



# Bezbedan rad u laboratoriji sa infektivnim agensima i mere zaštite

Katedra za mikrobiologiju  
Institut za mikrobiologiju i imunologiju

# BIOHAZARD

## BIOLOŠKA OPASNOST



- agens biološkog porekla koji je štetan za ljude (kao i za životinje i biljke)
- npr. mikroorganizmi, toksini, alergeni poreklom od mikroorganizama, ali i alergeni i toksini poreklom od viših životinja i biljaka

**•Biobezbednost u laboratoriji –  
principi zaštite, tehnologija i praksa  
za sprečavanje nenamernog  
izlaganja patološkim agensima i  
toksinima ili njihovo slučajno  
oslobađanje**



**Priručnik za biološku bezbednost u laboratoriji, SZO  
(Laboratory Biosafety Manual, WHO)**

**Preporuke za bezbednost i zdravlje na radu u medicinskim laboratorijama,  
Ministarstvo zdravlja RS, 2012**

**Pravilnik o preventivnim merama za bezbedan i zdrav rad pri izlaganju  
biološkim štetnostima ("Službeni glasnik RS", br. 96/2010)**

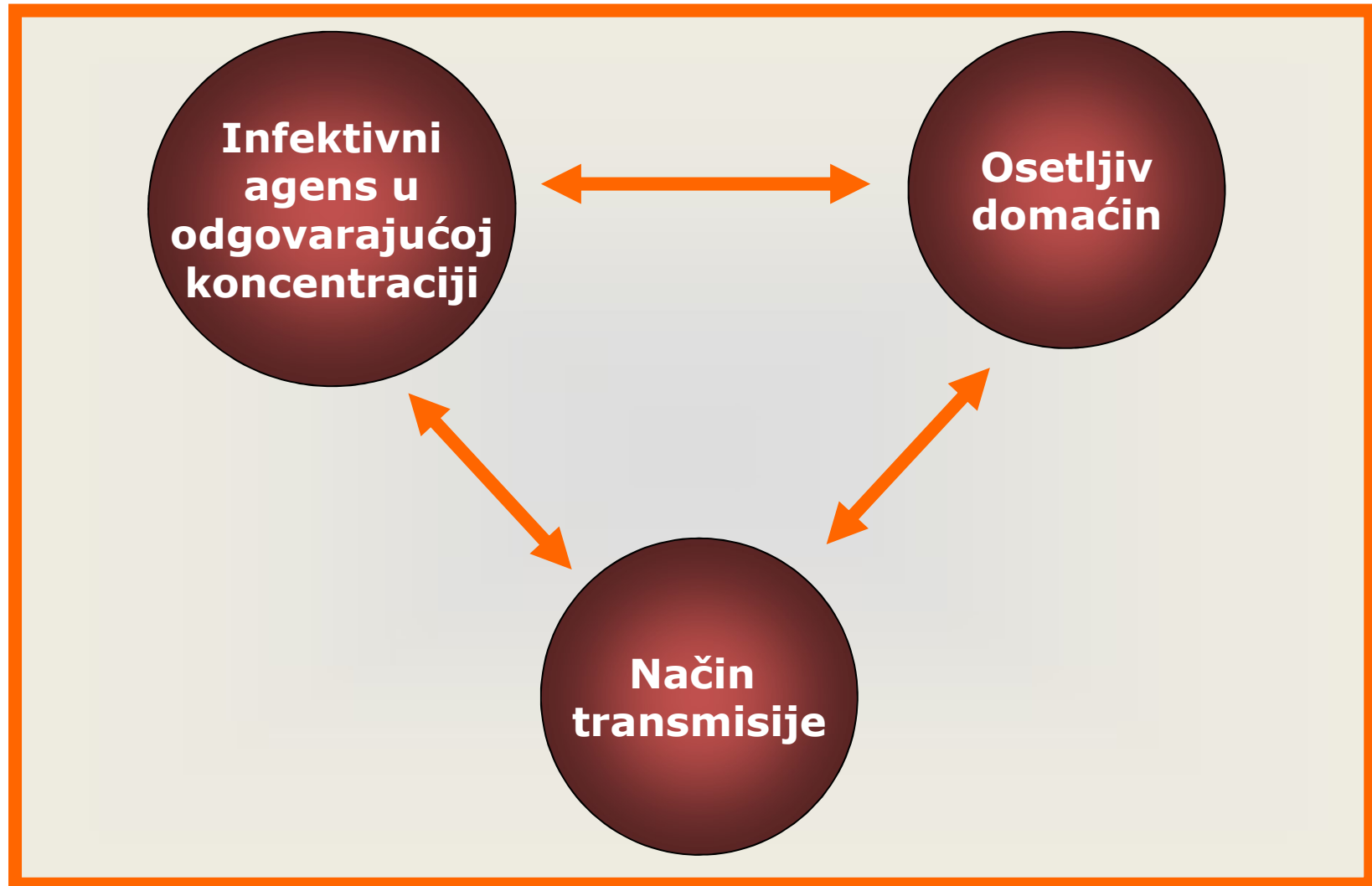
# Biosafety i Biosecurity



Ciljevi pravilne organizacije laboratorije i mera zaštite:

- **Biološka bezbednost (Biosafety):** smanjenje ili eliminacija rizika nenamernog izlaganja laboratorijskog osoblja, kontaminacije materijala koji se obrađuje, kao i okoline
- **Biološka sigurnost (Biosecurity):** onemogućiti gubitke, krađu, zloupotrebu, diverziju ili slučajno oslobađanje patogenih agenasa i toksina.

# Elementi ciklusa infekcije



\* infektivna doza za većinu agenasa je vrlo visoka

# Podela infektivnih agenasa



# Bezbednost u laboratoriji



❖ **Podela mikroorganizama u 4 grupe prema nivou biološke opasnosti**

❖ **Kriterijumi za podelu:**

- ✓ patogenost,
- ✓ rizik za laboratorijske radnike,
- ✓ opasnost po širu zajednicu
- ✓ postojanje terapije i imunoprofilakse

# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

## I grupa

**malo verovatno da izazove infekciju i oboljenje ljudi; ne kolonizuju kožu i sluznicu zdravih osoba**



# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

## II grupa

**može da izazove infekciju** i oboljenje kod laboratorijskih radnika ali je **malo verovatno dalje širenje** u zajednicu; obolevanje lab. radnika retko, **postoji uspešna profilaksa i/ili terapija**

# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

## III grupa

može da **izazove infekciju i oboljenje** kod laboratorijskih radnika, postoji **rizik od širenja** infekcije u zajednicu, ali postoji i **uspešna profilaksa i/ili terapija**

# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

## IV grupa

**visok rizik za obolevanje ljudi, visok rizik za lab. radnike, visok rizik za zajednicu; NEMA efikasne profilakse niti terapije**

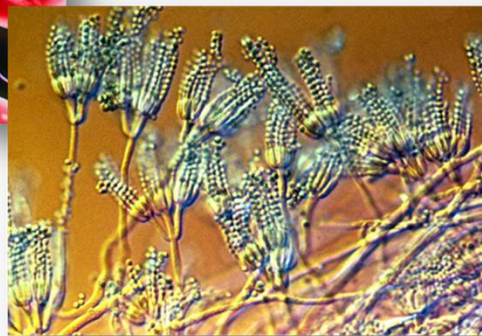
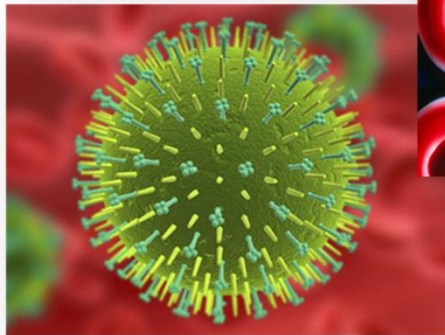
# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

**I grupa** – nepatogeni mikroorganizmi (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus megaterium*...)



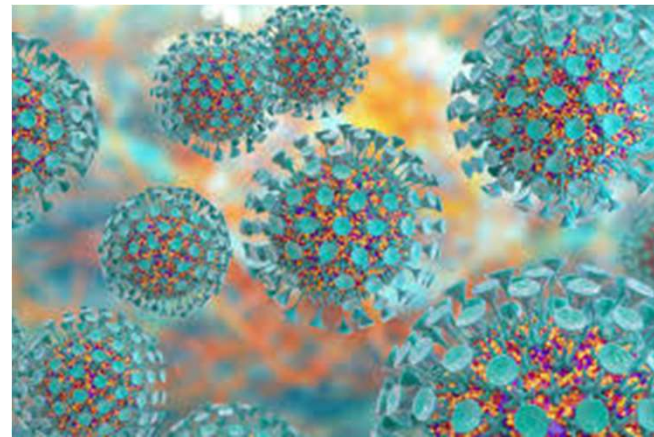
# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

**II grupa** – *herpesvirusi*, *orthomyxovirusi*, *adenovirusi*, *Ascaris lumbricoides*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis*, *Clostridium botulinum*, *C. Tetani*, *Candida*, *Aspergillus*,.....



# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

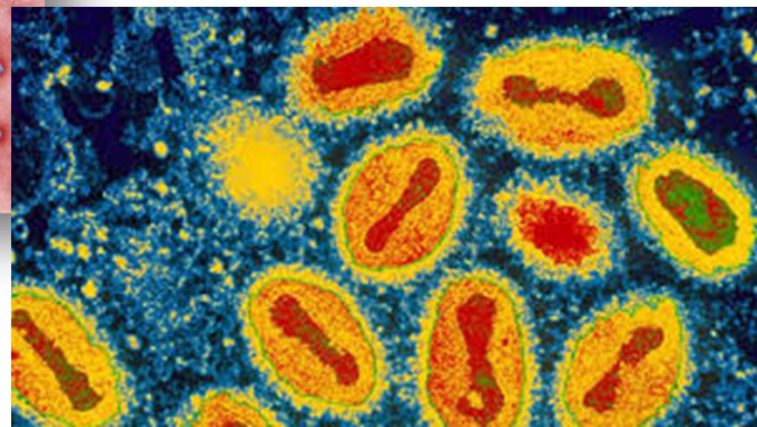
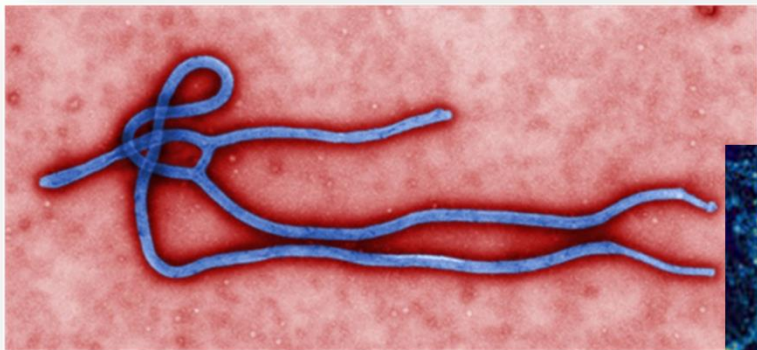
**III grupa** - *HIV, HBV, Hantavirusi, žuta groznica, rabies, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis, Yersinia pestis (rezistentni sojevi), Bacillus anthracis, Leishmania, Echinococcus, Plasmodium falciparum.....*





# Klasifikacija mikroorganizama prema nivou biološke opasnosti

**IV grupa** – *variola, krimsko-kongoanska groznica, Lassa groznica, Ebola,.....*



# Nivoi biološke bezbednosti:BSL

Shodno rizicima u radu sa pojedini agensima:

- ❖ 4 nivoa biološke bezbednosti (Biosafety Level-BSL)
- ❖ od 1. – 4. nivoa rastući stepen opasnosti i potreba za merama zaštite





# Odabir biosigurnosnog nivoa (procena rizika)

- patogenost mikroorganizma i infektivna doza
- mogući ishod infekcije, dostupnost efikasnih profilaktičkih i terapijskih procedura
- prirodni put infekcije i drugi putevi infekcije koji mogu nastati kao rezultat laboratorijske manipulacije (parenteralni, ingestija, aerosol)
- stabilnost mikroorganizma u spoljašnjoj sredini
- koncentracija mikroorganizma i volumen koncentrovanog materijala sa kojim treba da se radi
- prisustvo odgovarajućeg domaćina (čoveka ili životinje)

# Odabir biosigurnosnog nivoa (procena rizika)

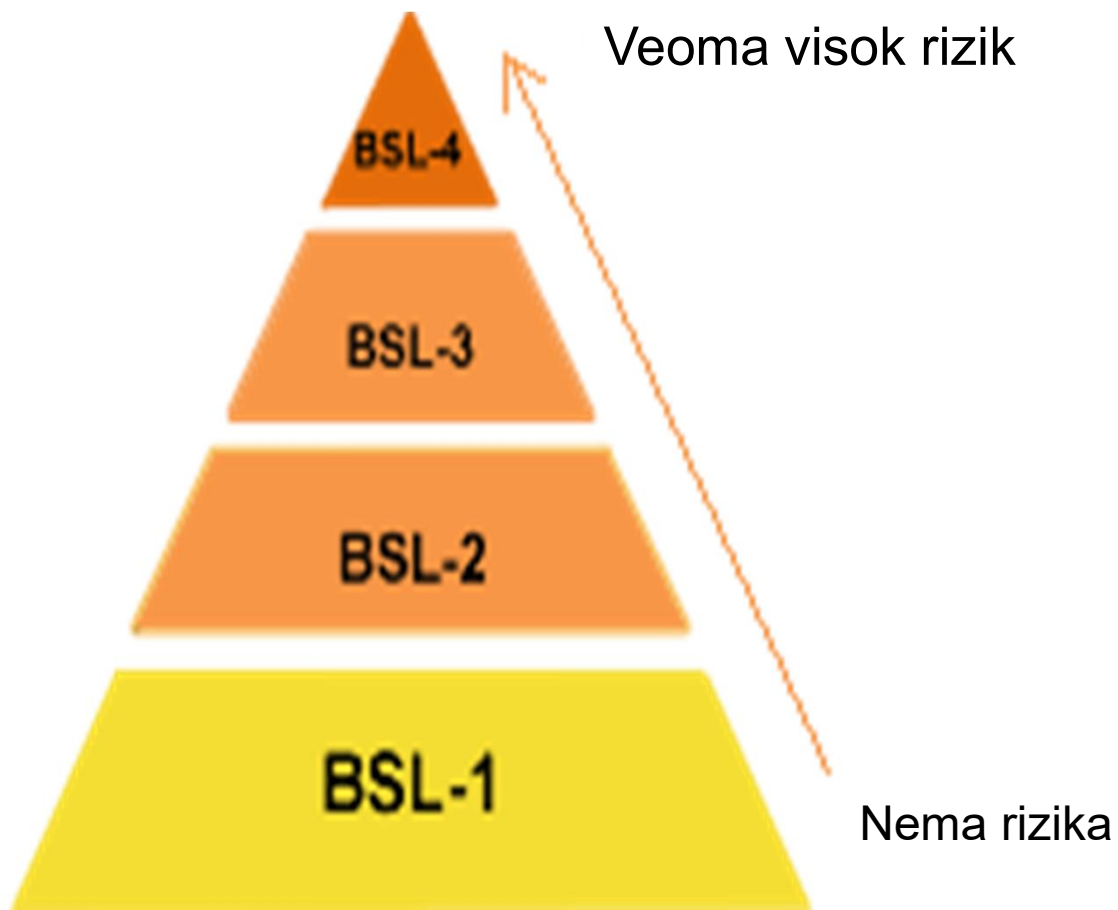
- dostupnost informacija o studijama na životinjama i izveštaji o infekcijama stečenim u laboratorijama ili klinički izveštaji
- planirana laboratorijska aktivnost (centrifugiranje, stvaranje aerosola, rad sa ultrazvukom,...)
- bilo koja genetska manipulacija koja može dovesti do širenja mikroorganizma na nove domaćine ili promene osetljivosti na poznate antibiotike
- mogućnost primene mikroorganizma kao biološkog oružja i druge vrste zloupotrebe, posledice zloupotrebe

# Odabir biosigurnosnog nivoa (procena rizika)

Uzorci za koje informacije nisu dostupne ili su ograničene:

- primeniti standardne mere predostrožnosti (rukavice, maska, naočare,...)
- razmotriti medicinske podatke o pacijentu, epidemiološke podatke, podatke o geografskom poreklu uzorka

# Nivo biološke opasnosti

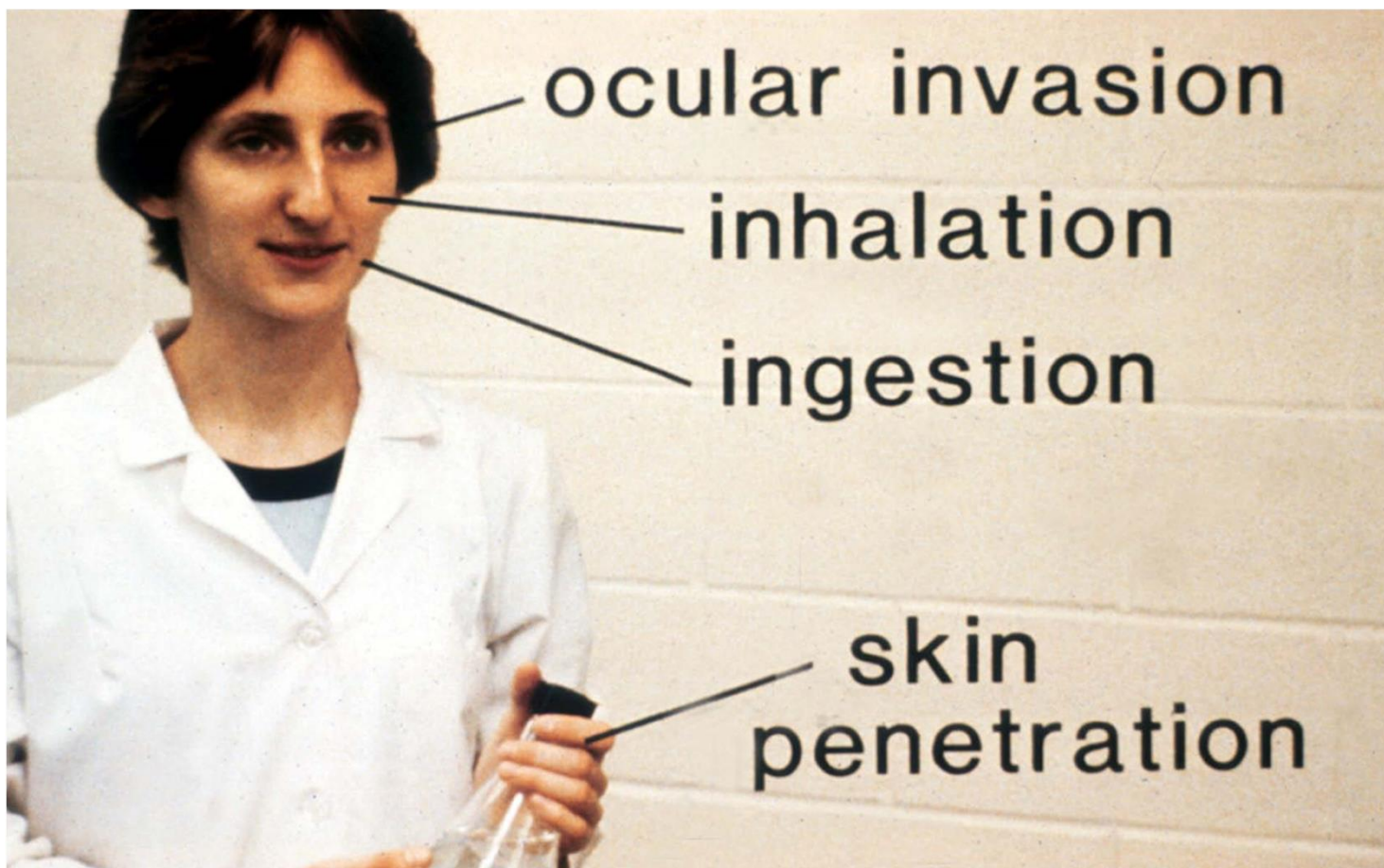


# Najvažniji putevi transmisije infekcije u mikrobiološkoj laboratoriji

1. aerosol - inhalacija (>80%)
2. direktan kontakt sa kožom i sluznicama – inokulacija
3. oralni - ingestija (pipetiranje!)

\* od svih elemenata infekcije, put transmisije se najlakše kontroliše pravilnom organizacijom laboratorije

# Putevi izlaganja



# Glavni izvori rizika u kliničkim mikrobiološkim laboratorijama

1. uzorci
2. kulture mikroorganizama



\*mortalitet od laboratorijskih infekcija iznosi oko 4%



***SVE pacijente smatrati potencijalno infektivnim***  
***SVE kliničke uzorke smatrati potencijalno kontagioznim***

**RIZIK POSTOJI**

- ✓ Krv
- ✓ Ejakulat
- ✓ Likvor
- ✓ Sinovijalna tečnost
- ✓ Pleuralna tečnost
- ✓ Peritonealna tečnost
- ✓ Perikardijalna tečnost
- ✓ Vaginalni sekret
- ✓ Amnionska tečnost

**RIZIK NE POSTOJI**

- Urin
- Sputum
- Saliva
- Stolica
- Povraćeni sadržaj
- Nosni sekret
- Suze
- Znoj

osim ako ne sadrže  
vidljivu **krv!!!**





## **Mere zaštite obuhvataju 3 elementa:**

- 1. dobra laboratorijska praksa i tehnika:** GLP (good laboratory practice) i GMT (good microbiological technique)
- 2. sigurnosna oprema:** primarne barijere (komore za rad, zatvoreni kontejneri, oprema za ličnu zaštitu, uređaji za pipetiranje, centrifuge sa poklopcem,...)
- 3. dizajn i konstrukcija objekta/laboratorije:** sekundarne barijere (izolovanje laboratorije, smeštaj autoklava, instalacije za pranje ruku,...)

# Odnos između rizičnih grupa mikroorganizama i biosigurnosnih nivoa

Rizična grupa	BSL	Primer laboratorije	Laboratorijska praksa i tehnika	Sigurnosna oprema
1	<b>Level 1</b>	Laboratorija za obuku	GMT	nema; otvorena radna površina
2	<b>Level 2</b>	<b>Klinička laboratorija</b>	GMT + zaštitna oprema; oznaka biohazard na vratima	otvorena radna površina + BSC klase I ili II za potencijalni aerosol
3	<b>Level 3</b>	Specijalna dijagnostika	kao Level 2 + posebna odeća, kontrolisan pristup, usmereni protok vazduha	BSC klase II i druga oprema koja obezbeđuje zadržavanje mikroorganizama tokom svih aktivnosti
4	<b>Level 4</b>	Odeljenje za opasne mikroorganizme	kao Level 3 + poseban ulaz koji onemogućava ulazak i izlazak vazduha, tuširanje pri izlazu, posebno odlaganje otpada	BSC klase III ili odela sa pozitivnim pritiskom; filtriran vazduh, posebni autoklavi

\* BSL - biosafety level; BSC - biological safety cabinet; GMT - good (safe) microbiological technique



## Pristup laboratoriji



1. **Ograničen pristup - na vratima** znak za biohazard ako se radi sa mikroorganizmima iz rizične grupe 2 ili više grupe;
2. vrata laboratorije **uvek** moraju biti **zatvorena**
3. direktor laboratorije je odgovoran za pravila i procedure po kojima je dozvoljen pristup laboratoriji

# Lična zaštita

1. **laboratorijska odeća** (uniforme, kombinezoni, ogrtači) mora da se nosi tokom rada i ne sme da se nosi van laboratorije
2. laboratorijska odeća ne sme da stoji u istim ormanima sa svakodnevnom garderobom
3. **dodatna zaštitna oprema** (naočare, maske, štitnici za lice) treba da se nose kada postoji opasnost od prskanja infektivnog materijala i kada se radi izvan sterilne komore



hirurška maska



HEPA maska

# Lična zaštita

4. **obuća** sa otvorenim prstima nije dozvoljena

5. **rukavice** nositi tokom procedura kod kojih može doći do kontakta sa potencijalno infektivnim materijalom, kontaminiranim površinama ili opremom; rukavice se skidaju aseptično, autoklaviraju i tek onda bacaju; ruke oprati po skidanju rukavica



# Lična zaštita

6. pranje ruku je obavezno po skidanju rukavica, nakon rada sa infektivnim materijalom, životinjama i pre napuštanja laboratorije

7. u zoni rada laboratorije nije dozvoljena upotreba hrane i pića, pušenje, nameštanje kontaktnih sočiva, nanošenje šminke; hrana se čuva izvan zone rada



8. rane, ogrebotine i uopšte povrede moraju biti pokrivena vodootpornim flasterima

9. dugačka kosa mora biti skupljena tokom boravka i rada u laboratoriji

# Procedure



- Pravila o rukovanju oštrim predmetima i njihovom odlaganju (staklo zameniti plastikom)
- Mogućnost stvaranja aerosola i kapljica svesti na minimum
- Sprečiti kontaminaciju dokumenata koji se unose odnosno iznose iz laboratorije
- Postupci u slučaju nezgode
- Postupci dekontaminacije odnosno dezinfekcije

**Zakon o zaštiti stanovništva od zaraznih bolesti  
(„Službeni glasnik RS”, br. 125/04 i 36/15)**

**Pravilnik o načinu i postupku procene rizika na radnom mestu i u radnoj okolini  
(„Službeni glasnik RS”, br.72/06, 84/06 i 30/10)**

**Smernice Dobre laboratorijske prakse  
(„Službeni glasnik RS”, br. 28/2008)**

# **BSC - biological safety cabinet (HUD, komora za sterilni rad, laminar)**

Prema pravcu kretanja vazduha:

1. horizontalni
2. vertikalni (u mikrobiološkim laboratorijama; 3 klase)

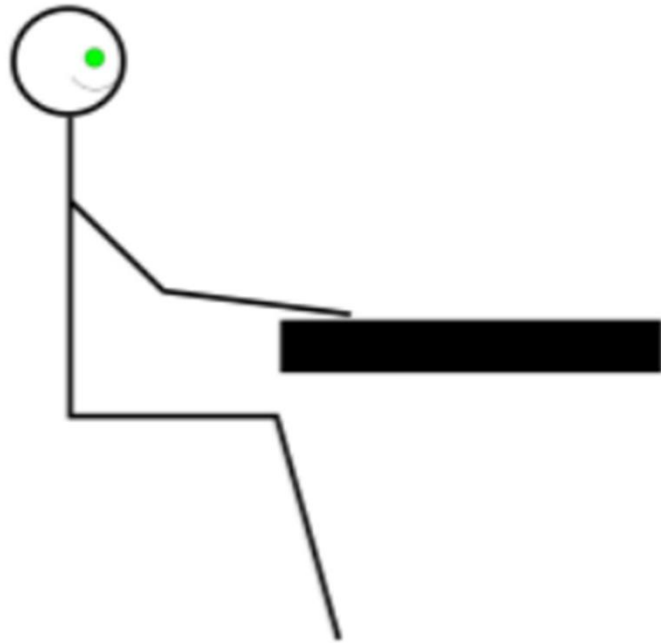
Uloga:

- zaštita osobe koja radi
- zaštita okoline
- zaštita od kontaminacije materijala koji se obrađuje

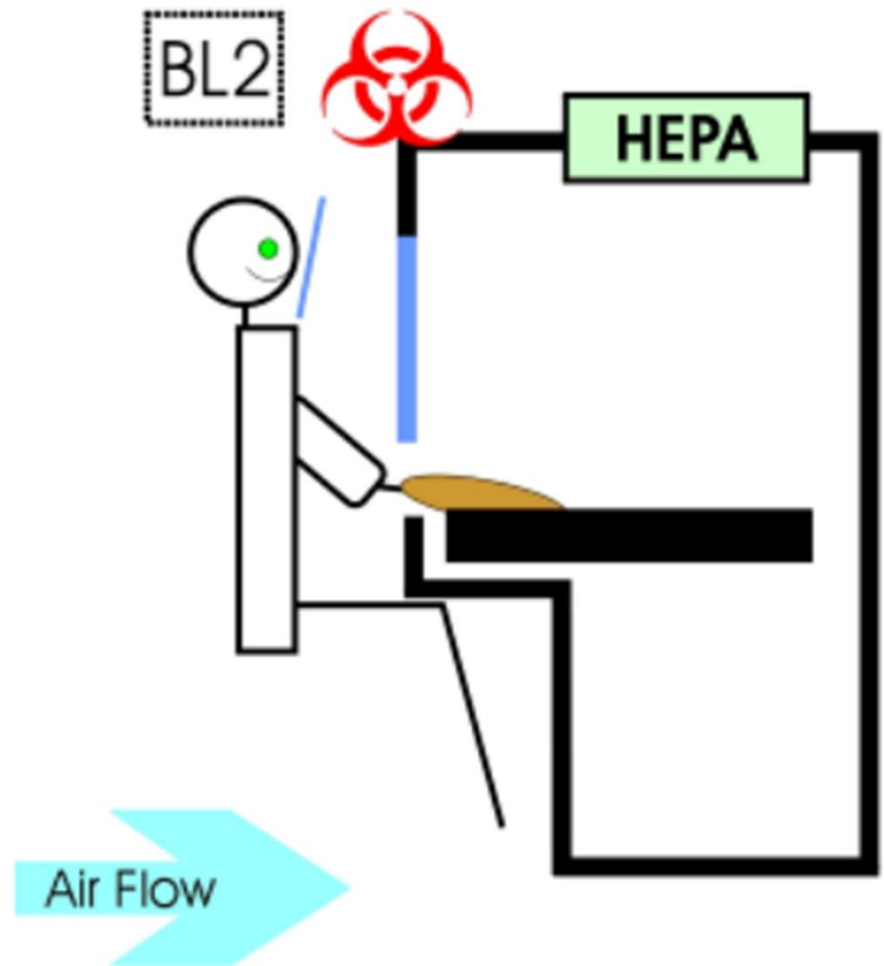


# CDC/NIH: BIOSAFETY LEVEL 1 AND LEVEL 2.

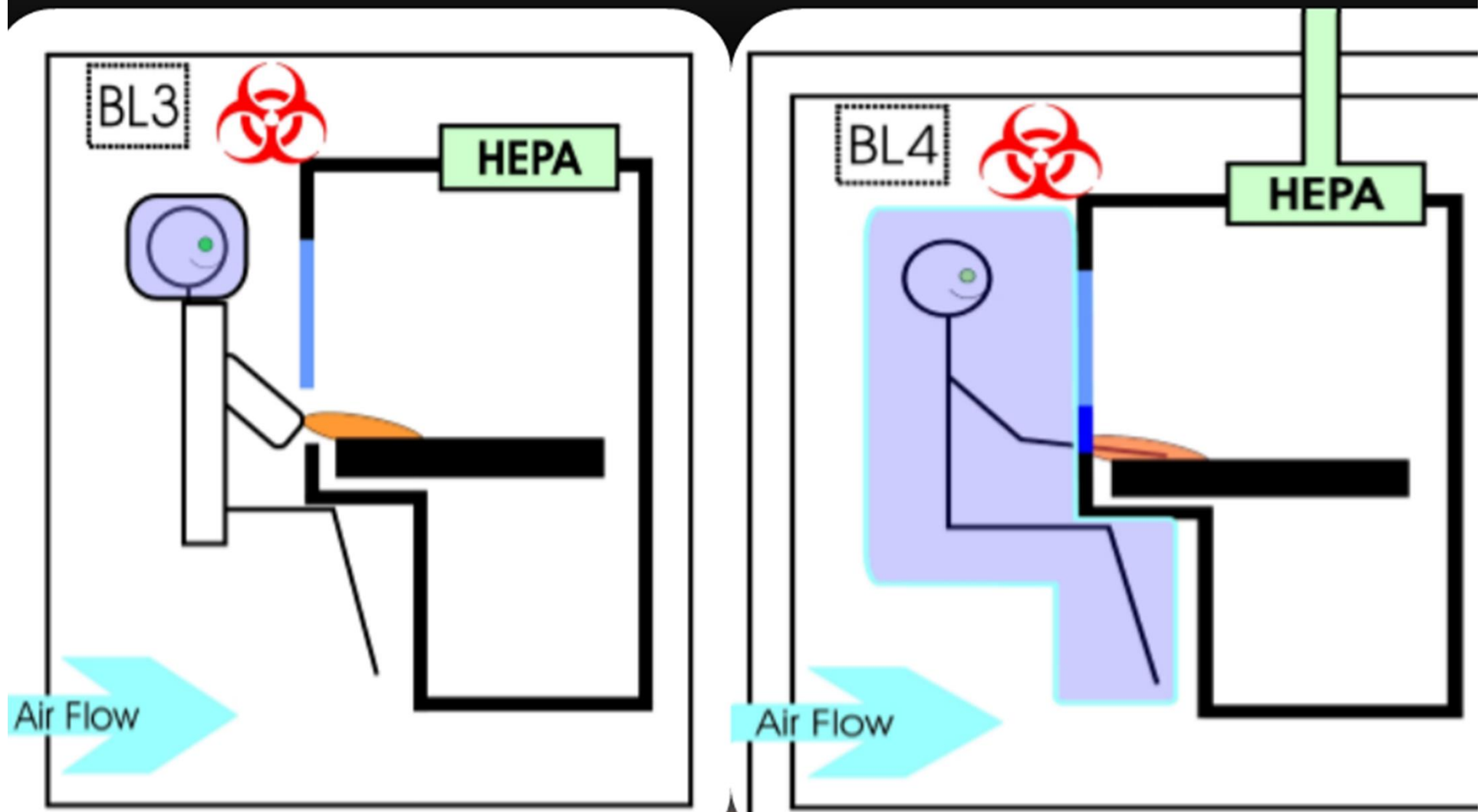
BL1



BL2



# CDC/NIH: BIOSAFETY LEVEL 3 AND LEVEL 4.









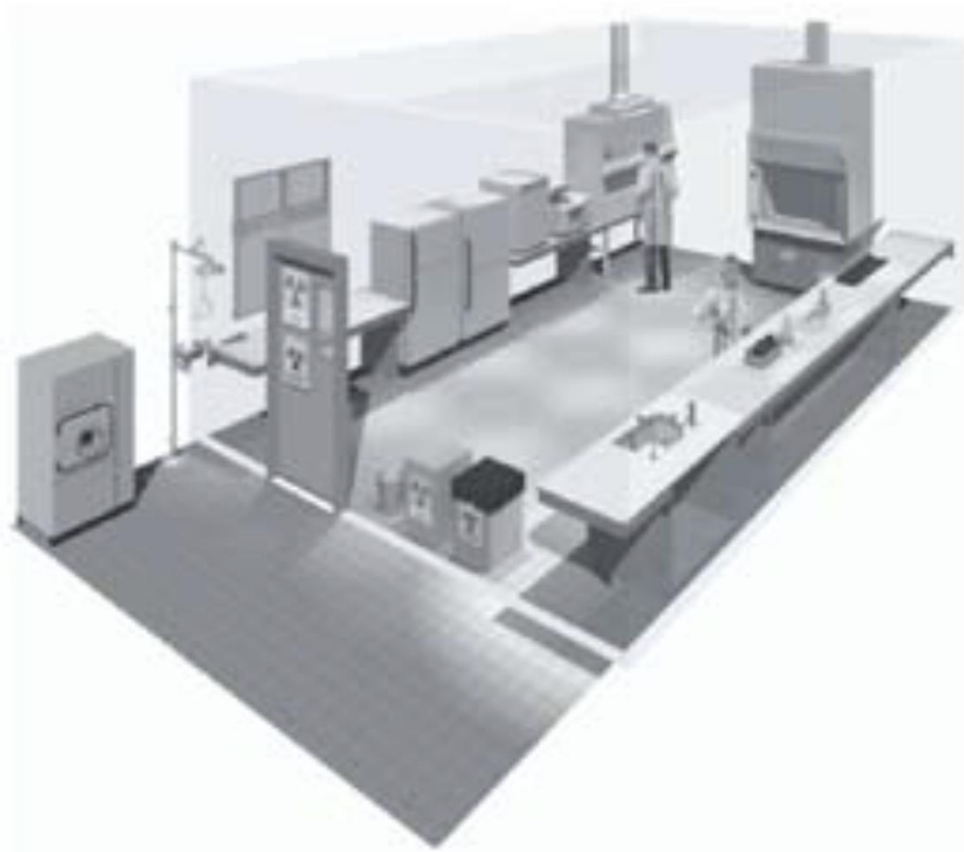
Biosafety Level 4:  
Ebola virus, Lassa  
groznica, velike  
boginje

# Prostorna organizacija i tok rada

Zasebne prostorije ili odvojeni prostor



**JEDNOSMERNI TOK RADA!!!!**



# Akcident u mikrobiološkoj laboratoriji

## Moguće posledice akcidenta:

- povrede
- infekcije
- alergije
- trovanja



## **Vrste nezgoda koje se javljaju kod infekcija stečenih u laboratorijskim uslovima**

- Nezgode koje uključuju upotrebu igala ili špriceva
- Prosipanje i prskanje
- Povrede slomljenim staklom ili ostalim oštrim predmetima
- Udisanje putem pipeta
- Ujedi ili ogrebotine od životinja ili ektoparazita



# Primer: uzimanje uzoraka krvi



# Primer: špricevi poklopljeni posle upotrebe



Georgia, 2003

# UZIMANJE UZORAKA

- U toku svih procedura u kojima se rukuje uzorcima trebalo bi da se nose rukavice, a po potrebi i druga zaštitna oprema (od uzimanja uzoraka od pacijenata do analize istih).
- Uzorke od pacijenata uvek uzima stručno i obučeno osoblje
- Za prikupljanje i čuvanje uzoraka koriste se odgovarajuće posude (vakutajneri, posude za urin,.....), poželjno je da su od plastike i za jednokratnu upotrebu
- Upotrebljene igle i drugi oštri predmeti se obavezno odlažu u odgovarajuće kontejnere za oštre predmete. **Na igle ne treba vraćati poklopac.**



## Primeri rizika:

- ✓ Rizik pri rukovanju krvlju i drugim potencijalno infektivnim materijalom
- ✓ Rizik od unošenja prilikom rukovanja uzorcima, razmazima i kulturama
- ✓ Rizik od perkutanog unošenja prilikom upotrebe špriceva i igala
- ✓ Rizik od udisanja (tj. stvaranje aerosola) prilikom upotrebe eza, nanošenja kultura na agar, pipetiranja, pravljenje razmaza, otvaranja kultura, uzimanje uzoraka krvi, centrifugiranje, itd.
- ✓ Dekontaminacija i bacanje infektivnog otpada





# Postupanje u slučaju akcidenta

U slučaju izlaganje infektivnim materijama usled povreda, prosipanja, lomljenja postupiti na sledeći način:



1. prijaviti akcident rukovodiocu laboratorije ili stručnom licu
2. pružiti prvu pomoć (ispiranje, dezinfekcija...)
3. obratiti se lekaru specijalisti prema potrebi
4. dekontaminirati površine, laboratorijske instrumente i sl.



# RUKOVANJE I UKLANJANJE OTPADA



**Pravilnik o upravljanju medicinskim otpadom  
(„Službeni glasnik RS”, br. 48/2019)**



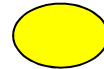
- ❖ **Medicinski otpad** - sav otpad, opasan ili neopasan, koji se generiše pri pružanju zdravstvenih usluga
- ❖ **Infektivni medicinski materijal** (bakterijske kulture , virusne suspenzije, kulture gljivica - vrsta opasnog otpada)
- ❖ **Potencijalno infektivni materijal** (telesne tečnosti, tkiva sa i bez vidljivih primesa krvi – potencijalno opasan otpad)

## Kese i kontejneri za:

komunalni otpad – crna boja



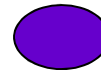
infektivni otpad – žuta boja



hemijski i farmaceutski otpad – crvena boja



citotoksični otpad – ljubičasta boja



patoanatomski otpad – braon boja





# Rukovanje i odlaganje otpada

1. ne-kontaminirani (ne-infektivni) otpad – odlaže se kao komunalni otpad
2. kontaminirani (infektivni) otpad
  - oštri predmeti (igle, skalpeli, slomljeno staklo): u čvrste kontejnere sa poklopcem koji se spaljuju (uz prethodno autoklaviranje)
  - materijal koji se ponovo koristi: nakon autoklavliranja (bez prethodnog čišćenja) i pranja
  - materijal koji se baca: produženo autoklaviranje (45-60 min) i spaljivanje
  - materijal koji se direktno spaljuje: bez prethodnog autoklavliranja ako se spaljuje u samoj laboratoriji

# Odlaganje infektivnog otpada



# Rukovanje otpadom

3. mehaničko-dezinfekcioni tretman: mašina usitnjava otpad u komori sa negativnim pritiskom i tretira ga Na-hipohloritom (smanjuje volumen do 85%, dezinfikuje, otpad dobija neprepoznatljiv oblik)

