

RISCURI DATORATE EXPUNERII LA AGENȚI BIOLOGICI

Materialul este conceput cu sprijinul informațiilor prezentate în “Ghidul național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale” (traducerea și adaptarea în limba română a lucrării “Laboratory biosafety manual” – ediția a III-a, Organizația Mondială a Sănătății, Geneva, 2004, completată cu “Clasificarea agenților biologici” care reprezintă traducerea Anexei III a Directivei 2000/54 a Parlamentului European și Consiliului din data de 18 Septembrie 2000, referitoare la protejarea lucrătorilor împotriva riscurilor presupuse de expunerea la agenți biologici la locul de muncă).

Organizația Mondială a Sănătății a recunoscut că riscurile biologice reprezintă o problemă importantă pe plan internațional.

La locurile de muncă din unitățile sanitare s-a constatat că principalul factor de risc este cel legat de expunerea la agenți biologici.

Din punct de vedere al riscului biologic lucrătorii din unitățile sanitare sunt cel mai frecvent expuși la agenți biologici din grupele 1, 2 și 3 care pot provoca îmbolnăviri profesionale.

Bolile profesionale determinate de agenții biologici sunt boli transmise omului prin contactul cu surse de infecție sau infestație în timpul activității profesionale.

Lucrătorii din spitale sunt expuși factorilor de risc biologic atât prin contact nemijlocit cu pacientul cât și risc de contaminare accidentală și prin contact cu produsele biologice contaminate.

Potrivit prevederilor HG nr. 1092/2006, privind protecția lucrătorilor împotriva riscurilor legate de expunerea la agenți biologici în munca, pentru orice activitate susceptibilă să prezinte un risc de expunere la agenți biologici, angajatorul trebuie să determine natura, nivelul și durata de expunere, pentru a se putea evalua orice risc pentru sănătatea și securitatea lucrătorilor și pentru a se putea stabili măsurile ce trebuie luate.

Agenții biologici sunt clasificați în 4 grupe de risc, în funcție de importanța riscului de infecție pe care îl prezintă:

a) **grupa 1 (risc infecțios individual sau comunitar scăzut sau absent)**- agenți biologici care nu sunt susceptibili să provoace o boală la om; microorganismele cu probabilitate minimă de a provoca îmbolnăvire la om sau animal.

b) **grupa 2 (risc individual moderat, risc comunitar scăzut)** - agenți biologici care pot provoca o boală omului și constituie un pericol pentru lucrători; propagarea lor în colectivitate este improbabilă; există, în general, o profilaxie sau un tratament eficace; Agenți patogeni care pot provoca îmbolnăvire la om sau animal, dar este puțin probabil să reprezinte un pericol sever pentru personalul de laborator, comunitate, faună sau mediu. Expunerile în laborator pot cauza infecții severe dar pentru care există tratament eficace și măsuri profilactice, iar riscul de răspândire al infecției este limitat.

c) **grupa 3 (risc individual ridicat, risc comunitar scăzut)** - agenți biologici care pot provoca îmbolnăviri grave la om și constituie un pericol serios pentru lucrători; ei pot prezenta un risc de propagare în colectivitate, dar există în general o profilaxie sau un tratament eficace. Agenți patogeni care în mod obișnuit provoacă îmbolnăvire severă la om sau animal, dar, de regulă, nu se răspândesc de la un individ infectat la altul. Există tratament eficace și măsuri profilactice.

d) **grupa 4 (risc individual și comunitar ridicat)**- agenți biologici care pot provoca boli grave omului și constituie un pericol serios pentru lucrători; ei pot să prezinte un risc ridicat de propagare în colectivitate și nu există în general o profilaxie sau un tratament eficace. Agenți patogeni care provoacă, de regulă, îmbolnăvire severă la om sau animal și care se pot transmite spontan de la un individ la altul, direct sau indirect. Nu există, în general, tratament eficace și măsuri profilactice.

Potrivit Ghidului național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale” (traducerea și adaptarea în limba română a lucrării “Laboratory biosafety manual” – ediția a III-a, Organizația Mondială a Sănătății, Geneva, 2004, completată cu “Clasificarea agenților biologici” care reprezintă traducerea Anexei III a Directivei 2000/54 a Parlamentului European și Consiliului din data de 18 Septembrie 2000, referitoare la protejarea lucrătorilor împotriva riscurilor presupuse de expunerea la agenți biologici la locul de muncă) din punct de vedere al biosiguranței, laboratoarele se clasifică astfel :

- de bază - Nivel de biosiguranță 1
- de bază - Nivel de biosiguranță 2
- securizat - Nivel de biosiguranță 3
- înalt securizat - Nivel de biosiguranță 4

Această clasificare are la bază un complex de caracteristici ce se referă la proiectarea și construcția laboratorului, nivelul de securizare, dotarea cu echipamente, practicile și procedurile operaționale pe care le implică manipularea microorganismelor din diferite grupuri de risc.

Fără a fi exhaustiv, tabelul de mai jos prezintă corespondența dintre grupul de risc în care se încadrează agentul biologic și nivelul de biosiguranță al laboratorului în care acesta se manipulează.

Tabel 2. Relația dintre grupurile de risc și nivelele de biosiguranță

Grup de risc	Nivel de biosiguranță	Tip de laborator	Practici de laborator	Echipe de protecție
1	De bază - Nivel de biosiguranță 1	Învățământ, cercetare	GMT	Nici un fel; suprafață de lucru deschisă
2	De bază - Nivel de biosiguranță 2	Servicii de asistență primară; diagnostic, cercetare	GMT plus îmbrăcăminte de protecție și semn de pericol biologic	Suprafață de lucru deschisă plus HSB pentru producerea eventuală de aerosoli
3	Securizat – Nivel de biosiguranță 3	Servicii speciale de diagnostic, cercetare	Similar cu nivelul 2 plus îmbrăcăminte specială, acces controlat, flux de aer direcționat	HSB și/sau alte dispozitive primare pentru toate activitățile
4	Înalt securizat - Nivel de biosiguranță 4	Unități pentru agenți patogeni periculoși	Similar cu nivelul 3 plus intrare etanșă, duș la ieșire, eliminare specială a deșeurilor	HSB clasa a III-a sau costum cu presiune pozitivă combinat cu HSB clasa a II-a, autoclav cu două căi de acces (transmural), aer filtrat

GMT = Good Microbiological Techniques (practici microbiologice corecte)

HSB = Hotă de siguranță biologică

OMS recomandă elaborarea la nivel național sau regional a unei clasificări a microorganismelor, pe baza grupurilor de risc, luând în considerare următoarele :

1. Patogenicitatea microorganismului.
2. Modul de transmitere și tipul de gazdă caracteristice microorganismului, elemente ce pot fi influențate de nivelul de imunitate al populației, densitatea și mobilitatea populației gazdă, prezența vectorilor și de nivelul de igienă a mediului.
3. Posibilitățile locale de aplicare a unor măsuri preventive eficace. Acestea pot include : profilaxia prin imunizare activă (vaccinare) sau pasivă (administrare de antiseruri / imunoglobuline specifice); aplicarea de măsuri sanitare, ca de exemplu cele privind igiena alimentelor și a apei; controlul rezervorului animal sau al vectorilor reprezentați de artropode.
4. Posibilitățile de administrare a unor tratamente eficace. Acestea pot include: imunizarea pasivă, vaccinările postexpunere, folosirea de antibiotice, antivirale și agenți chimioterapici, luând în considerare și posibilitatea emergenței de tulpini rezistente la acestea.

Desemnarea nivelului de biosiguranță pentru lucrul în laborator trebuie să se bazeze pe evaluarea riscului. Pentru stabilirea nivelului corect de biosiguranță, evaluarea va lua în considerare grupul de risc căruia îi aparține agentul biologic, dar și alți factori ce pot interveni.

HG 1092/2006, privind protecția lucrătorilor împotriva riscurilor legate de expunerea la agenți biologici în muncă precizează la cap. V – secțiunea 2 măsurile speciale aplicabile laboratoarelor unde sunt prezenți agenți biologici din grupele 2, 3, 4.

Pentru exemplificare, un agent biologic aparținând grupului de risc 2 necesită în general localuri și utilități, echipamente, practici și proceduri pentru desfășurarea în siguranță a activităților caracteristice nivelului de biosiguranță 2. Dacă totuși anumite experimente sunt generatoare de aerosoli în concentrații mari, nivelul de biosiguranță 3 este mai indicat, asigurând un grad superior de limitare a aerosolilor la spațiul de lucru al laboratorului.

Aprecierea nivelului de biosiguranță necesar desfășurării unei anumite activități este ghidată de judecata profesională bazată pe evaluarea riscului, și nu doar pe desemnarea mecanică a unui nivel de biosiguranță a laboratorului după grupul de risc căruia îi aparține microorganismul patogen care urmează a fi manipulat

În tabelul de mai jos se prezintă, conform Ghidului național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale, principalele cerințe pentru fiecare nivel de biosiguranță.

Rezumat al cerințelor nivelelor de biosiguranță

Nivel de biosiguranță	1	2	3	4
Izolarea(a) laboratorului	Nu	Nu	Da	Da
Încăpere etanșabilă pentru decontaminare	Nu	Nu	Da	Da
Ventilația: - flux de aer direcționat spre interior	Nu	De dorit	Da	Da
- sistem de ventilație	Nu	De dorit	Da	Da

controlat - evacuarea aerului prin filtre HEPA	Nu	Nu	Da / Nu(b)	Da
Intrare cu ușă dublă	Nu	Nu	Da	Da
Sas (c)	Nu	Nu	Nu	Da
Sas cu duș	Nu	Nu	Nu	Da
Anticameră	Nu	Nu	Da	Da
Anticameră cu duș	Nu	Nu	Da / Nu(d)	Nu
Tratarea efluenților	Nu	Nu	Da / Nu(d)	Da
Autoclav: - În instituție/clădire	Da	Da	Da	Da
- în laborator	Nu	Nu	De dorit	Da
- cu acces dublu (transmural)	Nu	Nu	De dorit	Da
Hote de siguranță biologică	Nu	De dorit	Da	Da
Capacitate de monitorizare a siguranței personalului (e)	Nu	Nu	De dorit	Da

unde

- (a) Izolarea fizică și funcțională a laboratorului de circulația generală a personalului.
- (b) Depinde de locul de evacuare (c) *Sas - Incintă prevăzută cu două sau mai multe uși interpusă între două sau mai multe încăperi (de exemplu cu presiuni diferite), pentru a controla fluxul de aer între acestea. Un sas poate fi proiectat și utilizat, fie pentru personal, fie pentru materiale sau probe.*
- (d) Depinde de agenții microbieni manipulați în laborator.
- (e) De exemplu, fereastră de vizualizare, sistem de supraveghere video, două căi de comunicare
În consecință, stabilirea nivelului de biosiguranță ia în considerație agentul biologic (agentul patogen) folosit, facilitățile disponibile, echipamentele și procedurile necesare desfășurării activității de laborator în condiții de siguranță.

Evaluarea riscului biologic

Pentru orice activitate susceptibilă să prezinte un risc de expunere la agenți biologici, angajatorul trebuie să determine natura, nivelul și durata de expunere, pentru a se putea evalua orice risc pentru sănătatea și securitatea lucrătorilor și pentru a se putea stabili măsurile ce trebuie luate.

Pentru toate activitățile susceptibile de a prezenta un risc de expunere la agenți biologici aparținând mai multor grupe, riscurile sunt evaluate pe baza pericolelor reprezentate de către toți agenții biologici periculoși prezenți.

Angajatorul trebuie să reînnoiască periodic evaluarea riscurilor și, în orice caz, la orice modificare a condițiilor de lucru care pot să determine expunerea lucrătorilor la agenți biologici, precum și atunci când crește numărul bolilor profesionale pe care le-a înregistrat.

Evaluarea riscurilor profesionale se efectuează pe baza tuturor informațiilor existente și, mai ales, pe baza:

- a) clasificării agenților biologici care constituie sau pot constitui un pericol pentru sănătate;
- b) recomandărilor emise de inspectorii de muncă și/sau de inspectorii autorităților de sănătate publică, ce indică necesitatea ca agentul biologic să fie controlat în scopul de a proteja sănătatea lucrătorilor care sunt sau pot fi expuși acestui agent biologic, în cursul activității lor;
- c) informațiilor asupra bolilor ce pot fi contractate datorită unei activități profesionale a lucrătorilor;
- d) efectelor alergice și toxicogene ce pot să rezulte ca urmare a activității lucrătorilor;
- e) faptului că un lucrător suferă de o boală legată direct de munca sa.

Unul din cele mai utile instrumente pentru evaluarea riscului biologic este listarea grupurilor de risc pentru agenții biologici, dar simpla referire la grupurile de risc este insuficientă pentru evaluarea riscului.

Pentru realizarea unei evaluări a riscului biologic trebuie luați în considerare următorii factori:

1. Patogenitatea agentului infecțios și doza infectantă
2. Consecințele posibile ale expunerii
3. Calea naturală de infectare
4. Alte căi de transmitere, rezultate în urma manipulării în laborator (parenterală, aeriană, ingerare)
5. Stabilitatea agentului infecțios în mediul extern
6. Concentrația agentului infecțios și volumul de material concentrat ce se manipulează
7. Disponibilitatea unei gazde adecvate/susceptibile (umane sau animale)
8. Informații disponibile din studii pe animale, raportări privind infecții dobândite în laborator (profesionale) sau raportări de cazuri clinice
9. Intenția de a utiliza anumite tehnici în laborator (ultrasonarea, aerosolizarea, centrifugarea, etc)
10. Orice manipulare genetică a microorganismului care poate duce la extinderea gamei de gazde susceptibile sau poate modifica sensibilitatea acestuia la terapiile considerate eficiente
11. Accesul efectiv la măsuri profilactice sau terapeutice eficiente.

Pe baza informațiilor obținute prin evaluarea riscului, se stabilește nivelul de siguranță biologică necesar desfășurării activității planificate, se selectează echipamentul corespunzător protecției personalului și procedurile operaționale standard (POS) ce vor include aspecte de siguranță a muncii, cu scopul desfășurării activității în modul cel mai sigur posibil.

Probe despre care există informații limitate

Procedurile de evaluare a riscului descrise mai sus se aplică cu succes atunci când dispunem de suficiente informații. Sunt însă situații când informațiile existente sunt insuficiente pentru a permite o evaluare corectă a riscului, cum este cazul probelor clinice sau al celor epidemiologice colectate pe teren.

În aceste situații este prudent să se adopte o atitudine precaută în manipularea probelor.

1. Precauțiile standard trebuie respectate întotdeauna și se vor folosi barierele de protecție (mănuși, halate, protecție oculară), ori de câte ori probele provin de la pacienți.
2. Aplicarea practicilor și procedurilor pentru nivelul de biosiguranță 2 trebuie să reprezinte cerința minimă pentru manipularea probelor.
3. Transportul probelor trebuie să respecte regulile și reglementările naționale și/sau internaționale.

Anumite informații pot fi de mare ajutor pentru a ușura determinarea riscului de manipulare a acestor probe :

1. Datele medicale privind pacientul
2. Datele epidemiologice (date de morbiditate și mortalitate, calea de transmitere suspectată, alte date privind investigarea focarului)
3. Informații privind originea geografică a probei.

3. Laboratoarele de bază – Nivelele de Biosiguranță 1 și 2

Ghidului național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale prezintă cerințele minime pentru laboratoare clasificate pe toate nivelele de biosiguranță, care manipulează microorganisme din Grupurile de risc 1-4. Deși unele precauții pentru anumiți agenți biologici din Grupul de risc 1 pot părea mai puțin justificate, se recomandă aplicarea lor cu scopul însușirii și promovării practicilor microbiologice corecte.

Toate laboratoarele medicale (de sănătate publică sau de diagnostic clinic în ambulatorii, spitale etc) trebuie concepute conform unui Nivel de biosiguranță 2 sau peste. Deoarece nici un laborator nu are un control complet asupra probelor pe care le primește, personalul din laborator poate fi expus la microorganisme din grupuri de risc superioare celor anticipate. Această posibilitate trebuie luată în considerare când se elaborează planurile și politicile de biosiguranță. De regulă, precauțiile standard trebuie adoptate și aplicate întotdeauna.

Prezentăm în continuare regulile pentru laboratoarele de bază – Nivel de biosiguranță 1 și 2, acestea fiind sunt cuprinzătoare și fundamentale pentru toate laboratoarele, indiferent de nivelul de biosiguranță.

1. Codul de practici

Acest cod reprezintă reguli și proceduri scrise pentru efectuarea în siguranță a operațiunilor în laborator.

Fiecare laborator trebuie aibă o listă a celor mai importante practici și proceduri de laborator care stau la baza practicilor microbiologice corecte (good microbiological techniques = GMT) să adopte un manual de siguranță sau de operațiuni care să identifice pericolele cunoscute sau potențiale precum și procedurile și practicile specifice pentru eliminarea sau reducerea la minimum a acestor pericole. GMT sunt fundamentale pentru siguranța activităților de laborator. Echipamentul special de laborator este un element suplimentar, care nu va putea însă niciodată să înlocuiască aplicarea procedurilor corecte. Cele mai importante concepte sunt enumerate mai jos.

2. Accesul

1. Sigla internațională de avertizare și inscripția «Pericol biologic» (Figura 1) trebuie să fie afișate pe ușile încăperilor unde sunt manipulate microorganisme aparținând grupului de risc 2 sau mai mare.



2. Numai persoanele autorizate vor fi lăsate să intre în zonele de lucru ale laboratorului.
3. Ușile laboratorului trebuie să stea închise.
4. Copiii nu trebuie autorizați sau lăsați să intre în zonele de lucru ale laboratorului.
5. Accesul în biobaze trebuie să se facă numai pe baza unei autorizații speciale.
6. Nu se admite accesul altor animale în afara celor folosite pentru activitățile de laborator

3. Protecția individuală a personalului

1. Salopetele de laborator, halatele sau uniformele trebuie purtate tot timpul cât se lucrează în laborator.
2. Mănuși corespunzătoare de protecție trebuie purtate în timpul tuturor procedurilor care pot implica contactul direct sau accidental cu sânge, cu alte umori sau fluide ale organismului, cu alte materiale potențial infecțioase sau cu animale infectate. După utilizare, mănușile se scot aseptice și se spală mâinile.
3. Personalul trebuie să se spele pe mâini după manipularea materialelor infecțioase și a animalelor infectate și înainte de părăsirea zonei de lucru a laboratorului.
4. Ochelarii de protecție, ecranele de protecție facială sau alte dispozitive de protecție trebuie purtate ori de câte ori este necesară protecția ochilor și a feței de stropi, obiecte impactante și surse artificiale de radiații ultraviolete.
5. Este interzisă purtarea îmbrăcămînții protectoare de laborator în afara laboratorului, de exemplu în cantine, camere de oficiu, biblioteci, toalete, etc.
6. Încălțămîntea decupată în partea din față (sandale) este improprie purtării în laborator.
7. Consumul de alimente, băuturi, machiajul și manipularea lentilelor de contact sunt interzise în zonele de lucru ale laboratorului.
8. Depozitarea de alimente sau băuturi oriunde în zona de lucru a laboratorului este interzisă.
9. Îmbrăcămîntea și încălțămîntea de protecție ce a fost utilizată în laborator nu trebuie să fie depozitată în aceleași dulapuri cu îmbrăcămîntea și încălțămîntea de stradă.

4. Procedurile

1. Pipetarea cu gura este strict interzisă.
2. Nici un material nu trebuie dus la gură. Etichetele nu trebuie umectate cu limba înainte de lipire.
3. Toate procedurile tehnice trebuie efectuate într-un mod care să reducă la minimum formarea de aerosoli și picături.
4. Folosirea acelor și seringilor hipodermice trebuie limitată. Ele nu trebuie folosite ca substituenți ale dispozitivelor de pipetare sau pentru oricare altă manoperă ce nu reprezintă injecții parenterale sau aspirarea de fluide de la animalele de laborator.
5. Toate stropirile accidentale și expunerile evidente sau posibile cu material infecțios trebuie raportate responsabilului laboratorului. Se va păstra o evidență scrisă a acestor accidente și incidente.
6. Se va elabora și aplica o procedură scrisă pentru curățarea-inactivarea substanțelor vărsate.
7. Lichidele contaminate trebuie decontaminate (chimic sau fizic) înainte de evacuarea lor în rețeaua de canalizare. În funcție de riscul evaluat se poate dezvolta un sistem de tratare a acestor lichide.
8. Documentele ce urmează a fi scoase din laborator trebuie să fie protejate pe toată perioada cât se află în laborator, pentru a nu fi contaminate.

5. Zonele de lucru ale laboratorului

1. În laborator trebuie păstrată curățenia și ordinea, eliminându-se toate materialele care nu sunt necesare pentru munca desfășurată în laborator.
2. Suprafețele de lucru trebuie decontaminate după fiecare vărsare de materiale potențial periculoase precum și la sfârșitul zilei de lucru.
3. Toate materialele contaminate, probele și culturile, trebuie decontaminate înainte de a fi îndepărtate sau curățate pentru refolosire.
4. Ambalarea și transportul trebuie să respecte reglementările naționale și/sau internaționale în vigoare.
5. Ferestrele ce pot fi deschise trebuie prevăzute cu plase/ecrane pentru insecte.

6. Caracteristici de proiectare:

1. Trebuie asigurat un spațiu suficient pentru desfășurarea în siguranță a muncii de laborator și pentru curățenie și întreținere

2. Pereții, tavanele și pavimentele trebuie să fie netede, ușor de curățat, impermeabile la lichide și rezistente la substanțele chimice și dezinfectantele folosite uzual în laborator. Pavimentele nu trebuie să fie alunecoase.
3. Suprafața meselor de lucru trebuie să fie impermeabilă la apă, rezistentă la dezinfectante, acizi, baze, solvenți organici și la căldură.
4. Iluminatul trebuie să fie adecvat pentru desfășurarea tuturor activităților. Reflexiile și strălucirile nedorite trebuie evitate.
5. Mobilierul de laborator trebuie să fie rezistent. Spațiile deschise între și sub mese, hote și echipamente trebuie să fie accesibile pentru curățenie.
6. Trebuie prevăzute spații de depozitare adecvate pentru materialele de folosință imediată, prevenind astfel aglomerarea acestora pe mesele de lucru și în spațiile libere dintre acestea. Trebuie, deasemenea, prevăzute spații suplimentare pentru depozitarea pe termen lung, localizate corespunzător în afara zonelor de lucru.
7. Trebuie asigurate spații și facilități adecvate pentru manipularea și depozitarea în siguranță a solventilor, materialelor radioactive, a gazelor comprimate și lichefiate.
8. Procedurile care generează aerosoli se execută în Hota de siguranță biologică. Ușile sunt menținute închise și marcate cu semne de pericol adecvate. Deșeurile potențial contaminate sunt colectate separat de restul deșeurilor.
8. Spațiile pentru păstrarea îmbrăcăminții și încălțămintei de stradă și a obiectelor personale trebuie asigurate în afara zonelor de lucru.
9. Spațiile pentru mâncat, băut și odihnă trebuie asigurate în afara zonelor de lucru.
10. Chiuvete cu apă curentă pentru spălarea mâinilor trebuie să existe în fiecare încăpere a laboratorului, preferabil lângă ușa de ieșire.
11. Ușile trebuie să aibă geamuri sau vizoare, să fie conforme cu normele de protecție contra incendiilor și, de preferat, să se închidă singure.
12. Pentru Nivelul de biosiguranță 2 trebuie ca un autoclav sau alte mijloace de decontaminare să fie accesibile în imediata apropiere a laboratorului.
13. Sistemele de securitate trebuie să cuprindă protecția împotriva focului, urgențelor electrice, să prevadă dușuri de urgență și facilități pentru spălarea ochilor.
14. Trebuie să existe zone sau camere de prim ajutor echipate adecvat și accesibile.
15. La proiectarea de facilități noi, trebuie luată în considerare asigurarea de sisteme mecanice de ventilație, care să asigure un flux de aer direcționat spre interior, fără recirculare. Dacă nu există ventilație mecanică, ferestrele trebuie să se poată deschide și trebuie prevăzute cu plase împotriva pătrunderii insectelor.
17. Trebuie să existe o sursă sigură și adecvată de curent electric și un sistem de iluminare pentru situațiile de urgență care să faciliteze ieșirea din laborator. Un generator de rezervă este de dorit pentru susținerea echipamentelor esențiale (incubatoare, hote de biosiguranță, congelatoare, etc.) și pentru ventilarea cuștilor cu animale.
18. Trebuie să existe o sursă sigură și adecvată de gaz. Buna întreținere a instalației este obligatorie.

7. Echipamentele de laborator

Împreună cu procedurile și practicile corecte, utilizarea echipamentelor contribuie la reducerea riscului. În continuare prezentăm principiile de bază legate de echipamentele utilizate în laboratoare.

Echipamentul trebuie:

1. Să fie conceput astfel încât să prevină sau să limiteze contactul dintre operator și materialul infecțios.
2. Să fie confecționat din materiale impermeabile la lichide, rezistente la coroziune și corespunzătoare ca structură.
3. Să fie confecționat astfel încât să nu aibă asperități, margini ascuțite și părți mobile neprotejate.
4. Să fie proiectat, construit și instalat pentru a facilita operarea simplă și întreținerea, curățarea, decontaminarea și testarea în vederea certificării; ori de câte ori este posibil, se va evita utilizarea sticlăriei și a altor materiale casante.

8. Echipamente esențiale pentru asigurarea securității și sănătății lucrătorilor

1. Dispozitive de pipetare, pentru a evita pipetarea cu gura. Sunt disponibile diverse modele.
2. Hotele de biosiguranță, ce trebuie folosite ori de câte ori:
 - se manipulează materiale infecțioase; aceste materiale pot fi centrifugate în spațiul deschis al laboratorului dacă se folosesc cupe de centrifugă cu dispozitiv de securizare și dacă sunt introduse și descărcate într-o hotă de biosiguranță
 - există risc crescut de infecții aerogene
 - se folosesc proceduri cu potențial ridicat de producere de aerosoli: centrifugarea, mojararea, secționarea, agitarea sau mixarea viguroasă, dezintegrarea sonică, deschiderea containerelor cu material infecțios cu presiune internă diferită de presiunea ambiantă, inocularea intranasală a animalelor și recoltarea de țesuturi infectate de la animale și ouă, etc.
3. Anse de transfer de unică folosință din plastic. Alternativ, în scopul reducerii producerii de aerosoli, în interiorul hotei de biosiguranță se pot folosi incineratoare electrice pentru anse de transfer.
4. Tuburi și flacoane cu capace prevăzute cu filet.
5. Autoclave sau alte mijloace folosite pentru decontaminarea materialului infecțios.
6. Pipete Pasteur de unică folosință din plastic, ori de câte ori este posibil, evitând utilizarea celor din sticlă.
7. Echipamentele precum autoclavele și hotele de biosiguranță trebuie validate cu metode adecvate înainte de a fi introduse în uz. Acestea trebuie recertificate la intervale regulate de timp, în acord cu instrucțiunile producătorului.

9. Supravegherea stării de sănătate a personalului

Fiecare lucrator sa fie supravegheat medical corespunzător înainte de expunere profesională și, în continuare, periodic, făcând astfel posibilă aplicarea directă a măsurilor de medicina generală și de medicina muncii.

Angajatorul este responsabil de asigurarea unei supravegheri adecvate a stării de sănătate a personalului laboratorului. Obiectivul acestei supravegheri este monitorizarea stării de sănătate în relație cu factorul ocupațional. Activitățile ce trebuie desfășurate pentru îndeplinirea acestor obiective sunt:

1. Imunizarea activă și pasivă ori de câte ori acest lucru este indicat (vezi Anexa 4 din HG 1092/2006).
2. Facilitarea depistării precoce a infecțiilor dobândite în laborator.
3. Excluderea indivizilor cu susceptibilitate crescută, ca de exemplu femeile însărcinate sau persoanele imunodeprimite, din locurile sau activitățile de laborator cu pericolozitate crescută.
4. Asigurarea personalului cu echipamente de protecție și proceduri eficiente.

10. Informarea și instruirea lucrătorilor

Erorile umane și tehnica deficitară pot compromite și cele mai bune reguli și bariere de siguranță menite a proteja personalul laboratorului. Pe de altă parte, un personal conștient de exigențele impuse de regulile de protecție, bine informat pentru recunoașterea și stăpânirea pericolelor din laborator, este cheia prevenirii producerii acestor infecții, a incidentelor și accidentelor. În acest scop, instruirea continuă la locul de muncă privind măsurile de prevenire și protecție este esențială. Un program eficient de siguranță începe cu conducerea laboratorului, care trebuie să se asigure că practicile și procedurile de protecție sunt integrate în instruirea de bază a salariaților. Instruțajul în ceea ce privește măsurile de prevenire și protecție trebuie să fie parte integrantă a instruirii noilor lucrători din laborator.

Instruirea lucrătorilor ar trebui să cuprindă întotdeauna informații despre metodele sigure în cazul procedurilor cu risc crescut, cu care întreg personalul laboratorului se întâlnește în mod curent și care implică :

1. Riscul de inhalare (ex. producerea de aerosoli) cu ocazia folosirii anselor, însămânțării plăcilor, pipetării cu gura, etalării frotiurilor, deschiderii recipientelor ce conțin culturi, recoltării de probe de sânge / ser, centrifugării, etc.

2. Riscul de ingerare, cu ocazia manipulării probelor, frotiurilor și culturilor.
3. Riscul de expunere percutană, prin folosirea seringilor și acelor.
4. Mușcături și zgârieturi în cazul manipulării animalelor.
5. Manipularea sângelui și a altor produse patologice potențial periculoase.
6. Decontaminarea și eliminarea materialelor infecțioase.

11. Manipularea deșeurilor

Se consideră deșeuri toate materialele care se aruncă.

În laboratoare, în desfășurarea activității cotidiene, decontaminarea deșeurilor și eliminarea finală a acestora sunt strâns legate. Un număr foarte mic de materiale contaminate necesită îndepărtarea efectivă din laborator sau distrugerea. Majoritatea sticlăriei, instrumentelor și articolelor de îmbrăcăminte sunt refolosite sau reciclate.

Principiul general ce trebuie să funcționeze este că toate materialele infecțioase vor fi decontaminate, autoclavate sau incinerate în laborator.

Principalele probleme care se pun, înainte de eliminarea oricărui obiect sau material din laboratoarele ce lucrează cu microorganisme potențial infecțioase sau țesuturi de la animale sunt:

1. Au fost obiectele sau materialele respective eficient decontaminate sau dezinfectate printr-o procedură autorizată?

2. Dacă nu, au fost ele ambalate într-un mod autorizat pentru incinerare imediată la fața locului sau pentru transfer într-o altă locație cu posibilități de incinerare?

3. Aruncarea obiectelor sau materialelor decontaminate implică eventual alte pericole adiționale, biologice sau de alt tip, pentru cei care îndeplinesc procedurile de eliminare sau care ar putea veni în contact cu obiectele eliminate în afara perimetrului respectiv?

12. Decontaminarea

Autoclavarea cu abur este metoda de elecție pentru toate procesele de decontaminare.

Materialele care urmează să fie decontaminate și eliminate vor fi puse în containere adecvate (ex. saci din plastic autoclavabil, cu coduri de culori care indică destinația conținutului acestora pentru autoclavare și/sau incinerare). Pot fi luate în considerație și metode alternative doar dacă acestea îndeplinesc și/sau omoară microorganismele.

Procedurile de manipulare și eliminare a materialelor contaminate și a deșeurilor

Trebuie adoptat un sistem de identificare și de separare a materialelor infecțioase și a containerelor respective. Vor fi obligatoriu respectate reglementările naționale și internaționale în domeniu. Categoriile care se includ sunt următoarele:

1. Deșeurile necontaminate (neinfecțioase) care pot fi refolosite, reciclate sau eliminate ca deșeuri generale sau menajere
2. Obiectele ascuțite (tăietoare-înțepătoare) contaminate (ex. ace hipodermice, bisturie, cuțite și cioburi de sticlă); acestea vor fi întotdeauna colectate în containere rezistente la înțepare-tăiere, prevăzute cu capace și vor fi tratate ca infecțioase.
3. Materialul contaminat destinat decontaminării prin autoclavare urmată de spălare și refolosire sau reciclare.
4. Materialul contaminat destinat autoclavării și eliminării.
5. Materialul contaminat destinat incinerării directe.

Obiectele ascuțite

După utilizare, acele hipodermice nu trebuie reacoperite, tăiate sau detașate din seringile de unică folosință. Întregul ansamblu trebuie plasat în containerul pentru obiecte ascuțite. Seringile de unică folosință, folosite separat sau cu ace, trebuie plasate în containere și incinerate, cu autoclavare prealabilă dacă este necesar.

Containerele pentru obiecte ascuțite (tăietoare-înțepătoare) trebuie să fie rezistente la înțepare tăiere și nu trebuie umplute la capacitatea maximă. Când sunt umplute pe $\frac{3}{4}$, aceste containere trebuie plasate în containere pentru «deșeuri infecțioase» și incinerate, cu autoclavare prealabilă dacă practica laboratorului o necesită. Containerele pentru obiecte tăietoare-înțepătoare nu trebuie aruncate în mediul înconjurător.

Materiale contaminate (potențial infecțioase) destinate autoclavării și refolosirii

Se interzice curățarea prealabilă a oricărui material contaminat (potențial infecțios) destinat autoclavării și refolosirii. Orice curățare sau reparație trebuie făcută doar după autoclavare sau dezinfectie.

Materiale contaminate (potențial infecțioase) destinate eliminării

În afară de obiectele tăietoare-înțepătoare, care au fost tratate mai sus, toate materialele contaminate (potențial infecțioase) trebuie autoclavate în containere etanșe, de exemplu saci de plastic autoclavabil, colorați conform codurilor de culori, înainte de a fi eliminate. După autoclavare, materialul poate fi plasat în containere de transfer către incinerator. Dacă este posibil, materialele rezultate din activitățile de asistență medicală nu trebuie eliminate în mediul extern, la rampele de depozitare a deșeurilor, nici după decontaminare. Dacă există un incinerator disponibil la nivelul laboratorului, autoclavarea se poate omite: deșeurile contaminate trebuie plasate în containere speciale (de exemplu, saci cu culori corespunzătoare unui cod) și transportate direct la incinerator. Containerele de transfer refolosibile trebuie să nu prezinte scurgeri și să aibă capace etanșe.

Recipiente de colectare, preferabil incasabile, trebuie plasate la fiecare punct de lucru. Când se folosește un dezinfectant, deșeurile materiale trebuie să rămână în contact direct cu acesta (ex. neprotejate de bule de aer) un interval de timp corespunzător, în conformitate cu instrucțiunile de folosire a dezinfectantului utilizat. Containerele de colectare și transport vor fi decontaminate și spălate înainte de refolosire.

Incinerarea deșeurilor contaminate trebuie să se facă în conformitate cu prevederile autorităților de sănătate publică și de protecție a mediului.

Laboratorul de bază – Nivel de Biosiguranță 1. Chestionar pentru evaluarea laboratorului

Element evaluat	Da	Nu	Nu e cazul	Observații
Laborator				
Semnalizare adecvată pentru sursele de UV, laser, surse de radioactivitate, etc				
Inscripționare/marcare corectă a echipamentelor: risc infecțios, radioactivitate, toxicitate				
Proiectarea laboratorului				
Conceput pentru a fi ușor de curățat				
Comutator alternativ cu lumina pentru sursele de UV din încăperi, accesibil și din exterior				
Fixarea solidă a tuturor etajerelor / rafturilor				
Blaturile meselor sunt impermeabile pentru apă și rezistente la acizi, baze, solvenți organici și temperaturi ridicate				
Iluminare adecvată				
Existența unor spații de depozitare adecvate și corect utilizate				
Cilindri cu gaze				

Toți cilindrii cu gaze sunt păstrați în condiții de siguranță				
Cilindrii de rezervă sunt păstrați cu capacele de siguranță montate				
Gazele asfixiante și/sau periculoase sunt utilizate doar în incinte cu ventilație suplimentară				
Substanțe chimice				
Substanțele chimice inflamabile sunt depozitate în încăperi special destinate acestora				
Substanțele generatoare de peroxizi sunt inscripționate cu data intrării și data deschiderii				
Substanțele chimice sunt păstrate separat, pe categorii				
Substanțele chimice periculoase sunt depozitate la un nivel superior nivelului ochilor.				
Existența de substanțe chimice depozitate pe pardoseală				
Existența de containere cu substanțe chimice neacoperite				
Toate soluțiile sunt etichetate corect ?				
Se folosesc termometre cu mercur ?				
Frigidere / congelatoare/ camere frigorifice				
Sunt prezente în ele alimente pentru consum uman				
Prezența etichetelor externe de avertizare pe echipamentele care conțin substanțe carcinogene, radioactive, toxice, și/sau elemente care implică pericol biologic.				
Camerele frigorifice sunt prevăzute cu dispozitive de siguranță care să permită deschiderea ușilor din interior				
Echipament electric				
Prezența de cabluri prelungitoare între echipament și priză				
Prize și aparate cu împământare				

Existența de conectări electrice în apropierea chiuvetelor, sub dușuri, etc				
Existența de echipamente cu cabluri electrice care prezintă semne de deteriorare				
Existența de prize sau conductori electrici suprasolicitați				
Existența de cabluri electrice montate pe pardoseală				
Existența de siguranțe electrice adecvate în circuite				
Prizele electrice plasate lângă surse de apă respectă reglementările naționale				
Existența de cabluri electrice cu împământare				
Existența de surse de încălzire electrice mobile în încăperi				
Echipament de protecție individuală pentru personal				
Posibilitatea efectuării lavajului ocular în laborator				
Existența dușurilor de siguranță				
Echipament de protecție individuală disponibil : mănuși, halate, ochelari				
Purtarea corectă a echipamentului de protecție (halate, șorțuri, bonetă, etc)				
Echipamentul de protecție individuală nu este purtat în afara laboratorului				
DEȘEURI				
Existența de indicii care probează depozitarea incorectă a deșeurilor				
Deșeurile sunt sortate și depozitate în containere separate?				
Existența de containere cu deșeuri chimice etichetate, marcate, datate și păstrate închise				
Containerele cu deșeuri chimice sunt manipulate și depozitate corect ?				
Containerele pentru obiecte înțepătoare/ tăietoare sunt utilizate și îndepărtate în mod corect ?				
Pardoseala nu prezintă urme de deșeuri				

Procedurile de îndepărtare a deșeurilor sunt afișate în laborator				
Securitate și sănătate în muncă				
S-a făcut informarea riscurilor la care sunt expuși lucrătorii la locul de muncă				
Asigurarea protecției căilor respiratorii				
Asigurarea protecției auzului				
Monitorizarea formalhidei				
Monitorizarea etilen dioxidului				
Monitorizarea gazelor anestezie				
Controale tehnice generale				
Fluxul de aer din laborator nu este orientat către celelalte sectoare de activitate, coridoare, oficiu, vestiar, birouri				
Există chiuvete și sifoane de pardoseală ce permit refularea aerului din canalizare ?				
Sunt disponibile chiuvete pentru spălarea mâinilor oriunde trebuie ?				
Practici și proceduri generale				
Se păstrează alimente pentru consumul uman în aria laboratorului ?				
Cuptoarele cu microunde din laborator sunt în mod clar etichetate: „Doar pentru uz de laborator. Este interzisă prepararea alimentelor!”				
Consumul de alimente și băuturi, fumatul, aplicarea de cosmetice în incinta laboratorului				
Recipientele de sticlă aflate sub presiune sunt protejate				
Este interzisă pipetarea cu gura				
Există și sunt folosite dispozitive mecanice de pipetare				
Îmbrăcămintea de protecție pentru laborator este păstrată separat de îmbrăcămintea de stradă				

Gospodărirea generală a laboratorului				
Existența unor recipiente de sticlă păstrate pe pardoseală				
Se constată erori evidente potențial periculoase				
Existența unor materiale absorbante curate disponibile la posturile de lucru				
Cioburile de sticlă sunt manipulate cu mijloace mecanice: perie, fâraș, pensă				

Laboratorul de bază – Nivel de Biosiguranță 2. Chestionar pentru evaluarea laboratorului

Element evaluat	Da	Nu	Nu e cazul	Observații
Hota de Biosiguranță (HSB)				
Laboratorul				
Acces limitat / restricționat. Permisuni de a intra doar pentru personalul laboratorului				
Acces limitat doar pentru personalul avizat asupra tuturor pericolelor potențiale				
Sigla de Pericol biologic este afișată în mod corespunzător pe ușa laboratorului				
Sigla și informațiile sunt lizibile și nedeteriorate				
Toate ușile sunt menținute închise				
Decontaminarea				
Decontaminanții utilizați sunt activi asupra agenților microbieni manipulați în laborator				
Toate accidentele și împrăștierea (stropiri, deversări) care implică material infecțios sunt raportate șefului de laborator				
Folosirea unor decontaminanți adecvați pentru neutralizarea materialului infecțios împrăștiat				
Suprafețele de lucru sunt decontaminate înainte și după fiecare procedură, zilnic și după fiecare împrăștiere accidentală				

Manipularea deșeurilor contaminate				
Containerele pentru deșeuri potențial infecțioase sunt folosite corect				
Containerele pentru deșeuri potențial infecțioase nu sunt umplute până la refuz				
Containerele pentru deșeuri potențial infecțioase sunt corect etichetate și închise				
Culturile și deșeurile obișnuite sunt decontaminate corect înainte de evacuare				
Materialele care se decontaminează în afara laboratorului sunt transportate în containere etanșe, închise și rezistente, în concordanță cu procedurile locale și reglementările legale Deșeurile mixte sunt decontaminate din punct de vedere biologic înainte de a fi eliminate ca deșeuri chimice și/sau radiologice				
Protecția personalului				
Personalul laboratorului este informat periodic asupra imunizărilor/testărilor corespunzătoare agenților biologici manipulați				
Examene medicale periodice, supraveghere și tratament pentru expunerile profesionale prin servicii de medicina muncii				
Materialele și echipamentele contaminate biologic se manipulează cu mănuși				
Protecția feței ori de câte ori se lucrează cu material contaminat biologic în afara hotelor				
Spălarea mâinilor : - după îndepărtarea mănușilor - după lucrul cu agenți infecțioși - înainte de a părăsi laboratorul				
Sunt disponibili agenți antimicrobieni pentru un prim ajutor prompt				
Practici și proceduri generale				
Se păstrează alimente pentru consumul uman în aria laboratorului ?				
Cuptoarele cu microunde din laborator sunt în mod clar etichetate: „Doar pentru uz de laborator. Este interzisă prepararea				

alimentelor!”				
Consumul de alimente și băuturi, fumatul, aplicarea de cosmetice în incinta laboratorului				
Recipientele de sticlă aflate sub presiune sunt protejate				
Este interzisă pipetarea cu gura				
Există și sunt folosite dispozitive mecanice de pipetare				
Îmbrăcămintea de protecție pentru laborator este păstrată separat de îmbrăcămintea de stradă				
Frigidere / congelatoare/ camere frigorifice				
Sunt prezente în ele alimente pentru consum uman				
Prezența etichetelor externe de avertizare pe echipamentele care conțin substanțe carcinogene, radioactive, toxice, și/sau elemente care implică pericol biologic.				
Camerele frigorifice sunt prevăzute cu dispozitive de siguranță care să permită deschiderea ușilor din interior				
Echipament electric				
Prezența de cabluri prelungitoare între echipament și priză				
Prize și aparate cu împământare și polaritate corecte				
Existența de conectări electrice în apropierea chiuvetelor, sub dușuri, etc				
Existența de echipamente cu cabluri electrice care prezintă semne de deteriorare				
Existența de prize sau conductori electrici suprasolicitați				
Existența de cabluri electrice montate pe pardoseală				

Existența de siguranțe electrice adecvate în circuite				
Prizele electrice plasate lângă surse de apă respectă reglementările naționale				
Existența de cabluri electrice cu împământare				
Existența de surse de încălzire electrice mobile în încăperi				
Echipament de protecție individuală pentru personal				
Posibilitatea efectuării lavajului ocular în laborator				
Existența dușurilor de siguranță				
Echipament de protecție individuală disponibil : mănuși, halate, ochelari				
Purtarea corectă a echipamentului de protecție (halate, șorțuri, bonetă, etc)				
Echipamentul de protecție individuală nu este purtat în afara laboratorului				
Managementul deșeurilor				
Existența de indicii care probează depozitarea incorectă a deșeurilor				
Deșeurile sunt sortate și depozitate în containere separate?				
Existența de containere cu deșeuri chimice etichetate, marcate, datate și păstrate închise				
Containerele cu deșeuri chimice sunt manipulate și depozitate corect ?				
Containerele pentru obiecte înțepătoare/ tăietoare sunt utilizate și îndepărtate în mod corect ?				
Pardoseala nu prezintă urme de deșeuri				
Procedurile de îndepărtare a deșeurilor sunt afișate în laborator				

Echipamente de muncă și echipamente individuale de protecție la locul de muncă.

Potrivit art. 3 din HG 1146/2006 angajatorul este obligat sa ia măsurile necesare pentru ca echipamentul de munca pus la dispoziția lucrătorilor sa corespundă lucrului prestat ori sa fie adaptat acestui scop și sa poată fi utilizat de către lucrători, fără a pune în pericol securitatea sau sănătatea lor.

La alegerea echipamentelor de munca pentru asigurarea securității și sănătății lucrătorilor, angajatorul este obligat sa acorde o atentie deosebita tuturor condițiilor de munca,

caracteristicilor specifice acestora, precum și riscurilor existente, în special la locurile de munca din cadrul unității, și/sau riscurilor care sunt susceptibile să apară la utilizarea echipamentelor de munca.

Deoarece aerosolii reprezintă o importantă sursă de infecție, trebuie luate măsuri pentru a reduce formarea și răspândirea acestora. Aerosoli periculoși pot apărea în cursul unor variate operațiuni de laborator, de ex: amestecare, triturare, agitare, ultrasonare, centrifugare de material infecțios.

Tabelul de mai jos conține o listă a echipamentelor destinate eliminării sau reducerii unor pericole și definește succint caracteristicile lor de siguranță.

Echipament	Pericole vizate	Caracteristici care conferă siguranță
Hotă de securitate biologică	Aerosoli și stropi	Flux minim de aer orientat spre interiorul hotei de la nivelul fantei de acces pentru lucru (viteză redusă de acces frontal al aerului) Filtrare adecvată a aerului eliminat
Izolator din folie flexibilă cu presiune negativă	Aerosoli și stropi	Nivel maxim de securizare
Ecran de protecție	Stropi de substanțe chimice	Ecran între operator și aria de lucru
Dispozitive de pipetare	Pipetarea cu gura, (ingestia de patogeni, inhalarea de aerosoli produși prin aspirarea cu pipeta, picurarea de lichid, contaminarea capătului de suucțiune al pipetei)	Ușor de folosit. Controlul contaminării capătului de suucțiune al pipetei, protejând utilizatorul, dispozitivul de pipetare și instalația de vacuum. Se poate steriliza. Evită scurgerile din pipetă.
Microarzătoare pentru anse Anse de unică folosință	Stropi din ansele de transfer	Arzătorul cu gaz sau electric este introdus într-un tub de sticlă sau ceramică, deschis la gură Ansele de unică folosință nu impun tratament termic Recipient impermeabil închis cu capac
Recipiente sigure pentru colectarea și transportul materialelor	Aerosoli, împrăștiere și scurgere	Robustețe mecanică Autoclavabil

infecțioase în vederea sterilizării		
Containere pentru obiecte tăietoare/înțepătoare	Răni prin înțepare.	Autoclavabil. Robust, rezistent la înțepare/tăiere
Containere de transport între laboratoare sau instituții.	Contaminare accidentală cu microorganisme	Robust. Containere primare și secundare impermeabile pentru lichide Conțin materiale absorbante pentru reținerea lichidelor vărsate.
Autoclave manuale sau automate	Materiale infecțioase (decontaminare în vederea eliminării sau reutilizării)	Sterilizare eficace prin căldură
Recipiente cu capac înșurubat	Aerosoli și scurgeri	Securizare eficace
Dispozitiv de protecție a instalației de vid	Contaminarea cu aerosoli sau lichide a sistemului de vacuum al laboratorului	Filtre tip cartuș pentru a împiedica trecerea de aerosoli (mărimea particulelor cu dimensiunea de 0,45 μm). Recipiente cu dezinfectante adecvate, utilizate drept « capcane de vid ». Dispozitiv de cauciuc (supapă) pentru a închide automat vacuumul când recipientul este plin. Întreg dispozitivul este autoclavabil

Hotele de siguranță biologică1

Hotele de siguranță biologică (HSB) sunt destinate a proteja operatorul, mediul din laborator și materialele de lucru față de expunerea la aerosoli și picături care se pot produce în cursul manipulării materialelor conținând agenți infecțioși, cum ar fi culturile primare, tulpinile de colecție și probele de diagnostic. Aerosolii sunt produși de orice activitate care determină apariția de miniparticule sau stropi de material lichid sau semilichid, cum ar fi agitarea, turnarea, amestecarea sau picurarea unui lichid pe o suprafață sau într-un alt lichid. Activitățile de laborator precum însămânțarea plăcilor de agar prin efectuarea de striuri paralele, inocularea flacoanelor de culturi de celule cu o pipetă, folosirea unei pipete mono- sau multicanal pentru a distribui suspensii de agenți infecțioși în plăci de microcultură, efectuarea de diluții în tuburi sau plăci, omogenizarea și agitarea prin producerea de vârtej a materialelor infecțioase, centrifugarea lichidelor contaminate sau manipularea animalelor, pot

genera aerosoli infecțioși. Particulele de aerosoli cu diametrul sub 5 μm și picăturile mici, cu diametrul de 5-100 μm nu sunt vizibile cu ochiul liber.

Tehnicianul de laborator nu este, în general, avertizat asupra formării acestor particule și asupra faptului că ele pot fi inhalate sau pot contamina suprafețe și materiale. HSB, folosite corect, sunt foarte eficiente în reducerea frecvenței infecțiilor dobândite în laborator, evită contaminarea încrucișată a culturilor prin expunere la aerosoli și protejează mediul.

Dispozitive de pipetare

Dispozitivul de pipetare trebuie folosit întotdeauna atunci când se pipetează. **Este strict interzisă pipetarea cu gura.**

Importanța dispozitivelor de pipetare nu trebuie subapreciată. Cele mai frecvente pericole asociate cu pipetarea sunt rezultatul aspirării cu gura. Aspirarea și ingestia de materiale sunt cunoscute a fi cauza a numeroase infecții de laborator.

Germei patogeni mai pot fi transferați și prin degete contaminate puse pe capătul de aspirație al pipetei.

Un risc mai puțin cunoscut este inhalarea de aerosoli rezultați prin aspirare. Un dop de vată nu constituie un filtru microbial eficace la presiune negativă sau pozitivă și anumite particule pot trece prin el. Un dop de vată prea dens poate determina o pipetare violentă, urmată de aspirarea dopului, a unor aerosoli și chiar a lichidului. Ingestia de patogeni este evitată prin folosirea dispozitivelor de pipetare.

Aerosoli se mai pot forma și prin picurarea unui lichid din pipetă pe suprafața de lucru, prin aspirare și barbotare sau când se suflă ultima picătură din pipetă. Inhalarea aerosolilor a căror producere nu poate fi evitată în cursul operațiunilor de pipetare poate fi însă prevenită prin lucrul într-o HSB.

Dispozitivele pentru pipetare trebuie alese cu grijă. Tipul utilizat nu trebuie să genereze riscuri suplimentare și trebuie să fie ușor de sterilizat și curățat. Conuri de prelevare prevăzute cu filtru trebuie folosite ori de câte ori se manipulează microorganisme și culturi celulare.

Pipetele cu capetele de aspirație ciobite sau rupte nu trebuie folosite deoarece deteriorează lăcașul dispozitivelor de pipetare și prin aceasta generează pericole.

Omogenizatoare, agitatoare, mixere și aparate de ultrasonare

Se vor folosi doar cele special concepute pentru uzul în laboratoare, care prin construcție reduc sau evită eliberarea de aerosoli.

Omogenizatoarele închise de tip "stomacher" disponibile în prezent pentru prelucrarea de volume mici sau mari, pot genera și ele aerosoli.

Omogenizatoarele folosite pentru microorganisme din Grupul de Risc 3 vor fi încărcate și deschise numai în HSB. Aparatele de ultrasonare pot genera, de asemenea, aerosoli. Ele trebuie manipulate în HSB sau acoperite/ecranate în timpul folosirii. Capacele și exteriorul aparatelor de ultrasonare trebuie decontaminate după folosire.

Anse de unică folosință

Avantajul anselor de unică folosință este că nu trebuie sterilizate și pot fi folosite în HSB unde

becurile Bunsen și microarzătoarele perturbă fluxul de aer.

După folosire, ansele trebuie plasate în dezinfectant și evacuate ca orice material contaminat

Microarzătoare

Microarzătoarele cu gaz sau electrice sunt prevăzute cu ecrane de sticlă borosilicată sau ceramice, ceea ce reduce formarea stropilor și dispersia materialului infecțios în momentul sterilizării anselor. Microarzătoarele modifică totuși circuitul aerului și de aceea trebuie plasate în HSB cât mai în spate.

Îmbrăcăminte și echipament de protecție individuală

Îmbrăcămintea și echipamentul de protecție individuală constituie o barieră care reduce riscul de expunere la aerosoli, stropiri și inoculări accidentale și vor fi alese în funcție de specificul activității desfășurate. Îmbrăcămintea de protecție trebuie purtată ori de câte ori se lucrează în laborator. La părăsirea laboratorului, îmbrăcămintea de protecție se îndepărtează și se spală mâinile.

Tabelul de mai jos prezintă câteva tipuri de echipamente de protecție individuală folosite în laborator și protecția pe care o conferă.

Echipament	Pericole vizate	Caracteristici care conferă siguranță
Halate, costume și salopete de laborator	Contaminarea hainelor	Încheiate la spate. Să acopere hainele de stradă
Șorțuri de plastic	Contaminarea hainelor	Impermeabile pentru lichide
Încălțăminte	Impact și stropire	Fără decupare în față
Ochelari de protecție	Impact și stropire	Lentile rezistente la impact (pot fi optic corectoare sau aplicate peste ochelari) Apărători laterale
Ochelari de lucru	Impact	Lentile rezistente la impact, optic corectoare Apărători laterale
Ecrane protectoare pentru față	Impact și stropire	Să protejeze întreaga față Să fie ușor de îndepărtat în caz de accident
Dispozitive de protecție respiratorie	Inhalare de aerosoli	Modele variate: de unică folosință ; purificatoare de aer ce acoperă jumătate sau întreaga față ; mască sau glugă cu purificator de aer asistat mecanic; aparat de respirație asistată
Mănuși	Contact direct cu microorganismele	De unică folosință, avizate pentru uz microbiologic, confecționate din latex, vinil sau nitril Protecția mâinii
	Tăiere	Plasă metalică

1. Îmbrăcăminte de laborator, halate, șorțuri

Halatele de laborator ar trebui să se încheie până sus. Modelele de halate cu mânecă lungă, închise la spate și salopetele conferă o protecție mai bună decât halatele și bluzele obișnuite și sunt de preferat în laboratoarele de microbiologie sau pentru lucrul la HSB. Șorțurile purtate peste halate oferă o protecție suplimentară față de stropirea cu substanțe chimice sau materiale biologice, cum ar fi sânge sau culturi în mediu lichid. Trebuie prevăzută o spălătorie pentru echipamentul de lucru, situată în laborator sau în vecinătatea acestuia.

2. Ochelari de protecție, ochelari de lucru și ecrane protectoare pentru față

Alegerea echipamentului de protecție a ochilor sau a feței depinde de activitatea desfășurată.

Ochelarii de lucru cu sau fără dioptrii vor fi confecționați cu rame speciale în care lentilele se montează numai dinspre partea anterioară; lentilele sunt confecționate din material incasabil fiind curbate sau cu apărători laterale. Ochelarii de protecție ar trebui purtați peste ochelarii de vedere sau peste lentilele de contact, care nu conferă protecție împotriva pericolelor biologice sau chimice. Ecranele pentru față (vizoare) sunt confecționate din material plastic incasabil, protejează întreaga față și se fixează pe cap cu o bandă sau bonetă.

3. Dispozitive de protecție respiratorie

Protecția respiratorie este necesară când se execută proceduri cu mare pericolozitate (ex. curățarea unei deversări de material infecțios).

Alegerea tipului de dispozitiv depinde de tipul de pericol. Există dispozitive la care se pot monta diferite tipuri de filtre : pentru protecție împotriva diferitelor gaze, vapori, particule sau microorganisme.

Este absolut necesar ca filtrul să fie montat la dispozitivul de protecție respiratorie potrivit.

Pentru a obține o protecție maximă, dispozitivul ar trebui adaptat pentru fața fiecărei persoane și testat pentru eficacitate. Aparatele de asistență respiratorie cu containere proprii, cu butelie de aer, oferă protecție totală. Măștile de tip chirurgical sunt utile numai pentru protecția pacientului, dar nu oferă protecție operatorului. Pentru protecția împotriva agenților biologici au fost concepute și dispozitive de unică folosință (ISO 13.340.30).

Dispozitivele de protecție respiratorie nu trebuie purtate în afara spațiului laboratorului.

4. Mănuși

Măinile pot fi contaminate în timpul lucrului în laborator. De asemenea pot fi tăiate de obiecte ascuțite. Pentru munca obișnuită de laborator precum și pentru manipularea de agenți infecțioși, sânge și fluide biologice, se folosesc mănuși chirurgicale de unică folosință, avizate pentru uz microbiologic, confecționate din latex, vinil sau nitril. Pot fi folosite și mănuși reutilizabile, dar trebuie acordată atenție spălării, scoaterii, curățării și dezinfecției lor corecte.

Mănușile se scot și mâinile se spală bine după manipularea de material infecțios, după lucrul la o HSB sau înainte de părăsirea laboratorului. Mănușile de unică folosință utilizate se îndepărtează odată cu deșeurile infecțioase.

Au fost semnalate reacții alergice de tip dermatită și de hipersensibilitate imediată la personalul din laborator și la alți lucrători care au purtat mănuși din latex, mai ales din cele cu pudră. De aceea ar trebui să fie disponibile și alte tipuri de mănuși decât cele din latex cu pudră.

Mănușile din plasă de oțel inoxidabil ar trebui folosite când există o expunere potențială la instrumente tăioase, ex. examinări postmortem. Astfel de mănuși protejează împotriva tăierii, dar nu și a înțepării.

Mănușile nu trebuie purtate în afara spațiului laboratorului.

Tehnici de laborator

Eroarea umană, tehnicile defectuoase de laborator și folosirea incorectă a echipamentelor sunt cauzele majorității accidentelor de laborator și infecțiilor apărute la locul de muncă. Acest capitol oferă câteva metode care sunt indicate pentru a evita sau minimaliza riscurile biologice.

a. Manipularea în siguranță a probelor în laborator

Recoltarea, transportul și manipularea necorespunzătoare a probelor în laborator prezintă risc de infecție pentru personalul implicat.

Containerele pentru probe

Containerele pentru probe pot fi din sticlă sau preferabil din plastic. Ele trebuie să fie rezistente și nu trebuie să permită scurgerea materialului din ele când capacul sau dopul

este corect aplicat. Nimic din materialul recoltat nu trebuie să rămână în afara containerului. Containerele trebuie corect etichetate pentru o identificare ușoară. Documentele de însoțire nu trebuie înfășurate în jurul containerului, ci plasate separat, preferabil într-un înveliș impermeabil.

Transportul probelor în laborator

Pentru evitarea scurgerilor accidentale sau a vărsării probelor, trebuie utilizate containere secundare, cum sunt cutiile cu stative, astfel încât recipientele cu probe să rămână în picioare atunci când containerele sunt manipulate corect. Containerele secundare pot fi din metal sau plastic, trebuie să fie autoclavabile sau să fie rezistente la acțiunea dezinfectanților chimici, iar capacul ar trebui să fie prevăzut cu o garnitură. Ele trebuie decontaminate regulat.

Primirea probelor

Laboratorul care primește un mare număr de probe trebuie să aibă o încăpere separată sau un spațiu special pentru acest scop.

Deschiderea pachetelor

Personalul care primește și despachetează probele trebuie să fie conștient de potențialul pericol asupra stării de sănătate și trebuie instruit să adopte precauțiile standard în special când se confruntă cu spargerea sau vărsarea containerelor. Containerele primare cu probe ar trebui deschise într-o HSB.

Trebuie să existe dezinfectante la îndemână.

b. Utilizarea pipetelor și a dispozitivelor de pipetare

1. Dispozitivul de pipetare trebuie utilizat întotdeauna. Pipetarea cu gura este interzisă.
2. Toate pipetele trebuie să aibă filtru de vată pentru a reduce contaminarea dispozitivului de pipetare.
3. Nu trebuie suflat niciodată într-un lichid care conține agenți infecțioși.
4. Materialul infecțios nu trebuie niciodată amestecat prin aspirare și expulzare alternantă, prin pipetă
5. Lichidele nu trebuie niciodată expulzate forțat din pipete.
6. Pipetele gradate neterminal sunt preferabile altor tipuri de pipete deoarece nu necesită expulzarea ultimei picături.
7. Pipetele contaminate vor fi imersate complet într-un dezinfectant adecvat, aflat într-un container incasabil. Ele trebuie lăsate în dezinfectant atâta timp cât este necesar înainte de a fi scoase din laborator.
8. Containerul pentru pipete folosite trebuie plasat în interiorul HSB, nu în afara ei.
9. Seringile cu ace hipodermice nu trebuie utilizate pentru pipetare.
10. Trebuie utilizate dispozitive speciale pentru deschiderea flacoanelor prevăzute cu capsule cu septuri de cauciuc care să permită apoi utilizarea pipetelor, evitându-se utilizarea în acest scop a acelor hipodermice și a seringilor.
11. Pentru a evita dispersia picăturilor de material infecțios din pipetă, pe suprafața de lucru va fi așezat un material absorbant ; după utilizare acesta va fi evacuat ca material infecțios.

c. Evitarea dispersiei materialului infecțios

1. Pentru evitarea pierderii premature a încărcăturii sale, inelul ansei bacteriologice trebuie să aibă un diametru de 2-3 mm și trebuie să fie complet închis. Firul ansei nu trebuie să fie mai lung de 6 cm pentru a reduce vibrația.
2. Riscul stropirii cu material infecțios cu ocazia sterilizării ansei la flacăra becului Bunsen poate fi evitat prin utilizarea pentru sterilizare a unui microarzător electric. Sunt de preferat ansele de unică folosință, care nu au nevoie de sterilizare.
3. Trebuie luate măsuri de precauție atunci când se usucă probele de spută pentru a evita formarea de aerosoli.
4. Probele și culturile a căror utilizare s-a încheiat și care trebuie autoclavate și / sau evacuate, trebuie plasate în containere impermeabile, ex. saci speciali pentru deșeuri de laborator. Partea de sus a sacilor trebuie închisă etanș (ex. cu bandă adezivă martor de autoclavare) înainte de plasarea lor în containerele pentru deșeuri infecțioase.

5. Locul de muncă trebuie decontaminat cu dezinfectante corespunzătoare la sfârșitul fiecărei etape și zile de lucru.

d. Utilizarea Hotelor de Siguranță Biologică

1. Modul de utilizare și limitele de siguranță ale HSB trebuie aduse la cunoștința tuturor utilizatorilor potențiali pe baza standardelor naționale și a literaturii de specialitate. Protocoale scrise sau ghiduri de operare/de siguranță trebuie puse la dispoziția personalului. Trebuie să fie clar, în mod particular, că HSB nu protejează pe cel ce lucrează în caz de spargere, vărsare sau tehnici greșite de manipulare.

2. HSB trebuie utilizată numai dacă funcționează corect.

3. Panoul frontal transparent de sticlă nu trebuie deschis în timpul lucrului.

4. Aparatele și volumele de materiale utilizate în HSB trebuie să fie reduse la minimum.

Circulația aerului în partea din spate a incintei HSB nu trebuie blocată.

5. Becurile Bunsen nu trebuie utilizate în hotă. Căldura produsă perturbă fluxul de aer și poate avaria filtrele.

Microarzătoarele electrice sunt permise, dar ansele de unică întrebuințare utilizare sunt de preferat.

6. Întreaga activitate din HSB trebuie să se desfășoare în centrul sau în partea posterioară a ariei de lucru, bine vizibilă prin panoul frontal de sticlă.

7. Traficul în spatele operatorului trebuie să fie minim.

8. Operatorul nu trebuie să perturbe fluxul de aer prin mișcări repetate de du-te – vino ale brațelor.

9. Grilele frontale de admisie a aerului nu trebuie blocate cu foi, caiete, pipete sau alte materiale deoarece aceste întreruperi ale fluxului de aer pot determina contaminarea materialului și expunerea operatorului.

10. Suprafața HSB trebuie ștersă cu dezinfectante adecvate după fiecare etapă de lucru și la sfârșitul programului de lucru.

11. Ventilarea HSB trebuie pornită cu minimum 5 minute înainte de începerea lucrului și oprită după minimum același interval de la terminarea lucrului în HSB.

12. Documentele de lucru nu trebuie puse niciodată în interiorul HSB.

d. Evitarea ingestiei de material infecțios și a contactului cu pielea și ochii

1. Particulele mari și picăturile cu diametrul mai mare de 5 μm, apărute în timpul manipulării materialului microbiologic, trebuie îndepărtate rapid de pe suprafața de lucru și de pe mâinile operatorului. Trebuie purtate mănuși de unică folosință. Lucrătorii din laborator trebuie să evite atingerea gurii, ochilor și a feței.

2. Este interzisă depozitarea și consumul de alimente și băutură în laborator.

3. Este interzisă introducerea în gură a oricăror obiecte (creioane, pixuri, gumă de mestecat)

4. Este interzisă aplicarea cosmeticelor în laborator;

5. Fața, ochii și gura trebuie protejate cu un ecran sau prin alte modalități, în timpul oricărei operații care se poate solda cu împrôscarea de material infecțios.

e. Evitarea injectării de material infecțios

1. Inocularea accidentală ca urmare a rănilor provocate de sticla spartă sau ciobită, poate fi evitată prin creșterea atenției în timpul procedurilor de lucru. Obiectele din sticlă ar trebui înlocuite cu cele din material plastic, ori de câte ori este posibil.

2. Injectarea se poate produce accidental prin înțepare cu ace de seringă, pipete Pasteur din sticlă și cioburi de sticlă.

3. Accidentele prin înțepare cu acul pot fi reduse prin:

a) reducerea utilizării seringilor și acelor (există dispozitive simple pentru deschiderea flacoanelor închise cu capsulă și dop de cauciuc, astfel încât pot fi folosite pipete în locul seringilor cu ac) ;

b) utilizarea unor dispozitive de siguranță împotriva înțepării atunci când seringile și acele sunt absolut necesare.

4. Acele nu trebuie niciodată reacoperite cu capacul de protecție. Ele nu se desprind de seringă ci se aruncă împreună cu seringă într-un container special, rezistent la înțepare, prevăzut cu capac.

5. Pipetele Pasteur de plastic ar trebui să înlocuiască pipetele de sticlă.

f. Separarea serului

1. Această operațiune trebuie efectuată numai de personal bine instruit / calificat.
2. Trebuie folosite mănuși și trebuie protejați ochii și mucoasele.
3. Aerosolii și stropirile pot fi evitate sau reduse la minim numai printr-o bună tehnică de laborator.

Sângele și serul trebuie pipetate cu atenție. Este interzisă pipetarea cu gura.

4. După utilizare, pipetele trebuie imersate complet în dezinfectantul corespunzător și menținute cât este necesar, înainte de evacuare sau spălare și sterilizare pentru reutilizare.
5. Tuburile (vacutainerele) care au conținut probele utilizate, conținând cheaguri de sânge, etc trebuie introduse (cu dopul pus) într-un container impermeabil în vederea autoclavării și/sau incinerării.
6. Trebuie să existe la îndemână dezinfectante adecvate pentru curățarea stropilor și lichidelor vărsate

g. Utilizarea centrifugii

1. Performanțele mecanice bune sunt o condiție primordială pentru utilizarea centrifugilor în condiții de siguranță microbiologică.
2. Centrifuga trebuie utilizată cu respectarea instrucțiunilor producătorului.
3. Centrifuga trebuie plasată astfel încât lucrătorii să poată vedea în interiorul cuvei acesteia pentru a putea fixa corect suporturile pentru cupe și cupele cu probe.
4. Tuburile de centrifugă și containerele cu probe care urmează a fi centrifugate trebuie să fie confecționate din sticlă groasă sau preferabil din plastic și trebuie verificate pentru absența defectelor înainte de utilizare.
5. Cupele de centrifugă și containerele cu probe trebuie bine astupate/acoperite (de preferat cu capace cu filet).
6. Cupele trebuie încărcate, echilibrate, închise și deschise într-o HSB.
7. Suportii pentru cupele de centrifugă trebuie grupați câte doi, după greutate și echilibrați corect cu cupele în poziție.
8. Trebuie respectat (conform instrucțiunilor din manualul de utilizare) spațiul dintre nivelul lichidului centrifugat și gura cupei.
9. Apa distilată sau alcoolul (propanol 70%) pot fi utilizate pentru echilibrarea cupelor goale. Soluțiile saline (ser fiziologic) sau de hipoclorit nu pot fi utilizate deoarece sunt corozive.
10. Numai tuburile de centrifugă sau suportii pentru cupe cu închidere etanșă (cupe de siguranță) trebuie utilizate când se lucrează cu microorganisme din grupele de risc 3 și 4.
11. La folosirea rotoarelor de centrifugă angulare trebuie avut grijă ca tuburile să nu fie supraîncărcate pentru a evita scurgerile.
12. Cuvă centrifugii trebuie controlată zilnic, pentru a verifica eventuala apariție de urme de culoare sau murdărie la nivelul corespunzând rotorului. În caz de murdărie evidentă, trebuie reevaluate protocoalele de centrifugare.
13. Rotorul centrifugii și suportii pentru cupe trebuie examinate zilnic pentru a depista eventualele corodări sau fisuri.
14. Rotorul, suporturile pentru cupe și cuvă centrifugii trebuie decontaminate după fiecare utilizare.
15. După utilizarea centrifugii, suportii pentru cupe trebuie păstrați (cu deschiderea în jos) pentru scurgerea lichidului de echilibrare.
16. În timpul funcționării unei centrifugi pot fi ejectați din aceasta aerosoli infecțioși. Aceste particule circulă cu viteză prea mare pentru a putea fi reținute de fluxul de aer al HSB dacă centrifuga este plasată într-o hotă tradițională cu deschidere frontală de Clasa I sau de Clasa II. Izolarea centrifugilor în HSB de Clasa III previne dispersarea în afara hotei a aerosolilor produși. Totuși, o tehnică corectă de centrifugare și folosirea cupelor sau suportilor cu capace etanșe asigură o protecție adecvată împotriva aerosolilor și particulelor infecțioase dispersate.

h. Utilizarea omogenizatoarelor, agitatoarelor, mixerelor/blenderelor și aparatelor de ultrasonare

1. Omogenizatoarele obișnuite (mixere de bucătărie) nu pot fi utilizate în laborator deoarece pot genera scurgeri și aerosoli. Blenderele și dispozitivele de tăiere special concepute pentru laborator sunt mai sigure.
2. Cupele și capacele sau sticlele trebuie păstrate în bune condiții, fără defecte. Capacele trebuie să aibă garnitura bună și să poată fi bine înfiletate.
3. Presiunea în vas crește în timpul operațiilor de omogenizare, amestecare și ultrasonare. Aerosolii conținând material infecțios se pot strecura între capac și vas. Vasele din plastic, în special cele din politetrafluoroetilen (PTFE), sunt recomandate deoarece sticla se poate sparge, eliberând material infecțios și poate răni operatorul.
4. În timpul funcționării, omogenizatoarele, agitatoarele și aparatele de ultrasonare trebuie acoperite cu un ecran/clopot rezistent, din plastic transparent, ce se dezinfectează după utilizare. Atunci când este posibil, aceste aparate trebuie utilizate sub ecranele lor de plastic, în HSB.
5. La sfârșitul operațiilor, containerele trebuie deschise într-o HSB.
6. Cei ce lucrează cu aparate de ultrasonare vor utiliza căști de protecție.

i. Utilizarea mojarilor și a omogenizatoarelor de țesuturi

1. Dacă se utilizează mojar/omogenizatoare din porțelan/sticlă, mâna cu care se țin trebuie protejată cu mănușă și un tampon de vată sau orice alt material absorbant. Mojarile din plastic (PTFE) sunt mai sigure.
2. Mojararea și deschiderea omogenizatoarelor trebuie efectuată în HSB.

j. Utilizarea și întreținerea frigiderelor și congelatoarelor

1. Frigiderile, congelatoarele și lăzile cu gheață carbonică trebuie dezghețate și curățate periodic, iar fiolele, eprubetele etc. care s-au spart în timpul stocării trebuie îndepărtate. În timpul curățării se vor folosi măști de protecție și mănuși groase de cauciuc. După curățare, suprafețele interioare trebuie dezinfectate.
2. Toate containerele păstrate în frigider trebuie inscripționate clar cu denumirea științifică a materialului conținut, data stocării și numele celui care a făcut stocarea. Materialele învechite și neinscripționate vor fi autoclavate și îndepărtate.
3. Trebuie ținut un inventar al tuturor materialelor păstrate în congelator.
4. Soluțiile inflamabile nu trebuie stocate în frigider, dacă acesta nu este rezistent la explozie.. Notițe de avertizare în acest sens trebuie afișate pe ușa frigiderului.

k. Deschiderea fiolelor conținând material infecțios liofilizat

Fiolele care conțin material infecțios liofilizat trebuie deschise cu precauție deoarece conținutul poate să fie la o presiune scăzută și deschiderea poate provoca o pătrundere bruscă de aer în interiorul fiolei, cu dispersia unei părți din conținut în atmosfera înconjurătoare. Fiolele trebuie deschise întotdeauna într-o HSB.

Sunt recomandate următoarele proceduri pentru deschiderea fiolelor:

1. Întâi se decontaminează suprafața exterioară a fiolei.
 2. Se pilește gâtul fiolei la nivelul mijlocului dopului de bumbac sau celuloză dacă fiola e prevăzută cu un astfel de dop.
 3. Fiola se ține în vată îmbibată cu alcool pentru a proteja mâna de rănire, în momentul deschiderii fiolei.
 4. Vârful fiolei (cu eventualul dop) se îndepărtează cu atenție și se consideră a fi material contaminat.
 5. Dacă dopul rămâne în interior se îndepărtează cu o pensă sterilă.
 6. Se adaugă lichidul de reconstituire încet pentru a împiedica formarea spumei în fiolă.
- Precauții standard privind sângele și alte lichide biologice, țesuturi, secreții sau excreții.**

Precauțiile standard (care includ precauțiile universale) sunt destinate reducerii riscului transmiterii agenților biologici din surse de infecție atât cunoscute cât și necunoscute

Colectarea, etichetarea și transportul probelor

1. Precauțiile universale trebuie respectate întotdeauna: se va lucra de fiecare dată cu mănuși de protecție.
2. Sângele trebuie recoltat de la pacienți și animale de către personal instruit.

3. Pentru flebotomie, acele clasice și sistemele cu seringă trebuie înlocuite cu dispozitive de unică folosință cu vid, care permit recoltarea directă a sângelui în recipiente închise de transport sau de cultură și care fac imposibilă reutilizarea acului.

Tuburile trebuie plasate în containere speciale pentru transportul către laborator și în cadrul laboratorului. Formularele de solicitare a prestațiilor de laborator trebuie plasate separat în containerul de transport (în plicuri sau pungi impermeabile).

4. Personalul care face recepția probelor NU trebuie să deschidă aceste plicuri .

Deschiderea tuburilor cu probe și repartizarea conținutului

1. Tuburile cu probe trebuie deschise într-o HSB .

2. Este obligatoriu să se folosească mănuși. De asemenea, este recomandată protecția ochilor și a mucoaselor (ochelari de protecție sau ecrane de protejare a feței).

3. Îmbrăcămintea de protecție trebuie completată cu un șorț de plastic.

4. Dopul trebuie apucat printr-o bucată de hârtie sau tifon pentru a preveni împrăștierea (stropirea).

Sticlăria și „obiectele tăietoare/înțepătoare” (acele, seringile, acele hipodermice, pipetele Pasteur)

Ori de câte ori este posibil, plasticul trebuie să înlocuiască sticla. Vor fi folosite numai obiectele din sticlă specială de laborator (borosilicat) și orice articol ciobit sau crăpat trebuie înlăturat.

Nu vor fi utilizate pentru pipetare acele de seringă

Lamele și frotiurile pentru microscopie

Fixarea și colorarea frotiurilor de sânge, spută, materii fecale pentru microscopie nu omooară obligatoriu toate organismele sau virusurile de pe frotiu. Aceste obiecte trebuie manipulate cu pensa, depozitate corespunzător și decontaminate și/sau autoclavate înaintea evacuării.

Echipamentul automatizat (aparate de ultrasonare, mixere, vortex-uri)

1. Echipamentul trebuie să fie de tip închis, pentru a preveni dispersia picăturilor mici și a aerosolilor.

2. Reziduurile trebuie colectate în vase închise în vederea autoclavării și/sau evacuării.

3. Echipamentul trebuie dezinfectat după fiecare utilizare, urmând instrucțiunile producătorului.

Țesuturile

1. Formolul trebuie folosit ca fixator.

2. Secționarea probelor congelate trebuie evitată. Dacă este necesar, criostatul trebuie să fie ecranat, iar operatorul să poarte un ecran de protecție facială.

Pentru decontaminare, temperatura instrumentului trebuie să fie ridicată la cel puțin 20° Celsius.

Echipeamente care pot genera pericole de contaminare biologică

În Tabelul de mai jos sunt cuprinse echipamentele și operațiunile care pot genera pericole de contaminare microbiologică precum și sugestii privind modul în care pot fi eliminate sau reduse aceste riscuri.

Echipament	Riscul	Măsuri de eliminare sau reducere a riscului
Ace de seringă	Inoculare accidentală, aerosoli, stropire	<p>Nu reacoperiți acele și nu retezați acele</p> <ul style="list-style-type: none"> • Folosiți seringi cu sistem tip baionetă de blocare a acului sau seringi de unică utilizare, la care acul este parte integrantă a seringii pentru a preveni detașarea acului de seringă • Folosiți tehnici corecte de laborator, ex : <ul style="list-style-type: none"> - umpleți seringă cu atenție pentru a reduce la minimum cantitatea de bule de aer sau formarea de spumă în inocul - evitați folosirea seringilor pentru a amesteca lichide infecțioase; dacă totuși le folosiți, asigurați-vă că vârful acului este imersat în lichid și evitați expulzarea din seringă cu forță excesivă - înfășurați acul și amboul într-un tampon de vată imbibat în dezinfectant corespunzător înainte de a extrage acul din capacul/dopul de cauciuc al unui flacon - eliminați excesul de lichid și bulele de aer ținând seringă vertical într-un tampon de vată imbibat în dezinfectant sau într-un flacon • Efectuați toate operațiunile cu material infecțios într-o HSB • Imobilizați animalele în timpul inoculării. Folosiți ace boante sau canule pentru inocularea intranasală sau orală. Lucrați într-o HSB. • Autoclavați acele de seringă după utilizare și asigurați-vă că evacuarea lor se face corect. Dacă acul și seringă nu formează un dispozitiv unitar, nu le dezamblați înainte de autoclavare
Centrifuga	Aerosoli, stropire și spargerea cupelor	<p>Folosiți cupe cu capac sau rotoare cu capac etanș.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deschideți cupele sau rotoarele după ce aerosolii s-au depus (30 min) sau în HSB
Ultracentrifuga	Aerosoli, stropire și spargerea cupelor	<ul style="list-style-type: none"> • Instalați un filtru HEPA între centrifugă și pompa de vid • Înregistrați orele de funcționare pentru fiecare rotor și respectați un program preventiv de supraveghere a funcționării (service)

		<p>pentru a reduce riscul unor defecțiuni mecanice.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Umpleți și goliți cupele într-o HSB
Exicatoare pentru anaerobioză	Explozie, răspândire de materiale infecțioase	<p>Asigurați-vă de integritatea capsulei din sârmă din jurul catalizatorului</p> <p>Desicatoare Implozie, dispersarea fragmentelor de sticlă și materiale infecțioase</p> <ul style="list-style-type: none"> • Așezați-le într-o cușcă rezistentă din plasă de sârmă
Omogenizatoare, aparate pentru fragmentarea țesuturilor	Aerosoli, scurgeri și spurgeri ale containerului	<p>Efectuați operațiunile și deschideți echipamentul în HSB</p> <ul style="list-style-type: none"> • Folosiți modele special concepute care previn scurgeri pe la garniturile pieselor rotative sau ale capacelor sau folosiți aparate cu incinte etanșe • Înainte de a deschide omogenizatorul așteptați 30 min, pentru a permite aerosolilor să se depună. Refrigerarea condensează aerosolii • Dacă folosiți un omogenizator manual, înfășurați tubul într-un material absorbant
Sonicateare și băi cu ultrasunete	Aerosoli, tulburări auditive, dermatite	<ul style="list-style-type: none"> • Efectuați operațiunile și deschideți echipamentul în HSB • Asigurați izolarea împotriva ultrasunetelor • Utilizați mănuși pentru a vă proteja împotriva efectelor chimice ale detergenților
Agitatoare pentru culturi, shakere, mixere	Aerosoli, stropire, vărsare	<ul style="list-style-type: none"> • Efectuați operațiunile în HSB sau în nișe speciale • Utilizați pentru culturi recipiente solide, închise etanș, cu capac înșurubat, prevăzute cu filtre protectoare, dacă este necesar, și bine securizate.
Liofilizatoare	Aerosoli și contaminare prin contact direct	<ul style="list-style-type: none"> • Utilizați filtre de aer pentru a proteja dispozitivul de vid • Utilizați o metodă eficientă de decontaminare, de ex. chimică • Asigurați-vă de existența unor capcane pentru umezeală și a unui condensator de vapori.

		<ul style="list-style-type: none"> • Inspectați atent toate recipientele din sticlă pentru vid pentru a observa eventuale zgârieturi sau crăpături. Utilizați numai sticlărie special concepută pentru vid
Băi de apă	<p>Creșterea microorganismelor</p> <p>Formarea de compuși explozivi ai azidei de sodiu cu anumite metale</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Asigurați curățarea și dezinfecția periodică • Nu utilizați azida de sodiu pentru a preveni creșterea microorganismelor

Lista de control în laboratoarele medicale

Încăperile în care este instalat laboratorul

1. Căile de acces sunt bine semnalizate și accesibile ?
2. Localul este curat ?
3. Pardoseala și scările sunt netede, uniforme și nealunecoase ?
4. Spațiul de lucru permite realizarea activităților în condiții de siguranță ?
5. Mesele de lucru, mobilierul și instalațiile sunt în stare bună ?
6. Suprafețele de lucru sunt rezistente la solvenți și substanțe corozive ?
7. Există câte o chiuvetă pentru spălarea mâinilor în fiecare cameră ?
8. Poate fi restricționat accesul în laborator, acesta fiind permis numai persoanelor autorizate ?
9. A fost făcută o evaluare a riscului pentru a se asigura că echipamentul și facilitățile sunt adecvate pentru desfășurarea activităților prevăzute ?

Facilitățile și condițiile de depozitare

1. Locurile de depozitare, rafturile, etc sunt astfel amenajate încât materialele depozitate să nu alunece sau să cadă ?
2. Se păstrează curățenia, se evită acumularea de gunoaie, de materiale și obiecte de prisos ce pot reprezenta pericol de accidentare, incendiu sau explozie ?
3. Congelatoarele și spațiile de depozitare se pot încuia ?

Instalații sanitare și dependențe pentru personal

1. Încăperile și dotările sunt menținute curate, în ordine și corespunzătoare din punct de vedere sanitar ?
2. Există apă potabilă ?
3. WC-urile și dușurile sunt adecvate, curate, în bună stare ? Există WC-uri și dușuri separate pentru bărbați și femei ?
4. Există apă rece, caldă, săpun și prosoape ?
5. Sunt vestiare pentru bărbați și femei ?
6. Există spații (de ex. dulapuri) individuale pentru hainele de stradă ?
7. Există o cameră în care se poate mânca, bea cafea etc ?

Încălzire și ventilație

1. Temperatura la locul de muncă este în limitele confortului termic ?
2. Ventilația mecanică perturbă fluxul de aer laminar în interiorul sau în jurul hotelor de securitate biologică sau al hotelor de protecție chimică ?

Iluminare

1. Iluminarea este adecvată (ex. 300 – 400 lx.) ?
2. Există iluminare locală la nivelul meselor de lucru ?

Prevenirea și combaterea incendiilor

1. Există un sistem de alarmă în caz de incendiu ?
2. Ieșirile de incendiu sunt accesibile ?
5. Ieșirile sunt semnalizate luminos în mod adecvat ?
6. Drumul către ieșire este marcat ?
7. Toate ieșirile sunt accesibile și descuiate în timpul programului ?

Gazele comprimate și lichefiate

1. Containerele pentru gaz sunt corect etichetate și marcate cu coduri de culoare adecvate ?
2. Cilindrii cu gaz comprimat și valvele acestora pentru presiune înaltă și reductorii de presiune sunt inspectați periodic ?
3. Valvele de reducere sunt întreținute corespunzător ?
4. Indicatorul de presiune este conectat când cilindrul se află în funcțiune ?
5. Capacul de protecție este pus în timpul transportului sau când cilindrul nu funcționează ?
6. Cilindrii cu gaz comprimat sunt depozitați corespunzător, astfel încât să nu cadă în cazul unor dezaastre naturale ?
7. Cilindrii (buteliile) cu gaz lichefiat și rezervoarele de produse petroliere lichide sunt ferite de sursele de căldură ?

8. Personalul este corect instruit pentru a folosi și transporta corect gazele comprimate și lichefiate ?

Pericole de natură electrică

2. Instalația electrică are împământare ?

3. Sunt protejate toate circuitele din laborator cu siguranțe, siguranțe de împământare și dispozitive de deconectare de la rețea ?

4. Dispozitivele electrice existente sunt avizate pentru a fi folosite în laborator ?

5. Cordoanele electrice ale aparatelor au lungime adecvată (sunt contraindicate cablurile prea lungi), sunt în bună stare și lipsite de uzuri, crăpături și tăieturi ?

6. Este fiecare priză destinată unui singur aparat ? (nu se recomandă folosirea de prize multiple)

Echipamentul de protecție pentru personal

1. Există echipament de protecție specific pentru întreg personalul, ex. mănuși, halate, șorțuri, salopete ?

2. Există echipament special pentru lucrul cu substanțe chimice, radioactive și cancerigene (șorțuri de cauciuc, mănuși pentru chimicale); există mănuși rezistente la căldură pentru descărcarea autoclavelor și pupinelelor ?

3. Există ochelari de protecție, măști, scuturi (vizoare) transparente pentru față ?

4. Există dispozitive pentru spălarea ochilor ?

5. Există dușuri pentru situații de urgență ?

6. Protecția împotriva radiațiilor se realizează conform standardelor naționale și internaționale, inclusiv existența dozimetrelor ?

7. Există măști de gaze curățate, dezinfectate și controlate cu regularitate; sunt ele păstrate la îndemână și în condiții igienice ?

Protecția și starea de sănătate a personalului

1. Există un serviciu de medicina muncii pentru supravegherea stării de sănătate a lucrătorilor ?

2. Trusele de prim ajutor sunt plasate în locuri accesibile ?

3. Există personal calificat pentru a acorda primul ajutor ?

4. Aceștia sunt instruiți pentru a face față situațiilor de urgență specifice laboratorului (contact cu substanțe corozive, ingestie accidentală de substanțe toxice sau infectante) ?

5. Personalul auxiliar (de ex. personalul care face curățenia și cel administrativ) a fost instruit asupra riscurilor potențiale pe care le prezintă laboratorul și materialele pe care le manipulează ?

6. Sunt afișate anunțuri vizibile cuprinzând numele persoanelor care pot acorda primul ajutor și telefoanele serviciilor de urgență ?

7. Femeile de vârstă fertilă sunt informate despre riscurile și consecințele posibile pe care le implică lucrul cu substanțe carcinogene, mutagene, teratogene și cu bacterii ?

8. Femeile de vârstă fertilă care bănuiesc sau sunt sigure că sunt însărcinate știu că trebuie să-și informeze șefii în scopul eventualei schimbări a locului de muncă pe perioada sarcinii ?

9. Există un program de imunizări adaptat specificului laboratorului ?

10. Se efectuează teste cutanate și radiologice pentru cei care lucrează în condiții de risc TBC sau alte teste specifice pentru alte infecții ?

11. Există o evidență a bolilor profesionale și a accidentelor de muncă ?

12. Există semnalizări, sigle și afișe de avertizare pentru prevenirea și reducerea riscului de accidente ?

Echipamentul de laborator

1. Întregul echipament a fost certificat ca sigur pentru folosire și autorizat sub raportul folosirii în condiții de securitate ?

2. Există proceduri scrise pentru decontaminarea echipamentului înainte de a fi supus operațiunilor de întreținere ?

3. Hotele de siguranță biologică și hotele de protecție chimică sunt întreținute și verificate periodic ?

4. Autoclavele și alte aparate care funcționează sub presiune sunt verificate periodic ?

5. Rotoarele și port-cuvele centrifugilor sunt verificate periodic ?

7. Se folosesc pipete în locul acelor de seringă ?

8. Sticlăria ciobită sau crăpată este întotdeauna aruncată și nu refolosită ?

9. Există containere speciale pentru sticlăria spartă ?

10. Se folosește de preferință material plastic în locul sticlăriei ori de câte ori este posibil ?

11. Se folosesc containere speciale pentru obiecte înțepătoare/ tăietoare folosite ?

Materiale infecțioase

1. Primirea probelor se face în condiții de securitate ?
2. Se păstrează înregistrări ale probelor recepționate ?
3. Probele sunt despachetate în hota de siguranță biologică cu grija și atenția cuvenite pentru a evita spargerea și scurgerea/stropirea ?
4. Se folosesc mănuși și alte echipamente de protecție pentru despachetarea probelor ?
5. Personalul este instruit în ceea ce privește transportul produselor infecțioase ?
6. Este menținută ordinea și curățenia pe mesele de lucru ?
7. Îndepărtarea materialelor biologice se face cel puțin o dată pe zi, iar tratarea și evacuarea lor se face fără riscuri pentru personal?
8. Au fost instruiți toți lucrătorii din laborator asupra procedurilor de urmat în cazul în care se produce spargerea și împrăștierea de culturi microbiene și materiale infecțioase ?
9. Eficacitatea sterilizării este controlată prin utilizarea de indicatori fizici, chimici și biologici ?
10. Există o procedură scrisă pentru decontaminarea cu regularitate a centrifugilor ?
11. Cupele sau suportii pentru cupe ai centrifugilor sunt prevăzuți cu capace etanșe ?
12. Se folosesc curent și corect dezinfectanții indicați ?

Chimicale și substanțe radioactive

1. Chimicalele incompatibile între ele sunt stocate și manipulate separat ?
2. Sunt toate chimicalele etichetate corect cu menționarea denumirii corecte și avertizare asupra pericolelor legate de manipulare ?
3. Sunt expuse la vedere afișe de avertizare cu privire la riscul de accidentare legat de manipularea unor chimicale ?