



Kontrola higijene površina





Uslovi sredine

- **Laboratorija za mikrobiologiju namirnica**
 - ISO 17025 (2006) paragraf 5.2
 - EA-04/10 (2002) Accreditation for Microbiological Laboratories

- **Prostor laboratorije**
 - **Prostorija/e u kojoj se obavlja ispitivanje.**
 - **Pomoćne prostorije** (skladište, koridori, arhiva, administrativni blok, toalet...)

 - Uslov: minimalna unakrsna kontaminacija
 - Kako to obezbediti? (jedan pravac – bez povratka unazad), prostorno razdvojiti aktivnosti (prostorija 1 - zasejavanje materijala; prostorija 2 – inkubacija i presejavanje materijala) ili vremenski odvojiti aktivnosti

 - PROCEDURE ZA ČIŠĆENJE, PRANJE I DEZINFEKCIJU



Monitoring uslova sredine

- Monitoring uslova sredine treba da uključi kombinaciju uzoraka vazduha i površina:**

- vazduh
 - Uzorkovanje vazduha
 - Ekspozicija ploča

- Površine
 - Kontakt ploče sa površinom
 - Brisevi
 - Fleksibilni filmovi



Monitoring uslova sredine

- INDIKATORI:**

- NAJČEŠĆE**
 - **UKUPAN BROJ BAKTERIJA**
 - **Kvasci i plesni**

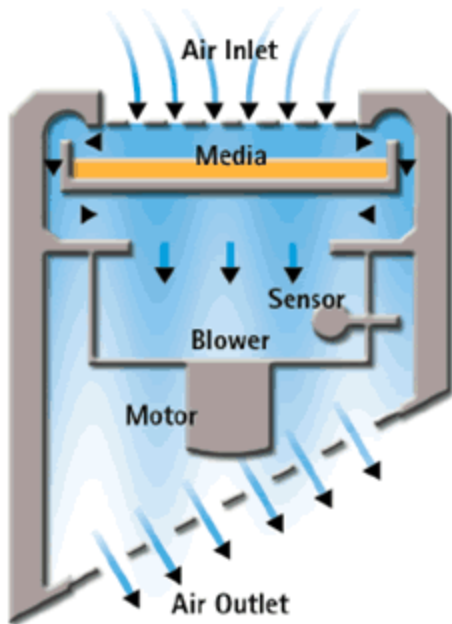
- Ukupan broj enterobakterija
- ...

- Sve u zavisnosti od namene



Monitoring VAZDUHA

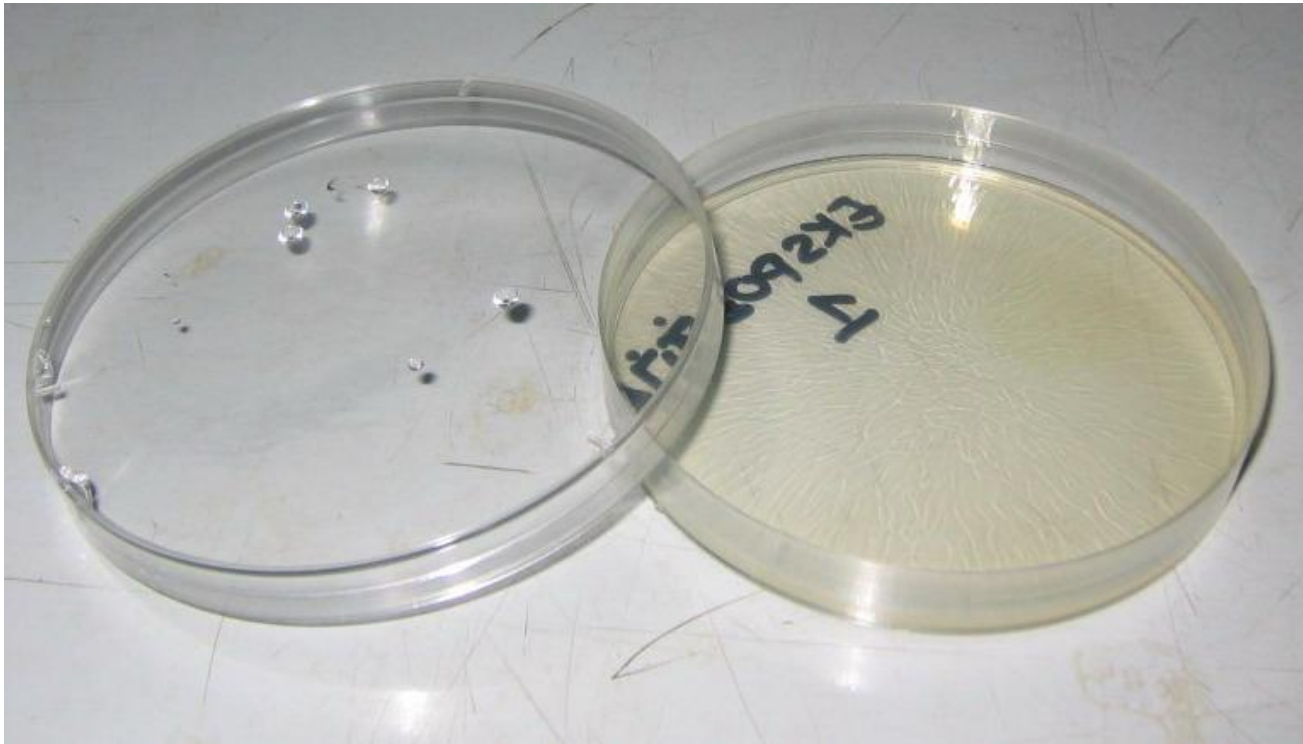
- **Uzorkovanje vazduha**
 - **uz pomoć aparata se vrši uzorkovanje vazduha,**
 - **vazduh prelazi preko ploče sa podlogom**





Monitoring VAZDUHA

- **EKSPOZICIJA PLOČA SA HRANLJIVOM PODLOGOM**
 - **Ploča sa hranljivom podlogom se otvori i ostavi tokom određenog vremenskog perioda**





Monitoring POVRŠINA

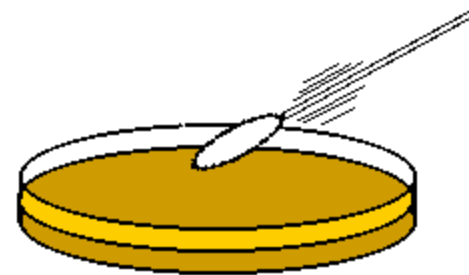
- Kontakt ploče sa površinom – podloga se otisne o površinu koju ispituјemo





Monitoring POVRŠINA

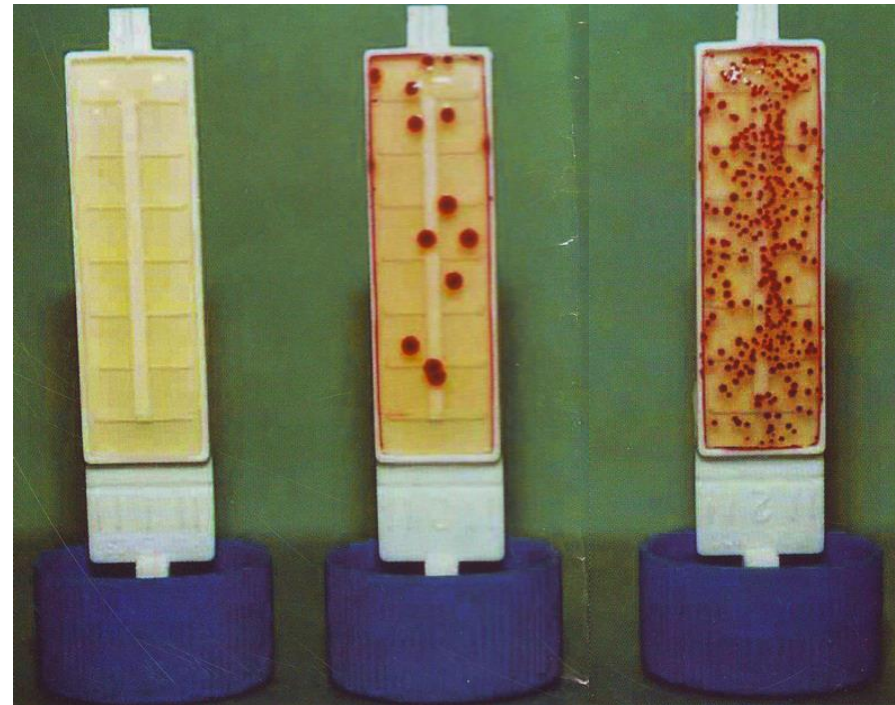
- **Brisevi – uзорak se uzme sa površine i potom zaseje na hranljivu podlogu**





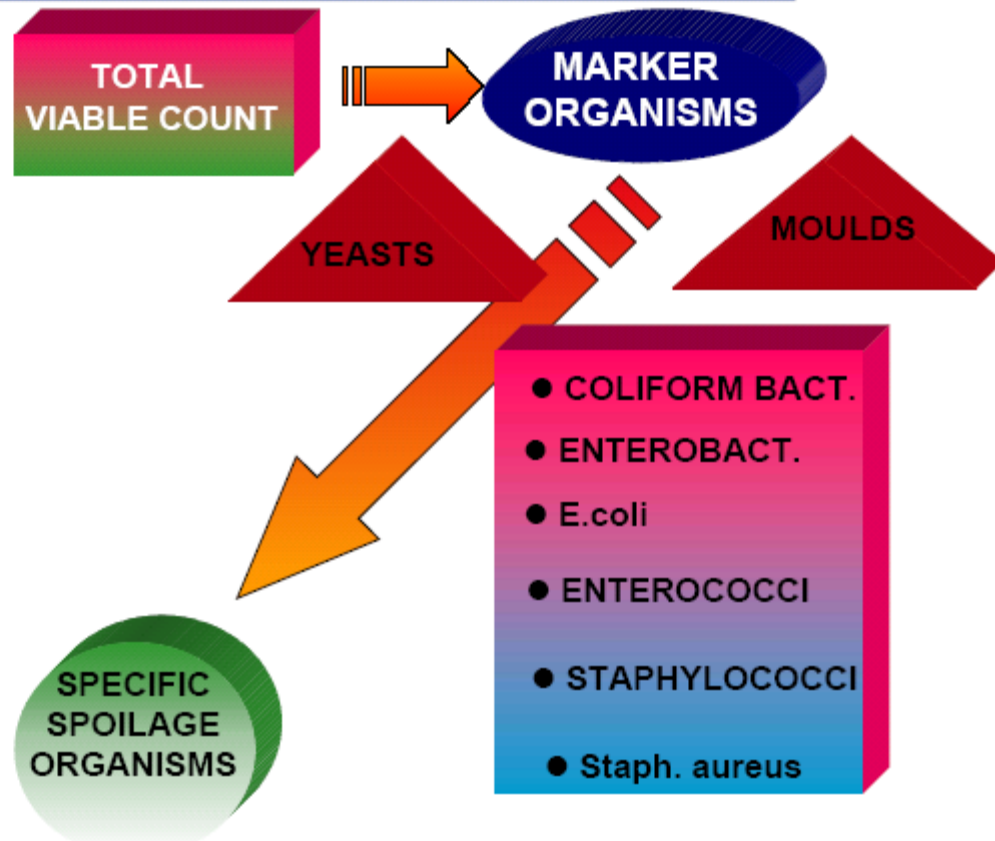
Monitoring POVRŠINA

- **Fleksibilni filmovi – otisnu se o ispitujuću površinu**





Fleksibilni filmovi





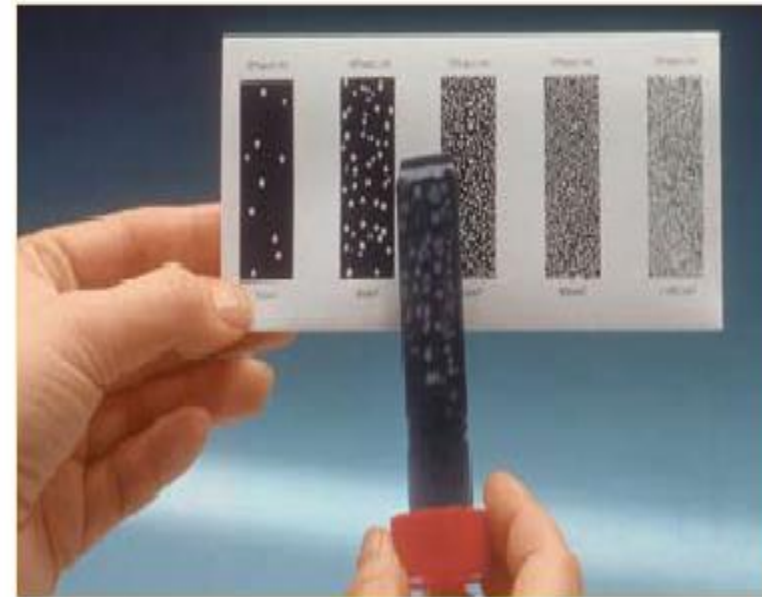
HYGICULT

Hygicult®

Agar Slides



Results





3M – PETRI FILM



- **BROJ MO**
- **KOLIFORMI**
- ***E. coli*/KOLIFORMI**
- ***Enterobacteriaceae***
- ***Staphylococcus aureus***
- **Kvasci i plesni**



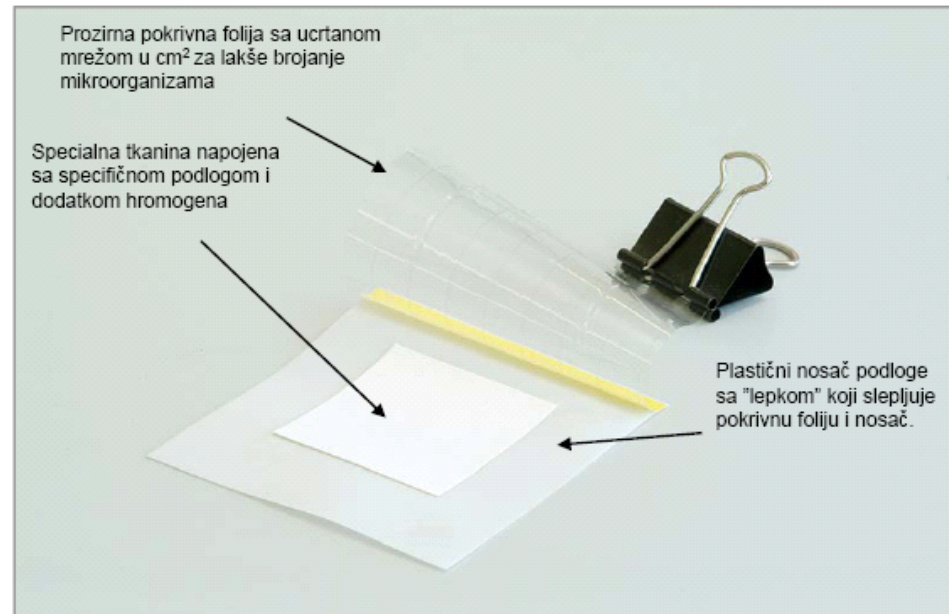
RIDA COUNT test stripovi

RIDA®COUNT

Za upotrebu pripremljene pločice za određivanje mikroorganizama

Proizvodi :

1. RIDA®COUNT Total (Ukupni broj m.o.)
2. RIDA®COUNT Coliform
3. RIDA®COUNT E. coli
4. RIDA®COUNT E. coli/Coliform
5. RIDA®COUNT Enterobacteriaceae
6. RIDA®COUNT Staph. Aureus
7. RIDA®COUNT Yeast & Mold (Kvasci i plesni)
8. RIDA®COUNT Salmonella





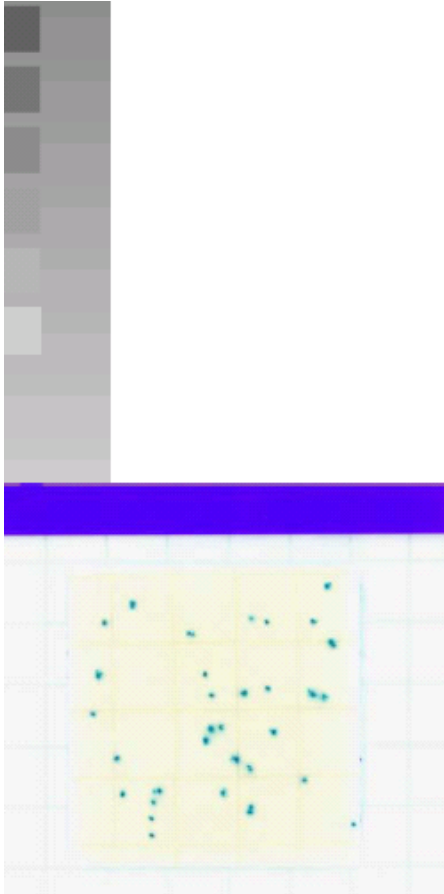
RIDA[®] COUNT E. coli

Medium: modifikovani X-Gal Agar

Hromogen: X-glukuronska kiselina

Mehanizam detekcije: aktivnost β -Glukuronidaze

Otkrivanje: Brojanje kolonija



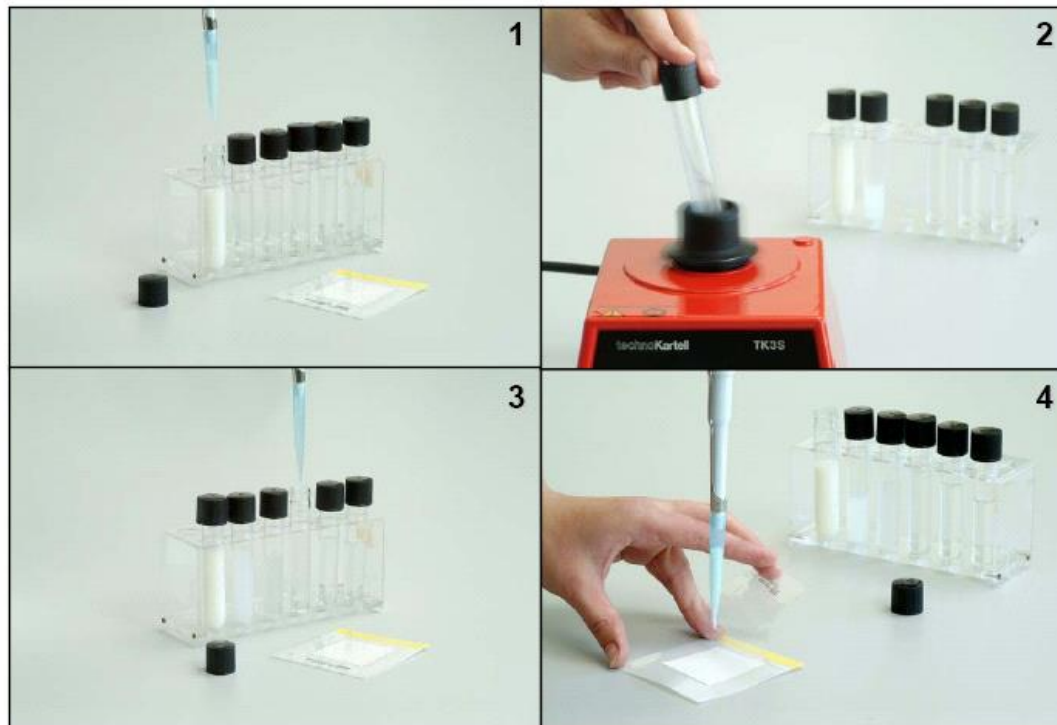
X = 5-bromo-4-chloro-3-indolyl



PRIPREMA UZORKA

Tehnike primene

Priprema uzorka

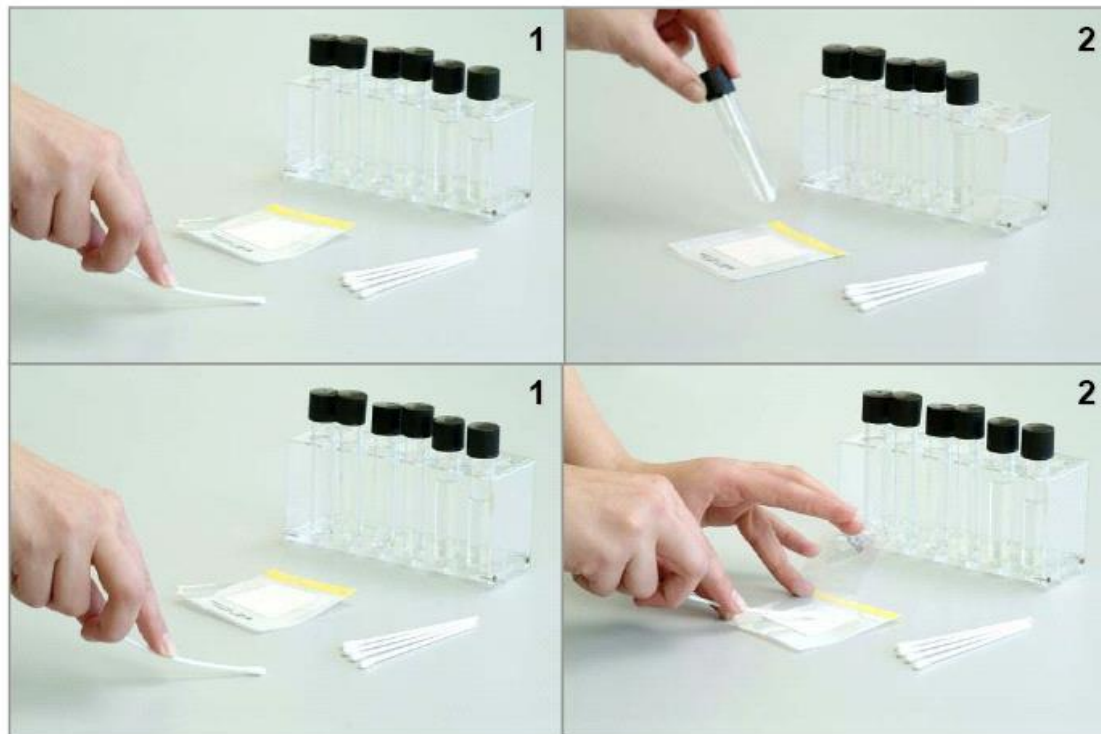




UZIMANJE BRISA

Tehnike primene

Uzimanje brisa





UZIMANJE UZORKA IZ VAZDUHA

Tehnike primene Uzimanje uzorka iz vazduha





KONTAKTNA INOKULACIJA

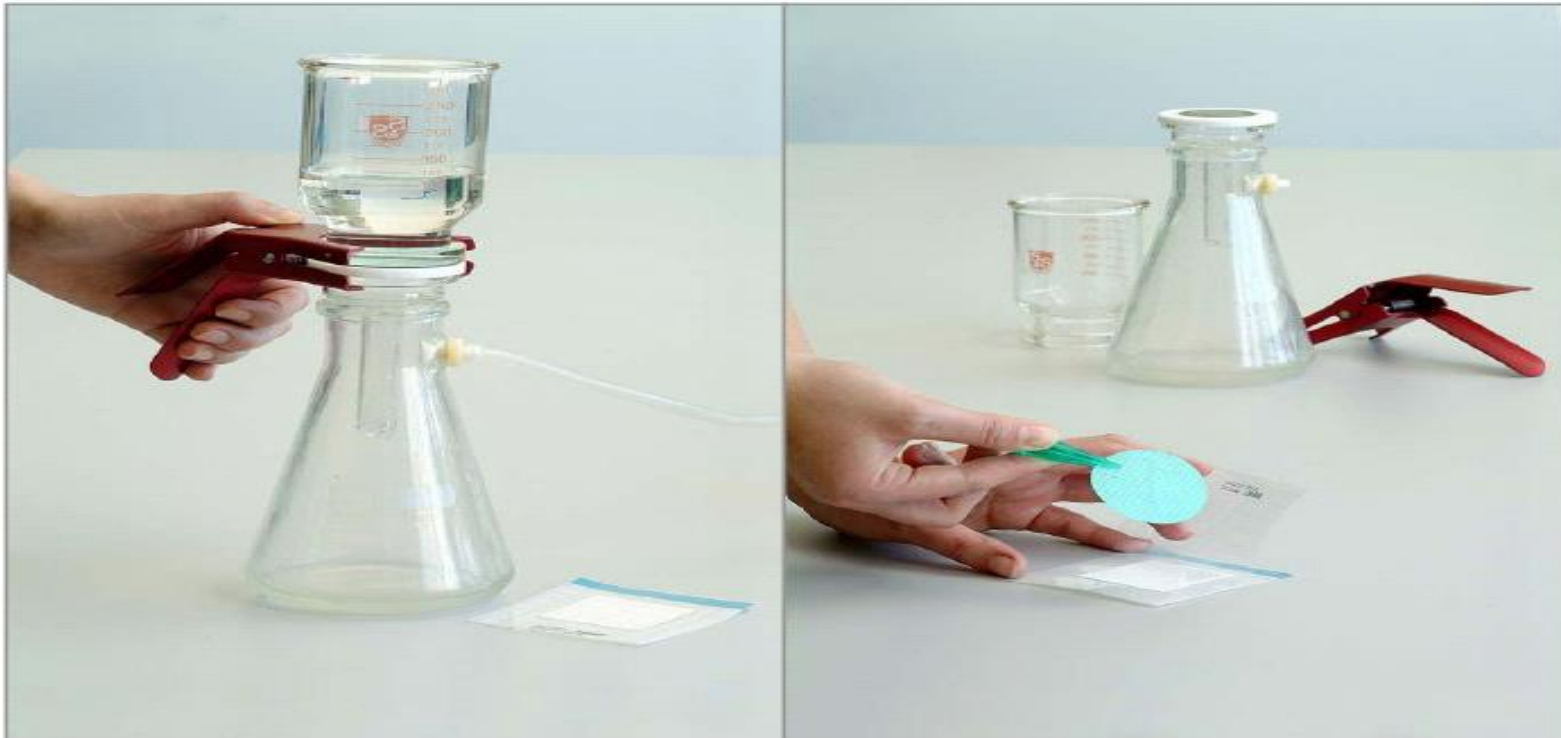
Tehnike primene Kontaktna inokulacija



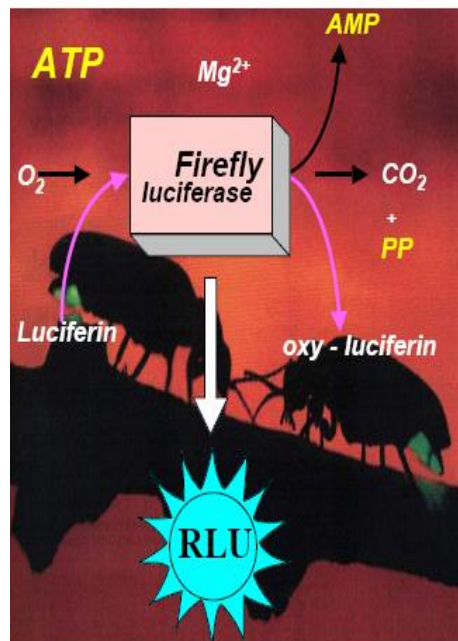
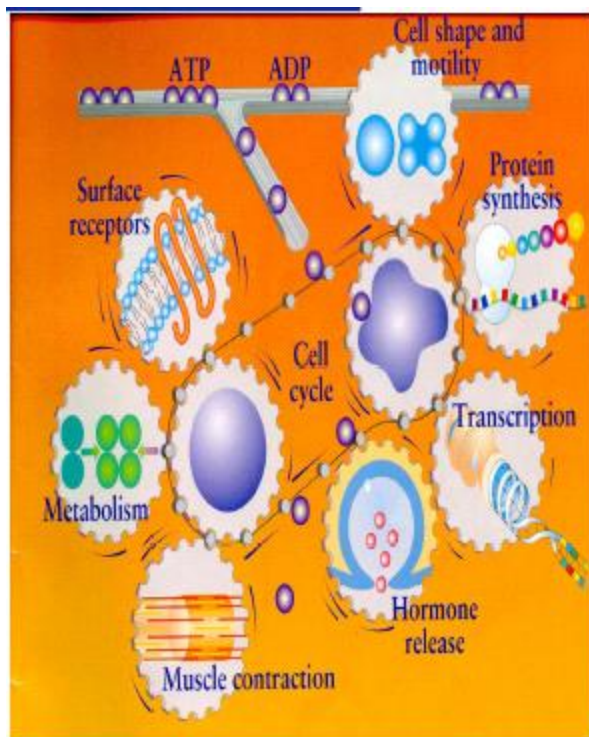


FILTRIRANJE

Tehnike primene Filtriranje



ATP - bioluminiscencija



Luminometar – meri fotone svetlosne reakcije i prevodi u brojčane vrednosti Relative Light Units – RLU, ciji je broj direktno proporcionalan koncentraciji ATP-a organskih rezidua i mikroorganizama



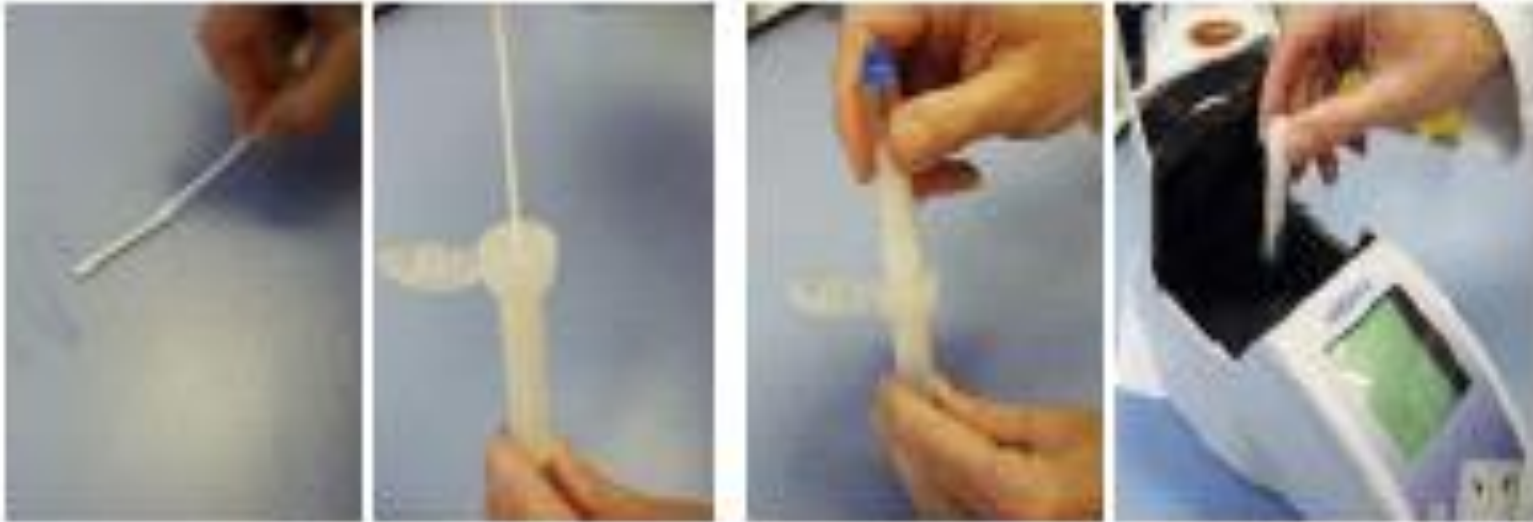
ATP – prisutan u životinjskim i biljnim tkivima, hrani, ostacima hrane, MO

Sistem luciferin-luciferaza

HY-LiTE



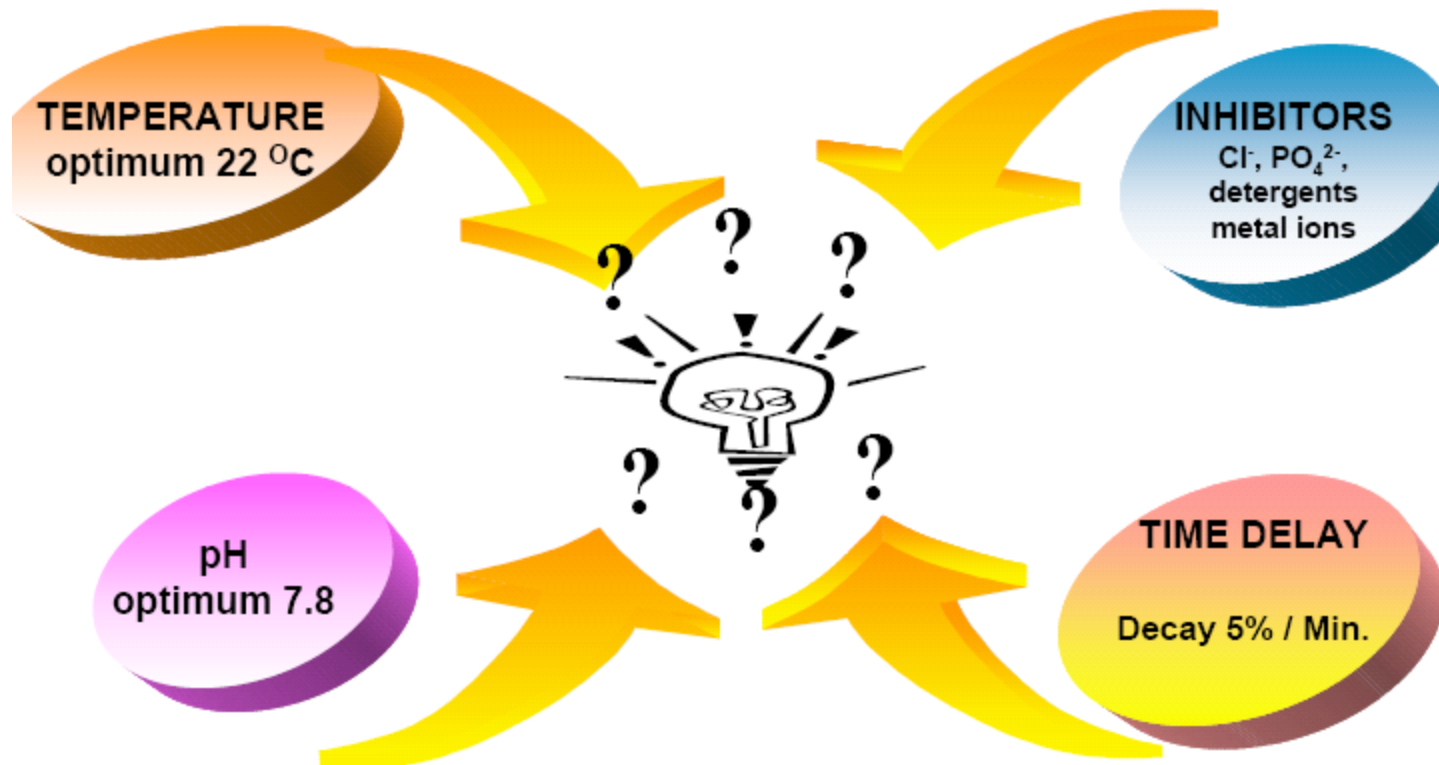
HY-LiTE test sistem (ATP bioluminiscencija)



Jednostavan za izvođenje

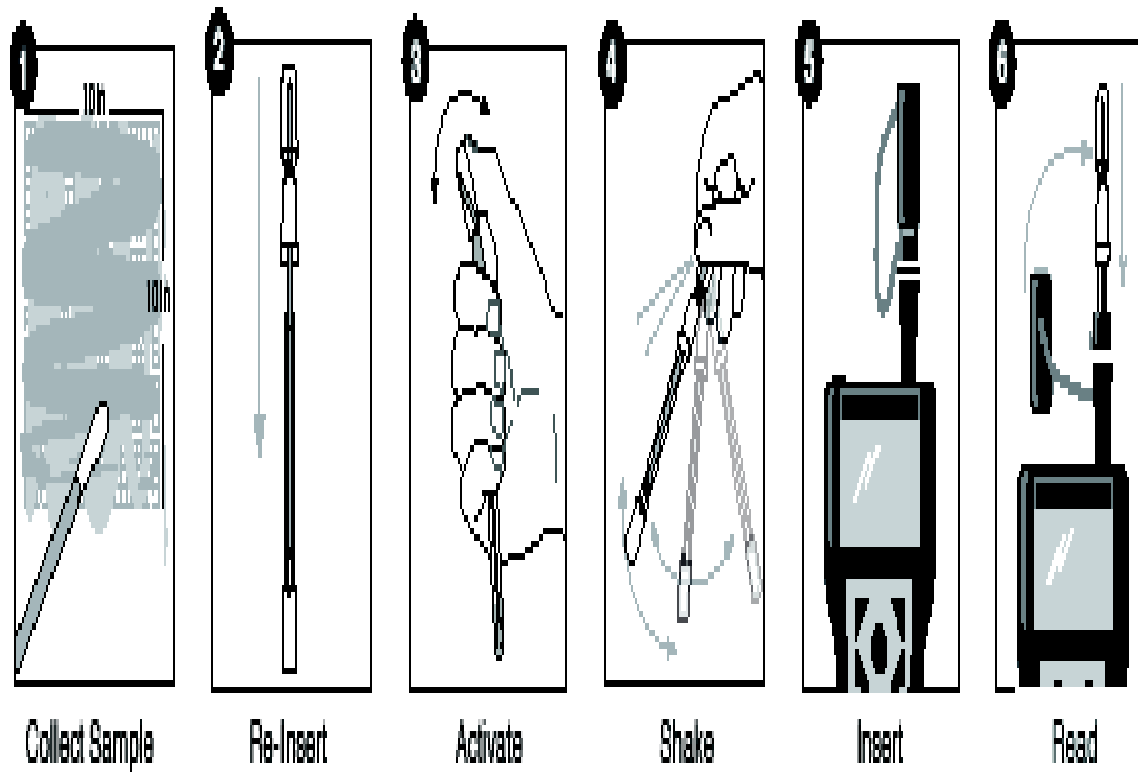


Šta utiče na rezultat?





ATP bioluminiscencija - SNAPSHOT





Luminometar

□ Čitanje rezultata





Pro-Tect test

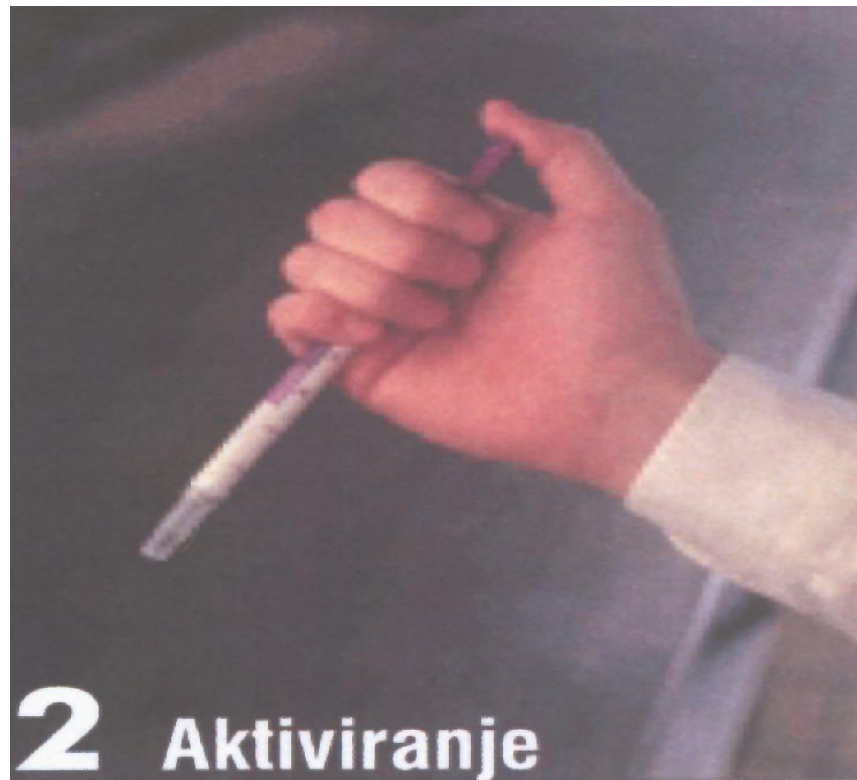
□ Uzimanje brisa sa površine





Pro-Tect

□ Aktiviranje reakcije





Pro-Tect

- Očitavanje reakcije prema priloženoj tabeli – poređenje boja





STERILIZACIJA

...je proces kojim potpuno uništavamo/eliminiramo sve organizme (u ili na objektu koji steriliziramo)

KAKO? (FIZIČKI ili ZRAČENJE ili HEMIJSKI ili FILTRACIJA)

- ne postoji/nema **STEPEN/a** sterilizacije

*** laboratorijsko posuđe/materijal

??? JESTE ili NIJE sterilno za rad ???



KVALITET OBAVLJENE STERILIZACIJE

- **Mehanička/elektronska kontrola**
- **Hemijski indikatori/integratori**
- **Biološki indikatori (spore)**
- **Održavanje uređaja za sterilizaciju**
- **Vođenje zapisa**



Mehanička/elektronska kontrola

- 1. Vreme** (sat)
 - 2. Temperatura** (termometar)
 - 3. Pritisak** (manometar)
-



Prednost:

- Jednostavan i pristupačan vid kontrole sterilizacije;
- Tokom procesa sterilizacije dobijamo informaciju da li je proces pod kontrolom ili ne.

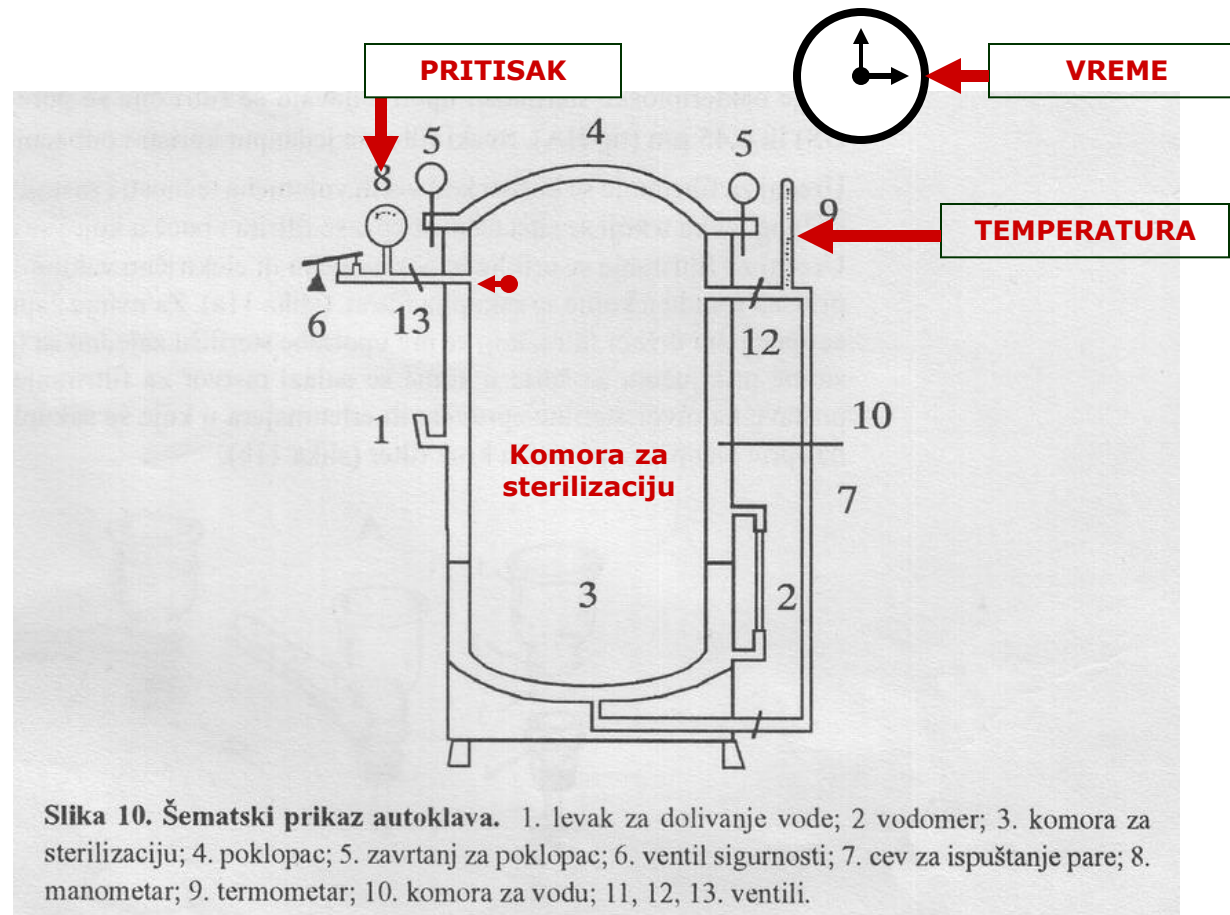


Nedostatak:

- daju podatak o situaciji na mestu provere a ne unutar same komore za sterilizaciju



Mehanička/elektronska kontrola



Slika 10. Šematski prikaz autoklava. 1. levak za dolivanje vode; 2. vodomjer; 3. komora za sterilizaciju; 4. poklopac; 5. zavrtanj za poklopac; 6. ventil sigurnosti; 7. cev za ispuštanje pare; 8. manometar; 9. termometar; 10. komora za vodu; 11, 12, 13. ventili.



Hemijski indikatori

1. Hemijski indikatori **menjaju boju** nakon dejstva toplote ili EO i sl.
2. Promena boje ne garantuje da je proces sterilizacije adekvatan, nego služi kao **vizuelna oznaka** da je materijal prošao zahtevani /npr. termički/ tretman.
3. Ako indikator **NE promeni boju** znači da materijal nije podvrgnut tretmanu ili proces nije bio adekvatan. Sterilizaciju treba ponoviti.
4. **Hemijski indikatori** ne mogu zameniti BIOLOŠKU KONTROLU sterilizacije, ali su ODLIČNI kao vizuelna oznaka



Hemijski indikatori



**Hemijski indikator - Samolepljiva traka
(sterilizacija vlažnom toplotom)**



dispenser



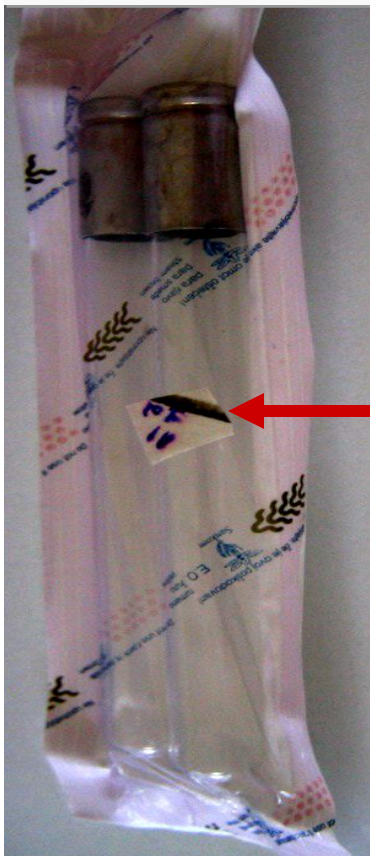
**Crne pruge –
materijal je
termički tretiran**

Samo vizuelna oznaka – da ne pomešamo materijal koji je sterilisan sa onim koji tek treba da prođe tretman



Hemijski indikatori

Epruvete



Materijal je upakovan u foliju
za vlažnu sterilizaciju
(materijal sterilan 6 meseci)

- CRNA PRUGA –
materijal je
termički tretiran

Drigalski špatula



Samo vizuelna oznaka – da ne pomešamo materijal koji je
sterilisan sa onim koji tek treba da prođe tretman

Hemijski indikatori



**Hemijski indikator – klasa 4, za
sterilizaciju SUVOM TOPLATOM
pri 160 °C i više - promena boje u crnu**



Crna boja nakon tretmana

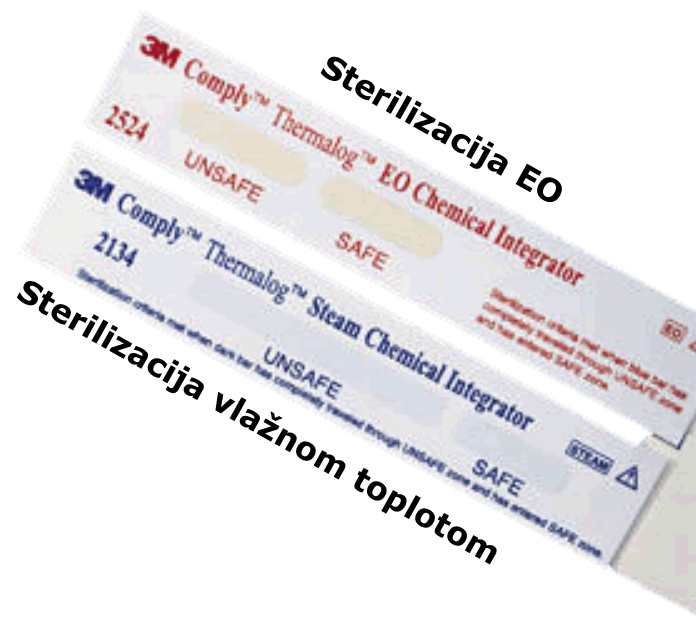


Hemijski - INTEGRATORI

HEMIJSKI INTEGRATOR – klasa 5 indikatora

Vizuelno se vidi (boja u prozoru UNSAFE ili SAFE) da li je bezbedno ili ne koristiti materijal nakon obavljenog tretmana.

Podatak za više od jednog parametra sterilizacije (npr. temperatura, vreme i dr.)





Biološki indikatori

- **Visoko rezistentne bakterijske spore (APATOGENE)**
 - **Bacillus stearothermophilus**
 - Za kontrolu vlažne toplote i hemijske sterilizacije
 - **Bacillus subtilis**
 - Za kontrolu suve toplote
 - **Bacillus pumilus**
 - Za kontrolu zračenja
 - **Bacillus atrophaeus**
 - Za kontrolu EO i suve toplote
- Ampule sa sporama se nakon tretmana inkubiraju da se proverí bakterijski rast
 - **Nema rasta** – uspešna sterilizacija
 - **Ima rasta** – neuspešna sterilizacija



Biološki indikatori

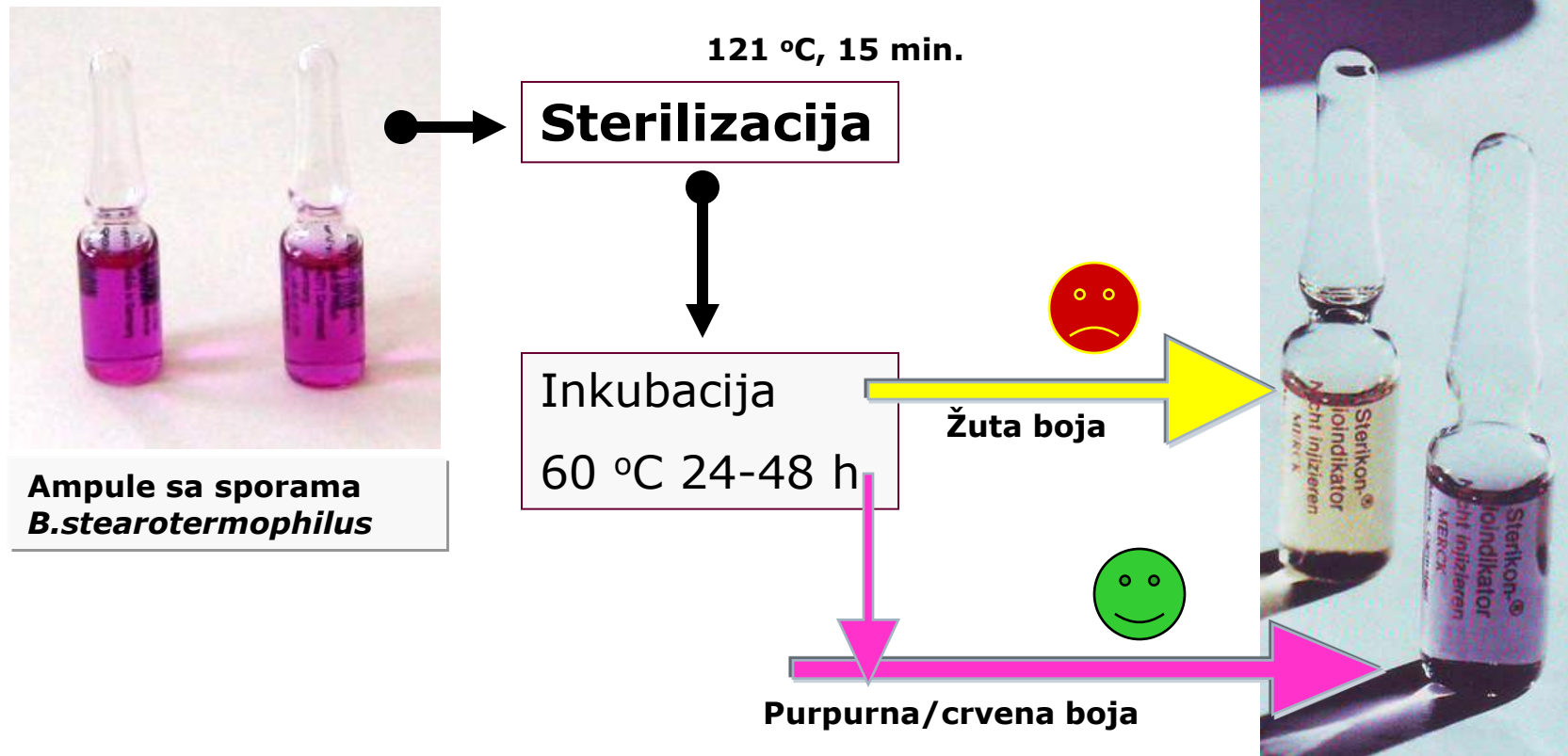
- **TEST se zasniva na sledećem:**

- **SPORE (npr. broj spora 5×10^7)**
- **Tečna podloga sa šećerom**
- **pH indikator**

NA PRIMER

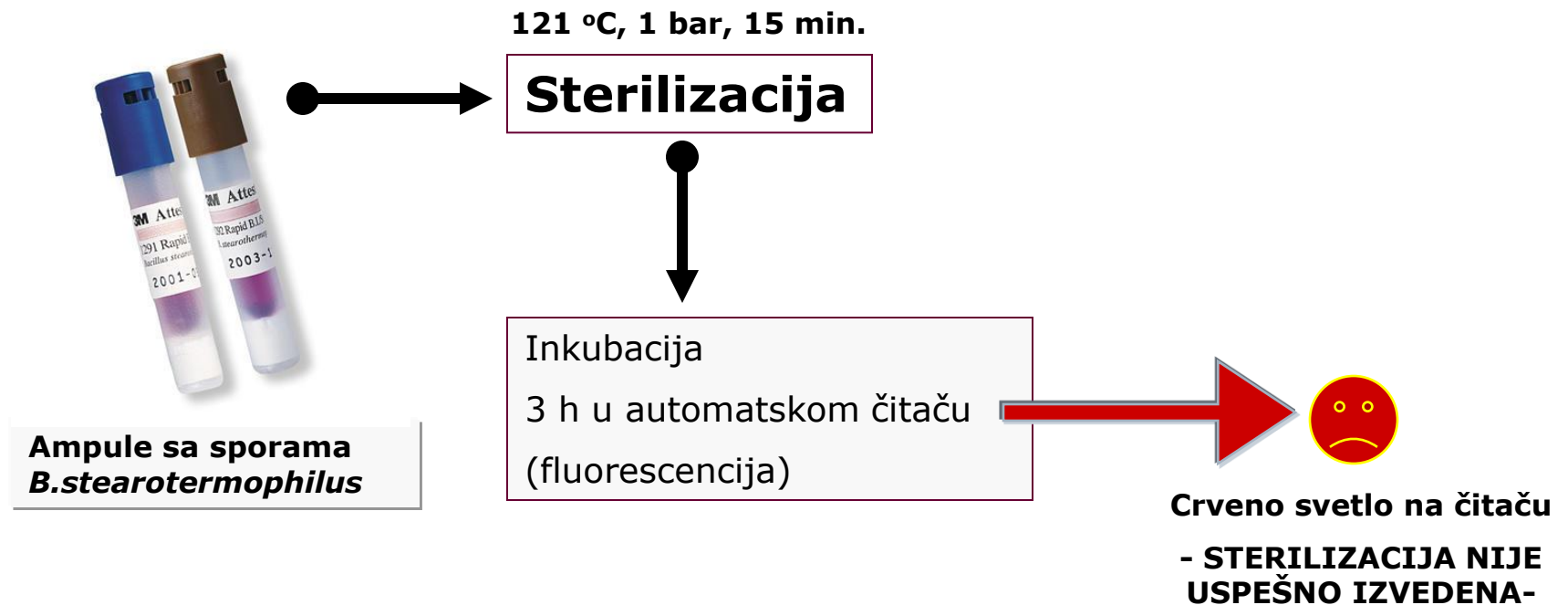
- **Osnovna boja >>> CRVENA/PURPURNA**
- **U kiseljoj sredini >>> ŽUTA**

Biološki indikatori



Primer: ampule za biološku kontrolu sterilizacije vlažnom toplotom

Biološki indikatori



Primer: ampule za biološku kontrolu sterilizacije vlažnom toplotom



Održavanje uređaja za sterilizaciju

- **Rutinsko održavanje uređaja:**
 - koristiti destilovanu vodu, nikako česmensku
 - provera nivoa vode u autoklavu pre početka rada
 - i sl. u zavisnosti od modela uređaja
- **Preventivno održavanje uređaja**
- **Redovan servis**
- **KALIBRACIJA (MANOMETAR, TERMOMETAR)**



Vođenje zapisa

- **ZAHTEV DOBRE LABORATORIJSKE PRAKSE**
- **svaka kontrola sterilizacije mora biti zabeležena**
- **svako odstupanje mora biti zabeleženo**
- **kao i primenjena korektivna mera**