



MINISTERUL SĂNĂȚĂȚII

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

2005



Proiect finanțat de
UNIUNEA EUROPEANĂ



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII

**GHID NAȚIONAL
DE BIOSIGURANȚĂ
PENTRU
LABORATOARELE MEDICALE**



2005



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

Responsabilitatea pentru ediția în limba română revine grupului de lucru.

Lucrarea în limba română a fost realizată cu asistența tehnică din partea Uniunii Europene prin următoarele proiecte Phare:

- RO-2002/000-586.04.11.01 “Restructurarea Rețelei de Centre Regionale HIV/SIDA cu scopul de a îmbunătăți activitățile de prevenire și accesul la îngrijiri al persoanelor infectate HIV”

- RO 0107.14 “Creșterea eficienței sistemului românesc de supraveghere epidemiologică și control ale bolilor transmisibile”

Grup de lucru (în ordine alfabetică)

- Daniela Bădescu - Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie
« Cantacuzino »
- Dana Brehar Cioflec - Institutul de Sănătate Publică Timișoara
- Dan Butur - Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie
« Cantacuzino »
- Andrei Aubert-Combiescu - Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie « Cantacuzino »
- Elena Crucerescu - Institutul de Sănătate Publică Iași
- Lenuța Filipaș - Direcția de Sănătate Publică Dolj
- Silvia Filipciuc - Direcția de Sănătate Publică Suceava
- Maria Hâncu - Direcția de Sănătate Publică Galați
- Carmen Hura - Institutul de Sănătate Publică Iași
- Luminița Smaranda Iancu - Institutul de Sănătate Publică Iași
- Gabriel Ionescu - Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie
« Cantacuzino »
- Ștefan Maximencu - Institutul de Sănătate Publică Cluj
- Mihaela Mihailov - Direcția de Sănătate Publică Bacău
- Eugenia Neaguț - Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie
« Cantacuzino »
- Daniela Pițigoi – Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București
- Elena Schiopu - Direcția de Sănătate Publică Sibiu
- Mariana Solomon - Direcția de Sănătate Publică Hunedoara
- Ecaterina Texe - Direcția de Sănătate Publică Bihor
- Olivia Vizitiu - Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie
« Cantacuzino »

Coordonatorul ediției: Gabriel Ionescu

Alese mulțumiri coordonatorilor de proiecte: Marc Lejars, Rob Stevens, Barbara Percy

Ghid național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale

© Ministerul Sănătății, România, 2005

ISBN 973-99-893-7-3

Tipărit în 700 exemplare



MINISTERUL SĂNĂTĂȚII

**GHID NAȚIONAL
DE BIOSIGURANȚĂ
PENTRU
LABORATOARELE MEDICALE**



2005



Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

Ghid național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale

Ediția a I-a, București, Editura Medicală 2006

Coordonatorul ediției: Gabriel Ionescu

format: 210x297mm, copertă laminată, 166 pagini, 700 exemplare

ISBN 973-99-893-7-3

Traducere după "Laboratory biosafety manual" – ediția a III-a,
Organizația Mondială a Sănătății, Geneva, 2004,

Cuvânt înainte la ediția în limba română

Ghidul național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale este traducerea în limba română a celei de a treia ediții a publicației OMS “Laboratory Biosafety Manual” apărute în anul 2004, completată cu unele prevederi conținute în Directiva Comisiei Europene nr. 2000/54. Realizarea și tipărirea acestui ghid a făcut parte din obiectivele a două proiecte desfășurate sub egida Ministerului Sănătății și finanțate din programul PHARE și anume:

- RO-2002/000-586.04.11.01 “Restructurarea Rețelei de Centre Regionale HIV/SIDA cu scopul de a îmbunătăți activitățile de prevenire și accesul la îngrijiri al persoanelor infectate HIV” și

- RO 0107.14 “Creșterea eficienței sistemului românesc de supraveghere epidemiologică și control ale bolilor transmisibile”.

Dat fiind că prezentul ghid a fost redactat sub egida Ministerului Sănătății, cu contribuția unor specialiști care lucrează în laboratoare de diagnostic și sănătate publică din domeniul medicinei umane, el se dorește în primul rând un îndreptar pentru această categorie de instituții. Menționăm totuși că riscurile de accidente care cad sub incidența preocupărilor de biosiguranță și biosecuritate se întâlnesc și în laboratoarele din domeniul veterinar, fitosanitar, din laboratoarele care controlează eficacitatea substanțelor bactericide și bacteriostatice și, în unele situații, în laboratoarele care fac controlul apei și alimentelor etc.

Reamintim că în anul 1996 a apărut, ca un număr special al revistei “*Studii și cercetări de Virusologie*”, un “**Manual pentru Bioprotecție în Laborator**”, care conținea traducerea în limba română a celei de a doua ediții a aceluiași manual publicat de OMS în anul 1993. Această publicație a avut la acea vreme un rol important de informare și documentare a specialiștilor din țara noastră asupra problematicii respective, într-un moment în care lipseau aproape cu desăvârșire texte românești în materie.

Apariția acestei noi ediții, aduse la zi, se impunea având în vedere că în prezent toate laboratoarele care manipulează microorganisme potențial patogene nu pot fi autorizate dacă nu posedă și nu aplică manuale proprii de biosiguranță, pentru a căror elaborare prezentul ghid este practic indispensabil.

Problema terminologiei românești în acest domeniu a constituit o dificultate majoră întâmpinată de toți specialiștii care au tradus și adaptat textele respective. Autorii versiunii de față s-au străduit să adopte și să contribuie la încetățenirea unor termeni care să corespundă cât mai fidel ca înțeles cu cei utilizați la ora actuală în documentația internațională, evitând în măsura posibilului introducerea de neologisme încă neintrate în limba română curentă.

Este însă evident că în orice disciplină tehnică există în toate limbile un „jargon” adoptat prin consens de toți specialiștii. De acest lucru au fost conștienți și traducătorii respectivi, care au convenit asupra unor termeni tehnici care să fie cât mai apropiați de sensul curent al termenului respectiv în limba română, dar care să însemne același lucru cu cei din textul englez de origine. În cele ce urmează ne vom opri asupra câtorva exemple mai relevante în această privință.

Lucrarea a fost denumită „Ghid” și nu „Manual”, întrucât această lucrare este gândită să servească drept îndrumar pentru ca instituțiile în care funcționează laboratoare biomedicale să își alcătuiască propriile lor „Manuale de biosiguranță”.

S-au adoptat termenii „Biosiguranță” și, respectiv, „Biosecuritate” pentru traducerea termenilor anglo-saxoni „Biosafety” și, respectiv, „Biosecurity”, renunțându-se la termenul „Bioprotecție” utilizat în textele anterioare. Motivul este că, prin consens internațional, termenul „Bioprotection” are o sferă mai largă de cuprindere. Alegerea de mai sus s-a făcut chiar dacă în limbajul curent termenii de siguranță și securitate sunt cvasi-sinonimi în limba română. Termenii respectivi sunt definiți adecvat la locul potrivit în text; menționăm aici că „biosiguranța” se referă la prevenirea accidentelor iar „biosecuritatea” la prevenirea incidentelor generate de utilizarea cu rea intenție a unor agenți infecțioși.

Această diferențiere a apărut în ultima ediție a manualului OMS, fiind generată de evoluția evenimentelor din societatea umană în ultimul deceniu, care au impus atenției omenirii problema riscurilor bioteroriste.

O dificultate deosebită a fost întâlnită pentru traducerea fidelă și corectă în limba română a termenului anglo-saxon „Containment” (tradus în textele franceze de specialitate prin „Confinement”). Inițial, acest termen fusese tradus prin „interdicție” (vezi „Manualul pentru bioprotecție în laborator” publicat în 1996 în revista „Studii și Cercetări de Virusologie”). Au mai fost de asemenea avute în vedere ca variante posibile termeni ca „îngrădire”, „restricție”, „izolare”, dar s-a considerat că nici unul nu acoperă integral sensul în care este folosit termenul de „containment” (respectiv „confinement”) în textele de specialitate pentru a indica „păstrarea, manipularea și transportul în condiții de securitate pentru lucrători și pentru mediul înconjurător a microorganismelor cu risc patogen”. Am convenit prin consens să adoptăm în acest scop termenul de „securizare” (respectiv adjectivul „securizat”) pentru a evita utilizarea unor locuțiuni mai mult sau mai puțin lungi.

A fost preferat termenul de „hotă” de lucru, respectiv „hotă de siguranță biologică” sau „hotă de protecție chimică” pentru traducerea termenului anglo-saxon „cabinet” (v. „biological safety cabinet”) în locul variantelor „incintă” sau „nișă” utilizate în alte texte, considerând că „hota” a intrat mai degrabă în limba română cu înțelesul cel mai apropiat de cel desemnat de englezescul „cabinet” folosit în acest context.

Suntem convinși că s-ar fi putut găsi în numeroase locuri din „Ghid” formulări mai potrivite și așteptăm sugestiile cititorilor pentru a ameliora textul în vederea publicării unor ediții viitoare. Aceste sugestii și critici pot fi adresate Dr. Gabriel Ionescu, I.N.C.D.M.I. „Cantacuzino”, Splaiul Independenței 103, București, fax 021 3184414, email: gionescu@cantacuzino.ro.

Considerăm că datele cuprinse în „Ghidul de biosiguranță” ar trebui să facă parte și ele, ca și cele din cadrul capitolului mare al demersului de calitate, din curricula formării profesionale a cadrelor superioare, medii și ajutătoare care se dedică lucrului în laboratoare biomedicale. Bineînțeles că aceste noțiuni vor trebui prezentate, împrăștiate și actualizate cu ocazia instructajelor inițiale și a celor periodice din cadrul fiecărui laborator.

Pornind de la toate considerentele de mai sus, considerăm că **Ghidul național de biosiguranță pentru laboratoarele medicale** va constitui un îndreptar indispensabil pentru activitatea tuturor laboratoarelor biomedicale din România.

Prof. Dr. Andrei Aubert-Combiescu

Prof. Dr. Marian Neaguț

Cuvânt înainte

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a recunoscut de mult timp că siguranța și, în particular, siguranța biologică reprezintă probleme importante pe plan internațional. OMS a publicat prima ediție a "Manualului de biosiguranță în laborator" în anul 1993. Acest manual a încurajat statele să accepte și să implementeze noțiunile de bază privind siguranța biologică și să elaboreze coduri naționale de practică pentru manipularea în condiții de siguranță a microorganismelor patogene în laboratoarele aflate pe teritoriile lor. Din anul 1983, multe țări au urmat îndrumările din acest manual pentru a elabora astfel de coduri de practică. A doua ediție a manualului a fost publicată în 1993.

OMS continuă să dețină un rol coordonator în probleme legate de biosiguranță la nivel internațional prin această a III-a ediție a manualului în care sunt abordate siguranța și securitatea biologică cu care ne confruntăm în acest mileniu.

Cea de-a III-a ediție subliniază importanța responsabilității personale. Au fost adăugate noi capitole privind evaluarea riscului, utilizarea în siguranță a tehnologiei ADN recombinant și transportul materialelor infecțioase. Recentele evenimente pe plan mondial au dezvăluit noi amenințări pentru sănătatea publică prin utilizarea rău intenționată și eliberarea în mediul înconjurător de agenți microbieni și toxine. De aceea, cea de-a III-a ediție introduce conceptele privind biosecuritatea – protejarea materialului microbiologic împotriva furtului, pierderii sau al diversiunii, care pot conduce la utilizarea neadecvată a acestor agenți și la afectarea sănătății publice. Această ediție include și informații privind siguranța cuprinse în publicația OMS din 1997 "Siguranța în laboratoarele din unitățile sanitare" (1).

A III-a ediție a Manualului OMS de biosiguranță în laborator constituie un prețios material de referință și un ghid pentru națiunile care sunt conștiente de necesitatea de a elabora și stabili coduri naționale de practică pentru securizarea materialului microbiologic, asigurând în plus disponibilitatea acestuia pentru scopuri clinice, de cercetare și epidemiologice.

Dr. A. Asamoah-Baah
*Assistant Director-General
Communicable Diseases
World Health Organization
Geneva, Switzerland*

Mulțumiri

Elaborarea acestei a III-a ediții a “Manualului de biosiguranță în laborator” a fost posibilă prin contribuția deosebită a următorilor :

Dr W. Emmett Barkley, Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD, USA

Dr Murray L. Cohen, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA (pensionat)

Dr Ingegerd Kallings, Swedish Institute of Infectious Disease Control, Stockholm, Sweden

Ms Mary Ellen Kennedy, Consultant in Biosafety, Ashton, Ontario, Canada

Ms Margery Kennett, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australia (pensionat)

Dr Richard Knudsen, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dr Nicoletta Previsani, Biosafety programme, World Health Organization, Geneva, Switzerland

Dr Jonathan Richmond, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA (pensionat)

Dr Syed A. Sattar, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada

Dr Deborah E. Wilson, Division of Occupational Health and Safety, Office of Research Services, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, Washington, DC, USA

Dr Riccardo Wittek, Institute of Animal Biology, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland

Asistența următorilor specialiști este, de asemenea, apreciată:

Ms Maureen Best, Office of Laboratory Security, Health Canada, Ottawa, Canada

Dr Mike Catton, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, North Melbourne, Australia

Dr Shanna Nesby, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dr Stefan Wagener, Canadian Science Centre for Human and Animal Health, Winnipeg, Canada

Autorii și referenții doresc să mulțumească, de asemenea, pentru contribuțiile originale ale numeroșilor specialiști a căror muncă a fost inclusă în prima și a doua ediție a “Manualului de biosiguranță în laborator” precum și în publicația “Siguranța în laboratoarele din unitățile de îngrijire a sănătății”, OMS, 1997.

CUPRINS

Cuvânt înainte la ediția în limba română	I
Cuvânt înainte	III
Mulțumiri	IV
Cuprins	V
1. Principii generale	1
2. Evaluarea riscului microbiologic	5
3. Laboratoarele de bază – Nivelele de Biosiguranță 1 și 2	7
4. Laboratorul securizat – Nivelul de Biosiguranță 3	17
5. Laboratorul înalt securizat – Nivelul de Biosiguranță 4	21
6. Biobazele	25
7. Recomandări pentru calificarea laboratorului/facilităților acestuia	31
8. Recomandări pentru certificarea laboratorului/facilităților acestuia	33
9. Conceptul de biosecuritate în laborator	45
10. Hotele de siguranță biologică	47
11. Echipamente de siguranță	57
12. Practici microbiologice corecte. Tehnici de laborator	63
13. Planuri pentru intervenții în caz de accidente și măsuri de urgență	71
14. Dezinfecția și sterilizarea	75
15. Noțiuni introductive privind transportul materialelor infecțioase	85
16. Biosiguranța și tehnologia ADN recombinant	89
17. Substanțe chimice periculoase	93
18. Pericole adiționale în laborator	97
19. Responsabilul cu biosiguranța și comitetul de biosiguranță	103
20. Reguli de siguranță pentru personalul auxiliar	105
21. Programele de instruire	107
22. Listă-chestionar	109
Anexa 1 - Primul-ajutor	115
Anexa 2 - Imunizarea personalului	117
Anexa 3 - Centre colaboratoare ale OMS în domeniul biosiguranței	119
Anexa 4 - Siguranța microbiologică a echipamentelor	121
Anexa 5 - Substanțele chimice: pericole și precauții	125
Anexa 6 - Clasificarea agenților biologici	151
Bibliografie	163

1. Principii generale

Introducere

Prezentul ghid se referă la pericolul infecțios implicat de manipularea diferitelor microorganisme, luând în considerare grupurile de risc cărora le aparțin (Grupurile de Risc OMS 1, 2, 3 și 4, vezi Anexa 6). **Această clasificare a grupurilor de risc este valabilă doar pentru activitatea de laborator.** Tabelul 1 descrie grupurile de risc.

Tabel 1. Clasificarea microorganismelor infecțioase pe grupuri de risc

Grup de risc 1 (risc infecțios individual sau comunitar scăzut sau absent)

Microorganisme cu probabilitate minimă de a provoca îmbolnăvire la om sau animal

Grup de risc 2 (risc individual moderat, risc comunitar scăzut)

Agenți patogeni care pot provoca îmbolnăvire la om sau animal, dar este puțin probabil să reprezinte un pericol sever pentru personalul de laborator, comunitate, faună sau mediu. Expunerile în laborator pot cauza infecții severe dar pentru care există tratament eficace și măsuri profilactice, iar riscul de răspândire al infecției este limitat.

Grup de risc 3 (risc individual ridicat, risc comunitar scăzut)

Agenți patogeni care în mod obișnuit provoacă îmbolnăvire severă la om sau animal, dar, de regulă, nu se răspândesc de la un individ infectat la altul. Există tratament eficace și măsuri profilactice.

Grup de risc 4 (risc individual și comunitar ridicat)

Agenți patogeni care provoacă, de regulă, îmbolnăvire severă la om sau animal și care se pot transmite spontan de la un individ la altul, direct sau indirect. Nu există, în general, tratament eficace și măsuri profilactice.

Din punctul de vedere al biosiguranței, laboratoarele se clasifică astfel :

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

Această clasificare are la bază un complex de caracteristici ce se referă la proiectarea și construcția laboratorului, nivelul de securizare, dotarea cu echipamente, practicile și procedurile operaționale pe care le implică manipularea microorganismelor din diferite grupuri de risc. Fără a fi exhaustiv, Tabelul 2 prezintă corespondența dintre grupul de risc în care se încadrează microorganismul și nivelul de biosiguranță al laboratorului în care acesta se manipulează.

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

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

GMT = Good Microbiological Techniques (practici microbiologice corecte)

HSB = Hotă de siguranță biologică

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

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

În Anexa 6 este prezentată clasificarea agenților biologici conform **Anexei III a Directivei 2000/54/CE a Parlamentului European și Consiliului**, din data de 18 Septembrie 2000, referitoare la protejarea lucrătorilor împotriva riscurilor pe care le implică expunerea la agenți biologici la locul de muncă.

Desemnarea nivelului de biosiguranță pentru lucrul în laborator trebuie să se bazeze pe evaluarea riscului. Pentru stabilirea nivelului corect de biosiguranță, evaluarea va lua în considerare grupul

1. PRINCIPII GENERALE

de risc căruia îi aparține microorganismul, dar și alți factori ce pot interveni. Pentru exemplificare, un microorganism aparținând grupului de risc 2 necesită în general localuri și utilități, echipamente, practici și proceduri pentru desfășurarea în siguranță a activităților caracteristice Nivelului de biosiguranță 2. Dacă totuși anumite experimente sunt generatoare de aerosoli în concentrații mari, Nivelul de biosiguranță 3 este mai indicat, asigurând un grad superior de limitare a aerosolilor la spațiul de lucru al laboratorului. Aprecierea nivelului de biosiguranță necesar desfășurării unei anumite activități este ghidată de judecata profesională bazată pe evaluarea riscului, și nu doar pe desemnarea mecanică a unui nivel de biosiguranță a laboratorului după grupul de risc căruia îi aparține microorganismul patogen care urmează a fi manipulat (vezi Capitolul 2).

Tabelul 3 prezintă principalele cerințe pentru fiecare nivel de biosiguranță.

Tabel 3. Rezumat al cerințelor nivelelor de biosiguranță

	Nivel de biosiguranță			
	1	2	3	4
Izolarea(a) laboratorului	Nu	Nu	Da	Da
Încăpere etanșabilă pentru decontaminare	Nu	Nu	Da	Da
Ventilația:				
- flux de aer direcționat spre interior	Nu	De dorit	Da	Da
- sistem de ventilație controlat	Nu	De dorit	Da	Da
- evacuarea aerului prin filtre HEPA	Nu	Nu	Da / Nu(b)	Da
Intrare cu ușă dublă	Nu	Nu	Da	Da
Sas (c)	Nu	Nu	Nu	Da
Sas cu duș	Nu	Nu	Nu	Da
Anticameră	Nu	Nu	Da	Da
Anticameră cu duș	Nu	Nu	Da / Nu(d)	Nu
Tratarea efluenților	Nu	Nu	Da / Nu(d)	Da
Autoclav:				
- în instituție/clădire	Da	Da	Da	Da
- în laborator	Nu	Nu	De dorit	Da
- cu acces dublu (transmural)	Nu	Nu	De dorit	Da
Hote de siguranță biologică:	Nu	De dorit	Da	Da
Capacitate de monitorizare a siguranței personalului (e)	Nu	Nu	De dorit	Da

(a) Izolarea fizică și funcțională a laboratorului de circulația generală a personalului.

(b) Depinde de locul de evacuare (vezi Capitolul 4).

(c) Sas - Incintă prevăzută cu două sau mai multe uși interpusă între două sau mai multe încăperi (de exemplu cu presiuni diferite), pentru a controla fluxul de aer între acestea. Un sas poate fi proiectat și utilizat, fie pentru personal, fie pentru materiale sau probe.

(d) Depinde de agenții microbieni manipulați în laborator.

(e) De exemplu, fereastră de vizualizare, sistem de supraveghere video, două căi de comunicare

În consecință, stabilirea nivelului de biosiguranță ia în considerație microorganismul (agentul patogen) folosit, facilitățile disponibile, echipamentele și procedurile necesare desfășurării activității de laborator în condiții de siguranță.

2. Evaluarea riscului microbiologic

Coloana vertebrală a practicilor de biosiguranță este evaluarea riscului. Deși există o multitudine de instrumente destinate a ajuta evaluarea riscului pentru o procedură sau pentru un experiment, cel mai important component este reprezentat de evaluarea (judecata) profesională. Evaluarea riscului ar trebui realizată de către specialiștii cei mai familiarizați cu caracteristicile specifice ale microorganismelor ce vor fi utilizate, cu procedurile și echipamentele, cu animalele ce pot fi folosite ca model și cu echipamentele și facilitățile disponibile pentru o manipulare securizată. Șeful laboratorului sau investigatorul principal sunt răspunzători pentru evaluarea adecvată și la timp, precum și pentru conlucrarea strânsă cu colectivul de protecția muncii și personalul de biosiguranță în vederea asigurării echipamentului și facilităților necesare desfășurării activității pentru care s-a făcut evaluarea. După evaluarea inițială a riscului, acesta se reevaluează periodic și se revizuieste dacă se consideră necesar, luând în considerare acumularea de noi date corelate cu problema gradului de risc și informațiile din literatura de specialitate.

Unul din cele mai utile instrumente pentru evaluarea riscului microbiologic este listarea grupurilor de risc pentru agenții microbiologici (vezi Capitolul 1). Simpla referire la grupurile de risc pentru un anumit agent microbial este insuficientă pentru evaluarea riscului. Alți factori ce vor trebui luați în considerare sunt următorii:

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

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

Probe despre care există informații limitate

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

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

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

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

În cazul unor episoade epidemice de origine necunoscută, se pot elabora *ad hoc* ghiduri adecvate, care să fie difuzate/publicate de autoritățile naționale competente și/sau OMS prin World Wide Web (așa cum s-a procedat în anul 2003, în condițiile urgenței sindromului respirator acut sever (SARS)), ghiduri care să indice modalitatea de transport a probelor și nivelul de biosiguranță ce se impune în procesul de analiză a acestora.

Evaluarea riscului și microorganismele modificate genetic

O discuție detaliată privind evaluarea riscului în cazul microorganismelor modificate genetic (genetically modified organisms = GMOs) este prezentat în Capitolul 16.

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

Acest ghid prezintă cerințele minime pentru laboratoare clasificate pe toate nivelele de biosiguranță, care manipulează microorganisme din Grupurile de risc 1-4. Deși unele precauții pentru anumite microorganisme din Grupul de risc 1 pot părea mai puțin justificate, se recomandă aplicarea lor cu scopul însușirii și promovării **practicilor microbiologice corecte**.

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

Regulile pentru laboratoarele de bază – Nivel de biosiguranță 1 și 2, prezentate în acest manual, sunt cuprinzătoare și detaliate, ele fiind fundamentale pentru toate laboratoarele, indiferent de nivelul de biosiguranță.

Recomandările pentru laboratoarele securizate – Nivel de biosiguranță 3 și înalt securizate - Nivel de biosiguranță 4, care urmează (Capitolele 4 și 5), constituie de fapt modificări și suplimentări ale acestor reguli, destinate lucrului cu agenți patogeni mai periculoși.

3.1. Codul de practici

Acest cod este o listă a celor mai importante practici și proceduri de laborator care stau la baza practicilor microbiologice corecte (good microbiological techniques = GMT). În multe laboratoare și programe naționale în care acestea participă, acest cod se poate utiliza pentru elaborarea de reguli și proceduri scrise pentru efectuarea în siguranță a operațiunilor în laborator.

Fiecare laborator trebuie să adopte un manual de siguranță sau de operațiuni care să identifice pericolele cunoscute sau potențiale precum și procedurile și practicile specifice pentru eliminarea sau reducerea la minimum a acestor pericole. GMT sunt fundamentale pentru siguranța activităților de laborator. Echipamentul special de laborator este un element suplimentar, care nu va putea însă niciodată să înlocuiască aplicarea procedurilor corecte. Cele mai importante concepte sunt enumerate mai jos.

3.1.1. Accesul

1. Sigla internațională de avertizare și inscripția «Pericol biologic» (Figura 1) trebuie să fie afișate pe ușile încăperilor unde sunt manipulate microorganisme aparținând grupului de risc 2 sau mai mare.
2. Numai persoanele autorizate vor fi lăsate să intre în zonele de lucru ale laboratorului.
3. Ușile laboratorului trebuie să stea închise.
4. Copiii nu trebuie autorizați sau lăsați să intre în zonele de lucru ale laboratorului.
5. Accesul în biobaze trebuie să se facă numai pe baza unei autorizații speciale.
6. Nu se admite accesul altor animale în afara celor folosite pentru activitățile de laborator

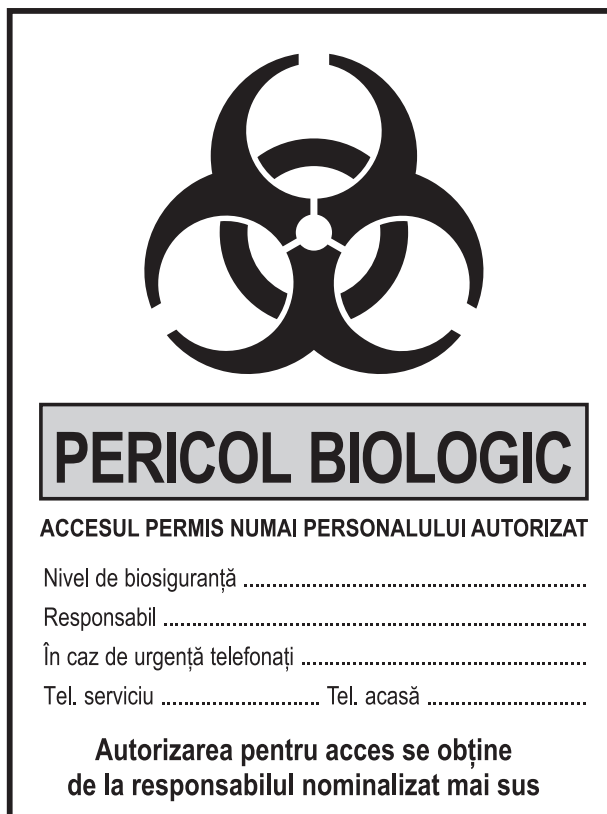


Figura 1. Sigla de pericol biologic

3.1.2. Protecția individuală a personalului

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

3.1.3. Procedurile

1. Pipetarea cu gura este strict interzisă.
2. Nici un material nu trebuie dus la gură. Etichetele nu trebuie umectate cu limba înainte de lipire.

3. LABORATOARELE DE BAZĂ – NIVELELE DE BIOSIGURANȚĂ 1 ȘI 2

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

3.1.4. Zonele de lucru ale laboratorului

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

3.1.5. Managementul biosiguranței

1. Șeful de laborator (persoana care poartă în mod direct responsabilitatea laboratorului) are obligația să asigure elaborarea și adoptarea unui plan de management al biosiguranței și ale unui manual de siguranță și operațiuni.
2. Responsabilul cu activitatea laboratorului (subordonat șefului laboratorului) trebuie să asigure instruirea periodică a personalului laboratorului în domeniul siguranței.
3. Personalul trebuie avertizat asupra pericolelor speciale și are obligația să citească manualul de siguranță și operațiuni și să respecte procedurile și practicile standard. Responsabilul laboratorului trebuie să se asigure că toți membrii personalului și-au însușit aceste reguli. O copie a manualului de siguranță și operațiuni trebuie să existe permanent în laborator pentru a putea fi consultată în orice moment.
4. Trebuie să existe un program de dezinfecție și deratizare.
5. Trebuie asigurate, în caz de necesitate, pentru toți membrii personalului, o evaluare medicală adecvată, supraveghere și tratament, și trebuie ținute evidențe medicale adecvate.

3.2. Conceperea structurii și facilităților laboratorului

În proiectarea laboratorului și stabilirea efectuării anumitor activități în spațiul acestuia, se va acorda o atenție deosebită situațiilor despre care se știe că ridică probleme de siguranță. Acestea sunt:

1. Formarea de aerosoli
2. Manipularea de volume mari și/sau de concentrații ridicate de microorganisme
3. Supraaglomerarea spațiului de lucru sau acumularea de prea multe echipamente
4. Infestarea cu rozătoare și insecte
5. Accesul neautorizat
6. Circuit de lucru: folosirea anumitor probe sau a unor reactivi specifici.

Exemple de design pentru laboratoare cu Nivel de biosiguranță 1 și 2 sunt prezentate în Figura 2 și, respectiv, 3.

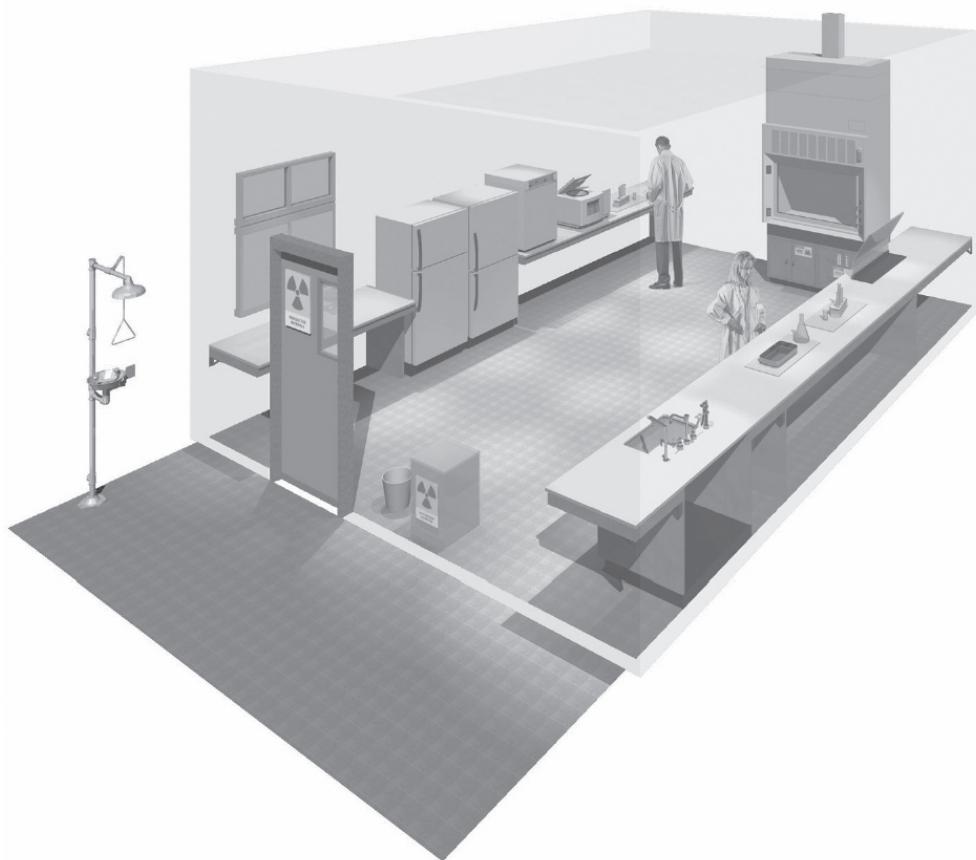


Figura 2. Laborator cu nivel de biosiguranță 1
(prin amabilitatea CUH2A, Princeton, NJ, USA).

3.2.1. Caracteristici de proiectare:

1. Trebuie asigurat un spațiu suficient pentru desfășurarea în siguranță a muncii de laborator și pentru curățenie și întreținere
2. Pereții, tavanele și pavimentele trebuie să fie netede, ușor de curățat, impermeabile la lichide și rezistente la substanțele chimice și dezinfectantele folosite uzual în laborator. Pavimentele nu trebuie să fie alunecoase.
3. Suprafața meselor de lucru trebuie să fie impermeabilă la apă, rezistentă la dezinfectante, acizi, baze, solvenți organici și la căldură.
4. Iluminatul trebuie să fie adecvat pentru desfășurarea tuturor activităților. Reflexiile și strălucirile nedorite trebuie evitate.
5. Mobilierul de laborator trebuie să fie rezistent. Spațiile deschise între și sub mese, hote și echipamente trebuie să fie accesibile pentru curățenie.
6. Trebuie prevăzute spații de depozitare adecvate pentru materialele de folosință imediată, prevenind astfel aglomerarea acestora pe mesele de lucru și în spațiile libere dintre acestea. Trebuie, de asemenea, prevăzute spații suplimentare pentru depozitarea pe termen lung, localizate corespunzător în afara zonelor de lucru.
7. Trebuie asigurate spații și facilități adecvate pentru manipularea și depozitarea în siguranță a solvenților, materialelor radioactive, a gazelor comprimate și lichefiate.

3. LABORATOARELE DE BAZĂ – NIVELELE DE BIOSIGURANȚĂ 1 ȘI 2

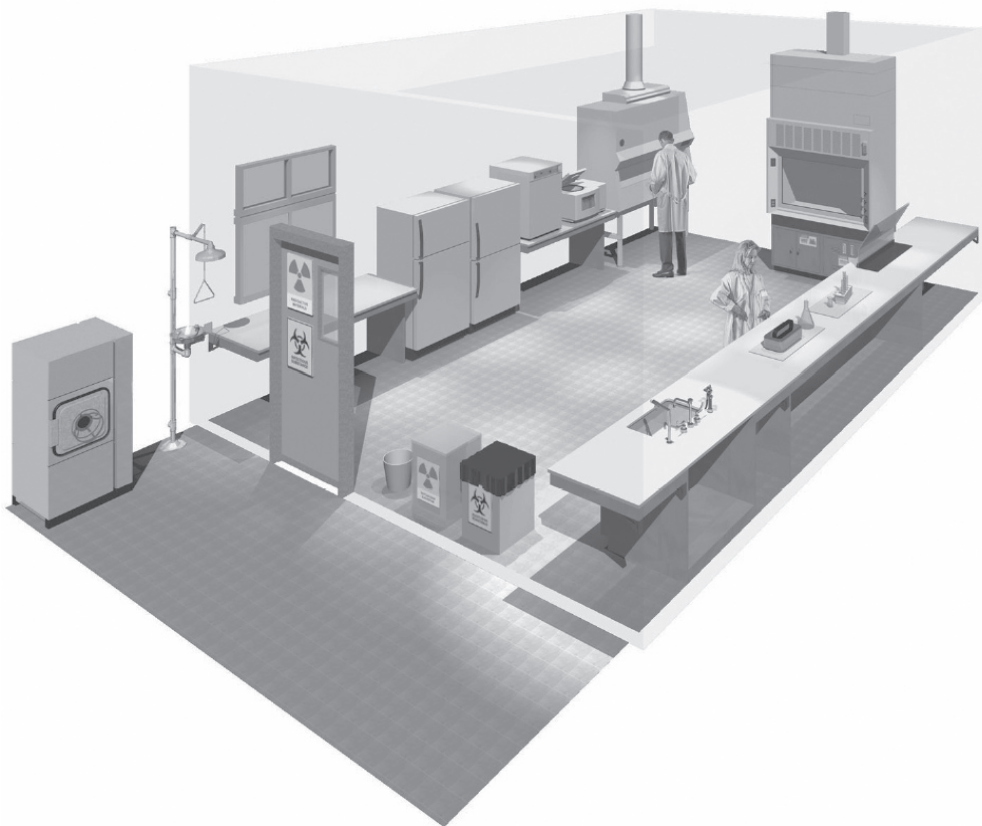


Figura 3. Laborator cu nivel de biosiguranță 2
(prin amabilitatea CUH2A, Princeton, NJ, USA).

Procedurile care generează aerosoli se execută în Hota de siguranță biologică. Ușile sunt menținute închise și marcate cu semne de pericol adecvate. Deșeurile potențial contaminate sunt colectate separat de restul deșeurilor.

8. Spațiile pentru păstrarea îmbrăcăminții și încălțămintei de stradă și a obiectelor personale trebuie asigurate în afara zonelor de lucru.
9. Spațiile pentru mâncat, băut și odihnă trebuie asigurate în afara zonelor de lucru.
10. Chiuvete cu apă curentă pentru spălarea mâinilor trebuie să existe în fiecare încăpere a laboratorului, preferabil lângă ușa de ieșire.
11. Ușile trebuie să aibă geamuri sau vizoare, să fie conforme cu normele de protecție contra incendiilor și, de preferat, să se închidă singure.
12. Pentru Nivelul de biosiguranță 2 trebuie ca un autoclav sau alte mijloace de decontaminare să fie accesibile în imediata apropiere a laboratorului.
13. Sistemele de securitate trebuie să cuprindă protecția împotriva focului, urgențelor electrice, să prevadă dușuri de urgență și facilități pentru spălarea ochilor.
14. Trebuie să existe zone sau camere de prim ajutor echipate adecvat și accesibile (vezi Anexa 1).
15. La proiectarea de facilități noi, trebuie luată în considerare asigurarea de sisteme mecanice de ventilație, care să asigure un flux de aer direcționat spre interior, fără recirculare. Dacă nu există ventilație mecanică, ferestrele trebuie să se poată deschide și trebuie prevăzute cu plase împotriva pătrunderii insectelor.
16. Aprovizionarea cu apă curentă de bună calitate este esențială. Nu trebuie să existe interconectări ale surselor de apă ale laboratorului cu cele de aprovizionare cu apă potabilă. Un dispozitiv anti-reflux trebuie să protejeze sistemul public de aprovizionare cu apă.

17. Trebuie să existe o sursă sigură și adecvată de curent electric și un sistem de iluminare pentru situațiile de urgență care să faciliteze ieșirea din laborator. Un generator de rezervă este de dorit pentru susținerea echipamentelor esențiale (incubatoare, hote de biosiguranță, congelatoare, etc.) și pentru ventilarea cuștilor cu animale.
18. Trebuie să existe o sursă sigură și adecvată de gaz. Buna întreținere a instalației este obligatorie.
19. Laboratoarele și clădirile biobazelor sunt uneori ținta vandalizărilor. Trebuie avute în vedere securitatea fizică și împotriva incendiilor. Ușile solide, ferestrele protejate și eliberarea controlată a cheilor de acces sunt obligatorii. Alte măsuri trebuie luate în considerare și aplicate dacă este necesar pentru creșterea siguranței.

3.3. Echipamentele de laborator

Împreună cu procedurile și practicile corecte, utilizarea echipamentelor de siguranță contribuie la reducerea riscului. Acest capitol tratează principiile de bază legate de echipamentele utilizate în toate laboratoarele, indiferent de nivelul de biosiguranță. Exigențele legate de echipamentul de laborator pentru nivelele superioare de biosiguranță sunt tratate în capitolele respective.

Șeful de laborator are obligația ca, după consultarea cu responsabilul cu biosiguranța și colectivul de siguranță, să asigure ca echipamentul adecvat să fie procurat și folosit corespunzător. Echipamentul va fi ales luând în considerare câteva principii generale, de exemplu:

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

Este util să se consulte în detaliu documentația privind performanțele și specificațiile de construcție ale echipamentelor pentru a dobândi convingerea că prezintă caracteristicile de siguranță necesare (vezi Capitolele 10 și 11).

3.3.1. Echipamente esențiale pentru asigurarea biosiguranței

1. Dispozitive de pipetare, pentru a evita pipetarea cu gura. Sunt disponibile diverse modele.
2. Hotele de biosiguranță, ce trebuie folosite ori de câte ori:
 - se manipulează materiale infecțioase; aceste materiale pot fi centrifugate în spațiul deschis al laboratorului dacă se folosesc cupe de centrifugă cu dispozitiv de securizare și dacă sunt introduse și descărcate într-o hotă de biosiguranță
 - există risc crescut de infecții aerogene
 - se folosesc proceduri cu potențial ridicat de producere de aerosoli: centrifugarea, mojararea, secționarea, agitarea sau mixarea vigoasă, dezintegrarea sonică, deschiderea containerelor cu material infecțios cu presiune internă diferită de presiunea ambiantă, inocularea intranasală a animalelor și recoltarea de țesuturi infectate de la animale și ouă, etc.

3. LABORATOARELE DE BAZĂ – NIVELELE DE BIOSIGURANȚĂ 1 ȘI 2

3. Anse de transfer de unică folosință din plastic. Alternativ, în scopul reducerii producerii de aerosoli, în interiorul hotei de biosiguranță se pot folosi incineratoare electrice pentru anse de transfer.
4. Tuburi și flacoane cu capace prevăzute cu filet.
5. Autoclave sau alte mijloace folosite pentru decontaminarea materialului infecțios.
6. Pipete Pasteur de unică folosință din plastic, ori de câte ori este posibil, evitând utilizarea celor din sticlă.
7. Echipamentele precum autoclavele și hotele de biosiguranță trebuie validate cu metode adecvate înainte de a fi introduse în uz. Acestea trebuie recertificate la intervale regulate de timp, în acord cu instrucțiunile producătorului (vezi Capitolul 7).

3.4. Supravegherea stării de sănătate a personalului

Autoritatea angajatoare, prin șeful de laborator, este responsabilă de asigurarea unei supravegheri adecvate a stării de sănătate a personalului laboratorului. Obiectivul acestei supravegheri este monitorizarea stării de sănătate în relație cu factorul ocupațional. Activitățile ce trebuie desfășurate pentru îndeplinirea acestor obiective sunt:

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

3.4.1. Reguli pentru supravegherea personalului de laborator care manipulează microorganisme la Nivelul de biosiguranță 1

Experiența activității în acest tip de laboratoare arată că, în cazul manipulării microorganismelor la acest nivel, este improbabilă producerea de îmbolnăviri ale oamenilor sau de afecțiuni ale animalelor cu importanță sub raport veterinar. Se recomandă, totuși, efectuarea unui control medical înainte de angajare la tot personalul, cu înregistrarea antecedentelor medicale. Se recomandă raportarea promptă a stărilor de boală sau a accidentelor de laborator, iar întreg personalul trebuie să fie conștient de importanța respectării practicilor corecte microbiologice.

3.4.2. Reguli pentru supravegherea personalului de laborator care manipulează microorganisme la Nivelul de biosiguranță 2

1. Este necesar un control medical înainte de angajare. Ar trebui înregistrate antecedentele personale medicale și evaluată starea de sănătate în relație cu factorul ocupațional.
2. Înregistrările privind îmbolnăvirile și absențele ar trebui păstrate de către șeful laboratorului.
3. Femeile de vârstă fertilă ar trebui informate cu privire la riscul expunerii fătului prin factor ocupațional la anumite microorganisme (ex. virusul rubeolic). Precauțiile pentru protejarea fătului variază în funcție de microorganismele la care pot fi expuse viitoarele mame.

3.5. Pregătirea personalului

Erorile umane și tehnica deficitară pot compromite și cele mai bune reguli și bariere de siguranță menite a proteja personalul laboratorului. Pe de altă parte, un personal conștient de exigențele impuse de regulile de siguranță, bine informat pentru recunoașterea și stăpânirea pericolelor din laborator, este

cheia prevenirii producerii acestor infecții, a incidentelor și accidentelor. În acest scop, instruirea continuă la locul de muncă privind măsurile de siguranță este esențială. Un program eficace de siguranță începe cu conducerea laboratorului, care trebuie să se asigure că practicile și procedurile de siguranță sunt integrate în instruirea de bază a salariaților. Instructajul în ceea ce privește măsurile de siguranță trebuie să fie parte integrantă a instruirii noilor salariați din laborator. Salariaților trebuie să li se prezinte codul de practici și reglementările locale, inclusiv manualul de siguranță și de operațiuni. Se vor lua măsuri care să demonstreze că salariații le-au citit și înțeles, spre exemplu, prin semnătură. Responsabilii laboratorului joacă un rol cheie în pregătirea personalului în ceea ce privește tehnicile corecte de laborator. Responsabilul cu biosiguranța poate să sprijine procesul de instruire prin punerea la dispoziție a unei documentații specifice și a altor mijloace ajutătoare (vezi Capitolul 21).

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

1. Riscul de inhalare (ex. producerea de aerosoli) cu ocazia folosirii anselor, înșământării plăcilor cu agar, pipetării, etalării frotiurilor, deschiderii recipientelor ce conțin culturi, recoltării de probe de sânge / ser, centrifugării, etc.
2. Riscul de ingerare, cu ocazia manipulării probelor, frotiurilor și culturilor.
3. Riscul de expunere percutană, prin folosirea seringilor și acelor.
4. Mușcături și zgârieturi în cazul manipulării animalelor.
5. Manipularea sângelui și a altor produse patologice potențial periculoase.
6. Decontaminarea și eliminarea materialelor infecțioase.

3.6. Manipularea deșeurilor

Se consideră deșeuri toate materialele care se aruncă.

În laboratoare, în desfășurarea activității cotidiene, decontaminarea deșeurilor și eliminarea finală a acestora sunt strâns legate. Un număr foarte mic de materiale contaminate necesită îndepărtarea efectivă din laborator sau distrugerea. Majoritatea sticlăriei, instrumentelor și articolelor de îmbrăcăminte sunt refolosite sau reciclate. Principiul general ce trebuie să funcționeze este că toate materialele infecțioase vor fi decontaminate, autoclavate sau incinerate în laborator.

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

1. Au fost obiectele sau materialele respective eficient decontaminate sau dezinfectate printr-o procedură autorizată?
2. Dacă nu, au fost ele ambalate într-un mod autorizat pentru incinerare imediată la fața locului sau pentru transfer într-o altă locație cu posibilități de incinerare?
3. Aruncarea obiectelor sau materialelor decontaminate implică eventual alte pericole adiționale, biologice sau de alt tip, pentru cei care îndeplinesc procedurile de eliminare sau care ar putea veni în contact cu obiectele eliminate în afara perimetrului respectiv?

3.6.1. Decontaminarea

Autoclavarea cu abur este metoda de elecție pentru toate procesele de decontaminare. Materialele care urmează să fie decontaminate și eliminate vor fi puse în containere adecvate (ex. saci

3. LABORATOARELE DE BAZĂ – NIVELELE DE BIOSIGURANȚĂ 1 ȘI 2

din plastic autoclavabil, cu coduri de culori care indică destinația conținutului acestora pentru autoclavare și/sau incinerare). Pot fi luate în considerație și metode alternative doar dacă acestea îndepărtează și/sau omoară microorganismele (pentru mai multe detalii vezi Capitolul 14).

3.6.2. Procedurile de manipulare și eliminare a materialelor contaminate și a deșeurilor

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

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

Obiectele ascuțite

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

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

Materiale contaminate (potențial infecțioase) destinate autoclavării și refolosirii

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

Materiale contaminate (potențial infecțioase) destinate eliminării

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

Recipiente de colectare, preferabil incasabile, trebuie plasate la fiecare punct de lucru. Când se folosește un dezinfectant, deșeurile materiale trebuie să rămână în contact direct cu acesta (ex. neprotejate de bule de aer) un interval de timp corespunzător, în conformitate cu instrucțiunile de folosire a dezinfectantului utilizat (vezi Capitolul 14). Containerele de colectare și transport vor fi decontaminate și spălate înainte de re folosire.

Incinerarea deșeurilor contaminate trebuie să se facă în conformitate cu prevederile autorităților de sănătate publică și de protecție a mediului, ca și cu normele de biosiguranță din laborator (vezi secțiunea despre incinerare în Capitolul 14).

3.7. Siguranța chimică, împotriva incendiilor, electrică, împotriva radiațiilor și a echipamentelor

O breșă/discontinuitate în sistemul de securizare al microorganismelor patogene poate fi rezultatul indirect al unor accidente chimice, incendii, accidente electrice sau legate de radiații.

Este esențială menținerea unor standarde ridicate de siguranță în aceste domenii, în orice laborator microbiologic. Reguli și regulamente de funcționare pentru toate aceste domenii trebuie elaborate de autoritatea națională sau locală competentă, al cărei sprijin trebuie solicitat în caz de necesitate. Pericolele chimice, electrice, de incendiu și cele radioactive sunt tratate mai detaliat în Capitolele 15-17.

4. Laboratorul securizat – Nivelul de Biosiguranță 3

Laboratorul securizat - Nivel de biosiguranță 3 este proiectat și echipat pentru lucrul cu microorganisme din Grupa de risc 3, și cu volume sau concentrații mari de microorganisme din Grupa de risc 2 care implică un risc de diseminare sub forma de aerosoli. Securizarea cu Nivel de biosiguranță 3 necesită întărirea programelor operaționale și de siguranță peste cele descrise pentru laboratoarele de bază - Nivel de biosiguranță 1 și 2 (vezi Capitolul 3).

Regulile descrise în acest capitol sunt prezentate sub forma de suplimentări la cele pentru laboratoarele de bază - Nivel de biosiguranță 1 și 2, care trebuie prin urmare aplicate înaintea celor specifice pentru laboratoarele securizate - Nivel de biosiguranță 3. Principalele adăugiri și modificări se referă la:

1. Codul de practici
2. Designul (concepția structurală și funcțională) și facilitățile laboratorului
3. Supravegherea stării de sănătate a personalului.

Laboratoarele din această categorie trebuie înregistrate la autoritățile naționale și regionale din domeniul sanitar.

4.1. Codul de practici

Se aplică codul de practici pentru laboratoarele de bază - Nivel de biosiguranță 1 și 2, excepție făcând situațiile unde apar modificări după cum urmează :

1. Sigla internațională de avertizare și inscripția « Pericol biologic » afișate pe ușile de acces, vor trebui să fie însoțite de menționarea nivelului de biosiguranță, de numele responsabilului din laborator ce controlează accesul, și să precizeze condițiile de intrare în acest perimetru (ex. imunizarea prealabilă).
2. Îmbrăcămintea de protecție de laborator trebuie să fie de tipul : halate care se închid la spate sau care se încheie prin înfășurare, costume sau salopete, bonete, iar acolo unde este necesar huse protectoare pentru încălțăminte sau încălțăminte specială. Nu sunt acceptate halatele de laborator cu nasturi în față sau cu mâneci scurte. Îmbrăcămintea de laborator nu trebuie purtată în afara acestuia și trebuie decontaminată înainte de spălare. Atunci când se lucrează cu anumiți agenți (ex. agenți zoonotici, patogeni vegetali), este obligatoriu să se înlocuiască îmbrăcămintea de stradă cu îmbrăcămintea de laborator, destinată exclusiv acestui scop.
3. Manipularea deschisă a tuturor materialelor potențial infecțioase trebuie să se execute în hote de siguranță biologică sau în orice altă incintă de izolare primară (vezi Capitolul 10).
4. Echipamentul de protecție respiratorie este necesar pentru anumite proceduri de laborator sau în cazul lucrului cu animale infectate cu anumiți patogeni (vezi Capitolul 11).

4.2. Designul și facilitățile laboratorului

Se aplică design-ul și facilitățile laboratorului de bază - Nivel de biosiguranță 1 și 2, cu următoarele modificări :

1. Laboratorul trebuie să fie separat de zonele cu trafic nerestricționat din clădire. O separare suplimentară se poate realiza prin plasarea laboratorului fie la capătul închis al unui coridor fie prin construirea unei separații și a unei uși, sau accesul printr-o anticameră (ex. intrarea printr-o ușă dublă sau printr-un laborator de bază - Nivel de biosiguranță 2), delimitând o zonă special proiectată pentru menținerea unei diferențe de presiune între spațiul laboratorului și spațiile adiacente acestuia. Anticamera trebuie să aibă facilități de separare a îmbrăcăminții curate de cea contaminată și, dacă este necesar, un duș.
2. Ușile anticamerei trebuie să se blocheze alternativ (recomandabil automat), astfel încât o singură ușă să fie deschisă la un moment dat. Se poate asigura o ieșire de siguranță pentru situațiile de urgență, reprezentată de un panou de sticlă ce se poate sparge la nevoie.
3. Suprafața pereților, a pardoselilor și tavanelor trebuie să fie rezistentă la apă și ușor de curățat. Deschiderile apărute în aceste suprafețe (ex. de trecerea țevilor instalațiilor), trebuie etanșeizate pentru a facilita decontaminarea încăperilor respective.
4. Camera laboratorului trebuie să poată fi închisă etanș pentru decontaminare. Sistemele de ventilație trebuie construite astfel încât să permită decontaminarea gazoasă.
5. Ferestrele trebuie să fie închise etanș și incasabile.
6. Lângă fiecare ușă de ieșire trebuie prevăzută o chiuvetă pentru spălarea mâinilor, a cărei sursă de apă să nu fie acționată cu mâna.
7. Trebuie să existe un sistem de ventilație care să mențină un flux de aer direcționat către interiorul laboratorului. Trebuie să fie instalat un sistem de monitorizare, cu sistem de atenționare vizuală cu sau fără alarmă, astfel încât personalul să se poată asigura că se menține direcționarea corectă a fluxului de aer spre interiorul laboratorului.
8. Sistemul de ventilație al clădirii trebuie construit astfel încât aerul din laboratorul securizat - Nivel de biosiguranță 3 să nu fie recirculat spre alte zone ale clădirii. Aerul poate fi filtrat prin filtre HEPA (High Efficiency Particulate Air), recondiționat și recirculat în interiorul laboratorului. Când aerul din laborator (altul decât cel din hotele de biosiguranță) este eliminat în afara clădirii, acesta trebuie evacuat la distanță de clădiri locuite sau de zonele de ventilație. În funcție de agentul biologic manipulat, aerul poate fi eliminat prin filtre HEPA. Se recomandă un sistem de control al încălzirii, ventilației și aerului condiționat (HVAC = heating, ventilation and air-conditioning), cu scopul prevenirii instalării unei presiuni pozitive în laborator. Se recomandă, de asemenea, instalații de alarmă sonoră sau vizuală care să atragă atenția personalului asupra defectării sistemului HVAC.
9. Toate filtrele HEPA trebuie instalate astfel încât să permită decontaminarea gazoasă și verificarea acestora.
10. Hotele de siguranță biologică trebuie amplasate la distanță de zona de circulație și în afara zonei de intersecție a curenților de aer formați între ușă și sistemul de ventilație (vezi Capitolul 10).
11. Evacuarea aerului din hotele de biosiguranță clasa I sau II (vezi Capitolul 10), trecut prin filtre HEPA, trebuie făcută astfel încât să se evite interferența cu fluxul aerian al hotei sau al sistemului de ventilație a clădirii.
12. Un autoclav pentru decontaminarea deșeurilor contaminate trebuie să fie disponibil în laboratorul securizat. Dacă pentru decontaminare și eliminare deșeurile infecțioase trebuie transportate în afara laboratorului securizat, ele vor fi transportate în containere sigilate, incasabile și etanșe la scurgeri, în conformitate cu regulamentele naționale sau internaționale, după caz.
13. Sistemul de aprovizionare cu apă trebuie prevăzută cu dispozitive anti-reflux.
14. Design-ul facilităților și procedurile operaționale pentru laboratoarele securizate – Nivel de biosiguranță 3 trebuie documentate (să constituie obiectul unor documente).

4. LABORATORUL SECURIZAT – NIVELUL DE BIOSIGURANȚĂ 3

Un exemplu de design pentru laboratorul de Nivel de biosiguranță 3 este prezentat în Figura 4.

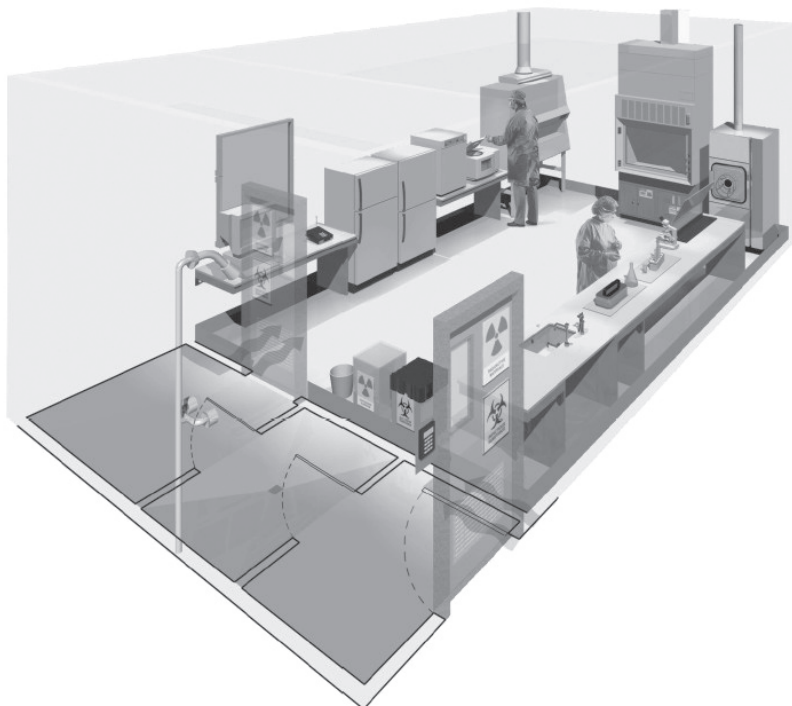


Figura 4. Laborator cu Nivel de biosiguranță 3.

(prin amabilitatea CUH2A, Princeton, NJ, USA).

Laboratorul este separat de traficul general și intrarea se face printr-o anticameră (intrare cu ușă dublă sau prin laboratorul cu nivel de biosiguranță 2) sau printr-un sas. Un autoclav pentru decontaminarea deșeurilor înainte de eliminarea este disponibil în interiorul laboratorului. O chiuvetă a cărei sursă de apă să nu fie acționată cu mâna este disponibilă. Fluxul de aer este direcționat spre interiorul laboratorului și toate activitățile cu materiale infecțioase se desfășoară în hotă de siguranță biologică.

Dotarea cu echipamente a laboratorului

Principiile pentru selectarea echipamentelor de laborator, inclusiv pentru hotele de siguranță biologică (vezi Capitolul 10), sunt aceleași ca pentru laboratoarele de bază – Nivel de biosiguranță 2. În orice situație, în cazul Nivelului de biosiguranță 3, manipularea tuturor materialelor potențial infecțioase trebuie să se facă într-o hotă de biosiguranță sau în altă incintă de izolare primară.

O atenție specială trebuie să se acorde anumitor echipamente, precum centrifuga, care necesită accesorii adiționale, de exemplu cuve sau rotoare etanșe. Unele centrifugi sau alte tipuri de echipamente, cum ar fi instrumentele folosite la separarea celulelor infectate, pot necesita în plus, pentru o securizare eficientă, o ventilație proprie de evacuare cu filtru HEPA.

4.3. Supravegherea stării de sănătate a personalului

Obiectivul programelor de sănătate și supraveghere a stării de sănătate a personalului pentru laboratoarele de bază - Nivel de biosiguranță 1 și 2 se aplică și în cazul laboratoarelor securizate - Nivel de biosiguranță 3 și 4, cu următoarele modificări :

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

1. Examenul medical al întregului personal care lucrează în laboratorul securizat - Nivel de biosiguranță 3 este obligatoriu. Acesta include înregistrarea detaliată a antecedentelor medicale și un examen medical ținut asupra aspectelor legate de factorul ocupațional.
2. O probă de ser se recoltează la angajare și se păstrează ca referință pentru comparații ulterioare.
3. După evaluarea clinică corespunzătoare, salariatului examinat i se va înmâna un card medical de notificare (ex. așa cum apare în Figura 5) care dovedește că acesta lucrează într-un laborator securizat - Nivel de biosiguranță 3. Cardul va cuprinde și o fotografie a posesorului cardului, va avea o mărime care să-i permită a fi purtat într-un portmoneu și se va afla în permanență în posesia acestuia.

A. Fața anterioară a cardului

CARD MEDICAL DE NOTIFICARE		
NUME _____	(Fotografia posesorului)	
_____	
PENTRU ANGAJAT		
Păstrați acest card asupra Dvs. În caz de boală febrilă neexplicată, prezentați acest card medicului Dvs. și anunțați pe unul dintre cei de mai jos, în ordine.		
_____	_____	_____
Dr.	Tel (serviciu):	Tel (acasă)
_____	_____	_____
Dr.	Tel (serviciu):	Tel (acasă)

B. Fața posterioară a cardului

PENTRU MEDIC		
Posesorul acestui card lucrează la: _____ într-o zonă unde se manipulează virusuri patogene, rickettsii, bacterii, protozoare sau helminți. În eventualitatea unei boli febrile inexplicabile, vă rugăm contactați angajatorul pentru informații asupra agenților patogeni la care acest angajat ar fi putut fi expus.		
Denumirea laboratorului: _____		
Adresa: _____		

Tel: _____		

Figura 5. Format recomandat pentru cardul medical de notificare

5. Laboratorul înalt securizat – Nivelul de Biosiguranță 4

Laboratorul înalt securizat – Nivel de biosiguranță 4 este destinat lucrului cu microorganisme din Grupa de risc 4. Înainte ca un asemenea laborator să fie construit și pus în funcțiune, sunt necesare consultări cu instituțiile care au experiența operării cu laboratoare similare. Aceste laboratoare trebuie să fie sub controlul autorităților naționale sau a altor autorități sanitare corespunzătoare. Pentru informații suplimentare, instituțiile ce își propun dezvoltarea unui laborator cu Nivel de biosiguranță 4, ar trebui să contacteze Programul O.M.S. de Biosiguranță¹.

5.1. Codul de practici

Se aplică codul de practici al Nivelului de biosiguranță 3, cu următoarele modificări:

1. Se aplică regula “lucrului în doi”, conform căreia se interzice desfășurarea activității de către o singură persoană în incinta laboratorului înalt securizat.
2. Este necesară schimbarea completă a îmbrăcămînții și încălțăminteii înainte de intrarea în și după ieșirea din laborator.
3. Personalul trebuie instruit pentru aplicarea procedurilor de scoatere de urgență din laborator a celor ce au suferit accidente sau sunt bolnavi.
4. Trebuie asigurate mijloace de comunicare de rutină și pentru situații de urgență, între personalul ce lucrează în laboratorul înalt securizat – Nivel de biosiguranță 4 și personalul ajutător, aflat în afara laboratorului.

5.2. Design-ul și facilitățile laboratorului

Caracteristicile laboratorului securizat - Nivel de biosiguranță 3 se aplică și în cazul laboratorului înalt securizat - Nivel de biosiguranță 4, cu următoarele adăugiri:

1. **Securizare primară.** Trebuie să existe un sistem eficient de securizare primară reprezentat de unul sau o combinație a următoarelor elemente:
 - *Laboratorul cu hotă de biosiguranță clasa III.* Este necesară trecerea prin minim două uși înainte de a intra în camera ce conține hota (hotele) de siguranță biologică clasa III (camera cu hote). În această configurație a laboratorului, hota de siguranță biologică clasa III asigură securizarea primară. Este de asemenea necesară existența unui duș pentru personal, cu camere de schimbare a îmbrăcămînții/încălțăminteii la intrare și ieșire. Materialele și consumabilele ce nu sunt aduse în camera cu hote prin zona de trecere vor fi introduse printr-un autoclav cu două uși sau printr-o cameră cu fumigație. Odată ce ușa exterioară a fost închisă etanș, personalul din laborator poate deschide ușa interioară pentru a trece materialele. Ușile autoclavului sau ale camerei de fumigație sunt prevăzute cu un sistem de blocare alternativă astfel încât ușa exterioară să nu se poată deschide decât dacă autoclavul a realizat un ciclu de sterilizare sau camera de fumigație a realizat un ciclu de decontaminare (vezi Capitolul 10).

¹ Biosafety programme, Department of Communicable Disease Surveillance and Response, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland (<http://www.who.int/csr/>).

- Laboratorul cu izolare în costum protector. Laboratorul cu izolare în costum protector cu sistem autonom de respirație (tip scafandru), diferă semnificativ ca design și facilități de laboratorul de Nivel de Biosiguranță 4 dotat cu hote de siguranță biologică clasa III. Camerele laboratorului cu izolare în costum protector sunt astfel dispuse încât să direcționeze trecerea personalului prin zona de dezechipare-echipare și decontaminare, înainte de a intra în spațiul unde se manipulează material infecțios.
Accesul în laboratorul cu izolare în costum protector se face printr-un sas cu uși etanșe interblocante.
Costumul de protecție “tip scafandru” este alcătuit dintr-o singură piesă, este presurizat pozitiv și alimentat cu aer printr-un filtru HEPA. Alimentarea cu aer a costumului se realizează printr-un sistem prevăzut cu două surse independente de aer, una fiind destinată cazurilor de urgență.
Trebuie să existe un duș special pentru decontaminarea costumului de protecție, care să fie folosit de personalul ce părăsește zona securizată a laboratorului.
De asemenea trebuie să existe un duș separat pentru personal, intercalat între camera (boxă) de dezbrăcare de hainele purtate în laborator și cea de îmbrăcare cu hainele purtate în spațiile din afara laboratorului.
Trebuie să se asigure o modalitate de avertizare a personalului ce lucrează în laboratorul cu izolare în costum protector pentru situațiile în care apar defecțiuni în sistemul mecanic sau de alimentare cu aer (vezi Capitolul 10).

2. Accesul controlat. Laboratorul înalt securizat – Nivel de Biosiguranță 4 trebuie să fie amplasat într-o clădire separată sau într-o zonă clar delimitată dintr-o clădire cu acces controlat. Intrarea și ieșirea personalului și a materialelor trebuie să se facă printr-un sas ce se închide etanș sau printr-un sistem special de acces. La intrare, personalul trebuie să își schimbe complet îmbrăcămintea, iar înainte de ieșire trebuie să facă un duș și abia după aceea va îmbrăca hainele de stradă.

3. Sistemul de control al aerului. În toate aceste incinte trebuie să se mențină o presiune negativă. Atât aerul introdus cât și cel evacuat trebuie filtrat printr-un filtru HEPA. Există diferențe semnificative între sistemele de ventilație ale laboratoarelor cu hote de biosiguranță clasa III și cele ale laboratoarelor cu izolare în costume protectoare:

- *Laboratorul cu hotă de biosiguranță clasa III.* Alimentarea cu aer a hotei de siguranță biologică clasa III trebuie să se facă cu aerul din cameră după ce acesta a fost filtrat în prealabil prin filtrul HEPA montat pe hotă sau furnizat direct prin sistemul de asigurare cu aer. Aerul evacuat din hota de siguranță biologică clasa III trebuie filtrat prin două filtre HEPA înainte de a fi eliminat în afara laboratorului. Presiunea aerului din interiorul hotei va fi întotdeauna inferioară celei din restul laboratorului. Laboratorul cu hote trebuie dotat cu un sistem de ventilație propriu care să nu recircule aerul.
- *Laboratorul cu izolare în costum de protecție.* Sunt necesare sisteme proprii de alimentare cu aer și evacuare a acestuia. Acestea sunt astfel echilibrate încât să genereze în spațiul laboratorului o circulație direcționată a aerului, dinspre zona cu cel mai mic spre cea cu cel mai mare pericol potențial. Sistemul de evacuare a aerului trebuie să asigure menținerea unei presiuni negative permanente în toate incintele. Se monitorizează presiunile diferențiale din interiorul laboratorului cu izolare în costum de protecție și dintre acesta și incintele adiacente. Se monitorizează circulația aerului în componentele sistemului de ventilație. De asemenea, va trebui să funcționeze un sistem de control pentru prevenirea creșterii presiunii în laborator. În zona unde este necesară purtarea costumului, în zona dușurilor de decontaminare, în sas-uri sau în camerele de decontaminare, aerul trebuie filtrat prin filtre HEPA. Aerul din laborator va fi filtrat printr-o serie de două filtre HEPA înainte de a fi eliminat

5. LABORATORUL ÎNALT SECURIZAT – NIVELUL DE BIOSIGURANȚĂ 4

În spațiul din afara laboratorului. Alternativ, după dubla filtrare prin filtre HEPA, aerul evacuat poate fi recirculat, dar numai în interiorul laboratorului. Aerul evacuat din laboratorul de Nivel de Biosiguranță 4 cu izolare în costum protector nu va fi sub nici un motiv recirculat în alte zone de lucru din afara laboratorului. Dacă se optează pentru recircularea aerului în laborator se impun precauții extreme. Se iau în considerare particularitățile cercetării desfășurate, caracteristicile echipamentului, ale substanțelor chimice și ale altor materiale folosite în acest tip de laborator, precum și speciile de animale folosite în timpul cercetării.

Toate filtrele HEPA trebuie să fie testate și certificate anual. Locașurile filtrelor HEPA sunt astfel concepute încât să permită decontaminarea *in situ* a filtrelor înainte de îndepărtarea lor. Ca alternativă, filtrele pot fi îndepărtate în containere sigilate, impermeabile pentru circulația aerului, urmând ca ulterior să fie decontaminate și/sau distruse prin incinerare.

4. **Decontaminarea efluenților.** Toți efluenții din zona de utilizare a costumului protector, din camera și dușul de decontaminare sau din hota de biosiguranță clasa III trebuie să fie decontaminați înainte de eliminarea finală. Metoda preferată este tratarea termică a acestora. Produsele reziduale pot necesita o corectare a pH-ului la neutru înainte de eliminare. Apa folosită pentru dușul personalului și toaletă poate fi evacuată direct în sistemul de canalizare, fără tratare prealabilă.
5. **Sterilizarea deșeurilor și materialelor.** Un autoclav cu două uși trebuie să fie accesibil din interiorul laboratorului. Trebuie să existe și alte metode de decontaminare pentru echipamentul și produsele ce nu suportă sterilizare umedă.
6. **Căi de acces prevăzute cu sas-uri** trebuie asigurate de asemenea pentru probe, materiale și animale.
7. Trebuie să existe **circuite electrice special destinate** de alimentare din rețea *precum și o sursă alternativă (generator) de energie electrică*.
8. Trebuie asigurate **sisteme de canalizare securizate**.

Având în vedere complexitatea ridicată din punct de vedere al proiectării, realizării construcției și instalațiilor specifice facilităților pentru Nivelul de biosiguranță 4, lucrarea de față nu cuprinde o reprezentare schematică a acesteia.

Datorită complexității ridicate a activității din laboratorul cu Nivel de biosiguranță 4, trebuie elaborat și testat prin exerciții de instruire un ghid detaliat de lucru. Suplimentar trebuie să fie conceput un program de acțiune pentru situațiile de urgență (vezi Capitolul 13). Pentru pregătirea acestui program, trebuie stabilite cooperări active cu autoritățile naționale și locale de sănătate. Vor fi cooptate alte servicii de urgență, de exemplu pompieri, poliție și spitale special desemnate pentru primirea eventualelor urgențe.

6. Biobazele

Personalul laboratoarelor care folosesc animale în scopuri experimentale și de diagnostic are obligația legală și morală de a evita producerea unor dureri sau suferințe inutile animalelor. Animalelor trebuie să le fie asigurat un adăpost igienic și confortabil și să li se ofere suficientă hrană de calitate și apă. La sfârșitul experimentului, animalele trebuie să fie tratate cu omenie.

Din motive de biosiguranță, biobaza trebuie să fie o unitate separată și independentă. Dacă biobaza funcționează în aceeași clădire cu laboratorul, aceasta trebuie să fie izolată de zona în care publicul are acces nerestricționat. De asemenea, biobaza trebuie să dispună de mijloace proprii și condiții adecvate pentru decontaminare și deparazitare.

În funcție de grupul de risc al microorganismelor manipulate, Biobazele pot fi clasificate în 4 niveluri de biosiguranță (Tabelul 4).

Tabel 4. Nivelele de securizare ale biobazelor - rezumat al practicilor și echipamentelor de biosiguranță

Grupul de risc (microorganisme)	Nivel de securizare în biobaza	Practici și echipamente de siguranță
1	1	<ul style="list-style-type: none">- acces limitat- îmbrăcăminte de protecție și mănuși
2	2	Practicile de la nivelul 1 plus : <ul style="list-style-type: none">- semne de avertizare asupra pericolului- HSB clasa I sau II pentru activitățile care generează aerosoli- decontaminarea reziduurilor și cuștilor înainte de spălare
3	3	Practicile de la nivelul 2, plus : <ul style="list-style-type: none">- acces controlat- HSB și haine de protecție speciale pentru toate activitățile
4	4	Practicile de la nivelul 3 plus : <ul style="list-style-type: none">- acces strict limitat- schimbarea hainelor înainte de intrare- HSB clasa III sau costume de protecție cu presiune pozitivă- duș la ieșire- decontaminarea tuturor deșeurilor înainte de evacuării

HSB (BSC, Biological Safety Cabinet): Hotă de siguranță biologică

În funcție de evaluarea riscului și de grupul de risc în care se încadrează agenții microbieni cu care se lucrează, biobazele, ca și laboratoarele, pot fi clasificate în patru categorii: Biobaza cu nivel 1, 2, 3 și 4 de biosiguranță.

În această clasificare, **factorii care țin de agenții microbieni investigați / utilizați** și care trebuie luați în considerare sunt:

1. Calea normală de transmitere
2. Volumele și concentrațiile de agenți microbieni utilizate
3. Calea de inoculare
4. Dacă și pe ce cale sunt excretați acești agenți

Factorii care țin de **animalele utilizate în laborator** și care trebuie luați în considerare sunt:

1. Comportamentul natural al animalelor (de exemplu: agresivitatea, tendința de a mușca și zgâria).
2. Ecto- și endoparaziții naturali ai animalelor
3. Infecțiile zoonotice la care sunt susceptibile
4. Diseminarea posibilă de alergeni.

Ca și în cazul laboratoarelor, cerințele de proiectare, construcție, echipament și precauții cresc în exigență în funcție de Nivelul de biosiguranță din biobază. Acestea sunt descrise detaliat mai jos și prezentate rezumativ în Tabelul 4. Aceste cerințe au un caracter **aditiv**, astfel încât fiecare nivel superior încorporează și cerințele nivelurilor inferioare.

6.1. Biobaza cu nivel de biosiguranță 1

Este destinată găzduirii și întreținerii majorității animalelor după carantinare (cu excepția primatelor, în privința cărora trebuie consultată legislația națională în materie) și a celor inoculate deliberat cu agenți microbieni din grupul de risc 1.

1. Se impune ca activitatea să răspundă cerințelor unor bune tehnici de microbiologie (GMT, Good Microbiological Techniques).
2. Responsabilul biobazei trebuie să stabilească regulile, procedurile și protocoalele pentru toate operațiunile și pentru accesul la vivarium.
3. Trebuie instituit un program adecvat de supraveghere medicală a personalului.
4. Trebuie redactat, aprobat și aplicat un manual de biosiguranță.

6.2. Biobaza cu nivel de biosiguranță 2

Este destinată lucrului cu animale inoculate cu microorganisme din grupul de risc 2. Se aplică următoarele precauții de siguranță:

1. Trebuie să fie îndeplinite toate cerințele de la nivelul de biosiguranță 1.
2. Semnele de avertizare asupra pericolului biologic trebuie să fie afișate pe uși și alte locuri potrivite (cuști, recipiente, etc) cu precizarea agenților infecțioși folosiți.
3. Biobaza trebuie astfel concepută încât să fie ușor de curățat și întreținut.
4. Ușile trebuie să se deschidă spre interior și să se închidă singure.
5. Încălzirea, ventilarea și iluminatul trebuie să fie corespunzătoare.
6. Dacă se instalează ventilație mecanică, aerul trebuie să circule spre interior. Aerul evacuat trebuie scos în exterior și nu trebuie să fie recirculat în nici o parte a clădirii.
7. Accesul va fi permis numai persoanelor autorizate.
8. În biobază trebuie admise numai animalele destinate uzului experimental.
9. Trebuie să existe un program de supraveghere și combatere a insectelor și rozătoarelor.
10. Dacă există ferestre, acestea trebuie să fie asigurate, incasabile, iar dacă se deschid, trebuie să fie prevăzute cu plase de protecție împotriva artropodelor.

6. BIOBAZELE

11. După lucru, suprafețele de lucru trebuie decontaminate cu dezinfectante eficiente (vezi Capitolul 14).
12. Vor fi prevăzute cu HSB (clasele I și II) sau/și cuști izolatoare cu circuit separat de alimentare cu aer și evacuare prin filtre HEPA pentru activitățile potențial generatoare de aerosoli.
13. Trebuie să existe un autoclav în biobază sau în imediata ei apropiere.
14. Materialele din așternutul animalelor trebuie să fie îndepărtate în așa fel încât să se reducă la minimum producerea de aerosoli și praf.
15. Toate dejectele, deșeurile și așternutul animalelor trebuie decontaminate înainte de evacuare.
16. Folosirea instrumentelor înțepătoare/tăietoare trebuie să fie restricționată la minimum posibil. Obiectele ascuțite trebuie colectate în containere rezistente, prevăzute cu capace, etichetate și tratate ca infecțioase.
17. Materialul destinat autoclavării sau incinerării trebuie să fie transportat asigurat în containere închise.
18. După folosire, cuștile animalelor trebuie decontaminate.
19. Cadavrele animalelor trebuie incinerate.
20. În incinta biobazei trebuie purtate echipamente de protecție care nu vor fi purtate în afara acesteia. Se vor folosi mănuși de protecție corespunzătoare.
21. Trebuie asigurate condiții pentru spălarea mâinilor. Personalul trebuie să se spele pe mâini înainte de părăsirea biobazei.
22. Toate rănirile, oricât de mici, trebuie raportate și înregistrate.
23. Se interzice în incinta biobazei: consumul de alimente și băuturi, fumatul și aplicarea de cosmetice.
24. Tot personalul trebuie instruit în mod corespunzător.

6.3. Biobaza cu nivel de biosiguranță 3

Acest nivel de biosiguranță se impune atunci când se lucrează cu animale inoculate deliberat cu agenți din grupul de risc 3 și/sau atunci când o evaluare a riscului impune acest lucru. Toate sistemele, practicile și procedurile trebuie să fie analizate și recertificate anual. Se aplică următoarele precauții de biosiguranță:

1. Trebuie să fie îndeplinite toate cerințele de la nivelurile de biosiguranță 1 și 2.
2. Accesul în biobază trebuie să fie controlat cu strictețe.
3. Biobaza trebuie separată de alte zone ale laboratorului sau ale adăpostului pentru animale printr-o cameră cu două uși (anticameră).
4. În anticameră trebuie să existe condiții pentru spălarea mâinilor.
5. În anticameră trebuie să existe, de asemenea, dușuri.
6. Trebuie să se prevadă un sistem de ventilație mecanică pentru a asigura un flux continuu de aer prin toate camerele. Aerul evacuat trebuie să treacă prin filtre HEPA înainte de a fi eliberat în atmosferă și nu va fi recirculat. Sistemul trebuie proiectat și realizat astfel încât să prevină inversări ale fluxului de aer și presurizări pozitive în oricare parte a biobazei.
7. Trebuie să existe un autoclav accesibil din zona securizată a biobazei. Deșeurile contaminate microbial trebuie autoclavate înainte de transferarea lor în alte zone ale biobazei.
8. Biobaza trebuie dotată cu un incinerator propriu permanent accesibil sau trebuie stabilite împreună cu autoritățile modalități alternative de evacuare a animalelor moarte în vederea incinerării.
9. Animalele infectate cu microorganisme din grupul de risc 3 trebuie adăpostite în cuști plasate în izolatoare sau în camere cu guri de ventilație plasate în spatele cuștilor.
10. Materialele utilizate pentru așternutul animalelor ar trebui, pe cât este posibil, să nu genereze praf.
11. Îmbrăcămintea de protecție purtată în incinta biobazei trebuie decontaminată înainte de spălare.
12. Ferestrele trebuie să fie închise etanș și rezistente la spargere.
13. Personalul care lucrează în biobază trebuie să fie imunizat corespunzător.

6.4. Biobaza cu nivel de biosiguranță 4

În mod firesc, activitatea în aceste biobaze este legată de cea din laboratoarele înalt securizate de nivel 4, iar reglementările naționale și regulamentele locale trebuie armonizate și aplicate în ambele locații unitar. Dacă activitățile trebuie să se desfășoare în laboratoare cu izolare în costume speciale tip scafandru vor fi elaborate și aplicate practici și proceduri adiționale care vor suplimenta prevederile descrise în Capitolul 5.

1. Trebuie îndeplinite toate cerințele pentru biobazele cu nivelurile de biosiguranță 1, 2 și 3.
2. Accesul trebuie să fie strict controlat; numai personalul desemnat de șeful biobazei poate avea acces.
3. Nu trebuie permisă activitatea individuală; trebuie aplicată regula accesului și lucrului în doi.
4. Personalul trebuie să fie foarte bine instruit în domeniul microbiologic și să fie avizat în privința pericolelor implicate de munca sa și a precauțiilor necesare.
5. Sectoarele destinate adăpostirii animalelor infectate cu microorganisme din grupul de risc 4 trebuie să respecte aceleași criterii de securizare descrise și aplicate pentru laboratoarele înalt securizate, nivel de biosiguranță 4.
6. Intrarea din sectorul curat în aria cu acces restricționat ale biobazei se va face printr-o anticameră-sas dotată cu facilități de schimbare a vestimentației și de duș.
7. La începutul zilei de lucru, personalul biobazei va schimba hainele de stradă cu echipament special de protecție. La plecare, echipamentul de lucru va fi dezbrăcat și autoclavat. Vestimentația de stradă va fi reluată după efectuarea prealabilă a unui duș.
8. Biobaza cu nivel 4 de biosiguranță trebuie ventilată printr-un sistem de exhaustare prevăzut cu filtre HEPA care asigură o presiune negativă în aria / incintele de risc (fluxul de aer este direcționat centripet, către ariile de risc maxim).
9. Sistemul de ventilație trebuie proiectat astfel încât să prevină inversările de sens ale fluxului de aer și presurizarea pozitivă în ariile de risc.
10. Schimbul de materiale dintre aria cu risc și restul facilității se va face printr-un autoclav cu dublu acces (transmural) având extremitatea curată într-o cameră din afara ariei restricționate.
11. Pentru transferul materialelor neautoclavabile, va fi prevăzută o modalitate de acces cu sas având extremitatea curată într-o cameră din afara ariei restricționate. Materialele contaminate nu vor părăsi aria de risc decât după un tratament adecvat de inactivare / sterilizare.
12. Toate manipulările de animale infectate cu microorganisme din grupul de risc 4 se vor efectua în condițiile prevăzute pentru laboratorul de înaltă securizare - cu nivel de biosiguranță 4.
13. Toate animalele vor fi adăpostite în izolatoare.
14. Materialele provenite din așternutul animalelor și dejectele vor fi autoclavate înainte de a fi evacuate din biobază.
15. Personalul biobazei va fi supravegheat medical.

6.5. Nevertebratele

Ca și în cazul vertebratelor, nivelul de biosiguranță al biobazei va fi determinat de grupul de risc al agenților investigați sau de rezultatul unei evaluări a riscului.

Nevertebratele folosite în scopuri experimentale în laboratoare sunt de obicei rezervoare sau vectori de patogeni, sau, așa cum se întâmplă în investigațiile ecologice și ambientale, pot fi infectate întâmplător cu patogeni ingerați odată cu hrana.

6. BIOBAZELE

În cazul unor artropode, în special al insectelor zburătoare sunt necesare următoarele precauții suplimentare.

1. Trebuie să se asigure încăperi separate pentru nevertebratele infectate și pentru cele care nu sunt infectate.
2. Încăperile trebuie să poată fi închise etanș atunci când se face dezinfecția prin fumigație.
3. Trebuie să existe la îndemână spray-uri cu insecticide.
4. Trebuie să fie asigurate instalații de răcire, pentru a reduce, acolo unde este necesar, activitatea nevertebratelor.
5. Accesul în complex trebuie să se facă printr-o anticameră având ușile prevăzute cu capcane pentru insecte și ecrane de protecție împotriva artropodelor.
6. Toate conductele de evacuare din sistemul de ventilație și ferestrele care pot fi deschise trebuie să fie prevăzute cu ecrane de protecție contra artropodelor.
7. Sifoanele de la chiuvete și cele din pardoseală nu trebuie lăsate niciodată să se usuce asigurând o "barieră umedă" pentru a preveni evadarea nevertebratelor.
8. Toate deșeurile trebuie decontaminate prin autoclavare, deoarece unele nevertebrate nu sunt omorâte de dezinfectanți.
9. Trebuie să fie menținută o evidență strictă a numărului de forme larvare și adulte de artropode zburătoare, târătoare și săritoare.
10. Containerele pentru căpușe și acarieni trebuie plasate în tăvi cu ulei.
11. Insectele zburătoare infectate sau potențial infectate trebuie să fie închise în cuști cu plasă dublă.
12. Artropodele infectate sau potențial infectate trebuie să fie manipulate pe platouri cu răcire (care le „amortesc”), plasate la rândul lor în hote de biosiguranță sau în izolatoare.

Pentru informații suplimentare, consultați referințele bibliografice 3-6.

7. Recomandări pentru calificarea laboratorului / facilităților acestuia

Calificarea laboratorului/facilităților acestuia poate fi definită ca un proces sistematic de examinare și documentare, ce demonstrează că elementele de structură ale laboratorului, precum și ale sistemelor și/sau componentelor de sistem au fost instalate, inspectate și testate din punctul de vedere al funcționării în concordanță cu standardele naționale și internaționale.

Laboratoarele concepute să corespundă Nivelelor de biosiguranță de la 1 la 4 au exigențe de calificare diferite, cu nivel crescător de complexitate. Condițiile geografice și climaterice, cum ar fi umiditatea sau temperaturile extreme, pot de asemenea influența structura laboratorului, și prin aceasta exigențele de calificare ale acestuia. Odată cu încheierea procesului de calificare, componentele semnificative de structură și sistemele anexă vor fi fost supuse operării în condiții variate inclusiv de lucru în condiții limită logic posibile, și abia după aceea vor fi fost aprobate.

Procesul de calificare și criteriile de acceptare vor trebui să fie stabilite încă din faza de concepție a proiectului de construcție sau renovare. Prin cunoașterea de la bun început a exigențelor calificării, arhitectii, inginerii, personalul însărcinat cu siguranța și cu evaluarea sănătății, precum și personalul laboratorului, vor putea înțelege mai bine performanțele ce trebuie atinse de laboratorul în cauză.

Procesul de calificare furnizează instituției și comunității în cadrul căreia funcționează, un grad mai mare de încredere în faptul că elementele de structură, sistemele electrice, mecanice, de canalizare, sistemele de izolare și decontaminare precum și sistemele de securitate și alarmă vor funcționa după cum au fost proiectate, asigurând manipularea securizată în laborator sau în biobază a oricărui microorganism potențial periculos.

Activitățile de calificare se realizează în general încă din faza de proiectare, continuându-se în timpul construcției și instalării laboratorului și a facilităților acestuia, precum și în perioada de garanție, care trebuie să acopere un an din momentul dării în folosință.

Agentul ce realizează calificarea acționează ca un avocat pentru instituția ce construiește sau renovează laboratorul și trebuie considerat ca un membru al echipei de concepție, implicarea lui încă de la începutul concepției proiectului fiind esențială. În unele situații, instituția poate acționa ca propriul său agent de calificare. În cazul unor facilități de laborator mai complexe (Nivel de biosiguranță 3 sau 4), instituția poate apela la serviciile unui agent de calificare din afara instituției, cu experiență demonstrată în realizarea cu succes a calificării laboratoarelor și biobazelor cu nivele complexe de biosiguranță. Când se apelează la un agent independent de calificare, instituția continuă să rămână și ea un membru al echipei de calificare. Se recomandă ca pe lângă agentul de calificare, din echipă să facă parte și responsabilul cu siguranța de la nivelul instituției, responsabilul de proiect, managerul programului și un reprezentant al serviciului tehnic de întreținere și intervenție.

În continuare este prezentată o listă a sistemelor laboratorului și a componentelor ce pot fi incluse în planul de calificare, pentru testarea funcționării corelată cu gradul de securizare a facilităților ce urmează a fi construite sau renovate. Lista nu este exhaustivă. În mod evident, planul efectiv de calificare trebuie să reflecte complexitatea laboratorului vizat.

1. Sisteme de automatizare ce aparțin clădirii, incluzând posibilitățile de monitorizare și control de la distanță
2. Sisteme electronice de supraveghere și detecție

3. Încuietori electronice de securitate și dispozitive de recunoaștere
4. Sisteme de încălzire, ventilație (alimentare și evacuare) și instalații de aer condiționat
5. Sisteme de filtrare HEPA
6. Sisteme de decontaminare a filtrelor HEPA
7. Sisteme de control ale încălzirii, ventilației, aerului condiționat, evacuării aerului și al sas-urilor
8. Etanșeitatea vanelor/robineților de aer
9. Sisteme de frig ale laboratorului
10. Generatoare de abur și apă caldă
11. Sisteme de protecție și alarmă contra incendiilor
12. Sisteme de prevenire a refulării apelor uzate
13. Sisteme de tratare a apei (ex. revers-osmoza, distilarea apei)
14. Sisteme de tratare și neutralizare a lichidelor rezultate din activități specifice
15. Sisteme de canalizare
16. Sisteme de decontaminare chimică
17. Sistem de asigurare cu diverse gaze utilizate în laborator
18. Sisteme de respirație autonomă
19. Sisteme de aer tehnic (vid, aer comprimat etc.)
20. Verificarea diferențelor de presiune în laboratoare și în zonele adiacente
21. Rețelele informatice locale și sistemele de date computerizate
22. Asigurarea cu electricitate din rețea
23. Surse alternative de electricitate pentru situații de avarie
24. Surse neîntreruptibile de electricitate (UPS)
25. Sisteme de iluminare în caz de avarie/urgență
26. Semnalizarea luminoasă a ieșirilor de urgență
27. Sisteme de etanșare acționate electric și mecanic
28. Rețeaua telefonică
29. Sistemul de control al interblocării ușilor sas-urilor
30. Etanșeizarea ușilor
31. Etanșeizarea ferestrelor și vizoarelor de siguranță
32. Ieșiri de urgență prin penetrarea barierelor
33. Verificarea integrității structurale a pavimentelor, pereților și tavanelor
34. Verificarea integrității straturilor protectoare ale pavimentelor, pereților și tavanelor
35. Funcționarea sistemelor de izolare și presurizare ale spațiilor ce înconjoară laboratorul înalt securizat - Nivel de biosiguranță 4
36. Hote de biosiguranță
37. Autoclave
38. Sisteme de azot lichid și alarmele aferente
39. Sisteme de detectare a scurgerilor de apă (ex. în cazul inundării zonelor securizate)
40. Dușuri de decontaminare și sisteme chimice adiționale
41. Dispozitive de spălare a cuștilor animalelor și de neutralizare a efluenților
42. Managementul deșeurilor

8. Recomandări pentru certificarea laboratorului/facilităților acestuia

Laboratoarele reprezintă un mediu complex și dinamic. În zilele noastre, laboratoarele de cercetări biomedicale și laboratoarele de diagnostic medical și cele de sănătate publică trebuie să se adapteze cu rapiditate la continua creștere a necesităților de sănătate ale populației și presiunilor acestora. Un exemplu în acest sens este reprezentat de necesitatea ajustării priorităților laboratoarelor astfel încât acestea să facă față provocărilor reprezentate de bolile infecțioase emergente și reemergente. Pentru a se asigura că acest proces de adaptare și menținere se realizează prompt și de o manieră corespunzătoare și sigură, atât laboratoarele de cercetări cât și cele medicale trebuie certificate cu regularitate. Certificarea laboratoarelor ajută la garantarea faptului că:

1. Se exercită un control tehnic corespunzător iar funcționarea este în concordanță cu caracteristicile proiectate
2. Există și se aplică un control administrativ adecvat al spațiilor și protocoalelor specifice
3. Echipamentul de protecție personală este corespunzător cu activitățile desfășurate
4. Decontaminarea reziduurilor și materialelor a fost concepută corespunzător și se aplică proceduri corecte de tratare și manipulare a deșeurilor
5. Se aplică proceduri corecte pentru siguranța generală a laboratorului, incluzând siguranța fizică, electrică și chimică.

Certificarea laboratoarelor diferă de activitățile de calificare a laboratoarelor (Capitolul 7) în câteva direcții importante. Certificarea laboratoarelor este un proces sistematic de examinare a tuturor caracteristicilor și proceselor cu relevanță pentru siguranța laboratorului (control tehnic, echipament de protecție individuală și control administrativ). Sunt de asemenea examinate practicile și procedurile de biosiguranță. Certificarea laboratorului este o activitate continuă de menținere a calității și siguranței, care se desfășoară planificat.

Activitățile de certificare a laboratoarelor pot fi conduse de personal adecvat instruit și de către specialiști din domeniul sănătății și biosiguranței. Instituțiile pot angaja personal cu pregătire corespunzătoare pentru efectuarea de audituri, activități de supraveghere și inspecție (acești termeni pot fi similari) asociate cu procesul de certificare. Instituțiile pot lua în considerare sau li se poate solicita să angajeze terți care să furnizeze aceste servicii.

Laboratoarele de cercetări biomedicale și cele medicale pot dezvolta instrumente de auditare, supraveghere sau inspecție pentru a asigura consistența procesului de certificare. Aceste instrumente trebuie să fie suficient de flexibile pentru a permite existența diferențelor fizice și procedurale dintre laboratoare, rezultate din tipul de activitate pe care o desfășoară fiecare laborator, dar în același timp să ofere o abordare unitară în cadrul instituției. Trebuie acordată atenție faptului ca aceste instrumente să fie folosite numai de către un personal instruit corespunzător, precum și faptului că ele nu reprezintă un substitut pentru evaluarea profesională a biosiguranței. Exemple ale unor asemenea instrumente sunt prezentate în Tabelele 5-7.

Informațiile rezultate în urma auditului, supravegherii sau inspecției trebuie discutate cu personalul laboratorului și cu conducerea. Se stabilesc responsabilități individuale pentru a se garanta că se aplică acțiuni corective pentru toate deficiențele identificate în procesul de audit. Certificarea laboratorului nu se va acorda și laboratorul nu va fi declarat funcțional până când nu vor fi fost tratate corespunzător toate deficiențele identificate.

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Complexitatea operațiilor laboratorului cu Nivel de biosiguranță 4 depășește scopul acestui ghid. Pentru mai multe detalii și informații, se poate consulta Programul O.M.S. de Biosiguranță¹ (vezi de asemenea Anexa 3).

¹ WHO Biosafety programme, Department of Communicable Disease surveillance and Response, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva, Switzerland (<http://www.who.int/csr/>)

8. RECOMANDĂRI PENTRU CERTIFICAREA LABORATORULUI / FACILITĂȚILOR ACESTUIA

Tabel 5. Laboratorul de bază – Nivel de Biosiguranță 1. Chestionar pentru evaluarea biosiguranței

Locație laborator:

Data:

Șef Laborator:

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Laborator				
Semnalizare adecvată pentru sursele de UV, laser, surse de radioactivitate, etc				
Ghid de Biosiguranță adecvat, accesibil și aplicat efectiv				
Inscripționare/marcare corectă a echipamentelor: risc infecțios, radioactivitate, toxicitate				
Proiectarea laboratorului				
Conceput pentru a fi ușor de curățat				
Comutator alternativ cu lumina pentru sursele de UV din încăperi, accesibil și din exterior				
Fixarea solidă a tuturor etajerelor / rafturilor				
Blaturile meselor sunt impermeabile pentru apă și rezistente la acizi, baze, solvenți organici și temperaturi ridicate				
Iluminare adecvată				
Existența unor spații de depozitare adecvate și corect utilizate				
Cilindri cu gaze				
Toți cilindrii cu gaze sunt păstrați în condiții de siguranță				
Cilindrii de rezervă sunt păstrați cu capacele de siguranță montate				
Gazele asfixiante și/sau periculoase sunt utilizate doar în incinte cu ventilație suplimentară				
Prezența în laborator de cilindri cu gaze supranumerari față de necesități și/sau cilindri goliți				
Substanțe chimice				
Substanțele chimice inflamabile sunt depozitate în încăperi special destinate acestora				
Substanțele generatoare de peroxizi sunt inscripționate cu data intrării și data deschiderii				
Substanțele chimice sunt păstrate separat, pe categorii				

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Substanțele chimice periculoase sunt depozitate la un nivel superior nivelului ochilor.				
Existența de substanțe chimice depozitate pe pardoseală				
Existența de containere cu substanțe chimice neacoperite				
Toate soluțiile sunt etichetate corect ?				
Se folosesc termometre cu mercur ?				
Frigidere / congelatoare/ camere frigorifice				
Sunt prezente în ele alimente pentru consum uman				
Materialele inflamabile se află numai în unități echipate anti-deflagrație				
Prezența etichetelor externe de avertizare pe echipamentele care conțin substanțe carcinogene, radioactive, toxice, și/sau elemente care implică pericol biologic.				
Camerele frigorifice sunt prevăzute cu dispozitive de siguranță care să permită deschiderea ușilor din interior				
Echipament electric				
Prezența de cabluri prelungitoare între echipament și priză				
Prize și aparate cu împământare și polaritate corecte				
Existența de conectări electrice în apropierea chiuvetelor, sub dușuri, etc				
Existența de echipamente cu cabluri electrice care prezintă semne de deteriorare				
Existența de prize sau conductori electrice suprasolicitați				
Existența de cabluri electrice montate pe pardoseală				
Existența de siguranțe electrice adecvate în circuite				
Prizele electrice plasate lângă surse de apă respectă reglementările naționale				
Existența de cabluri electrice cu împământare				
Existența de surse de încălzire electrice mobile în încăperi				

8. RECOMANDĂRI PENTRU CERTIFICAREA LABORATORULUI / FACILITĂȚILOR ACESTUIA

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Echipament de protecție individuală pentru personal				
Posibilitatea efectuării lavajului ocular în laborator				
Existența dușurilor de siguranță				
Echipament de protecție individuală disponibil : mănuși, halate, ochelari				
Purtarea corectă a echipamentului de protecție (halate, șorțuri, bonetă, etc)				
Echipamentul de protecție individuală nu este purtat în afara laboratorului				
Existența echipamentului de protecție individuală pentru activitatea de stocaj criogenic				
Managementul deșeurilor				
Existența de indicii care probează depozitarea incorectă a deșeurilor				
Deșeurile sunt sortate și depozitate în containere separate ?				
Existența de containere cu deșeuri chimice etichetate, marcate, datate și păstrate închise				
Containerele cu deșeuri chimice sunt manipulate și depozitate corect ?				
Containerele pentru obiecte înțepătoare/ tăietoare sunt utilizate și îndepărtate în mod corect ?				
Pardoseala nu prezintă urme de deșeuri				
Procedurile de îndepărtare a deșeurilor sunt afișate în laborator				
Programe de siguranță și sănătate ocupațională				
S-a făcut comunicarea riscului?				
Asigurarea protecției căilor respiratorii				
Asigurarea protecției auzului				
Monitorizarea formaldehidei				
Monitorizarea etilen dioxidului				
Monitorizarea gazelor anestezice				
Controale tehnice generale				
Fluxul de aer din laborator nu este orientat către celelalte sectoare de activitate, coridoare, oficiu, vestiar, birouri				
Există chiuvete și sifoane de pardoseală ce permit refularea aerului din canalizare ?				
Sunt disponibile chiuvete pentru spălarea mâinilor oriunde trebuie ?				

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Există componente mobile neprotejate ale echipamentelor ?				
Instalația de vid este prevăzută cu filtre și dispozitive care împiedică rupturile de vid (capcane de vid) la nivelul meselor de lucru ?				
Există pericol de reflux în rețeaua de alimentare cu apă ?				
Existența unor echipamente de distilare a apei în bună stare de funcționare				
Program activ și efectiv de control al rozătoarelor și artropodelor				
Practici și proceduri generale				
Se păstrează alimente pentru consumul uman în aria laboratorului ?				
Cuptoarele cu microunde din laborator sunt în mod clar etichetate: „Doar pentru uz de laborator. Este interzisă prepararea alimentelor!”				
Consumul de alimente și băuturi, fumatul, aplicarea de cosmetice în incinta laboratorului				
Recipientele de sticlă aflate sub presiune sunt protejate				
Este interzisă pipetarea cu gura				
Există și sunt folosite dispozitive mecanice de pipetare				
Îmbrăcămintea de protecție pentru laborator este păstrată separat de îmbrăcămintea de stradă				
Gospodărirea generală a laboratorului				
Existența unor recipiente de sticlă păstrate pe pardoseală				
Se constată erori evidente potențial periculoase				
Existența unor materiale absorbante curate disponibile la posturile de lucru				
Cioburile de sticlă sunt manipulate cu mijloace mecanice: perie, fâraș, pensă				
Protecția împotriva incendiilor				
Capetele de stropire (sprinklere) sunt libere și degajate				
Deschiderile din tavan, paviment, pereți sunt lăsate libere				
Există cabluri sau tubulaturi care trec prin spațiul deschiderii ușilor				
Lățime minimă de 1m a ușilor laboratorului				

8. RECOMANDĂRI PENTRU CERTIFICAREA LABORATORULUI / FACILITĂȚILOR ACESTUIA

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Depozitare de materiale peste conducte, hidranți sau instalația de semnalizare luminoasă				
Depozitarea în laborator a unor substanțe inflamabile în exces				
Băi termostatate				
Existența unor sisteme de oprire automată în caz de nivel prea scăzut al apei și/sau supraîncălzire				
Confecționate din materiale necombustibile				

Data auditului:.....

Nume, prenume auditor

.....

Semnătura

.....

Tabelul 6. Laboratorul de bază – Nivel de Biosiguranță 2. Chestionar pentru evaluarea Biosiguranței

Acest formular se folosește însoțit obligatoriu de formularul pentru evaluarea biosiguranței în Laboratorul de bază - Nivel de Biosiguranță 1 (vezi Tabelul 5)

Locație laborator:

Data:

Șef Laborator:

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Hota de Biosiguranță (HSB)				Locație: Marcă: Tip: Serie Nr.:
Certificare în ultimele 12 luni				
Suprafața HSB este curățată cu un dezinfectant adecvat după fiecare utilizare				
Grila frontală și filtrele de exhaustare sunt lăsate libere				
Se utilizează flacăra deschisă în interiorul hotei				
Liniile de vacuum sunt echipate cu filtre în serie și cu capcane cu dezinfectant				
Performanțele HSB sunt afectate de amplasarea hotei sau de curenți de aer				
HSB este utilizată ori de câte ori există riscul potențial de formare a aerosolilor				
Laboratorul				
Acces limitat / restricționat. Permise de a intra doar pentru personalul laboratorului				
Acces limitat doar pentru personalul avizat asupra tuturor pericolelor potențiale				
Sigla de Pericol biologic este afișată în mod corespunzător pe ușa laboratorului				
- Sigla este însoțită de înscrierea unor informații precise și actuale				
- Sigla și informațiile sunt lizibile și nedeteriorate				
Toate ușile sunt menținute închise				
Decontaminarea				
Decontaminanții utilizați sunt activi asupra agenților microbieni manipulați în laborator				
Toate accidentele și împrăștierea (stropiri, deversări) care implică material infecțios sunt raportate șefului de laborator				
Folosirea unor decontaminanți adecvați pentru neutralizarea materialului infecțios împrăștiat				
Suprafețele de lucru sunt decontaminate înainte și după fiecare procedură, zilnic și după fiecare împrăștiere accidentală				

8. RECOMANDĂRI PENTRU CERTIFICAREA LABORATORULUI / FACILITĂȚILOR ACESTUIA

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Manipularea deșeurilor contaminate				
Containerele pentru deșeuri potențial infecțioase sunt folosite corect				
Containerele pentru deșeuri potențial infecțioase nu sunt umplute până la refuz				
Containerele pentru deșeuri potențial infecțioase sunt corect etichetate și închise				
Culturile și deșeurile obișnuite sunt decontaminate corect înainte de evacuare				
Materialele care se decontaminează în afara laboratorului sunt transportate în containere etanșe, închise și rezistente, în concordanță cu procedurile locale și reglementările naționale				
Deșeurile mixte sunt decontaminate din punct de vedere biologic înainte de a fi eliminate ca deșeuri chimice și/sau radiologice				
Protecția personalului				
Personalul laboratorului este informat periodic asupra imunizărilor/testărilor corespunzătoare agenților microbieni manipulați				
Contactarea unor servicii medicale adecvate pentru examene de bilanț periodic, supraveghere și tratament pentru expunerile profesionale				
Materialele și echipamentele contaminate biologic se manipulează cu mănuși				
Protecția feței ori de câte ori se lucrează cu material contaminat biologic în afara hotelor de biosiguranță				
Spălarea mâinilor : - după îndepărtarea mănușilor - după lucrul cu agenți infecțioși - înainte de a părăsi laboratorul				
Sunt disponibili agenți antimicrobieni pentru un prim ajutor prompt				
Practici				
Utilizarea HSB ori de câte ori există riscul potențial de a fi generați aerosoli, respectiv împrăștiari accidentale				
Existența unui ghid de biosiguranță corect elaborat și aplicat				
Personalul citește, revede (cel puțin anual) și aplică instrucțiunile privind practicile și procedurile de laborator, inclusiv pe cele cuprinse în ghidul de biosiguranță				
Procedurile sunt aplicate în practică astfel încât să se reducă la minimum formarea de aerosoli și/sau de dispersii accidentale				

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Element evaluat	Da	Nu	NA	Observații
Pentru agenți infecțioși se utilizează seringi de unică utilizare și/sau seringi cu ac nedetașabil				
Cupele și rotoarele de centrifugă se deschid numai în HSB				
Probele biologice cu risc infecțios sunt transportate în afara HSB în containere autorizate și în acord cu reglementările de transport				
Facilități				
Există chiuvete pentru spălarea mâinilor lângă ieșirea din laborator				

Nume, prenume auditor

Data auditului :

.....

Semnătura

.....

8. RECOMANDĂRI PENTRU CERTIFICAREA LABORATORULUI / FACILITĂȚILOR ACESTUIA

Tabel 7. **Laboratorul securizat – Nivelul de Biosiguranță 3. Chestionar pentru evaluarea biosiguranței**

Acest formular se folosește însoțit obligatoriu de formularele pentru evaluarea biosiguranței în Laboratoarele de bază - Nivel de Biosiguranță 1 și 2 (Vezi Tabelele 5 și 6)

Locație laborator:

Data:

Șef laborator

Element evaluat	Da	Nu	N/A	Observații
Facilități				
Laboratorul este separat de circulația nerestricționată din restul clădirii				
Accesul controlat în laborator se face printr-o anticameră ale cărei uși se închid automat, fiind interconectate (nu se poate deschide decât o singură ușă la un moment dat)				
Toate căile de acces în laborator se pot închide etanș pentru decontaminare				
Aerul exhaustat nu este recirculat și este evacuat în exterior la distanță de spații locuite				
Există un sistem de ventilație controlat pentru monitorizarea direcționării fluxului de aer				
Protecția personalului				
În laborator se poartă halate închise la spate				
Echipamentul individual de protecție este purtat doar în incinta laboratorului				
Sunt disponibile chiuvete cu robinete automate sau manevrabile cu ajutorul pedalei / cotului				
Protecția mâinilor				
Sunt purtate câte două perechi de mănuși atunci când se manipulează material contaminat biologic, echipament potențial contaminat și la curățenia suprafețelor de lucru				
Protecția respiratorie				
Mijloace de protecție respiratorie sunt purtate de întreg personalul atunci când aerosolii nu sunt reținuți în siguranță de HSB				

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Practici				
Asigurarea protecției mucoaselor atunci când se lucrează cu material infecțios în afara HSB				
Personalul este instruit asupra pericolelor asociate cu manipularea anumitor agenți microbieni				
Personalului i se impune să citească și să urmeze toate instrucțiunile privitoare la practicile și procedurile din laborator, inclusiv cele din ghidul de biosiguranță				
Personalul este instruit anual și ori de câte ori apar modificări ale procedurilor				
Toate deșeurile contaminate microbial sunt autoclavate înainte de a fi îndepărtate				

Nume, prenume auditor.....

Data auditului:.....

Semnătura.....

9. Conceptul de biosecuritate în laborator

Ghidurile privind biosiguranța în laborator s-au concentrat în mod tradițional pe formularea de recomandări generale pentru protejarea celor care lucrează în laborator. Aceste ghiduri subliniau rolul practicilor corecte microbiologice, al echipamentelor de securizare, al unor facilități concepute, utilizate și întreținute corespunzător, al măsurilor administrative pentru reducerea riscului de accidente sau îmbolnăvirii personalului. Ca o consecință a acestui mod de abordare au fost neglijate riscurile pentru mediu și comunitate. În zilele noastre a apărut necesitatea extinderii conceptului tradițional de biosiguranță, prin includerea măsurilor de **biosecuritate în laborator**. Evenimentele produse la nivel mondial în trecutul recent subliniază necesitatea protejării laboratoarelor și a materialelor pe care acestea le dețin, pentru a nu putea fi utilizate intenționat împotriva sănătății populației și a faunei, a agriculturii sau a mediului. Înainte de a defini nevoile de biosecuritate ale laboratorului, este important să se înțeleagă deosebirea dintre noțiunile de “biosiguranță în laborator” și “biosecuritate în laborator”.

Conceptul de “biosiguranță în laborator” se folosește pentru a descrie principiile de securizare, tehnologiile și regulile ce trebuie urmate pentru a preveni expunerea neintenționată la agenți patogeni și toxine sau eliberarea lor accidentală în mediu.

Conceptul de “biosecuritate în laborator” se referă la măsuri de securitate luate la nivel instituțional și personal cu scopul prevenirii diversunilor/atentatelor sau a eliberării intenționate de patogeni sau toxine precum și pentru prevenirea pierderii, furtului sau folosirii greșite a acestora.

Practicile eficiente de biosiguranță stau de fapt la baza măsurilor de biosecuritate în laborator. Prin evaluarea riscului, realizat ca parte integrantă a programului de biosiguranță al instituției, se obțin informații despre tipurile de microorganisme manipulate, localizarea lor fizică, personalul care solicită acces la ele și se identifică persoanele responsabile pentru păstrarea lor. Aceste informații pot fi utilizate pentru a aprecia dacă o instituție posedă material biologic ce poate prezenta interes pentru cei ce doresc a-l utiliza în mod impropriu.

Pentru fiecare sector din laborator trebuie elaborat și aplicat un program specific de biosecuritate în acord cu caracteristicile facilității respective, cu tipul de activitate desfășurată și cu condițiile locale. În consecință, măsurile de biosecuritate în laborator trebuie să fie reprezentative pentru variatele necesități ale instituției și ar fi de dorit să cuprindă și contribuții din partea directorului științific, a responsabilului cu biosiguranța, a personalului științific al laboratorului, a personalului de întreținere, a personalului responsabil cu tehnologia informației și a consilierilor juridici și personalului de securitate, dacă este cazul.

Măsurile de biosecuritate în laborator trebuie să se bazeze pe un program cuprinzător de inventariere a agenților patogeni și a toxinelor, incluzând o evidență la zi ce va cuprinde și locul de stocare, identificarea personalului ce are acces la acestea, descrierea utilizării lor, documentarea transferului intern (în și între diferitele sectoare ale laboratorului) și extern, precum și orice inactivare și/sau eliminare de materiale. De asemenea, trebuie stabilit la nivel instituțional un protocol de biosecuritate în laborator pentru identificarea, raportarea, investigarea și remedierea breșelor din sistemul de biosecuritate al laboratorului, incluzând și eventualele neconcordanțe rezultate din activitatea de inventariere. Implicarea, rolurile și responsabilitățile autorităților de sănătate publică și ale celor de securitate în cazul unei infracțiuni de biosecuritate trebuie să fie clar definite.

Întregul personal trebuie instruit în domeniul biosecurității în laborator, instruire distinctă de cea din domeniul biosiguranței. Această instruire trebuie să ajute personalul să înțeleagă necesitatea de protecție pentru astfel de materiale și raționamentul pe care se bazează măsurile specifice de biosecuritate și trebuie să includă o trecere în revistă a standardelor naționale relevante și a procedurilor specifice ale

instituției. De asemenea, în cursul instruirii trebuie prezentate proceduri ce descriu rolul și responsabilitățile personalului în cazul producerii unei infrațiuni de biosecuritate.

Un element central în cadrul măsurilor eficiente de biosecuritate în laborator, îl constituie, de asemenea, compatibilitatea profesională și etică de a lucra cu patogeni periculoși a tuturor persoanelor autorizate a avea acces regulat la materialele cu regim special.

În rezumat, precauțiile de biosecuritate trebuie să devină parte a activităților de rutină din laborator, chiar dacă se aplică tehnici aseptice sau alte practici microbiologice sigure. Măsurile de biosecuritate în laborator nu trebuie să stânjenească schimbul eficient de materiale de referință, probe clinice și epidemiologice și nici circulația informațiilor adiacente necesare pentru bunul mers al investigațiilor clinice și de sănătate publică. Managementul competent al biosecurității nu trebuie să interfere în mod nepotrivit cu activitatea de zi cu zi a personalului științific sau să fie un impediment în desfășurarea cercetărilor. Trebuie păstrat accesul legitim la materialele importante pentru cercetare și diagnostic. Evaluarea compatibilității personalului, instruirea specifică în materie de biosecuritate și respectarea procedurilor de protecție față de agenți patogeni constituie mijloace de creștere a nivelului de biosecuritate a laboratorului. Toate aceste eforturi trebuie inițiate și menținute prin evaluări periodice ale riscurilor și ale amenințărilor și printr-o revizuire și actualizare regulată a procedurilor. Trebuie verificată corespondența acestor proceduri și instrucțiuni cu standardele naționale privind biosecuritatea laboratorului.

10. Hotele de siguranță biologică¹

Hotele de siguranță biologică (HSB) sunt destinate a proteja operatorul, mediul din laborator și materialele de lucru față de expunerea la aerosoli și picături care se pot produce în cursul manipulării materialelor conținând agenți infecțioși, cum ar fi culturile primare, tulpinile de colecție și probele de diagnostic. Aerosolii sunt produși de orice activitate care determină apariția de miniparticule sau stropi de material lichid sau semilichid, cum ar fi agitarea, turnarea, amestecarea sau picurarea unui lichid pe o suprafață sau într-un alt lichid. Activitățile de laborator precum însămânțarea plăcilor de agar prin efectuarea de striuri paralele, inocularea flacoanelor de culturi de celule cu o pipetă, folosirea unei pipete mono- sau multicanal pentru a distribui suspensii de agenți infecțioși în plăci de microcultură, efectuarea de diluții în tuburi sau plăci, omogenizarea și agitarea prin producerea de vârtej a materialelor infecțioase, centrifugarea lichidelor contaminate sau manipularea animalelor, pot genera aerosoli infecțioși. Particulele de aerosoli cu diametrul sub 5 μm și picăturile mici, cu diametrul de 5-100 μm nu sunt vizibile cu ochiul liber. Tehnicianul de laborator nu este, în general, avertizat asupra formării acestor particule și asupra faptului că ele pot fi inhalate sau pot contamina suprafețe și materiale. HSB, folosite corect, sunt foarte eficiente în reducerea frecvenței infecțiilor dobândite în laborator, evită contaminarea încrucișată a culturilor prin expunere la aerosoli și protejează mediul.

Tabelul 8. Alegerea unei HSB în funcție de tipul de protecție dorit.

TIP DE PROTECȚIE	HSB INDICATĂ
Protecția personalului față de microorganisme din Grupurile de Risc 1-3	Clasa I, Clasa II, Clasa III
Protecția personalului față de microorganisme din Grupul de Risc 4, manipulare din exterior, prin panou cu mănuși	Clasa III
Protecția personalului față de microorganisme din Grupul de Risc 4, <i>laborator cu izolare în costum protector (tip scafandru)</i>	Clasa I, Clasa II
Protecția produselor	Clasa II, Clasa III cu flux laminar
Protecția față de radionuclizi volatili și protecție chimică, expunere de ordinul minutelor	Clasa II B1, Clasa II A2 cu evacuare spre exterior
Protecție față de radionuclizi volatili și protecție chimică	Clasa I, Clasa II B2, Clasa III

De-a lungul anilor, concepția clasică a HSB a suferit numeroase modificări. O modificare majoră a constat în adăugarea unui filtru de înaltă eficiență pentru particulele din aer (HEPA - *High Efficiency Particulate Air*) la sistemul de evacuare. Filtrul HEPA reține 99,97% din particulele cu diametrul de 0,3 μm și 99,99% din particulele cu dimensiuni mai mari sau mai mici. În acest fel, filtrul HEPA are capacitatea de a reține eficient toți agenții infecțioși cunoscuți și de a asigura evacuarea din hotă a unui aer complet

¹ Denumiri echivalente : cabinet (incintă) de siguranță biologică - BSC (BioSafety Cabinet) sau post de securitate microbiologică - PSM (poste de sécurité microbiologique)

purificat de ori ce fel de microbi. A doua modificare de concepție a constat în direcționarea aerului filtrat prin HEPA către suprafața de lucru, protejând-o pe aceasta și materialele cu care se lucrează. Această caracteristică este frecvent denumită protecția produsului. Aceste modificări au dus la apariția a trei clase de HSB. Tipul de protecție conferit de fiecare dintre ele este specificat în Tabelul 8.

Nota: Hotele cu flux de aer orizontal sau vertical ("încinte de lucru cu aer purificat") nu sunt de fapt HSB și nu trebuie folosite în locul acestora.

10.1. HSB de Clasa I

Figura 6 conține o prezentare schematică a HSB de Clasa I. Aerul din încăpere este preluat printr-o deschizătură frontală cu o viteză minimă de 0,38m/s, trece pe deasupra suprafeței de lucru și este evacuat din hotă prin conducta de evacuare. Fluxul de aer direcționat dinspre operator către conducta de evacuare îndepărtează particulele de aerosoli care pot fi generate la nivelul suprafeței de lucru. Deschizătura frontală permite operatorului să ajungă cu mâinile la suprafața de lucru din interiorul hotei și, în același timp, el poate să vadă această suprafață printr-un panou frontal transparent. Acest panou poate fi la rândul său ridicat complet pentru a permite accesul la suprafața de lucru în scopul curățării sau în alte scopuri.

Aerul din hotă este evacuat printr-un filtru HEPA: (a) în laborator și apoi în exterior prin sistemul de aerisire al clădirii; (b) către exterior prin sistemul de evacuare a aerului din clădire; sau (c) direct în exterior. Filtrul HEPA poate fi amplasat fie în sistemul de evacuare al HSB fie în cel al clădirii. Unele HSB de Clasa I sunt echipate cu un ventilator propriu de evacuare, în timp ce altele folosesc ventilatorul sistemului de evacuare a aerului din clădire.

HSB de Clasa I a fost prima HSB recunoscută ca atare și, datorită concepției sale constructive simple, este încă larg folosită în întreaga lume. Ea prezintă avantajul de a conferi protecție personalului și mediului, dar poate fi folosită și pentru lucrul cu radionuclizi și substanțe chimice toxice volatile. Deoarece aerul nesterilizat din încăpere pătrunde peste suprafața de lucru prin deschizătura frontală, hota nu asigură protecția produsului.

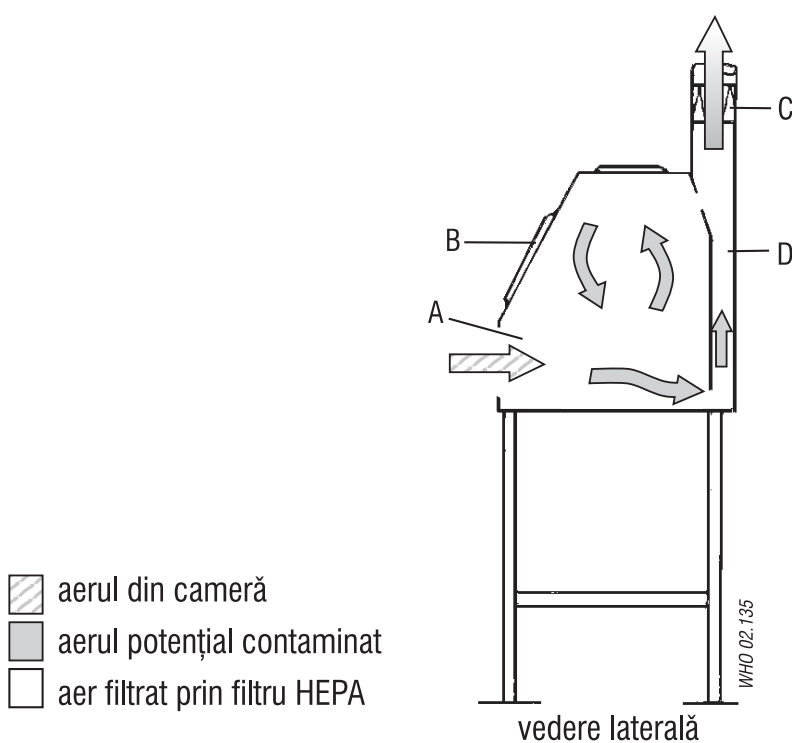


Figura 6. **Reprezentare schematică a HSB de Clasa I**

A: deschizătura frontală; B: panou frontal transparent; C: filtru HEPA de evacuare; D: spațiul de evacuare.

10.2. HSB de Clasa II

Pe măsură ce s-a extins utilizarea culturilor de celule și țesuturi în scopul cultivării virusurilor sau pentru alte scopuri, s-a ajuns la concluzia că nu este admisibil ca aerul nesteril din încăperea să ajungă pe suprafața de lucru. HSB de Clasa II au fost concepute nu numai pentru a proteja personalul, ci și pentru a proteja materialele de pe suprafața de lucru de aerul contaminat din încăperea. HSB de Clasa II, cu cele patru tipuri (A1, A2, B1 și B2), diferă de cele de clasa I prin faptul că permit doar accesul unui aer steril, filtrat prin filtre HEPA, la nivelul suprafeței de lucru. HSB de clasa II poate fi utilizată atunci când se lucrează cu agenți infecțioși din Grupurile de Risc 2 și 3. HSB de Clasa II pot fi folosite în cazul lucrului cu agenți infecțioși din Grupul de Risc 4 doar dacă se folosesc costume de izolare cu presiune pozitivă (tip scafandru).

- **HSB de Clasa II tipul A1**

HSB de Clasa II tip A1 este prezentată în Fig. 7. Un ventilator intern absoarbe aer din încăperea (aer de alimentare) în interiorul hotei prin deschizătura frontală și apoi prin grilajul de captare frontal. Viteza de pătrundere a aerului trebuie să fie de cel puțin 0,38 m/s la nivelul deschizăturii frontale. Apoi, aerul de alimentare trece printr-un filtru HEPA de alimentare, urmând să fie trimis în jos, către suprafața de lucru. Pe măsură ce coboară, fluxul de aer se desparte la aproximativ 6-18 cm deasupra suprafeței de lucru, jumătate din flux trecând prin grilajul frontal de evacuare și jumătate prin grilajul posterior de evacuare. Toate particulele de aerosoli generate la nivelul suprafeței de lucru sunt imediat captate de fluxul descendent de aer, care trece apoi prin grilajele de evacuare frontal și posterior, oferindu-se astfel cel mai înalt nivel de protecție a produselor. Aerul este apoi descărcat prin conducta comună posterioară în spațiul dintre filtrele de alimentare și de evacuare, plasate în partea superioară a hotei. Datorită diferenței de mărime dintre aceste filtre, aproximativ 70% din fluxul de aer este recirculat prin filtrul de alimentare, pentru a ajunge înapoi în zona de lucru; restul de 30% trece prin filtrul de evacuare pentru a ajunge în încăperea de lucru sau la exterior.

Aerul din HSB de Clasa II A1 poate fi recirculat către încăperea sau evacuat către exteriorul clădirii, prin conectare etanșă fie la o conductă special destinată, fie la sistemul general de evacuare a aerului din clădire.

Recircularea aerului de evacuare în încăperea de lucru prezintă avantajul reducerii costurilor de încălzire ale clădirii, deoarece aerul cald sau rece din încăperea nu trece în mediul extern. Conectarea la un sistem de conducte de evacuare permite, de asemenea, folosirea unor asemenea HSB în cazul lucrului cu radionuclizi volatili și cu substanțe chimice toxice volatile (Tabelul 8).

- **HSB de Clasa II tip A2 ventilate către exterior, tip B1 și tip B2**

HSB de Clasa II tip A2 ventilate către exterior, tip B1 (Fig.8) și tip B2 - sunt variante ale tipului IIA1, iar caracteristicile lor, precum și cele ale HSB de Clasa I și de Clasa III, sunt prezentate în Tabelul 9. Fiecare variantă de HSB este adecvată utilizării în scopuri specializate (vezi Tabelul 8). Aceste HSB diferă între ele prin mai multe aspecte:

- viteza de pătrundere a aerului prin deschizătura frontală;
- cantitatea de aer recirculată la nivelul suprafeței de lucru și eliminată din hotă;
- sistemul de evacuare, care poate elimina aerul din hotă către încăperea sau către exterior, printr-un sistem de evacuare special destinat sau prin sistemul general de evacuare a aerului din clădire;
- caracteristicile de presiune (conductele contaminate biologic și spațiul de evacuare sunt fie sub presiune negativă, fie înconjurate de alte spații și conducte sub presiune negativă).

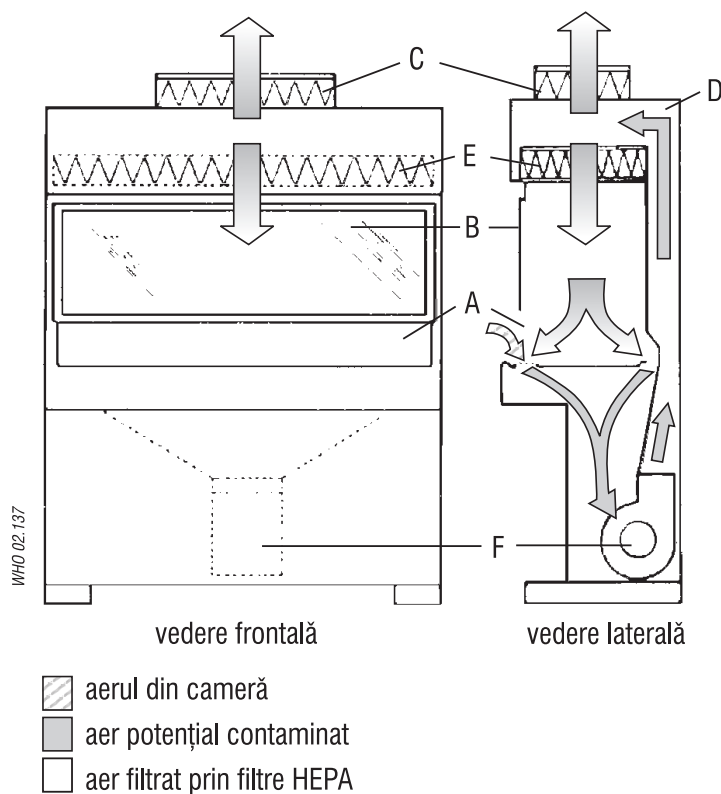


Figura 7. Reprezentare schematică a unei HSB de Clasa II A1

A: deschizătura frontală; B: panou frontal transparent mobil; C: filtrul HEPA de evacuare; D: conducta comună posterioară; E: filtrul HEPA de alimentare; F: ventilator suflant.

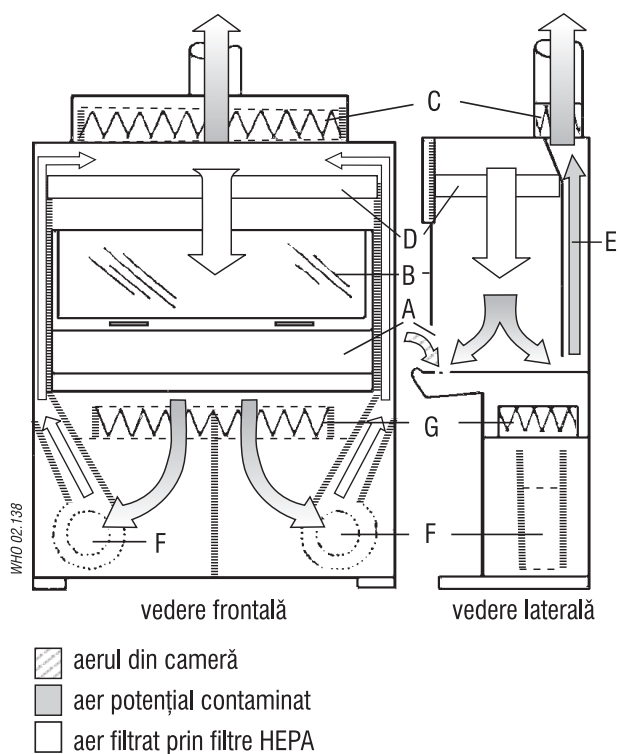


Figura 8. Reprezentare schematică a unei HSB Clasa II tip B1

A=deschiderea frontală, B=panoul frontal transparent, C=filtrul HEPA de evacuare, D=filtrul HEPA de alimentare, E=spațiul de evacuare cu presiune negativă, F=ventilatoare, G=filtrul HEPA de alimentare. Este necesară conectarea evacuării HSB la sistemul general de evacuare a aerului din clădire.

10. HOTELE DE SIGURANȚĂ BIOLOGICĂ

Descrierea completă a diferitelor HSB de Clasa II A și B poate fi obținută consultând referințele bibliografice (7) și (8) precum și cărțile tehnice ale echipamentelor.

Tabelul 9. Diferențe între HSB de Clasa I, II și III

HSB	Viteza de intrare m/s	% de aer		Sistem de evacuare
		recirculat	evacuat	
I*	0,36	0	100	conductă rigidă
IIA1	0,38 – 0,51	70	30	spre încăpere sau prin conductă specială
IIA2 cu ventilare spre exterior *	0,51	70	30	spre încăpere sau prin conductă specială
IIB1*	0,51	30	70	conductă rigidă
IIB2*	0,51	0	100	conductă rigidă
III*	nu se aplică**	0	100	conductă rigidă

* Toate conductele contaminate sunt sub presiune negativă sau sunt înconjurate de alte conducte sau spații cu presiune negativă

** Panoul frontal cu mănuși este fixat în deschizătura frontală.

10.3. HSB de Clasa III

Acest tip de hotă (Fig.9) oferă cel mai înalt nivel de protecție a personalului și este folosit, în special, pentru lucrul cu agenți din Grupul de Risc 4. Orice comunicare între interiorul și exteriorul hotei este blocată în ambele sensuri, printr-un sistem etanș. Aerul de alimentare este filtrat HEPA (devenind astfel steril), iar aerul evacuat trece prin două filtre HEPA succesive pentru decontaminare. Fluxul de aer este menținut printr-un sistem de ventilație special conceput, amplasat la exteriorul hotei, care menține interiorul hotei sub presiune negativă (de aproximativ 124,5 Pa). Accesul la suprafața de lucru se face prin intermediul unor mănuși de cauciuc foarte rezistente, care fac corp comun cu un panou frontal fixat etanș.

HSB de Clasa III trebuie să aibă atașat un compartiment de trecere, sterilizabil și echipat cu filtre HEPA de evacuare, prin care se scot obligatoriu toate materialele care s-au introdus și s-au găsit în hotă în timpul lucrului în vederea sterilizării lor. Hota poate fi conectată la un autoclav cu două uși, pentru a decontamina toate materialele care sunt introduse sau scoase din hotă. Panoul frontal poate fi prevăzut cu mai multe perechi de mănuși pentru a extinde suprafața de lucru. HSB de Clasa III sunt recomandate pentru lucrul în laboratoarele cu Nivel de Biosiguranță 3 și 4.

10.4. Conexiunile pentru evacuarea aerului din hota de siguranță biologică.

Hotele de siguranță biologică de Clasa II tip A1 și tip A2 conectate către exterior sunt prevăzute cu un tub flexibil de tip "manșon" sau cu un "capișon" (ca tubul/conducta de evacuare de la hota de bucătărie), în care este presiune negativă. Acesta este fixat pe traiectul de evacuare al hotei și conduce aerul din hotă, decontaminat prin filtrare HEPA, spre conductele generale de evacuare a aerului din clădire. Între manșon și traiectul de evacuare al hotei se păstrează o mică fantă de 2,5 cm diametru. Această mică deschizătură permite și absorbția aerului din încăpere către sistemul de evacuare a aerului din clădire. Capacitatea sistemului de evacuare a aerului din clădire trebuie să fie suficientă pentru eliminarea atât a aerului din cameră, cât și a aerului din HSB. Manșonul de conexiune trebuie să fie ușor de scos sau să fie conceput în așa fel încât să permită efectuarea testelor operaționale asupra hotei.

În general, funcționarea unei HSB conectate prin manșon nu este influențată prea mult de fluctuațiile fluxului de aer din clădire.

HSB de Clasa II tip B1 și tip B2 sunt prevăzute cu conducte de evacuare rigide, de tipul celor conectate etanș, (fără nici o deschizătură), la sistemul de evacuare al aerului din clădire sau, mai bine, la un sistem de evacuare special destinat, cu presiune negativă. Sistemul de evacuare al aerului din clădire trebuie să fie perfect adaptat la cerințele de flux specificate de producător, referitoare la volum, precum și la presiunea statică. Certificarea unei HSB cu conductă rigidă necesită mai mult timp de lucru decât cea a unei HSB care recirculă aerul din încăperea sau care are conexiune prin manșon deoarece trebuie validată și etanșizarea perfectă.

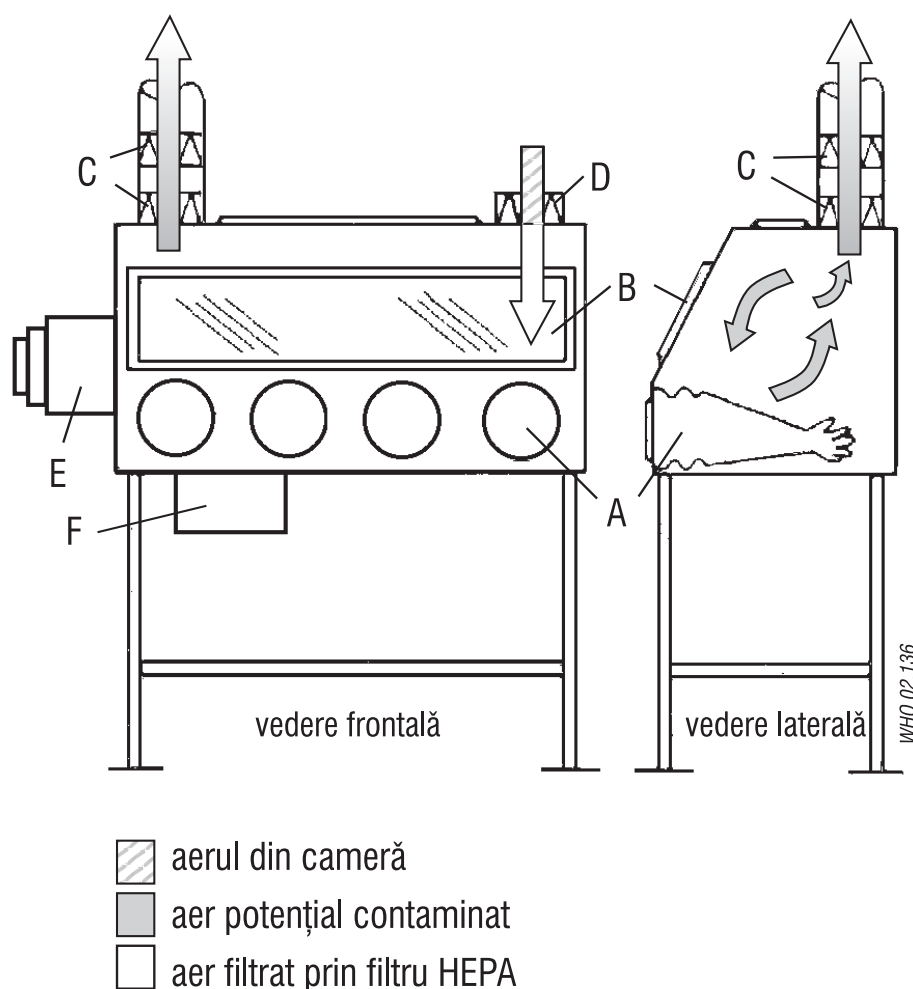


Figura 9. **Reprezentare schematică a unei HSB de Clasa III (panou frontal cu mănuși):**

A: găuri pentru montarea de mănuși de lungimea brațelor; B: panou frontal transparent;

C: filtre HEPA duble pentru evacuare; D: filtru HEPA de alimentare cu aer;

E: autoclav cu două intrări sau compartiment de trecere; F: container (tanc) pentru deșeuri chimice.

Se impune conectarea sistemului de evacuare al hotei la un sistem independent de cel de evacuare a aerului din clădire.

10.5. Alegerea unei hote de siguranță biologică

HSB trebuie aleasă, în primul rând, în funcție de tipul de protecție necesar: protecția produselor, protecția personalului față de microorganisme din Grupurile de Risc 1-4 și față de expunere la radionuclizi și substanțe chimice toxice/volatile sau o combinație a acestora, precum și protecția mediului înconjurător. Tabelul 8 arată care HSB este recomandată pentru fiecare tip de protecție.

10. HOTELE DE SIGURANȚĂ BIOLOGICĂ

Substanțele chimice toxice sau volatile nu trebuie manipulate în HSB care recirculă aerul de evacuare prin încăperea, cum ar fi cele de Clasa I care nu au conducte de comunicare cu sistemul de evacuare al clădirii, sau cele de Clasa II tip A1 sau tip A2. HSB de Clasa II tip B1 sunt acceptabile pentru lucrul timp de câteva minute cu radionuclizi și substanțe toxice/volatile. Hotele de Clasa II tip B2, numite și hote cu evacuare completă, se impun atunci când se manipulează radionuclizi și substanțe chimice volatile în cantități mari.

10.6. Folosirea HSB în laborator

- **Amplasarea**

Viteza de intrare a fluxului de aer prin deschizătura frontală în HSB este de aproximativ 0,45 m/s. La această viteză, fluxul de aer direcționat își menține cu greu integritatea și poate fi întrerupt de către curenții de aer generați de mișcările persoanelor în jurul HSB, de ferestrele deschise, de sistemele de alimentare cu aer, de închisul și deschisul ușilor. HSB trebuie amplasate într-un loc ferit de trafic și de curenți de aer potențial perturbatori. Oricând este posibil, se va lăsa un spațiu liber de 30 cm în spatele și în părțile laterale ale hotei pentru a permite un acces ușor pentru întreținere. Este necesară păstrarea unui spațiu liber de 30-35 cm deasupra hotei, pentru a permite măsurarea exactă a vitezei aerului prin filtrul de evacuare și pentru a schimba filtrele.

- **Operatorii**

Dacă HSB nu sunt folosite corect, protecția oferită de ele poate fi mult diminuată. Operatorii trebuie să aibă grijă să mențină integritatea fluxului de aer care pătrunde prin deschizătura frontală, atunci când își mișcă brațele spre interiorul sau exteriorul hotei, în timpul lucrului. Mișcările brațelor trebuie făcute lent, perpendicular pe deschizătura frontală. Materialele din hotă vor fi manipulate după un minut de la introducerea brațelor, pentru a permite acomodarea și pentru a "mătura cu aer steril" suprafața mâinilor și a brațelor. Numărul mișcărilor făcute prin deschizătura frontală trebuie redus, plasând în interiorul hotei toate materialele necesare înainte de începerea lucrului.

- **Plasarea materialelor**

Grila frontală de captare a aerului din HSB din clasa II nu trebuie să fie blocată cu hârtie, echipamente sau alte obiecte. Suprafața materialelor care vor fi plasate în hotă trebuie decontaminată cu alcool de 70°. Zona de lucru din hotă se poate acoperi cu prosoape de hârtie absorbantă, îmbibate sau nu cu dezinfectant, pentru a reține eventuale scurgeri și stropi. Toate materialele trebuie plasate în hotă spre marginea posterioară a suprafeței de lucru, cât mai în spate posibil, fără a bloca grilajul posterior. Echipamentele generatoare de aerosoli (de ex. mixere, centrifugi etc.) trebuie așezate spre partea posterioară a hotei. Deșeurile colectate pe categorii în recipiente speciale (precum sacii de colectare pentru materialele contaminate, recipientele cu vârfuri de pipete folosite, recipientele cu probe, etc.) trebuie plasate într-o latură a hotei. Fluxul de operații trebuie să se desfășoare dinspre zona curată spre zona contaminată a suprafeței de lucru.

Pungile de colectare pentru deșeuri periculoase sau containerele și recipientele pentru colectarea deșeurilor tăietoare - înțepătoare (ex. vârfuri de pipete), care urmează să fie autoclavate, nu trebuie plasate în afara hotei. Mișcările repetate înăuntru/în afară, făcute pentru utilizarea acestor containere, pot întrerupe bariera de aer a hotei și pot compromite atât protecția personalului, cât și pe cea a produselor.

- **Operare și întreținere**

Majoritatea HSB sunt concepute pentru a fi utilizate non-stop, iar inspectorii consideră că folosirea continuă este utilă și pentru controlul nivelului particulelor de praf și al altor particule din laborator. HSB de Clasa II tip A1 și A2 cu evacuare spre încăpere sau cu conectare prin manșon la o conductă proprie de evacuare pot fi oprite în perioadele în care nu sunt folosite. Alte tipuri, precum HSB de Clasa II-B1 și B2, prevăzute cu instalații cu conductă rigidă, necesită un flux de aer permanent cu presiune negativă, pentru a menține echilibrul cu aerul din încăpere. Hotele trebuie pornite cu cel puțin 5 minute înainte de a începe lucrul și oprite după cel puțin 5 minute de la terminarea lucrului, pentru a permite hotei să se "curețe", adică pentru a permite aerului contaminat să fie evacuat din hotă.

Orice reparație a HSB trebuie făcută de către un tehnician calificat (autorizat). Orice disfuncție în operare trebuie raportată și reparată înainte de a relua utilizarea HSB. Înainte de orice reparație sau control (inspecție), HSB trebuie să fie dezinfectate.

- **Radiațiile ultraviolete**

Folosirea radiațiilor ultraviolete în HSB nu este necesară. Dacă se folosesc, lămpile UV trebuie curățate săptămânal pentru a înlătura praful care reduce efectul germicid al radiației. Intensitatea radiației UV trebuie verificată la fiecare recertificare a hotei, pentru a vedea dacă emisia de UV este corespunzătoare. Lămpile UV trebuie închise în timpul lucrului sau când există persoane în încăpere, pentru protecția ochilor și a pielii de expuneri nedorite, dar pot fi lăsate să funcționeze dacă panoul frontal transparent este închis.

- **Flacăra deschisă**

Trebuie evitată folosirea flăcării deschise în mediul aproape steril din interiorul HSB. Aceasta poate modifica traseul fluxului de aer și poate fi periculoasă atunci când se utilizează substanțe volatile sau inflamabile. De asemenea, utilizarea flăcării deschise poate afecta filtrele HEPA. Pentru a steriliza ansele bacteriologice, există micro-arzătoare electrice sau cu gaz.

- **Scurgerile / stropirile**

Instrucțiunile privind conduita de urmat în cazul producerii unor scurgeri sau stropiri cu lichide contaminate trebuie citite și însușite de întregul personal al laboratorului; un exemplar va fi afișat la loc vizibil. În cazul în care are loc o scurgere de material contaminat în interiorul HSB, curățarea trebuie începută imediat, în timp ce hota continuă să funcționeze. Se va folosi un dezinfectant eficient, care va fi aplicat în așa fel încât generarea de aerosoli să fie cât mai redusă. Toate materialele care au venit în contact cu substanța vărsată trebuie dezinfectate și/sau autoclavate.

- **Certificarea**

Funcționalitatea și integritatea fiecărei HSB trebuie supusă unui control de certificare după standarde naționale și internaționale, atât în momentul instalării, cât și ulterior, în mod periodic, control făcut de tehnicieni calificați (autorizați), în conformitate cu instrucțiunile producătorului. Evaluarea eficacității hotei trebuie să cuprindă : teste de integritate a hotei, a filtrelor HEPA, profilul vitezei fluxului descendent de aer și cel al vitezei aerului care pătrunde, raportul presiune negativă/ventilație, analiza cu fum a fluxului de aer, verificarea sistemelor de alarmă și de interblocare. Pot fi făcute și testări opționale pentru scurgeri de curent, intensitatea luminii, intensitatea radiațiilor UV, nivelul zgomotului și vibrațiilor. Aceste teste necesită echipamente și aptitudini speciale, de aceea este recomandat ca ele să fie executate de personal calificat.

10. HOTELE DE SIGURANȚĂ BIOLOGICĂ

- **Curățarea și dezinfectia**

Toate obiectele din interiorul HSB, inclusiv aparatura, trebuie decontaminate la suprafață și scoase din hotă după terminarea lucrului, deoarece resturile de medii de cultură favorizează creșterea germenilor.

Suprafețele interioare ale HSB trebuie decontaminate înainte și după fiecare utilizare.

Suprafața de lucru și pereții interiori trebuie șterse cu un dezinfectant care să distrugă toate microorganismele care s-ar putea afla în hotă. La sfârșitul zilei de lucru, decontaminarea finală a suprafețelor trebuie să includă și pe cea a suprafeței de lucru, a părților laterale și posterioare și a feței interioare a panoului frontal transparent. Se va folosi o soluție clorigenă sau alcool de 70°, dacă sunt active pe microorganismele manipulate. Dacă se folosește un dezinfectant coroziv, cum sunt soluțiile clorigene, este necesară o clătire ulterioară cu apă sterilă.

Se recomandă ca HSB să fie lăsată în funcțiune. Dacă nu, înainte de a fi oprită, trebuie lăsată să funcționeze cel puțin 5 minute pentru evacuarea aerului contaminat din interior.

- **Decontaminarea**

HSB trebuie decontaminate înainte de operațiuni precum schimbarea filtrelor sau mutarea hoteli. Cea mai utilizată metodă de decontaminare este cea prin fumigație cu formaldehidă gazoasă. Decontaminarea HSB trebuie realizată de către personal calificat.

- **Echipamentul de protecție individuală**

Echipamentele de protecție trebuie purtate întotdeauna când se lucrează la HSB. În laboratoarele cu Nivel de Biosiguranță 1 și 2 se pot folosi halate obișnuite. În laboratoarele cu Nivel de Biosiguranță 3 și 4, se asigură o protecție bună cu halate cu fața din material rezistent, care se încheie la spate (cu excepția laboratoarelor cu izolare în costum protector). Mănușile se vor purta peste mânecile halatului și nu sub ele. Pentru protecția încheieturilor mâinii se recomandă purtarea de halate cu manșete elastice. Pentru unele tehnici este necesar portul măștii și al ochelarilor de protecție.

- **Alarmer**

HSB pot fi echipate cu unul sau două tipuri de alarme. Alarma conectată cu panoul frontal transparent se găsește numai la HSB cu panou mobil. Alarma se declanșează ori de câte ori operatorul a așezat panoul într-o poziție incorectă. Acțiunea corectivă constă în poziționarea corectă a panoului. Alarma acționată de fluxul de aer semnalează perturbarea fluxului normal de aer în hotă, care poate reprezenta un pericol imediat pentru operator sau pentru produs. Când se declanșează acest din urmă tip de alarmă, se oprește imediat lucrul și se anunță responsabilul de laborator. Detalii suplimentare se găsesc în cărțile tehnice ale hotelor. Personalul trebuie instruit și asupra acestor aspecte.

- **Informații suplimentare**

Alegerea tipului adecvat de HSB, instalarea, folosirea corespunzătoare și certificarea anuală a operării HSB sunt procese complexe. Se recomandă ca aceste procese să se desfășoare sub supravegherea unor specialiști bine instruiți și cu experiență în materie de biosiguranță; aceștia trebuie să fie familiarizați cu literatura recomandată în capitolul de Bibliografie și trebuie să fi fost instruiți asupra tuturor aspectelor privind HSB. Operatorii trebuie să fi urmat forme speciale de instruire pentru operarea și utilizarea HSB.

11. Echipamente de siguranță

Deoarece aerosolii reprezintă o importantă sursă de infecție, trebuie luate măsuri pentru a reduce formarea și răspândirea acestora. Aerosoli periculoși pot apărea în cursul unor variate operațiuni de laborator, de ex: amestecare, triturare, agitare, ultrasonare, centrifugare de material infecțios. Ca urmare, chiar dacă se folosește echipament de siguranță, se recomandă ca aceste operațiuni să se efectueze, pe cât posibil, într-o HSB (Capitolul 7). Datele privind HSB, utilizarea și testarea acestora, sunt prezentate în Capitolul 10. Simpla utilizare a echipamentului de siguranță conferă protecție doar dacă operatorul este bine instruit și folosește tehnici corecte. Echipamentul trebuie verificat cu regularitate pentru a garanta performanțe constante de protecție.

Tabelul 10 conține o listă a echipamentelor destinate eliminării sau reducerii unor pericole și definește succint caracteristicile lor de siguranță. Detalii suplimentare pentru multe din aceste echipamente sunt redate în paginile următoare. Alte informații privind utilizarea corectă a acestor echipamente se regăsesc în Capitolul 12.

Informații referitoare la echipamentele și operațiunile care pot genera pericole sunt prezentate în Anexa 4.

Tabel 10. Echipamente de biosiguranță

Echipament	Pericole vizate	Caracteristici care conferă siguranță
Hotă de securitate biologică (HSB) Clasa I	Aerosoli și stropi	Flux minim de aer orientat spre interiorul hotei de la nivelul fantei de acces pentru lucru (viteză redusă de acces frontal al aerului) Filtrare adecvată a aerului eliminat Nu asigură protecția produsului
Clasa II	Aerosoli și stropi	Flux minim de aer orientat spre interiorul hotei de la nivelul fantei de acces pentru lucru (viteza redusă de acces frontal al aerului) Filtrare adecvată a aerului eliminat Asigură protecția produsului
Clasa III	Aerosoli și stropi	Nivel maxim de securizare Asigură protecția produsului dacă este prevăzută cu flux de aer laminar
Izolator din folie flexibilă cu presiune negativă	Aerosoli și stropi	Nivel maxim de securizare
Ecran de protecție	Stropi de substanțe chimice	Ecran între operator și aria de lucru
Dispozitive de pipetare	Pipetarea cu gura, (ingestia de patogeni, inhalarea de aerosoli produși prin aspirarea cu pipeta, picurarea de lichid, contaminarea capătului de sucțiune al pipetei)	Ușor de folosit. Controlul contaminării capătului de sucțiune al pipetei, protejând utilizatorul, dispozitivul de pipetare și instalația de vacuum. Se poate steriliza. Evită scurgerile din pipetă.

Echipament	Pericole vizate	Caracteristici care conferă siguranță
Microarzătoare pentru anse Anse de unică folosință	Stropi din ansele de transfer	Arzătorul cu gaz sau electric este introdus într-un tub de sticlă sau ceramică, deschis la gură Ansele de unică folosință nu impun tratament termic Recipient impermeabil închis cu capac
Recipiente sigure pentru colectarea și transportul materialelor infecțioase în vederea sterilizării	Aerosoli, împrăștiere și scurgere	Robustețe mecanică Autoclavabil
Containere pentru obiecte tăietoare/înțepătoare	Răni prin înțepare.	Autoclavabil. Robust, rezistent la înțepare/tăiere
Containere de transport între laboratoare sau instituții.	Contaminare accidentală cu microorganisme.	Robust. Containere primare și secundare impermeabile pentru lichide Conțin materiale absorbante pentru reținerea lichidelor vărsate.
Autoclave manuale sau automate	Materiale infecțioase (decontaminare în vederea eliminării sau reutilizării)	Model aprobat Sterilizare eficace prin căldură
Recipiente cu capac înșurubat	Aerosoli și scurgeri	Securizare eficace
Dispozitiv de protecție a instalației de vid	Contaminarea cu aerosoli sau lichide a sistemului de vacuum al laboratorului	Filtre tip cartuș pentru a împiedica trecerea de aerosoli (mărimea particulelor cu dimensiunea de 0,45 μm). Recipiente cu dezinfectante adecvate, utilizate drept « capcane de vid ». Dispozitiv de cauciuc (supapă) pentru a închide automat vacuumul când recipientul este plin. Întreg dispozitivul este autoclavabil

11.1. Izolatoare din folie flexibilă cu presiune negativă

Izolatorul din folie flexibilă cu presiune negativă este un dispozitiv de izolare primară de sine stătător, care conferă protecție maximă împotriva materialelor biologice periculoase. Poate fi montat pe un suport mobil. Spațiul de lucru este în întregime închis într-un învelis din PVC transparent suspendat de un cadru de oțel. În interiorul izolatorului se menține permanent o presiune inferioară celei atmosferice. Admisia aerului se face printr-un filtru HEPA și evacuarea prin 2 filtre HEPA, evitându-se astfel necesitatea evacuării aerului în afara clădirii. Izolatorul poate fi dotat cu incubator, microscop și alte echipamente (centrifugi, cuști pentru animale, surse de căldură, etc). Materialele sunt introduse și scoase din izolator prin căi speciale de acces pentru materiale și probe, fără a compromite siguranța microbiologică.

Manipularea în interiorul izolatorului se face prin intermediul unor mâneci cu mănuși prevăzute la rândul lor cu mănuși de unică folosință.

Presiunea din interiorul izolatorului este monitorizată cu ajutorul unui manometru. Acest tip de izolator este folosit pentru lucrul cu microorganisme periculoase (Grupul de Risc 3 sau 4) pe teren, acolo unde nu există posibilitatea instalării și utilizării unei HSB convenționale.

11. ECHIPAMENTE DE SIGURANȚĂ

11.2. Dispozitive de pipetare

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

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

Germei patogeni mai pot fi transferați și prin degete contaminate puse pe capătul de sucțiune al pipetei. Un risc mai puțin cunoscut este inhalarea de aerosoli rezultați prin aspirare. Un dop de vată nu constituie un filtru microbial eficient la presiune negativă sau pozitivă și anumite particule pot trece prin el. Un dop de vată prea dens poate determina o pipetare violentă, urmată de aspirarea dopului, a unor aerosoli și chiar a lichidului. Ingestia de patogeni este evitată prin folosirea dispozitivelor de pipetare.

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

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

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

11.3. Omogenizatoare, agitatoare, mixere și aparate de ultrasonare

Mixerele de bucătărie nu sunt etanșe și eliberează aerosoli. Se vor folosi doar cele special concepute pentru uzul în laboratoare, care prin construcție reduc sau evită eliberarea de aerosoli. Omogenizatoarele închise de tip "stomacher" disponibile în prezent pentru prelucrarea de volume mici sau mari, pot genera și ele aerosoli.

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

11.4. Anse de unică folosință

Avantajul anșelor de unică folosință este că nu trebuie sterilizate și pot fi folosite în HSB unde becurile Bunsen și microarzătoarele perturbă fluxul de aer.

După folosire, ansele trebuie plasate în dezinfectant și evacuate ca orice material contaminat (vezi Capitolul 3).

11.5. Microarzătoare

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

11.6. Îmbrăcăminte și echipament de protecție individuală

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

Tabelul 11 prezintă câteva tipuri de echipamente de protecție individuală folosite în laborator și protecția pe care o conferă.

Tabel 11. Echipament de protecție personală

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

Îmbrăcăminte de laborator, halate, șorțuri

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

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

Alegerea echipamentului de protejare a ochilor sau a feței depinde de activitatea desfășurată. Ochelarii de lucru cu sau fără dioptrii vor fi confecționați cu rame speciale în care lentilele se montează

11. ECHIPAMENTE DE SIGURANȚĂ

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

Dispozitive de protecție respiratorie

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

Alegerea tipului de dispozitiv depinde de tipul de pericol. Există dispozitive la care se pot monta diferite tipuri de filtre : pentru protecție împotriva diferitelor gaze, vapori, particule sau microorganisme. Este absolut necesar ca filtrul să fie montat la dispozitivul de protecție respiratorie potrivit.

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

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

Mănuși

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

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

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

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

Mănușile nu trebuie purtate în afara spațiului laboratorului.

Pentru alte informații consultați indicațiile bibliografice 12, 17 și 18.

12. Tehnici de laborator

Eroarea umană, tehnicile defectuoase de laborator și folosirea incorectă a echipamentelor sunt cauzele majorității accidentelor de laborator și infecțiilor apărute la locul de muncă. Acest capitol oferă un compendiu de metode tehnice care sunt indicate pentru a evita sau minimaliza problemele de această natură cel mai frecvent raportate.

12.1. Manipularea în siguranță a probelor în laborator

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

Containerele pentru probe

Containerele pentru probe pot fi din sticlă sau preferabil din plastic. Ele trebuie să fie rezistente și nu trebuie să permită scurgerea materialului din ele când capacul sau dopul este corect aplicat. Nimic din materialul recoltat nu trebuie să rămână în afara containerului. Containerele trebuie corect etichetate pentru o identificare ușoară. Documentele de însoțire nu trebuie înfășurate în jurul containerului, ci plasate separat, preferabil într-un înveliș impermeabil.

Transportul probelor în laborator

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

Primirea probelor

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

Deschiderea pachetelor

Personalul care primește și despachetează probele trebuie să fie conștient de potențialul pericol asupra stării de sănătate și trebuie instruit să adopte precauțiile standard (2), în special când se confruntă cu spargerea sau vărsarea containerelor. Containerele primare cu probe ar trebui deschise într-o HSB. Trebuie să existe dezinfectante la îndemână.

12.2. Utilizarea pipetelor și a dispozitivelor de pipetare

1. Dispozitivul de pipetare trebuie utilizat întotdeauna. Pipetarea cu gura este interzisă.
2. Toate pipetele trebuie să aibă filtru de vată pentru a reduce contaminarea dispozitivului de pipetare.
3. Nu trebuie suflat niciodată într-un lichid care conține agenți infecțioși.
4. Materialul infecțios nu trebuie niciodată amestecat prin aspirare și expulzare alternantă, prin pipetă
5. Lichidele nu trebuie niciodată expulzate forțat din pipete.
6. Pipetele gradate neterminal sunt preferabile altor tipuri de pipete deoarece nu necesită expulzarea ultimei picături.

7. Pipetele contaminate vor fi imersate complet într-un dezinfectant adecvat, aflat într-un container incasabil. Ele trebuie lăsate în dezinfectant atâta timp cât este necesar înainte de a fi scoase din laborator.
8. Containerul pentru pipete folosite trebuie plasat în interiorul HSB, nu în afara ei.
9. Seringile cu ace hipodermice nu trebuie utilizate pentru pipetare.
10. Trebuie utilizate dispozitive speciale pentru deschiderea flacoanelor prevăzute cu capsule cu septuri de cauciuc care să permită apoi utilizarea pipetelor, evitându-se utilizarea în acest scop a acelor hipodermice și a seringilor.
11. Pentru a evita dispersia picăturilor de material infecțios din pipetă, pe suprafața de lucru va fi așezat un material absorbant ; după utilizare acesta va fi evacuat ca material infecțios.

12.3. Evitarea dispersiei materialului infecțios

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

Pentru informații suplimentare vezi referința (12).

12.4. Utilizarea Hotelor de Siguranță Biologică

1. Modul de utilizare și limitele de siguranță ale HSB trebuie aduse la cunoștința tuturor utilizatorilor potențiali (vezi capitolul 10) pe baza standardelor naționale și a literaturii de specialitate. Protocoale scrise sau ghiduri de operare/de siguranță trebuie puse la dispoziția personalului. Trebuie să fie clar, în mod particular, că HSB nu protejează pe cel ce lucrează în caz de spargere, vărsare sau tehnici greșite de manipulare.
2. HSB trebuie utilizată numai dacă funcționează corect.
3. Panoul frontal transparent de sticlă nu trebuie deschis în timpul lucrului.
4. Aparatele și volumele de materiale utilizate în HSB trebuie să fie reduse la minimum. Circulația aerului în partea din spate a incintei HSB nu trebuie blocată.
5. Becurile Bunsen nu trebuie utilizate în hotă. Căldura produsă perturbă fluxul de aer și poate avaria filtrele. Microarzătoarele electrice sunt permise, dar ansele de unică întrebuințare utilizare sunt de preferat.
6. Întreaga activitate din HSB trebuie să se desfășoare în centrul sau în partea posterioară a ariei de lucru, bine vizibilă prin panoul frontal de sticlă.
7. Traficul în spatele operatorului trebuie să fie minim.
8. Operatorul nu trebuie să perturbe fluxul de aer prin mișcări repetate de du-te – vino ale brațelor.
9. Grilele frontale de admisie a aerului nu trebuie blocate cu foi, caiete, pipete sau alte materiale deoarece aceste întreruperi ale fluxului de aer pot determina contaminarea materialului și expunerea operatorului.
10. Suprafața HSB trebuie ștersă cu dezinfectante adecvate după fiecare etapă de lucru și la sfârșitul programului de lucru.

12. TEHNICI DE LABORATOR

11. Ventilarea HSB trebuie pornită cu minimum 5 minute înainte de începerea lucrului și oprită după minimum același interval de la terminarea lucrului în HSB.
12. Documentele de lucru nu trebuie puse niciodată în interiorul HSB.

Pentru alte informații vezi capitolul 10.

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

1. Particulele mari și picăturile cu diametrul mai mare de 5 μm , apărute în timpul manipulării materialului microbiologic, trebuie îndepărtate rapid de pe suprafața de lucru și de pe mâinile operatorului. Trebuie purtate mănuși de unică folosință. Lucrătorii din laborator trebuie să evite atingerea gurii, ochilor și a feței.
2. Este interzisă depozitarea și consumul de alimente și băutură în laborator.
3. Este interzisă introducerea în gură a oricăror obiecte (creioane, pixuri, gumă de mestecat)
4. Este interzisă aplicarea cosmeticelor în laborator;
5. Fața, ochii și gura trebuie protejate cu un ecran sau prin alte modalități, în timpul oricărei operații care se poate solda cu împrăștierea de material infecțios.

12.6. Evitarea injectării de material infecțios

1. Inocularea accidentală ca urmare a rănilor provocate de sticla spartă sau ciobită, poate fi evitată prin creșterea atenției în timpul procedurilor de lucru. Obiectele din sticlă ar trebui înlocuite cu cele din material plastic, ori de câte ori este posibil.
2. Injectarea se poate produce accidental prin înțepare cu ace de seringă, pipete Pasteur din sticlă și cioburi de sticlă.
3. Accidentele prin înțepare cu acul pot fi reduse prin: a) reducerea utilizării seringilor și acelor (există dispozitive simple pentru deschiderea flacoanelor închise cu capsulă și dop de cauciuc, astfel încât pot fi folosite pipete în locul seringilor cu ac) ; b) utilizarea unor dispozitive de siguranță împotriva înțepării atunci când seringile și acele sunt absolut necesare.
4. Acele nu trebuie niciodată reacoperite cu capacul de protecție. Ele nu se desprind de seringă ci se aruncă împreună cu seringă într-un container special, rezistent la înțepare, prevăzut cu capac.
5. Pipetele Pasteur de plastic ar trebui să înlocuiască pipetele de sticlă.

12.7. Separarea serului

1. Această operațiune trebuie efectuată numai de personal bine instruit / calificat.
2. Trebuie folosite mănuși și trebuie protejați ochii și mucoasele.
3. Aerosolii și stropirile pot fi evitate sau reduse la minim numai printr-o bună tehnică de laborator. Sângele și serul trebuie pipetate cu atenție. Este interzisă pipetarea cu gura.
4. După utilizare, pipetele trebuie imersate complet în dezinfectantul corespunzător și menținute cât este necesar, înainte de evacuare sau spălare și sterilizare pentru reutilizare.
5. Tuburile (vacutainerele) care au conținut probele utilizate, conținând cheaguri de sânge, etc trebuie introduse (cu dopul pus) într-un container impermeabil în vederea autoclavării și/sau incinerării.
6. Trebuie să existe la îndemână dezinfectante adecvate pentru curățarea stropilor și lichidelor vărsate (vezi Capitolul 14).

12.8. Utilizarea centrifugii

1. Performanțele mecanice bune sunt o condiție primordială pentru utilizarea centrifugilor în condiții de siguranță microbiologică.
2. Centrifuga trebuie utilizată cu respectarea instrucțiunilor producătorului.

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

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

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

12.7. Utilizarea mojarilor și a omogenizatoarelor de țesuturi

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

12.8. Utilizarea și întreținerea frigiderelor și congelatoarelor

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

12.9. Deschiderea fiolelor conținând material infecțios liofilizat

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

Sunt recomandate următoarele proceduri pentru deschiderea fiolelor:

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

12.10. Păstrarea fiolelor conținând material infecțios

Fiolele conținând material infecțios nu trebuie niciodată introduse în azot lichid pentru că cele fisurate sau închise imperfect pot exploda la scoatere. Dacă este recomandată păstrarea la o temperatură foarte joasă, fiolele pot fi stocate numai în faza gazoasă, deasupra azotului lichid. În caz contrar, materialul infecțios trebuie păstrat în congelatoare sau în gheață carbonică. Personalul de laborator trebuie să-și protejeze ochii și mâinile când scoate fiolele stocate la temperatură joasă.

Suprafața fiolelor păstrate în acest mod trebuie dezinfectată când fiolele sunt scoase de la conservare.

12.11. Precauții standard privind sângele și alte lichide biologice, țesuturi, secreții sau excreții.

Precauțiile standard (care includ precauțiile universale [19]) sunt destinate reducerii riscului transmiterii microorganismelor din surse de infecție atât cunoscute cât și necunoscute (2).

Colectarea, etichetarea și transportul probelor

1. Precauțiile universale trebuie respectate întotdeauna: se va lucra de fiecare dată cu mănuși de protecție.
2. Sângele trebuie recoltat de la pacienți și animale de către personal instruit.
3. Pentru flebotomie, acele clasice și sistemele cu seringă trebuie înlocuite cu dispozitive de unică folosință cu vid, care permit recoltarea directă a sângelui în recipiente închise de transport sau de cultură și care fac imposibilă reutilizarea acului.

Tuburile trebuie plasate în containere speciale pentru transportul către laborator (vezi capitolul 15 pentru cerințele de transport) și în cadrul laboratorului (vezi secțiunea *Transportul probelor în laborator din acest capitol*). Formularele de solicitare a prestațiilor de laborator trebuie plasate separat în containerul de transport (în plicuri sau pungi impermeabile).

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

Deschiderea tuburilor cu probe și repartizarea conținutului

1. Tuburile cu probe trebuie deschise într-o HSB .
2. Este obligatoriu să se folosească mănuși. De asemenea, este recomandată protecția ochilor și a mucoaselor (ochelari de protecție sau ecrane de protecție a feței).
3. Îmbrăcămintea de protecție trebuie completată cu un șorț de plastic.
4. Dopul trebuie apucat printr-o bucată de hârtie sau tifon pentru a preveni împrôșcarea (stropirea).

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

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

Nu vor fi utilizate pentru pipetare acele de seringă (vezi și secțiunea « Evitarea injectării de material infecțios » din acest capitol).

Lamele și frotiurile pentru microscopie

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

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

1. Echipamentul trebuie să fie de tip închis, pentru a preveni dispersia picăturilor mici și a aerosolilor.
2. Reziduurile trebuie colectate în vase închise în vederea autoclavării și/sau evacuării.
3. Echipamentul trebuie dezinfectat după fiecare utilizare, urmând instrucțiunile producătorului.

Țesuturile

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

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

Decontaminarea

Pentru decontaminare se recomandă hipocloritul și dezinfectantele în concentrație mare.

Soluțiile de hipoclorit proaspăt preparate trebuie să conțină clor 1 g/l pentru uz general și 5 g/l pentru decontaminarea sângelui.

Glutaraldehida poate fi folosită pentru decontaminarea suprafețelor (vezi Capitolul 14).

12.12. Precauții privind materialele ce ar putea conține prioni

Prionii (desemnați și ca “virusuri lente”) sunt asociați cu encefalopatiile spongiforme transmisibile (TSE), cum ar fi boala Creutzfeldt-Jakob (CJD, inclusiv noua variantă, sindromul Gerstmann -Straussler – Scheinker), insomnia letală familială și boala Kuru la om, “Boala oii și caprei nebune”, encefalopatia spongiformă bovină (BSE) și alte encefalopatii transmisibile la căprioare, elani și nurci. Deși CJD se transmite la om, nu este dovedită apariția bolii în laborator ca urmare a manipulării acestor agenți infecțioși. Totuși sunt necesare precauții legate de manipularea materialului infecțios sau potențial infecțios provenind de la oameni și animale.

Selectarea nivelului de biosiguranță când se lucrează cu materiale asociate TSE va depinde de natura agentului și de probele de studiat și trebuie decisă cu consultarea autorității naționale. Concentrația cea mai mare de prioni se găsește în țesutul sistemului nervos central. Studii pe animale sugerează că se pot găsi concentrații ridicate de prioni și în splină, timus, noduli limfatici și plămâni. Studii recente arată că prionii din mușchii scheletici și ai limbii pot prezenta de asemenea un risc infecțios potențial.

Deoarece inactivarea completă a prionilor este greu de realizat, este important să se pună accent pe folosirea instrumentarului de unică folosință ori de câte ori este posibil și să se folosească materiale de unică folosință pentru protecția suprafeței de lucru a HSB.

Principala precauție este prevenirea ingestiei de material contaminat sau înțeparea pielii celor care lucrează în laborator.

Deoarece prionii nu sunt “omorâți” prin metodele obișnuite de dezinfecție și sterilizare din laborator, trebuie luate următoarele precauții suplimentare :

1. Folosirea de echipamente special destinate, care nu sunt folosite și în alte laboratoare, este insistent recomandată.
2. Trebuie folosită îmbrăcăminte de protecție de unică folosință (halate, șorțuri), precum și mănuși (pentru anatomopatologi mănuși din plasă de oțel, între două de cauciuc).
3. Este insistent recomandată folosirea obiectelor de unică utilizare din plastic ce pot fi tratate și evacuate ca deșeuri uscate (vezi mai jos).
4. Dispozitivele de procesare a țesuturilor nu se utilizează din cauza problemelor pe care le ridică dezinfecția lor. În locul lor se utilizează borcane și pahare de plastic.
5. Toate manipulările se fac în HSB.
6. Trebuie avută multă grijă pentru evitarea producerii de aerosoli, ingestiei accidentale și tăierii sau înțepării pielii.
7. Țesuturile fixate cu formol trebuie considerate în continuare infecțioase, chiar după expunere îndelungată la acțiunea formolului.
8. Probele histologice conținând prioni sunt în mare măsură inactivate după expunerea la acid formic 96% timp de 1oră.
9. Deșeurile, inclusiv mănușile, halatele și șorțurile de unică folosință, trebuie autoclavate folosind un sterilizator cu aburi la 134-137°C pentru un singur ciclu de 18 min sau 6 cicluri succesive a câte 3 min. fiecare, apoi incinerate.
10. Instrumentarul reutilizabil (cum ar fi mănușile din plasă de oțel) trebuie colectate pentru decontaminare.
11. Reziduurile lichide infecțioase contaminate cu prioni trebuie tratate cu soluție de hipoclorit de sodiu conținând clor liber în concentrație finală de 20g/l (2%) timp de 1 oră
12. Procedura de vaporizare cu paraformaldehidă nu diminuează titrul prionilor iar aceștia sunt rezistenți la radiațiile UV. Cu toate acestea, hota trebuie decontaminată prin metode standard (ex. formaldehidă gazoasă) pentru inactivarea altor microorganisme ce pot fi prezente.
13. HSB contaminate cu prioni și celelalte suprafețe pot fi decontaminate cu hipoclorit de sodiu 20g/l (2%) timp de 1 oră .

14. Filtrele HEPA trebuie incinerate la minimum 1000°C după scoatere. Acțiunile recomandate înainte de incinerare :
 - a. pulverizarea cu lac de păr spray a feței expuse a filtrului, înainte de a-l scoate ;
 - b. acoperirea filtrului cu un sac de plastic în momentul scoaterii ;
 - c. scoaterea filtrului HEPA din camera de lucru astfel încât restul hotei să nu fie contaminat.
15. Instrumentarul trebuie ținut în soluție de hipoclorit de sodiu conținând clor liber 20g/l (2%) timp de 1 oră, apoi clătit bine cu apă înaintea autoclavării.
16. Instrumentarul ce nu poate fi autoclavat se curăță prin spălare repetată cu soluție de hipoclorit de sodiu conținând clor liber 20g/l (2%) timp de > 1 oră. Clătirea instrumentarului este necesară pentru îndepărtarea hipocloritului de sodiu rezidual.

Pentru orice alte informații privind manipularea agenților neconvenționali vezi referințele 12, 26 și 27.

13. Planuri pentru intervenții în caz de accidente și măsuri de urgență

Fiecare laborator care lucrează cu materiale infecțioase trebuie să instituie măsuri de siguranță adaptate gradului de pericolozitate al organismelor și animalelor manipulate. Existența unui plan scris pentru măsurile de aplicat în caz de accidente în laborator sau în biobază este o necesitate în orice instituție care manipulează sau găzduiește microorganisme din grupurile de risc 3 sau 4 (laborator de biosiguranță securizat - nivelul 3 și laborator înalt securizat - nivelul 4). Autoritățile sanitare locale și/sau naționale trebuie să se implice în elaborarea planurilor de intervenție în caz de accidente.

13.1. Planul de intervenție în caz de accidente

Planul de intervenție în caz de accidente trebuie să cuprindă proceduri operaționale privind:

1. precauții pentru prevenirea și limitarea urmărilor dezastrelor naturale, de exemplu: incendii, inundații, cutremure și explozii
2. evaluarea riscului de contaminare biologică
3. conducerea și coordonarea acțiunilor în caz de expunere la accidente și al celor de decontaminare
4. evacuarea de urgență a populației și a animalelor din zona afectată
5. tratamentul medical de urgență al răniților și al persoanelor expuse la infecții
6. supravegherea medicală a persoanelor expuse
7. organizarea adecvată a spitalizării persoanelor expuse
8. măsurile de investigație epidemiologică
9. continuarea operațiunilor după incident

În alcătuirea acestui plan trebuie incluse următoarele obiective:

1. identificarea organismelor cu risc crescut
2. localizarea ariilor de risc maxim, de exemplu: laboratoare, spațiile de depozitare, biobazele
3. identificarea personalului și a populației la risc
4. nominalizarea personalului cu responsabilități și a atribuțiilor acestuia, de ex: persoana responsabilă de biosiguranță, personalul de securitate, autoritatea locală de sănătate, medici, microbiologi, veterinari, epidemiologi și serviciile de pompieri și poliție
5. listele cu unitățile medicale ce pot asigura tratamentul și izolarea persoanelor expuse sau infectate
6. transportul persoanelor expuse sau infectate
7. listele cu sursele de seruri imune, vaccinuri, medicamente, echipamente speciale și materiale consumabile
8. aprovizionarea cu echipament de urgență, de ex.: îmbrăcăminte de protecție, dezinfectante, truse personale pentru tratarea contaminărilor cu substanțe chimice și biologice, echipament și materiale pentru decontaminare.

13.2. Măsuri de urgență pentru laboratoarele de microbiologie

Răni prin înțepare, tăiere și zgâriere

Individul afectat trebuie să scoată îmbrăcăminte de protecție, să se spele pe mâini și pe părțile afectate, să aplice dezinfectantul corespunzător și să solicite asistență medicală dacă este nevoie. Cauza rănii și microorganismele implicate trebuie raportate și se vor păstra consemnări medicale complete și conforme cu cele întâmplare.

Ingestia accidentală de produse potențial periculoase

Îmbrăcămintea de protecție trebuie să fie înlăturată și trebuie solicitată asistență medicală. Identificarea produsului ingerat și circumstanțele în care s-a petrecut incidentul trebuie raportate. Se vor păstra consemnări medicale complete și conforme cu cele întâmplate.

Eliberarea de aerosoli potențial periculoși (în exteriorul unei HSB)

Toate persoanele trebuie imediat evacuate din aria contaminată și orice persoană expusă trebuie supusă unui control medical. Șeful laboratorului și persoana responsabilă de biosiguranță trebuie informați imediat. Nimeni nu trebuie să intre în cameră pentru o perioadă de timp corespunzătoare (ex. 1 oră), pentru a permite evacuarea aerosolilor și depunerea particulelor mai grele.

Dacă laboratorul nu are sistem central de evacuare a aerului, intrarea în laborator trebuie amânată (ex. pentru 24 h).

Trebuie afișate semnalizări care să indice că intrarea este interzisă. După timpul necesar trebuie efectuată decontaminarea, care va fi supervizată de responsabilul cu biosiguranța. Pentru acest scop trebuie purtată îmbrăcămintă de protecție și dispozitiv pentru protecție respiratorie.

Recipiente sparte și substanțe infecțioase vărsate

Recipientele contaminate cu substanțe infecțioase care s-au spart și substanțele infecțioase răspândite trebuie acoperite cu cârpe sau prosoape de hârtie. Dezinfectantul se toarnă peste acestea și se lasă atât cât este necesar. Cârpele sau prosoapele de hârtie precum și obiectele sparte pot fi apoi îndepărtate; fragmentele de sticlă trebuie apucate și îndepărtate cu pense. Suprafața contaminată trebuie apoi ștersă cu dezinfectant. Dacă a fost utilizat un fâraș pentru îndepărtarea obiectelor sparte, acesta trebuie autoclavat sau imersat într-un dezinfectant corespunzător. Cârpele, prosoapele de hârtie și tampoanele utilizate pentru curățare trebuie aruncate în containerul pentru deșeuri contaminate. Pentru toate aceste proceduri trebuie folosiți mănuși de protecție.

Dacă formularele și alte materiale tipărite sau scrise au fost contaminate, informația trebuie copiată în alte formulare iar originalele trebuie aruncate în containerul pentru deșeuri contaminate.

Spargerea eprubetelor cu material potențial infecțios în centrifugi fără cupe sau suporturi închise etanș

Dacă în timpul centrifugării se sparge eprubeta sau se suspectează spargerea acesteia, centrifuga se va opri și se va lăsa în repaus, închisă (ex. pentru 30 minute) pentru a permite depunerea.

Dacă se observă spargerea după terminarea centrifugării, capacul trebuie închis imediat la loc și lăsat astfel (ex. pentru 30 minute). În ambele cazuri trebuie informată persoana responsabilă cu biosiguranța.

Pentru operațiunile ulterioare trebuie purtate mănuși din cauciuc gros, acoperite dacă este necesar cu mănuși de unică folosință. Pentru a îndepărta cioburile de sticlă se utilizează pense sau pense cu tampon de vată.

Toate eprubetele sparte, cioburile de sticlă, cupele, suportii pentru cupe și rotorul centrifugii trebuie introduse într-un dezinfectant necoroziv cunoscut a fi activ împotriva microorganismului implicat (vezi Capitolul 14). Eprubetele cu dop nespate se pun în dezinfectant într-un vas separat. Cuva centrifugii trebuie curățată cu același tip de dezinfectant, utilizat în diluția necesară, apoi ștersă din nou, spălată cu apă și uscată. Toate materialele care au fost folosite pentru curățare trebuie tratate ca deșeuri infecțioase.

Spargerea eprubetelor în cupele închise etanș

Toate cupele de centrifugă care se închid etanș trebuie umplute și golite într-o HSB. Dacă se suspectează o spargere în interiorul suportului pentru cupe închise etanș, capacul acesteia trebuie deșurubat puțin, iar cupa trebuie autoclavată. Alternativ, se poate face o dezinfecție chimică a cupei și a suportului.

Incendiile și dezastrele naturale

13. PLANURI PENTRU INTERVENȚII ÎN CAZ DE ACCIDENTE ȘI MĂSURI DE URGENȚĂ

Pompierii și alte instituții trebuie implicate în elaborarea planurilor de intervenție în caz de urgență. Aceștia trebuie informați dinainte care încăperi conțin materiale potențial infecțioase. Este recomandabil ca aceste servicii să viziteze laboratorul pentru a cunoaște planul și interiorul acestuia.

După un dezastru natural, serviciile de urgență locală sau națională trebuie prevenite asupra pericolelor potențiale din clădirile laboratorului și/sau din împrejurimile acestora. Personalul acestor servicii poate intra în laborator numai însoțit de un angajat instruit al laboratorului. Materialele infecțioase trebuie colectate în cutii impermeabile pentru lichide sau în saci groși de unică folosință. Recuperarea sau eliminarea trebuie decise de personalul responsabil cu biosiguranța, pe baza informațiilor de la locul accidentului.

Serviciile de urgență: persoanele de contact

Lângă telefoanele din instituție trebuie afișate numerele de telefon și adresele următoare:

1. Laboratorul sau instituția (adresa și locația s-ar putea să nu fie cunoscută în detaliu de către cel care sună sau serviciul apelat)
2. Directorul instituției
3. Șeful laboratorului
4. Responsabilul cu biosiguranța
5. Pompierii
6. Spitalul sau serviciul de ambulanță sau personalul medical (numele clinicii, departamentele, și/sau personalul medical dacă este posibil)
7. Poliția
8. Responsabilul pentru probleme medicale al instituției (laboratorului)
9. Tehnicianul șef
10. Serviciile de apă, gaz și electricitate

Echipament de urgență

Pentru cazurile de urgență trebuie să existe la îndemână următorul echipament de protecție:

1. Trusa de prim ajutor care să includă antidoturi universale și speciale
2. Extinctoare, pături ignifuge

În funcție de circumstanțele locale, se recomandă și următorul echipament de urgență care poate fi adaptat în funcție de particularitățile locale:

1. îmbrăcăminte completă pentru protecție (salopetă, mănuși, echipament de protecție a capului (glugi), acestea fiind utilizate în cazul incidentelor cu microorganisme din grupurile de risc 3 și 4)
2. mască respiratorie cu filtre specifice chimice și pentru particule
3. aparat de dezinfecție a camerei, de exemplu: spray și vaporizator cu formaldehidă
4. targă
5. unelte, de ex.: ciocan, topor, chei mecanice, șurubelniță, scară, frânghie
6. echipamente și afișe/pancarte pentru delimitarea zonei de pericol.

Pentru alte informații vezi referințele 12 și 28.

14. Dezinfecția și sterilizarea

Cunoștințele de bază privind dezinfecția și sterilizarea sunt extrem de importante pentru siguranța biologică în laborator. Din moment ce obiectele puternic contaminate nu pot fi dezinfectate eficient și nici sterilizate cu ușurință, este la fel de importantă și înțelegerea principiilor precurății, operație anterioară dezinfecției. Din acest punct de vedere, capitolul de față este dedicat principiilor generale care se aplică tuturor claselor de microorganisme patogene, cu excepția notabilă a prionilor.

Cerințele specifice pentru decontaminare vor depinde de tipul activității și de tipul de agent(i) infecțios(i) cu care se lucrează. Prin urmare, este necesar să fie folosite informațiile generale prezentate aici, pentru a elabora atât proceduri standard cât și măsuri specifice adaptate particularităților de pericolozitate din fiecare laborator.

Timpii de contact pentru dezinfectante sunt specifici pentru fiecare substanță, sunt precizați în prospectele produselor și vor fi utilizați conform indicațiilor producătorilor.

14.1. Definiții

În procesele de decontaminare și sterilizare în condiții de siguranță biologică sunt utilizați numeroși termeni. Dintre aceștia enumerăm pe cei mai frecvent utilizați:

- Antimicrobian - un agent care omoară microorganismele sau le suprimă creșterea și multiplicarea.
- Antiseptic – o substanță care inhibă creșterea și dezvoltarea microorganismelor fără să le omoare neapărat. Antisepticele se aplică uzual pe suprafața corpului.
- Biocid – un termen general care se aplică oricărui agent care ucide organismele.
- Germicid chimic – o substanță chimică sau un amestec de substanțe chimice utilizat pentru omorârea microorganismelor.
- Decontaminare – orice proces utilizat pentru îndepărtarea și/sau omorârea microorganismelor. Același termen se aplică și pentru îndepărtarea sau neutralizarea substanțelor chimice periculoase și a materialelor radioactive.
- Dezinfectant – o substanță chimică sau un amestec de substanțe chimice utilizate pentru omorârea microorganismelor, dar nu neapărat și a sporilor acestora. Dezinfectantele sunt de obicei aplicate pe suprafețe sau obiecte inerte.
- Dezinfecție – metodele fizice sau chimice utilizate pentru omorârea microorganismelor, dar nu neapărat și a sporilor acestora.
- Microbicid – o substanță chimică sau un amestec de substanțe chimice care omoară microorganismele. Acest termen se utilizează adesea în loc de “biocid”, “germicid”, sau “antimicrobian”.
- Sporocid - o substanță chimică sau un amestec de substanțe chimice care omoară microorganismele și sporii.
- Sterilizare – proces care omoară și/sau îndepărtează toate clasele de microorganisme și sporii.

14.2. Precurăția și curățarea materialelor de laborator

În termeni practici, curățarea este îndepărtarea murdăriei, materiilor organice și a coloranților. Curățarea include perierea, aspirarea sau curățarea de praf uscată, spălarea sau ștergerea umedă cu apă și săpun sau detergent.

Acolo unde riscul de contaminare cu microorganisme patogene este crescut și este necesară decontaminarea, precurățarea este o manevră de rutină. Aceasta este necesară deoarece petele și murdărirea cu substanțe organice pot forma un scut de protecție pentru microorganisme și astfel interferează cu acțiunea distrugătoare a decontaminanților (antiseptice, germicide chimice și dezinfectanți).

În aceste cazuri, precurățarea este esențială pentru a asigura o dezinfecție sau sterilizare corespunzătoare. Se știe că multe produse germicide sunt eficiente numai asupra materialelor precurățate. Precurățarea trebuie efectuată cu precauții deosebite, pentru a evita expunerea la agenți patogeni.

După precurățare, pentru curățarea și dezinfecția propriu-zisă trebuie să fie aplicate substanțe chimice cu acțiune germicidă.

Pentru precurățare și dezinfecție este important să se utilizeze substanțe germicide chimice compatibile între ele. Adeseori se folosesc în aceste scopuri aceleași substanțe.

14.3. Germicidele chimice

Multe tipuri de substanțe chimice pot fi utilizate ca dezinfectante și/sau antiseptice. Numărul produselor comercializate este în continuă creștere. Compozițiile acestora trebuie selectate cu grijă în funcție de nevoile specifice.

Activitatea germicidă a multor substanțe chimice este rapidă și eficientă la temperaturi înalte. În același timp însă, temperaturile înalte pot accelera evaporarea și degradarea substanțelor folosite.

Multe germicide pot fi dăunătoare oamenilor, animalelor și mediului înconjurător. De aceea trebuie alese, manipulate, depozitate și evacuate cu foarte multă grijă, respectându-se recomandările producătorului. Pentru siguranța personalului se impune utilizarea de mănuși, halate și ochelari de protecție, atunci când se prepară soluțiile diluate ale acestor germicide.

De regulă, germicidele chimice nu sunt recomandate pentru curățarea de rutină a podelelor, pereților, echipamentelor și mobilierului. Ele pot fi totuși utilizate în cazuri excepționale, cum ar fi focarele de boli infecțioase.

Utilizarea corespunzătoare a germicidelor chimice contribuie la siguranța locului de muncă, prin reducerea riscului de expunere a personalului și a mediului la agenții infecțioși.

Pe cât posibil, numărul germicidelor chimice utilizate va fi limitat din rațiuni economice, de simplificare a aprovizionării și inventarului și pentru limitarea poluării mediului.

Clasele cele mai utilizate de germicide chimice sunt descrise în cele ce urmează, cu prezentarea informațiilor generale în ceea ce privește utilizarea și siguranța manipulării. Concentrațiile germicide sunt redată în termeni de greutate pe volum (g/v), cu unele excepții menționate la locul potrivit. Tabelul 12 rezumă diluțiile de lucru recomandate pentru compușii care degajă clor.

Tabel 12. Diluțiile recomandate ale produselor pe bază de clor

	Condiții "curate" ^{a)}	Condiții "murdărie" ^{b)}
Concentrație de clor necesară	0,1% (1g/l)	0,5% (5g/l)
Soluție de hipoclorit de Na (5% Cl)	20 ml/l	100 ml/l
Hipoclorit de Ca (70% Cl)	1,4 g/l	7,0 g/l
Diclor-izocianurat de Na pudră (60% Cl)	1,7 g/l	8,5 g/l
Diclor-izocianurat de Na tablete (1,5 g Cl/tabletă)	o tabletă /litru	4 tablete/litru
Cloramina (25% Cl) ^{c)}	20 g/l	20 g/l

^{a)} După precurățare (îndepărtarea grosului materialului organic (ex. sânge)

^{b)} Se toarnă peste materialul organic (ex. sânge înainte de îndepărtarea acestuia)

^{c)} Vezi textul

14. DEZINFECȚIA ȘI STERILIZAREA

Clorul (hipoclorit de Na)

Clorul este un oxidant puternic și rapid, cu spectru larg de utilizare. Este comercializat în mod normal, ca înălbitor: o soluție de hipoclorit de Na (NaOCl), care poate fi diluată cu apă pentru a obține soluții de diferite concentrații.

Soluția clorinată, în mod special sub forma de înălbitor, este foarte alcalină și poate fi corosivă pentru metal. Acțiunea sa este redusă considerabil de unele substanțe organice (proteine). Păstrarea soluțiilor stoc sau de lucru se va face în containere închise, deoarece când acestea sunt deschise, mai ales la temperaturi crescute eliberează Clorul, reducându-se potențialul lor germicid. Frecvența cu care aceste soluții de înălbire trebuie reînnoite, depinde de concentrația lor inițială, de mărimea și tipul recipientelor în care sunt ținute (de ex. cu sau fără capac etanș), frecvența și condițiile utilizării, de condițiile de mediu. Ca regulă generală se recomandă ca soluțiile de hipoclorit utilizate pentru materiale murdărite cu cantități importante de substanțe organice să fie schimbate la fiecare 24 de ore cu altele proaspete, în timp ce soluțiile folosite mai rar pot fi schimbate mai rar (la cel mult o săptămână).

Un dezinfectant de uz general pentru toate scopurile laboratorului trebuie să aibă o concentrație de 1 g/l clor disponibil. O soluție mai puternică, conținând 5 g/l clor disponibil este recomandată pentru decontaminarea suprafețelor contaminate, în prezența de materii organice. Soluția de hipoclorit de Na, ca înălbitor casnic, conține 50 g/l clor și trebuie diluată 1:50 sau 1:10 pentru a obține concentrații finale de 1 g/l și, respectiv, de 5 g/l, respectiv. Soluțiile industriale de înălbitor au o concentrație de hipoclorit de Na apropiată de 120 g/l și trebuie diluate corespunzător pentru a se obține concentrațiile indicate mai sus.

Granulele sau tabletele de hipoclorit de Ca ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) conțin, de obicei, peste 70% Cl disponibil. Soluțiile preparate din tablete sau granule conținând 1,4 g/l și 7,0 g/l, trebuie să aibă concentrații de Clor de 1 g/l și respectiv 5 g/l.

Înălbitorul nu este recomandat ca antiseptic, dar poate fi utilizat pe scară largă ca dezinfectant de uz general și pentru obiectele nemetalice. În condiții de urgență, înălbitorul poate fi utilizat pentru dezinfectarea apei potabile, într-o concentrație finală de Cl disponibil de 1-2 mg/l.

Clorul gazos este foarte toxic. Soluțiile clorinate trebuie depozitate și utilizate numai în camere bine aerisite. De asemenea, ele nu trebuie amestecate cu acizi, pentru că eliberează foarte repede clorul gazos. Multe derivate de clor pot fi vătămătoare pentru om și mediul înconjurător, de aceea trebuie evitată utilizarea abuzivă a acestora, în special a hipocloritului de sodiu.

Diclorizocianuratul de Na

Diclorizocianuratul de Na (NaDCC) sub formă de pulbere conține 60 % clor. Soluțiile preparate cu NaDCC pulbere la 1,7 g/l și 8,5 g/l conțin 1 g/l sau respectiv 5 g/l clor. Tabletele de NaDCC conțin echivalentul a 1,5 g Cl / tabletă. Prin dizolvarea unei tablete sau a 4 tablete într-un litru de apă, se vor obține concentrațiile de lucru: 1 g/l sau 5 g/l. NaDCC sub formă de pulbere sau tablete este foarte ușor și sigur de depozitat. NaDCC poate fi aplicat ca atare (în stare solidă) pe petele de sânge sau alte lichide contaminate, lăsându-l cel puțin 10 minute înainte de a fi îndepărtat.

Cloraminele

Cloraminele sunt disponibile sub formă de pulbere conținând aproximativ 25% clor. Cloraminele eliberează clor într-o proporție mai mică decât hipocloritul. Prin urmare pentru o eficiență echivalentă cu cea a hipocloritului se impun concentrații inițiale superioare de cloramină. Pe de altă parte însă, soluțiile de cloramină nu sunt inactivate de materia organică, în aceeași măsură ca soluțiile de hipoclorit. Se recomandă utilizarea concentrației de 20 g/l pentru ambele situații: pe suprafețe curate și suprafețe murdare.

Soluțiile de cloramină sunt în principiu inodore. Cu toate acestea, obiectele înmuiate în aceste soluții trebuie clătite insistent, pentru a fi îndepărtată orice urmă de substanță adjuvantă adăugată de producători pulberii de cloramină T (sodium tosylchloramidă).

Dioxidul de clor

Dioxidul de clor (ClO_2) este un germicid puternic cu acțiune imediată, adesea activ la concentrații mai joase decât cele de hipoclorit recomandate. Dioxidul de clor este instabil sub forma de gaz și se descompune în clor gazos (Cl_2) și oxigen gazos (O_2), cu degajare de căldură. Totuși, dioxidul de clor este solubil în apă și este stabil sub forma de soluție apoasă. El se poate obține fie prin amestecarea de acid clorhidric și clorit de sodiu (NaClO_2), fie se poate comanda sub forma de soluție apoasă stabilizată, care este activată în momentul folosirii.

Dintre biocidele cu efect oxidant, dioxidul de clor este oxidantul cel mai selectiv. Ozonul și clorul sunt mult mai reactive decât dioxidul de clor și se vor consuma mai rapid în cazul deșeurilor care conțin substanțe organice în cantitate mare; el reacționează selectiv, în special asupra compușilor sulfurici, aminelor secundare și terțiare și asupra altor compuși organici intens reduși. Ca urmare, folosind dioxid de clor se poate asigura o cantitate mai stabilă de clor rezidual cu doze mult mai mici decât dacă s-ar fi folosit clor sau ozon. Dacă se recurge la un sistem adecvat de generare a sa, dioxidul de clor poate fi folosit cu mai multă eficacitate decât clorul sau ozonul în prezența unor încărcături organice importante, tocmai datorită selectivității acțiunii sale.

Formaldehida

Formaldehida (HCHO) este un gaz care distruge microorganismele și sporii acestora, la temperaturi mai mari de 20°C . Formaldehida nu este activă față de prioni, are o viteză de acțiune relativ redusă și necesită o umiditate relativă mai mare de 70%. Este vândută, fie sub formă de polimer solid (para-formaldehydă), ca fulgi sau tablete, fie ca formol - o soluție a gazului în apă de aproximativ 370 g/l (37%), conținând metanol (100 ml/l) ca stabilizator. Ambele forme sunt încălzite pentru a elibera gazul, care este utilizat pentru decontaminarea și dezinfectia spațiilor închise, cum ar fi hotelurile de biosiguranță (HSB) și alte incinte sau încăperi (vezi mai jos secțiunea intitulată "Decontaminarea spațiului înconjurător"). Formaldehida (5% formol în apă) poate fi utilizată ca dezinfectant lichid.

Formaldehida este suspectată a fi cancerigenă. Are un miros înțepător, iar vaporii săi pot irita ochii și mucoasele. De aceea, trebuie depozitată și utilizată în nișe speciale de protecție chimică (hotele chimice) sau încăperi foarte bine aerisite.

Înainte de utilizare trebuie consultate regulile și normele naționale de folosire precum și precauțiile ce țin de siguranța chimică.

Glutaraldehida

Ca și formaldehida, glutaraldehida ($\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$) este de asemenea activă împotriva formelor vegetative ale bacteriilor, sporilor, ciupercilor, precum și a virusurilor ce conțin lipide, dar și a celor fără lipide. Este necorozivă și reacționează mai rapid decât formaldehida. Cu toate acestea, sunt necesare câteva ore pentru a distruge sporii bacterieni.

În general, este furnizată ca o soluție cu concentrație de aprox. 20 g/l (2%). Majoritatea acestor produse trebuie „activate” (alcalinizate) înainte de utilizare, prin adăugare de bicarbonat, furnizat împreună cu produsul. Soluția activată poate fi utilizată timp de 1-4 săptămâni de la preparare, în funcție de activare, condițiile și frecvența utilizării. Baghetele de scufundat în soluție pentru a afla dacă mai este activă, furnizate de unii producători, dau numai indicații orientative. Soluțiile de glutaraldehidă trebuie aruncate, dacă devin tulburi.

Glutaraldehida este toxică și iritantă pentru piele și mucoase; de aceea, contactul cu acestea trebuie evitat. Glutaraldehida se utilizează numai sub nișă (hotă) sau în spații bine aerisite. Nu este recomandată sub formă pulverizată sau soluții pentru decontaminarea suprafețelor din mediu.

Înainte de utilizare trebuie consultate regulile și normativele naționale de folosire precum și precauțiile ce țin de siguranța chimică.

14. DEZINFECȚIA ȘI STERILIZAREA

Compușii fenolici

Compușii fenolici, un grup larg de agenți au fost printre primele germicide folosite. În ciuda acestui fapt, anumite probleme recente pe care le ridică siguranța utilizării lor, recomandă restrângerea folosirii. Sunt activi împotriva formelor vegetative ale bacteriilor și asupra virusurilor ce conțin lipide. În cazul unei formulări corespunzătoare, compușii fenolici prezintă activitate și împotriva mycobacteriilor. Nu sunt activi împotriva sporilor, iar activitatea asupra virusurilor non-lipidice (neînvelite sau nude) este variabilă. Mulți produși fenolici sunt utilizați pentru decontaminarea suprafețelor de lucru și a celor ambientale; triclosanul și cloro-xilenolul fac parte din soluțiile antiseptice cele mai utilizate.

Triclosanul se regăsește frecvent în produsele destinate spălării mâinilor. El este activ cu precădere împotriva bacteriilor vegetative și nu este dăunător pielii și mucoaselor. Cu toate acestea, studiile de laborator au demonstrat că bacteriile care au devenit rezistente la concentrații mici de triclosan, prezintă de asemenea rezistență la unele antibiotice. Importanța acestei descoperiri pentru utilizarea fenolilor în teren nu a fost încă evaluată.

Anumiți compuși fenolici sunt sensibili și pot fi inactivați de sărurile din apa dură; de aceea se recomandă ca diluarea lor să se facă cu apă distilată sau apă deionizată.

Compușii fenolici nu sunt recomandați pentru suprafețele care vin în contact cu mâncarea, și nici pentru spațiile destinate copiilor mici (pot fi absorbiți de cauciuc și pot pătrunde în piele). Se vor respecta și reglementările de siguranță chimică.

Compușii de amoniu cuaternari

Multe tipuri de compuși de amoniu cuaternari sunt utilizați sub formă de amestecuri și deseori în combinație cu alte substanțe germicide, cum ar fi alcoolul. Aceștia prezintă o bună activitate împotriva formelor vegetative ale bacteriilor și a virusurilor lipidice. Anumite tipuri (ex. clorura de benzalconiu) sunt folosite ca antiseptice.

Activitatea germicidă a anumitor tipuri de compuși de amoniu cuaternari este considerabil redusă de către substanțele organice, apa cu durtate mare sau de detergenții anionici. Prin urmare, atunci când se intenționează utilizarea acestor produși pentru dezinfecție, este necesară alegerea cu grijă a produselor pentru precurățare. Unele bacterii potențial patogene se pot dezvolta în soluțiile de compuși cuaternari de amoniu. Datorită biodegradabilității reduse, acești compuși se pot acumula în mediul înconjurător.

Alcoolii

Etanolul (C_2H_5OH) și 2-propanolul (izopropil alcoolul, $(CH_3)_2CHOH$) au proprietăți dezinfectante similare. Ei sunt activi împotriva formelor vegetative ale bacteriilor, ciupercilor precum și împotriva virusurilor lipidice (învelite), dar nu și împotriva sporilor. Acțiunea lor împotriva virusurilor nude este variabilă. Pentru o mai mare eficiență, alcoolii trebuie utilizați la o concentrație de aproximativ 70% (v/v) în soluție apoasă. Concentrațiile mai mici sau mai mari pot să nu aibă aceeași acțiune germicidă. Soluțiile alcoolice nu lasă nici un reziduu pe suprafețele de lucru sau pe obiectele tratate, ceea ce reprezintă un avantaj major.

Amestecurile cu alte substanțe chimice sunt de asemenea mai eficiente decât alcoolul singur, de exemplu: alcool 70% (v/v) cu 100 g/l formaldehidă sau alcool conținând 2 g/l clor.

O soluție alcoolică de 70% (v/v) etanol poate fi utilizată pentru piele, suprafețe de lucru ale meselor de laborator și din hotelurile de biosiguranță, precum și pentru imersarea diferitelor instrumente chirurgicale. Deoarece etanolul usucă pielea, adeseori se amestecă cu substanțe emoliente. Frecarea/spălarea mâinilor cu alcool este recomandată pentru decontaminarea mâinilor ușor murdare, în situațiile în care spălarea mâinilor nu este posibil. Oricum trebuie avut în minte că etanolul este ineficient împotriva sporilor și poate să nu distrugă toate tipurile de virusuri nude.

Alcoolii sunt substanțe volatile, ușor inflamabile și este bine să nu fie utilizate lângă flăcări deschise. Soluțiile de lucru trebuie să fie depozitate în containere adecvate pentru a împiedica evaporarea alcoolilor. Aceștia pot întări cauciucul și dizolvă anumite tipuri de lipici. Este foarte importantă inventarierea

și depozitarea adecvată a etanolului în laborator pentru a se evita utilizarea acestuia în alte scopuri decât cele de dezinfectare. Sticlele cu soluții pe bază de etanol trebuie să fie etichetate vizibil, pentru a evita autoclavarea din greșeală.

Iodul și substanțele iodate

Acțiunea acestor dezinfectanți este similară cu cea a clorului, deși sunt în general mai puțin inhibați de substanțele organice. Iodul poate păta suprafețele de lucru și țesăturile și, în general, nu este recomandat ca dezinfectant. Pe de altă parte, soluțiile iodate și tincturile sunt antiseptice bune. În general, antisepticele pe bază de iod nu sunt recomandate pentru ustensilele medicale și stomatologice. Iodul nu trebuie utilizat pe obiectele din aluminiu sau cupru.

Iodul poate fi toxic. Produsele organice pe bază de iod trebuie depozitate la 4 - 10°C pentru a împiedica dezvoltarea în ele a unor bacterii potențial nocive.

Peroxidul de hidrogen și peracizi

Ca și cloramina, peroxidul de hidrogen (H_2O_2) și peracizii sunt oxidanți puternici și germicide puternice, cu spectru larg de acțiune. De asemenea, aceste produse sunt mai puțin dăunătoare decât cloramina atât pentru oameni cât și pentru mediul înconjurător. Peroxidul de hidrogen este furnizat fie ca soluție gata de utilizare în concentrație 3%, fie ca soluție apoasă de concentrație 30%, care trebuie diluată ulterior cu apă distilată, de 5 până la 10 ori volumul său. Cu toate acestea, soluțiile de peroxid de hidrogen cu concentrație 3-6%, sunt relativ lente și cu acțiune germicidă limitată. Produsele disponibile la ora actuală conțin stabilizatori speciali ai concentrației de peroxid de hidrogen, ceea ce duce la accelerarea acțiunii germicide și le face mai puțin corozive.

Peroxidul poate fi utilizat pentru decontaminarea suprafețelor de lucru, a meselor de laborator și a hotelor de biosiguranță. Soluțiile în concentrație mai ridicată pot fi utilizate pentru dezinfectarea instrumentarului medical sau stomatologic sensibil la căldură. Utilizarea peroxidului de hidrogen vaporizat sau a acidului peracetic (CH_3COOOH) pentru decontaminarea instrumentelor (dispozitivelor) medicale / chirurgicale termosensibile necesită un echipament adecuat.

Peroxidul de hidrogen și peracizii pot avea acțiune corozivă asupra metalelor cum ar fi aluminiul, cuprul, alama și zincul și pot de asemenea decolora țesăturile, părul, pielea și mucoasele. Articolele tratate cu aceste substanțe trebuie clătite riguros cu apă, înainte de a veni în contact cu ochii și mucoasele. Aceste substanțe trebuie depozitate în spații protejate de căldură și lumină.

14.4. Decontaminarea mediului de lucru (laboratorului)

Decontaminarea laboratorului, a mobilierului și a echipamentului acestuia necesită o combinație de dezinfectanți lichizi și gazoși. Suprafețele pot fi decontaminate prin utilizarea unor soluții de hipoclorit de sodiu conținând 1g/l clor activ. Soluții mai puternice cu o concentrație de 5g/l sunt recomandate pentru decontaminarea suprafețelor cu risc crescut. Pentru decontaminarea spațiului de lucru soluții conținând 3% peroxid de hidrogen pot fi utilizate ca înlocuitori pentru soluțiile de înălbitor.

Încăperile și echipamentele pot fi decontaminate prin fumigare cu gaz de formaldehidă, generat prin încălzirea para-formaldehidei sau prin fierberea unei soluții de formol. Procedul este foarte periculos și necesită personal special instruit. În aceste situații ferestrele și ușile laboratorului trebuie sigilate mai întâi cu bandă adezivă sau cu produse similare, înainte de eliberarea gazului. Fumigarea trebuie să fie efectuată la o temperatură ambientală de minim 21°C și la o umiditate relativă de 70% (vezi secțiunea privind decontaminarea hotelor de biosiguranță, mai jos).

După fumigare incinta trebuie să fie foarte bine aerisită și abia apoi va fi permis accesul personalului. Persoanele care trebuie totuși să pătrundă în aceste spații, o pot face numai dacă poartă aparate de protecție respiratorie adecvate. Bicarbonatul de amoniu, sub formă gazoasă, poate fi utilizat pentru neutralizarea formaldehidei.

14. DEZINFECȚIA ȘI STERILIZAREA

Este eficace și fumigarea spațiilor foarte mici cu vapori de peroxid de hidrogen, dar pentru această metodă trebuie să se utilizeze un echipament adecvat.

14.5. Decontaminarea hotelor de biosiguranță

Pentru decontaminarea hotelor de biosiguranță de clasă 1 și clasă 2 există echipament special, portabil, pentru generarea, circularea și neutralizarea formaldehidei gazoase. În lipsa acestor echipamente specializate, se pot folosi 2 tigăi plasate pe 2 plite (reșouri) electrice așezate în hotă, care conțin – una para-formaldehidă (suficientă pentru a obține o concentrație finală de 0,8 % para-formaldehidă în aerul din hotă), și cealaltă bicarbonat de amoniu (cu 10% mai mult decât para-formaldehida). Plitele sunt conectate la curent electric în afara hotei, astfel încât conectarea și deconectarea plitelor să se facă din exterior. Dacă umiditatea relativă se situează sub 70%, în hotă trebuie să fie amplasat și un vas deschis cu apă fierbinte. Panoul frontal se etanșeizează cu bandă adezivă solidă (de ex. cea folosită pentru conducte). Se lipește o folie groasă de plastic peste deschiderea hotei, fixând-o etanș de jur împrejur - inclusiv în jurul firelor electrice care pătrund în hotă spre cele două plite - ; în același mod se etanșeizează și racordul hotei la gura de exhaustare, evitându-se astfel orice scăpare a formaldehidei gazoase în atmosfera laboratorului.

Se deschide întrerupătorul pentru formaldehidă, care este apoi închis după ce s-a evaporat para-formaldehida. Incinta va rămâne închisă cel puțin 6 ore. Se pornește apoi a doua plită pentru evaporarea bicarbonatului de amoniu. După aceea, se deconectează a doua plită și se pornește ventilatorul hotei de două ori câte două secunde, permițând astfel circulația gazului degajat de bicarbonatul de amoniu în întreaga hotă. Ulterior, după cel puțin 30 min, etanșările de la panoul frontal și conducta de exhaustare pot fi îndepărtate, iar hota poate fi din nou folosită, după o curățare prealabilă.

14.6. Spălarea mâinilor /decontaminarea mâinilor

Atunci când este posibil, trebuie purtate mănuși adecvate în timpul manipulării materialelor care prezintă risc biologic. Cu toate acestea, purtarea mănușilor nu înlocuiește necesitatea spălării pe mâini a personalului din laborator. Mâinile trebuie spălate după manipularea materialelor sau animalelor cu risc biologic și înainte de ieșirea din laborator.

În multe situații, spălarea insistentă a mâinilor cu săpun obișnuit și cu apă este suficientă pentru a le decontamina, dar se recomandă, totuși, utilizarea săpunurilor germicide pentru situații cu risc biologic crescut. Mâinile trebuie săpunite foarte bine, iar spălarea se face printr-o frecare riguroasă, care trebuie să dureze minim 10 secunde, urmată de clătire din abundență cu apă curată și apoi uscate cu șervețele de hârtie sau un prosop curat (se pot folosi uscătoare de mâini cu aer cald când există la îndemână).

Se recomandă instalarea în acest scop de robinete acționate cu cotul sau cu piciorul. Unde acestea nu există, se recomandă utilizarea unui prosop de hârtie sau textile pentru închiderea robinetului, pentru a evita contaminarea mâinii proaspăt spălate.

Așa cum s-a menționat mai sus, atunci când nu este posibilă spălarea adecvată a mâinilor, se poate recurge la frecarea lor cu soluții pe bază de alcool, pentru decontaminare.

14.7. Dezinfecția prin căldură și sterilizarea

Cel mai utilizat agent fizic pentru decontaminare este căldura.

Căldura „uscată” (care este total non-corozivă) este utilizată pentru multe materiale din laborator, care pot suporta temperaturi de 160°C sau mai înalte, timp de 2-4 ore. Arderea sau incinerarea (vezi mai jos) este, de asemenea, o formă de căldură uscată. Autoclavarea este preferabilă altor metode de sterilizare deoarece generează căldură „umedă”, care este mai eficientă decât căldura „uscată”.

Fierberea nu garantează distrugerea tuturor microorganismelor și a agenților patogeni, dar poate fi folosită ca un procedeu minim de dezinfecție, atunci când alte metode (ex. dezinfecție chimică, sterilizare prin autoclavare) nu pot fi efectuate.

Obiectele sterilizate trebuie manipulate și depozitate astfel încât să rămână necontaminate până la următoarea utilizare.

14.7.1. Autoclavarea

Cea mai eficientă și mai sigură metodă de sterilizare pentru materialele din laborator este cea cu vapori saturați sub presiune și anume autoclavarea. Pentru majoritatea scopurilor, următoarele cicluri vor asigura sterilizarea în autoclavele încărcate corect (este indicat timpul necesar pentru omorârea bacteriilor după atingerea a diverse temperaturi):

1. 3 minute la 134°C
2. 10 minute la 126°C
3. 15 minute la 121°C
4. 25 minute la 115°C.

Exemple de autoclave:

- Autoclave cu evacuare gravitațională a aerului. Figura 10 prezintă schema generală de construcție a autoclavelor cu evacuare gravitațională. Vaporii intră în compartimentul de sterilizare sub presiune și deplasează aerul, mai greu, printr-o valvă, în compartimentul de drenaj, echipat cu filtru HEPA.
- Autoclave cu pre-vacuum. Aceste instalații permit îndepărtarea aerului din cameră înainte de intrarea vaporilor. Aerul este evacuat printr-o valvă echipată cu filtru HEPA. La sfârșitul ciclului aburii sunt evacuați automat. Aceste autoclave pot funcționa la 134°C, iar ciclul de sterilizare poate fi redus la 3 minute. Ele nu pot fi utilizate pentru sterilizarea lichidelor din cauza vacuumului, dar sunt ideale pentru obiectele poroase.
- Autoclave cu sursă de încălzire proprie. Acestea vor fi utilizate numai atunci când nu sunt disponibile autoclave cu evacuare gravitațională sau alte tipuri de autoclav. Acestea sunt încărcate vertical și sunt încălzite cu gaz, electricitate sau alte tipuri de combustibil. Vaporii sunt generați prin încălzirea apei de la baza vasului, iar aerul este împins în sus și eliminat prin intermediul unui orificiu de evacuare. Atunci când tot aerul a fost înlăturat, se închide valva orificiului de evacuare și se reduce aportul de căldură. Temperatura și presiunea cresc, apoi, până când valva de siguranță acționează la un nivel prestabilit anterior. Acesta este momentul din care se consideră că începe de fapt sterilizarea. La sfârșitul ciclului, sursa de căldură se închide și se așteaptă scăderea temperaturii până la 80°C sau chiar mai jos, înainte de deschiderea capacului.

14. DEZINFECȚIA ȘI STERILIZAREA

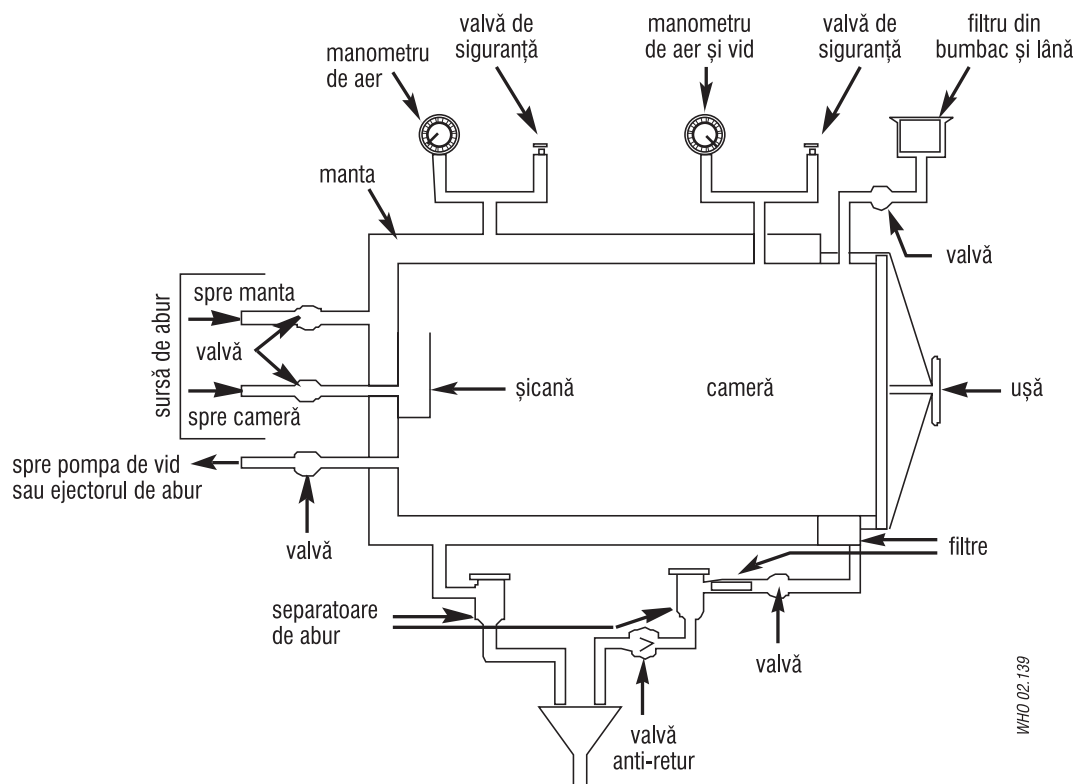


Figura 10. Schema autoclavului gravitațional

Încărcarea autoclavului

Materialele trebuie împachetate și aranjate cu grijă în compartimentul de sterilizare sau în coșul autoclavului pentru a permite pătrunderea și circulația aburului printre obiecte precum și eliminarea aerului. Ambalajele – saci autoclavabili, containere, cutii, etc. - trebuie să permită aburului să pătrundă până la conținutul acestora.

Precauții în utilizarea autoclavului

Pericolele inerente mânăririi recipientelor sub presiune pot fi minimizate prin respectarea următoarelor reguli:

1. Responsabilitatea pentru efectuarea acestor operații trebuie atribuită numai unor persoane special instruite.
2. Programul de întreținere periodică trebuie să cuprindă măsuri preventive cum sunt inspecțiile periodice ale compartimentului de sterilizare al autoclavului, ale ușilor, valvelor, supapelor, robinetelor și instrumentelor de măsură, controlul fiind efectuat de persoane special instruite și autorizate în acest scop.
3. Vaporii trebuie să fie saturați și să nu conțină substanțe chimice (de exemplu inhibitori ai coroziunii) care ar putea contamina obiectele ce urmează a fi sterilizate.
4. Toate materialele care urmează a fi sterilizate, trebuie să fie puse în containere care să permită eliminarea completă a aerului și pătrunderea nestânjenită a căldurii, respectiv a aburului; camera nu trebuie încărcată la refuz, iar vaporii trebuie să ajungă uniform în toate colțurile compartimentului de sterilizare.
5. Pentru autoclavele care nu sunt prevăzute cu dispozitiv de blocare a ușilor, care să prevină deschiderea acestora, câtă vreme compartimentul de sterilizare este sub presiune robinetul principal de admisie pentru aburi trebuie închis, iar temperatura trebuie să scadă sub 80°C, înainte ca ușa (capacul) să fie deschise.

6. Când se autoclavează lichide, după încheierea sterilizării se va aplica un program de evacuare lentă a aburului, pentru a evita fierberea lichidelor în momentul deschiderii autoclavului; recipientele vor fi umplute până la cel mult 75% din volum.
7. Operatorul trebuie să poarte mănuși adecvate și scut transparent de protecție a feței când deschide autoclavul, chiar dacă temperatura a scăzut sub 80°C.
8. Pentru monitorizarea performanțelor autoclavului, indicatorii biologici sau termocuplurile trebuie amplasate în centrul încărcăturii. Este preferabilă monitorizarea permanentă cu termocupluri și dispozitive de înregistrare amplasate în zonele cele mai critice ale încărcăturii, pentru a determina ciclurile de operare cele mai potrivite.
9. Dacă autoclavul este prevăzut cu filtru pe canalul de scurgere al compartimentului de sterilizare al autoclavului, acesta trebuie îndepărtat și curățat zilnic.
10. Trebuie verificat ca supapa de siguranță să nu fie blocată de hârtie sau alte materiale în momentul încărcării aparatului.

14.8. Incinerarea

Incinerarea este utilă pentru îndepărtarea cadavrelor de animale, precum și pentru îndepărtarea pieselor anatomice sau altor deșeuri de laborator, care au fost sau nu decontaminate anterior (vezi secțiunea „Evacuarea materialelor contaminate” în Capitolul 3). Incinerarea materialelor infecțioase poate constitui o alternativă a autoclavării, numai dacă incineratorul este sub controlul laboratorului.

Incinerarea corectă necesită un control eficient al temperaturii și o cameră de ardere secundară. Multe incineratoare, în special cele cu o singură cameră de combustie, nu sunt corespunzătoare pentru lucrul cu materiale infecțioase, cadavre de animale și materiale plastice. Astfel de materiale ar putea să nu fie complet distruse, iar ceea ce se elimină prin coșul incineratorului ar putea polua atmosfera cu microorganisme, substanțe chimice toxice și fum. Există totuși mai multe configurații satisfăcătoare pentru camerele de combustie; ideal ar fi ca în camera principală temperaturile să fie de minim 800°C iar în camera secundară, de minim 1000°C.

Materialele pregătite pentru incinerare, chiar dacă au fost decontaminate anterior, vor fi transportate în saci, preferabil de plastic. Operatorii incineratorului trebuie să primească instrucțiuni clare în ceea ce privește încărcarea incineratorului și controlul temperaturii. Nu trebuie uitat că funcționarea corespunzătoare a incineratorului depinde foarte mult de amestecul corect de materiale care urmează a fi incinerate.

Există preocupări active referitoare la impactul negativ asupra mediului înconjurător al incineratoarelor existente sau în curs de montare. În acest sens, se fac eforturi continue pentru a realiza și instala incineratoare mai eficiente din punct de vedere energetic și care să respecte integral normele de protecție a mediului înconjurător.

14.9. Îndepărtarea deșeurilor

Îndepărtarea deșeurilor medicale și de laborator face obiectul a diverse reglementări regionale, naționale și internaționale.

Înainte de elaborarea și aplicării unor programe pentru manipularea, transportul și evacuarea deșeurilor cu risc biologic potențial este obligatoriu să fie consultate versiunile la zi ale reglementărilor amintite. În general, cenușa de la incineratoare poate fi manipulată ca orice alte resturi menajere, îndepărtarea acestora fiind efectuată de firmele de salubritate. Deșeurile decontaminate prin autoclavare pot să fie incinerate în afara incintei instituției, fie să fie evacuate la locurile special amenajate pentru aruncarea gunoaielor (vezi Capitolul 3).

Pentru alte informații vezi referințele 13 și 29-39.

15. Noțiuni introductive privind transportul materialelor infecțioase

Transportul materialelor infecțioase și potențial infecțioase face obiectul unor reglementări stricte naționale și internaționale. Aceste reglementări descriu modalitățile corecte de utilizare a materialelor de ambalare precum și alte cerințe legate de transport.

Personalul laboratorului trebuie să expedieze substanțele infecțioase în acord cu reglementările de transport în vigoare, urmărindu-se prin aceasta :

1. reducerea probabilității de deteriorare a ambalajului și de producere a unor scurgeri și astfel
2. reducerea riscului de apariție a infecțiilor
3. îmbunătățirea eficienței sistemului de expediere a coletelor

15.1. Reglementările internaționale pentru transport

Reglementările internaționale privind transportul materialelor infecțioase (pe orice cale) se bazează pe modelul reglementărilor ONU - "*Regulations on the Transport of Dangerous Goods*" (40), elaborat de Comitetul de Experti ONU pentru Transportul Mărfurilor Periculoase (United Nations Committee of Experts on the Transport of Dangerous Goods (UNCETDG)). Pentru a dobândi putere de lege, reglementările ONU trebuie să fie introduse în reglementările naționale și internaționale de către autoritățile competente (de ex. "*Technical Instructions for the Safe Transport of Dangerous Goods by Air* (41) of the International Civil Aviation Organization (ICAO)" pentru transportul aerian și *European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road* (ADR) (42).

Asociația Internațională de Transport Aerian (IATA) publică în fiecare an Ghidul de transport al substanțelor infecțioase (*Infectious Substances Shipping Guidelines*) (43). Ghidul IATA trebuie să respecte Instrucțiunile tehnice ale ICAO (*Technical Instructions*) ca standard minim, dar poate impune restricții suplimentare. Ghidul IATA trebuie urmat ori de câte ori transportul este efectuat de membrii IATA .

De când Reglementările ONU au devenit un set dinamic de recomandări, care este amendat bianual, cititorul trebuie să consulte și să aplice cele mai recente reglementări naționale și internaționale.

OMS furnizează sugestii și expertiză grupului de experți ai ONU (UNCETDG). Schimbări majore ale reglementărilor privind transportul legate de transportul substanțelor infecțioase au fost introduse în ediția a 13-a (2003) a Modelului Reglementărilor ONU. Aceste amendamente pot fi consultate pe larg în documentele OMS (44).

Reglementările internaționale nu sunt concepute pentru a se substitui celor naționale sau locale. Totuși, în situațiile în care nu există reglementări pe plan național, se vor respecta cele internaționale.

Este important de menționat că, în plus, transportul internațional al substanțelor infecțioase se supune de asemenea și este subiect al reglementărilor naționale privind importul și exportul.

15.2. Sistemul ambalajului triplu

Sistemul ambalajului triplu este utilizat pentru transportul substanțelor infecțioase sau potențial infecțioase (Figura 11). Acest sistem de ambalare constă în 3 straturi : container primar, ambalaj secundar și ambalaj extern.

Containerul primar, care conține proba, trebuie să fie închis etanș, impermeabil pentru lichide și etichetat corespunzător conținutului. El trebuie să fie învelit în suficient material absorbant pentru a absorbi integral lichidele pe care le conține în caz de spargere sau scurgere.

Ambalajul secundar etanșeizat și impermeabil pentru lichide este folosit pentru a proteja containerul(erele) primar(e). Mai multe containere primare pot fi introduse într-un singur ambalaj secundar. Există diverse reglementări care stabilesc limite privind volumul și/sau greutatea materialelor infecțioase incluse într-un colet.

Ambalajul extern protejează ambalajul secundar de deteriorări fizice în timpul transportului. Formularele cu date despre probe, scrisorile și alte tipuri de informații care identifică sau descriu proba, expeditorul și destinatarul, precum și orice alte documente solicitate trebuie să fie furnizate în conformitate cu ultimele reglementări în vigoare.

Modelul de reglementări (Model Regulations) al Națiunilor Unite descrie 2 tipuri diferite de sisteme cu triplu ambalaj pentru transport. Sistemul obișnuit de ambalaj triplu se folosește pentru transportul a diferite materiale infecțioase; totuși microorganismele cu risc crescut trebuie transportate conform unor reglementări mai stricte. Pentru mai multe detalii despre utilizarea diferitelor ambalaje corespunzătoare materialelor transportate, se recomandă consultarea reglementărilor naționale și internaționale pentru prevederile aplicabile.

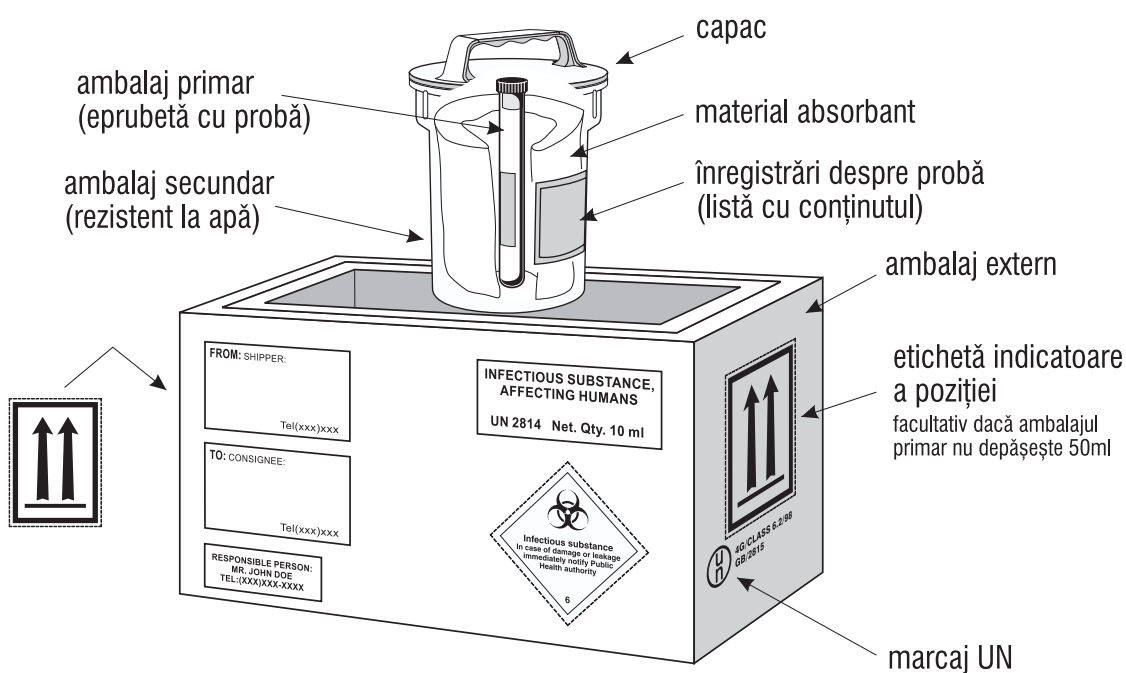
15.3. Procedura de curățare/tratare în cazul vărsării materialului infecțios

În cazul vărsării de material infecțios sau potențial infecțios trebuie aplicată următoarea procedură :

1. Se vor purta mănuși, îmbrăcăminte de protecție, inclusiv ochelari și scut transparent pentru protecția feții, dacă este cazul.
2. Se va acoperi materialul vărsat cu o cârpă sau cu prosoape de hârtie pentru a-l reține.
3. Se va turna dezinfectantul corespunzător peste materialul absorbant folosit și peste zona din imediata vecinătate (în general, soluție de cloramină 5% ; pentru vărsări în timpul transportului cu avionul trebuie utilizate dezinfectante pe bază de compuși cuaternari de amoniu).
4. Se va aplica dezinfectantul concentric și centripet, dinspre marginea zonei spre interior.
5. După timpul de acțiune corespunzător (ex. 30 minute), se îndepărtează materialele absorbante. Dacă există cioburi de sticlă sau alte obiecte ascuțite se va utiliza un fâraș sau o bucată de carton rigid pentru strângerea acestora și punerea lor într-un container pentru obiecte ascuțite.
6. Se va curăța și dezinfecta aria contaminată (dacă este necesar, se vor repeta etapele 2 - 5).
7. Se vor evacua materialele contaminate într-un container pentru deșeuri impermeabil, rezistent la înțepare.
8. După dezinfectare, se va informa autoritatea competentă că locul a fost decontaminat.

15. NOȚIUNI INTRODUCATIVE PRIVIND TRANSPORTUL MATERIALELOR INFECȚIOASE

Ambalarea și etichetarea substanțelor infecțioase din categoria A



Ambalarea și etichetarea substanțelor infecțioase din categoria B

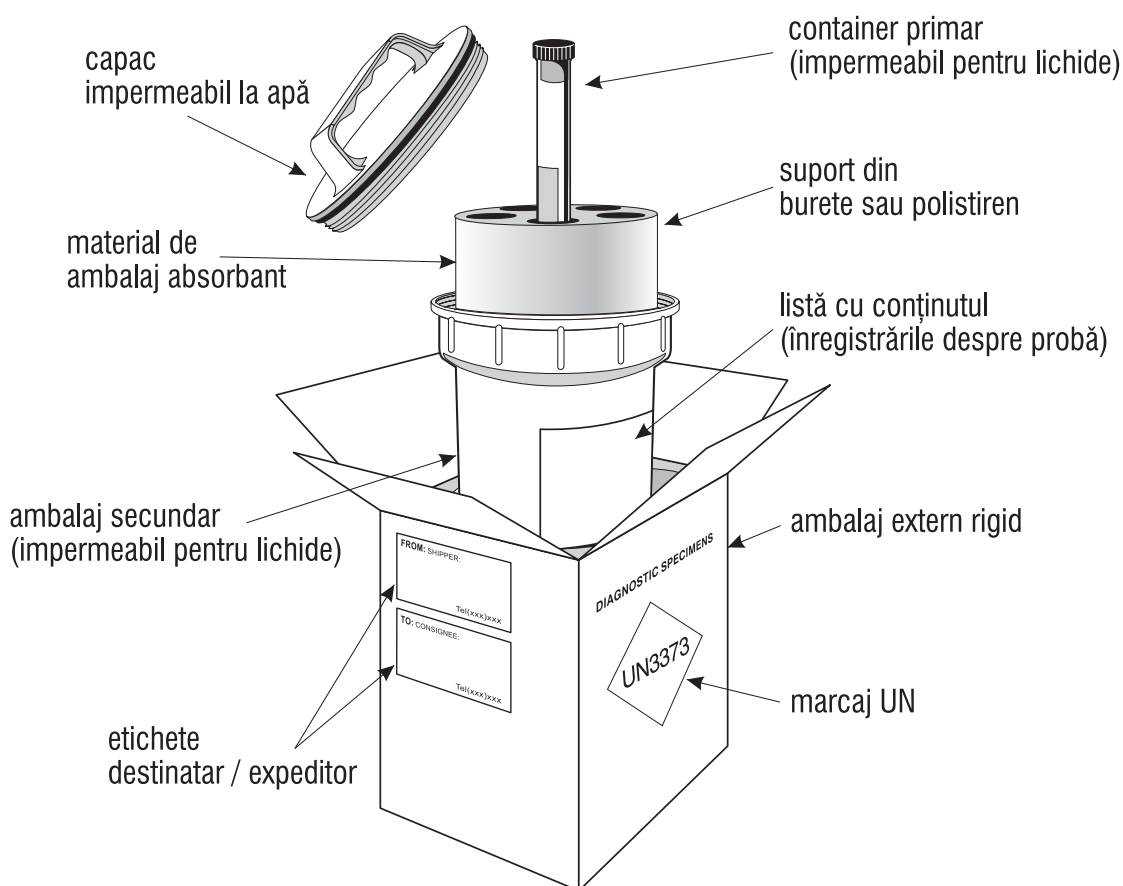


Figura 11. Exemple de sisteme de triplu ambalaj (prin amabilitatea, IATA, Montreal Canada)

16. Biosiguranța și tehnologia ADN recombinant

Tehnologia ADN recombinant realizează combinarea de material genetic provenit din diferite surse, contribuind astfel la crearea unor organisme modificate genetic (OMG) care s-ar putea să nu fi existat până acum în natură.

La început, cercetătorii din domeniul biologiei moleculare au fost îngrijorați de faptul că aceste organisme ar putea avea proprietăți imprezvizibile și nedorite, constituind un risc biologic dacă ar ajunge în afara laboratorului. Această îngrijorare a constituit obiectul dezbaterilor de la conferința științifică desfășurată în 1975 la Asilomar (SUA). Aici s-au dezbătut probleme de siguranță și a fost propus primul ghid privitor la tehnologia ADN recombinant. Experiența obținută prin cercetarea din următorii 25 de ani a demonstrat că ingineria genetică poate fi condusă într-o manieră nepericuloasă atunci când se evaluează corect riscul și se aplică măsuri de siguranță adecvate.

Prin intermediul tehnologiei ADN recombinant sau ingineriei genetice s-au clonat, inițial, segmente de ADN în gazde bacteriene, pentru a supraexprima producția genică specifici necesari pentru diverse studii. Moleculele de ADN recombinant au fost, de asemenea, folosite pentru a crea OMG, precum animale transgenice și "knock-out" și plante transgenice.

Tehnologia ADN recombinant are deja un impact enorm asupra biologiei și a medicinei și probabil va căpăta o influență și mai mare odată cu cunoașterea secvenței nucleotidice a întregului genom uman. Folosind tehnologia ADN recombinant vor putea fi studiate zeci de mii de gene cu funcții încă necunoscute. Terapia genică ar putea deveni o metodă curentă pentru tratarea anumitor boli și folosind tehnici de inginerie genetică ar putea fi construiți noi vectori de transfer genic. De asemenea, plantele transgenice produse prin tehnologia ADN recombinant ar putea ajunge să joace un rol din ce în ce mai important în agricultura modernă.

Experiențele implicând construirea sau folosirea OMG nu trebuie făcute decât după evaluarea bioriscului. Proprietățile patogene sau alte riscuri potențiale asociate acestor organisme pot reprezenta proprietăți noi, insuficient caracterizate. Trebuie evaluate proprietățile organismului donor, natura secvențelor de ADN care vor fi transferate, proprietățile organismului receptor și ale mediului înconjurător. Acești factori vor trebui să ajute la stabilirea nivelului de biosiguranță necesar pentru manipularea cu un minimum de riscuri a OMG rezultate și la identificarea sistemelor de securizare biologică și fizică la care va trebui să se apeleze.

16.1. Criterii de biosiguranță pentru sistemele biologice de expresie

Sistemele biologice de expresie sunt alcătuite din vectori și celule gazdă. Pentru a prezenta eficiență și siguranță în folosire ele trebuie să satisfacă o serie de criterii. Un exemplu de asemenea sistem biologic de expresie este plasmidul pUC18. Frecvent utilizat ca vector de clonare în combinație cu celule de *Escherichia coli* K12, plasmidul pUC18 a fost secvențializat în întregime. Toate genele necesare pentru exprimarea în alte bacterii au fost îndepărtate din plasmidul său precursor, pBR322. *E. coli* K12 este o tulpină nepatogenă care nu poate coloniza intestinul oamenilor sănătoși sau al animalelor. Experiențele de inginerie genetică de rutină pot fi desfășurate în siguranță pe sistemul *E. coli* K12/pUC18 în condițiile unui nivel de biosiguranță 1, cu condiția ca producția de expresie ai lanțului de ADN străin inserat să nu impună niveluri de biosiguranță mai înalte.

16.2. Criterii de biosiguranță pentru vectorii de expresie

Niveluri mai înalte de biosiguranță pot fi necesare când :

1. expresia secvențelor de ADN derivate din organisme patogene poate spori virulența OMG,
2. insuficienta caracterizare a anumitor secvențe de ADN inserate, ca de exemplu cu ocazia preparării unor biblioteci de ADN genomic pornind de la microorganisme patogene,
3. produșii genici sunt potențial activi farmacologic,
4. produșii genici codifică toxine.

16.3. Vectori virali pentru transfer genic

Vectorii virali, cum sunt vectorii de adenovirus, sunt folosiți pentru transferul genelor în alte celule. Acestor vectori le lipsesc anumite gene de replicare virală, fiind capabili de propagare numai în liniile celulare care compensează defectul respectiv.

Stocurile de asemenea vectori pot fi contaminate cu virusuri capabile de replicare, apărute prin evenimente rare de recombinare spontană la nivelul liniilor celulare în care au fost propagați sau printr-o insuficientă purificare. Acești vectori trebuie manipulați respectând același nivel de biosiguranță ca și acela aplicat în cazul adenovirusurilor parentale din care derivă.

16.4. Animale transgenice și “knock-out”

Animalele care poartă material genetic străin (animale transgenice) trebuie manipulate în condiții de securizare corespunzătoare caracteristicilor produșilor genelor străine în cauză. Animalele cu deleții țintite pentru anumite gene (animale knock-out) nu comportă în general riscuri biologice particulare.

Printre exemplele de animale transgenice se includ și animalele care exprimă receptori pentru virusuri care în mod normal sunt incapabile să infecteze speciile respective. Dacă aceste animale scapă din laborator sau din biobază și transmit transgena populației de animale sălbatice, se poate genera teoretic un rezervor animal pentru virusul în cauză.

Această posibilitate a fost discutată în cazul poliovirusului și este relevantă în special în contextul eradicării poliomielitei. Șoareci transgenici exprimând receptorul pentru poliovirusul uman, obținuți în diferite laboratoare, devin sensibili la infecția cu poliovirus pe diverse căi de inoculare a acestuia, iar boala declanșată este clinic și histopatologic similară cu poliomielitea umană. Totuși, modelul șoarece diferă de om prin aceea că poliovirusul administrat oral fie că nu se replică deloc la nivelul tractului digestiv, fie se replică ineficient. Astfel, este puțin probabil ca asemenea șoareci transgenici evadați din laborator în populația sălbatică să poată conduce la apariția unui nou rezervor natural de poliovirus.

Acest exemplu subliniază faptul că pentru fiecare linie nouă de animal transgenic trebuie studiate în detaliu căile prin care poate fi infectat animalul respectiv, mărimea inocului necesar producerii infecției și amploarea eliminării de virus de către animalele infectate. În plus, trebuie luate toate măsurile pentru a asigura izolarea acestor șoareci transgenici.

16.5. Plante transgenice

Plantele transgenice care exprimă gene ce conferă toleranță la ierbicide sau rezistență la insecte dăunătoare sunt un subiect curent de controversă în multe părți ale lumii. Discuțiile se referă la inocuitatea alimentelor derivate din aceste plante și la consecințele ecologice pe termen lung ale cultivării lor.

Plantele transgenice exprimând gene de origine animală sau umană sunt folosite pentru a elabora produși cu aplicație medicală și nutrițională. Se impune o evaluare atentă a riscului pentru stabilirea nivelului corect de biosiguranță în cazul producerii acestor plante.

16.5. Evaluarea riscului pentru OMG

Evaluarea riscului pentru lucrul cu OMG trebuie să țină cont de caracteristicile organismelor donoare și receptoare, gazdă. Exemple privind aceste caracteristici sunt prezentate în continuare.

16. BIOSIGURANȚA ȘI TEHNOLOGIA ADN RECOMBINANT

- **Riscuri rezultate direct din gena inserată (organismul donor)**

Analiza este necesară în situații în care produsul genei inserate are proprietăți biologice și farmacologice cunoscute, care pot fi dăunătoare, cum ar fi de exemplu:

1. toxine
2. citokine
3. hormoni
4. factori de reglare a expresiei genice
5. factori de virulență sau stimulatori
6. secvențe din oncogene
7. rezistența la antibiotice
8. alergeni.

În analizarea acestor cazuri trebuie să se includă și o evaluare a pragului de exprimare necesar pentru manifestarea activității biologice sau farmacologice.

- **Riscuri asociate cu receptorul (gazda)**

1. Sensibilitatea gazdei
2. Patogenitatea tulpinii gazdă incluzând virulența, infectivitatea și producția de toxine
3. Modificarea spectrului de gazde
4. Statusul imun al receptorului
5. Consecințele expunerii.

- **Riscuri generate de modificarea unor caractere de patogenitate existente**

Multe modificări nu implică gene ai căror produși au o nocivitate intrinsecă, dar pot apărea efecte adverse ca rezultat al modificării unor caractere existente, patogene sau nepatogene. Modificarea genelor normale poate influența patogenitatea. În încercarea de a identifica aceste riscuri potențiale trebuie răspuns la următoarele întrebări (lista nu este exhaustivă) :

1. s-a produs o creștere a infectivității sau patogenității ?
2. orice mutație dăunătoare pentru receptor poate fi anihilată ca urmare a inserției unei gene străine ?
3. gena străină codifică un determinant de patogenicitate provenit de la alt organism ?
4. dacă ADN străin include un determinant de patogenitate, se poate anticipa că această genă va contribui la patogenitatea OMG ?
5. există vreun tratament ?
6. va fi afectată sensibilitatea OMG la antibiotice sau la alte forme de tratament ca urmare a modificării genetice ?
7. se poate eradica OMG ?

16.6. Alte considerații

Problema utilizării de animale sau plante întregi în scopuri experimentale necesită de asemenea o atenție deosebită. Cercetătorii trebuie să se supună regulilor, restricțiilor și cerințelor lucrului cu OMG aplicate în țara în care se află și de instituțiile acesteia.

Țările pot avea autorități naționale care stabilesc ghiduri de lucru cu OMG și care pot ajuta cercetătorii să-și încadreze munca în nivelul de biosecuritate corespunzător. În unele cazuri clasificarea poate diferi între țări sau țările pot decide să clasifice cerințele de biosiguranță într-un nivel mai scăzut sau mai înalt în funcție de apariția unor noi informații referitoare la un anumit sistem vector/gazdă.

Evaluarea riscului este un proces dinamic care ține cont de noile performanțe și de progresele științei. Evaluările corecte ale riscurilor vor permite omenirii să se bucure în anii ce vin de roadele tehnologiei ADN recombinant.

17. Substanțe chimice periculoase

Personalul din laboratoarele de microbiologie nu este expus numai unor microorganisme patogene, ci și unor substanțe chimice periculoase. De aceea este vitală cunoașterea exactă a efectelor toxice ale acestor substanțe chimice, a căilor de expunere, cât și a pericolului care poate fi asociat cu manipularea și depozitarea acestora (Anexa 5).

Fișele ce cuprind precauțiile recomandate în mânăuirea acestor substanțe, precum și alte informații suplimentare care descriu pericolul pe care îl implică utilizarea unei anumite substanțe chimice, disponibile de la producători și/sau de la distribuitori, trebuie să fie prezente și ușor accesibile în laboratoarele în care aceste substanțe sunt utilizate, de exemplu prin includerea lor în Ghidul de biosiguranță sau în Manualul cu procedurile specifice de lucru.

17.1. Definiții și clasificări

Substanțele chimice periculoase sunt adeseori definite și clasificate în funcție de fișa reglementară de însoțire pentru transportul bunurilor periculoase sau în funcție de riscurile și gradele de pericolozitate pe care acestea le prezintă. Ele pot fi împărțite în funcție de gradul de reactivitate, instabilitate, riscul de incendiu, riscul pentru sănătate sau în funcție de efectele toxice.

17.2. Căi de expunere

Există mai multe căi de expunere la substanțe chimice periculoase :

1. Inhalare
2. Contact direct
3. Ingestie
4. Înțepare
5. Prin leziuni cutanate

17.3. Depozitarea substanțelor chimice

În laborator se va depozita doar o cantitate minimă de chimicale, necesară pentru uzul zilnic.

Stocurile de rezervă trebuie păstrate în încăperi/clădiri având în mod expres această destinație, dotate cu pardoseală din beton și praguri către exterior pentru a reține deversările accidentale. Substanțele inflamabile trebuie depozitate separat, în clădiri situate la oarecare distanță. Pentru prevenirea aprinderii vaporilor inflamabili și explozivi de la scântele contactelor electrice, întrerupătoarele trebuie plasate în afara încăperii iar corpurile de iluminat vor fi protejate cu globuri etanșe.

Substanțele chimice nu se depozitează în ordine alfabetică, pentru că astfel substanțe chimice incompatibile (vezi lista de mai jos !) pot ajunge în proxima vecinătate, iar unele substanțe chimice periculoase pot fi plasate pe rafturi înalte. Toate recipientele mari de sticlă și toate recipientele conținând acizi/baze puternice trebuie depozitate la nivelul pardoselii și plasate în tăvi (pentru prevenirea împrăștierii accidentale). Trebuie asigurate suporturi protectoare pentru transportul recipientelor mari de sticlă și dispozitive de sifonare pentru umplerea unor recipiente mai mici din containere. Scările mobile sunt indispensabile acolo unde există rafturi înalte.

17.4. Reguli generale privind incompatibilitățile chimice

Substanțele figurate mai jos, în coloana din stânga a Tabelului 13, trebuie astfel depozitate și manipulate încât să nu poată veni în contact accidental cu substanțele enumerate în dreptul lor în coloana din dreapta.

Tabelul 13. Reguli generale pentru incompatibilități chimice

Categoria de substanțe	Substanțe incompatibile
- Metale alcaline (sodiu, potasiu, cesiu și litiu)	- Dioxid de carbon, hidrocarburi clorurate, apă
- Halogeni	- Amoniac, acetilenă, hidrocarburi
- Acid acetic, hidrogen sulfurat, anilină, hidrocarburi, acid sulfuric	- Agenți oxidanți (acid cromic, acid azotic, peroxizi, permanganati)

17.5. Efecte toxice ale substanțelor chimice

Este binecunoscut faptul că unele substanțe chimice au efecte adverse asupra sănătății celor care le manipulează sau inhalează vaporii acestora. În afara substanțelor reputate ca toxicitate și încadrate ca otrăvuri, un număr de substanțe chimice sunt cunoscute a avea variate efecte toxice. Aparatul respirator, sângele, ficatul, rinichii și aparatul gastro-intestinal, ca și alte organe și țesuturi, pot fi afectate în diverse grade. Unele substanțe chimice sunt cunoscute pentru efectele carcinogene sau teratogene.

Unii vapori de solvenți sunt toxici când sunt inhalați. În afară de efectele toxice propriu-zise, expunerea la vaporii toxici poate determina și efecte secundare, ca, de exemplu, lipsa de coordonare, slăbiciune și alte simptome similare, care pot duce la producerea de accidente.

Expunerea prelungită sau repetată la solvenți organici în fază lichidă poate duce la afecțiuni ale pielii, datorită degresării acesteia; au mai fost semnalate reacții alergice sau efecte corozive.

Pentru informații detaliate asupra efectelor toxice ale substanțelor chimice, se va consulta Anexa 5.

17.6. Substanțe chimice explozive

Azidele, adesea utilizate în compoziția soluțiilor antibacteriene, nu trebuie să vină în contact cu plumbul sau cuprul (de ex. în instalațiile sanitare de evacuare). Azida de cupru va exploda violent chiar și la un impact de mică intensitate.

Eterii îmbătrâniți sau uscați sub formă de cristale sunt extrem de instabili și potențial explozivi.

Acidul percloric, dacă se usucă pe lemnărie, ceramică sau țesături va exploda și va arde la impact.

Acidul picric și picrații detonează la căldură și impact.

17.7. Vărsarea accidentală de substanțe chimice

Majoritatea producătorilor de reactivi chimici de laborator publică diagrame / postere care descriu modalitățile de acțiune în caz de vărsări accidentale de substanțe chimice. Pe piață sunt disponibile diagrame și truse de intervenție. Postere/afișe adecvate trebuie expuse în locuri vizibile din laborator. De asemenea, vor fi procurate materiale cum sunt:

- Truse pentru decontaminare chimică

17. SUBSTANȚE CHIMICE PERICULOASE

- Îmbrăcăminte de protecție (ex: mănuși groase din cauciuc; galoși sau cizme de cauciuc) aparat pentru asistență/protecție respiratorie
- Lopeți și fârașe
- Pense pentru culegerea fragmentelor de sticlă
- Ștergător de pardoseală (mop), cârpe și prosoape de hârtie
- Găleți
- Sodă de rufe (carbonat de sodiu, Na_2CO_3) sau bicarbonat de sodiu (NaHCO_3), pentru neutralizarea acizilor
- Nisip
- Detergent neinflamabil

În cazul unei deversări accidentale a unei substanțe chimice periculoase trebuie luate următoarele măsuri:

- Notificarea evenimentului către responsabilul cu biosiguranța și evacuarea din zonă a personalului care nu este necesar.
- Examinarea și acordarea de îngrijiri medicale persoanelor care ar fi putut fi contaminate.
- Dacă lichidul deversat este inflamabil, se vor stinge toate focurile deschise, se vor închide sursele de gaze din încăperea respectivă și din zonele adiacente și se vor opri echipamentele electrice care pot genera scântei.
- Evitarea inhalării de vapori din lichidul deversat.
- Se va conecta ventilația de aerisire, dacă operațiunea este lipsită de pericole.
- Se va asigura necesarul de materiale și echipamente (vezi mai sus !) pentru a îndepărta substanța chimică deversată.

În eventualitatea unei deversări chimice masive, încăperea trebuie evacuată și ferestrele vor fi deschise dacă este posibil. Dacă materialul deversat este inflamabil, trebuie stinse toate focurile deschise din încăperea respectivă și din cele adiacente; vor fi oprite toate echipamentele electrice care generează scântei.

17.8. Gazele comprimate și lichefiate

Informații privind condițiile de păstrare a gazelor comprimate și lichefiate sunt prezentate în Tabelul 14.

Tabelul 14. Păstrarea gazelor comprimate și lichefiate

Container	Condiții de păstrare
Cilindrii cu gaze comprimate sau buteliile cu gaze lichefiate ^{a,b}	<ul style="list-style-type: none"> • fixați în mod solid de perete (colier / lanț) sau prin intermediul unui suport solid, în așa fel încât să nu poată fi dislocate accidental • transportați cu capacele proprii montate și sprijinite pe inele de cauciuc • cilindrii de rezervă trebuie depozitați într-o altă clădire, la distanță de laborator. Acest loc trebuie ținut încuiat și semnalizat ca atare printr-un afiș. • nu trebuie să fie plasați în vecinătatea surselor de căldură, a focurilor deschise sau lângă echipamentele electrice care generează scântei și trebuie evitată expunerea lor la lumina solară directă.
Cilindrii mici (de unică utilizare) cu gaze ^{a,b}	<ul style="list-style-type: none"> • nu trebuie incinerați

^a Valva principală de presiune înaltă trebuie să fie închisă când echipamentul nu este utilizat și când în încăperea nu este personal care lucrează

^b Camerele în care sunt folosiți sau păstrați cilindri cu gaze inflamabile trebuie marcate prin afișe de avertizare pe uși.

Pentru informații suplimentare vezi referințele bibliografice 1 și 49-51, precum și Anexa 5.

18. Pericole adiționale în laborator

Personalul laboratoarelor se poate confrunta cu pericole generate de diverse forme de energie: foc, electricitate, radiații sau zgomot. Informațiile de bază despre fiecare sunt prezentate în acest capitol.

18.1. Pericolul de incendiu

Strânsa cooperare dintre responsabilul cu biosiguranța și responsabilul local cu prevenirea incendiilor este esențială. În afară de pericolele chimice, trebuie luate în considerare și efectele unui incendiu sub raportul unei posibile diseminări de material infecțios. În funcție de aceasta se poate stabili dacă este mai bine ca focul să fie stins sau izolat (limitat).

Este de dorit colaborarea cu responsabilii locali pentru prevenirea incendiilor, pentru instruirea personalului de laborator cu privire la prevenirea incendiilor, intervenția imediată în caz de incendiu și utilizarea corectă a echipamentului de intervenție împotriva incendiilor.

Avertizările de incendiu, instrucțiunile și căile de evacuare trebuie afișate la vedere, în fiecare încăpere, pe coridoare și căi de acces.

Cele mai frecvente cauze de incendiu în laboratoare sunt:

1. Supraîncărcarea rețelei electrice
2. Întreținerea necorespunzătoare a rețelei / echipamentelor electrice, de exemplu izolația necorespunzătoare și deteriorată a cablurilor
3. Lungimea excesivă a tubulaturii pentru gaze și a cablurilor și prelungitoarelor electrice aparente
4. Echipamente lăsate inutil în funcțiune
5. Echipamente care nu au fost concepute să funcționeze într-un laborator
6. Focul deschis
7. Conductele pentru gaze deteriorate
8. Stocarea / manipularea necorespunzătoare a materialelor inflamabile sau explozive
9. Păstrarea împreună a unor chimicale incompatibile
10. Funcționarea unor echipamente generatoare de scântei în atmosferă de substanțe sau vapori inflamabili
11. Ventilație insuficientă sau inadecvată.

Echipamentul de intervenție împotriva incendiilor trebuie plasat lângă ușile încăperilor și în puncte strategice de pe coridoare și căi de acces. Acest echipament va include furtunuri, găleți cu apă și nisip și un stingător de incendiu. Extinctoarele trebuie inspectate regulat și întreținute corespunzător; trebuie să nu fie depășită perioada de valabilitate înscrisă pe extingător. Utilizările diferitelor tipuri de stingătoare de incendiu sunt prezentate în Tabelul 15.

Tabel 15. Tipuri de stingătoare de incendiu și utilizarea acestora

Tip*	Se utilizează pentru:	Nu se va utiliza pentru:
Apă	Hârtie, lemn, țesături	Incendii electrice, lichide inflamabile, metale arzânde
Dioxid de carbon (CO ₂)	Lichide și gaze inflamabile, incendii electrice	Metale alcaline, hârtie
Pulbere uscată	Lichide și gaze inflamabile, metale alcaline, incendii electrice	Echipament reutilizabil, instrumente (rezidiile sunt foarte greu de înlăturat)
Spumă	Lichide inflamabile	Incendii electrice

* Stingătoarele cu apă sunt propulsate de dioxidul de carbon; stingătoarele cu dioxid de carbon și pulbere trebuie manipulate cu grijă deoarece forța jetului poate împrăști materiale arzânde; încăperile trebuie bine ventilate după utilizarea stingătoarelor care utilizează / generează dioxid de carbon.

Pentru informații suplimentare consultați referința 49.

18.2. Pericole datorate curentului electric

Șocul electric pune în pericol viața; defecțiunile electrice pot cauza incendii. De aceea este esențial ca toate instalațiile și echipamentele electrice să fie inspectate și testate cu regularitate, inclusiv împământarea de electricieni calificați. Personalul de laborator nu trebuie să efectueze nici un fel de reparație a echipamentului electric.

Chiar tensiuni de alimentare joase pot fi uneori periculoase. Trebuie luate întotdeauna precauțiuni pentru a asigura între sursa de alimentare și echipament siguranțe calibrate corect. Întrerupătoarele de circuit și relele de deconectare în caz de absență a împământării trebuie incluse în circuitele electrice ale laboratoarelor.

Notă. Întrerupătoarele de circuit nu protejează personalul; ele au scopul de a evita supraîncălzirea conductorilor și astfel previn incendiile. Împământarea și relele de deconectare în caz de absență a acestora au scopul de a proteja personalul de șocurile electrice.

Toate echipamentele electrice de laborator trebuie să fie prevăzute cu împământare, preferabil cu ștehere cu trei borne. Echipamentele care nu prezintă împământare din construcție trebuie împământate separat. Un echipament fără împământare poate deveni periculos prin apariția accidentală a unui contact electric accidental nedetectat.

Toate echipamentele electrice trebuie să fie conforme cu standardele și codurile naționale de siguranță electrică.

18.3. Zgomotul

Zgomotul excesiv are efect insidios în timp. Unele tipuri de echipamente de laborator, cum ar fi anumite tipuri de aparatură cu laser, precum și facilitățile pentru creșterea și întreținerea animalelor de laborator pot expune personalul la zgomote excesive. Trebuie monitorizată producerea de zgomote pentru identificarea pericolelor ce ar putea fi reprezentate de acestea. Acolo unde datele concrete o justifică, se pot crea bariere fonice în jurul echipamentelor producătoare de zgomot sau între zonele zgomotoase și alte zone ale laboratorului. De asemenea, atunci când nu se poate reduce nivelul zgomotelor și personalul laboratorului este supus constant unor surse sonice nocive se poate recurge la utilizarea unor protecții pentru urechi și se va instaura un program de monitorizare medicală a efectelor zgomotelor asupra celor supuși cronic la efectul lor.

18.4. Radiațiile ionizante

Radioprotecția are ca obiect protejarea oamenilor împotriva efectelor dăunătoare ale radiațiilor ionizante, care includ :

1. Efecte somatice, cum sunt simptomele clinice care apar la indivizii expuși. Printre efectele somatice se numără cancere induse de radiații (leucemii și cancere osoase, de plămâni și ale pielii), care pot debuta la mulți ani de la iradiere, precum și efecte mai puțin severe – afectări ale pielii, căderea părului, tulburări hematologice sau gastrointestinale, precum și formarea de cataractă.
2. Efecte ereditare, cum sunt simptomele observate la descendenții indivizilor expuși. Efectele ereditare ale expunerii gonadelor includ alterări cromosomiale și mutații genice. Iradierea celulelor germinale din gonade cu doze mari de radiații pot duce de asemenea la moarte celulară, ceea ce conduce la infertilitate în cazul ambelor sexe sau la modificări ale ciclului menstrual la femei. Expunerea la radiații a fătului în curs de dezvoltare, cu deosebire în săptămânile 8-15 de sarcină, poate crește riscurile de malformații congenitale, de retardare mentală sau de cancere induse de radiații care apar mai târziu în viața extrauterină.

18.4.1. Principiile activităților de radioprotecție

Pentru a limita efectele nocive ale radiațiilor ionizante, utilizarea de radioizotopi va trebui să aibă loc în condiții controlate și va trebui să se conformeze standardelor naționale corespunzătoare. Protejarea față de radiații va trebui să fie condusă pe baza următoarelor patru principii:

1. Reducerea la minimum a timpului de expunere la radiații ;
2. Creșterea la maximum a distanței până la sursa de radiații ;
3. Ecranarea sursei de radiații cu un scut radioopac;
4. Substituirea utilizării radionuclizilor cu tehnici non-radiometrice.

18.4.2. Activitățile de protecție cuprind următoarele :

1. *Timpul.* Durata de expunere cu ocazia manipulării materialelor radioactive poate fi redus prin :
 - Recurgerea la practicarea, în perioada de formare, a unor tehnici non-radiometrice; abia după stăpânirea acestora se vor folosi radionuclizi;
 - Practicarea tehnicilor radiometrice fără grabă, în mod ordonat și la momentul oportun;
 - Returnarea în spațiul de depozitare a surselor radioactive, imediat după lucru;
 - Evacuarea din laborator a reziduiilor radioactive la intervale cât mai frecvente;
 - Rămânerea în aria radioactivă numai timpul strict necesar;
 - Supravegherea îndeaproape a utilizării timpului și a planificării corespunzătoare a operațiunilor de laborator care presupun manipulări de substanțe radioactive.

Cu cât timpul petrecut în câmpul de radiații este mai redus, cu atât doza de radiații primită de o persoană este mai redusă, după cum reiese din ecuația:

$$\text{Doza} = \text{doza per unitatea de timp} \times \text{timpul}$$

2. *Distanța.* Doza per unitatea de timp este funcție de inversul pătratului distanței până la sursă, pentru cele mai multe radiații γ și X :

$$\text{Doza per unitatea de timp} = \text{constantă} \times 1 / \text{distanța}^2 ;$$

Exemplu : Dublarea distanței până la sursă va duce la o reducere a expunerii la $\frac{1}{4}$ în același interval de timp. Se pot utiliza diferite sisteme sau dispozitive pentru creșterea distanței de manipulare dintre operator și sursa radioactivă – clești, pense, brațe articulate, dispozitive de pipetare, etc.

De notat că o reducere mică a distanței va duce la o reducere mare a dozei efectiv permise.

3. *Bariera.* Ecranarea, adică amplasarea între operatori sau alte persoane din laborator și sursă a unor scuturi / bariere care absorb sau atenuează energia radiațiilor va limita expunerea. Alegerea și grosimea materialelor din care sunt confecționate scuturile depind de abilitatea/capacitatea de penetrare (tipul și energia) radiațiilor. Bariere din material acrilic, lână sau metale ușoare, în grosime de 1,3-1,5 cm se utilizează pentru particulele β de energie înaltă, în timp ce scuturi de plumb, cu densitate înaltă, se utilizează pentru oprirea radiațiilor de energie înaltă γ și X .
4. *Substituția.* Nu se vor utiliza materiale bazate pe radionuclizi, dacă sunt disponibile se poate recurge la alte tehnici în același scop. Dacă substituția nu este posibilă, se vor alege radionuclizii cu puterea de penetrare sau energia cea mai scăzută.

18.4.3. Proceduri de siguranță în timpul lucrului cu radionuclizi

În stabilirea regulilor de lucru cu substanțe radioactive trebuie luate în considerare următoarele patru domenii:

1. *Aria de lucru cu radionuclizi*

- substanțele radioactive se vor utiliza numai în zone special destinate ;
- nu este permisă prezența decât a persoanelor strict necesare;
- se va utiliza echipament de protecție personal (halate, ochelari de protecție, mănuși de unică folosință);
- se va monitoriza expunerea la radiații a personalului ;

Laboratoarele în care se manipulează radioizotopi vor fi astfel concepute și amenajate încât să permită restrângerea ariilor de lucru efectiv și să simplifice la maximum curățarea și decontaminarea. Aria de lucru cu radionuclizi trebuie să fie amplasată într-o încăpere mică adiacentă spațiilor principale ale laboratorului sau într-o arie special destinată în interiorul laboratorului dar separată de alte activități. Semne de avertizare reprezentând sigla internațională pentru pericolul radioactiv vor fi afișate la intrarea în aria cu radiații (Figura 12).

2. *Masa de lucru*

- Se va lucra în tăvi în care a fost așternută hârtie absorbantă de unică utilizare ;
- Se vor limita cantitățile de radionuclizi utilizate ;
- Se vor monta ecrane (scuturi) de radiații pe mesele de lucru și în ariile de colectare de deșeurii radioactive ;
- Containerele cu deșeurii radioactive vor fi marcate cu sigla de radiații, precum și cu identitatea radionuclidului, activitatea lui și data testării ;
- Se vor utiliza detectoare/contoare de radiații pentru monitorizarea ariilor de lucru, echipamentelor de protecție personal și a mâinilor, după terminarea lucrului.

3. *Zona de depozitare a deșeurilor radioactive*

- Deșeurile radioactive vor fi evacuate frecvent din aria de lucru ;
- Pentru transportul deșeurilor se vor utiliza containere cu ecranare corespunzătoare.

4. *Înregistrările și intervențiile de urgență.*

- Se vor realiza și păstra consemnări detaliate privind utilizarea și evacuarea materialelor radioactive ;
- Se vor analiza înregistrările dozimetrice pentru materialele care depășesc normele admise;

18. PERICOLE ADIȚIONALE ÎN LABORATOR

- Se vor alcătui planuri de intervenție în caz de urgență și se vor face periodic exerciții de aplicare ;
- În cazuri de urgență, se va asigura în primul rând asistența persoanelor rănite;
- Ariile contaminate se vor curăța și decontamina cu multă grijă ;
- Se solicită asistența responsabilului cu biosiguranța ;
- Se vor consemna și arhiva toate raportările de incidente.



Figura 12. Simbolul internațional de pericol de radiații

19. Responsabilul cu biosiguranța și comitetul de biosiguranță

Este esențial ca fiecare laborator să aibă stabilită o politică atotcuprinzătoare, un ghid de biosiguranță precum și programe de acțiune pentru aplicarea lor. Responsabilitatea pentru acestea revine directorului / șefului instituției sau al laboratorului, care poate delega unele sarcini responsabilului pentru biosiguranță sau altui personal specializat.

Siguranța muncii în laborator este totodată responsabilitatea tuturor, de la șefi și tehnicieni superiori până la ultimul angajat al laboratorului; fiecare membru al personalului este responsabil atât pentru propria siguranță cât și pentru cea a colegilor de lucru. Fiecare angajat este obligat să-și desfășoare activitatea în condiții de siguranță și să raporteze superiorului orice incident, acțiune sau situație periculoasă.

Este de dorit să se efectueze periodic audituri pe linia protecției muncii prin specialiști proprii sau din afara instituției.

19.1. Responsabilul cu biosiguranța

Oriunde este posibil trebuie numit un responsabil cu biosiguranța pentru a asigura că politicile și programele sunt aplicate cu consecvență în tot laboratorul. Responsabilul cu biosiguranța își execută atribuțiile în numele șefului instituției sau al laboratorului. În unitățile mici, responsabilul cu biosiguranța poate fi un microbiolog sau un membru al personalului tehnic care îndeplinește și aceste atribuții, fiind prevăzut că le consacră o anumită parte din timpul său de lucru.

Indiferent de gradul de implicare în munca de biosiguranță, persoana desemnată trebuie să aibă competența profesională necesară pentru inițierea, monitorizarea și aprobarea unor activități specifice, în concordanță cu procedurile generale de biosecurizare și biosiguranță.

Responsabilul cu biosiguranța trebuie să cunoască și să aplice legile, reglementările și ghidurile naționale și internaționale relevante; de asemenea trebuie să asiste laboratorul în elaborarea propriilor proceduri operaționale standard. Persoana desemnată trebuie să aibă o pregătire de bază în microbiologie și cunoștințe de biochimie, biologie și fizică. Sunt de dorit cunoștințe despre practici de laborator, clinice și de biosiguranță, inclusiv despre echipamente de securizare și informații tehnologice relevante pentru proiectarea, operarea și întreținerea facilităților. Persoana respectivă trebuie să fie capabilă să comunice eficient cu personalul administrativ, tehnic și din serviciile auxiliare.

Activitățile responsabilului cu biosiguranța trebuie să includă următoarele:

- Consultanță tehnică privind biosiguranța și biosecuritatea;
- Efectuarea de audituri interne periodice în domeniul biosiguranței, având ca obiect metodele, procedurile și protocoalele de lucru, agenții biologici, materialele și echipamentele;
- Discutarea încălcărilor protocoalelor sau procedurilor de biosiguranță cu persoanele în cauză;
- Verificarea faptului că toți membrii personalului au fost instruiți corespunzător în probleme de biosiguranță;
- Asigurarea unui program de educație continuă în domeniul biosiguranței;
- Investigarea tuturor incidentelor care implică o posibilă diseminare de materiale infectate sau toxice și raportarea celor constatate și a recomandărilor către șeful de laborator și Comitetul de biosiguranță;
- Conlucrarea cu personalul medical în legătură cu posibilele infecții dobândite în laborator;

- Asigurarea unei decontaminări corespunzătoare, în urma unor scurgeri sau a altor incidente implicând materiale infecțioase;
- Asigurarea gestionării corecte a deșeurilor;
- Asigurarea unei decontaminări corespunzătoare a echipamentelor înainte de a fi supuse unor operații de reparații sau întreținere periodică;
- Menținerea interesului comunității privind problemele de sănătate și de mediu;
- Stabilirea de proceduri adecvate pentru intrarea / ieșirea în/din laborator a materialelor infecțioase patogene în conformitate cu reglementările naționale;
- Analizarea aspectelor de biosiguranță din toate planurile, protocoalele și procedurile operaționale din activitățile de cercetare care implică lucrul cu agenți infecțioși, înainte de începerea efectivă a acestor activități;
- Instituirea unui sistem de intervenție în caz de situații de urgență.

19.2. Comitetul de biosiguranță

Trebuie înființat un comitet de biosiguranță pentru a elabora politicile instituționale în materie de biosiguranță și codurile de practici în domeniu. Comitetul de biosiguranță trebuie, de asemenea, să analizeze protocoalele de cercetare care implică utilizarea de agenți infecțioși, animale de laborator, ADN recombinant și materiale modificate genetic. Alte funcții ale comitetului pot include evaluarea riscurilor, formularea unor noi politici de biosiguranță și arbitrajul în disputele referitoare la probleme de biosiguranță.

Componența comitetului de biosiguranță trebuie să reflecte diversele arii de activitate și nivelul de competență științifică ale instituției.

Componența de bază a unui comitet de siguranță ar trebui să includă :

1. Responsabilul (ii) cu biosiguranța;
2. Personal științific;
3. Personal medical;
4. Veterinar (i) (dacă se lucrează cu animale);
5. Reprezentanți ai personalului tehnic;
6. Reprezentanți ai conducerii laboratorului.

Comitetul de biosiguranță trebuie să solicite sfatul responsabililor pentru siguranță din diferitele departamente (ex. specialiști în radioprotecție, securitatea muncii în industrie, prevenirea incendiilor, etc.), iar în unele situații se poate solicita asistența unor experți independenți din diferite domenii apropiate de activitate, a autorităților locale și a organismelor naționale de reglementare. Participarea unor membri ai comunităților locale poate fi de asemenea utilă, mai ales dacă există chestiuni controversate în dezbatere.

20. Reguli de siguranță pentru personalul auxiliar

Într-un laborator, desfășurarea activității în condiții optime și de siguranță depinde, în mare măsură, de personalul auxiliar și, de aceea, este esențial ca acesta să fie bine instruit asupra regulilor de siguranță care trebuie respectate pentru o astfel de activitate.

20.1 Personalul tehnic și de întreținere a clădirii

Personalul tehnic care se ocupă cu întreținerea și repararea clădirii, instalațiilor și echipamentelor trebuie să aibă anumite cunoștințe legate de natura activității laboratorului respectiv, să cunoască normele și procedurile de biosiguranță.

Testarea echipamentului după verificare trebuie făcută și/sau supravegheată de responsabilul cu biosiguranța (de exemplu: testarea eficienței HSB după instalarea unor filtre noi).

Laboratoarele sau instituțiile care nu au tehnicieni și servicii de întreținere proprii, trebuie să-și asigure colaborarea cu tehnicieni abilitați existenți în localitate pe care să îi pună la curent cu dotarea și condițiile de lucru din laborator.

Inginerii și personalul de întreținere vor avea acces în laboratoarele cu grad de biosiguranță de Nivel 3 sau de Nivel 4 numai cu aprobarea și sub supravegherea responsabilului cu biosiguranța și/sau a șefului laboratorului.

20.2. Personalul responsabil cu menținerea curățeniei

În laboratoarele cu grad de biosiguranță de Nivel 3 și Nivel 4, curățenia este de preferat să fie făcută de personalul laboratorului. Personalul angajat pentru curățenie va avea acces în laboratoarele de Nivel 3 sau de Nivel 4 numai cu aprobarea și sub supravegherea responsabilului cu biosiguranța și/sau a șefului laboratorului.

21. Programele de instruire

Un program continuu de instruire privind protecția la locul de muncă este esențial pentru menținerea vigilenței personalului laboratorului și a personalului auxiliar în domeniul biosiguranței. Șefii de laborator, cu ajutorul responsabilului cu biosiguranța și a altor persoane calificate au un rol cheie în instruirea personalului. Eficiența instruirii privind biosiguranța, de fapt întreaga instruire privind protecția personală și menținerea sănătății, depinde de implicarea echipei de conducere, de factori motivaționali, instructajul profesional inițial adecvat, relațiile de comunicare bune și, în ultimă instanță, de țelurile și obiectivele instituției. În cele ce urmează vor fi prezentate elementele critice ale unui program eficace de instruire privind biosiguranța.

1. Evaluarea necesităților

Acest proces include definirea sarcinilor identificate, în ordinea importanței lor (frecvență, grad de risc, complexitate) și anumite detalii privind etapele ce trebuie parcurse pentru realizarea acestora.

2. Stabilirea obiectivelor instruirii

Acestea sunt deprinderi corecte pe care cel instruit va trebui să demonstreze, după instruire, că și le-a însușit, în timpul muncii. Obiectivele pot preciza condițiile în care se desfășoară anumite activități sau deprinderi și nivelul cerut de competență.

3. Precizarea conținutului și mijloacelor de desfășurare a instruirii.

Conținutul este reprezentat de cunoștințele sau aptitudinile pe care persoanele instruite trebuie să și le însușească și care să-i permită atingerea obiectivelor urmărite în materie de comportament. Acele persoane, care-și cunosc cel mai bine profesia și cerințele acesteia, sunt cele mai în măsură pentru a defini conținutul programului de instruire privind biosiguranța. Alte metode folosite trebuie să se concentreze pe includerea unor exerciții menite a înlesni rezolvarea problemelor sau pe imaginarea unor mijloace educative menite să ducă la corectarea greșelilor constatate la aplicarea unor tehnici. Nu este evident că o anumită metodă de învățare (lectură, cursuri televizate, programe pe calculator, cursuri video interactive etc.) este mai bună decât alta. Foarte multe depind de necesitățile specifice ale instructajului, de componența grupului care este instruit, etc.

4. Stabilirea diferențelor individuale de instruire

Instruirea efectivă trebuie să țină seama de particularitățile și calitățile persoanelor instruite. Indivizii și grupurile pot diferi în ceea ce privește aptitudinile, gradul de instruire, cultură, limba vorbită și nivelul deprinderilor profesionale preexistente instruirii. Modul în care este perceput programul de instruire de către participanți, ca un mijloc de a-și îmbunătăți performanțele profesionale sau securitatea personală, va influența substanțial modalitatea de instruire. Unii învață mai bine prin metoda vizuală, alții prin practica directă, alții prin studierea unor materiale scrise.

Cursurile trebuie să se adreseze în egală măsură angajaților cu probleme speciale, de aceea trebuie adaptate, de exemplu pentru cei cu defecte de auz. În plus, se recomandă ca toți cei care concep și desfășoară programe de instruire pe probleme de biosiguranță, să fie familiarizați cu metodele, principiile de pedagogie pentru învățare în cazul adulților.

5. Adaptarea modalităților de instruire

Modalitățile de instruire: curs, proiecții, materiale scrise, etc. nu trebuie să vină în conflict, să genereze reacții negative sau să nu fie adaptate temei abordate. De exemplu, dacă scopul activității de instruire este acela de a dezvolta capacitatea de rezolvare a problemelor survenite, atunci ar trebui să fie stimulată mai mult gândirea/judecata/reacția promptă în cunoștință de cauză, decât memorizarea mecanică. Instruirea ar trebui să stimuleze un comportament practic și/sau un feedback corespunzător (pozitiv/precis/credibil). În plus, programele de instruire care furnizează informații pentru practică, în condiții similare celor de la locul de muncă, vor stimula transferul deprinderilor și cunoștințelor dobândite la actualul loc de muncă.

6. Evaluarea instruirii

Aceasta furnizează informații care ajută să se aprecieze în ce măsură instruirea a avut efectul scontat. Evaluările instruirilor sunt în general de patru feluri:

- evaluarea reacției cursanților la tematica și conținutul instructajului
- estimarea cunoștințelor asimilate și/sau a noilor performanțe ale cursanților
- estimarea schimbărilor de comportament la locul de muncă
- evaluarea unor rezultate tangibile obținute în raport cu obiectivele și țelurile organizatorilor

Cea mai completă evaluare a instruirii presupune cumularea celor patru modalități menționate.

Cea mai puțin eficientă metodă de evaluare este să se ia în considerare numai reacția cursanților la tematica instructajului, deoarece aceasta poate să nu coincidă cu aplicarea la locul muncă a informațiilor primite și deci cu eficacitatea reală a instructajului. Aceasta nu trebuie să constituie unicul criteriu pentru aprecierea eficienței.

7. Revizuirea instruirii

Evaluarea unei instruirii arată rareori că un program de instruire a avut succes deplin sau a fost un eșec total, datorită utilizării unui număr mare de criterii pentru măsurarea rezultatelor. De obicei, datele indică o mai bună înțelegere, reținere sau aplicare a unor părți din curs, comparativ cu altele. Diferențele sau lipsurile în cunoștințele sau competențele care ar fi trebuit să fie însușite în timpul instruirii, arată necesitatea unei prelungiri a timpului de instruire, a folosirii unor tehnici alternative sau a unor instructori mai eficienți.

OMS furnizează o gamă variată de materiale pentru instruirea în domeniul siguranței microbiologice.

22. Lista de examinare privind siguranța

Prezenta listă-chestionar de examinare este destinată să servească la evaluarea preocupărilor unui laborator biomedical dat în domeniul biosiguranței și al biosecurității.

Încăperile în care este instalat laboratorul

1. S-au respectat criteriile de calificare și certificare atunci când s-a construit, respectiv când s-a reevaluat localul ?
2. Localul corespunde cerințelor naționale și locale pentru construcții, inclusiv cele referitoare la precauțiile în caz de dezastru naturale, acolo unde este cazul ?
3. Căile de acces sunt bine semnalate și accesibile ?
4. Localul este curat ?
5. Există vicii de structură la nivelul pardoselii ?
6. Pardoseala și scările sunt netede, uniforme și nealunecoase ?
7. Spațiul de lucru permite realizarea activităților în condiții de siguranță ?
8. Spațiile de acces și coridoarele sunt adecvate pentru deplasarea persoanelor și a unor echipamente de mari dimensiuni ?
9. Mesele de lucru, mobilierul și instalațiile sunt în stare bună ?
10. Suprafețele de lucru sunt rezistente la solvenți și substanțe corozive ?
11. Există câte o chiuvetă pentru spălarea mâinilor în fiecare cameră ?
12. Clădirile sunt construite și întreținute astfel încât să prevină pătrunderea și cuibărirea rozătoarelor și insectelor ?
13. Părțile expuse ale conductelor de abur și apă fierbinte sunt izolate sau mascate pentru a asigura protecția personalului ?
14. Există un generator electric autonom pentru cazurile de întrerupere a curentului ?
15. Poate fi restricționat accesul în laborator, acesta fiind permis numai persoanelor autorizate ?
16. A fost făcută o evaluare a riscului pentru a se asigura că echipamentul și facilitățile sunt adecvate pentru desfășurarea activităților prevăzute ?

Facilitățile și condițiile de depozitare

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

Instalații sanitare și dependențe pentru personal

1. Încăperile și dotările sunt menținute curate, în ordine și corespunzătoare din punct de vedere sanitar ?
2. Există apă potabilă ?
3. WC-urile și dușurile sunt adecvate, curate, în bună stare ? Există WC-uri și dușuri separate pentru bărbați și femei ?
4. Există apă rece, caldă, săpun și prosoape ?

5. Sunt vestiare pentru bărbați și femei ?
6. Există spații (de ex. dulapuri) individuale pentru hainele de stradă ?
7. Există o cameră în care se poate mânca, bea cafea etc ?
8. Nivelul zgomotului este acceptabil ?
9. Depozitarea și evacuarea gunoierului menajer se face în mod corespunzător ?

Încălzire și ventilație

1. Temperatura la locul de muncă este în limitele confortului termic ?
2. Ferestrele sunt protejate de soare prin jaluzele ?
3. Este asigurată o ventilație adecvată (ex: minimum 6 schimburi ale aerului /oră), mai ales în camerele cu sistem mecanic de ventilație ?
4. Sistemul de ventilație este prevăzut cu filtre HEPA ?
5. Ventilația mecanică perturbă fluxul de aer laminar în interiorul sau în jurul hotelor de securitate biologică sau al hotelor de protecție chimică ?

Iluminare

1. Iluminarea este adecvată (ex. 300 – 400 lx.) ?
2. Există iluminare locală la nivelul meselor de lucru ?
3. Este asigurată o iluminare uniformă, fără locuri întunecoase sau slab luminate în încăperi sau pe coridoare ?
4. Lămpile fluorescente sunt dispuse paralel cu mesele de lucru ?
5. Lumina lămpilor fluorescente este corespunzătoare cromatic (compensată) ?

Servicii

1. Este fiecare încăpere a laboratorului prevăzută cu suficiente chiuvete, apă, prize de electricitate și guri de gaz pentru a permite desfășurarea activității în condiții de securitate ?
2. Există programe adecvate de întreținere curentă și inspecție periodică pentru siguranțe, prize, instalații de iluminat, cabluri, conducte, etc. ?
3. Defecțiunile sunt remediate în timp optim ?
4. Există un serviciu tehnic propriu de reparații și întreținere, cu personal calificat, care să aibă cunoștințe referitoare la activitatea specifică de laborator ?
5. Accesul personalului de întreținere în diferite zone ale laboratorului este controlat și consemnat ?
6. Dacă nu există un serviciu tehnic și de întreținere propriu, au fost contactate firme de reparații și întreținere care să se fi familiarizat cu echipamentele și activitatea din laborator ?
7. Există o unitate pentru întreținerea curățeniei ?
8. Accesul personalului pentru curățenie în diferite zone ale laboratorului este controlat și consemnat ?
9. Sunt asigurate serviciile IT în condiții de securizare ?

Măsuri de biosecuritate

1. A fost făcută o evaluare calitativă a riscurilor pentru care este necesar un sistem de alarmă ?
2. S-a făcut o evaluare a riscurilor și au fost stabilite planuri de intervenție conform priorităților ?
3. Întreaga clădire rămâne încuiată în afara programului de lucru ?
4. Ușile și ferestrele sunt asigurate împotriva spargerilor ?
5. Accesul în încăperile în care se află materiale periculoase sau aparatură scumpă este controlat și consemnat ?
6. În afara programului aceste încăperi sunt încuiate ?

22. LISTA DE EXAMINARE PRIVIND SIGURANȚA

Prevenirea și combaterea incendiilor

1. Există un sistem de alarmă în caz de incendiu ?
2. Ieșirile de incendiu sunt accesibile ?
3. Sistemul de detectare a incendiilor există, funcționează și este testat periodic ?
4. Există monitorizare din partea echipelor de pompieri ?
5. Ieșirile sunt semnalizate luminos în mod adecvat ?
6. Drumul către ieșire este marcat atunci când nu este evident ?
7. Toate ieșirile sunt accesibile și descuiate în timpul programului ?
8. Există ieșiri ascunse de elemente de decor, mobilă sau aparatură ?
9. Accesul către ieșiri este asigurat în așa fel încât să nu fie necesară traversarea unor zone periculoase ?
10. Toate ieșirile conduc spre spații deschise ?
11. Coridoarele, spațiile de trecere și holurile sunt libere și fără obiecte care să împiedice deplasarea personalului și folosirea mijloacelor destinate stingerii incendiilor ?
12. Echipamentul pentru stingerea incendiilor este ușor de identificat printr-un cod de culori adecvat ?
13. Stingătoarele de incendiu portabile sunt încărcate cu regularitate, funcționează și se află în permanență în locurile special desemnate ?
14. Încăperile cu risc potențial de incendiu sunt echipate cu stingătoare și/sau echipamente contra incendiilor ?
15. În cazul în care într-o încăpere se folosesc lichide și gaze inflamabile, ventilația mecanică este suficientă pentru a elimina vaporii înainte de atingerea unei concentrații periculoase ?
16. Personalul este instruit pentru a interveni în caz de incendiu ?

Stocarea lichidelor inflamabile

1. Depozitul de lichide inflamabile este separat de clădirea principală ?
2. Depozitul de substanțe inflamabile este clar semnalizat ca zonă cu risc de incendiu ?
3. Are un sistem de ventilație propriu, care să fie separat de clădirea principală ?
4. Comutatoarele electrice sunt protejate sau plasate în afara depozitului ?
5. Instalația de iluminat este asigurată împotriva aprinderii eventualelor vapori prin scânteie ?
6. Lichidele inflamabile sunt păstrate în containere adecvate, ventilate, construite din materiale neinflamabile ?
7. Conținutul containerelor este corect menționat pe etichetă ?
8. Stingătoarele, păturile ignifuge și alte echipamente contra incendiilor există și sunt plasate în afara, dar în imediata apropiere a depozitului ?
9. Inscricțiunile care interzic fumatul se află la vedere în afara și în interiorul depozitului de lichide inflamabile ?
10. În laborator sunt stocate numai cantități minime de substanțe inflamabile ?
11. Sunt acestea ținute în spații special amenajate, destinate substanțelor inflamabile ?
12. Aceste spații poartă inscripțiile « Lichide inflamabile-Pericol de incendiu » ?
13. Personalul este instruit pentru manipularea și folosirea corectă a lichidelor inflamabile ?

Gazele comprimate și lichefiate

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

7. Cilindrii (buteliile) cu gaz lichefiat și rezervoarele de produse petroliere lichide sunt ferite de sursele de căldură ?
8. Personalul este corect instruit pentru a folosi și transporta corect gazele comprimate și lichefiate ?

Pericole de natură electrică

1. Toate instalațiile electrice noi, înlocuirile, modificările și reparațiile sunt făcute în conformitate cu normele naționale de siguranță ?
2. Instalația electrică are împământare ?
3. Sunt protejate toate circuitele din laborator cu siguranțe, siguranțe de împământare și dispozitive de deconectare de la rețea ?
4. Dispozitivele electrice existente sunt avizate pentru a fi folosite în laborator ?
5. Cordoanele electrice ale aparatelor au lungime adecvată (sunt contraindicate cablurile prea lungi), sunt în bună stare și lipsite de uzuri, crăpături și tăieturi ?
6. Este fiecare priză destinată unui singur aparat ? (nu se recomandă folosirea de prize multiple)

Echipamentul de protecție pentru personal

1. Există echipament de protecție specific pentru întreg personalul, ex. mănuși, halate, șorțuri, salopete ?
2. Există echipament special pentru lucrul cu substanțe chimice, radioactive și cancerigene (șorțuri de cauciuc, mănuși pentru chimicale); există mănuși rezistente la căldură pentru descărcarea autoclavelor și pupinelelor ?
3. Există ochelari de protecție, măști, scuturi (vizoare) transparente pentru față ?
4. Există dispozitive pentru spălarea ochilor ?
5. Există dușuri pentru situații de urgență ?
6. Protecția împotriva radiațiilor se realizează conform standardelor naționale și internaționale, inclusiv existența dozimetrelor ?
7. Există măști de gaze curățate, dezinfectate și controlate cu regularitate; sunt ele păstrate la îndemână și în condiții igienice ?
8. Există filtre corespunzătoare tipurilor de măști (ex: filtre HEPA pentru microorganisme, filtre adecvate pentru gaze sau particule) ?
9. Măștile de gaze individuale au fost testate pentru etanșeitate pe fața persoanelor respective ?

Protecția și starea de sănătate a personalului

1. Există un serviciu de medicină profesională pentru personal ?
2. Trusele de prim ajutor sunt plasate în locuri accesibile ?
3. Există personal calificat pentru a acorda primul ajutor ?
4. Aceștia sunt instruiți pentru a face față situațiilor de urgență specifice laboratorului (contact cu substanțe corozive, ingestie accidentală de substanțe toxice sau infectante) ?
5. Personalul auxiliar (de ex. personalul care face curățenia și cel administrativ) a fost instruit asupra riscurilor potențiale pe care le prezintă laboratorul și materialele pe care le manipulează ?
6. Sunt afișate anunțuri vizibile cuprinzând numele persoanelor care pot acorda primul ajutor și telefoanele serviciilor de urgență ?
7. Femeile de vârstă fertilă sunt informate despre riscurile și consecințele posibile pe care le implică lucrul cu substanțe carcinogene, mutagene, teratogene și cu bacterii ?
8. Femeile de vârstă fertilă care bănuiesc sau sunt sigure că sunt însărcinate știu că trebuie să-și informeze șefii în scopul eventualei schimbări a locului de muncă pe perioada sarcinii ?
9. Există un program de imunizări adaptat specificului laboratorului ?
10. Se efectuează teste cutanate și radiologice pentru cei care lucrează în condiții de risc TBC sau alte

22. LISTA DE EXAMINARE PRIVIND SIGURANȚA

teste specifice pentru alte infecții ?

11. Există o evidență a bolilor profesionale și a accidentelor de muncă ?
12. Există semnale, sigle și afișe de avertizare pentru prevenirea și reducerea riscului de accidente ?
13. Personalul este instruit pentru respectarea precauțiilor de biosiguranță ?
14. Personalul este încurajat să raporteze expunerile potențiale ?

Echipamentul de laborator

1. Întregul echipament a fost certificat ca sigur pentru folosire și autorizat sub raportul folosirii în condiții de securitate ?
2. Există proceduri scrise pentru decontaminarea echipamentului înainte de a fi supus operațiunilor de întreținere ?
3. Hotele de siguranță biologică și hotele de protecție chimică sunt întreținute și verificate periodic ?
4. Autoclavele și alte aparate care funcționează sub presiune sunt verificate periodic ?
5. Rotoarele și port-cuvele centrifugilor sunt verificate periodic ?
6. Filtrele HEPA sunt înlocuite periodic ?
7. Se folosesc pipete în locul acelor de seringă ?
8. Sticlăria ciobită sau crăpată este întotdeauna aruncată și nu refolosită ?
9. Există containere speciale pentru sticlăria spartă ?
10. Se folosește de preferință material plastic în locul sticlăriei ori de câte ori este posibil ?
11. Se folosesc containere speciale pentru obiecte înțepătoare/ tăietoare folosite ?

Materiale infecțioase

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

Chimicale și substanțe radioactive

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

4. Exista truse pentru curățarea/neutralizarea chimicalelor vărsate ?
5. Personalul este instruit cu privire la măsurile ce trebuie luate în cazul scurgerilor sau vărsării de chimicale periculoase ?
6. Substanțele inflamabile sunt depozitate corect și în siguranță în cantități minime în locuri securizate ?
7. Există cărucioare/suporturi pentru transportul sticlelor ?
8. Există un responsabil cu protecția împotriva radiațiilor, sau un manual de referință la îndemâna personalului, spre consultare ?
9. Personalul este instruit corespunzător pentru lucrul cu substanțe radioactive ?
10. Există evidențe și înregistrări corecte ale stocurilor și consumurilor de substanțe radioactive folosite ?
11. Există ecrane de protecție împotriva radiațiilor ?
12. Este monitorizat gradul de iradiere al personalului ?

Anexa 1

Primul-ajutor

Primul ajutor în caz de expunere accidentală la material real / potențial infecțios constă în aplicarea imediat după eveniment, de către o persoană avizată, a tratamentului medical adecvat, chiar la locul producerii accidentului.

Primul ajutor se acordă respectând metoda aprobată pentru o anumită expunere, urmând ca îngrijirile să fie continuate de către un medic de specialitate pentru tratarea consecințelor accidentului.

Echipamentul minim necesar pentru acordarea primului ajutor constă în:

1. Trusa de prim-ajutor,
2. Îmbrăcăminte de protecție și echipament de siguranță pentru persoana care asigură primul ajutor,
3. Echipament de irigare oculară.

1. Trusa de prim-ajutor

Trusa de prim-ajutor va fi confecționată din materiale care să asigure protecția conținutului împotriva prafului și a umidității. Trusa va fi păstrată la loc vizibil, ușor de recunoscut și de accesat. Prin convenție internațională, trusa de prim-ajutor este identificată printr-o etichetă cu o cruce albă pe fond verde.

Trusa de prim-ajutor trebuie să conțină:

1. Instrucțiuni generale de utilizare și lista de inventar a acesteia
2. Comprese sterile de diferite dimensiuni, în ambalaje individuale
3. Comprese sterile oculare cu bandaje de atașare
4. Comprese triunghiulare
5. Comprese sterile de acoperire a rănilor
6. Ace cu siguranță
7. Feșe sterile simple
8. Ghid / manual de acordare a primului-ajutor calificat, de exemplu, editat de Crucea Roșie Internațională.

2. Echipamentul pentru protecția celui care acordă primul-ajutor

1. Piesa pentru respirația „gură-la-gură”
2. Mănuși de cauciuc și alte mijloace de protecție împotriva expunerii la sânge.
3. Trusa de curățenie/neutralizare a dispersărilor de sânge (vezi Capitolul 14).

3. Echipamentul de irigare oculară

Echipamentul de irigare oculară trebuie să fie la îndemână, iar personalul bine instruit pentru utilizarea sa corectă.

Procedurile de prim ajutor după expunerea accidentală la material infecțios

1. Înțeparea, tăierea, zgârierea, abraziunea accidentală

- Consideră ca fiind un risc de expunere semnificativ orice leziune cu corpuri ascuțite, tăioase, chiar dacă nu sunt urme de sânge vizibile la locul leziunii și tegumentul nu pare a fi fost lezat serios.
- Spală imediat abundent zona afectată cu un jet de apă, apoi cu apă și săpun.
- Dezinfectează zona cu un antiseptic activ, eficient, proaspăt preparat; aplică un pansament steril dacă este necesar.
- Raportează incidentul șefului de laborator și medicului epidemiolog-infecționist.

2. Contactul accidental cu material infecțios

Categoria include orice contact neprotejat al tegumentului prezentând soluții de continuitate, a mucoasei bucale, nazale sau a globului ocular cu material potențial infecțios.

- Spală abundent imediat zona tegumentară cu jet de apă și săpun. Folosește doar apă pentru cavitatea bucală și, respectiv, ser fiziologic steril pentru globul ocular.
- Raportează imediat incidentul șefului de laborator și medicului epidemiolog / infecționist.

3. Acțiuni imediate după expunerea accidentală

Indiferent de potențialii agenți microbieni patogeni, conținuți de materialul infecțios implicat în expunerea accidentală potențial infectantă, se impun câteva măsuri imediate:

- Se va preleva o probă de sânge de la accidentat pentru testări de bază (afirmarea / infirmarea unei / unor infecții preexistente accidentului cu etiologie: HBV +/- HDV, HCV, HIV, Treponema pallidum, etc.).
- O contraprobă de ser se va păstra în congelator pentru investigații suplimentare.
- Se va preleva (dacă este posibil) o probă de sânge de la subiectul de la care provine materialul biologic potențial infectios (teste paralele cu accidentatul).

Rațiunea pentru care se fac aceste prelevări este de :

- a stabili caracterul profesional / neprofesional al unei / unor îmbolnăviri ulterioare;
- a se adopta o atitudine terapeutică imediată, rațională și eficientă față de accidentat;
- a stabili durata de urmărire/ supraveghere clinică și de laborator a accidentatului (în general, pe durata maximă de incubație a agentului/ agenților infecțioși potențial / real existenți în materialul infecțios implicat în accident.
- În cursul investigării unei izbucniri epidemice, trebuie stabilite proceduri adecvate, specifice, de prevenție și tratament și de urmărire pe durata maximă de incubare (pentru agentul etiologic incriminat) a personalului implicat în acțiune.
- În cursul unei izbucniri epidemice suspectate de a fi o febră hemoragică, personalul implicat în investigarea focarului va fi monitorizat de două ori pe zi, timp de trei săptămâni, pentru starea generală și temperatură.
- Dacă un detaliu procedural este identificat drept cauza generatoare a accidentului, este necesar a se întreprinde o acțiune corectivă.

Anexa 2

Imunizarea personalului

Evaluarea riscurilor pe care le implică lucrul cu diferiți agenți microbieni trebuie să facă obiectul unor discuții amănunțite cu specialiștii în domeniu.

Disponibilitatea și existența autorizațiilor de punere pe piața locală, avizarea de către Ministerul Sănătății și utilitatea unor vaccinuri și/sau medicamente (în special antibiotice) pentru cazurile de expunere accidentală trebuie să fie evaluate și luate în considerare atunci când se intenționează a se lucra cu anumiți agenți microbieni.

De asemenea, screening-ul serologic prealabil al personalului expus la un anumit risc infecțios (când este disponibil un vaccin specific) se impune înaintea unei vaccinări, deoarece poate depista starea de imunitate dobândită (vaccinări, infecții anterioare) a unei părți a personalului pentru care vaccinarea este inutilă.

Dacă un vaccin / anatoxină este avizat de Ministerul Sănătății și este disponibil, vaccinarea personalului va fi efectuată abia după evaluarea riscului unei posibile expuneri accidentale și după evaluarea clinică a stării de sănătate a personalului vizat.

Va fi luată în considerare și existența / accesibilitatea la servicii clinice de specialitate pentru managementul cazurilor posibile de expuneri accidentale la agenți microbieni.

Anexa 3

Centre colaboratoare ale OMS în domeniul biosiguranței

Informații în privința cursurilor de instruire și a materialelor informative de profil disponibile pot fi obținute prin solicitare în scris de la oricare dintre următoarele:

- Biosafety programme, Department of Communicable Disease Surveillance and Response, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland
(<http://www.who.int/csr/>).

- WHO Collaborating Centre for Biological Safety, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Nobels Väg 18, S-171 82 Solna, Sweden
(<http://www.smittskyddsinstitutet.se/English/english.htm>).

- WHO Collaborating Centre on Biosafety Technology and Consultative Services, Office of Laboratory Security, Health Canada, 100 Colonnade Road, Loc.: 6201A, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0K9
(<http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/ols-bsl>).

- WHO Collaborating Centre for Applied Biosafety Programmes and Training, Office of Health and Safety, Centers for Disease Control and Prevention, 1600 Clifton Road, Mailstop F05, Atlanta, GA 30333, USA
(<http://www.cdc.gov/>).

- WHO Collaborating Centre for Applied Biosafety Programmes and Research, Division of Occupational Health and Safety, Office of Research Services, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, 13/3K04 13 South Drive MSC 5760, Bethesda, MD 20892-5760, USA
(<http://www.nih.gov/>).

- WHO Collaborating Centre for Biosafety, Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, 10 Wreckyn St, Nth Melbourne, Victoria 3051, Australia. Postal Address: Locked Bag 815, PO Carlton Sth, Victoria 3053, Australia
(<http://www.vidrl.org.au/>).

Anexa 4

Siguranța microbiologică a echipamentelor

În cursul utilizării, anumite echipamente pot genera pericole de contaminare microbiologică.

Alte echipamente sunt concepute special pentru a preveni sau reduce riscurile de contaminare microbiologică (vezi Capitolul 11).

Echipamente care pot genera pericole de contaminare microbiologică

În Tabelul A4-1 sunt cuprinse echipamentele și operațiunile care pot genera pericole de contaminare microbiologică precum și sugestii privind modul în care pot fi eliminate sau reduse aceste riscuri.

Tabel A4-1. Echipamente și operațiuni care pot genera pericole

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

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Echipament	Riscul	Măsurile de eliminare sau reducere a riscului
Ultracentrifuga	Aerosoli, stropire și spargerea cupelor	<ul style="list-style-type: none"> • Instalați un filtru HEPA între centrifugă și pompa de vid • Înregistrați orele de funcționare pentru fiecare rotor și respectați un program preventiv de supraveghere a funcționării (service) pentru a reduce riscul unor defecțiuni mecanice. • Umpleți și goliți cupele într-o HSB
Excitoare pentru anaerobioză	Explozie, răspândire de materiale infecțioase	<ul style="list-style-type: none"> • Asigurați-vă de integritatea capsulei din sârmă din jurul catalizatorului
Desicatoare	Implozie, dispersarea fragmentelor de sticlă și materiale infecțioase	<ul style="list-style-type: none"> • Așezați-le într-o cușcă rezistentă din plasă de sârmă
Omogenizatoare, aparate pentru fragmentarea țesuturilor	Aerosoli, scurgeri și spurgeri ale containerului	<ul style="list-style-type: none"> • Efectuați operațiunile și deschideți echipamentul în HSB • Folosiți modele special concepute care previn scurgeri pe la garniturile pieselor rotative sau ale capacelor sau folosiți aparate cu incinte etanșe • Înainte de a deschide omogenizatorul așteptați 30 min, pentru a permite aerosolilor să se depună. Refrigerarea condensează aerosolii • Dacă folosiți un omogenizator manual, înfășurați tubul într-un material absorbant
Sonicatori și băi cu ultrasunete	Aerosoli, tulburări auditive, dermatite	<ul style="list-style-type: none"> • Efectuați operațiunile și deschideți echipamentul în HSB • Asigurați izolarea împotriva ultrasunetelor • Utilizați mănuși pentru a vă proteja împotriva efectelor chimice ale detergenților
Agitatoare pentru culturi, shakere, mixere	Aerosoli, stropire, vărsare	<ul style="list-style-type: none"> • Efectuați operațiunile în HSB sau în nișe speciale • Utilizați pentru culturi recipiente solide, închise etanș, cu capac înșurubat, prevăzute cu filtre protectoare, dacă este necesar, și bine securizate.
Liofilizatoare	Aerosoli și contaminare prin contact direct	<ul style="list-style-type: none"> • Utilizați filtre de aer pentru a proteja dispozitivul de vid • Utilizați o metodă eficientă de decontaminare, de ex. chimică • Asigurați-vă de existența unor capcane pentru umezeală și a unui condensator de vapori. • Inspectați atent toate recipientele din sticlă pentru vid pentru a observa eventuale zgârieturi sau crăpături. Utilizați numai sticlărie special concepută pentru vid
Băi de apă	Creșterea microorganismelor Formarea de compuși explozivi ai azidei de sodiu cu anumite metale	<ul style="list-style-type: none"> • Asigurați curățarea și dezinfectia periodică • Nu utilizați azida de sodiu pentru a preveni creșterea microorganismelor

Pe lângă riscurile microbiologice, riscurile produse de echipament trebuie anticipate și prevenite. Tabelul A4-2 prezintă câteva cauze ale accidentelor generate de echipamente.

Tabel A4-2. Cauze mai frecvente ale accidentelor generate de echipamente

Accident	Cauza accidentului	Măsuri de reducere sau eliminare a riscului
Concepere sau construcție greșită		
Fire electrice în incubatoare	Creșterea necontrolată a temperaturii.	• Respectarea standardelor naționale
Electrocutări	Împământare defectuoasă	
Utilizare improprie		
Accidente de centrifugare	Neechilibrarea cupelor	• Instruirea și supravegherea personalului
Explozia incubatoarelor pentru anaerobioză	Utilizarea unui gaz necorespunzător	• Instruirea și supravegherea personalului
Adaptare improprie		
Explozie în recipiente sub vid de uz casnic	Transportul impropriu al azotului lichid	• Utilizarea unui echipament corespunzător
Explozie în frigidere de uz casnic	Chimicale periculoase depozitate în containere nerezistente la aprindere și explozii. Ex : eter în recipient cu dop înșurubat care permite scurgerea	• Păstrarea solvenților și extractelor cu punct de aprindere scăzut numai în frigidere și containere rezistente la aprindere și explozii
Întreținere incorectă		
Foc în flam-fotometru	Incorecta reasamblare a componentelor cu ocazia reparațiilor și operațiunilor de întreținere	• Instruirea și supravegherea personalului

Substanțele chimice: pericole și precauții

Această anexă cuprinde informații de bază cu privire la sănătate și siguranță, informații și precauții de protecție referitoare la o listă selectată de substanțe chimice folosite în mod obișnuit în laboratoarele de sănătate publică și în cele de cercetare medicală. Această listă nu este exhaustivă, absența din ea a unei anumite substanțe chimice nu implică și faptul că aceasta nu este periculoasă. Toate substanțele chimice din laborator trebuie manipulate cu atenție și de o manieră care să minimalizeze riscurile de expunere.

Tabel A5-1. Substanțe chimice: pericole și precauții

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Acetaldehida CH_3CHO	Lichid incolor sau gaz cu miros înțepător, aromă de fructe; punct topire -121°C , punct fierbere 21°C .	Iritație moderată a ochilor și tractului respirator. Afectează SNC, tractul respirator, rinichii. Posibil carcinogen.	Extrem de inflamabil; amestecul vapori / aer este explozibil; punct de aprindere -39°C , interval inflamabil 4-57%.	Se vor evita flacăra deschisă, scânteele, fumatul, contactul cu suprafețe fierbinți. Se stochează în recipiente închise ermetice, la distanță de oxidanți; se stochează doar dacă este stabilizat. Se va lucra în nișa de protecție chimică sau în spații bine ventilate, cu mănuși din cauciuc, ochelari de protecție și protecție respiratorie.	În contact cu aerul poate forma peroxizi explozibili. Poate polimeriza sub influența acizilor, materialelor alcaline, în prezența urmelor de metale. Agent puternic reducător, reacționează violent cu oxidanții, cu variate substanțe organice, cu halogenii, acidul sulfuric și amine.	
Acetat de taliu $\text{TlC}_2\text{H}_3\text{O}_2$	Cristale albe, delocvescente; punct topire 110°C ; foarte solubil în apă.	Extrem de toxic prin ingestie, cu posibil efect cumulativ. Afectează sistemul nervos și cardiovascular. Vătămător în caz de contact cu ochii sau cu pielea.		Se păstrează în recipiente bine închise. Se lucrează în nișa de protecție chimică, în holă sau cu ventilație cu exhaustarea aerului; cu îmbrăcăminte de protecție incluzând filtru respirator pentru pulberi, ochelari de protecție chimică, mănuși din cauciuc sau plastic, protecția ochilor.		
Acetilena $\text{HC}\equiv\text{CH}$	Gaz incolor, cu miros slab eteric sau de usturoi; se livrează în containere sub presiune, dizolvat în acetona; punct topire -81°C , sublimază la -84°C	Asfioxiant; cauzează degerături la contactul cu pielea.	Deosebit de inflamabil; interval inflamabil 2,5-100%.	Pentru protecția pielii se folosesc mănuși izolatoare, ochelari de protecție și scuturi transparente pentru față. Se vor evita flacăra deschisă, scânteele și fumatul. Se lucrează cu ventilație locală de exhaustare, echipamente electrice și sisteme de iluminare protejate contra exploziei.	Agent puternic reducător; reacționează violent cu oxidanții și cu florurile și clorurile în prezența luminii. Reacționează cu cuprul, argintul și mercurul sau cu sărurile acestora, formând compuși sensibili la șocuri (pericol de explozie).	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Acetona CH_3COCH_3	Lichid incolor volatil cu miros dulceag ; punct topire -95°C , punct fierbere 56°C ; miscibil cu apa.	Ușoară iritație a ochilor, nasului și gâtului. Inhalarea poate cauza amețeli, narcoză și comă.	Deosebit de inflamabil ; punct de aprindere -18°C , limite explozibile 2,2-12,8%.	Recipientele care o conțin se stochează în zone bine ventilate, la distanță de surse de foc. Se va evita inhalarea vaporilor. Se manipulează cu protecție respiratorie și oculară.	Reacționează violent cu oxidanții (acid cromic și acid nitric) și cu clorofomul în prezența bazelor. Incompatibil cu amestecuri concentrate de acid sulfuric și nitric.	Se stochează în recipiente și cu vase mari, cu împământare pentru a preveni acumulările și descărcările de electricitate statică.
Acetonitril CH_3CN	Lichid incolor cu miros aromatic; punct topire -46°C , punct fierbere 82°C .	Iritare a căilor respiratorii, a ochilor și pielii. Expunerea poate determina convulsii, pierderea cunoștinței, intoxicare cu cianuri.	Deosebit de inflamabil ; punct de aprindere $12,8^\circ\text{C}$, limite explozibile 3,0-16%.	Se vor evita flacăra deschisă, scântele, fumatul și contactul cu oxidanți. Se manipulează numai în spații fără sursă de foc. Se stochează în recipiente închise etanș, separat de oxidanți. Se lucrează cu ventilație de exhaustare. Se evită contactul cu pielea, ochii și mucoasele. Se folosește protecție respiratorie și mănuși din cauciuc.	Reacționează cu soluții apoase acide și baze, producând gaze și vapori toxici. Reacționează cu oxidanți puternici. Atacă anumite feluri de plastic, cauciuc și țesături. Descumpunerea prin ardere produce acid cianhidric și oxizi de azot.	
Acid acetic $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$	Lichid incolor cu miros înțepător ; punct topire 17°C , punct fierbere 118°C ; miscibil cu apa.	Coroziv ; produce arsuri severe; vaporii sunt iritanți. Efectele pot fi tardive.	Inflamabil ; punct de aprindere 40°C , interval inflamabil 5,4-16%.	Se va evita inhalarea vaporilor. În cazul contactului cu ochii se clătește imediat cu apă și se solicită asistență medicală. Se manipulează cu mănuși din nitril și cu asigurarea protecției oculare.	Reacționează violent sau exploziv cu oxidanții.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Acid clorhidric (10-37%)	Lichid incolor, fumegând, cu miros înțepător ; punct fierbere -121°C ; miscibil cu apă.	Coroziv pentru ochi, sistemul respirator și piele ; inhalarea repetată a vaporilor poate cauza bronșită cronică.		Se va evita inhalarea vaporilor ; se asigură protecție respiratorie. În caz de contact cu ochii, se clătește imediat cu apă și se solicită asistență medicală; în caz de contact cu pielea, se spală imediat cu apă din abundență. Se lucrează în nișa de protecție chimică, cu mănuși din cauciuc sau plastic și protecție oculară (ochelari de lucru sau ochelari de protecție)	Reacționează violent cu bazele (solide și soluții concentrate), exploziv în contact cu permanganatul de potasiu solid. La contactul cu numeroase metale generează gaze toxice sau explozive.	La foc eliberează vapori și gaze foarte toxice.
Acid cromic CrO_3	Fulgi sau pudră roșu-închis utilizat frecvent în soluție apoasă ; punct topire 197°C.	Iritant pentru ochi, piele și tractul respirator. Contactul prelungit sau repetat cu pielea poate cauza dermatite, ulcer cronic și sensibilizare a pielii. Inhalarea poate cauza reacții de tip astmatiform. Poate produce perforare a septului nazal. Carcinogen pentru om.	Se descompune la temperaturi de peste 250°C în oxid cromic și oxigen, cu pericol crescut de aprindere. Numeroase reacții pot genera pericole.	Se previne contactul cu tegumentele și ochii, și inhalarea prafului fin. Se lucrează în spații cu ventilație, exhaustare locală sau protecție respiratorie.	În soluție apoasă este un acid puternic ce reacționează cu bazele și este coroziv. Oxidant puternic, reacționează cu substanțe combustibile, materiale organice sau alte materiale ușor oxidabile (hârtie, lemn, sulf, aluminiu , plastic, etc.). Coroziv pentru metale.	
Acid fosforic H_3PO_4	Lichid incolor, vâscos sau cristale albe higroscopice ; punct topire 42°C, se descompune sub punctul de fierbere la 213°C ; solubil în apă.	Coroziv, cauzează arsuri ale pielii și ochilor.	Atacă multe metale producând hidrogen. Eliberează gaze toxice prin expunere la foc.	În caz de contact cu ochii, se clătește cu apă și se solicită asistență medicală. Se lucrează cu mănuși din nitril și protecție oculară.		

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Acid nitric (50-70%) HNO_3	Lichid "fumegând" incolor sau galben pal ; punct topire -42°C, punct fierbere 83°C -121°C; miscibil cu apa.	Coroziv, cauzează arsuri severe ale ochilor sau pielii. Inhalarea vaporilor poate cauza edem pulmonar.	Oxidant ; contactul cu materialele combustibile poate produce foc. Eliberează gaze toxice prin expunere la foc.	Se evită inhalarea vaporilor ; se folosește protecție respiratorie. În caz de contact cu ochii se spală imediat și se solicită asistență medicală; în caz de contact cu pielea, se spală imediat; se îndepărtează îmbrăcămintea contaminată. Se lucrează în nișa de protecție chimică, cu mănuși din PVC, șorț de plastic și ochelari de protecție.	Acid acetic, acid cromic, acid hidrocianic, anilină, carbon, hidrogen sulfurat, baze, metale și multe alte substanțe.	Acidul nitric concentrat este implicat în mai multe reacții periculoase decât oricare altă substanță chimică.
Acid oxalic $\text{HO}_2\text{CCO}_2\text{H}$	Cristale incolor ; solubil în apă ; punct topire 190°C ; se descompune.	Vătămător dacă vine în contact cu pielea sau este ingerat. Pulberea irită tractul respirator și ochii. Soluția irită ochii și poate cauza arsuri ale pielii.	Combustibil. Produce gaze iritante sau toxice prin expunere la foc.	Se evită contactul cu pielea și ochii ; se manipulează cu protecția ochilor și cu mănuși.	Agenți oxidanți; de asemenea argintul și mercurul și compuşii acestora.	
Acid percloric HClO_4	Lichid incolor ; miscibil cu apa.	Coroziv, cauzează arsuri severe ale ochilor și pielii; de asemenea dacă este ingerat. Vaporii sunt corozivi pentru ochi, piele și tractul respirator. Inhalarea vaporilor poate cauza edem pulmonar.	Agent puternic oxidant. Nu este combustibil, dar stimulează combustia altor substanțe.	Se va evita inhalarea vaporilor și orice altă expunere ; se lucrează cu îmbrăcămintă de protecție, incluzând mănuși din nitril, protecția ochilor și protecția feței. Soluțiile fierbinți se manipulează în nișa de protecție chimică sau sub hotă.	Materiale combustibile și agenți reducători ; anhidrida acetică, bismut și aliajele acestuia, alcool, metal, hârtie, lemn și alte materiale organice.	Agent puternic oxidant ; poate forma produși explozivi dacă vine în contact cu mai multe materiale anorganice sau organice ; contaminează pardoselele de lemn, băncile, etc. Poate exploda la percuție.

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Acid picric $C_6H_2(NO_2)_3OH$ 2,4,6 - trinitrofenol	Cristale galbene, umezite cu apă sau dizolvate în alcool ; punct topire 122°C, puțin solubil în apă.	Toxic prin ingestie, inhalare sau contact cu pielea. Ingestia poate produce cefalee, greață. Iritant pentru ochi.	Exploziv când se usucă.	Se menține tot timpul umezit cu apă sau se folosește doar în soluție alcoolică.	Formează săruri cu numeroase metale, care sunt mai explozive decât acidul în sine. În contact cu cimentul poate forma picratul de calciu, care este un exploziv sensibil la frecare. Poate reacționa cu agenți reducători.	Colorează pielea în galben.
Acid sulfuric H_2SO_4	Lichid vâscos, incolor, inodor ; punct topire 10°C, punct fierbere 340°C (cu descompunere).	Soluția concentrată (15%) corozivă , cauzează arsuri severe ; vaporii sunt foarte corozivi prin inhalare ; soluțiile diluate sunt iritante pentru ochi și piele ; cauzează arsuri și dermatite.	Poate emana gaze toxice prin expunerea la foc. Nu este combustibil. Multe reacții pot cauza foc sau explozie. Diluarea cu apă generează căldură și poate apare fierberea. Întotdeauna se adaugă acidul în apă, niciodată nu se adaugă apă în acid.	În caz de contact cu ochii se clătește imediat și se solicită asistență medicală; în cazul contactului cu pielea se spală imediat și se înalătură îmbrăcămintea contaminată. Se manipulează cu mănuși din nitril, asigurându-se protecția ochilor și a feței. Nu trebuie să vină în contact cu substanțe inflamabile.	Este un desiccant oxidativ puternic și reacționează violent cu mulți reactivi incluzând compuși organici ai azotului, permanganat de potasiu, alcali metalici și perclorați, materiale combustibile, oxidanți, amine, baze, apă, exces de căldură și majoritatea metalelor.	Dacă se adaugă acid concentrat în apă poate apărea fierbere localizată.
Acid triclor acetic CCl_3COOH	Cristale albe higroscopice, cu miros pătrunzător ; punct topire 58°C, punct fierbere 197,5°C; solubil în apă, etanol, dietileter.	Coroziv, cauzează arsuri severe pentru ochi, piele, tractul respirator.	Nu este combustibil. Poate emana gaze toxice prin expunere la foc.	Se evită contactul cu ochii și pielea ; se lucrează cu mănuși din cauciuc sau plastic și ochelari de protecție chimică sau scut transparent pentru protecția feței combinat cu protecție respiratorie. În caz de contact cu ochii, se clătește imediat și se solicită asistență medicală.	Reacționează violent cu amestecuri de cupru / dimetil sulfoxid și în contact cu baze, agenți oxidanți puternici și metale precum fierul, zincul, aluminiul.	Se stochează în spații uscate. Soluțiile apoase concentrate se pot descompune violent.

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Acroleina $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$	Lichid incolor sau galben, cu miros înțepător, dezagreabil; punct topire -87°C , punct fierbere 53°C	Lăcrimare. Iritație severă respiratorie; edem pulmonar la nivele ridicate de expunere. Efectele pot fi tardive.	Extrem de inflamabil; punct de aprindere -26°C , limite explozibile $2,8-31\%$.	Se va evita contactul cu tegumentele sau cu ochii. Se lucrează în nișa de protecție chimică sau cu o bună ventilație.	Oxidant, acizi, alcali, amoniac, amine. Polimerizează rapid dacă procesul nu este inhibat, în mod obișnuit cu hidrocchinonă. Poate forma în timp peroxizi sensibili la șocuri (pericol de explozii).	
Amoniac (Soluții amoniacale)	Lichid incolor cu miros înțepător; Pentru forma gazoasă: punct topire -78°C , punct fierbere -33°C ; Pentru soluție 25% : punct topire -58°C , punct fierbere 38°C ; miscibil cu apa.	Coroziv pentru ochi, tract respirator și piele sau în cazul ingestiei; cauzează edem pulmonar în cazul expunerii masive la gaze sau vapori.	Sub formă de gaze amoniacale; interval inflamabil $15-28\%$.	Se stochează în recipiente închise etanș. În cazul contactului cu ochii, se spală imediat cu apă și se solicită asistență medicală. Se lucrează în nișa de protecție chimică, cu mănuși din cauciuc sau plastic și ochelari de protecție chimică.	Reacționează violent cu metale grele, cum ar fi mercurul și sărurile acestuia formând produși explozivi.	
Anhidrida acetică $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$	Lichid incolor cu miros puternic înțepător de oțet; punct topire -73°C , punct fierbere 139°C .	Iritație severă a ochilor și a tractului respirator superior; acțiune corozivă. Efectele pot fi tardive.	Inflamabil, dezvoltă foc vapori sau gaze iritante sau toxice; punct de aprindere 49°C , limite inflamabile $2,7-10,3\%$.	Se vor evita flacăra deschisă, scânteele, fumatul. Se previne contactul cu pielea sau ochii.	Reacționează violent cu apa în fierbere, cu aburii, oxidanții puternici, alcoolii, amine, baze puternice și multe alte substanțe chimice. Atacă multe metale în prezența apei	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Anilina $C_6H_5NH_2$	Lichid uleios, de la incolor la cafeniu, cu miros de amine aromatice ; punct topire -6°C, punct fierbere 185°C.	Cianoză cauzată de methemoglobinemie. Iritație a ochilor și pielii. Poate fi absorbită prin piele; expuneri repetate sau prelungite pot cauza sensibilizare.	Combustibil; punct de aprindere 70°C, interval exploziv 1,2-11%.	Se stochează în recipiente închise etanș, în spații separate de oxidanți. Se previne contactul cu pielea sau cu ochii. Se lucrează în spații cu ventilație locală sau protecție respiratorie, mănuși și îmbrăcăminte de protecție, scuturi transparente pentru față.	Oxidant puternici, acizi tari.	
Argint Ag	Metal alb, se înnegrește dacă este expus la ozon, hidrogen sulfurat sau sulf ; punct topire 962°C, punct fierbere 2212°C.	Inhalarea unei cantități mari de vapori de argint metallic poate cauza afectarea plămânilor cu edem pulmonar. Poate cauza colorarea gri-albăstrui a ochilor, nasului, gâtului și pielii, în condițiile expunerii îndelungate sau repetate (argiria).	Nu este combustibil, cu excepția pulberii.	Se lucrează cu exhaustarea locală a aerului, cu mănuși și ochelari de protecție sau protecția ochilor combinată cu protecție respiratorie pentru pulberi sau gaze toxice.	Incompatibil cu acetilena, compușii de amoniu, acidul oxalic și acidul tartric.	
Auramina 4,4'-Carbonoimidol bis (N, N-dimetil-enzenamina)	Fulgi sau pudră galbenă ; punct topire 136°C ; insolubilă în apă.	Vătămător în caz de ingestie, inhalare sau contact cu pielea. Poate cauza iritație a ochilor sau a pielii. Posibil carcinogen.		Se evită contactul cu pielea sau inhalarea pulberii. Se manipulează cu mănuși din cauciuc sau plastic și cu ochelari de protecție chimică. Se lucrează în nișa de protecție chimică sau cu filtru respirator pentru praf.	Agenti puternic oxidanți.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Azida de sodiu N_3Na	Solid, cristalin, incolor ; punct topire 300°C; solubilă în apă.	Foarte toxică prin ingestie, inhalare sau contact cu pielea ; poate cauza arsuri. Praful și soluția irită ochii și pielea ; poate fi absorbită prin piele.	Se descompune exploziv când este încălzită peste punctul de topire. Eliberează gaze toxice când este încălzită ; nu se folosește apa pentru stingerea focului.	În caz de contact cu pielea, se spală imediat. Se evită inhalarea pulberii. Se manipulează cu mănuși din cauciuc sau plastic și cu protecție oculară.	Reacționează exploziv cu bromul, sulfura de carbon și clorura de crom. Sub forma solidă reacționează cu metale grele, incluzând cuprul, plumbul și mercurul, formând săruri metalice ale azidelor, compuși explozivi. La contactul cu un acid, eliberează gaze deosebit de toxice sau explozive.	
Benzen C_6H_6	Lichid incolor, volatil, cu miros aromatic caracteristic ; punct topire 6°C, punct fierbere 80°C.	Inhalarea vaporilor afectează SNC cauzând vertij și cefalee, iar la concentrații mai mari pierderea cunoștinței și moarte. Risc de anemie aplastică, leucemie, leziuni hepatice după expunere prelungită sau cronică. Poate fi absorbit prin piele.	Deosebit de inflamabil ; punct de aprindere -11°C, interval inflamabil 1,3-8%.	Se stochează recipientele în spații bine ventilate, la distanță de sursele de foc. Se lucrează în nișa de protecție chimică sau în hote cu ventilație adecvată ; cu protecție oculară și mănuși din PVC sau nitril. Se previne formarea de acumulări sau descărcări electrostatice, prin împământare.	Poate reacționa violent cu oxidanții, incluzând acidul cromic, permanganatul de potasiu și oxigenul lichid.	
Benzydina 1,1'- Bifenil-4,4' -diamina	Pudră galben deschis ; punct topire 128°C, punct fierbere 400°C ; puțin solubilă în apă, dar foarte solubilă în acizi sau solvenți organici.	Poate fi absorbită prin piele. Poate cauza cancer de veziculă biliară. Se evită orice tip de expunere.	Combustibil, produce gaze toxice prin expunere la foc.	Se evită orice tip de expunere. Se lucrează cu protecția ochilor și a pielii, în nișa de protecție chimică cu ventilație de exhaustare.	În multe țări, utilizarea sa este interzisă sau controlată prin lege.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Biselenit de sodiu NaHSeO ₃	Pulbere cristalină, albă, incoloră; Solubil în apă.	Toxic prin ingestie și inhalare de pulberi; posibil pericol prin efecte cumulative. Teratogen experimental. Contactul prelungit cu pielea cauzează dermatită.		Se manipulează purtând îmbrăcăminte de protecție.	Agenți oxidanți.	
Brom Br ₂	Lichid fumegând, roșu-maroniu, cu miros înțepător; punct topire -7,2°C, punct fierbere 58,8°C.	Coroziv. Vaporii sunt corozivi pentru ochi și pentru tractul respirator; inhalarea poate cauza edem pulmonar și poate afecta SNC. Contactul cu ochii poate cauza tulburări de vedere, roșeață, durere, arsuri severe ale țesuturilor.	Nu este combustibil dar stimulează combustia altor substanțe. Multe reacții pot cauza foc sau explozie. Încălzirea poate cauza creșterea presiunii cu risc de ardere.	Se utilizează în sistem închis și cu ventilație. Se lucrează cu mănuși și îmbrăcăminte de protecție, ochelari de protecție, scut transparent pentru față sau protecția ochilor combinată cu protecție respiratorie.	Oxidant puternic, reacționează violent cu materialele combustibile și reducătoare. Reacționează violent cu soluția apoasă de amoniac, cu oxidanți, metale, compuși organici și fosfor.	Atacă unele feluri de plastic, cauciuc și țesături.
Clor Cl ₂	Gaz galben-verzui, cu miros înțepător, punct topire -101°C, punct fierbere -34°C.	Coroziv pentru ochi, piele și tractul respirator. Inhalarea de gaz poate cauza pneumopatie, edem pulmonar conducând la sindrom de disfuncție reactivă a căilor aeriene. Evaporarea rapidă a clorului lichid poate cauza degerături. Expunerea masivă poate cauza moarte. Efectele pot fi tardive; se recomandă supraveghere medicală.	Nu este combustibil dar stimulează combustia altor substanțe.	Se lucrează în condiții de sistem închis și ventilație; cu mănuși izolatoare și îmbrăcăminte de protecție, ochelari de protecție sau protecție oculară combinată cu protecție respiratorie.	Soluția apoasă este un acid puternic, reacționează violent cu bazele și mulți compuși organici: acetilenă, butadienă, benzen și alte fracțiuni petroliere, amoniac, hidrogen, carbură de sodiu, terebentină și pulberi metalice fine, generând pericol de foc și explozie.	Atacă multe metale în prezența apei. Atacă materialele plastice, cauciucul și țesăturile.

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Cloroform CHCl ₂	Lichid incolor volatil cu miros caracteristic ; punct topire -63°C, punct fierbere 61°C. ; puțin solubil în apă.	Vătămător prin inhalare, ingestie și contact cu pielea ; iritant pentru piele. Poate cauza afectare hepatică, renală și a SNC conducând la cefalee, greață, icter slab, inapetență, confuzie. Expunerea prelungită sau cronică s-a dovedit carcinogenă la animale ; suspect a fi carcinogen la om.	Nu este combustibil dar formează gaz inflamabil la încălzire. Prin expunere la foc produce emanații gazeoase iritante sau toxice.	Se lucrează în nișă de protecție chimică purtând îmbrăcăminte de protecție, mănuși din nitril și protecție oculară.	Baze tari; unele metale cum ar fi aluminiul sau magneziul, zincul pulbere ; oxidanți puternici.	Dacă se încălzește până la descompunere formează fosgen gaz. Atacă materialele plastice și cauciucul.
Cianobrom Bromcian BrCN	Cristale incolore sau albe, cu miros înțepător ; punct topire 52°C, punct fierbere 61°C.	Afectează ochii, pielea și tractul respirator; inhalarea vaporilor poate cauza edem pulmonar generând convulsii, pierderea cunoștinței, insuficiență respiratorie, moarte.	Nu este combustibil dar formează gaz inflamabil la încălzire. Prin expunere la foc produce emanații gazeoase iritante sau toxice.	Se lucrează în sistem închis cu ventilație ; cu mănuși și îmbrăcăminte de protecție, ochelari de siguranță, cu scut transparent pentru protecția feții sau protecția ochilor combinată cu protecție respiratorie.	Se descompune prin încălzire și la contactul cu acizii producând acid cianhidric, foarte toxic și inflamabil, și acid bromhidric, foarte coroziv. Reacționează cu oxidanți puternici. Reacționează încet cu apa și umezeala producând acid bromhidric și acid cianhidric. Atacă multe metale în prezența apei.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Cianura de sodiu NaCN	Pudră albă cristalină cu miros de migdale ; punct topire 563°C, punct fierbere 1496°C; foarte solubilă în apă.	Extrem de toxică prin ingestie, inhalare sau contact cu pielea ; iritant sever pentru ochi. Poate fi absorbită prin piele. Expunerea repetată poate afecta tiroida.	Poate elibera gaze toxice prin expunere la foc.	Se va evita inhalarea de pulberi; se folosește protecție respiratorie. Se evită contactul cu ochii sau pielea ; în cazul contactului cu pielea se spală imediat cu apă și se îndepărtează îmbrăcămintea contaminată. Se lucrează cu ochelari de protecție chimică și mănuși din cauciuc sau plastic. Se păstrează sub cheie, în spații ventilate.	Eliberează, în contact cu acizii sau cu apa ce conține dioxid de carbon dizolvat, gaze deosebit de toxice de acid cianhidric (HCN). Poate forma amestecuri explozive cu nitriții.	Se tratează stropii de soluție cu înălbitor pulbere (hipoclorit de sodiu) și se lasă în contact 24 ore. Substanța solidă vărsată se șterge cu grijă cu o lavetă care se va scufunda apoi în apă cu înălbitor pulbere; se lasă 24 ore înainte de a fi aruncat. În laborator se păstrează la îndemână antidotul cianurii.
Citochalazina (A-J)	Pudră albă ; punctul de topire variază.	Toxică prin ingestie, inhalare sau absorbție prin piele. Poate cauza malformații congenitale la făt.		Se evită contactul cu ochii, pielea și îmbrăcămintea. Se vor purta ochelari de protecție chimică și mănuși din cauciuc sau plastic.	Agenți puternic oxidanți.	
Cupru Cu	Solid roșatic, lucios, maleabil, inodor ; pudra roșie devine verde după expunerea la aer și umezeală; punct topire 1083°C, punct fierbere 2567°C.	Inhalarea emanațiilor gazoase de cupru poate cauza « febra fumurilor de metal ».	Combustibil.	Se lucrează cu exhaustare locală a aerului sau protecție respiratorie, cu mănuși și ochelari de protecție .	Formează cu compuși acetilenici, etilen oxid azidă și peroxidul de oxigen, produși sensibili la șocuri. Reacționează cu oxidanți puternici, cum ar fi clorați, bromaji sau iodați, generând pericol de explozie.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Dietil eter $C_2H_5OC_2H_5$	Lichid incolor, foarte volatil, cu miros dulceag caracteristic ; punct topire $-161^{\circ}C$, punct fierbere $34^{\circ}C$; puțin solubil în apă.	Iritant pentru ochi și tractul respirator. Poate afecta SNC cauzând somnolență și pierderea cunoștinței. Inhalarea repetată poate cauza dependență.	Foarte inflamabil ; punct de aprindere $45^{\circ}C$, interval inflamabil $1,7-48\%$.	Se păstrează recipientele în spații bine ventilate, la distanță de sursele de foc, în containere cu împănțare pentru a preveni acumulările și descărcările de electricitate statică. Se lucrează în nișa de protecție chimică, cu mănuși din nitril pentru a preveni degresarea pielii.	Expunerea la aer și lumină poate conduce la formarea de peroxizi explozivi. Poate reacționa violent cu oxidanții și halogenii.	
Dimetilamina $CH_3)_2NH$	Gaz lichefiat incolor și volatil, cu miros înțepător ; punct topire $-93^{\circ}C$, punct fierbere $7^{\circ}C$; miscibil cu apa.	Iritație severă a ochilor și sistemului respirator; inhalarea poate cauza edem pulmonar. Evaporarea rapidă poate cauza degerături. Soluțiile sunt corozive pentru piele și ochi.	Foarte inflamabil ; punct de aprindere $25^{\circ}C$, limite inflamabile $2,8-14\%$. Foarte inflamabil ca soluție, punct de aprindere $-18^{\circ}C$.	Se ține la distanță de sursele de foc ; în cazul contactului cu ochii se spală imediat și se solicită asistență medicală. Se lucrează în nișa de protecție chimică, cu mănuși din nitril și ochelari de protecție chimică.	Poate reacționa cu oxidanții și cu mercurul.	
2,4-Dinitro-fenil-hidrazina $C_6H_3(NO_2)_2-NHNH_2$ 1-Hidrazin-2,4-dinitro-benzen	Pulbere cristalină portocalie-roșie ; punct topire $200^{\circ}C$, puțin solubil în apă.	Iritant pentru piele și ochi. Vătămător prin ingestie, inhalare și contact cu pielea.		Se păstrează umed pentru a reduce riscul de explozie. Se manipulează cu filtru respirator pentru praf, mănuși din cauciuc sau plastic și ochelari de protecție chimică.	Poate reacționa violent cu compușii oxidanți și reducători.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂȚATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Dioxan $C_4H_8O_2$ Dietilen dioxid	Lichid incolor cu miros caracteristic ; punct topire 12°C, punct fierbere 101°C .	Iritant pentru ochi și tractul respirator. Poate afecta SNC cauzând cefalee, greață, tuse, durere de gât, dureri abdominale, amețeală, somnolență, vomă, pierderea cunoștinței. Poate fi absorbit prin piele. Afectează rinichii și ficatul. Probabil carcinogen pentru om.	Foarte inflamabil ; posibilă aprinderea la distanță ; ca rezultat al curgerii, agitării, etc, pot fi generate încălcări electrostatice.	Se lucrează cu ventilație cu exhaustare locală. Se vor evita flacăra deschisă, scântele, fumatul sau contactul cu oxidanții sau suprafețe fierbinți. Nu se folosește aer comprimat pentru umplere, evacuare sau manipulare ; se folosesc dispozitive ce nu produc scântei. Se lucrează cu mănuși și îmbrăcăminte de protecție, scut transparent pentru față sau protecția ochilor combinată cu protecție respiratorie.	Poate forma peroxizi explozivi. Reacționează viguros cu oxidanții puternici și acizii tari concentrați. Reacționează exploziv cu unii catalizatori. Atacă multe feluri de plastic.	
Dioxid de carbon (solid ; "gheață carbonică, gheață uscată") CO_2	Solid, alb translucenț la -79°C ; Sublimează la gaz la temperatura mediului ambiant.	Risc de asfixiere în spații închise sau prost ventilate ; contactul cu forma solidă de "gheață carbonică" cauzează degerături		Se manipulează cu mănuși izolatoare. Se depozitează numai în camere sau spații ventilate, în containere deschise.	Alcali metalici, baze puternice.	
Dioxid de clor ClO_2	Gaz de la galben la roșu sau lichid roșu-maroniu ; punct topire -59°C, punct fierbere 10°C.	Iritant sever pentru ochi, piele și tractul respirator; inhalarea gazului poate cauza edem pulmonar. Efectele pot fi tardive; se recomandă supraveghere medicală.	Nu este combustibil dar stimulează combustia altor substanțe ; poate exploda când este încălzit, la expunerea la soare sau când este expus la șocuri sau scântei.	Se lucrează în condiții de sistem închis cu ventilație, cu mănuși izolatoare și îmbrăcăminte de protecție, ochelari de protecție sau protecție oculară combinată cu protecție respiratorie.	Oxidant puternic ; reacționează violent cu materialele combustibile sau reducătoare. Reacționează violent cu fosforul, hidroxidul de potasiu, sulful, amoniacul, metanul, fosfina și hidrogenul sulfurat.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Etanol $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Lichid incolor, volatil, cu miros fin caracteristic ; punct topire -117°C, punct fierbere 79°C ; miscibil cu apa.	Dăunător dacă este înghițit. Iritant pentru ochi. Poate afecta SNC.	Foarte inflamabil ; punct de aprindere 12°C, limite inflamabile 3-19% .	Se păstrează în recipiente bine închise, la distanță de sursele de foc.	Reacționează violent cu oxidanții puternici.	
Etanolamina $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 2-Amino-etanol	Lichid vâscos, incolor, nevolatil, cu miros amoniacal; punct topire 10°C, punct fierbere 171°C ; miscibil cu apa.	Coroziv pentru ochi, tractul respirator și piele. Poate cauza sensibilizarea pielii.	Punctul de aprindere 85°C.	Se manipulează cu mănuși din cauciuc sau plastic și protecție oculară	Reacționează cu oxidanții puternici.	
Fenol $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$	Cristale incolore sau roz pal, cu miros caracteristic ; punct topire 41°C, punct fierbere 182°C ; solubil în apă.	Substanțele și vaporii sunt corozivi pentru ochi, piele și tractul respirator, cauzând arsuri severe ; se absoarbe prin piele. Tulburări ale SNC, comă. Afectează rinichii și ficatul. Simptomele includ dureri abdominale, vărsături, diaree, iritații ale pielii, dureri oculare. Contactul prelungit cu soluții diluate poate cauza dermatite.	Punct de aprindere 80°C ; interval inflamabil 1,7-6%.	Se va evita inhalarea vaporilor, se folosește protecție respiratorie. Se evită contactul cu ochii și pielea. Se lucrează cu mănuși din nitril și protecție oculară. În cazul contactului cu ochii se spală imediat cu apă și se solicită asistență medicală. În cazul contactului cu pielea, se îndepărtează îmbrăcămintea contaminată și se șterge zona contaminată cu glicerol, polietilen glicol 300 sau un amestec de polietilen glicol lichid (70%) și spirit metilat (30%) și apoi se clătește cu apă.	Reacționează cu oxidanții cauzând foc și pericol de explozie.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Formaldehida soluție (37-41% formaldehidă cu 11-14% metanol)	Lichid incolor cu miros înțepător; punct fierbere 96°C; miscibil cu apa.	Iritant puternic pentru ochi și piele; iritant al tractului respirator. Expunerea prelungită la vapori poate cauza simptome de tip astmatiform, conjunctivită, laringită, bronșită sau bronhopneumonie. Contactul cu pielea poate cauza sensibilizare. Posibil risc de afectare ireversibilă a stării de sănătate. Posibil carcinogen.	Punctul de aprindere 50°C.	Se lucrează purtând haine de protecție de tipul șortului de cauciuc, mănușilor din cauciuc sau plastic și ochelari de protecție chimică în nișa de protecție chimică sau în spații bine ventilate.	Poate reacționa viguros cu oxidanții, cu nitrometanul formând produși explozivi; cu acidul clorhidric formând bis(clorometil) eter, un puternic carcinogen.	Soluția concentrată de formaldehidă devine tulbură dacă este stocată sub 21°C și trebuie stocată la 21-25°C. Soluția diluată (1-5%) și soluția de concentrație medie (5-25%) păstrează multe dintre pericolele formei concentrate.
Glutaraldehida $\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$	Soluție incoloră sau galben pal, cu miros înțepător; punct topire -14°C, punct fierbere 189°C; miscibil cu apa.	Iritant sever pentru ochi și tractul respirator superior; expunerea prelungită prin inhalare sau contactul cu pielea pot cauza sensibilizare.		Se lucrează în nișa de protecție chimică sau spații bine ventilate, cu mănuși din cauciuc sau plastic și protecție oculară.	Poate reacționa viguros cu oxidanții.	Este livrat frecvent sub formă de soluție apoasă în diferite concentrații, adăugat cu stabilizatori pentru creșterea stabilității.
Hidrogen sulfurat H_2S	Gaz incolor cu miros neplăcut, puternic, de ouă stricate; punct topire -85°C, punct fierbere -60°C.	Poate afecta SNC cauzând cefalee, amețeață, tuse, durere în gât, greață, dispnee, pierderea cunoștinței și moarte. Inhalarea poate cauza edem pulmonar. Roșeață, dureri, arsuri profunde, severe ale ochilor.	Foarte inflamabil; limite explozibile 4,3-46%.	Se lucrează cu ventilație cu exhaustare locală. Se poartă ochelari de protecție sau protecție oculară combinată cu protecție respiratorie.	Oxidant și puternic și acid nitric puternic. Atacă multe metale și materiale plastice.	Acuitatea olfactivă scade rapid și nu se poate pune bază pe aceasta pentru avertizarea asupra continuării prezenței gazului.

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Hidroxidul de potasiu KOH	Fulgi, pulbere, pastile sau bare ; punct topire 360°C, punct fierbere 1320°C; foarte solubil în apă.	Coroziv pentru tractul respirator, ochi și piele; inhalarea prafului cauzează edem pulmonar.		În caz de contact cu ochii, se spală imediat cu apă și se solicită asistență medicală ; în caz de contact cu pielea, se spală imediat ; se înlătură îmbrăcămintea contaminată. Se lucrează cu mănuși din cauciuc sau plastic și protecție oculară chiar în cazul soluțiilor diluate.	Reacționează violent cu acizii, cu nitrobenzenul și cu mulți alți detergenți. Eliberează o cantitate crescută de energie termică când se amestecă cu apa. Se păstrează în recipiente închise etanș.	Atacă unele metale (aluminiu, zinc, cositor) în condiții de umezeală.
Hidroxidul de sodiu NaOH	Fulgi, pulbere, pastile sau bare ; punct topire 318°C, punct fierbere 1390°C; solubil în apă.	Solid sau soluție concentrată. Inhalarea pulberii afectează tractul respirator, până la edem pulmonar. Coroziv prin ingestie. Soluția diluată este iritantă pentru ochi și poate cauza leziuni severe în condițiile unui contact prelungit.	Nu este combustibil. Contactul cu umezeala sau apa poate genera suficientă căldură pentru a aprinde substanțele combustibile.	În cazul contactului cu ochii, se clătește imediat și se solicită asistență medicală; în cazul contactului cu pielea, se spală imediat cu apă și se îndepărtează îmbrăcămintea contaminată. Se lucrează cu mănuși din cauciuc sau plastic și cu protecție oculară chiar în cazul soluțiilor diluate.	Eliberează o cantitate crescută de căldură atunci când este amestecat cu apa. Reacționează etanș, în spații umede.	Se stochează în recipiente închise etanș, în spații uscate.
Hipoclorit de sodiu, soluție (10-14%clor) NaOCl	Soluție incoloră sau galben pal, cu miros de clor ; miscibil cu apa.	Coroziv pentru ochi și piele ; coroziv prin ingestie, pentru tractul respirator ; inhalarea poate cauza edem pulmonar. Expunerea repetată poate cauza sensibilizarea pielii.	Oxidant puternic. Poate elibera gaze toxice prin expunerea la foc.	În cazul contactului cu ochii se clătește imediat cu apă și se solicită asistență medicală; în caz de contact cu pielea, se spală imediat. Se evită inhalarea vaporilor, se folosește protecție respiratorie. Se manipulează în spații bine ventilate, cu mănuși din cauciuc sau plastic și cu protecție pentru ochi.	Eliberează gaze foarte toxice în contact cu acizii. Poate reacționa viguros cu produșii combustibili și reducători. Poate reacționa cu compuși ai azotului formând compuși N-cloro explozivi. Poate reacționa violent cu metanolul.	Pe parcursul stocării pierde treptat clorul ; soluțiile diluate folosite ca dezinfectant se deteriorează rapid. Se păstrează la distanță de acizi, în spații întunecoase, răcoase, bine ventilate.

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Iod	Solid negru albăstrui, cristalin, cu miros caracteristic ; punct topire 114°C, punct fierbere 184°C ; practic insolubil în apă.	Iritant al ochilor, al tractului respirator și al pielii. Expunerea repetată poate cauza sensibilizarea pielii. Poate afecta tiroida.	Nu este combustibil dar poate stimula combustia altor substanțe. Multe reacții pot cauza foc sau explozie. Prin expunere la foc emană gaze iritante sau toxice.	Se va evita inhalarea vaporilor și se va evita contactul cu ochii. Se lucrează cu mănuși din nitril.	Reacționează violent cu metalele, incluzând aluminiul, potasiul și sodiul și amestecul etanol/fosfor, acetilenă și amoniac.	
Mercur	Lichid argintiu greu ; punct topire -39°C punct fierbere 357°C; insolubil în apă.	Poate fi absorbit prin piele. Expunerea repetată poate afecta rinichii și SNC; poate cauza vărsături, diaree, cefalee, greață, inflamarea gingiilor, căderea dinților.	Nu este combustibil. Prin expunere la foc emană gaze iritante sau toxice.	Se păstrează în recipiente bine închise. Se lucrează în nișa de protecție chimică sau în spații bine ventilate. Se vor preveni stropirile. Se poartă mănuși din nitril.	Acetilena, acidul fulminic. Reacționează cu amoniacul, azidele și oxidul de etilenă, pentru a forma produși explozivi. Reacționează violent cu bromul. Formează amalgamuri cu multe metale.	Recipientele se stochează și se manipulează pe tăvi de siguranță pentru a preveni stropirile; picăturile răspândite se absorb într-un flacon de aspirare cu un tub capilar și conectat cu o pompă de vid; suprafețele stropite se tratează cu praf de zinc pentru a forma un amalgam.
Metanol	Lichid incolor, volatil, cu miros caracteristic ; punct topire -98°C punct fierbere 65°C; miscibil cu apa.	Afectează SNC, determinând pierderea cunoștinței ; iritant pentru mucoase. Expunerea cronică poate leza retina și nervul optic. Contactul prelungit cu tegumentele poate cauza dermatita. Poate fi absorbit prin piele.	Deosebit de inflamabil ; punct de aprindere -16°C, intervalul inflamabil 7-37% .	Se păstrează în recipiente bine închise, la distanță de orice sursă de foc. Se evită inhalarea vaporilor și contactul cu pielea. Se lucrează în nișa de protecție chimică sau în spații bine ventilate, cu mănuși din cauciuc sau plastic și protecție oculară.	Poate reacționa viguros cu oxidanții. Reacțiile cu magneziul sau bromul pot fi violente, iar cele cu oxidanți puternici, cloroform sau sodiu pot fi explozive.	
CH₃OH						

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Naftilamina (α și β) $C_{10}H_9N$ N-fenil α -naftilamina și N-fenil- β -naftilamina	Cristale de la alb la roz, cu miros caracteristic ; α : punct topire 50°C, punct fierbere 301°C; β : punct topire 113°C, punct fierbere 305°C; puțin solubilă în apă, dar hidroclorura este solubilă în apă.	Ambele forme sunt foarte toxice dacă sunt inhalate, ingerate sau vin în contact cu pielea. Carcinogenă pentru om, producând cancer de veziculă biliară. Experimental, este mutagenă și teratogenă. Se absoarbe prin piele.	Combustibilă	Se evită orice fel de expunere ; se manipulează purtând îmbrăcăminte de protecție, în nișa de protecție chimică sau sub hotă sau cu ventilație de exhaustare .		Utilizarea sa este interzisă sau controlată legal în multe țări.
Ninhidrina $C_9H_6O_4$	Substanță solidă galben-pal, ce se descompune înainte de topire la 121°C. Livrat în recipiente de tip spray 0,5% soluție în butanol ; solubilă în apă.	Vătămător prin ingestie și inhalare. Iritant pentru ochi, sistemul respirator și piele. Expunerea repetată poate cauza sensibilizarea pielii.	Inflamabil, combustibil solid; punct de aprindere 39°C.	Se evită inhalarea spray-ului sau vaporilor și contactul cu ochii. Se manipulează cu mănuși din cauciuc sau plastic și ochelari de protecție chimică.		Contactul cu pielea determină apariția unei culori violete persistente.
Nitrat de argint $AgNO_3$	Cristale albe ; punct topire 212°C, punct fierbere 444°C; solubil în apă.	Poate cauza iritații severe și arsuri ale ochilor și pielii. Coroziv prin ingestie. Poate cauza colorarea roșu-albăstrui a pielii în cazul expunerii prelungite sau repetate (argina).	Nu este combustibil dar stimulează combustia altor substanțe.	Se va evita dispersia pulberilor. Se respectă regulile de igienă. Se manipulează cu mănuși din cauciuc sau plastic și scut transparent pentru față sau protecția ochilor combinată cu protecție respiratorie. În caz de contact cu ochii, se spală cu apă și se solicită asistență medicală.	Soluțiile amoniacale pot precipita exploziv nitratul de argint în prezența bazelor sau a glucozei. Poate forma compuși explozivi cu etanolul și poate cauza polimerizarea explozivă a acrilonitrilului. Poate cauza explozie cu aprindere dacă este amestecat cu cărbune, magneziu, fosfor sau sulf.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Nitrobenzen $C_6H_5NO_2$	Lichid uleios, galben pal, cu miros caracteristic ; punct topire 6°C, punct fierbere 211°C.	Methemoglobinemie cu cianoză, leziune hepatică; simptomele includ cianoza buzelor sau a unghiilor, cianoza pielii, vertij, greață, vărsături, astenie, pierderea cunoștinței. Se absoarbe prin piele.	Combustibil ; risc de foc și explozie ; punct de aprindere 88°.	Se lucrează cu ventilație cu exhaustare locală sau protecție respiratorie, cu mănuși, îmbrăcăminte și ochelari de protecție.	Prin combustie generează emanații gazoase corozive, incluzând oxizi de azot. Reacționează violent cu oxidanții puternici și agenții reducători, cauzând pericol de foc și explozie. Atacă materialele plastice. Formează substanțe sau amestecuri explozive (instabile termic) cu mulți compuși organici și anorganici.	
Oxigen O_2	Gaz incolor comprimat ; punct topire -218,4°C, punct fierbere -183°C .	La concentrație foarte ridicată, iritant pentru tractul respirator.	Nu este combustibil, dar stimulează combustia altor substanțe. Încălzirea crește presiunea în recipiente, cu risc de explozie.	Se vor evita fiacăra deschisă, sursele de scântei, fumatul, contactul cu substanțe inflamabile.	Oxidant puternic, reacționează cu materialele combustibile și reducătoare, cauzând pericol de foc sau explozie. Reacționează cu uleiuri, grăsimi, hidrogen și lichide, solide și gaze inflamabile.	
Pentoxid de fosfor P_2O_5	Cristale sau pulbere albă, higroscopică ; punct topire 340°C, punct de sublimare 360°C.	Coroziv pentru ochi, piele, tractul respirator, producând durere în gât, tuse, senzație de arsură, dispnee, arsuri ale pielii, durere, vezicule, arsuri oculare. Inhalarea poate cauza edem pulmonar. Ingestia poate cauza crampe abdominale, senzație de arsură, diaree, disfgagii, vărsături.	Nu este combustibil, dar stimulează combustia altor substanțe. Multe reacții pot provoca foc sau explozie. Eliberează gaze toxice prin expunere la foc.	Se lucrează cu exhaustare locală a aerului pentru protecție, cu mănuși și îmbrăcăminte de protecție, cu scut transparent pentru față sau protecția ochilor combinată cu protecție respiratorie.	Soluția apoasă este un acid puternic ; reacționează violent cu bazele și este coroziv. Reacționează violent cu acidul percloric, cauzând pericol de foc și explozie. Reacționează violent cu apa formând acid fosforic. Atacă multe metale în prezența apei.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Permanganat de potasiu $KMnO_4$	Cristal purpuriu ; punct topire 240°C (se descompune). Se dizolvă ușor în apă.	Coroziv dacă este înghițit sau dacă praful este inhalat. Deosebit de iritant pentru ochi și tractul respirator, inhalarea prafului poate cauza edem pulmonar.	Agent oxidant puternic; poate aprinde materialele combustibile.	Se lucrează purtând îmbrăcăminte de protecție, protecție oculară și filtru respirator dacă se produce praf.	Reacționează violent sau exploziv dacă este amestecat cu o largă varietate de compuși anorganici sau organici sau cu pulberi de metale.	
Peroxid de hidrogen H_2O_2	Lichid incolor ; punct topire -39°C (70%), punct fierbere 125°C (70%); miscibil cu apa ; este furnizat sub formă de soluție concentrată în variate concentrații.	Coroziv la concentrații mari (60%), precum și la concentrații scăzute (6%) în cazul contactului prelungit cu pielea. Soluțiile diluate sunt iritante pentru ochi, tractul respirator și piele.	Agent oxidant ; contactul cu materialele combustibile poate provoca foc.	În cazul contactului cu pielea, se spală din abundență cu apă. Dacă concentrația depășește 20% se impune protecție cu mănuși din nitril și protecție oculară.	Reacționează viguros cu o gamă variată de substanțe chimice, incluzând oxidanți și baze. Atacă majoritatea metalelor și sărurile acestora, lichidele inflamabile și alte materiale combustibile (hârtie, textile), aniline și nitrometan.	Se poate descompune generând oxigen liber, determinând creșterea presiunii în container. Se păstrează în locuri întunecoase și reci. Nu se folosesc recipiente sau echipamente din metal, ex. bronz, cupru, fier.
Piridina C_5H_5N	Lichid incolor, cu miros caracteristic ; punct topire 42°C, punct fierbere 115°C.	Afectează SNC determinând amețeaală, cefalee, greață, dispnee, pierderea cunoștinței. Poate fi absorbit prin piele cauzând roșeață și senzație de arsură. Ingestia determină dureri abdominale, diaree, vărsături, astenie. Expunerea repetată afectează ficatul și rinichii.	Deosebit de inflamabil ; punct de aprindere 20°C, limitele explozibile 1,8-12,4%. Produce gaze iritante sau toxice prin expunere la foc. Vaporii/amestecurile sunt explozibile.	Se lucrează cu ventilație cu exhaustare locală sau cu protecție respiratorie; cu mănuși și îmbrăcăminte de protecție.	Reacționează violent cu oxidanții puternici și acizii tari.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Propan-2-ol (CH ₃) ₂ CHOH izopropanol	Lichid incolor cu miros alcoolic ; punct topire -89°C, punct fierbere 82°C; miscibil cu apa.	Iritant pentru ochi și tractul respirator. Poate afecta SNC cauzând cefalee, amețeață, greață, vărsături și comă.	Foarte inflamabil ; punct de aprindere 112°C, interval inflamabil 2,3-12,7% .	Se păstrează în recipiente închise etanș, la distanță de sursele de foc. Se lucrează în nișa de protecție chimică, cu mănuși din nitril și protecție oculară.	Poate reacționa viguros cu oxidanți, pentru a forma peroxizi instabili în cazul expunerii prelungite la aer și lumină.	Soluția apoasă 70-85% de propan-2-ol, utilizată ca spray dezinfectant, rămâne un pericol de incendiu și nu trebuie utilizată în vecinătatea surselor de foc.
Seleniu Se	Solid inodor în diferite forme, solid amorf cafeniu-roșcat închis până la negru albăstrui sau cristale roșii transparente sau cristale gri metalizat până la negru ; punct topire 170 -217°C, punct fierbere 685°C.	Iritant pentru piele și ochi. Inhalarea prafului poate cauza edem pulmonar. Expunerea repetată poate cauza căderea unghiilor, afectare gastro-intestinală.	Combustibil. Produce gaze iritante sau toxice prin expunere la foc.	Se va evita dispersia pulberii. Se urmărește respectarea strictă a igienei. Se lucrează cu ventilație cu exhaustare locală, cu mănuși, îmbrăcăminte și ochelari de protecție.	Reacționează violent cu oxidanții și acizii puternici. Reacționează cu apa la 50°C formând hidrogen și acid selenios inflamabile. Reacționează cu incandescență după o încălzire ușoară în contact cu fosforul și metale precum nichelul, potasiul, platina, sodiul și zincul.	
Telurit de potasiu K ₂ TeO ₃	Cristale albe, foarte solubile în apă.	Toxic prin ingestie sau inhalarea de praf. Iritant pentru piele și ochi.		Se manipulează purtând îmbrăcăminte de protecție.		

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Tetraclorura de carbon CCl_4	Lichid incolor cu miros eteric caracteristic ; punct topire -23°C, punct fierbere 76,5°C.	Poate fi absorbită prin piele ;expunerea prelungită poate cauza dermatite. Iritant ocular. Poate cauza leziuni hepatice sau renale, tulburări ale SNC reprezentate de cefalee, greață, icter slab, inapetență și confuzie. Carcinogen pentru animale.	Nu este combustibil. Prin expunere la foc produce vapori sau gaze iritante sau toxice.	Se evită orice contact. Se lucrează cu ventilație, cu sau flacăra, se descompune exhaustare locală sau protecție respiratorie ; cu mănuși din nitril și corozive (acid clorhidric, și îmbrăcăminte de protecție, clor, fosgen). Reacționează cu scut transparent pentru față unele metale cum ar fi aluminiu, sau protecția ochilor combinată magneziu, zinc. cu protecție respiratorie.		
Tetrahidrofuran C_4H_8O Dietilen oxid Tetrametilen oxid	Lichid incolor cu miros caracteristic ; punct topire -108,5°C, punct fierbere 66°C	Inhibitor pentru SNC, cauzează narcoza. Irritant pentru ochi, piele și tractul respirator.	Deosebit de inflamabil ; poate forma peroxizi explozivi ; punct de aprindere -14°C. Apa poate să nu fie eficace în stingerea unui incendiu cu implicarea tetrahidrofuranelor, dar poate fi utilizată pentru a răci recipientele expuse la foc.	Se lucrează cu ventilație, cu exhaustarea locală a aerului sau cu protecție respiratorie, mănuși și ochelari de protecție.	Reacționează violent cu oxidanții puternici, bazele tari și unele halogenuri ale metalelor, cauzând pericol de foc și explozie. Atacă unele forme de plastic, cauciucul și țesăturile. Tetrahidrofurantul poate polimeriza în prezența inhibitorilor cationici. Contactul cu hidroxid de calciu poate cauza explozie.	
Tetraoxid de osmiu OsO_4	Cristale galbene pal, cu miros înțepător ; punct topire 40°C, punct fierbere 130°C ; sublimază sub punctul de fierbere ; solubil în apă.	Foarte toxic prin inhalare, ingestie și contact cu pielea, provocând arsuri și iritație severe. Sub formă de vapori, solid sau în soluție este coroziv pentru piele și tractul respirator. Inhalarea poate cauza edem pulmonar.	Agent oxidant puternic. Nu este combustibil dar stimulează combustia altor substanțe.	Se păstrează containerele bine închise, în spații bine ventilate. Forma solidă sau soluțiile se manipulează în nișa de protecție chimică sau hotă, cu ochelari și mănuși de protecție. Prepararea soluției: se adaugă o fiolă nedesfăcută la volumul propus de apă, se astupă și se agită puternic până la spargerea fiolei.		

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Toluen C_7H_8 Metilbenzen	Lichid incolor cu miros caracteristic ; punct topire $-95^{\circ}C$, punct fierbere $111^{\circ}C$; nu este miscibil cu apa.	Inhibitor pentru SNC. Iritant pentru ochi, mucoase și piele. La om, expunerea repetată poate fi toxică pentru funcția reproducătoare și pentru dezvoltare.	Foarte inflamabil; vaporii pot cauza aprindere ; punct de aprindere $4^{\circ}C$, interval inflamabil $1,4-7\%$. Stingerea în cazul focurilor mici se face cu: substanțe chimice uscate, dioxid de carbon, spumă, vapori de apă sau gaz inert (nitrogen).	Se păstrează în recipiente bine închise, la distanță de sursele de aprindere ; Recipientele să fie cu împământare pentru a preveni acumulările și descărcările de electricitate statică. Se va evita inhalarea vaporilor; se folosește protecție respiratorie. Se lucrează în nișa de protecție chimică sau în spații bine ventilate. Se poartă mănuși din nitril.	Poate reacționa cu acizii tari, alcali și oxidanți.	
o – Toluidina $(C_6H_3(3CH_3)-(4NH_2))_2$ 3,3' - Dimetil-(1,1' - bifenil) - 4,4' - diamina	Cristale incolore ; punct topire $131^{\circ}C$, punct fierbere $200^{\circ}C$; puțin solubilă în apă.	Vătămătoare prin contact cu pielea sau prin ingestie. Pulberea irită tractul respirator și ochii. Probabil carcinogen uman.	Combustibilă. Eliberează gaze iritante sau toxice prin expunere la foc.	Se evită contactul ; se lucrează cu protecție oculară și cu mănuși.		
Tricloretilen $CHClCCl_2$	Lichid incolor, cu miros caracteristic ; punct topire $-73^{\circ}C$, punct fierbere $87^{\circ}C$.	Iritant pentru ochi, piele; expunerea prelungită poate cauza dermatită și poate afecta SNC conducând la pierderea memoriei. Poate afecta ficatul și rinichii. Probabil carcinogen uman.	Combustibil în condiții particulare.	Se lucrează cu ventilație sau cu exhaustare locală ; cu mănuși, ochelari de siguranță sau alte mijloace de protecție a ochilor combinate cu protecție respiratorie.	Se descompune în contact cu suprafețe încinse sau flacăra, formând gaze toxice și corozive (fosgen, acid clorhidric). Se descompune în contact cu alcali puternici producând diclor-acetilena; reacționează violent cu pulberi de metale precum aluminiu, bariu, magneziu sau titan; se descompune încet în prezența luminii și a umezelii, formând acid clorhidric.	

SUBSTANȚE CHIMICE	PROPRIETĂȚI FIZICE	PERICOLE PENTRU SĂNĂTATE	PERICOLE DE FOC	PRECAUȚII DE SIGURANȚĂ	INCOMPATIBILITĂȚI CHIMICE	ALTE PERICOLE
Xilen (izomeri mixti)	Lichid incolor cu miros aromatic ; punct topire -95°C la -13°C, punct fierbere 136 - 145°C ; insolubil în apă.	Poate afecta SNC, conducând la cefalee, amețeală, astenie și greață. Lichidul și vaporii irită ochii, pielea, mucoasele și tractul respirator. Vătămător și prin ingestie. Degresează pielea prin contact prelungit. Afectare neurologică nespecifică. Expunerea poate amplifica pierderea de auz cauzată de expunerea la zgomote. Teste pe animale sugerează toxicitate pentru funcția reproductivă umană și pentru creștere.	Lichid inflamabil ; Punct de aprindere 27-32°C.	Se evită contactul cu ochii. Se manipulează cu mănuși din nitril și protecție oculară. Se stochează în recipiente bine închise, la distanță de surse de aprindere.		Poate conține etil-benzen ca impuritate. Etilbenzenul este un posibil carcinogen uman.

Anexa 6

Clasificarea agenților biologici

Clasificarea este conform Anexei III (Clasificarea Comunității) din Directiva 2000/54/CE a Parlamentului European și Consiliului din data de 18 Septembrie 2000, referitoare la protejerea lucrătorilor împotriva riscurilor presupuse de expunerea la agenți biologici la locul de muncă.

Note introductive

1. În clasificare sunt introduși doar agenții care sunt cunoscuți a infecta ființele umane.

Acolo unde este cazul, sunt furnizate indicații asupra potențialului toxic și alergic al acestor agenți. Agenții patogeni pentru animale și plante cunoscuți că nu afectează omul sunt excluși. La stabilirea acestei liste de agenți biologici nu au fost luate în considerare microorganismele modificate genetic.

2. Lista agenților clasificați se bazează pe efectul acestor agenți asupra lucrătorilor sănătoși.

Efectele particulare asupra celor a căror sensibilitate ar putea fi modificată dintr-un motiv sau altul, cum ar fi patologia preexistentă, administrarea de medicamente, imunitate compromisă, sarcină sau alăptare nu sunt luate în considerare în mod specific.

Riscul suplimentar la care sunt expuși acești lucrători trebuie luat în considerare în evaluarea riscului cerută de Directivă (52).

Măsurile tehnice de precauție luate în cadrul anumitor procese industriale, anumitor lucrări de laborator sau anumitor activități cu animale care implică expunerea efectivă sau potențială la agenți biologici din grupele 3 sau 4, trebuie să fie în conformitate cu Articolul 16 al Directivei.

3. Agenții biologici ce nu au fost clasificați în grupele 2 - 4 nu sunt incluși implicit în grupa 1.

În cazul agenților cu mai multe specii cunoscute ca patogene pentru om, lista va include speciile cel mai frecvent cauzatoare de îmbolnăviri și o referire de ordin mai general la faptul că și alte specii ale aceluiași gen pot afecta sănătatea.

Când în clasificarea agenților biologici se menționează un gen întreg, se subînțelege că speciile și tulpinile care sunt non-patogene au fost excluse.

4. Atunci când o tulpină este atenuată sau și-a pierdut genele de virulență, securizarea cerută prin clasificarea tulpinii parentale nu trebuie aplicată în mod necesar, sub rezerva evaluării corespunzătoare a riscului la locul de muncă.

Acesta este cazul, de exemplu, când o astfel de tulpină este utilizată ca un produs sau parte a unui produs în scopuri profilactice sau terapeutice.

5. Nomenclatura agenților clasificați utilizată pentru a întocmi aceasta listă reflectă și este în conformitate cu cele mai recente acorduri internaționale privind taxonomia și nomenclatura agenților în vigoare în momentul întocmirii sale.

6. Lista agenților biologici clasificați reflectă nivelul cunoștințelor la momentul întocmirii sale.

Ea va fi reactualizată imediat ce nu va mai reflecta cel mai recent nivel al cunoștințelor.

7. Toate virusurile care au fost deja izolate la om și care nu au fost evaluate și incluse în aceasta anexă vor fi clasificate cel puțin la grupa 2, cu excepția cazurilor în care se dovedește că este improbabil aceste virusuri să provoace boli la om.

8. Anumiți agenți biologici clasificați în grupa 3 și care sunt marcați în lista alăturată cu *două asteriscuri* (**), pot prezenta un risc limitat de infecție pentru lucrători, întrucât în mod obișnuit ei nu sunt infecțioși pe cale aerogenă.

Se vor evalua măsurile de securizare ce vor fi aplicate acestor agenți, ținând cont de natura activităților specifice implicate și de cantitatea agenților respectivi, determinându-se dacă, în anumite circumstanțe particulare, se poate renunța la unele din aceste măsuri.

9. Cerințele de securizare care decurg din clasificarea paraziților se vor aplica numai la stadiile din ciclul de viață al parazitului care pot fi infecțioase pentru om la locul de muncă.

10. Aceasta listă conține, de asemenea, indicații separate pentru agenții biologici care pot provoca reacții alergice sau toxice, atunci când este disponibil un vaccin eficace sau când se recomandă ca lista lucrătorilor expuși să fie păstrată mai mult de 10 ani.

Aceste indicații sunt ilustrate prin următoarele litere:

A: Posibile reacții alergice

D: Lista lucrătorilor expuși la acest agent biologic trebuie păstrată mai mult de 10 ani de la încetarea ultimei expuneri cunoscute

T: Producerea de toxine

V: Vaccin eficace disponibil

Efectuarea vaccinării preventive trebuie să respecte codul de practică menționat în Anexa VII a Directivei.

BACTERII și organisme similare

NB: Pentru agenții biologici din listă, mențiunea "spp" indică și alte specii cunoscute ca patogene pentru om.

Agent biologic	Clasificare	Observații
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	2	
<i>Actinomadura madurae</i>	2	
<i>Actinomadura pelletieri</i>	2	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	2	
<i>Actinomyces israelii</i>	2	
<i>Actinomyces pyogenes</i>	2	
<i>Actinomyces</i> spp.	2	
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> (<i>Corynebacterium haemolyticum</i>)	2	
<i>Bacillus anthracis</i>	3	
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	
<i>Bartonella bacilliformis</i>	2	
<i>Bartonella quintana</i> (<i>Rochalimaea quintana</i>)	2	
<i>Bartonella</i> (<i>Rochalimaea</i>) spp.	2	
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	2	
<i>Bordetella parapertussis</i>	2	
<i>Bordetella pertussis</i>	2	V
<i>Borrelia burgdorferi</i>	2	
<i>Borrelia duttonii</i>	2	
<i>Borrelia recurrentis</i>	2	
<i>Borrelia</i> spp.	2	
<i>Brucella abortus</i>	3	
<i>Brucella canis</i>	3	
<i>Brucella melitensis</i>	3	
<i>Brucella suis</i>	3	

ANEXA 6

<i>Burkholderia mallei</i> (<i>Pseudomonas mallei</i>)	3	
<i>Burkholderia pseudomallei</i> (<i>Pseudomonas pseudomallei</i>)	3	
<i>Campylobacter fetus</i>	2	
<i>Campylobacter jejuni</i>	2	
<i>Campylobacter</i> spp.	2	
<i>Cardiobacterium hominis</i>	2	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	2	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2	
<i>Chlamydia psittaci</i> (tulpini aviare)	3	
<i>Chlamydia psittaci</i> (alte tulpini)	2	
<i>Clostridium botulinum</i>	2	T
<i>Clostridium perfringens</i>	2	
<i>Clostridium tetani</i>	2	T, V
<i>Clostridium</i> spp.	2	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	2	T, V
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	2	
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2	
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	
<i>Coxiella burnetii</i>	3	
<i>Edwardsiella tarda</i>	2	
<i>Ehrlichia sennetsu</i> (<i>Rickettsia sennetsu</i>)	2	
<i>Ehrlichia</i> spp.	2	
<i>Eikenella corrodens</i>	2	
<i>Enterobacter aerogenes/cloacae</i>	2	
<i>Enterobacter</i> spp.	2	
<i>Enterococcus</i> spp.	2	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	2	
<i>Escherichia coli</i> (cu excepția tulpinilor nepatogene)	2	
<i>Escherichia coli</i> , tulpinile verocitotoxigene (de ex. O157:H7 sau O103)	3(**)	
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	2	
<i>Fluoribacter bozemanus</i> (<i>Legionella</i>)	2	
<i>Francisella tularensis</i> (Tip A)	3	
<i>Francisella tularensis</i> (Tipe B)	2	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	
<i>Haemophilus ducreyi</i>	2	
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	
<i>Haemophilus</i> spp.	2	
<i>Helicobacter pylori</i>	2	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	
<i>Klebsiella</i> spp.	2	
<i>Legionella pneumophila</i>	2	
<i>Legionella</i> spp.	2	
<i>Leptospira interrogans</i> (toate serotipurile)	2	
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	
<i>Listeria ivanovii</i>	2	
<i>Morganella morganii</i>	2	

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

<i>Mycobacterium africanum</i>	3	V
<i>Mycobacterium avium/intracellulare</i>	2	
<i>Mycobacterium bovis</i> (exceptând tulpina BCG)	3	V
<i>Mycobacterium chelonae</i>	2	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	2	
<i>Mycobacterium kansasii</i>	2	
<i>Mycobacterium leprae</i>	3	
<i>Mycobacterium malmoense</i>	2	
<i>Mycobacterium marinum</i>	2	
<i>Mycobacterium microti</i>	3(**)	
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	2	
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	2	
<i>Mycobacterium simiae</i>	2	
<i>Mycobacterium szulgai</i>	2	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3	V
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	3(**)	
<i>Mycobacterium xenopi</i>	2	
<i>Mycoplasma caviae</i>	2	
<i>Mycoplasma hominis</i>	2	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2	
<i>Neisseria meningitidis</i>	2	V
<i>Nocardia asteroides</i>	2	
<i>Nocardia brasiliensis</i>	2	
<i>Nocardia farcinica</i>	2	
<i>Nocardia nova</i>	2	
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	2	
<i>Pasteurella multocida</i>	2	
<i>Pasteurella</i> spp.	2	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2	
<i>Porphyromonas</i> spp.	2	
<i>Prevotella</i> spp.	2	
<i>Proteus mirabilis</i>	2	
<i>Proteus penneri</i>	2	
<i>Proteus vulgaris</i>	2	
<i>Providencia alcalifaciens</i>	2	
<i>Providencia rettgeri</i>	2	
<i>Providencia</i> spp.	2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	
<i>Rhodococcus equi</i>	2	
<i>Rickettsia akari</i>	3(**)	
<i>Rickettsia canada</i>	3(**)	
<i>Rickettsia conorii</i>	3	
<i>Rickettsia montana</i>	3(**)	
<i>Rickettsia typhi</i> (<i>Rickettsia mooseri</i>)	3	
<i>Rickettsia prowazekii</i>	3	
<i>Rickettsia rickettsii</i>	3	
<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	3	

ANEXA 6

<i>Rickettsia</i> spp.	2	
<i>Salmonella arizonae</i>	2	
<i>Salmonella enteritidis</i>	2	
<i>Salmonella typhimurium</i>	2	
<i>Salmonella paratyphi</i> A, B, C	2	V
<i>Salmonella typhi</i>	3(**)	V
<i>Salmonella</i> (alte serotipuri)	2	
<i>Serpulina</i> spp.	2	
<i>Shigella boydii</i>	2	
<i>Shigella dysenteriae</i> (Tip 1)	3 (**)	T
<i>Shigella dysenteriae</i> , altele decât Tip 1	2	
<i>Shigella flexneri</i>	2	
<i>Shigella sonnei</i>	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	2	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	
<i>Streptococcus suis</i>	2	
<i>Streptococcus</i> spp.	2	
<i>Treponema carateum</i>	2	
<i>Treponema pallidum</i>	2	
<i>Treponema pertenue</i>	2	
<i>Treponema</i> spp.	2	
<i>Vibrio cholerae</i> (inclusiv El Tor)	2	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2	
<i>Vibrio</i> spp.	2	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	
<i>Yersinia pestis</i>	3	V
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	2	
<i>Yersinia</i> spp.	2	

(**) Vezi paragraful 8 al notelor introductive.

VIRUSURI (*)

Agent biologic	Clasificare	Observații
<i>Adenoviridae</i>	2	
<i>Arenaviridae</i>		
Complexul LCM-Lassa virus (arena virusuri ale "lumii vechi"):		
Virusul Lassa	4	
Virusul coriomeningitei limfocitare (tulpini neurotrope)	3	
Virusul coriomeningitei limfocitare (alte tulpini)	2	
Virusul Mopeia	2	
Alte virusuri ai complexului LCM-Lassa	2	
Complexul Tacaribe-Virus (arena virusuri ale "lumii noi"):		
Virusul Guanarito	4	
Virusul Junin	4	
Virusul Sabia	4	
Virusul Machupo	4	
Virusul Flexal	3	
Alte virusuri ale complexului Tacaribe	2	

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

<i>Astroviridae</i>	2	
<i>Bunyaviridae</i>		
Belgrade (cunoscut și ca Dobrava)	3	
Bhanja	2	
Virusul Bunyamwera	2	
Germiston	2	
Virusul Oropouche	3	
Sin Nombre (fostul Muerto Canyon)	3	
Virusul encefalitei de California	2	
Hantavirusuri:		
Hantaan (febra hemoragică de Coreea)	3	
Virusul Seoul	3	
Virusul Puumala	2	
Virusul Prospect Hill	2	
Alte hantavirusuri	2	
Nairovirusuri:		
Virusul febrei hemoragice de Crimeea-Congo	4	
Virusul Hazara	2	
Flebovirusuri:		
Febra Valley Rift	3	V
Febra muștei-de-nisip	2	
Virusul Toscana	2	
Alte bunyaviridae cunoscute ca fiind patogene	2	
<i>Caliciviridae</i>		
Virusul Hepatitei E	3(**)	
Virusul Norwalk	2	
Alte <i>Caliciviridae</i>	2	
<i>Coronaviridae</i>	2	
<i>Filoviridae</i>		
Virusul Ebola	4	
Virusul Marburg	4	
<i>Flaviviridae</i>		
Encefalita de Australia (Encefalita Murray Valley)	3	
Virusul encefalitei Central-Europene transmis prin căpușă	3 (**)	V
Absettarov	3	
Hanzalova	3	
Hypr	3	
Kumlinge	3	
Virusul Dengue tip 1-4	3	
Virusul Hepatitei C	3(**)	D
Virusul Hepatitei G	3(**)	D
Virusul encefalitei japoneze B	3	V
Kysanur Forest	3	V
Louping ill	3(**)	
Omsk (a)	3	V
Powassan	3	
Rocio	3	
Encefalita de primăvară-vară rusă (TBE) (a)	3	V

ANEXA 6

Encefalita de St Louis	3	
Virusul Wesselsbron	3(**)	
Virusul febrei West Nile	3	
Febra galbenă	3	V
Alte flavivirusuri cunoscute ca fiind patogene	2	
<i>Hepadnaviridae</i>		
Virusul Hepatitei B	3(**)	V, D
Virusul Hepatitei D (Delta) (b)	3(**)	V, D
<i>Herpesviridae</i>		
Citomegalovirus	2	
Virusul Epstein-Barr	2	
Herpesvirus simiae (Virusul B)	3	
Virusul Herpes simplex, tipurile 1 și 2	2	
Herpesvirus varicella-zoster	2	
Virusul limfotrop B uman (HBLV-HHV6)	2	
Virusul herpes uman 7	2	
Virusul herpes uman 8	2	D
<i>Orthomyxoviridae</i>		
Virusurile gripale tip A, B și C	2	V(c)
<i>Orthomyxoviridae</i> transmise prin capușă: Dhori și Thogoto		
	2	
<i>Papovaviridae</i>		
Virusurile BK și JC	2	D(d)
Papillomavirusuri umane	2	D(d)
<i>Paramyxoviridae</i>		
Virusul pojarului	2	V
Virusul oreionului	2	V
Virusul bolii Newcastle	2	
Virusurile paragripale tipurile 1 - 4	2	
Virusul respirator sincițial	2	
<i>Parvoviridae</i>		
Parvovirusul uman (B 19)	2	
<i>Picornaviridae</i>		
Virusul conjunctivitei hemoragice acute (AHC)	2	
Virusul Cocksackie	2	
Echo virusuri	2	
Virusul Hepatitei A (enterovirusul uman tip 72)	2	V
Poliovirusuri	2	V
Rinovirusuri	2	
<i>Poxviridae</i>		
Virusul Buffalopox (e)	2	
Virusul variolei taurinelor	2	
Virusul Elephantpox (f)	2	
Virusul Milkers' node	2	
<i>Molluscum contagiosum virus</i>	2	
Virusul Monkeypox	3	V
Virusul Orf 2		
Virusul Rabbitpox (g)	2	
Virusul Vaccinia	2	
Virusul variolei (major și minor)	4	V

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Virusul Whitepox ('Variola virus')	4	V
Virusul Yatapox (Tana & Yaba)	2	
<i>Reoviridae</i>		
Coltivirus	2	
Rotavirusuri umane	2	
Orbivirusi	2	
Reuvirusi	2	
<i>Retroviridae</i>		
Virusurile imunodeficienței umane	3(**)	D
Virusurile limfotropice ale celulelor T umane (HTLV), tipurile 1 și 2	3(**)	D
SIV (h)	3(**)	
<i>Rhabdoviridae</i>		
Virusul rabic	3(**)	V
Virusul stomatitei veziculare	2	
<i>Togaviridae</i>		
Alfavirusuri		
Encefalomielite equină estică	3	V
Virusul Bebaru	2	
Virusul Chikungunya	3(**)	
Virusul Everglades	3(**)	
Virusul Mayaro	3	
Virusul Mucambo	3(**)	
Virusul Ndumu	3	
Virusul O'nyong-nyong	2	
Virusul Ross River	2	
Virusul Semliki Forest	2	
Virusul Sindbis	2	
Virusul Tonate	3(**)	
Encefalomielite equină venezueleană	3	V
Encefalomielite equină vestică	3	V
Alte alfavirusuri cunoscute	2	
Rubivirus (rubeola)	2	V
<i>Toroviridae</i>		
Virusuri neclasificate		
Virusul pojarului equin	4	
Virusuri hepatitice încă neidentificate	3(**)	D
Agenți neconvenționali asociați cu encefalopatiile spongiforme transmisibile (TSEs)		
Boala Creutzfeldt-Jakob	3(**)	D(d)
Varianta bolii Creutzfeldt-Jakob	3(**)	D(d)
Encefalopatia spongiformă bovină (BSE) și alte encefalopatii spongiforme transmisibile (i)	3(**)	D(d)
Sindromul Gerstmann-Sträussler-Scheinker	3(**)	D(d)
Kuru	3(**)	D(d)

(*) Vezi paragraful 7 al notelor introductive.

(**) Vezi paragraful 8 al notelor introductive.

(a) Encefalita transmisă de căpușă.

(b) Virusul hepatitei D reprezintă un agent patogen pentru lucrători doar în prezența unei infecții simultane sau secundare cauzată de virusul hepatitei B.

Vaccinarea contra virusului hepatitei B va proteja deci lucrătorii care nu sunt afectați de virusul hepatitei B, împotriva virusului hepatitei D (Delta).

(c) Numai pentru tipurile A și B.

(d) Recomandat pentru activitățile care implică contactul direct cu acești agenți .

(e) Sunt identificate două virusuri: unul de tip buffalopox iar celălalt o variantă a virusului Vaccinia.

(f) Variantă a virusului cowpox.

(g) Varianta a virusului Vaccinia.

(h) În prezent, nu există dovezi de boală la om provocată de alte retrovirusuri de origine simiană. Ca măsură de precauție, pentru activitățile cu risc de expunere la aceștia, se recomandă securizare de nivel 3.

(i) Nu există dovezi de infecții provocate la om de agenți responsabili pentru alte encefalopatii spongiforme transmisibile animale. Cu toate acestea, ca măsură de precauție pentru lucrările de laborator, se recomandă măsuri de securizare pentru agenții incluși în grupa de risc 3 (**), cu excepția lucrărilor de laborator care implică un agent scrapie pentru care nivelul de securizare 2 este suficient.

PARAZIȚI

Agent biologic	Clasificare	Observații
<i>Acanthamoeba castellani</i>	2	
<i>Ancylostoma duodenale</i>	2	
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	2	
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	2	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	A
<i>Ascaris suum</i>	2	A
<i>Babesia divergens</i>	2	
<i>Babesia microti</i>	2	
<i>Balantidium coli</i>	2	
<i>Brugia malayi</i>	2	
<i>Brugia pahangi</i>	2	
<i>Capillaria philippinensis</i>	2	
<i>Capillaria</i> spp.	2	
<i>Clonorchis sinensis</i>	2	
<i>Clonorchis viverrini</i>	2	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	2	
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2	
<i>Dipetalonema streptocerca</i>	2	
<i>Diphyllobothrium latum</i>	2	
<i>Dracunculus medinensis</i>	2	
<i>Echinococcus granulosus</i>	3(**)	
<i>Echinococcus multilocularis</i>	3(**)	
<i>Echinococcus vogeli</i>	3(**)	
<i>Entamoeba histolytica</i>	2	
<i>Fasciola gigantica</i>	2	
<i>Fasciola hepatica</i>	2	
<i>Fasciolopsis buski</i>	2	
<i>Giardia lamblia (Giardia intestinalis)</i>	2	
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2	
<i>Hymenolepis nana</i>	2	

GHID NAȚIONAL DE BIOSIGURANȚĂ PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

<i>Leishmania brasiliensis</i>	3(**)
<i>Leishmania donovani</i>	3(**)
<i>Leishmania ethiopica</i>	2
<i>Leishmania mexicana</i>	2
<i>Leishmania peruviana</i>	2
<i>Leishmania tropica</i>	2
<i>Leishmania major</i>	2
<i>Leishmania</i> spp.	2
<i>Loa loa</i>	2
<i>Mansonella ozzardi</i>	2
<i>Mansonella perstans</i>	2
<i>Naegleria fowleri</i>	3
<i>Necator americanus</i>	2
<i>Onchocerca volvulus</i>	2
<i>Opisthorchis felineus</i>	2
<i>Opisthorchis</i> spp.	2
<i>Paragonimus</i> <i>termani</i>	2
<i>Plasmodium falciparum</i>	3(**)
<i>Plasmodium</i> spp. (human and simian)	2
<i>Sarcocystis sui</i> <i>hominis</i>	2
<i>Schistosoma haematobium</i>	2
<i>Schistosoma intercalatum</i>	2
<i>Schistosoma japonicum</i>	2
<i>Schistosoma mansoni</i>	2
<i>Schistosoma mekongi</i>	2
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2
<i>Strongyloides</i> spp.	2
<i>Taenia saginata</i>	2
<i>Taenia solium</i>	3(**)
<i>Toxocara canis</i>	2
<i>Toxoplasma gondii</i>	2
<i>Trichinella spiralis</i>	2
<i>Trichuris trichiura</i>	2
<i>Trypanosoma brucei brucei</i>	2
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	2
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	3(**)
<i>Trypanosoma cruzi</i>	3
<i>Wuchereria bancrofti</i>	2

(**) Vezi paragraful 8 al notelor introductive.

FUNGI

Agent biologic	Clasificare	Observații
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	A
<i>Blastomyces dermatitidis</i> (<i>Ajellomyces dermatitidis</i>)	3	
<i>Candida albicans</i>	2	A
<i>Candida tropicalis</i>	2	
<i>Cladophialophora bantiana</i> (fosta: <i>Xylohypha bantiana</i> , <i>Cladosporium bantianum</i> sau <i>trichoides</i>)	3	
<i>Coccidioides immitis</i>	3	A

ANEXA 6

<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (<i>Filobasidiella neoformans</i> var. <i>neoformans</i>)	2	A
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i> (<i>Filobasidiella bacillispora</i>)	2	A
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>parva</i>	2	
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>crescens</i>	2	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	2	A
<i>Fonsecaea compacta</i>	2	
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	2	
<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> (<i>Ajellomyces capsulatus</i>)	3	
<i>Histoplasma capsulatum duboisii</i>	3	
<i>Madurella grisea</i>	2	
<i>Madurella mycetomatis</i>	2	
<i>Microsporum</i> spp.	2	A
<i>Neotestudina rosatii</i>	2	
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	3	
<i>Penicillium marneffeii</i>	2	A
<i>Scedosporium apiospermum</i> (<i>Pseudallescheria boydii</i>)	2	
<i>Scedosporium prolificans</i> (<i>inflatum</i>)	2	
<i>Sporothrix schenckii</i>	2	
<i>Trichophyton rubrum</i>	2	
<i>Trichophyton</i> spp.	2	

Bibliografie

1. Safety in health-care laboratories. Geneva, World Health Organization, 1997, (http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_LAB_97.1.pdf).
2. Garner JS, Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:24–52, (<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/isolat/isolat.htm>).
3. Hunt GJ, Tabachnick WJ. Handling small arbovirus vectors safely during biosafety level 3 containment: *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) and exotic bluetongue viruses. *Journal of Medical Entomology*, 1996, 33:271–277.
4. National Research Council. Occupational health and safety in the care and use of research animals. Washington, DC, National Academy Press, 1997.
5. Richmond JY, Quimby F. Considerations for working safely with infectious disease agents in research animals. In: Zak O, Sande MA, eds. *Handbook of animal models of infection*. London, Academic Press, 1999:69–74.
6. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 4th ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 1999.
7. Class II (laminar flow) biohazard cabinetry. Ann Arbor, MI, National Sanitation Foundation, 2002 (NSF/ANSI 49–2002).
8. Richmond JY, McKinney RW. Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets, 2nd ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 2000.
9. Microbiological safety cabinets. Recommendations for information to be exchanged between purchaser, vendor and installer and recommendations for installation. London, British Standards Institution, 1992 (Standard BS 5726–2:1992).
10. Microbiological safety cabinets. Recommendations for selection, use and maintenance. London, British Standards Institution, 1992 (Standard BS 5726–4:1992).
11. Biological containment cabinets (Class I and II): installation and field testing. Toronto, Canadian Standards Association, 1995 (Standard Z316.3–95 (R2000)).
12. Collins CH, Kennedy DA. *Laboratory acquired infections: history, incidence, causes and prevention*, 4th ed. Oxford, Butterworth-Heinemann, 1999.
13. Health Canada. *Laboratory biosafety manual*, 2nd ed. Ottawa, Minister of Supply and Services Canada, 1996.
14. Biological safety cabinets – biological safety cabinets (Class I) for personnel and environment protection. Sydney, Standards Australia International, 1994 (Standard AS 2252.1–1994).
15. Biological safety cabinets – laminar flow biological safety cabinets (Class II) for personnel, environment and product protection. Sydney, Standards Australia International, 1994 (Standard AS 2252.2–1994).
16. Standards Australia/Standards New Zealand. *Biological safety cabinets – installation and use*. Sydney, Standards Australia International, 2000 (Standard AS/NZS 2647:2000).
17. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. *Guidance on the use, testing and maintenance of laboratory and animal flexible film isolators*. London, Health and Safety Executive, 1990.

18. Standards Australia/Standards New Zealand. Safety in laboratories – microbiological aspects and containment facilities. Sydney, Standards Australia International, 2002 (Standard AS/NZS 2243.3:2002).
19. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1987, 36 (Suppl. 2):1S–18S.
20. Bosque PJ et al. Prions in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99:3812–3817.
21. Bartz JC, Kincaid AE, Bessen RA. Rapid prion neuroinvasion following tongue infection. *Journal of Virology*, 2003, 77:583–591.
22. Thomzig A et al. Widespread PrPSc accumulation in muscles of hamsters orally infected with scrapie. *EMBO Reports*, 2003, 4:530–533.
23. Glatzel M et al. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeld-Jakob disease. *New England Journal of Medicine*, 2003, 349:1812–1820.
24. Brown P, Wolff A, Gajdusek DC. A simple and effective method for inactivating virus infectivity in formalin-fixed tissue samples from patients with Creutzfeld-Jakob disease. *Neurology*, 1990, 40:887–890.
25. Taylor DM et al. The effect of formic acid on BSE and scrapie infectivity in fixed and unfixed brain-tissue. *Veterinary Microbiology*, 1997, 58:167–174.
26. Safar J et al. Prions. In: Richmond JY, McKinney RW, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 4th ed. Washington, DC, United States Department of Health and Human Services, 1999:134–143.
27. Bellinger-Kawahara C et al. Purified scrapie prions resist inactivation by UV irradiation. *Journal of Virology*, 1987, 61:159–166.
28. Health Services Advisory Committee. *Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories*. London, HSE Books, 1991.
29. Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ. *Disinfection, preservation and sterilization*, 3rd ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1999.
30. Ascenzi JM. *Handbook of disinfectants and antiseptics*. New York, NY, Marcel Dekker, 1996.
31. Block SS. *Disinfection, sterilization & preservation*, 5th ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
32. Rutala WA. APIC guideline for selection and use of disinfectants. 1994, 1995, and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, INC. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24:313–342.
33. Sattar SA, Springthorpe VS, Rochon M. A product based on accelerated and stabilized hydrogen peroxide: evidence for broad-spectrum germicidal activity. *Canadian Journal of Infection Control*, 1998, 13:123–130.
34. Schneider PM. Emerging low temperature sterilization technologies. In: Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:79–92.
35. Springthorpe VS. New chemical germicides. In: Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:273–280.
36. Steelman VM. Activity of sterilization processes and disinfectants against prions. In: Rutala WA, eds. *Disinfection & sterilization in health care*. Champlain, NY, Polyscience, 1997:255–271.
37. Taylor DM. Transmissible degenerative encephalopathies: inactivation of the unconventional causal agents. In: Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ, eds. *Disinfection, preservation and sterilization*, 3rd ed. Oxford, Blackwell Scientific, 1999:222–236.

BIBLIOGRAFIE

38. Infection control guidelines for hand washing, cleaning, disinfection and sterilization in health care, 2nd ed. Ottawa, Laboratory Centre for Disease Control, Health Canada, 1998.
39. Springthorpe VS, Sattar SA. Chemical disinfection of virus-contaminated surfaces. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 1990, 20:169–229.
40. Recommendations on the transport of dangerous goods, 13th revised edition, New York and Geneva, United Nations, 2003, (http://www.unece.org/trans/danger/publi/unrec/rev13/13files_e.html).
41. Technical instructions for the safe transport of dangerous goods by air, 2003–2004 Edition. Montreal, International Civil Aviation Organization, 2002.
42. Economic Commission for Europe Inland Transport Committee. Restructured ADR applicable as from 1 January 2003. New York and Geneva, United Nations, 2002, (<http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr2003/ContentsE.html>).
43. Infectious substances shipping guidelines. Montreal, International Air Transport Association, 2003, (<http://www.iata.org/ads/issg.htm>).
44. Transport of Infectious Substances. Geneva, World Health Organization, 2004, (http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_9/en/).
45. Berg P et al. Asilomar conference on recombinant DNA molecules. *Science*, 1975, 188:991–994.
46. European Council. Council Directive 98/81/EC of 26 October 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified microorganisms. *Official Journal*, 1998, L330:13–31.
47. O'Malley BW Jr et al. Limitations of adenovirus-mediated interleukin-2 gene therapy for oral cancer. *Laryngoscope*, 1999, 109:389–395.
48. World Health Organization. Maintenance and distribution of transgenic mice susceptible to human viruses: memorandum from a WHO meeting. *Bulletin of the World Health Organization*, 1993, 71:497–502.
49. Furr AK. *CRC handbook of laboratory safety*, 5th ed. Boca Raton, FL, CRC Press, 2000.
50. Lenga RE. *The Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety Data*, 2nd ed. Milwaukee, WI, Aldrich Chemical Company, 1988.
51. Lewis RJ. *Sax's dangerous properties of industrial materials*, 10th ed. Toronto, John Wiley and Sons, 1999.
52. DIRECTIVE 2000/54/EC of The European Parliament and of The Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC)

Conținutul acestui material nu reprezintă în mod necesar poziția oficială a Uniunii Europene

ISBN 973-99-893-7-3