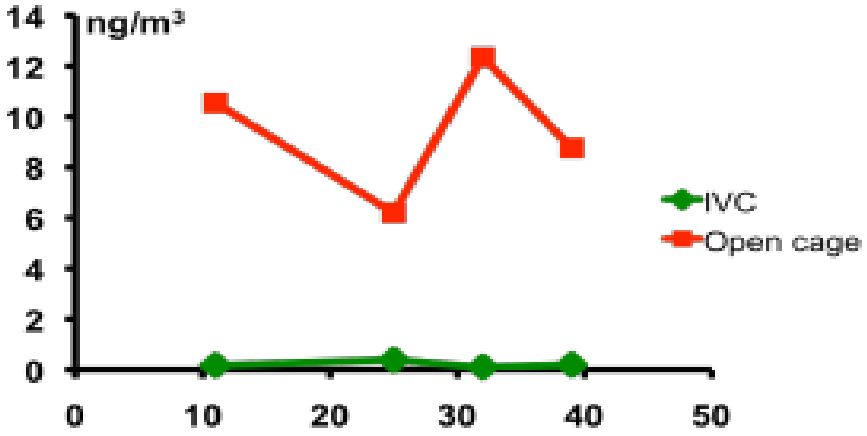
ИВК

крысы SD 600 г

Аллергены в комнате



Аллергены на одежде лаборанта



Контроль за аллергенами животного происхождения

Ограничение распространения аллергенов:

✓Содержание животных в ***ИВК***

✓***Не выносить в открытом виде*** за пределы помещений содержания животных, манипуляционных, операционной, секционной, МБ одежду/подстил/любые предметы, контактировавшие с животными.

✓Хранение использованной одежды, контактировавшей с аллергенами животного происхождения ***в пакетах, з***агрузка в стиральную машину – ***в респираторе***

Меры безопасности:

✓Работа с животными ***в респираторе /маске, защитной одежде в любых помещениях***

✓Работа с грязным клеточным оборудованием – ***в респираторе, халате/комбинезоне, шапочке, перчатках***

✓***Сброс подстила на станциях, оборудованных вытяжным устройством***

✓Высокий уровень воздухообмена в помещениях для работы с грязными материалами, работа ***в полнолицевой маске с респиратором***

✓***Регулярная деконтаминация помещений и оборудования***

Деконтаминация в виварии

Цели деконтаминации в виварно-экспериментальных комплексах

Защита людей

Инфекции=

Зооантропонозы

Расширенный список зооантропонозов грызунов и кроликов

Заболевание	Природа возбудителя	Потенциальные носители	Симптомы
Лимфоцитарный хориоменингит	Вирус *Lymphocytic choriomeningitis virus*	Мыши, морские свинки, хомяки	**+/-**
Хантаан	Вирус *Hantavirus*	Крысы	**-**
Лихорадка укуса крысы	Группа неспецифических гнойно-воспалительных заболеваний, *Streptococcus pyogenes, staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Streptobacillus moniliformis etc*	Крысы, мыши, морские свинки	**-**
Йерсениоз (псевдотуберкулез)	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	**+/-**
Стрептококкоз	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	**+**
Лептоспироз	Бактерия	Мыши, крысы	**+**
Листериоз	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	**+/-**
Сальмонеллез	Бактерия *Salmonella spp*	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	**+/-**
Столбняк	Бактерия *Clostridium tetani*	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	**+**

Расширенный список зооантропонозов грызунов и кроликов

Заболевание	Природа возбудителя	Потенциальные носители	Симптомы
Ботулизм	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	+
Туляремия	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	+/-
Пастереллез	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	+/-
Кампилобактериоз, виброз	Бактерия	Мыши, крысы, хомяки, кролики	-
Хламидиоз	Внутриклеточная бактерия	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики	+/-
Микоплазмоз	Внутриклеточный паразит	Мыши, крысы, хомяки, морские свинки	+/-
Стригущий лишай	Грибы	Мыши, крысы, морские свинки, кролики	+
Гименолепсиаз	Гельминты	Мыши, крысы, хомяки	+/-

Зооантропонозы лабораторных животных

заболевания, передающиеся от животных человеку или от человека другим животным

Возбудитель	заболевание	передача	симптомы	смертность
S.enteridis S.Typhimurium	Сальмонеллез (паратиф)	Фекально-оральный	Интоксикация, поражение ЖКТ	1 -2 %
S.Moniliformis	Стрептобациллез (*хейверхиллская лихорадка)*	укус	Лихорадка, полиартрит, сыпь, интоксикация	10%
Hantaan	Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС)	Алиментарный, контактный, аэрогенный	Лихорадка, отек легких, геморрагическая сыпь, полиурия	1 -3 %
LCMV	Лимфоцитарный хориоменингит	Контактный	Рвота, головные боли, высокая температура	

Ornithonyssus bacoti

Hymenolepis nana, карликовый цепень

Наиболее опасные для вивария микроорганизмы

Микроорганизм (потенциальное несоответствие) Microorganism (potential inconsistency)	ПЧР (мониторинг здоровья животных) RPN (animal health monitoring)	ПЧР (мониторинг чистоты поверхностей) RPN (surface cleanliness monitoring)	ПЧР (здоровье персонала) RPN (personnel health)	Сумма Total
Pasteurella pneumotropica	12	2	24	38
Pasteurella multocida	12	2	32	46
Pseudomonas aeruginosa	9	8	36	53
Salmonella spp.	32	16	36	84
Clostridium perfringens	9	4	27	40
Corynebacterium spp.	9	12	24	45
Escherichia coli	36	12	18	66
Yersinia pseudotuberculosis	12	2	32	46
Staphylococcus spp.	36	24	18	78
Brucella canis	25	4	3	32
Klebsiella pneumoniae	18	4	30	52

Бондарева ЕД, Боровкова КЕ, Макарова МН. Риск-ориентированный подход к оценке санитарного благополучия вивария и питомника, здоровья лабораторных животных и человека. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020;10(4):257–266. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-257-266

Микробиологические стандарты здоровья животных. Грызуны SPF категории

TACONIC
Models For Life.

TACONIC » QUALITY » ANIMAL HEALTH » HEALTH STANDARDS

QUALITY

HEALTH REPORTS

ANIMAL HEALTH

- Husbandry Methods
- Health Standards
  - Health Standard Selector
  - A Brief Overview of Taconic Health Standards
- IHMS™ Testing Program
- Selection of Animals
- Response to Findings
- Segmented Filamentous Bacteria

GENETIC INTEGRITY

ANIMAL DIET

KEY PERFORMANCE INDICATORS

HEALTH STANDARDS

GERM FREE (GF)
- Axenic
- Free of all microorganisms

EXCLUDED FLORA (EF)
- Free of rodent pathogens and opportunists excluded at OF
- Additionally excluded Segmented Filamentous Bacteria (SFB), a normal commensal shown to impact immune system development

RESTRICTED FLORA™ (RF™)
- Free of rodent pathogens plus the opportunists *Klebsiella oxytoca* and *K. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Beta hemolytic *Streptococcus* (non Group D), and *Pasteurella multocida*

DEFINED FLORA (DF)
- Only permitted microorganisms are Altered Schaedler Flora, dimorphic yeast, mold, aerobic spore forming bacteria, and anaerobic spore forming bacteria
- No excluded pathogens are allowed
- All organisms in isolator are known

OPPORTUNIST FREE™ (OF™)
- Free of rodent pathogens plus the opportunists *Klebsiella oxytoca* and *K. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Beta hemolytic *Streptococcus* (non Group D), *Pasteurella multocida*, and Proteus species

MURINE PATHOGEN FREE™ (MPF™)
- Free of rodent pathogens
- Appropriate for many types of experiments and may be preferred for certain immunological studies

» Use the **health standard selector** to easily determine which Taconic Biosciences health standards meet your exclusion list.

https://www.taconic.com/quality/animal-health/health-standards/

Деконтаминация в виварии

Цели деконтаминации в виварно-экспериментальных комплексах

Защита животных

Пирамида микробиологического риска

Пирамида микробиологических рисков для вивария

Пирамида микробиологических рисков для вивария

Входной контроль микробиологического статуса животных

- Запрос информации о микробиологическом статусе лабораторных животных при выборе питомника
- Заказ животных из проверенных, сертифицированных питомников
- Специализированные контейнеры

для транспортировки животных

- Проверка документации при приеме (сертификат здоровья)
- Карантин
- Входной микробиологический мониторнг?
- Редеривация?

ГОСТ 33215 – 2014. ***РУКОВОДСТВО ПО СОДЕРЖАНИЮ И УХОДУ ЗА ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ. Правила оборудования помещений и организации процедур***

19

Пирамида микробиологических рисков для вивария

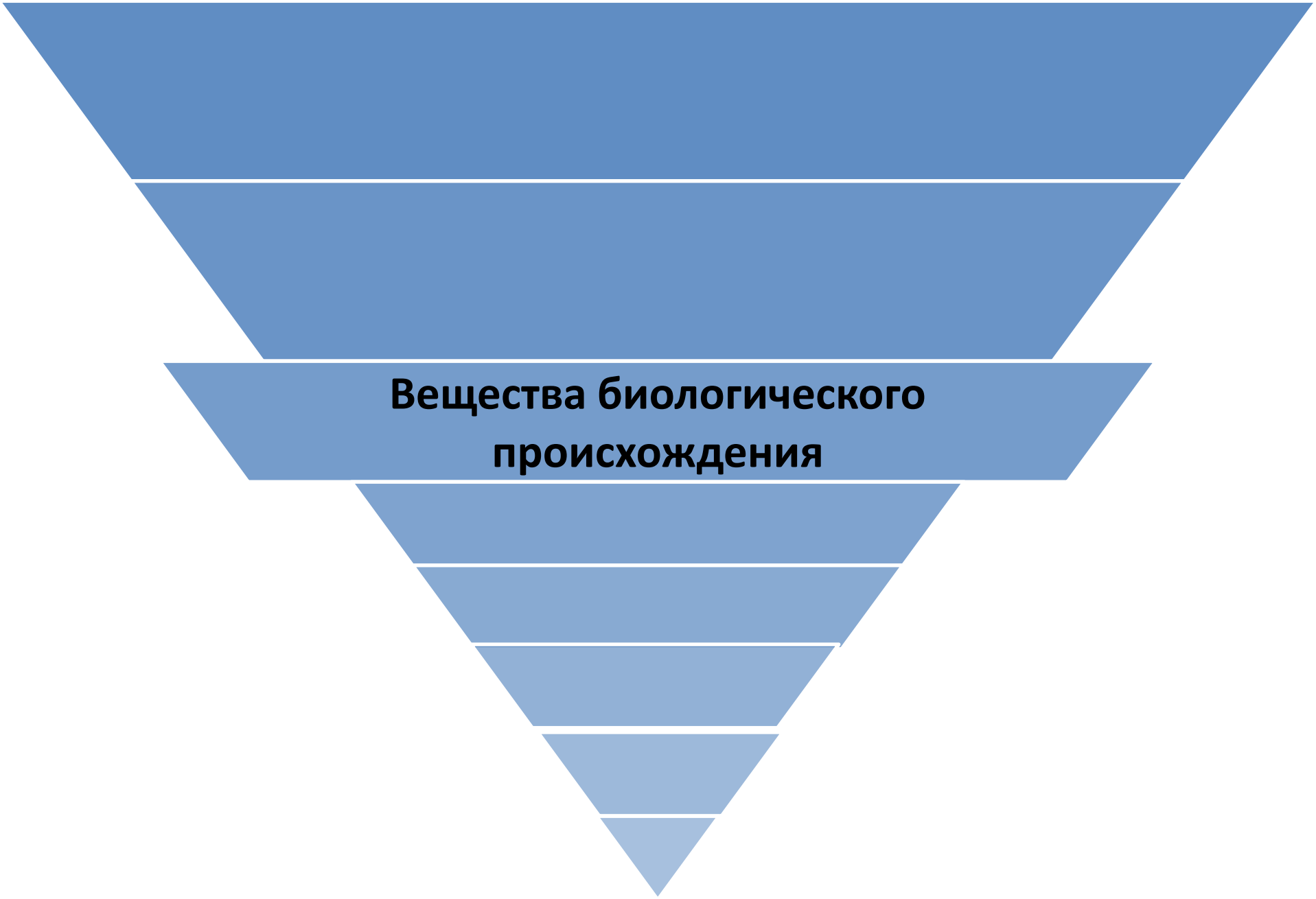
Дикие насекомые и грызуны

- Запрет на открывание окон в виварии
- Защита помещений тамбурами
- Герметизация вытяжек, стоков
- Системы детекции вредителей
- Дератизация и дезинсекция (размещение приманок, ловушек и проч. средств в тамбурных помещениях):

✓ Ежемесячная проверка приманки от грызунов,

✓ при необходимости – замена или увеличение количества приманки, меры истребительной дезинсекции (распыление растворов инсектицидов)

Пирамида микробиологических рисков для вивария



Чистота исследуемых субстанций биологического характера

- Наличие документации на исследуемое вещество

(стабильность, стерильность и проч.)

- Посев на ОМЧ
- Анализ ПЦР на наличие вирусов
- Стерилизующая фильтрация

- Разведение аликвот/ дозирование стерильно:

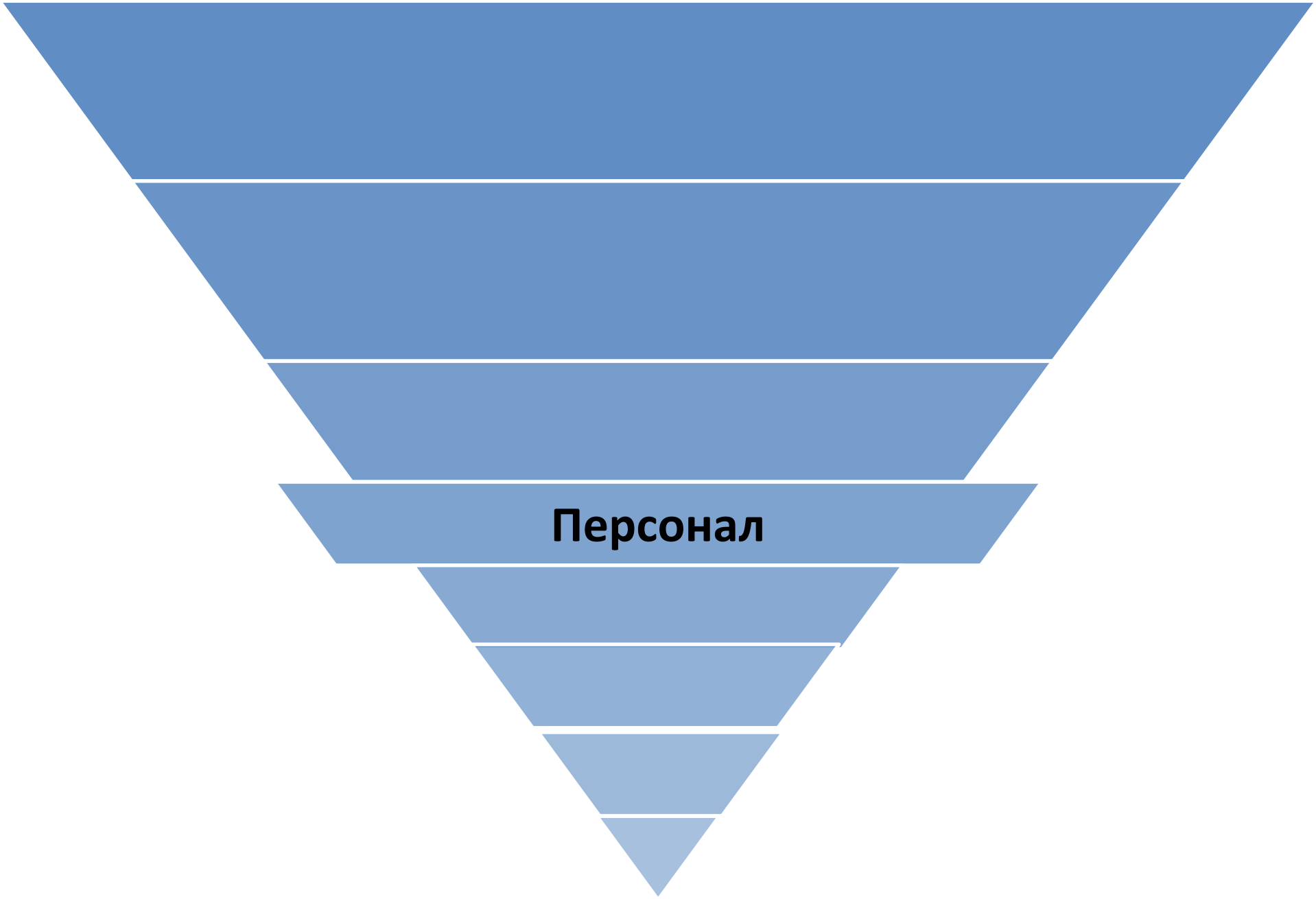
✓ ламинарный шкаф,

✓ маска, стерильные перчатки,

- Розлив в стерильные эппендорфы,
- Введение животным стерильными одноразовыми шприцами/одноразовыми наконечниками на семплерную пипетку

При исследовании ксенотрансплантатов опухолей человека на мышах обязательно тестирование образцов опухолей как на болезни грызунов, так и на наличие патогенов человека (ВИЧ)!

Пирамида микробиологических рисков для вивария



Гигиена труда персонала

❑Контроль за состоянием здоровья сотрудников: ***ежегодный медосмотр***

❑Предотвращение кросс-контаминации:

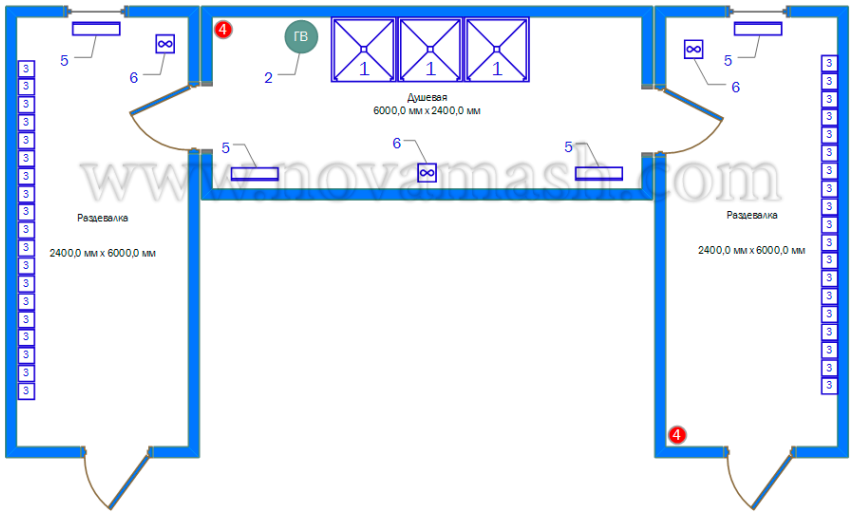
2х-дневный карантин после контактов с грызунами из другой микробиологической единицы

❑Меры гигиены:

✓***Спецодежда (СИЗ)*** для работы с животными

✓Поддержание ***чистоты рук***

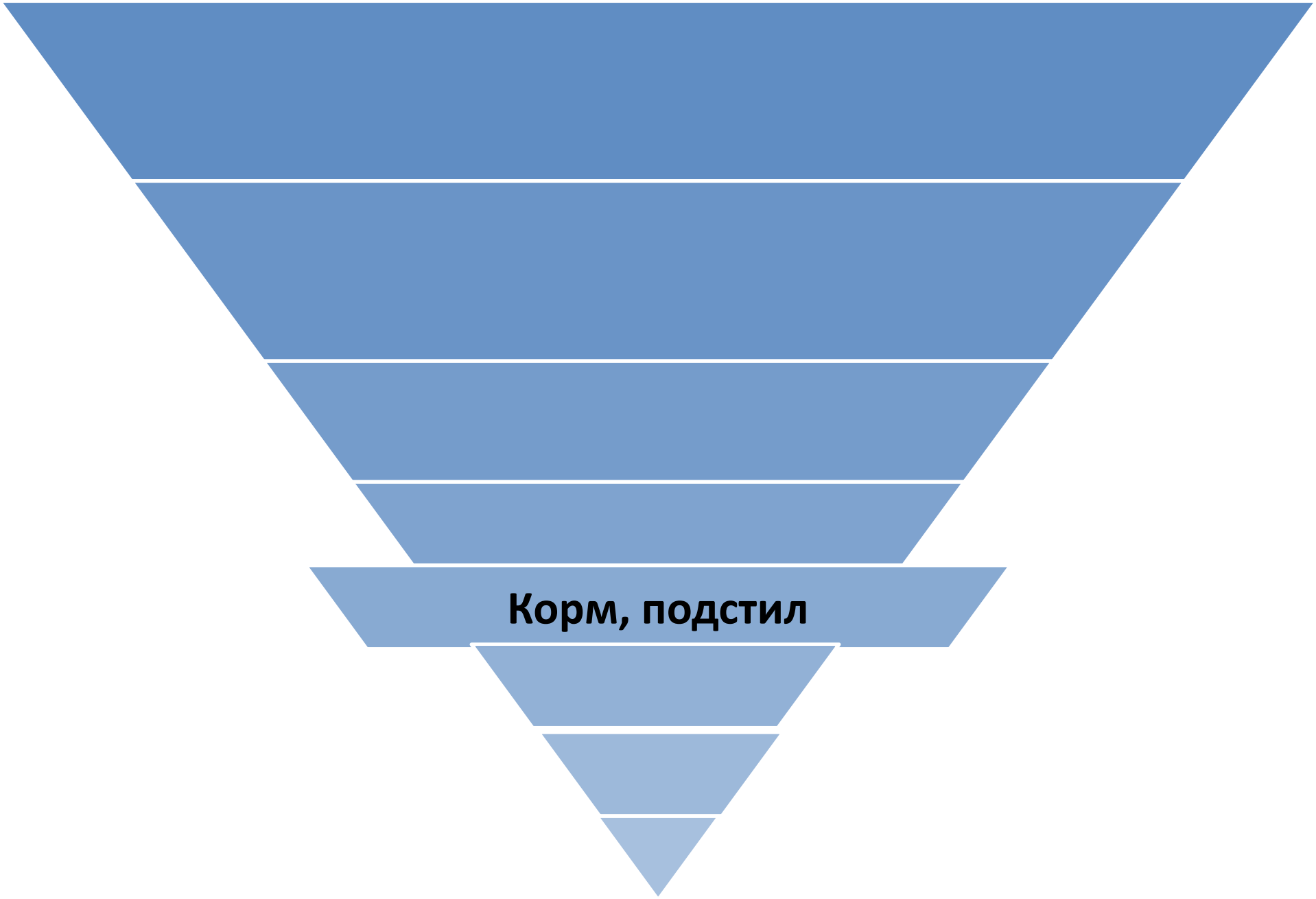
✓***Санпропускник*** (влажный и сухой душ)



Деконтаминация сотрудников

- **Поддержание SPF статуса:** Переодевание, дезинфекция рук и прочие санитарные меры на входе в зону содержания в санпропускнике
- **Контроль за аллергенами:** переодевание в санпропускнике при выходе из зоны содержания животных
- **Работа с патогенами :** деконтаминация в санпропускнике при выходе

Пирамида микробиологических рисков для вивария



Обеспечение микробиологической безопасности корма

❑***Закупка*** (надежный поставщик, наличие документов, микробиологческий контроль)

❑***Прием*** (целая упаковка с четкой маркировкой и сохранением срока годности)

❑***Хранение на складе*** (отдельно от дезинфектантов и прочих непищевых продуктов, на поддонах/полках/тележках, контроль параметров микроклимата (темнота, t 16-25 0 С, влажность 30-80%, соблюдение рекомендаций производителя по хранению)

❑***Деконтаминация:***

✓**Корм:**

•Стерилизованный (например, облученный гамма-излучением (доставка в двойной упаковке))

• Подлежащий стерилизации (автоклавируемый)

✓**Подстил:**

•Сухожаровая обработка (150-180ºС)

•Автоклавирование (134 ºС)

- Соблюдение времени для сушки в автоклаве
- Хранение либо в неповрежденных мешках, либо хорошо просушенным в контейнере под крышкой

Стерилизация

процесс, направленный на удаление и разрушение ВСЕХ вегетативных и споровых форм патогенных и непатогенных микроорганизмов, включая бактерии и их споры, грибы, вирионы, а также от прионного белка, находящихся на поверхностях, оборудовании, в корме и подстиле, испытуемом препарате и проч., до приемлемого уровня стерильности.

Метод	Принцип действия
Влажный жар – паровой стерилизатор (автоклав)	Физико-химический метод
Сухой жар – сухожаровой шкаф	Физико-химический метод
Радиационная стерилизация – ионизирующее (гамма) - излучение	Физико-химический метод
Стерилизующая фильтрация	Физико-химический метод
Этиленоксид – газовая стерилизация	Химический метод
Формальдегид – пары при низкой температуре	Химический (защелачивание)
•**Перекись водорода**, •O3 (плазма перекиси или **перекисный туман),** •Надуксусная кислота, • ClO2	Химический (окисление)

Паровая и сухожаровая стерилизация

- Сухожаровая стерилизация – при t 160 ^{0}C
- Паровая стерилизация - при t 121 ^{o}C и 134 ^{0}C

Паровой стерилизатор проходного типа

Мобильный/настольный паровой стерилизатор

Сухожаровой шкаф

Насыщенный пар при высокой температуре и повышенном давлении (в автоклаве) эффективнее уничтожает микроорганизмы, чем сухой жар той же температуры

Контроль за эффективностью паровой стерилизации

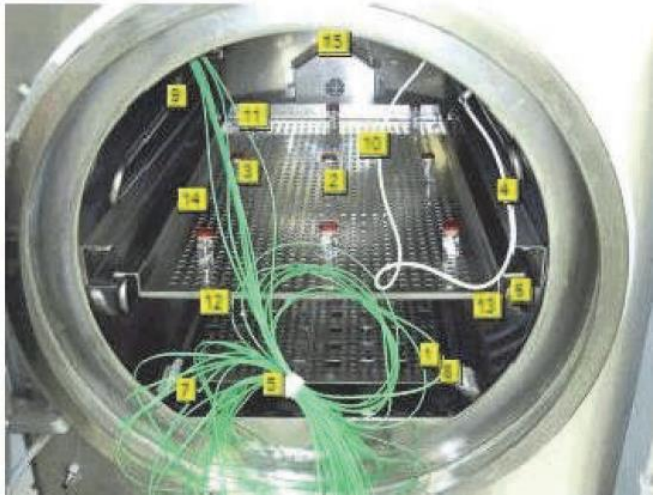
Качество паровой стерилизации зависит от:

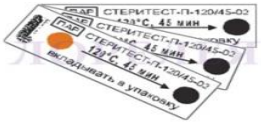
- ✓ Материала стерилизуемых объектов
- ✓ Количества загруженных объектов
- ✓ Распределения материалов в камере

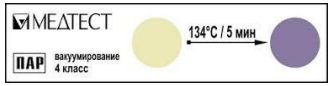
➢**Химические индикаторы**
при каждой загрузке: реагируют на критические переменные.
Для паровой стерилизации при температуре (121 ± 0,5) °С индикаторы должны достигать конечного состояния при времени воздействия водяного пара 16,5 мин или более.

➢**Свидетели стерилизации:**
контроль ошибки «было/не было в стерилизаторе»

Картирование камеры стерилизатора

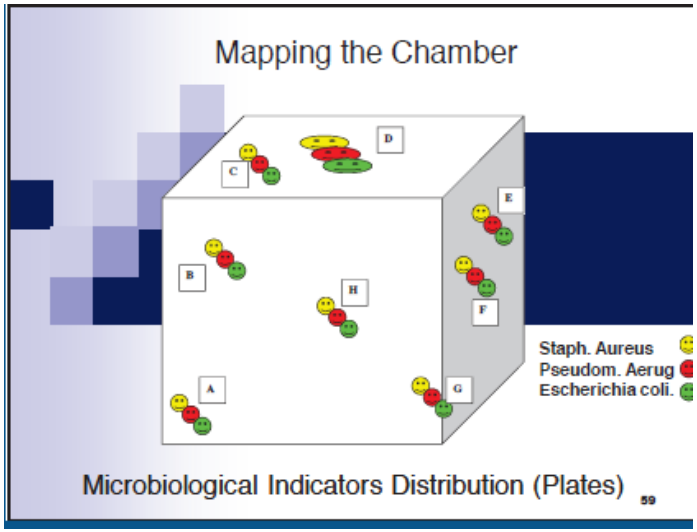






Контроль за эффективностью паровой стерилизации

➢**Микробиологические тесты** (1 раз в 3 месяца):
Гибель спор и вегетативных форм микроорганизмов в тестовом образце (1 раз в 3 месяца)



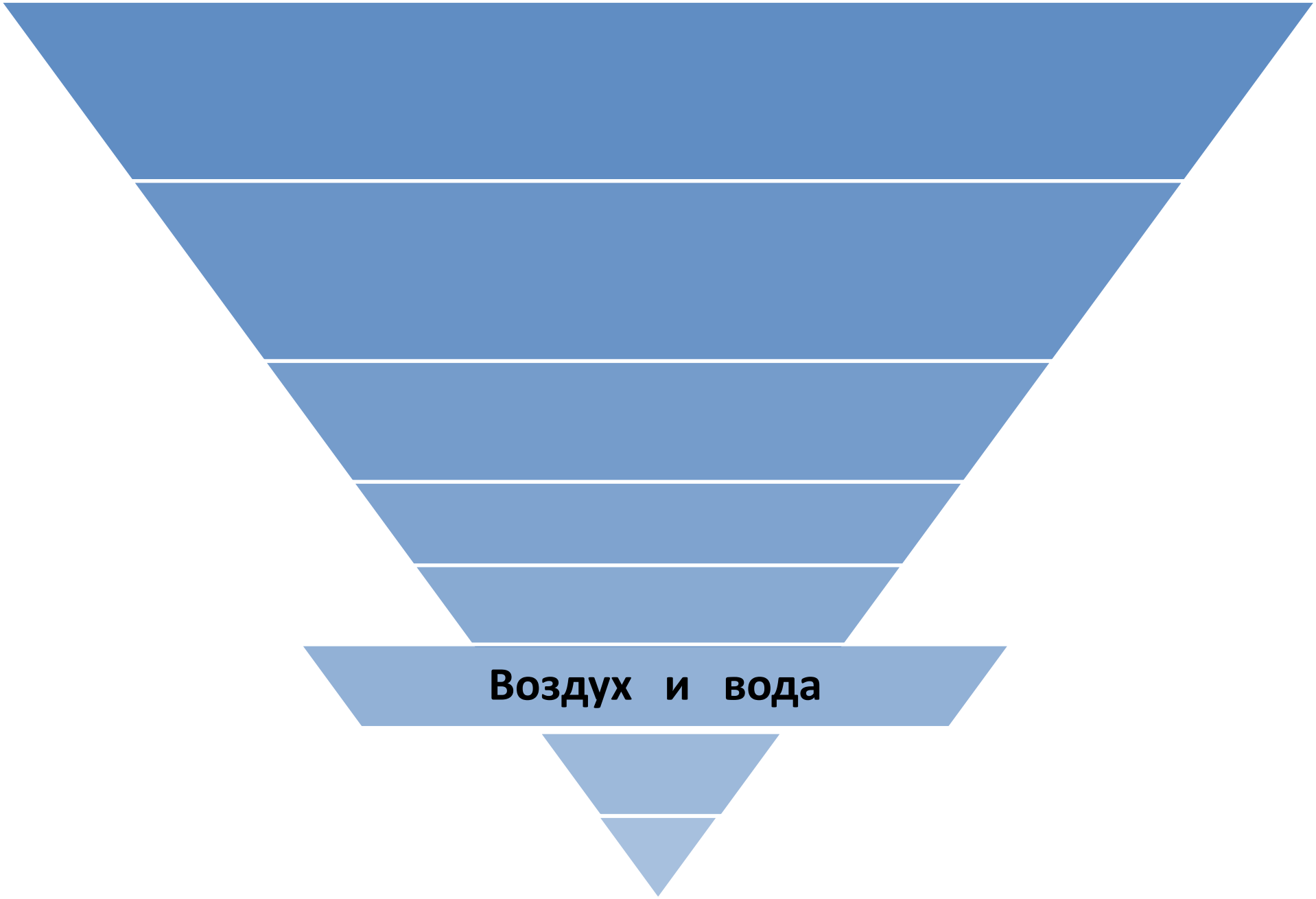
➢ **Физические тесты:**

•*<u>температурный</u>* (максимальным термометром 2-4 раза в месяц)

•контроль *<u>давления по манометру</u>*

•*<u>Боуи-Дика</u>* (тест на проникновение пара, 1 раз в 6 месяцев)

Пирамида микробиологических рисков для вивария



Микробиологическая безопасность воздуха

Деконтаминация и обеспечение чистоты воздуха:

- **Фильтрацией** на входе:

3 ступени очистки, фильтры EU 4-5, EU 7, EU13 (HEPA)

- **Избыточным давлением** в чистых помещениях
- **Использованием материалов, не генерирующих аэрозолей и легких частиц** при очистке (влажная уборка, нельзя подметать и использовать пылесос).
- **Применением спецодежды**, изолирующей персонал от окружающей среды и снижающей количество выделяемых персоналом частиц и микроорганизмов.
- **УФ** во всех критических помещениях, кроме помещений содержания животных

Контроль:

- **Отбор проб воздуха** аспирационным/седиментационнам методом, качественное определение патогенных бактерий
- **1 раз в год** после тотальной очистки и замены фильтров вентиляции + по мере необходимости (например, после изменения настроек)
- Периодическая оценка загрязняющих и вредных веществ (**уровня аммиака)** в помещениях содержания животных

Микробиологическая безопасность воды

Способы деконтаминации воды:

- **Хлорирование** (непригодно для животных)
- **Подкисление до pH-3**
- **Ионизирующее излучение**
- **УФ**
- **Автоклавирование**
- **Дистилляция**
- **(Ультра)фильтрация**
- **Обратный осмос**

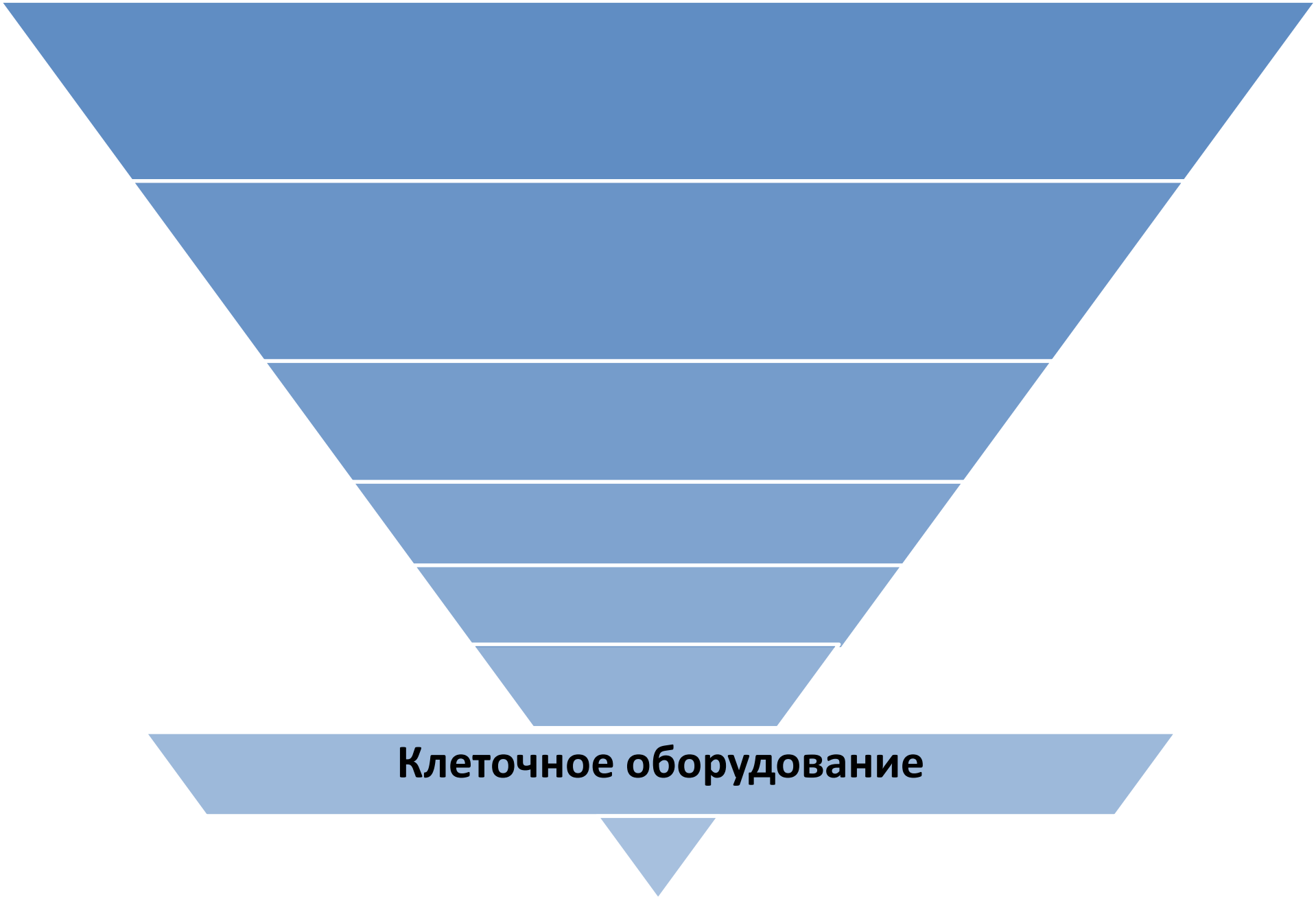
Контроль:

- **Химического состава**
- **Микробиологической чистоты** (в аккредитованной организации/внутренний микробиологический контроль)

При поении:

- ✓ **Заменяйте бутылки 1 раз в 3-7 суток!**
- ✓ **Воздержитесь от доливания воды и повторного использования поилки!**
- ✓ **Рекомендуется планировать замену, когда в поилках осталось менее 1/3 объема**

Пирамида микробиологических рисков для вивария



Деконтаминация клеточного оборудования для грызунов

Этап	Процесс	Особенности
Сброс подстила	*Грубая очистка клеток шпателем	Недопустимо применение абразивных средств!!!
Замачивание в щелочном растворе на 20 минут, очистка губкой	*Эффективно удаляет кровь, белок и пищевые остатки. С пластиков, лабораторного стекла, изделий из керамики и нержавеющей стали	Неприменимо для обработки алюминия, анодированного алюминия и других легких металлов
Проведение через кислотный раствор	*Нейтрализация щелочи кислотой	Нейтрализация должна быть полной, иначе вредит животным и клеткам-проверка индикаторами
Ополаскивание водопроводной водой	*Не менее 3х минут, для поилок – заполнение и сливание не мене 3х раз	Для удаления остатков кислоты
Ополаскивание обратноосмотической водой	При необходимости особого контроля за жесткостью воды	
Просушка	*Расположить на стеллажах в шахматном порядке клетки дном вверх, поилки горлышком вниз	Не допускать «прилипания к полке»
Контроль очистки	Визуальный осмотр , тесты на остаточные дез.средства, АТР-тест, смывы/посевы	
Паровая стерилизация	*121 С	Только полностью очищенные от остатков щелочи и чистые клетки!!!

**Процессы могут быть автоматизированы…*

Очистка

устранение загрязнений до степени, необходимой для дальнейшего использования предмета

Зачем?

- Загрязнения на поверхности предметов создают среду для последующего роста микроорганизмов (даже если вы стерилизуете этот предмет!)
- Механическая очистка снижает количество дезинфектанта, которое необходимо затратить, чтобы достичь желаемого уровня деконтаминации.

Как?

- Механическое удаление крупных частиц с поверхности, сухая очистка.
- Нанесение раствора или суспензии моющего средства на поверхности предметов для разрыхления слоев загрязнений и бактериальных пленок, сохранение моющего средства на поверхности в течение «времени экспозиции».
- Ополаскивание водой для удаления остатков загрязнений.

Во многих случаях после очистки необходима дезинфекция и последующее ополаскивание

Требования к клеткам для грызунов

Приложение А к Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) ETS N 123

«Клетки должны быть сделаны из материалов, **легко поддающихся чистке…»**

Материалы для ванночек клеток и металлические аксессуары:

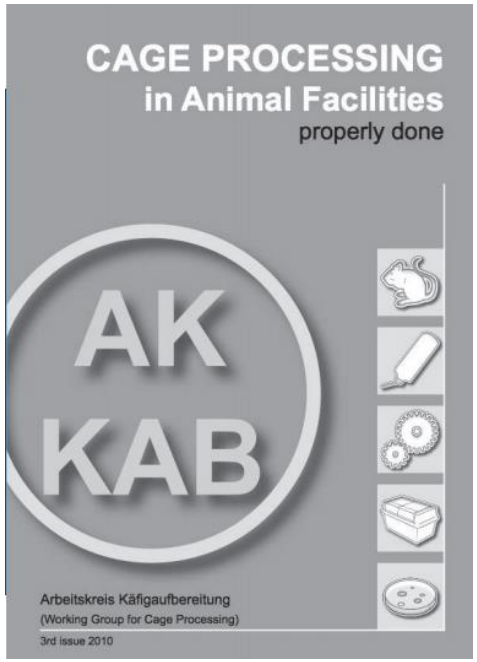
✓устойчивость к детергентам (щелочи/кислоты и др.)

✓твердость, резистентность к механическим воздействиям

✓устойчивость к повышению температуры

✓устойчивость к коррозии

https://youtu.be/Jn_gFELjHpQ



Пирамида микробиологических рисков для вивария

Контроль за исследовательским оборудованием

Обращение с новым оборудованием:

- ✓ Распаковка и деконтаминация (очистка+дезинфекция+стерилизация, если возможно) до передачи в помещения для работы с лабораторными животными

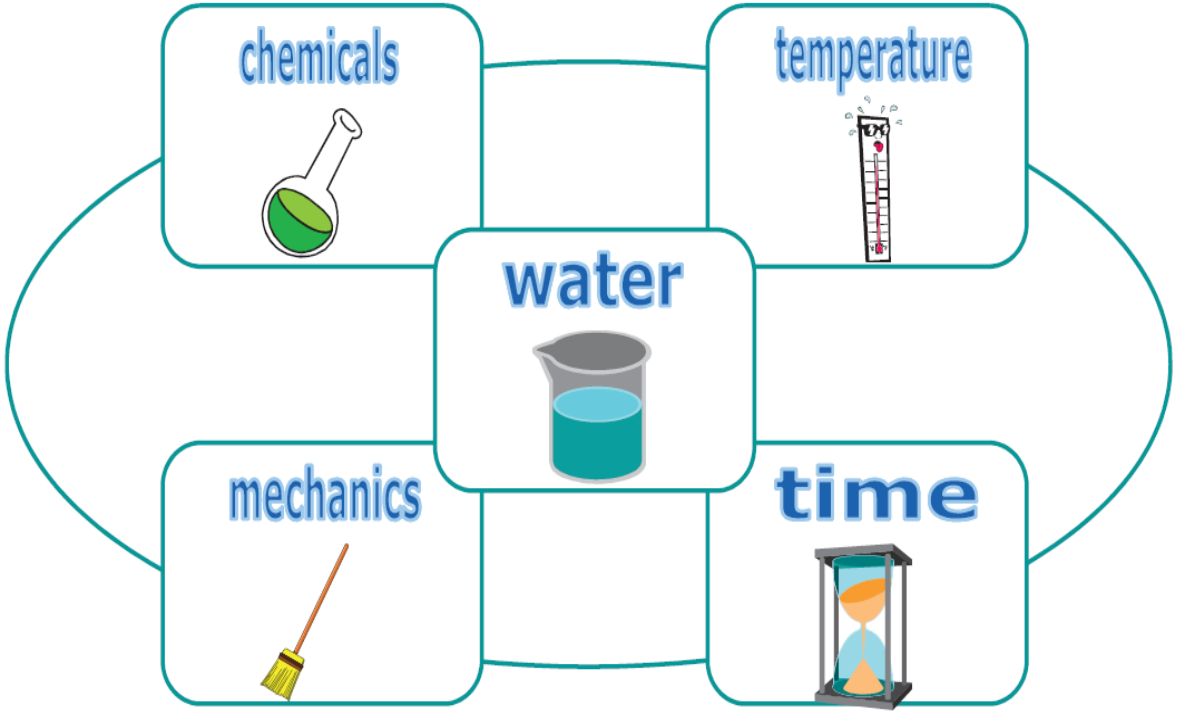
Обращение с бывшим в употреблении/оборудованием коллективного пользования:

- ✓ Высока вероятность кросс-контаминации, **поэтому оптимально использовать только новое оборудование и материалы!**
- ✓ **Б/у объекты; оборудование общего пользования между исследовательскими группами – деконтаминация с обязательным контролем микробиологической чистоты!**

Дезинфекция

процесс уничтожения микроорганизмов до уровня, безвредного для здоровья

- Проводится для уничтожения вредоносных микроорганизмов в случаях невозможности проведения стерилизации, например, для объектов, которые невозможно поместить в стерилизационные устройства: стены, пол, мебель, электронное оборудование, руки и т.д.
- Факторы, определяющие эффективность очистки и дезинфекции:



Эффективность дезинфектантов

Низкоэффективные:

- ✓ Разрушают все вегетативные формы бактерий (кроме бацилл туберкулеза), липидные вирусы, некоторые нелипидные вирусы, некоторые споры грибов, но НЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СПОРЫ

Среднего уровня эффективности:

- ✓ Разрушают все вегетативные формы бактерий, большинство спор бактерий, вирусы

Высокоэффективные:

- ✓ В достаточных концентрациях и при определенных условиях способны уничтожать и споры бактерий и все остальные микроорганизмы

- *Во избежание образования устойчивых форм патогенов начинать дезинфекцию рекомендуют с **низкоэффективных препаратов** или **низких концентраций дезинфектантов среднего уровня**.*
- *В случае необходимости (при угрозе или выявлении патогенных микроорганизмов) **повышать концентрацию или переходить на более эффективные**.*
- ***Ротация** дез.средств*

Спектр антимикробной активности дезинфектантов

	Бактерии		Грибы	Мико-бактерии	Вирусы		Споры
	Грам(+)	Грам(-)			Оболочечные	Безоболочечные	
Глутаровый альдегид							
Глиоксаль							
Спирты							
Фенолы							
ЧАС							
Гуанидины							
Тензиды							
Перекисные соединения							
Йод							
Хлор							
Третичные амины (алкиламины)							

Полная эффективность | Ограниченная эффективность | Отсутствие эффективности

C. "Disinfection and Disease Prevention in Medicine" Patrick S.Quinn and Brayn K.Markey.

Подбор дез.средств, сайты: https://dezr.ru/

•https://dezr.ru/spravochnik-dezsredstv/podbor-po-parametram/bystryj-podbor

Виды дезинфектантов

Основное действующее вещество	Преимущества	Недостатки	Примеры наименований
Перекись водорода	Хорошо дезинфицирует, разлагается без остатка, не образует микроконденсаты, в достаточных концентрациях и при определенных условиях способен уничтожать споры бактерий и все остальные микроорганизмы, альтернатива формальдегидной стерилизации при наличии специального оборудования (плазма перекиси)	При использовании в концентрациях для уничтожения спор необходима химзащита и противогаз, возможно, не оказывает действия на яйца глистов, трудно удерживать в виде паров, нестойка	«БебиДез-Ультра», Перекись водорода
Альдегиды Глутараль-дегид	Хорошо дезинфицирует, в достаточных концентрациях и при определенных условиях способен уничтожать споры бактерий и все остальные микроорганизмы	Небезопасен для здоровья человека и животных, запрещен в некоторых странах Европы	«Лизофор мин-3000»
Спирты	Разрушают все вегетативные формы бактерий, большинство вирусов и спор	Неэффективны в отношении некоторых вирусов и отдельной споровой флоры	«Клиндези н-спрей», «Лизаксин -спрей»

Виды дезинфектантов

Основное действующее вещество	Преимущества	Недостатки	Примеры наименований
Четвертично-аммонийные соединения	Разрушают все вегетативные формы бактерий (кроме туберкулеза), липидные вирусы, некоторые нелипидные вирусы, некоторые споры грибов	Не уничтожают споры бактерий и бациллы туберкулеза!!!	«Клиндезин-специаль», «Лизаксин-спрей»
Активный хлор	Хорошо уничтожает органические остатки, дезинфицирует	Вызывает коррозию, неприменим в помещениях с животными	«Доместос»
Фенолы	Разрушают все вегетативные формы бактерий, большинство спор бактерий, вирусов	Опасны для здоровья человека и животных	Не применяется
Надуксусная кислота	В достаточных концентрациях и при определенных условиях способны уничтожать споры бактерий и все остальные микроорганизмы	Опасна, требует специальное оборудование	Не применяется

Методы дезинфекции в виварии

- Распыление паров дезинфектантов

(перекисный туман, пары формальдегида)

- Замачивание в дезинфектантах

(1-2% 30-120 мин. – предстерилизационная очистка).

•Погружение в дезинфицирующие средства (кратковременно, незагрязненные поверхности)

•УЗ-мойка с дезинфектантами
(инструменты, крышки на поилки)

•Поверхностное протирание, орошение
(для электронных устройств)

•Пылесос
(для полостей, не в помещениях для животных!)

•Ультрафиолет (воздух, вода при циркуляции,
в меньшей степени - поверхности)

Правила деконтаминации помещений

- Только ***влажная уборка*** (не генерировать аэрозоли!)
- «***От чистого – к грязному***»
  - ✓ вначале помещения содержания животных,
  - ✓ затем вспомогательные помещения;
  - ✓ от уже обработанного к еще загрязненному, один конец мопа всегда чистый, другой грязный
- «***Сверху - вниз***» (вначале плафоны ламп, затем стены, столы, полки, ручки, затем колесики тележек и пол)
- Помещения вивария должны деконтаминироваться ***ежедневно***
- Целью деконтаминации, помимо очистки, является ***нанесение на поверхности дезинфектанта***

Пример перечня мероприятий по санобработке помещений вивария

- ***Ежедневно:***
- ✓ Все горизонтальные и потенциально контаминированные поверхности помещений и мебели
- ✓ Заполнение стоков
- ✓ Утилизация отходов
- ***Еженедельно:***
- ✓ все меры ежедневной обработки +
- ✓ выведение из помещений содержания животных неиспользованных расходных материалов
- ✓ деконтаминация вертикальных поверхностей в зоне открытого содержания животных
- ***Ежемесячно:***
- ✓ все меры ежедневной и еженедельной обработки+
- ✓ очистка труднодоступных участков
- ✓ очистка и или замена фильтров вентиляции
- ✓ очистка УФ ламп
- ✓ деконтаминация вертикальных поверхностях во вспомогательных помещениях
- ***Ежегодно***
- ✓ Очистка и деконтаминация всех поверхностей
- ✓ Очистка вентиляционных труб изнутри
- ✓ Замена всех фильтров

Использование удобного уборочного оборудования

Двухведерная система:

- Синее (желтое) ведро – «чистое»
- Красное (серое) ведро – «грязное»

- Швабра с полу/автоматическим надеванием мопа

- Горизонтальный отжим

- ***Обработка в одном направлении (передний конец мопа-всегда «грязный»), «8», каждый раз захватывая около 1/3 ранее обработанного участка***

Контроль процессов деконтаминации

- Нанесение флюоресцентных меток
- Визуальный контроль поверхностей
- Контроль чистоты при помощи химических индикаторов или индикаторных салфеток
- Контроль растворов для замачивания (на микробиологический посев):
  - Отбор из ванн для замачивания клеток
  - Отбор из контейнеров для замачивания материалов и оборудования
- Смывы и посевы с поверхностей в критических точках, с рук сотрудников
- АТР – биолюминесценция

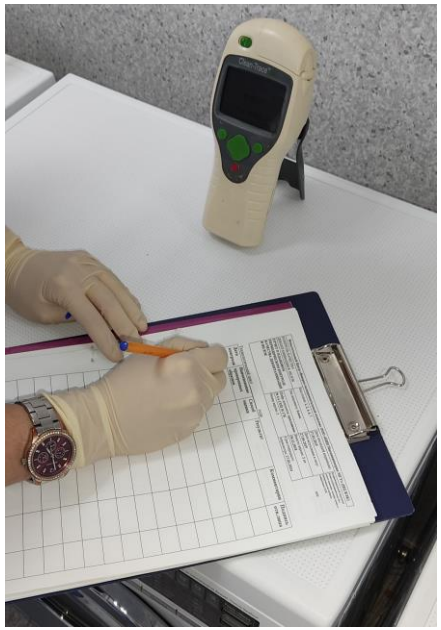
Алгоритм выбора методов деконтаминации материалов и оборудования

❑ Стерилизации подлежат только **ПОЛНОСТЬЮ ОЧИЩЕННЫЕ** от загрязнений материалы

✓Все, что может быть подвергнуто стерилизации должно быть проавтоклавировано или стерилизовано в сухожаре)

✓Все что **не** может быть стерилизовано – подвергнуть дезинфекции (например, замачиванием в дез.растворе).

✓Все, что не может быть замочено – обработать поверхностно, а полости - пылесосом



❑***Обязателен контроль эффективности деконтаминации!!!***

Методы деконтаминации в каждом виварии зависят от факторов риска (работа с патогенами или с животными SPF категории)

Санитарные требования при работе с животными SPF /MPF категории

Применимые системы содержания	Первичные барьеры с использованием открытых клеток, изоляторы, стеллажи с ИВК
Обращение с клетками	Промежуточная дезинфекция рук между клетками только в случае использования ИВК
Уровень определения микробиологической единицы	На уровне здания /комнаты /изолятора ИВК
Средства индивидуальной защиты	Минимальный комплект стандартной униформы, включающий хирургический костюм, маску (хирургическую для ИВК), бахилы и стерильные перчатки (при работе с открытыми клетками в барьере ВСЕ материалы должны быть стерильными)
Обращение с материалами	Большая часть инвентаря стерилизуется паром, ограниченное проведение материалов, стерилизованных оксидом этилена

Санитарные требования для работы с патогенами

Обязательная деконтаминация отходов

Работа с инфицированными животными на биозащитных станциях

Работа в костюмах под положительным давлением

Деконтаминация сотрудников после работы в боксах биобезопасности

Спасибо за внимание!

ekushnir@mitotech.ru

+79031547084

Литературные и нормативные ссылки

- Бондарева ЕД, Боровкова КЕ, Макарова МН. Риск-ориентированный подход к оценке санитарного благополучия вивария и питомника, здоровья лабораторных животных и человека. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020;10(4):257–266. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-257-266
- «Правила проведения дезинфекции и дезинвазии объектов государственного ветеринарного надзора» №13-5-2/0525 (утв. 15.06.2002 г.)
- МУК 4.2.2942-11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях»
- ГОСТ 33216 – 2014. РУКОВОДСТВО ПО СОДЕРЖАНИЮ И УХОДУ ЗА ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами
- СанПиН 2.1.3684-21 Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NAP, Washington, D.C. 8th Edition, 2010
- Cage processing in animal facilities properly done. Working Group for Cage Processing. 3rd issue 2010
- Laboratory safety guidance. Occupational Safety and Health Administration U.S. Department of Labor. 3404-11R 2011.
- Васютина МЛ, Бреднева ОГ, Иванова СА, Салминьш ДА, Галагудза ММ. Аллергия на лабораторных грызунов: недооцененная проблема. Лабораторные животные для научных исследований. 2019;(4):1.
- Krop E.J., Doekes G., Stone M.J., Aalberse R.C., van der Zee J.S. Spreading of occupational allergens: laboratory animal allergens on hair-covering caps and in mattress dust of laboratory animal workers.

Требования к помещениям для работы с патогенами разных групп

групп а	Требования к помещениям	Оборудование	Процедуры
IV	Стандартные, тщательно спроектированные виварии и лаборатории	Мытье/дезинфекция рук, халаты	Стандартные лабораторная ТБ
III	+ помещения для манипуляций и лаборатории отделены от содержания, отрицательное давление, легко очищаемые поверхности из устойчивых материалов	+ паровая стерилизация оборудования, бокс биобезопасности с HEPA фильтрами I или II класса защиты, стандартные СИЗ (халат, маска, перчатки)	+Ношение СИЗ только в лаборатории, деконтаминация всего выносимого оборудования
II	++ контролируемый доступ, двойные двери, душ, контроль отрицательного давления в помещении, отсутствие рециркуляционных систем, HEPA фильтры, резервирование источников питания	++ бокс биобезопасности с HEPA фильтрами II класса защиты, СИЗ более высокого уровня (закрытые комбинезоны, очки/щиток, шапочки, специализированная обувь и перчатки, респираторы с соответствующим уровнем защиты)	++Подготовка персонала по специализированным протоколам, дезинфицирующий душ после работы, деконтаминация отходов, оборудование со специальной защитой
I	Специализированные, безопасные, на полном самообеспечении, отдельной вентиляцией, полностью мониторируется, воздушный запор в шлюзе	Бокс биобезопасности III класса защиты, герметичные вентилируемые защитные костюмы с положительным давлением	Доступ только для сертифицированных сотрудников, строгая стерилизация и деконтаминация всех объектов на выходе, включая отходы

За рубежом

SPF

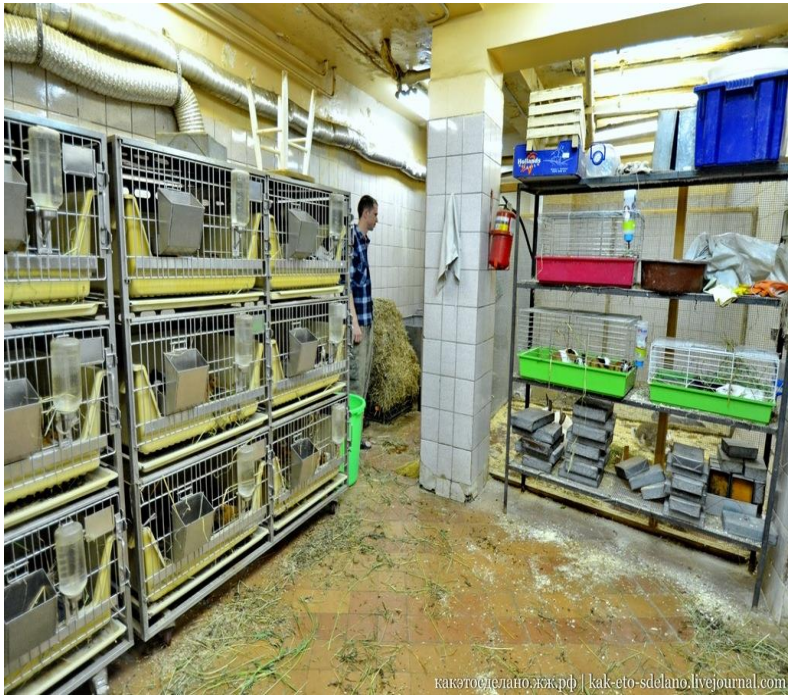
Контролируемые условия микро- и макросреды

vs

конвенция

Контролируемые условия макросреды

В России



SPF vs **конвенция**

Контролируемые условия? **Неконтролируемые условия!**