



dr n. tech. MAŁGORZATA GOŁOFIT-SZYMCZAK (ORCID: 0000-0003-1463-404X)

prof. dr hab. n. med. RAFAŁ L. GÓRNY (ORCID: 0000-0001-5703-5835)

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Kontakt: magol@ciop.pl

DOI: 10.54215/BP.2023.03.5.Golofit-Szymczak

Bezpieczna praca w laboratorium mikrobiologicznym

Fot. alphaspirt/Bigstockphoto



Prace laboratoryjne, podczas których dochodzi do kontaktu ze szkodliwymi czynnikami biologicznymi, stanowią potencjalne zagrożenie dla pracowników i środowiska. Bezpieczna praca w laboratorium mikrobiologicznym opiera się na połączeniu takich elementów, jak: prawidłowo przeprowadzona ocena ryzyka zawodowego, odpowiednio zaplanowane pomieszczenia (wyposażone w prawidłowo funkcjonującą aparaturę i sprzęt), adekwatne kwalifikacje personelu, właściwie dobrane i użytkowane środki ochrony indywidualnej oraz przestrzeganie zasad bezpiecznej pracy z mikroorganizmami, będącymi potencjalnym źródłem zakażenia.

Słowa kluczowe: szkodliwe czynniki biologiczne, laboratoria, bezpieczeństwo, ocena ryzyka

Safety in the microbiology laboratory

Laboratory work involving contact with harmful biological agents is a potential threat to both workers and the environment. Safe work in a microbiological laboratory is based on a combination of such elements as: properly conducted occupational risk assessment, correctly designed lab spaces (equipped with functioning apparatus and equipment), appropriate personnel qualifications, well selected personal protective equipment, and compliance with the principles of safe work with microorganisms that are a potential source of infection.

Keywords: harmful biological agents, laboratories, safety, risk assessment

laboratoriów w placówkach naukowych – są narażeni na kontakt z szerokim spektrum czynników biologicznych. W laboratorium ograniczenie ryzyka związanego z pracą z czynnikami biologicznymi polega na zapobieganiu wystąpieniu zakażenia. Należy także zapewnić stałą ochronę pracownika i środowiska przed narażeniem na kontakt z czynnikami zakaźnymi obecnymi w badanych materiałach.

Zapewnienie bezpieczeństwa pracy w laboratorium wymaga:

- właściwego zaplanowania pomieszczeń i wyposażenia ich w prawidłowo funkcjonującą aparaturę i sprzęt;
- zatrudnienia personelu o odpowiednich kwalifikacjach i świadomego istnienia potencjalnych zagrożeń;
- prawidłowego użytkowania środków ochrony indywidualnej (ŚOI), takich jak: fartuch, rękawiczki, okulary ochronne, sprzęt ochrony układu oddechowego;
- przestrzegania zasad bezpiecznej pracy z mikroorganizmami będącymi potencjalnym źródłem zakażenia.

Celem artykułu jest zapoznanie czytelnika z zagadnieniem organizacji pracy w laboratoriach mikrobiologicznych oraz zasadami bezpieczeństwa pracy w tego rodzaju placówkach.

Rodzaje laboratoriów mikrobiologicznych

Praca w laboratorium mikrobiologicznym polega na pobraniu materiału, wyizolowaniu i identyfikacji drobnoustrojów lub wykluczeniu ich obecności w badanej próbce. Materiałami do badań, w zależności od rodzaju laboratorium mikrobiologicznego, mogą być: próbka diagnostyczna pochodząca od pacjenta (np. krew, ślina, kał, wymaz z gardła), surowce do wytwarzania (np. celuloza), półprodukty (np. gliceryna), gotowe produkty lecznicze (np. czopki, tabletki, płyny iniekcyjne), kosmetyki (np. kremy, szampony), środki spożywcze (np. mięso, masło) oraz próbki środowiskowe (np. gleba, woda, powietrze).

Ze względu na rodzaj wykonywanych badań laboratoria można podzielić na następujące grupy:

- laboratoria diagnostyczne (np. szpitalne), które przeprowadzają głównie testy na próbkach klinicznych (np. z moczu, krwi czy kału);

Wstęp

Narażenie na szkodliwe czynniki biologiczne (SCB) w środowisku pracy dotyczy ponad 150 grup zawodowych należących do 22 kategorii gałęzi gospodarki narodowej [1]. Do najbardziej narażonych należą pracownicy zatrudnieni w placówkach służby zdrowia, rolnictwie i leśnictwie, służbie

weterynaryjnej, zakładach gospodarki odpadami, oczyszczalniach ścieków, przemyśle rolno-spożywczym, laboratoriach klinicznych i diagnostycznych oraz w przemyśle biotechnologicznym.

Pracownicy laboratoriów mikrobiologicznych – zarówno tych medycznych, jak i przemysłowych (np. laboratoriów działów kontroli jakości w przemyśle farmaceutycznym) czy środowiskowych bądź

można je dodatkowo podzielić na wirusologiczne, bakteriologiczne lub mikologiczne;

- laboratoria naukowe, badawcze, uniwersyteckie, które koncentrują się na badaniach naukowych i analizują szeroki zakres próbek – od środowiskowych po kliniczne;
- laboratoria przemysłowe (np. jakościowe), gdzie produkty i materiały są testowane pod kątem zgodności ze specyfikacjami i braku zanieczyszczeń mikrobiologicznych; laboratoria te stanowią istotny element w produkcji i łańcuchu dostaw.

Podstawowe standardy bezpiecznej pracy w laboratorium

Laboratorium mikrobiologiczne to wyjątkowe środowisko, które wymaga hermetyzacji pomieszczeń w celu zapewnienia właściwej ochrony osobom pracującym z SCB. Głównym problemem w laboratorium mikrobiologicznym jest zatem bezpieczeństwo osób w nim zatrudnionych. W literaturze przedmiotu są opisane liczne przypadki zakażeń pracowników laboratoriów. W raportach z przełomu XIX i XX w. są doniesienia o przypadkach zakażenia pracowników tyfusem, cholerą, brucelozą i tężcem [2]. Badania Skinhoj [3] wskazują, że wśród personelu laboratoryjnego występuje m.in. wyższy wskaźnik zachorowalności na gruźlicę niż u populacji generalnej.

W celu zapewnienia bezpieczeństwa pracownikom laboratoriów i środowisku oraz zagwarantowania niezawodności i odtwarzalności każdej operacji wykonywanej w laboratorium niezbędne są: dobre praktyki i techniki laboratoryjne – tzw. Dobra Praktyka Laboratoryjna (ang. *good laboratory practices* – GLP), odpowiedni projekt obiektu i wyposażenie pomieszczeń oraz właściwa organizacja pracy [4].

Celem stosowania zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej jest promowanie jakości i wiarygodności uzyskiwanych wyników badań, od ich zaplanowania po właściwe przechowywanie danych źródłowych i sprawozdań, aby możliwe było prześledzenie toku badania lub jego całkowite odtworzenie.

Zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej po raz pierwszy zostały opracowane w 1978 r. przez Grupę Ekspertów ds. Dobrej Praktyki Laboratoryjnej, powołaną w ramach Specjalnego Programu Kontroli Substancji Chemicznych Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD), i znalazły odzwierciedlenie w polskim systemie prawnym. W Polsce obowiązuje bowiem rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 3 sierpnia 2021 r. w sprawie Dobrej Praktyki Laboratoryjnej i wykonywania badań zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (Dz.U. poz. 1422) [5], które określa również sposoby dokonywania kontroli.

Zasady organizacji pracy w laboratorium mikrobiologicznym są następujące:

- Dostęp do pomieszczeń laboratoryjnych musi być ograniczony do upoważnionych pracowników. Wszystkie miejsca do przechowywania próbek (lodówki, zamrażarki, szafy) powinny

być wyposażone w odpowiednie zamki, uniemożliwiające dostęp osobom nieupoważnionym.

- Pomieszczenia laboratoryjne powinny być wyposażone w umywalki (najlepiej bezdotykowe) oraz dozowniki mydła i preparatów dezynfekcyjnych (dozowniki łokciowe lub automatyczne). Niewłaściwa higiena rąk i powierzchni (w tym użycie zanieczyszczonej aparatury) jest przyczyną wielu niekorzystnych efektów zdrowotnych. Należy pamiętać, że przed dezynfekcją skóra rąk musi być sucha. Preparat antyseptyczny należy wcierać w dłonie przez ok. 20-30 sekund, aż do jego wyschnięcia [6].
- W pomieszczeniach laboratoryjnych obowiązuje całkowity zakaz spożywania i przechowywania posiłków i napojów.
- W laboratoriach mikrobiologicznych należy stosować pipetory lub pipety automatyczne (rys. 1).
- Wszystkie zanieczyszczone analizowanym materiałem jednorazowe przedmioty o ostrych krawędziach (igły, skalpele, rurki kapilarne, strzykawki) należy zbierać do pojemników jednorazowego użycia o sztywnej konstrukcji, odpornych na działanie wilgoci, mechanicznie odpornych na przekłucie lub przecięcie, i utylizować jako odpady medyczne [7].
- Wszelkie materiały wielokrotnego użycia, skażone materiałem biologicznym, należy gromadzić selektywnie w odpowiednio oznakowanych pojemnikach i sterylizować w autoklawie.
- Wszelkie prace z materiałem zakaźnym należy wykonywać tak, aby minimalizować ryzyko powstawania aerozoli i rozprysków.
- Wyposażenie laboratoriów (blaty, krzesła, podłogi, ściany, lodówki) powinno być odporne na działanie środków dezynfekujących. Wszelkie powierzchnie robocze należy regularnie dezynfekować.
- Laboratoria powinny mieć odpowiednią wentylację (wentylację mechaniczną lub klimatyzację). W przypadku urządzeń klimatyzacyjnych zaleca się stosowanie odpowiedniego typu filtrów,

które będą podlegać kontroli, konserwacji i wymianie zgodnie z rodzajami wykonywanej pracy. Nie zaleca się stosowania systemu naturalnej wentylacji w czystych pomieszczeniach lub w pracowniach, gdzie pracuje się z drobnoustrojami chorobotwórczymi [8].

Standardy jakości dla laboratoriów mikrobiologicznych

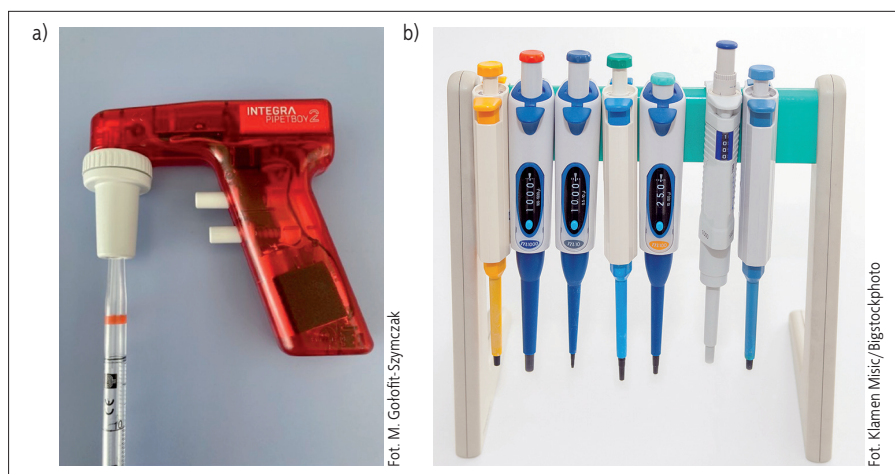
Standaryzacja wszystkich zachodzących w laboratorium mikrobiologicznym procesów (administracyjnych, organizacyjnych, diagnostycznych) jest podstawą uzyskania wiarygodnych wyników badań laboratoryjnych.

Laboratoria diagnostyczne

Aktem prawnym regulującym w Polsce standardy jakości w laboratoriach medycznych/diagnostycznych jest rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych [9], a ponadto zastosowanie mają normy ISO określające kompetencje laboratoriów badawczych i laboratoriów medycznych (PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02 [10] oraz PN-EN ISO 15189:2013-05 [11]).

Krajową jednostką upoważnioną m.in. do akredytacji laboratoriów medycznych na podstawie ustawy o systemie oceny zgodności jest Polskie Centrum Akredytacyjne.

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych medyczne laboratoria mikrobiologiczne powinny uczestniczyć w zewnętrznych programach kontroli jakości, organizowanych m.in. przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej (COBJwDM). Od 1997 r. ośrodek organizuje Ogólnopolski Sprawdzian Wiarygodności Badań Mikrobiologicznych – POLMICRO. Poświadczeniem kompetencji laboratoriów w zakresie objętym Programem POLMICRO są certyfikaty przyznawane przez COBJwDM. W 2021 r. certyfikaty POLMICRO otrzymały 404 laboratoria.



Rys. 1. Pipetor (a) i pipety automatyczne (b)

Fig. 1. Pipette controller (a) and automatic pipettes (b)

Laboratoria przemysłowe/kontroli jakości

Wymagania ogólne dotyczące laboratoriów kontroli jakości w firmach farmaceutycznych zostały podane w rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 9 listopada 2015 r. w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania [12]. Dobra Praktyka Wytwarzania (ang. *Good Manufacturing Practice – GMP*) stanowi zestaw procedur produkcyjnych, które w szczególności są nastawione na higienę produkcji i zapobieganie wytwarzaniu produktów niespełniających wymagań jakościowych oraz zmienności cech produktów.

Systemy wentylacyjne umożliwiające bezpieczną pracę ze szkodliwymi czynnikami biologicznymi

Głównym zadaniem systemów wentylacyjnych w laboratoriach mikrobiologicznych jest ochrona pracowników przed SCB. System wentylacji ogólnej umożliwia usuwanie emitowanych do powietrza zanieczyszczeń oraz zapobiega ich rozprzestrzenianiu się. Taki system nie zapewnia jednak pracownikom ochrony przed bezpośrednim kontaktem z chorobotwórczymi mikroorganizmami. Szczególne ryzyko jest związane z narażeniem na bioaerozole. Zgodnie z definicją terminem *bioaerazol* lub *aerazol biologiczny* określa się zbiór cząstek biologicznych rozproszonych w powietrzu lub innej fazie gazowej. Cząstkami bioaerozolu mogą być [13]:

- pojedyncze formy przetrwalnikowe mikroorganizmów (spory, konidia), pyłki roślin, bakteryjne komórki wegetatywne, wirusy;
- agregaty złożone z kilku spor, konidiów mikroorganizmów lub bakteryjnych komórek wegetatywnych;
- agregaty utworzone przez kilka spor mikroorganizmów lub bakteryjnych komórek wegetatywnych z innym materiałem biologicznym (np. alergenami ssaków);
- produkty pochodzenia drobnoustrojowego (np. endotoksyny, glukany, mikitoksyny), fragmenty komórek bakteryjnych lub konidiów grzybowych;
- wieloziarnowe struktury złożone z cząstek niebiologicznych, transportujących materiał pochodzenia biologicznego (np. cząstki endotoksyn połączone z cząstkami aerozolu ziarnistego).

Podczas pracy z organizmami chorobotwórczymi dla człowieka zarówno personel laboratoriów, jak i środowisko należy chronić przed skażeniem mikrobiologicznym. W tym celu zaprojektowano komory laminarne (komory bezpiecznej pracy), których zadaniem jest:

- ochrona pracowników przed bezpośrednim narażeniem na bioaerozole,
- ochrona środowiska laboratoryjnego przed skażeniem przez uwolnione aerozole (ochrona osób i środowiska),
- ochrona produktu przed zanieczyszczeniem mikrobiologicznym.

Kryteria działania oraz klasyfikacja komór bezpiecznej pracy mikrobiologicznej (ang. *microbiological safety cabinet – MSC*) zostały przedstawione w normie PN-EN 12469:2002 [14]. Te komory definiuje się jako wentylowane, obudowane miejsca, które mają chronić użytkownika i otoczenie przed aerozolami powstającymi w wyniku pracy z potencjalnie niebezpiecznymi mikroorganizmami i powietrzem, które jest filtrowane przed odprowadzeniem do atmosfery. W MSC przepływ jałowego powietrza poddane filtracji przez tzw. filtr HEPA (ang. *high efficiency particulate air filter*, czyli wysokosprawny filtr zanieczyszczeń stałych powietrza) jest laminarny (tj. warstwowy i niezaburzony).

Klasyfikacja komór bezpiecznej pracy mikrobiologicznej jest następująca:

- MSC klasy I (rys. 2) – komora z otworem w ścianie frontowej (przez który osoba pracująca może wykonywać czynności w jej wnętrzu). Komora ta jest skonstruowana tak, aby chroniła pracownika i jednocześnie kontrolowała wydostawanie się zanieczyszczeń powstających w komorze i przenoszonych za pośrednictwem powietrza – dzięki wymuszonemu przepływowi do wnętrza komory przez otwór w ścianie i filtracji powietrza wylotowego (filtr HEPA). Powietrze z pomieszczenia jest aspirowane przez przedni otwór z minimalną prędkością ok. 0,38 m/s. Komora nie zapewnia ochrony produktu, bowiem dostarczane do wnętrza komory powietrze nie przechodzi przez filtry.
- MSC klasy II – komora zapewniająca ochronę pracownika, produktu i środowiska zewnętrznego. Zarówno powietrze dostarczane

do wnętrza komory, jak i wydostające się z niej jest filtrowane przez filtr HEPA.

- MSC klasy III – komora całkowicie uszczelniona. Nawiewane powietrze jest filtrowane przez pojedynczy filtr HEPA, a powietrze wywiewane i odprowadzane do atmosfery – przez dwa filtry HEPA. Operator uzyskuje dostęp do powierzchni roboczej za pomocą wytrzymałych gumowych rękawic, które stanowią integralną część komory.

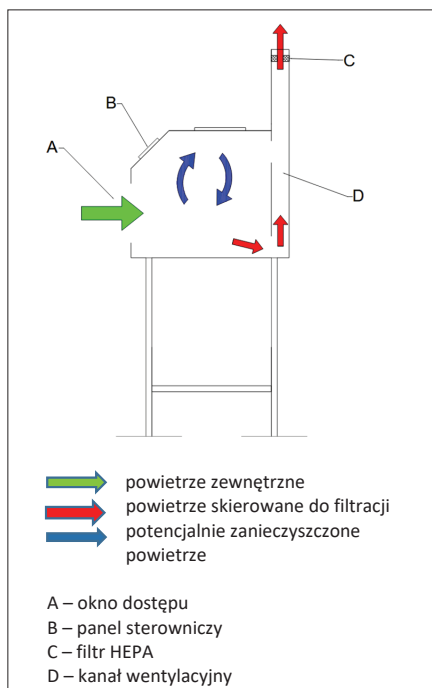
Komory bezpiecznej pracy mikrobiologicznej często są wyposażone w lampę ultrafioletową, którą włącza się przed pracą, aby dodatkowo wyjałowić przestrzeń roboczą komory.

Poziomy bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach

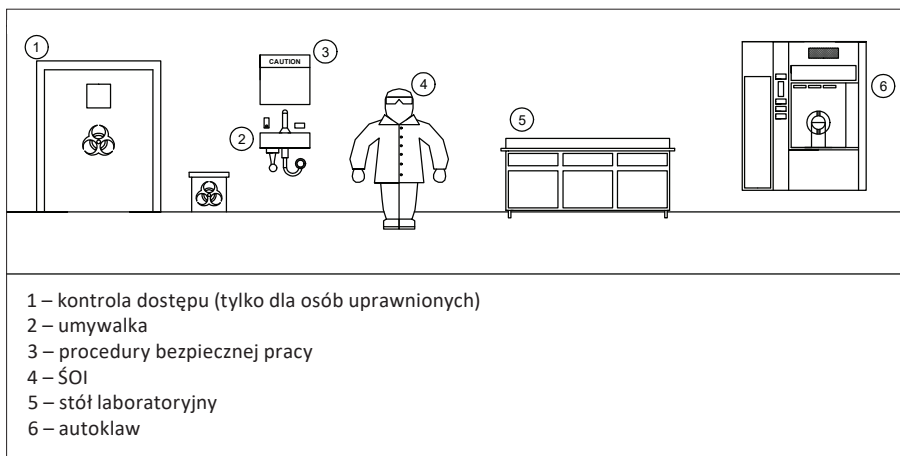
Poziomy bezpieczeństwa biologicznego (ang. *biological safety level – BSL*) zawierają się w dziedziale od 1 do 4 i określają stopień dostosowania laboratorium do pracy z czynnikami biologicznymi o wzrastającym stopniu powodowanego przez nie zagrożenia zdrowotnego. Klasyfikacji tej podlegają w Europie takie rodzaje działalności, jak praca w zakładach produkcji żywności i w rolnictwie; prace, w trakcie których dochodzi do kontaktu ze zwierzętami lub z produktami pochodzenia zwierzęcego; praca w ochronie zdrowia (w tym w zakładach odizolowanych oraz zakładach typu *post-mortem*); praca w laboratoriach klinicznych, weterynaryjnych lub diagnostycznych; praca w zakładach usuwania odpadów oraz przy urządzeniach oczyszczania ścieków.

Laboratoria klasy BSL-1

Pierwszy poziom bezpieczeństwa dotyczy prac laboratoryjnych z zamierzonym lub niezamierzonym użyciem SCB zaliczanych do pierwszej grupy zagrożenia według rozporządzenia [15]. Do tych czynników należą m.in. szczepy środowiskowe, niechorobotwórcze szczepy mikroorganizmów, o których wiadomo, że wywołanie przez nie chorób u ludzi jest mało prawdopodobne. W laboratorium BSL-1 wymagana jest kontrola dostępu do pomieszczeń laboratoryjnych – tylko dla osób upoważnionych (rys. 3). Podczas pracy stosuje się standardowe procedury mikrobiologiczne. Personel laboratoryjny musi przejść szkolenie w zakresie procedur stosowanych w laboratorium – instruktaz stanowiskowy. Większość prac może być wykonywana na stołach laboratoryjnych. Nie są wymagane komory laminarne, lecz w związku z potrzebą ochrony pracownika można stosować komory laminarne I klasy bezpieczeństwa. Nie ma konieczności używania zabezpieczeń barierowych. Personel powinien stosować podstawowe zasady higieny, np. myć ręce przed wejściem do laboratorium i przed wyjściem z niego. W pomieszczeniach laboratoryjnych nie wolno wykonywać takich czynności, jak: jedzenie, picie, palenie papierosów (w tym e-papierosów) czy przechowywanie



Rys. 2. Komora bezpiecznej pracy mikrobiologicznej klasy I
 Fig. 2. Microbiological safety cabinet – class I



Rys. 3. Poziom bezpieczeństwa biologicznego 1 (BSL-1)

Fig. 3. Biosafety level 1 (BSL-1)

artykułów spożywczych. Pipetowanie przez usta jest zabronione – należy zastosować mechaniczne urządzenia do pipetowania. Wszystkie procedury, które mają być przeprowadzone w laboratorium, należy wykonywać, unikając tworzenia rozprysków i aerozoli. Powierzchnię roboczą, np. blat, należy zdezynfekować po pracy i po każdym rozlaniu potencjalnie niebezpiecznego materiału biologicznego [16].

Pracownicy muszą mieć dostęp do umywalk na terenie laboratorium. Do samego laboratorium mogą mieć dostęp wyłącznie osoby uprawnione. Nie jest wymagane wydzielenie oddzielnej strefy w budynku. Zaleca się zastosowanie ekranów lub rolet przyciemniających okna, aby kontrolować nasłonecznienie badanego materiału biologicznego.

W laboratoriach BSL-1 stosuje się odzież roboczą, tj. fartuchy, buty laboratoryjne, oraz ŚOI, tj. rękawice, a gdy sytuacja tego wymaga, również maski chirurgiczne lub półmaski filtrujące klasy FFP1 oraz okulary lub gogle laboratoryjne.

Niezbędne jest stosowanie wszelkich procedur do gromadzenia i utylizacji odpadów medycznych.

Wymagane aparatura i wyposażenie to: umywalka i autoklaw; opcjonalne – komory laminarne I klasy bezpieczeństwa.

Laboratoria klasy BSL-2

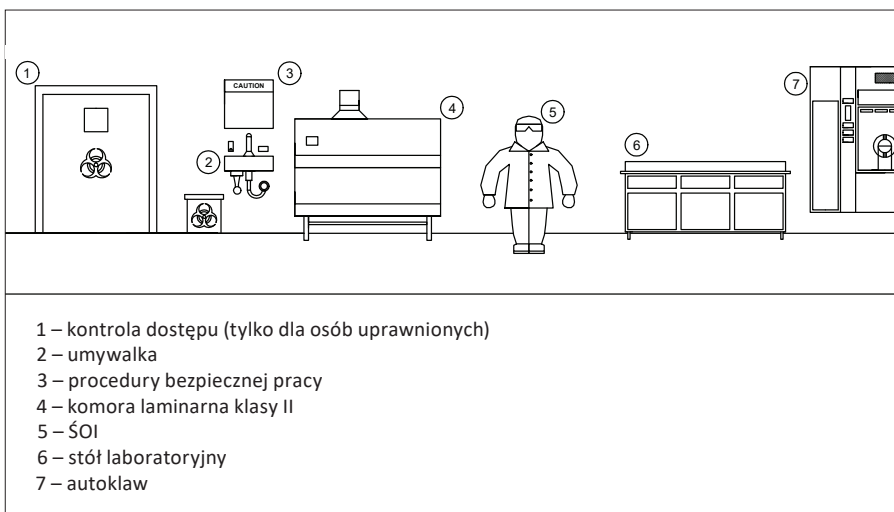
Poziom bezpieczeństwa biologicznego 2 (rys. 5) dotyczy prac laboratoryjnych z zamierzonym lub niezamierzonym użyciem SCB zaliczanych do drugiej grupy zagrożenia według rozporządzenia [15]. Są to mikroorganizmy, które mogą wywoływać choroby u ludzi i być niebezpieczne dla pracowników laboratoriów, a jednocześnie ich rozprzestrzenienie się w populacji ludzkiej jest mało prawdopodobne. Zazwyczaj w przypadku tych mikroorganizmów istnieją skuteczne metody profilaktyki lub leczenia.

Pomieszczenia laboratoryjne BSL-2 należy w sposób wyraźny i widoczny oznakować poprzez umieszczenie na drzwiach znaku ostrzegającego przez zagrożeniem biologicznym (rys. 4).



Rys. 4. Znak ostrzegający przez zagrożeniem biologicznym

Fig. 4. Biohazard warning sign



Rys. 5. Poziom bezpieczeństwa biologicznego 2 (BSL-2)

Fig. 5. Biosafety Level 2 (BSL-2)

Podczas pracy w laboratoriach BSL-2 stosuje się wszystkie środki ostrożności przewidziane dla poziomu BSL-1, uzupełnione dodatkowymi zabezpieczeniami. Sprzęt laboratoryjny podlega regularnej dekontaminacji. Konieczne jest również zapewnienie stanowiska do przymywania oczu. Materiał biologiczny należy przechowywać w wyraźnie oznakowanym, bezpiecznym miejscu.

W laboratoriach BSL-2 stosuje się odzież ochronną, tj. fartuchy, i buty laboratoryjne oraz następujące ŚOI: rękawice odporne na działanie czynników biologicznych, a kiedy sytuacja tego wymaga (np. w przypadku czynności, które mogą generować aerozol lub rozpryski) – sprzęt ochrony układu oddechowego (półmaski filtrujące klasy FFP1/FFP2) oraz okulary lub gogle laboratoryjne.

Wymagane aparatura i wyposażenie to: umywalka, komora laminarna II klasy bezpieczeństwa biologicznego, autoklaw. Niezbędne jest stosowanie wszelkich procedur do gromadzenia i utylizacji odpadów medycznych. Pomieszczenia BSL-2 powinny być wyposażone w samozamykające się drzwi.

Laboratoria klasy BSL-3

Poziom bezpieczeństwa biologicznego BSL-3 dotyczy prac laboratoryjnych z zamierzonym lub niezamierzonym użyciem SCB zaliczanych do trzeciej grupy zagrożenia według rozporządzenia [15]. Należą do nich mikroorganizmy, które mogą wywoływać u ludzi ciężkie choroby i są niebezpieczne dla pracowników, a ponadto ich rozprzestrzenienie się w populacji ludzkiej jest bardzo prawdopodobne. Zazwyczaj w stosunku do tych mikroorganizmów istnieją skuteczne metody profilaktyki lub leczenia.

Podczas pracy w laboratoriach BSL-3 stosuje się wszystkie środki ostrożności określone dla poziomów BSL-1 i BSL-2, uzupełnione dodatkowymi zabezpieczeniami (rys. 6).

Pracownicy laboratorium muszą zostać przeszkoleni (teoretycznie i praktycznie) w zakresie pracy z czynnikami chorobotwórczymi (np. powinni znać zasady: prawidłowego zakładania i zdejmowania ŚOI, bezpiecznego zachowania się w tzw. rdzeniu laboratorium czy przygotowania komory laminarnej do pracy) [17]. Wszelkie prace z użyciem materiału biologicznego można wykonywać jedynie w komorze laminarnej II lub III klasy bezpieczeństwa biologicznego. Transport materiału biologicznego może się odbywać jedynie w przeznaczonych do tego specjalnych pojemnikach, które muszą być zamknięte i odpowiednio oznakowane. Te pojemniki można otwierać tylko w laboratorium BSL-3 (rys. 6).

W laboratorium powinny się znajdować: stanowisko do przemywania oczu oraz bezdotykowe umywalki, wyposażone w bezdotykowe dozowniki mydła i preparatów dezynfekujących. Do pomieszczeń powinien prowadzić podwójny zestaw samozamykających się drzwi. Laboratorium BSL-3 wymaga regularnego czyszczenia i dezynfekcji. Podłogi, ściany i blaty powinny być gładkie, odporne na działanie preparatów dezynfekcyjnych.

Laboratorium musi być całkowicie odizolowane od środowiska zewnętrznego. W tym

celu stosuje się bariery ochronne (służą na wejściu/wyjściu) oraz wentylację mechaniczną. Wymagane jest podciśnienie oraz przepuszczanie powietrza dostarczanego do laboratorium i wydostającego się z niego przez wysokosprawne filtry. Konieczne są następujące ŚOI: dwie pary rękawic odpornych na działanie czynników biologicznych, kombinezon ochronny, zaręczawki, sprzęt ochrony układu oddechowego (półmaski filtrujące FFP3) oraz okulary lub gogle laboratoryjne. Wszystkie elementy ŚOI należy traktować jako jednorazowego użytku i po skończonej pracy gromadzić selektywnie oraz utylizować jak odpady medyczne [7, 17].

Wymagane aparatura i wyposażenie to: bariery ochronne, prysznic bezpieczeństwa, wentylacja mechaniczna (filtr HEPA), zlew z systemem selektywnego gromadzenia ścieków, komora laminarna II lub III klasy bezpieczeństwa biologicznego, autoklaw.

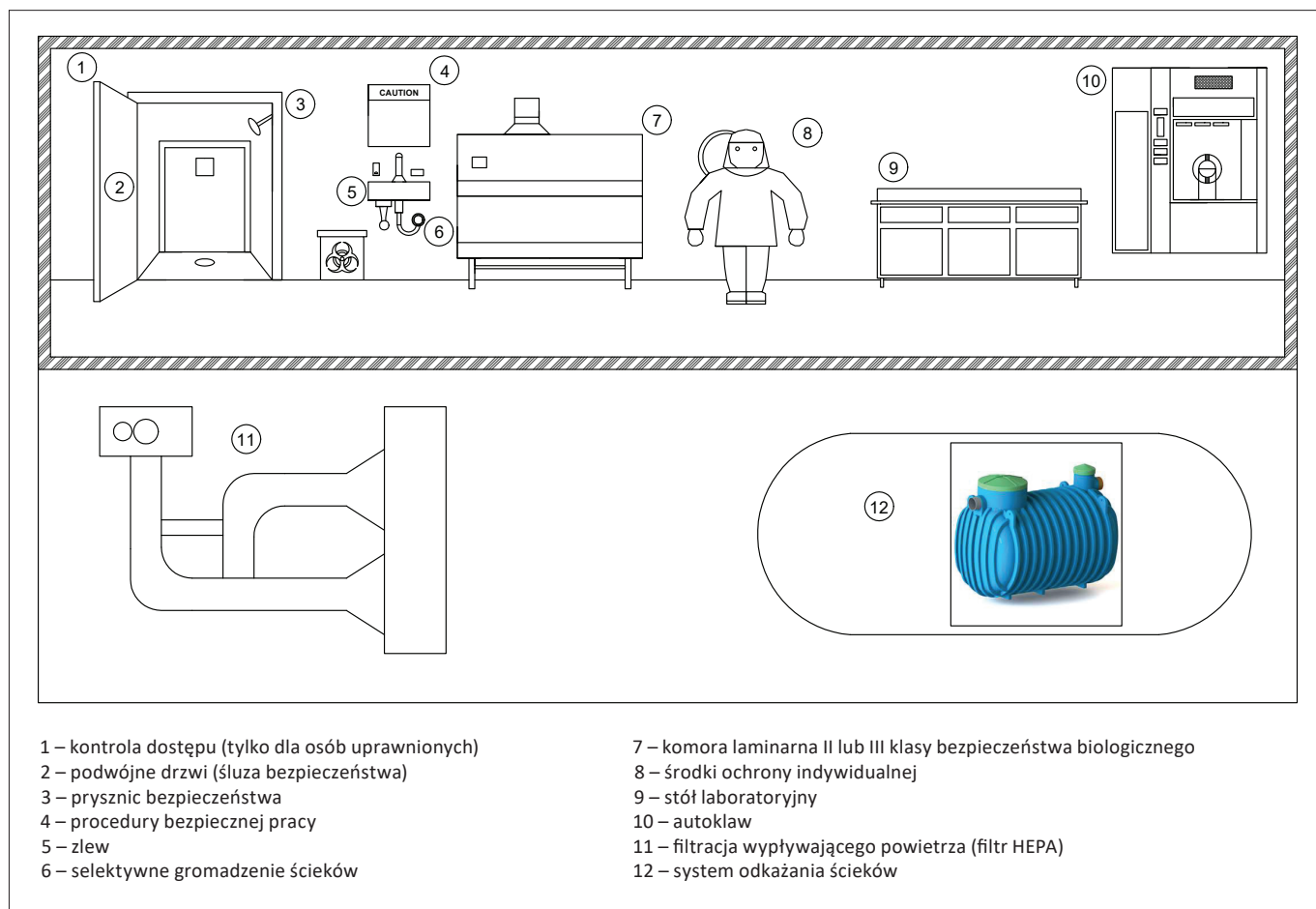
Wszelkie odpady laboratoryjne oraz ścieki muszą zostać odkażone, zanim opuszczą obiekt. Zgodnie z art. 9 ust. 2 ustawy z dnia 7 czerwca 2001 r. o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzaniu ścieków (t.j. Dz.U. z 2020 r. poz. 2028 z późn. zm.) zabrania się wprowadzania do urządzeń kanalizacyjnych ścieków zawierających chorobotwórcze drob-

noustroje, pochodzących z laboratoriów prowadzących badania z materiałem zakaźnym. W Polsce funkcjonuje kilka laboratoriów BSL-3, które znajdują się w: Narodowym Instytucie Zdrowia Publicznego w Warszawie, Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach, Wojskowym Instytucie Higieny i Epidemiologii w Puławach oraz Małopolskim Centrum Biotechnologii w Krakowie.

Laboratoria klasy BSL-4

Czwarty poziom bezpieczeństwa biologicznego [18] odnosi się do prac laboratoryjnych z zamierzonym lub niezamierzonym użyciem SCB zaliczanych do grupy 4 zagrożenia według rozporządzenia [15]. Są to takie czynniki, jak: wirus Ebola, wirus Lassa czy wirus ospy prawdziwej. Wywołują u ludzi ciężkie choroby i są niebezpieczne dla pracowników. Ich rozprzestrzenianie się w populacji ludzkiej jest bardzo prawdopodobne i zazwyczaj nie istnieją w stosunku do nich skuteczne metody profilaktyki lub leczenia.

Oprócz wszystkich środków ostrożności z poziomu bezpieczeństwa BSL-3 w laboratoriach BSL-4 obowiązują dodatkowe procedury, m.in. personel jest zobowiązany do zmiany odzieży przed wejściem do laboratorium oraz



Rys. 6. Poziom bezpieczeństwa biologicznego 3 (BSL-3)

Fig. 6. Biosafety level 3 (BSL-3)

zastosowania prysznicy dekontaminacyjnej przy wyjściu i prysznicy osobistego po zdjęciu ŚOI. Do wymaganych ŚOI należą wszystkie stosowane w laboratoriach BSL-3, a ponadto pełny kombinezon nadciśnieniowy, zasilany odpowiednio preparowanym powietrzem.

Laboratorium BSL-4 (rys. 7) musi być całkowicie odizolowane (dlatego często znajduje się w oddzielnym budynku lub w odseparowanej i ograniczonej strefie budynku), utrzymywane w podciśnieniu i posiadać niezależny, filtrowany obieg powietrza. Wszelkie odpady laboratoryjne, w tym przefiltrowane powietrze, woda i śmieci, muszą zostać odkażone, zanim opuszczą obiekt.

Wymagane aparatura i wyposażenie to: bariery ochronne (służą bezpieczeństwu), prysznic dekontaminacyjny, prysznic osobisty, wentylacja mechaniczna (filtr HEPA), zlew z systemem selektywnego gromadzenia ścieków, komora laminarna III klasy bezpieczeństwa biologicznego, autoklaw.

W Polsce nie funkcjonuje laboratorium BSL-4. W Europie laboratoria o tak wysokim poziomie zabezpieczeń znajdują się np. w Niemczech (Berlin, Robert Koch Institute), we Francji (Lyon, Laboratoire P4 Jean Mérieux) i we Włoszech (Rzym, Istituto Nazionale Malattie Infettive), a poza Europą – m.in. w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Australii, Chinach i Indiach.

Ocena ryzyka zawodowego

Kryteria dokonywania oceny ryzyka zawodowego dla pracujących w narażeniu na SCB zostały zamieszczone w § 5 rozporządzenia w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki [15] oraz w § 2 rozporządzenia zmieniającego [19]. Zgodnie z tymi regulacjami ocena ryzyka powinna być przeprowadzona na podstawie wszelkich dostępnych informacji o danym czynniku biologicznym z uwzględnieniem:

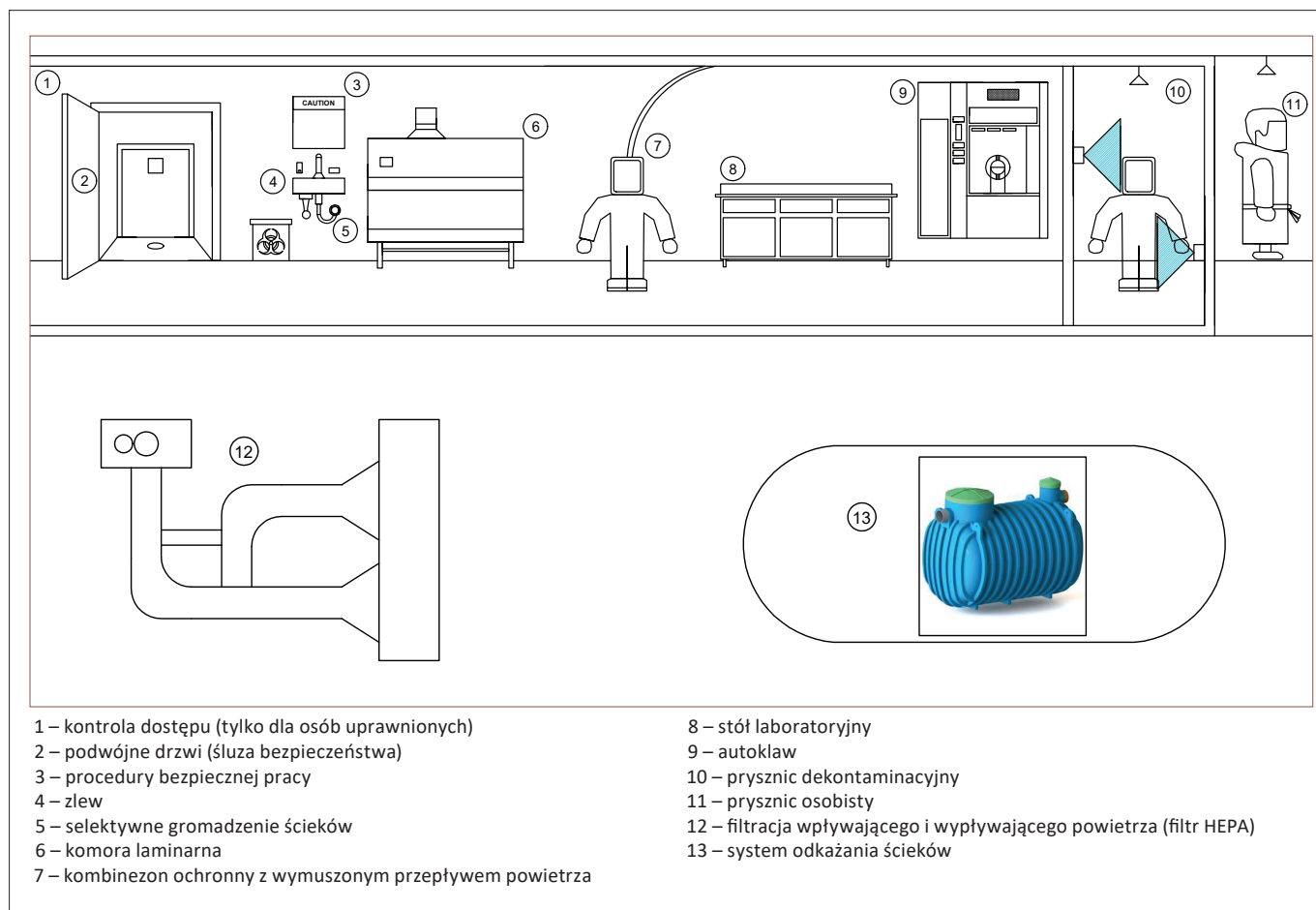
- wykazu i klasyfikacji SCB;
- rodzaju czynności wykonywanych przez pracownika oraz czasu i stopnia jego narażenia na działanie SCB;
- potencjalnego alergizującego lub toksycznego działania SCB;
- choroby, która może wystąpić w następstwie wykonywanej pracy;
- stwierdzonej choroby, która ma bezpośredni związek z wykonywaną pracą;
- wskazówek organów właściwej inspekcji sanitarnej, Państwowej Inspekcji Pracy oraz jednostek służby medycyny pracy.

W przypadku laboratoriów mikrobiologicznych pracodawca powinien ponadto uwzględnić:

- informację na temat potencjalnego występowania SCB u pacjenta lub zwierzęcia oraz w pobranych od nich materiałach i próbkach;
- zagrożenie ze strony SCB, o którym wiadomo (który podejrzewa się), że jest obecny u pacjenta lub u zwierzęcia oraz w materiałach i próbkach od nich pobranych;
- ryzyko wynikające z rodzaju pracy.

Analiza ryzyka zawodowego związanego z narażeniem na czynniki biologiczne jest – według przywołanych przepisów – procesem wieloetapowym i zawiera wiele elementów opisowych. W ocenie ryzyka zawodowego w laboratoriach wykonywane czynności należy przyporządkować do stopnia hermetyczności. Ten stopień decyduje o ustaleniu przez pracodawcę środków ochronnych (środków hermetyczności określonych w załącznikach nr 4 i 5 rozporządzenia [15]), zapobiegających przypadkowemu przeniesieniu bądź uwolnieniu czynnika biologicznego poza miejsce pracy lub redukujących takie ryzyko [20].

Zgodnie z generalną zasadą w przypadku SCB z drugiej grupy zagrożenia przyjmuje się drugi stopień hermetyczności, dla czynnika z trzeciej grupy zagrożenia – trzeci stopień hermetyczności itd. Jeżeli do danej czynności przypisanych jest wiele czynników, o jej przyporządkowaniu



Rys. 7. Poziom bezpieczeństwa biologicznego 4 (BSL-4)

Fig. 7. Biosafety level 4 (BSL-4)

do stopnia hermetyczności decyduje czynnik należący do najwyższej grupy zagrożenia.

Podsumowanie

Prace laboratoryjne, podczas których dochodzi do kontaktu z SCB, stanowią potencjalne zagrożenie dla naukowców oraz pracowników służby zdrowia, przemysłu farmaceutycznego i spożywczego, a także dla środowiska. Pracownicy laboratoriów mogą być narażeni na SCB z każdej z czterech grup zagrożenia. Źródłem SCB mogą być krew i płyny ustrojowe, próbki gleby czy powietrza, tkanki roślinne i zwierzęce oraz zwierzęta laboratoryjne. Na podstawie grup zagrożenia czynników biologicznych określa się stopień bezpieczeństwa biologicznego laboratorium (BSL). Wyróżnia się cztery poziomy bezpieczeństwa biologicznego: od BSL-1 do BSL-4. Każdy z nich – na podstawie zakresu zabezpieczeń chroniących personel, otaczające środowisko oraz społeczności niezwiązane bezpośrednio z laboratorium – wymaga zastosowania odpowiedniego wyposażenia, np. autoklawów, systemów wentylacyjnych, komór laminarnych o odpowiedniej klasie szczelności, środków ochrony indywidualnej, systemów selektywnego gromadzenia i odkażania ścieków czy pryszniców bezpieczeństwa.

Niezachowanie ostrożności, nieodpowiednia technika pracy z materiałem zakaźnym lub stosowanie źle dobranych ŚOI mogą być przyczyną chorób. W laboratorium mikrobiologicznym ograniczanie ryzyka wystąpienia zakażenia nie sprowadza się jedynie do ochrony pracownika przed narażeniem na SCB. Zawsze należy kontrolować możliwość kontaminacji badanych próbek drobnoustrojami środowiskowymi, obecnymi np. na sprzęcie laboratoryjnym lub w powietrzu. Niezwykle ważna jest również ochrona środowiska przed SCB, które mogą się uwolnić z badanego materiału biologicznego.

Bezpieczna praca w laboratorium mikrobiologicznym opiera się na połączeniu takich elementów, jak: prawidłowo przeprowadzona ocena ryzyka zawodowego, stosowanie dobrych praktyk laboratoryjnych oraz odpowiednio zaprojektowane i wyposażone laboratorium. Wiąże się to również z przestrzeganiem określonych procedur, w tym procedury dotyczącej postępowania z odpadami medycznymi – w zakresie ich bezpiecznego gromadzenia, magazynowania, transportu i unieszkodliwiania (zgodnie z grupą odpadów nr 18). Organizacja laboratoriów mikrobiologicznych zgodnie z zasadami Dobrej

Praktyki Wytwarzania i Dobrej Praktyki Laboratoryjnej zapewnia wiarygodność uzyskiwanych wyników badań oraz bezpieczeństwo człowieka i środowiska.

BIBLIOGRAFIA

- [1] GÓRNY R.L. Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy. 2004, 3(41): 17-39.
- [2] MEYER K.F., EDDIE B. Laboratory infections due to Brucella. Journal of Infectious Diseases. 1941, 68: 24-32.
- [3] SKINHOJ P. Occupational risks in Danish clinical chemical laboratories. II. Infections. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation. 1974, 33: 27-29.
- [4] National Research Council (US) Committee on Hazardous Biological Substances in the Laboratory. Biosafety in the Laboratory: Prudent Practices for the Handling and Disposal of Infectious Materials. Washington (DC): National Academies Press (US), 1989. Appendix A, Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.
- [5] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 3 sierpnia 2021 r. w sprawie Dobrej Praktyki Laboratoryjnej i wykonywania badań zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (Dz.U. poz. 1422).
- [6] ŁAWNICZEK-WAŁCZYK A. i in. Utrzymanie higieny rąk i powierzchni użytkowych na stanowiskach pracy. Warszawa: CIOP-PIB, 2019, ISBN: 978-83-7373-296-4.
- [7] GOŁOFIT-SZYMCZAK M., GÓRNY R.L. Postępowanie z odpadami medycznymi. Bezpieczeństwo Pracy. Nauka i Praktyka. 2020, 8: 16-19.
- [8] ELEFThERiADOU M., TSIMILLIS K.C. (red.). Eurachem Guide: Accreditation for Microbiological Laboratories, Second edition. 2013, ISBN: 978-91-87017-92-6.
- [9] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych (t.j. Dz.U. z 2019 r. poz. 1923 z późn. zm.).
- [10] Norma Międzynarodowa PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02. Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
- [11] Norma Międzynarodowa PN-EN ISO 15189:2013-05. Laboratoria medyczne – Wymagania dotyczące jakości i kompetencji.

- [12] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 listopada 2015 r. w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania (t.j. Dz.U. z 2022 r. poz. 1273).
- [13] KULKARNI P., BARON P.A., WILLEKE K. (red.). Aerosol measurement: principles, techniques, and applications. New York: John Wiley and Sons, 2011.
- [14] PN-EN 12469:2002 (wersja polska). Biotechnologia – Kryteria działania komór bezpiecznej pracy mikrobiologicznej.
- [15] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r. w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki (DzU z 2005 r., nr 81, poz. 716 z późn. zm.).
- [16] Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services. December 2009. pp. 30-59. Archived (PDF) from the original on 9 April 2016. Retrieved 2 April 2016.
- [17] MOURYA D.T. i in. Establishment of Biosafety Level-3 (BSL-3) laboratory: important criteria to consider while designing, constructing, commissioning & operating the facility in Indian setting. Indian Journal of Medical Research. 2014. 140(2): 171-183.
- [18] XIA H. i in. Biosafety Level 4 laboratory user training program, China. Emerging Infectious Diseases. 2019, 25(5).
- [19] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 11 grudnia 2020 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki (DzU z 2020 r., poz. 2234).
- [20] GOŁOFIT-SZYMCZAK M., GÓRNY R.L. Szkodliwe czynniki biologiczne – ocena ryzyka zawodowego, Bezpieczeństwo Pracy. Nauka i Praktyka. 2018, 1: 8-12.

Opracowano na podstawie wyników V etapu programu wieloletniego pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w zakresie zadań służb państwowych ze środków Ministerstwa Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej (zadanie nr 4.SP.12 pt. „Utrzymanie i rozwój bazy wiedzy BioInfo – wsparcie przedsięwzięcia w skutecznym zarządzaniu ryzykiem zawodowym związanym z występowaniem szkodliwych czynników biologicznych”). Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

NOWOŚCI WYDAWNICZE CIOP-PIB

Enteropatogenne bakterie i wirusy
– szkodliwe czynniki biologiczne w środowisku pracy
pracowników zakładów oczyszczania ścieków

Agata Stobnicka-Kupiec, Małgorzata Gołofit-Szymczak, Rafał L. Górny,
Marcin Cyprowski, Anna Ławniczek-Wałczyk



WYTYCZNE DOTYCZĄCE
METODYKI RUTYNOWEJ
DETEKCJI

ZALECENIA DO OCENY
I OGRANICZANIA
NARAŻENIA