

# BIOSIGURNOST U LABORATORIJI

**Zvezdan Damjanović**

Institut za javno zdravlje Vojvodine, Novi Sad, Futoška 121, Srbija,  
e-mail:zvezdam@sbb.co.yu

**Apstrakt:** *Sve veći izazovi na polju bezbednosti i zdravlju na radu nameću potrebu za organizovanim pristupom laboratorijskoj biosigurnosti na nacionalnom nivou. Pored procene rizika, koja je predviđena Zakonom o bezbednosti i zdravlju na radu, potrebno je usaglasiti organizacionu strukturu, pravilnik o ponašanju, prostornu organizaciju laboratorija, laboratorijsku opremu, zdravstveni i medicinski nadzor i druge elemente sa preporukama koje je propisala Svetska zdravstvena organizacija - vodeća svetska institucija u ovoj oblasti. Svrstavanjem laboratorija u definisane nivoe biološke bezbednosti, uvođenjem i primenom preporučenih procedura, povećava se bezbednost zaposlenih i smanjuje rizik prema radnoj i životnoj sredini čime je omogućno vršenje ispitivanja na zdravstveno bezbedan i ekološki prihvatljiv način.*

**Abstract:** *More and more challenges in the field of safety and health at work, impose the need for the well organized approach to the laboratory biosafety at the national level. Besides the risk assessments, provided by The law of health and safety at work, it is necessary to harmonize laboratory design, facilities and space organization, laboratory equipment, codes of practice, health and medical surveillance and all the others elements recommended by World Health Organization. Laboratory biosafety level designations and implementation of recommended procedures will improve the safety of the working staff and minimize the contamination risk of the working area and environment. In that way, safe and ecological examination of biological material will be provided.*

## 1. UVOD

„Laboratorijska biološka bezbednost” je termin koji se koristi da se opišu principi čuvanja, tehnologije i postupci koji se primenjuju da bi se sprečilo nenamerno izlaganje patogenima i toksinima, ili njihovo slučajno oslobađanje. „Laboratorijska biološka sigurnost” odnosi se na institucionalne i lične mere sigurnosti u cilju sprečavanja gubitka, krađe, zloupotrebe, diverzije ili namernog oslobađanja patogena i toksina.

Efikasni postupci za biološku bezbednost su u samoj osnovi aktivnosti laboratorijske biološke sigurnosti. Kroz procenu rizika, koja se obavlja kao integralni deo programa za biološku bezbednost neke institucije, prikupljaju se informacije u vezi sa vrstom organizama koji su raspoloživi, njihovom fizičkom lokacijom, osobljem koje zahteva pristup tim organizmima, kao i identifikaciji onih koji su za njih odgovorni. Ove informacije mogu se upotrebiti da bi se procenilo da li institucija poseduje biološke materijale koji su atraktivni za one koji žele da ih nepropisno upotrebe. Izrada nacionalnih standarda koji prihvataju tekuće odgovornosti zajednice i institucija u cilju zaštite uzoraka, patogena i toksina od zloupotrebe je u planu.

Treba pripremiti i primeniti specifičan program za biološku sigurnost za svaku ustanovu u skladu sa zahtevima te ustanove, tipom laboratorijskog posla koji se obavlja i lokalnim uslovima. A kao rezultat toga, aktivnosti za laboratorijsku biološku sigurnost treba da predstavljaju različite potrebe institucije i uključuju informacije od najvišeg rukovodstva, glavnih istraživača, službenika za biološku bezbednost, laboratorijskog naučnog osoblja, osoblja zaduženog za održavanje, administrativnog osoblja, osoblja zaduženog za informacione tehnologije, tela za sprovođenje zakona i osoblja za obezbeđenje ako je to potrebno.

Uočavajući potrebu za još boljom zaštitom zaposlenih, radne i životne sredine Institut za javno zdravlje Vojvodine je u okviru Sistema upravljanja zaštitom životne sredine prema zahtevima standarda ISO 14001, propisao i sprovodi mere laboratorijske biosigurnosti u skladu sa preporukama Svetske zdravstvene organizacije (SZO).

Zakon o bezbednosti i zdravlju na radu koji je objavljen 2005. godine (SG. RS. 101/05) daje okvir za sprovođenje postupaka definisanja biološke bezbednosti kroz opis obaveza poslodavaca i zaposlenih. U ovom radu će u zgradama biti navedeni članovi ovog zakona koji regulišu predmetne tačke.

## 2. OSNOVNI PRINCIPI BIOLOŠKE BEZBEDNOSTI U LABORATORIJAMA

Prema SZO rizične grupe su podeljene prema relativnom riziku od infektivnih mikroorganizama (rizične grupe SZO 1, 2, 3 i 4). Ovu klasifikaciju na rizične grupe treba koristiti isključivo u radu u laboratorijama. Tabela 1

opisuje rizične grupe.

**Tabela 1. Klasifikacija infektivnih mikroorganizama na rizične grupe**

**Rizična grupa 1** (ne nosi nikakav ili niski rizik po pojedinca i zajednicu)

Mikroorganizam za koji je malo verovatno da će izazvati bolest kod ljudi ili životinja.

**Rizična grupa 2** (umereni rizik po pojedinca, nizak rizik za zajednicu)

Patogen koji može da izazove bolest kod ljudi ili životinja, ali koji malo verovatno može biti ozbiljan rizik za laboratorijske radnike, zajednicu, životinje ili životnu sredinu. Izloženost u laboratoriji može izazvati ozbiljnu infekciju, ali zato postoje efikasno lečenje i preventivne mere, a rizik od širenja infekcije je ograničen.

**Rizična grupa 3** (visok rizik po pojedinca, nizak rizik za zajednicu)

Patogen koji obično izaziva ozbiljnu bolest kod ljudi ili životinja, ali se obično ne širi sa jedne zaražene jedinke na drugu. Postoje preventivne mere i efikasno lečenje.

**Rizična grupa 4** (visok rizik po pojedinca i zajednicu)

Patogen koji izaziva ozbiljnu bolest kod ljudi ili životinja i koji se lako prenosi sa jedne na drugu jedinku, direktno ili indirektno. Efikasno lečenje i preventivne mere obično nisu dostupni.

Laboratorijski objekti određeni su kao: osnovni – nivo 1 biološke bezbednosti, osnovni – nivo 2 biološke bezbednosti, čuvanje (kontrolisanje) – nivo 3 biološke bezbednosti, i maksimalno čuvanje – nivo 4 biološke bezbednosti. Odrednice nivoa biološke bezbednosti zasnovane su na sklopu svojstava projekta, konstrukcije, kapaciteta za čuvanje, opremi, postupcima i operativnim procedurama neophodnim za rad sa agensima različitih rizičnih grupa. Tabla 2 povezuje, ali ne izjednačava rizične grupe sa nivoom biološke bezbednosti laboratorija projektovanih za rad sa organizmima svake rizične grupe.

Zemlje (regioni) treba da sastave nacionalnu (regionalnu) klasifikaciju mikroorganizama po rizičnim grupama uzimajući u obzir:

**Tabela 2. Odnos rizičnih grupa prema nivoima biološke bezbednosti, postupcima i opremi**

NIVO RIZIKA PO BIOLOŠKU BEZBEDNOST	TIP LABORATORIJE	PONAŠANJE U LABORATORIJI	ZAŠTITNA OPREMA	NIVO RIZIKA PO BIOLOŠKU BEZBEDNOST
<b>Osnovni – Nivo 1 biološke bezbednosti</b>	Osnovno podučavanje, istraživanja	DMT	nikakva; rad na otvorenom pultu	<b>Osnovni – Nivo 1 biološke bezbednosti</b>
<b>Osnovni – Nivo 2 biološke bzbbednosti</b>	Osnovne zdravstvene usluge; dijagnostičke usluge, istraživanja	DMT uz zaštitnu odeću i znak za biološku opasnost	Rad na otvorenom pultu plus BBK zbog potencijalnih aerosola	<b>Osnovni – Nivo 2 biološke bzbbednosti</b>
<b>Čuvanje– Nivo 3 biološke bezbednosti</b>	posebne dijagnostičke usluge, istraživanja	Kao nivo 2 plus specijalna odeća, kontrolisani pristup, usmereni tok vazduha	BBK i/ili druga primarna sredstva za sve aktivnosti	<b>Čuvanje– Nivo 3 biološke bezbednosti</b>
<b>Maksimalno čuvanje – Nivo 4 biološke bezbednosti</b>	Jedinice opasnih patogena	Kao nivo 3 plus ulaz sa vazdušnom komorom, izlaz uz obavezno tuširanje, odlaganje posebnog otpada	Klasa III BBK, ili odela pod pritiskom zajedno sa klasom II BBK, autoklav sa duplim krajem (kroz zid), filtrirani vazduh	<b>Maksimalno čuvanje – Nivo 4 biološke bezbednosti</b>

**BBK - biološki bezbedni kabinet; DMT – dobre mikrobiološke tehnike;**

1. Patogenost organizma.
2. Način prenošenja i raspon prostiranja organizma. Na ove mogu uticati postojeći nivoi imuniteta lokalne populacije, gustina i kretanje populacije domaćina, prisustvo odgovarajućih vektora, kao i standardi higijene životne sredine.
3. Lokalna raspoloživost mera efikasne preventive. One mogu da uključuju: preventive putem imunizacije ili primene antiseruma (pasivna imunizacija); sanitarne mere, t.j. higijena vode i hrane; kontrolu životinjskih rezervoara ili vektore ineskata.

4. Lokalna raspoloživost efikasnog lečenja. Ovo uključuje pasivnu imunizaciju, vakcinisanje po izlaganju i upotrebu antimikrobnih, antivirusnih i hemoterapeutskih agenasa, a trebalo bi uzeti u obzir i mogućnost pojave otpornosti na lekove.

Svrstavanje nekog agensa u nivo biološke bezbednosti za laboratorijski rad mora biti zasnovano na proceni rizičnosti. Takva procena uzeće u obzir rizičnu grupu kao i druge faktore prilikom određivanja odgovarajućeg nivoa biološke bezbednosti. Na primer, agens koji je svrstan u rizičnu grupu 2 može, generalno govoreći, zahtevati uslove biološke bezbednosti nivoa 2, opremu, ponašanje i procedure za bezbedno obavljanje posla. Međutim, ukoliko određeni eksperimenti zahtevaju stvaranje aerosola visoke koncentracije, onda nivo 3 biološke bezbednosti može biti prikladniji za pružanje neophodnog stepena bezbednosti, s obzirom da on obezbeđuje viši stepen kontrolisanja aerosola na laboratorijskom random mestu. Dodeljeni nivo biološke bezbednosti za vrstu posla koju treba obaviti određuje se na osnovu stručne procene zasnovane na proceni rizika, a ne automatski, određivanjem nivoa bezbednosti u laboratoriji prema odrednicama date rizične grupe patogenog agensa koji se koristi u radu.

Tabela 3. Rezime zahteva nivoa biološke bezbednosti

**Tabela 3. Rezime zahteva nivoa biološke bezbednosti**

	NIVO BIOLOŠKE BEZBEDNOSTI			
	1	2	3	4
Izolacija <sup>a</sup> laboratorije	Ne	Ne	Da	Da
Prostorija se može hermetički zatvoriti radi dekontaminacije	Ne	Ne	Da	Da
Ventilacija:				
— unutrašnji tok vazduha	Ne	Poželjno	Da	Da
— kontrolisani sistem ventilacije	Ne	Poželjno	Da	Da
— HEPA-filtrirani ispus vazduha	Ne	Ne	Da/Ne <sup>b</sup>	Da
Ulaz sa duplim vratima	Ne	Ne	Da	Da
Vazдушna komora	Ne	Ne	Ne	Da
Vazдушna komora sa tušem	Ne	Ne	Ne	Da
Predkomora	Ne	Ne	Da	-
Predkomora sa tušem	Ne	Ne	Da/Ne <sup>c</sup>	Da
Tretman otpadnih voda	Ne	Ne	Da/Ne <sup>c</sup>	Da
Autoklav:				
— na licu mesta	Ne	Poželjno	Da	Da
— u laboratoriji	Ne	Ne	Poželjno	Da
— sa duplim krajem	Ne	Ne	Poželjno	Da
Biološki bezbedni kabineti	Ne	Poželjno	Da	Da
Sposobnost praćenja bezbednosti personala <sup>d</sup>	Ne	Ne	Poželjno	Da

<sup>a</sup> Funkcionalna i izolacija životne sredine od opšteg saobraćaja.

<sup>b</sup> Zavisi od lokacije izduvnih materija.

<sup>c</sup> Zavisi od agenasa koji se koriste u laboratoriji.

<sup>d</sup> Na primer, prozor, CCTV, dvosmerna komunikacija.

Tako, određivanje nivoa biološke bezbednosti uzima u obzir organizam (patogeni agens) koji se koristi, raspoložive kapacitete, kao i opremu, postupke i procedure potrebne da bi se posao bezbedno obavio u laboratoriji.

### 3.PROCENA RIZIKA

Sušтина primenjivanja biološke bezbednosti je procena rizika. Iako postoje mnoga raspoloživa pomoćna sredstva u proceni rizika određene procedure ili eksperimenta, najvažnija komponenta je stručna procena. Procenu rizika trebalo bi da obavljaju osobe koje su najbolje upoznate sa: specifičnim karakteristikama organizacije koja se razmatra za upotrebu, opremom i procedurama koje treba upotrebiti, primercima životinja koji se mogu upotrebiti, kao i sa opremom za čuvanje i raspoloživim prostorijama. Rukovodilac laboratorije odgovoran je za sprovođenje te adekvatne i blagovremene procene rizika, kao i za tesnu saradnju sa komitetom za bezbednost date institucije i osobljem zaduženim za biološku bezbednost, na obezbeđivanju odgovarajuće opreme i prostorija raspoloživih za realizaciju posla koji se razmatra. Kada se jednom obavi, na procenu rizika trebalo bi se rutinski vraćati i revidirati kada je to potrebno, uzimajući u obzir pribavljanje novih podataka od važnosti za nivo rizika kao i druge relevantne nove informacije iz naučne literature.

Jedno od najkorisnijih sredstava raspoloživih za obavljanje procene mikrobiološkog rizika je sastavljanje rizičnih grupa mikrobioloških agenasa. Međutim, jednostavno oslanjanje na grupisanje rizika za određeni agens je nedovoljno za sporvođenje procene rizika. Drugi faktori koje treba razmotriti kao odgovarajuće su:

1. Patogenost agensa i infektivna doza
2. Potencijalni rezultat izloženosti
3. Prirodni put infekcije
4. Drugi putevi infekcije koji su rezultat laboratorijskih postupaka (parenteralno, prenošenje vazduhom, unošenje preko usta)
5. Stabilnost agensa u sredini
6. Koncentracija agensa i zapremina koncentrisane materije kojom se rukuje
7. Prisustvo odgovarajućeg domaćina (ljudskog ili životinjskog)
8. Raspoložive informacije iz studija o životinjama, izveštaja o laboratorijski stečenim infekcijama i kliničkih izveštaja
9. Planirana aktivnost u laboratoriji (sonikacija, aerosolizacija, centrifugiranje, itd.).
10. Bilo kakva genetska manipulacija organizmom koji može da proširi dijametar domaćina agensa ili izmeni reagovanje agensa na poznate, efikasne režime lečenja.
11. Lokalna raspoloživost efikasne preventive ili terapijskih intervencija.

Na osnovu informacija potvrđenih tokom procene rizika, može se odrediti nivo biološke bezbednosti za planirani rad, odgovarajuća lična zaštitna oprema koja je odabrana i standardne operativne procedure (SOP) koje obuhvataju druge bezbedonosne intervencije razvijene u cilju obezbeđivanja najbezbednije mogućeg obavljanja posla.

Postupak procene rizika opisan gore funkcioniše dobro kada postoje raspoložive adekvatne informacije. Međutim, ima slučajeva kada nema dovoljno informacija za odgovarajuću procenu rizika, na primer, sa kliničkim ili epidemiološkim uzorcima prikupljenim na terenu. U ovim slučajevima, treba zauzeti oprezan pristup rukovanju uzorcima.

1. Uvek treba poštovati standardne mere predostrožnosti, i barijernu zaštitu koja se primenjuje (rukavice, mantili, zaštita za oči), kad god se vrši uzorkovanje od pacijenata.
2. Osnovna kontrola – postupci i procedure nivoa 2 biološke bezbednosti treba da budu minimalni zahtevi za rukovanje uzorcima.
3. Transport uzoraka treba da zadovoljava nacionalna i/ili međunarodna pravila i regulativu.

Neke dostupne informacije mogu da pomognu pri utvrđivanju rizika rukovanja ovim uzorcima:

1. Medicinski podaci o pacijentu
2. Epidemiološki podaci (podaci o bolestima i smrtnosti, pretpostavljeni put prenošenja, drugi podaci istraživanja o izbijanju infekcije)
3. Informacije o geografskom poretku uzoraka

U slučaju izbijanja bolesti nepoznate etiologije, nacionalne stručne vlasti i/ili Svetska zdravstvena organizacija mogu da izrade odgovarajuća *ad hoc* uputstva i postave ih na Internet (kao što je to bio slučaj sa SARS-om tokom 2003. godine) da bi tako pokazali kako uzorke treba pripremiti za isporuku, kao i nivo biološke bezbednosti na kome ih treba analizirati.

#### **4.OSNOVNE LABORATORIJE – NIVOI 1 i 2 BIOLOŠKE BEZBEDNOSTI**

Sve dijagnostičke i zdravstvene laboratorije (za javno zdravlje, kliničke i bolničke) moraju biti projektovane za nivo 2 biološke bezbednosti ili viši. Kako ni jedna laboratorija nema potpunu kontrolu nad uzorcima koje dobija, laboranti mogu biti izloženi dejstvu organizama iz viših grupa rizika nego što se očekuje. Na ovu mogućnost mora se računati pri donošenju sigurnosnih planova i politika.

Smernice za osnovne laboratorije – nivoa 1 i 2 biološke bezbednosti predstavljene ovde su sveobuhvatne i detaljne, s obzirom da su u osnovi rada u laboratorijama svih nivoa biološke bezbednosti. Smernice za rad u laboratorijama za čuvanje nivoa 3 biološke bezbednosti, kao i laboratorijama za maksimalno čuvanje nivoa 4 biološke bezbednosti, su modifikacije i dodaci ovim smernicama, projektovane za rad sa opasnijim patogenima.

#### 4.1 Pravilnik o ponašanju

Ovaj pravilnik daje listu najvažnijih laboratorijskih postupaka i procedura koje su osnovne za dobru mikrobiološku tehniku (DMT). U mnogim laboratorijama i nacionalnim laboratorijskim programima ovaj pravilnik može se upotrebiti za razvoj pisanih postupaka i procedura za bezbedne laboratorijske operacije.

Svaka laboratorija treba da prihvati bezbednosni ili operativni priručnik koji identifikuje poznate i potencijalne opasnosti, kao i specifične postupke i procedure, u cilju eliminisanja ili minimiziranja takvih opasnosti. DMT su fundamentalne za laboratorijsku bezbednost. Specijalizovana laboratorijska oprema je dodatak, ali nikada ne može da zameni odgovarajuće procedure. Evo najvažnijih koncepata:

##### 4.1.1 Pristup (član 20)

1. Međunarodni simbol i znak za biološku opasnost (Slika 1) mora biti postavljen na vrata prostorija gde se rukuje mikroorganizmima rizične grupe 2 ili višeg nivoa rizika.

*Slika 1. Znak upozorenja na biološku opasnost za laboratorijska vrata*



**Ovlašćenje za ulaz mora da odobri odgovorni istraživač naveden gore:**

2. Samo ovlašćene osobe smeju imati pristupa radnom prostoru laboratorije.
3. Vrata laboratorije treba držati zatvorena.
4. Deci ne treba dozvoliti pristup u radni prostor laboratorije.
5. Pristup životinjskim kućicama treba posebno ovlastiti.
6. Nikakve životinje ne smeju imati pristupa laboratoriji osim onih uključenih u rad laboratorije.

##### 4.1.2 Lična zaštita (član 35)

1. Laboratorijski mantili ili uniforme moraju se nositi sve vreme tokom rada u laboratoriji.
2. Odgovarajuće rukavice moraju se nositi tokom svih procedura koje mogu da uključuju direktni ili slučajni kontakt sa krvlju, telesnim tečnostima i drugim potencijalno zaraznim materijalima ili zaraženim životinjama. Posle upotrebe, rukavice treba aseptički ukloniti i oprati ruke.

3. Osoblje mora da pere ruke po rukovanju infektivnim materijalima i životinjama, a pre napuštanja radnog prostora laboratorije.
4. Zaštitne naočare, maske za lice (viziri) i druga zaštitna sredstva moraju se nositi kada je neophodno zaštititi lice i oči od prskanja tečnosti, čvrstih predmeta i izvora veštačkog ultraljubičastog zračenja.
5. Zabranjeno je nositi zaštitnu laboratorijsku odeću van laboratorije, tj. u kantinama, kafeterijama, kancelarijama, bibliotekama, drugim prostorijama za osoblje i taoletima.
6. Obuća otvorenih prstiju ne sme se nositi u laboratoriji.
7. Jelo, piće, pušenje, nanošenje kozmetike i rukovanje kontaktnim sočivima je zabranjeno u laboratoriskom radnom prostoru.
8. Skladištenje hrane i pića za ljude bilo gde u laboratorijskom radnom prostoru je zabranjeno.
9. Zaštitna laboratorijska odeća koja je korišćena u laboratoriji ne sme se odlagati u iste ormariće kao i odeća koja se nosi na ulici.

#### **4.1.3 Procedure**

1. Pipetiranje ustima strogo je zabranjeno.
2. Materijali se ne smeju stavljati u usta. Etikete se ne smeju lizati.
3. Sve tehničke procedure treba sprovesti na način koji maksimalno smanjuje stvaranje aerosola i kapljica.
4. Upotrebu hipodermičkih igala i špricova za injekcije treba ograničiti. Oni se ne smeju koristiti kao zamena za pipetska sredstva ili u bilo koje druge svrhe osim za parenteralne injekcije ili uzimanje tečnosti od laboratorijskih životinja.
5. Svako prosipanje tečnosti, akcidenti, otvorena i potencijalna izlaganja infektivnim materijalima moraju se prijaviti šefu laboratorije. O ovakvim akcidentima treba voditi pisanu dokumentaciju.
6. Pisana pravila procedure za čišćenje svih prosutih tečnosti moraju se doneti i poštovati.
7. Kontaminirane tečnosti moraju se dekontaminirati (hemijski ili fizički) pre ispuštanja u sanitarnu kanalizaciju.
8. Pisana dokumenta koja se kasnije iznose iz laboratorije, treba zaštititi od kontaminacije za vreme rada u laboratoriji.

#### **4.1.4 Radni prostor u laboratoriji (član 4)**

1. Laboratorija treba da bude uredna, čista i oslobođena materijala koji nisu u direktnoj vezi sa poslom koji se obavlja.
2. Radne površine moraju se dekontaminirati posle bilo kakvog prosipanja potencijalno opasnih materijala na kraju radnog dana.
3. Svi kontaminirani materijali, uzorci i kulture moraju se dekontaminirati pre bacanja ili čišćenja za ponovnu upotrebu.
4. Pakovanje i transport moraju se sprovesti uz poštovanje važeće nacionalne i/ili međunarodne regulative.
5. U slučaju kada se prozori otvaraju, oni moraju imati zaštitne mrežice od insekata.

#### **4.1.5 Upravljanje biološkom bezbednošću (član 37)**

1. Šef laboratorije (osoba koja snosi direktnu odgovornost za laboratoriju) je odgovoran za staranje o donošenju i prihvatanju plana upravljanja biološkom bezbednošću, kao i bezbedonosnom ili operativnom priručniku.
2. Nadzornik laboratorije (koji je odgovoran direktoru laboratorije) treba da se stara o organizovanju redovne obuke o laboratorijskoj bezbednosti.
3. Osoblje treba da bude upozoreno na posebne opasnosti. Od njega treba zahtevati da čita operativni ili priručnik za bezbednost i poštuje postupke i procedure. Šef laboratorije treba da se stara da osoblje ove razume. Jedan primerak operativnog ili priručnika za bezbednost treba da postoji i u laboratoriji.
4. Takođe, treba da postoji program kontrole od insekata i glodara.
5. U slučaju potrebe, svem osoblju treba pružiti adekvatnu medicinsku procenu, nadzor i lečenje, pri čemu treba voditi odogvarajuću medicinsku dokumentaciju.

#### **4.2. Projektovanje laboratorija i prostorija (član 7)**

Prilikom projektovanja laboratorije i dodeljivanja određenih tipova poslova, posebnu pažnju treba posvetiti uslovima za koje se zna da predstavljaju probleme u bezbednosti. Ovi uključuju:

1. stvaranje aerosola
2. rad sa velikim zapreminama i/ili visokim koncentracijama mikroorganizama
3. prenatrpanost i veliku količinu opreme
4. navale glodara i insekata
5. neovlašćeni ulaz
6. tok rada: upotrebu određenih uzoraka i reagenasa.

#### **4.2.1 Karakteristike projekta**

1. Za bezbedno obavljanje laboratorijskog rada, čišćenje i održavanje mora se obezbediti širok prostor.
2. Zidovi, plafoni i podovi treba da budu glatki, laki za čišćenje, nepromočivi i otporni na hemikalije i dezinfekciona sredstva koji se obično koriste u laboratoriji. Podovi ne treba da se klizaju.
3. Otvorene radne površine ne treba da propuštaju vodu i treba da budu otporne na dezinfekciona sredstva, kiseline, baze, organske rastvore i umerenu toplotu.
4. Rasveta treba da bude adekvatna za sve aktivnosti. Treba izbegavati nepoželjni odsjaj i blještanje svetla.
5. Laboratorijski nameštaj treba da bude od čvrstog materijala. Otvoreni prostor između i ispod klupa, kabineta i opreme treba da bude dostupan za čišćenje.
6. Prostor za skladištenje treba da bude adekvatan za zalihe za neposrednu upotrebu, što sprečava nered na radnim površinama i u prolazima. Takođe treba obezbediti dodatni prostor za dugoročno skladištenje, smešten van laboratorijskog radnog prostora.
7. Treba obezbediti prostor i prostorije za bezbedno rukovanje i skladištenje rastvora, radioaktivnih materijala i kompresovanih i tečnih gasova.
8. Van laboratorijskog radnog prostora treba obezbediti prostorije za skladištenje odeće za napolje i ličnih predmeta.
9. Van laboratorijskog radnog prostora takođe treba obezbediti prostorije za jelo, piće i odmor.
10. U svakoj laboratorijskoj prostoriji treba obezbediti lavaboe za pranje ruku sa tekućom vodom i po mogućstvu blizu izlaznih vrata.
11. Vrata treba da imaju staklene otvore, adekvatne indekse otpornosti na požar i po mogućstvu da se sama zatvaraju.
12. Na nivou biološke bezbednosti 1 i 2, autoklav ili neko drugo sredstvo za dekontaminaciju treba da bude na raspolaganju u odgovarajućoj blizini laboratoriji.
13. Sistemi za bezbednost treba da pokriju mogućnost požara, nestanka električne energije, da obezbede tuš za hitne slučajeve i lavaboe za ispiranje očiju.
14. Treba obezbediti adekvatno opremljeni i lako pristupačni prostor ili prostorije za hitnu pomoć.
15. Prilikom planiranja novih prostorija, treba obratiti pažnju na obezbeđivanje sistema mehaničke ventilacije koji pruža dotok spoljnog vazduha bez recirkulisanja. Ukoliko nema mehaničke ventilacije, prozori treba da budu takvi da mogu da se otvore i treba da imaju zaštitnu mrežicu od insekata.
16. Od suštinskog značaja je pouzdan dotok vode dobrog kvaliteta. Između izvora za laboratoriju i dotoka pijaće vode ne treba da postoje poprečni spojevi. Da bi se zaštitio sistem vode za javnu upotrebu treba ugraditi ventil za sprečavanje povratnog toka vode.
17. Da bi se omogućio bezbedan izlaz, treba obezbediti pouzdano i adekvatno snabdevanje električnom energijom, kao i osvetljenje za vanredna stanja. Za podršku osnovnoj opremi kao što su inkubatori, biološki bezbedni kabineti, zamrzivači i sl, kao i za ventilaciju životinjskih kaveza, poželjno je ugraditi pomoćni generator.
18. Snabdevanje gasom treba da bude pouzdano i adekvatno. Dobro održavanje instalacija je obavezno.
19. Laboratorije i kućice životinja su povremeno mete vandala. Mora se uzeti u obzir fizička i sigurnost od požara. Obavezni su jaka vrata, prozori sa zastorima i ograničeni broj ključeva. Da bi se povećala sigurnost, treba razmotriti i primeniti i druge mere.

#### **4.3 Laboratorijska oprema (član 10)**

Zajedno sa dobrim procedurama i postupcima, upotreba zaštitne opreme pomoći će da se smanji rizik prilikom rukovanja sa materijama opasnim po biološku bezbednost.

Posle savetovanja sa službenikom za biološku bezbednost i komitetom za bezbednost (ako je određen), direktor laboratorije bi trebalo da se postara za obezbeđivanje adekvatne opreme i njeno propisno korišćenje. Opremu treba izabrati uzimanjem u obzir izvesnih opštih principa, tj. ona bi trebalo da bude:

1. projektovana da spreči ili ograniči kontakt između operatera i infektivnog materijala
2. konstruisana od materijala koji ne propuštaju tečnosti, otporni su na koroziju i zadovoljavaju strukturalne zahteve

3. proizvedena tako da nema hrapave ivice, oštre ivice ili nezaštićene pokretne delove
4. projektovana, konstruisana i instalirana tako da olakša jednostavne operacije i pruži lako održavanje, čišćenje, dekontaminaciju i testiranje za odobravanje upotrebe; treba izbegavati staklene predmete i druge lomljive materijale kad god je to moguće.

#### **4.3.1 Osnovna oprema za biološku bezbednost**

1. Pipetska pomagala – da bi se izbeglo pipetiranje ustima. Postoje različite vrste.
2. Biološki bezbedni kabineti, koje treba upotrebiti uvek kada:
  - a. se rukuje infektivnim materijalima; takvi materijali se mogu centrifugirati u otvorenoj laboratoriji ako se koriste zapečaćene sigurnosne šolje za centrifugu i ukoliko se one pune i prazne u biološki bezbednom kabinetu
  - b. postoji povećani rizik od infekcije koja se prenosi putem vazduha
  - c. se koriste procedure sa visokim potencijalom stvaranja aerosola; ove mogu da uključuju centrifugiranje, drobljenje, integrisanje (blendiranje), energično mućkanje ili miksovanje, razbijanje zvukom, otvaranje kontejnera sa infektivnim materijalom čiji unutrašnji pritisak može biti drugačiji od ambijentalnog pritiska, intranazalna inokulacija životinja i prikupljanje infektivnih tkiva sa životinja ili iz jaja.
3. Plastične eze za jednokratnu upotrebu. Kao alternativa, električni insinatori za eze mogu se koristiti unutar biološki bezbednog kabineta da bi se smanjilo stvaranje aerosola.
4. Epruvete i flašice sa poklopcem sa zavrtnjem.
5. Sterilizatori ili druga odgovarajuća sredstva za dekontaminaciju infektivnih materijala.
6. Plastične Pasterove pipete za jednokratnu upotrebu, kad god je moguće, da bi se izbeglo staklo.
7. Oprema kao što su autoklavi i biološki bezbeni kabineti, mora biti ocenjena kao validna uz pomoć adekvatnih metoda pre nego što se upotrebi. Ponovno izdavanje sertifikata za upotrebu treba obavljati u redovnim intervalima, prema uputstvima proizvođača.

#### **4.4 Zdravstveni i medicinski nadzor (član 49)**

Poslodavac je, posredstvom šefa laboratrije, odgovoran za obezbeđivanje adekvatnog nadzora zdravlja laboratorijskog osoblja. Cilj takvog nadzora je praćenje bolesti stečenih na radu. Odgovarajuće aktivnosti za postizanje ovih ciljeva su:

1. Obezbeđivanje aktivne i pasivne imunizacije gde je na to ukazano
2. Olakšavanje ranog otkrivanja laboratorijski stečenih infekcija
3. Izuzimanje visoko osetljivih pojedinaca (na pr. trudnih žena ili osoba sa slabim imunitetom) iz visoko hazardnog laboratorijskog posla
4. Obezbeđivanje efikasne opreme i procedura za ličnu zaštitu

##### **4.4.1 Smernice za nadzor laboranata koji rukuju mikroorganizmima na nivou 1 biološke bezbednosti**

Iskustvo ukazuje da je malo verovatno de će mikroorganizmi kojim se rukuje na ovom nivou prouzrokovati ljudske bolesti ili životinjske bolesti od značaja za veterinu. Međutim, bilo bi idealno da se svi laboranti podvrgnu sistematskom zdravstvenom pregledu pre zapošljavanja, gde bi se zabeležila njihova medicinska istorija. Poželjno je neposredno prijavljivanje bolesti ili laboratorijskih akcidenata, a svi članovi osoblja treba da budu svesni značaja održavanja DMT.

##### **4.4.2 Smernice za nadzor laboranata koji rukuju mikroorganizmima na nivou 2 biološke bezbednosti**

1. Pre zapošljavanja ili angažovanja na nekom mestu neophodan je zdravstveni pregled. Medicinska istorija neke osobe treba da bude zabeležena, i obavljena ciljana procena ukupnog zdravlja.
2. Uprava laboratorije treba da vodi evidenciju o bolestima i odsustvu.
3. Žene u reproduktivnom dobu treba da budu svesne rizika izloženosti izvesnim mikroorganizmima po nerođeno dete, na primer rubela virusu. Konkretni postupci za zaštitu fetusa variraju, u zavisnosti od mikroorganizama kojima žene mogu biti izložene.



#### **4.5 Obuka (član 27)**

Ljudske greške i loše tehnike mogu kompromitovati i najbolja sredstva za zaštitu laboranata. Zato, osoblje koje je svesno bezbednosti i dobro informisano da prepozna i kontroliše laboratorijske hazarde predstavlja ključni element u sprečavanju laboratorijski stečenih infekcija, incidenata i akcidenata. U ove svrhe, neophodno je da postoji stalna obuka po pitanju mera bezbednosti. Efikasan program bezbednosti počinje sa menadžerima laboratorije, koji treba da se staraju da bezbedni laboratorijski postupci i procedure budu integrisani u osnovnu obuku zaposlenih. Obuka iz oblasti mera bezbednosti treba da bude integralni deo uvođenja novih zaposlenih u laboratoriju (član 32). Zaposlenima treba predstaviti pravilnik o ponašanju i lokalne smernice, uključujući i operativni ili priručnik o bezbednosti. Treba usvojiti mere koje utvrđuju da su zaposleni pročitali i razumeli smernice, na primer stranice sa karakteristikama. Nadzornici laboratorije igraju ključnu ulogu u obučavanju svog neposrednog osoblja u laboratorijskim tehnikama. Službenik za biološku bezbednost može da pomogne u obuci, razvoju pomagala za obuku i vođenju dokumentacije. Obuka osoblja uvek treba da uključuje informacije o bezbednim metodama kod visoko hazardnih procedura na koje obično sve laboratorijsko osoblje nailazi, i koje obuhvataju:

1. rizik od udisanja (tj. stvaranje aerosola) prilikom upotrebe eza, nanošenja kultura na agar baze, pipetiranja, pravljenja razmaza, otvaranje kultura, uzimanje uzoraka krvi / seruma, centrifugiranja, itd.
2. rizik od unošenja prilikom rukovanja uzorcima, razmazima i kulturama
3. rizik od perkutanog unošenja prilikom upotrebe špriceva i igala
4. ugrize i ogrebotine pri radu sa životinjama
5. rukovanje krvlju ili drugim potencijalno hazardnim patološkim materijalom
6. dekontaminaciju i bacanje infektivnog materijala.

#### **4.6 Rukovanje otpadom**

Otpadom se smatra sve što je za uklanjanje (bacanje).

U laboratorijama dekontaminacija otpada i njegovo konačno uklanjanje tesno su povezani. Kada je reč o dnevnoj upotrebi, malo kontaminiranog materijala će zahtevati stvarno uklanjanje iz laboratorije ili uništenje. Većina staklenih predmeta, instrumenata i laboratorijske odeće biće ponovo upotrebljena ili reciklirana. Najvažniji princip je da svi infektivni materijali treba da budu dekontaminirani, sterilisani parom ili spaljeni u laboratoriji.

Osnovna pitanja koja se postavljaju pre odbacivanja bilo kakvih objekata ili materijala iz laboratorija, a koja se tiču potencijalno infektivnih mikroorganizama ili životinjskog tkiva su:

1. Da li su predmeti ili materijali bili efikasno dekontaminirani ili dezinfikovani odobrenom procedurom?
2. Ako nisu, da li su spakovani na odobreni način za neposredno spaljivanje na licu mesta ili za transfer do drugog prostora sa kapacitetima za insineraciju?
3. Da li uklanjanje dekontaminiranih predmeta ili materijala uključuje bilo kakve dodatne potencijalne hazarde, biološke ili druge vrste, za one koji sprovode neposredne procedure uklanjanja ili koji bi mogli doći u kontakt sa izbačenim predmetima van laboratorije?

##### **4.6.1 Dekontaminacija**

Sterilizacija parom je preferirani metod za sve procese dekontaminacije. Materijali za dekontaminaciju i uklanjanje treba da budu stavljeni u kontejnere, tj. plastične kese koje se mogu sterilisati, i koje su obeležene različitim bojama u zavisnosti od toga da li material u njima treba sterilisati i/ili spaliti. Alternativne metode treba predvideti samo ukoliko one uklanjaju i/ili ubijaju mikroorganizme

##### **4.6.2 Procedure rukovanja i uklanjanja kontaminiranih i drugih otpadnih materija**

Treba prihvatiti sistem identifikacije i razdvajanja za infektivne materijale i njihove kontejnere. Moraju se poštovati nacionalni i međunarodni propisi. Kategorije treba da uključuju:

1. nekontaminirani (neinfektivni) otpad koji se može ponovo upotrebiti ili reciklirati ili izbaciti kao opšti otpad iz domaćinstva
2. kontaminirani (infektivni) oštri predmeti – hipodermičke igle za injekcije, skalpeli, noževi i slomljeno staklo; sve ove predmete uvek treba prikupiti u neprobojne kontejnere sa poklopcima i tretirati kao infektivne

3. kontaminirani materijal za dekontaminaciju sterilizacijom a potom pranjem i ponovom upotrebom ili recikliranjem
4. kontaminirani materijal za sterilizaciju i uklanjanje
5. kontaminirani materijal za direktno spaljivanje.

#### **4.6.2.1 Oštri predmeti**

Posle upotrebe, hipodermičke igle ne treba vraćati u kapice, zatvarati ili uklanjati sa špriceva za jednokratnu upotrebu. Špriceve za jednokratnu upotrebu, upotrebljene samostalno ili zajedno sa iglama, treba staviti u kontejnere za uklanjanje oštih predmeta i spaliti, uz prethodnu sterilizaciju ako je to potrebno.

Kontejneri za uklanjanje oštih predmeta moraju biti neprobojni, i ne smeju biti napunjeni do punog kapaciteta. Kada su tri četvrtine puni treba ih staviti u konterjnere za infektivni otpad i spaliti, uz prethodnu parnu sterilizaciju ukoliko to zahteva laboratorijska praksa. Kontejneri za uklanjanje oštih predmeta ne smeju se bacati na deponije.

#### **4.6.2.2 Kontaminirani (potencijalno infektivni) materijali za sterilizaciju i ponovnu upotrebu**

Kontaminirane (potencijalno infektivne) materijale za sterilizaciju i ponovnu upotrebu ne treba prethodno čistiti. Bilo kakvo neophodno čišćenje ili popravka moraju se obaviti tek pošto se izvrši sterilizacija ili dezinfekcija.

#### **4.6.2.3 Kontaminirani (potencijalno infektivni) materijali za bacanje**

Nezavisno od oštih predmeta, o kojima je bilo reči gore, svi kontaminirani (potencijalno infektivni) materijali se pre bacanja moraju sterilisati parom u nepropusnim kontejnerima, tj. u bojama obeleženim plastičnim vrećama za sterilizaciju. Posle sterilisanja, materijal se može smestiti u kontejnere za transfer za prevoz do insineratora.

Ukoliko je to moguće, materijale koji potiču od aktivnosti zdravstvene zaštite ne bi trebalo bacati na deponije čak ni posle dekontaminacije. Ukoliko se insinerator nalazi u laboratoriji, sterilizacija se može izostaviti: kontaminirani otpad treba staviti u dodeljene kontejnere (na pr. vreće obeležene bojama) i transportovati direktno do insineratora. Kontejneri za transfer za više upotreba treba da budu nepropusni i da imaju prijanjajuće poklopce. Treba da budu dezinfikovani i očišćeni pre nego što se vrate u laboratoriju za dalju upotrebu.

U svakoj radnoj stanici treba postaviti kontejnere za izbacivanje otpada, posude ili tegle, po mogućstvu nesalomljive (na pr. plastične). Kada se koriste dezinficijensi, otpadni materijal treba da bude u direktnom kontaktu sa dezinficijensom (tj. nezaštićen mehurićima vazduha) za odgovarajući vremenski period, u skladu sa uputstvom za korišćenje konkretnog dezinficijensa. Kontejneri za izbacivanje otpada treba da budu dekontaminirani i oprani pre nove upotrebe.

Sagorevanje kontaminiranog otpada mora da bude odobreno od nadležnih institucija za zdravstvenu zaštitu i gađenje vazduha, kao i od strane predstavnika za laboratorijsku biološku bezbednost.

## **5. ZAKLJUČAK**

Dobre mikrobiološke tehnike i adekvatna upotreba opreme za biološku bezbednost od strane dobro obučenog osoblja predstavljaju osnovne elemente biološke bezbednosti u laboratoriji. Primena ovih preporuka ne znači potpuno eliminisanje opasnosti koje nastaju u laboratorijskom radu, ali nedostatak nacionalne zakonske regulative i stručnih preporuka netreba da bude prepreka da se da sopstveni doprinos većoj bezbednosti kojoj svi težimo.

## **6. BIBLIOGRAFIJA**

[1] World Health Organization, Laboratory biosafety manual, third edition, Geneva 2004.

[2] Zakon o bezbednosti i zdravlju na radu, SG.RS.101/05

[3] Institut za zaštitu zdravlja, Procedura upravljanja zaštitom životne sredine, drugo izdanje, Novi Sad 2004.