

1 Индивидуальное задание:

- Из стокового 25х раствора PBS-T нужно приготовить 2л отмывочного буфера (однократного раствора PBS-T). Сколько нужно взять 25х раствора? Сколько добавить очищенной воды?

<u>Дано:</u>	<u>Решение:</u>
<ul style="list-style-type: none"> Стоковый 25-кратный раствор; Очищенная вода. 	<p>Так как рабочим разведением считается однократный раствор, следовательно, сток 25-кратный нужно разбавить в 25 раз для приготовления рабочего раствора: к 1 части стока добавить 24 части воды.</p> <p>Сперва рассчитаем, какой объём приходится на 1 часть:</p> $V_{elem} = \frac{V_{buffer}}{total\ parts} = \frac{2\ (l)}{25} = 0.08\ (l) = 80\ (ml)$ <p>Так как количество частей готового буфера, приходящееся на концентрат, равно 1, то полученное значение будет равно объему 25-кратного стока, который нужно отобрать для приготовления отмывочного буфера.</p> $V_{стока\ на\ приг-е} = V_{elem} = 80\ (ml)$ <p>В свою очередь, количество частей готового буфера, приходящееся на разбавитель (очищенную воду), равно 24, то для расчёта объема воды на приготовления, значение V_{elem} беру в 24 раза больше:</p> $V_{очищ.вода} = V_{elem} \cdot parts\ of\ water = 80\ (ml) \cdot 24 = 1920\ (ml) = 1,92\ (l)$ <p><u>Проверка:</u> При суммировании объёмов компонентов раствора ($V_{стока\ на\ приг-е}$ и $V_{очищ.вода}$) получается требуемый к приготовлению объём отмывочного буфера.</p>
<p>Приготовить: 2 литра отмывочного буфера однократного</p> <p>$V_{стока\ на\ приг-е} - ?$ $V_{очищ. вода} - ?$</p>	
<u>Ответ:</u>	<p>$V_{стока\ на\ приг-е} = 80\ (ml)$ $V_{очищ.вода} = 1,92\ (l)$</p>

- Для анализа необходимо подготовить суспензию клеток в среде количественного определения (СКО) с конечной концентрацией $0,9 \times 10^6$ объемом 30 мл, какой объем исходной клеточной суспензии с концентрацией 24×10^5 нужно для этого взять? Сколько нужно добавить СКО?

<u>Дано:</u>	<u>Решение:</u>
$C_{исх} = 24 \cdot 10^5 \left(\frac{\text{клеток}}{\text{мл}} \right)$ $C_{кон} = 0,9 \cdot 10^6 \left(\frac{\text{клеток}}{\text{мл}} \right)$ $V_{кон} = 30\ (мл)$	<p>Сперва определим желаемое количество клеток в конечной суспензии:</p> $N = C_{кон} \cdot V_{кон} = 0,9 \cdot 10^6 \left(\frac{\text{клеток}}{\text{мл}} \right) \cdot 30\ (мл) = 27 \cdot 10^6\ (\text{клеток})$ <p>Это то количество клеток, которое нужно отобрать из исходной суспензии. Чтобы определить количество</p>
Приготовить: суспензию клеток в среде количественного определения	

$V_{исх} - ?$ $V_{ско} - ?$	<p>суспензии, которое будет содержать N количество клеток, воспользуемся концентрацией этой суспензии:</p> $V_{исх} = \frac{N}{C_{исх}} = \frac{27 \cdot 10^6 \text{ (клеток)}}{24 \cdot 10^5 \left(\frac{\text{клеток}}{\text{мл}}\right)} = 11,25 \text{ (мл)}$ <p>Этот объем исходной суспензии будет содержать требуемое количество клеток для подсчёта. Оставшийся объем конечной суспензии, приходящийся на СКО, можно определить следующим образом:</p> $V_{ско} = V_{кон} - V_{исх} = 30 - 11,25 = 18,75 \text{ (мл)}$
<p>Ответ:</p>	$V_{исх} = 11,25 \text{ (мл)}$ $V_{ско} = 18,75 \text{ (мл)}$

- Расписать порядок работы в ламинарном боксе. (Подготовка к работе, особенности асептической работы, уборка ламинара после работы)

Предзагрузочный этап:

Планирование работы в боксе. В протоколе описываются все необходимые расходные материалы, оборудование, рабочие культуры, растворы. дезинфекция поверхности рабочей зоны и стенок внутри ламинарного бокса. Включается УФ, как минимум, на 15 минут. Перед началом работ проводится обработка и мытье рук в раковине, надеваются средства индивидуальной защиты (маска и шапочка медицинская, одноразовый халат, перчатки, позволяющие закрывать обшлаги халата (при необходимости, так как данный аспект относится к работе с патогенами для обеспечения дополнительной безопасности)).

Загрузочный этап.

Далее вносятся требуемые в работе инструменты и расходные материалы в последовательности: инструменты чистой зоны (стерильные растворы, флаконы), рабочей зоны (рабочее оборудование, дозаторы) и зоны сброса (контейнер для отходов, кронт с дезраствором), при условии, что рабочее пространство бокса интуитивно разделено на три части, т.е. чистая зона не должна контактировать с контаминированной. Рабочая поверхность бокса не должна быть перегружена.

Разгрузочный этап

Дезинфицируются все предметы, которые будут удалены из бокса микробиологической безопасности. Предметы удаляются, начиная с чистых и обработанных, заканчивая отходами. Поверхность бокса обрабатывается дезсредством. Включается УФ, ак минимум, на 15 минут.

Пост загрузочный этап.

Снимаются и выбрасываются перчатки, удаляются остальные СИЗы. По окончании времени обработки, выключается УФ.

Правила асептической работы в боксе:

- 1) начинайте работу только на совершенно чистой поверхности и после обработки воздуха и внутренних поверхностей бокса УФ-облучением в течение, как минимум, 15 минут;
- 2) протирайте поверхности камеры бокса безворсовой салфеткой и 70%-м раствором этанола до и после работы;
- 3) обрабатывайте любые предметы и перчатки перед их внесением в камеру бокса 70%-м раствором этанола;
- 4) загружайте в рабочую камеру бокса предметы в правильном порядке и только те, которые вам потребуются для планируемой работы;
- 5) немедленно удаляйте любые загрязнения и пролитые жидкости, протирая затем поверхность 70%-м этанолом;
- 6) перед работой в боксе обязательно мыть руки и надевать СИЗ (халат, маску, перчатки);
- 7) не надо закрывать передние и задние решетки воздушного забора ламинарного бокса;
- 8) во время работы в ламинарном боксе движения рук должны быть медленными;
- 9) исключайте влияние всех посторонних потоков воздуха (сквозняки, например);
- 10) размещайте пакеты для биологических отходов внутри рабочей камеры, а не снаружи ламинарного шкафа (бокса).