

	<b>Javna zdravstvena ustanova Bolnica „Sveti Vračevi“ Bijeljina Srpske Vojske 53</b>		<b>UP-10-085</b>	
<i>Uputstvo za rad sa biosigurnosnim kabinetom u laboratoriji za dijagnostiku tuberkuloze</i>				
Strana 1 od 7	<b>Izdanje:</b>	<b>Važi od:</b>	<b>Odobrio</b>	<b>Kopija broj</b>
	2	2023-01-13	dr Sanda Lazić, rukovodilac Službe za mikrobiologiju sa parazitologijom	E

## 1. PREDMET I PODRUČJE PRIMJENE

### 1.1 Predmet uputstva

Ovo uputstvo daje smjernice za pravilnu upotrebu komore za bezbjedan rad u laboratoriji za dijagnostiku TB.

### 1.2 Područje primjene

Ovo uputstvo se primjenjuje u Službi za mikrobiologiju sa parazitologijom, u JZU Bolnica „Sveti Vračevi“ Bijeljina.

### 1.3 Nadležnosti za primjenu

Za osiguranje primjene nadležan je rukovodilac Službe za mikrobiologiju sa parazitologijom i lice odgovorno za biološku bezbjednost (koje je je u obavezi da obučava osoblje, redovno nadgleda, prati i izvještava rukovodioca službe o sprovođenju procedure), a svi zaposleni su je dužni poznavati i primjenjivati.

### 1.4 Isključenja

- Nema.

## 2. VEZA SA DRUGIM DOKUMENTIMA

### 2.1 Referentni dokumenti

- Voidič za mikrobiološku dijagnostiku tuberkuloze, Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, 2015. god.

### 2.2 Ostali dokumenti

- Uputstva proizvođača za rad na aparatima.

## 3. TERMINI I SKRAĆENICE

### 3.1 Termini

**Dobre mikrobiološke tehnike:** Podrazumijevaju aseptične tehnike i druge pristupe za koje ne postoji jedinstvena definicija, ali su neophodne u sprječavanju kontaminacije laboratorije infektivnim agensima sa kojima se radi i kontaminacije materijala u radu sa mikroorganizmima iz okruženja.

**Infektivni aerosol:** Suspenzija partikula mikroskopske veličine (1–60 cm), koje nose infektivne agense (bacile TB), udisanje infektivnog aerosola može dovesti do infekcije; infektivni aerosol je najvažniji faktor rizika u laboratorijama za dijagnostiku TB; tokom izvođenja laboratorijske dijagnostike TB primjenjuje se veći broj procedura praćenih nastankom aerosola usljed djelovanja različitih mehaničkih sila (na primjer, pipetiranje, vorteksiranje, centrifugiranje, mješanje).

**HEPA filter:** High Efficiency Particulate Air - filteri visoke efikasnosti koji iz vazduha uklanjaju najmanje 99,97% partikula čiji je promjer  $\geq 0,3$  cm.

**Ventilacija:** Omogućava unos vazduha iz spoljašnje sredine u laboratoriju i distribuciju tog vazduha u prostoru laboratorije. Postiže se razređivanje infektivnog aerosola nastalog u laboratoriji i protok vazduha koji treba da obezbjedi odgovarajuću učestalost izmjena vazduha u laboratoriji.

Bolnica Bijeljina	Strana 2 od 7	Izdanje:	Važi od:	UP-10-085
		2	2023-01-13	

### 3.2 Skraćenice

- Tb - tuberkuloza.
- DST - ispitivanje osjetljivosti na antituberkulotike (Drug Susceptibility Testing) - test rezistencije.

## 4. OPIS POSTUPKA (PROCESA)

### 4.1 Osoblje

#### 4.1.1 Medicinska podobnost

Preporuke su da se sprovodi odgovarajuća zdravstvena kontrola lica zaposlenih u laboratoriji za dijagnostiku TB: prije zapošljavanja, kasnije u pravilnim intervalima (godišnje ili dva puta godišnje), poslije bilo kog laboratorijskog akcidenta i prilikom pojave simptoma TB. Zaposleni u mikobakteriološkoj laboratoriji treba da budu upoznati sa kliničkom slikom TB. Neophodno je voditi zdravstveni upitnik osoblja na prisustvo simptoma tuberkuloze. Tromjesečni zdravstveni upitnik, OB-10-338. Upitnik popunjavati kvartalno. Laboratorijskom osoblju treba ponuditi mogućnost savjetovanja i testiranja na HIV, osobe sa bilo kojim oblikom imunskog deficita treba rasporediti na radna mjesta odvojena od područja sa visokim rizikom infekcije.

#### 4.1.2 Edukacija i obuka

Edukacija i obuka treba da obuhvate sljedeće: simptomi i načini transmisije TB, mjere za smanjivanje rizika za nastanak aerosola, pravila ponašanja u laboratoriji, nošenje i upotreba opreme i odjeće za ličnu zaštitu, mjere za sprječavanje laboratorijskog akcidenta i mjere koje treba preduzeti u slučaju akcidenta, dizajn laboratorije, uključujući i sistem ventilacije, ispravno rukovanje otpadnim materijalom, organizacija toka rada. Obuka treba da se obavi prije nego što osoba pristupi radu u laboratoriji i da se periodično ponavlja, po mogućnosti svake godine.

### 4.2 Procjena rizika

Opasnost se definiše kao bilo koja moguće štetna situacija (na primjer, lomljenje laboratorijskog staklenog posuđa), aktivnost (na primjer, pipetiranje infektivnog materijala) ili materijal (na primjer, aerosol koji sadrži bacile TB). Rizik predstavlja kombinaciju vjerovatnoće izlaganja nekoj opasnosti i posljedica događaja vezanih za tu opasnost. Ključni faktori za procjenu rizika u laboratorijama za dijagnostiku TB predstavljeni su u Tabeli 1.

Tabela 1. Faktori za procjenu rizika u laboratorijama za dijagnostiku TB

Faktori koji se mijenjaju u zavisnosti od procedure ili nivoa laboratorije za dijagnostiku TB	PROCEDURA		
	Direktna mikroskopija bez obrade uzorka	Obrada uzoraka za mikroskopiju i kulturu	Rukovanje kulturama bacila TB
Relativni rizik (95% IP) za oboljevanje od TB kod osoblja u laboratorijama za dijagnostiku TB u poređenju sa ostalim	1,4 (0,2 – 10)	7,8 (1,7 – 34,9)	22 (4,5 – 102,5)
Bacilarnost materijala kojim se rukuje	Varijabilna 0 - 10 bacila / ml	Varijabilna 0 - 10 bacila / ml	Uvijek visoka, >10 bacila / ml
Vijabilnost bacila TB	nepoznata, ali se pretpostavlja da je visoka	obrada ubija do 90% bacila TB	visoka



Bolnica Bijeljina	Strana 3 od 7	Izdanje:	Važi od:	UP-10-085
		2	2023-01-13	

Vjerovatnoća nastanka infektivnog aerosola prilikom izvođenja zahtjevanih procedura, IP, interval povjerenja	niska	umjerena	visoka
--	-------	----------	--------

### 4.3 Pincip procedure

Prilikom izvođenja obrade kliničkih uzoraka, bez obzira na primjenu principa dobrih mikrobioloških tehnika, rizik za nastanak infektivnog aerosola je umjereno visok. Rukovanje kulturama bacila TB, postupci za identifikaciju i DST, takođe bez obzira na primjenu principa dobrih mikrobioloških tehnika, praćeni su visokim rizikom za nastanak infektivnog aerosola. Stoga se svi navedeni postupci moraju izvoditi isključivo u komori za bezbjedan rad, koja je neophodan dio opreme za bezbjedan rad u laboratorijama za dijagnostiku TB II i III nivoa.

#### 4.3.1 Klase i tipovi komora za bezbjedan rad

Komore za bezbjedan rad štite osoblje i okruženje od izlaganja infektivnim agensima, a u zavisnosti od klase i tipa omogućavaju i različite nivoe zaštite od kontaminacije materijala kojim se rukuje u komori. Zaštitu osoblja i okruženja obezbjeđuje HEPA filter smješten u sistemu za odvod vazduha iz komore, a zaštitu materijala sa kojim se radi obezbjeđuje HEPA filter smješten iznad radne površine u komori. Postoje tri klase komora za bezbjedan rad: I, II i III.

*Komore klase I:* komore sa negativnim pritiskom i otvorenom prednjom stranom. HEPA filter je smješten samo u sistemu za odvod vazduha, tako da komore klase I pružaju zaštitu osoblju i okruženju, ali ne i materijalu sa kojim se radi.

*Komore klase II:* komore sa otvorenom prednjom stranom u kojima se odvija vertikalno laminarno strujanje vazduha odnosno kontinuirano strujanje vazduha u vertikalnim paralelnim slojevima bez turbulencije. HEPA filteri su smješteni tako da komore II klase obezbjeđuju zaštitu od infektivnih agenasa osoblju i okruženju kao i zaštitu od kontaminacije materijalu sa kojim se radi. Treba imati u vidu da komore II klase ne štite osoblje i okruženje od isparljivih tečnih i gasovitih hemijskih agenasa. U okviru klase II razlikuju se četiri tipa komora: A1, A2, B1 i B2. Tipovi se razlikuju prema obrascima toka vazduha, brzini strujanja vazduha, poziciji HEPA filtera, stopi ventilacije i sistemima za odvod vazduha iz komore.

*Komore klase III:* potpuno zatvorene ventilirane komore u kojima se radi preko gumenih rukavica fiksiranih na prednjoj strani komore. Vazduh koji dospjeva u komoru prolazi kroz HEPA filter, a u sistemu za odvod vazduha iz komore smještena su najmanje dva HEPA filtera.

#### 4.3.2. Izbor komore za bezbjedan rad

Za laboratorije za dijagnostiku TB preporučuju se komore za bezbjedan rad klase II tip A2. HEPA filteri u komorama za bezbjedan rad u laboratorijama za dijagnostiku TB treba da odgovaraju evropskom standardu ENI 2469 ili američkom standardu NSF / ANSI 49 - 2008.

#### 4.3.3. Princip rada komore za bezbjedan rad klase II tip A2

Komora za bezbjedan rad klase II tip A2 prikazana je na Slici 1. Unutrašnji ventilator uvlači vazduh iz prostorije preko prednjeg otvora komore i vazduh prolazi kroz rešetku na prednjem otvoru. Nakon prolaska kroz prednju rešetku, vazduh struji nagore i prolazi kroz dovodni HEPA filter, a zatim struji nadole ka radnoj površini. Vazduh koji struji nadole se na visini od 6 do 18 cm iznad radne površine dijeli, tako da približno 50% prolazi kroz prednju odvodnu rešetku, a preostalih 50% kroz zadnju odvodnu rešetku. Ovakvo vazdušno strujanje odmah "hvata" sve infektivne partikule koje su nastale tokom rada i eliminiše ih preko prednje i zadnje odvodne rešetke, odnosno na ovaj način komora obezbjeđuje zaštitu materijala u radu od kontaminacije. Vazduh se zatim sprovođi kroz dio komore sa negativnim pritiskom, dio komore sa pozitivnim pritiskom i dospjeva u prostor na vrhu komore gdje su smješteni dovodni i odvodni HEPA filteri. S obzirom na razlike u veličini



Bolnica Bijeljina	Strana 4 od 7	Izdanje:	Važi od:	UP-10-085
		2	2023-01-13	

ova dva filtera, oko 60% do 70% vazduha recirkulacijom kroz dovodni HEPA filter dopjeva ponovo na radnu površinu, preostalih 30% do 40% zapremine vazduha prolazi kroz odvodni HEPA filter i odvodi se ili u prostoriju ili u spoljašnje okruženje

#### **4.3.4. Odvod vazduha iz komore klasa II tip A2**

Ako se vazduh iz komore odvodi u prostor laboratorije, u laboratoriji treba da funkcioniše sistem ventilacije koji omogućava jednosmjerni tok vazduha i 6 do 12 izmjena vazduha tokom jednog sata. Ako se vazduh iz komore odvodi u spoljašnje okruženje, koristi se odvodni cilindar vezan za posebnu ventilacionu cijev. Vazduh iz komore ne smije se izvoditi direktno u centralni sistem ventilacije zgrade u kojoj je smještena laboratorija. Odvodni cilindar postavlja se na sistem za odvod vazduha iz komore i usisava vazduh iz komore u posebne ventilacione cijevi koje vode u spoljašnje okruženje.

#### **4.3.5. Lokacija komore za bezbjedan rad u laboratoriji**

Prilikom izbora mjesta za komoru u prostoru laboratorije mora se imati u vidu da integritet usmjerenog toka vazduha iz laboratorije u komoru, koji je od kritičnog značaja za rad komore, može biti veoma lako narušen. Kretanje osoblja, otvaranje / zatvaranje vrata i prozora, otvaranje / zatvaranje vrata frižidera, rad ventilatora i slično dovode do vazdušnih strujanja koja remete ovaj usmjereni tok vazduha. Stoga se preporučuje da se komora postavi u najmanje prometnom dijelu laboratorije udaljenom od ostalih aparata, tako da se djelovanje faktora koji mogu narušiti usmjereni tok strujanja vazduha iz laboratorije u komoru svede na minimum. Između zidova laboratorije i bočnih i zadnje strane komore treba ostaviti prostor širine 30 cm, a rastojanje između tavanice i gornje površine komore ne smije biti manje od 30 do 35 cm. Na ovaj način omogućava se pristup komori prilikom tehničkog održavanja i izbjegava se pomjeranje komore.

### **4.4 Rad u komori za bezbjedan rad**

Poštovanje preporuka za pravilan rad u komori je od jednakog značaja za bezbjednost u radu kao i tehnička ispravnost komore. Osobama koje rade u komori treba da budu dostupna kratka štampana uputstva, standardne operativne procedure i priručnik sa detaljnim uputstvima za bezbjedan rad. Preporučuje se da laboratorija uvede zapis o tome da su osobe koje rade u komori za bezbjedan rad sva dostupna uputstva pročitale i razumjele. Prije početka svakodnevnog rutinskog rada u komori, rukovodilac laboratorije ili osoba odgovorna za bezbjednost u radu treba da procijene sposobnost, obučenosť i vještinu osoblja za takav rad. Pored toga, potrebno je kontinuirano nadgledanje, procjenjivanje i po potrebi, korigovanje osoblja tokom rada u komori.

#### **4.4.1 Osnovna pravila rada u komori za bezbjedan rad**

Osnovno načelo pravilnog rada u komori je: sve aktivnosti treba da budu izvedene na takav način da u što manjoj mjeri remete strujanje vazduha u komori, koje je osnov zaštite osoblja, okruženja i materijala u radu. Sav potreban materijal za planiran rad u komori treba unijeti u komoru i rasporediti na odgovarajući način (vidjeti odjeljak 4.4.2 Organizacija radne površine u komori) prije početka rada. Ruke postaviti u komoru pod pravim uglom u odnosu na prednji otvor. Sačekati dva minuta prije početka rada da bi se omogućilo neometano uspostavljanje strujanja vazduha u komori. Pokreti ruku tokom rada u komori treba da budu pažljivi i odmjereni; nagli i brzi pokreti narušavaju pravilnost strujanja vazduha u komori i povećavaju rizik za nastanak akcidenta. Nakon završetka rada, komoru ostaviti uključenu još 15 minuta, u cilju finalnog čišćenja vazduha u komori. Tek nakon isteka tog perioda, uraditi dezinfekciju unutrašnjosti komore.

#### **4.4.2 Organizacija radne površine u komori za bezbjedan rad**

Prednja rešetka preko koje ulazi vazduh iz laboratorije u komoru mora biti potpuno otvorena i slobodna tokom cjelokupnog postupka rada u komori. Preporuka je da se površina u komori na kojoj se odvija rad sa infektivnim materijalom pokrije papirnim ubrusima natopljenim



Bolnica Bijeljina	Strana 5 od 7	Izdanje:	Važi od:	UP-10-085
		2	2023-01-13	

odgovarajućim dezinficijensom. Sve materijale i aparate sa kojima se radi treba smještati na zadnjem dijelu radne površine tako da:

- a. ne pokrivaju zadnju rešetku i
- b. budu postavljeni na razdaljini koja ne otežava praktičan rad.

Na radnu površinu postavljaju se samo neophodni materijali i aparati, jer višak predmeta nepotrebno remeti strujanje vazduha u komori. Materijale i aparate treba rasporediti tako da se na radnoj površini u komori organizuje proces rada u smjeru od „čistog“ ka „prljavom“. Čisti materijali smještaju se na zadnjem dijelu lijeve strane radne površine; rad sa infektivnim materijalom izvodi se na centralnom dijelu radne površine; kontejneri i kese za odlaganje kontaminiranog materijala smještaju se na zadnjem dijelu desne strane radne površine. Ovakav raspored odgovarajući je za osobe koje rade desnom rukom; za osobe koje rade lijevom rukom primjenjuje se isti princip, ali u obrnutom smjeru („čista“ desna strana i „prljava“ lijeva strana radne površine). U komoru se ne smeju unositi papiri koji prate materijale u radu (uputi, radne liste).

#### **4.4.3 Upotreba otvorenog plamena u komori za bezbjedan rad**

Upotreba otvorenog plamena u komori za bezbjedan rad se ne preporučuje jer plamen ometa strujanja vazduha u komori. Pored toga, otvoren plamen u kombinaciji sa dezinficijensima, koji su često zapaljivi, predstavlja rizik za nastanak požara u komori. Jedina procedura koja zahtijeva otvoren plamen u komori je fiksiranje razmaza direktnih i preparata iz kulture. Preporuka je da se fiksiranje preparata na otvorenom plamenu u komori izvodi kao odvojena procedura odnosno da se ne radi u okviru drugih postupaka (na primjer, obrade uzoraka). Tokom izvođenja ove procedure u komori treba da budu samo plamenik i predmetna stakla. Plamenik treba smjestiti na zadnjem dijelu radne površine komore. Praktičan prijedlog je da se fiksiranje preparata planira kao poslednja procedura koja se izvodi u komori u toku radnog dana.

#### **4.4.4 Upotreba UV lampi u komori za bezbjedan rad**

Upotreba UV lampi u komorama za bezbjedan rad u laboratorijama za dijagnostiku TB se ne preporučuje.

#### **4.4.5 Odlaganje kontaminiranog materijala u komori za bezbjedan rad**

Infektivni materijal se tokom rada u komori odlaže u unaprijed pripremljene plastične kese i / ili posude, smještene u samoj komori, a ne pored. Posuda treba da bude nelomljiva (plastika, metal) i sa poklopcem. Preporuka je da se u kesama / posudama nalazi dezinficijens, na primjer 1% varikina. Kesa i posude za odlaganje infektivnog materijala se nakon završetka rada u komori zatvaraju i tek onda iznose iz komore. Zatvorene posude i kese treba proslijediti na autoklaviranje / spaljivanje, jer se sav otpad iz laboratorija za dijagnostiku TB II i III nivoa smatra potencijalno infektivnim i mora se autoklavirati ili spaliti.

#### **4.4.6 Čišćenje i dezinfekcija komore za bezbjedan rad**

Prije početka rada u komori treba prebrisati dezinficijensom radnu površinu. Nakon završetka rada u komori, sve predmete i materijale koji se redovno koriste u komori treba prebrisati dezinficijensom i izvaditi iz komore. Zatim treba dezinficijensom prebrisati radnu površinu. Na kraju SVAKOG radnog dana dezinficijensom treba obrisati sve unutrašnje površine u komori: radnu površinu, bočne, zadnju, gornju i prednju stranu kao i unutrašnju stranu stakla na prednjem zidu komore. Opšta preporuka za dezinficijens za unutrašnjost komore je 70% etanol. Ako se za dezinfekciju komore koristi korozivan dezinficijens (na primjer, varikina), sve površine nakon dezinfekcije treba prebrisati sterilnom vodom. Preporučuje se da se o proceduri dezinfekcije i čišćenja komore vodi poseban laboratorijski zapis.

Bolnica Bijeljina	Strana 6 od 7	Izdanje:	Važi od:	UP-10-085
		2	2023-01-13	

#### 4.5 Tehnička ispravnost i održavanje komore za bezbjedan rad

Ključni parametri koji se moraju provjeriti prilikom ocjene tehničke ispravnosti komore za bezbjedan rad su: testiranje HEPA filtera i provjera da li filter eventualno „curi“; procjena integriteta i funkcionalnosti vazdušnog strujanja usmjerenog dole vertikalno; brzina strujanja vazduha na prednjem otvoru komore; negativni pritisak; stopa ventilacije; praćenje strujanja vazduha u komori testom sa generatorima dima; i ispravnost alarma na komori (svjetlosni i zvučni). Sve ove parametre treba provjeriti prilikom instalacije komore i davanja sertifikata za rad; zatim redovno jednom godišnje; i nakon pomjeranja komore. Preglede tehničke ispravnosti komore treba da radi ovlašćen tehnički servis. Preporučuje se da osoblje laboratorije svakog dana na prednjem otvoru uključene komore izvrši jednostavno mjerenje vaneometrom i provjeri smjer i brzinu kretanja vazduha: vazduh ne smije da izlazi iz komore, a brzina kretanja vazduha na prednjem otvoru ne smije biti manja od 0,5 m / s.

##### 4.5.1 Dekontaminacija komore za bezbjedan rad

Dekontaminacija komore za bezbjedan rad treba da se radi prije zamjene filtera, prije pomjeranja komore i u slučaju prosipanja veće zapremine infektivnog materijala (na primjer, >20 ml tečne kulture bacila TB). Procedura dekontaminacije opisana je u standardu NSF / ANSI 49–2008. Dekontaminaciju komore za bezbjedan rad treba da izvodi ovlašćen tehnički servis, a ne osoblje laboratorije.

## 5. PRILOZI I OBRASCI

### 5.1 Prilozi

- Prilog 1: Shematski prikaz komore za bezbjedan rad klasa II tip A2.

### 5.2 Obrasci

- , OB-10-335: Evidencija upotrebe i održavanja biosigurnosnog kabineta.
- , OB-10-338: Tromjesečni zdravstveni upitnik.

## 6. ZAPISI

Табела 1:

Назив документа	Ознака обрасца	Документ формира	Број примјерака	Рок чувања	Мјесто чувања	Евиден тирање
Evidencija upotrebe i održavanja biosigurnosnog kabineta	OB-10-335	Laborant/ molekularni biolog/ dr medicine	1	1god	Služba za mikrobiologju sa parazitologijom	Ne
Tromjesečni zdravstveni upitnik	OB-10-338	Dr medicine	1	1god	Služba za mikrobiologju sa parazitologijom	Ne



**Slika 1:** Shematski prikaz komore za bezbedan rad klasa II tip A2. A - prednji otvor komore; B - prednji zid (prozor), komore; C - odvodni HEPA filter; D - dovodni HEPA filter; E - dio komore sa pozitivnim pritiskom; F - dio komore sa negativnim pritiskom.

vazduh izlazi iz komore  
nakon prolaska kroz HEPA filter

