

Recomandări de bază privind biosiguranța în laboratorul clinic de microbiologie

Puncte cheie

- Fiecare laborator trebuie să evalueze riscurile locale pentru a se asigura că se pot efectua testările în condiții de siguranță.
- Prelucrarea probelor biologice trebuie efectuată respectând regulile de bune practici microbiologice, conform procedurilor locale.
- Tehnicile de laborator care nu presupun cultivarea virusului, inclusiv tehnicile de amplificare (NAAT – nucleic acid amplification tests) efectuate din probele provenite de la pacienți suspecți sau confirmați cu COVID-19 vor respecta regulile descrise mai jos, ce se aplică în laboratoarele de biosiguranță de nivel II.
- Tehnicile care presupun manevrarea unor probe cu încărcătură virală mare (cultivarea virusului) necesită laboratoare de biosiguranță de nivel III.
- Procesarea primară a probelor înainte de inactivare, inclusiv în cazul tehnicilor NAAT sau secvențiere, se efectuează în hote de biosiguranță clasa II.
- Se vor folosi dezinfectanți cu acțiune cunoscută față de virusurile învelite, respectând concentrația, timpul de contact recomandat de producător și în cadrul termenului de valabilitate.
- Se va avea o atenție sporită pentru reducerea riscului formării de aerosoli și picături.
- Personalul trebuie să poarte echipament de protecție personală conform riscului estimat.
- Probele biologice de la pacienții suspecți/confirmați COVID-19 trebuie transportate ca și substanțe biologice de categoria B. Izolatele virale se transportă ca și substanțe biologice de categoria A.

Competența personalului și (re)instruirea lui

Asigurați-vă că personalul care lucrează în laborator a fost instruit corespunzător, cunoaște și aplică procedurile în condiții de biosiguranță, înțelege importanța măsurilor de biosiguranță.

Echipamentul de protecție personală

- În zonele de lucru ale laboratorului se poartă halate cu mâneci lungi, cu manșeta elastică care se fixează în jurul încheieturii mâinii. Mânele nu se retrag spre cot. Halatul trebuie să fie suficient de lung să acopere genunchii. Halatele se poartă închise. Preferabil, materialul trebuie să fie impermeabil. Halatele se poartă doar în zonele de lucru, după utilizare acestea se păstrează corespunzător, într-o zonă dedicată.

- A nu se agăța halatele unul peste celălalt sau în dulapuri alături de lucrurile personale. A nu se purta halatele cu care se lucrează în laborator în afara zonei de lucru, cum ar fi în sala de mese, de repaos, în afara laboratorului de microbiologie.
- Se vor purta mănuși de fiecare dată când se lucrează cu probe biologice (sânge, fluide corporale, exsudate recoltate de la nivelul tractului respirator, materii fecale și alte probe potențial infecțioase). Mănușile nu se dezinfectează și nu se refolosesc, deoarece prin dezinfecție, scoatere și repunere, purtare prelungită acestea se deteriorează și nu asigură protecție adecvată. Integritatea mănușilor se vor verifica înainte de folosire.
- Nu se părăsește zona de lucru cu mănușile. Acestea se scot, respectând regulile de îndepărtare a lor, pentru a se evita contaminarea mâinilor. Mănușile se aruncă în recipiente speciale. După îndepărtarea mănușilor se igienizează mâinile.
- Ochelarii de protecție, vizierele se vor purta de fiecare dată când trebuie protejați de stropi ochii sau fața .
- Protecția respiratorie nu este necesară de obicei. Cu toate acestea, trebuie evaluate riscurile locale în vederea stabilirii nevoii protecției respiratorii. Este vorba în special de proceduri care se efectuează în afara hotei de biosiguranță, cele generatoare de aerosoli: centrifugarea, manevrarea unor probe scurse sau proceduri care pot genera stropi (deschiderea tuburilor de centrifugă, mixare, vortexare, agitare energetică, deschiderea unor recipiente cu presiune crescută în interior).

Bune practici de microbiologie

- A nu se aduce în zona spațiilor de lucru obiecte personale, mâncare sau băuturi.
- A nu se pune în gură diverse obiecte (de ex. instrumente de scris), nici în cazul purtării de mănuși
- A se spăla mâinile după manevrarea probelor biologice, de fiecare dată când se suspicionează contaminarea mâinilor și înainte de părăsirea spațiului de lucru.
- Leziunile cutanate trebuie acoperite, pansate.
- Înainte de a intra în zona de lucru, să se convingă de existența tuturor reactivilor, echipamentelor de lucru și de protecție personală, dezinfectante și antiseptice suficiente pentru munca ce urmează a fi desfășurată.
- A se proteja documentele în care se fac înregistrări. Documentele în care se fac înregistrări nu se scot din laborator, acestea au un loc de păstrare bine stabilit. Cele care trebuie scoase din laborator se vor proteja de folii apărătoare.
- Toate manevrele se fac cu grijă și fără grabă. A se evita lucrul de către persoane obosite.
- Suprafața de lucru trebuie pastrată curată, ordonată și neaglomerată cu lucruri inutile.

- A se interzice folosirea de căști, acestea ar putea distra atenția persoanei și împiedică auzirea semnalelor de alarmă din instituție sau ale echipamentelor.
- A se îndepărta bijuteriile (inele, brățări). Cele care nu pot fi îndepărtate, trebuie acoperite pentru a preveni ruperea mănușilor și trebuie decontaminate în mod regulat.
- A nu se utiliza echipamente electronice mobile (telefon, tablete, laptop, stick de memorie, cameră foto) când acestea nu sunt strict necesare în cadrul unei proceduri.
- Echipamentele electronice trebuie păstrate în locuri unde sunt ferite de contaminare. Dacă acest lucru nu este posibil, trebuie decontaminate înainte de a fi scoase din laborator.

Proceduri tehnice

- În cadrul prelucrării probelor biologice trebuie utilizate tehnici corecte, cu minimalizarea formării de aerosoli și picături.
- A se evita ingerarea agenților biologici și contactul cu ochii și tegumente.
- A se purta mănuși pe toată durata lucrului cu probe biologice.
- A nu se atinge fața cu mâinile (cu sau fără mănuși).
- De câte ori este posibil să se înlocuiască echipamentele din sticlă cu plastice.
- A se acoperi fața, gura în cazul unor manevre care pot genera stropi.
- În cazul în care se folosesc foarfeci, acestea să fie cu capătul rotunjit.
- Tăietoarele și întepătoarele trebuie manipulate cu grijă, descărcarea acestora se face conform reglementărilor în vigoare (recipiente speciale).
- A nu se recapșona acele.
- Pentru prevenirea răspândirii agenților biologici:
 - Probele biologice și culturile se vor arunca în recipiente etanșe și cu capac pentru a se preveni scurgerea;
 - La deschiderea tuburilor se poate lua în considerare utilizarea unui tifon îmbibat în dezinfectant;
 - Aria de lucru se va decontamina la terminarea lucrului și ori de câte ori se stropește sau survine o contaminare evidentă conform procedurilor locale;
 - Asigurați-vă că tipul de dezinfectant folosit este adecvat patogenilor cu care se lucrează și că procesul de dezinfecție respectă timpul de contact prevăzut de producător.

Preluarea si păstrarea probelor biologice

- Probele preluate de laborator trebuie să fie însoțite de suficiente informații pentru a putea identifica tipul probei, când și unde a fost colectat, ce testări se solicită.
- Se poate lua în considerare deschiderea pachetelor de probe în hotă. Personalul care preia probele trebuie să fie instruit adecvat și să fie conștient de pericolele implicate. Trebuie să cunoască procedura aplicată în caz de probe scurse sau recipiente sparte, să știe cum să aplice dezinfectanții în caz de contaminare.
- Păstrarea probelor se face în recipiente adecvate, inscripționate pentru a înlesni identificarea lor. Materialul recipientului să fie corespunzător modului de pastrare.

Utilizarea hotelor de biosiguranță

- **Toate** probele biologice care se prelucrează în laboratorul de microbiologie pot avea încărcătură de SARS-CoV-2, de aceea deschiderea probelor și prelucrarea acestora (însămânțare, efectuarea frotiurilor, teste rapide) trebuie efectuată sub hote de biosiguranță clasa II certificate, cu mentenanța și reviziile efectuate la zi.
- Pentru a lucra în siguranță, trebuie respectate regulile de funcționare ale acestuia: pornire conform instrucțiunilor, așteptarea stabilizării fluxului. A nu se încărca excesiv spațiul de lucru, a nu se acoperi (cu hârtii, obiecte) fantele prin care circulă fluxul de aer, a se evita mișcările excesive din jurul hotei care îi perturbă fluxul.
- Persoana care lucrează la hotă să efectueze mișcări lente, introducerea mâinilor sub hotă se face perpendicular față de planul ferestrei frontale. După introducerea mâinilor se așteaptă cca 1 minut nemișcat pentru asigurarea stabilizării fluxului de aer. Pentru a reduce numărul intrărilor/ieșirilor să fie pregătite prealabil la îndemână toate lucrurile necesare.
- Pe aria de lucru se poate pune o bucată de prosop de hârtie îmbibat cu dezinfectant pentru reținerea picăturilor. Obiectele necesare pentru activitatea sub hotă trebuie puse cât mai în spate. Dacă este nevoie de vortex, acesta se pune cât mai în spate. Recipientul pentru deșeuri mici (vârfuri, anse de plastic) prevazute cu saci se pune într-o parte a hotei (dreapta pentru dreptaci). Aceste recipiente pentru colectarea deșeurilor să nu se pună în afara hotei, deoarece scoaterea și introducerea repetată a mâinilor în hotă perturbă fluxul de aer.
- Se recomandă ca hota să fie pornită cu cca 5 minute înainte de începerea și la 5 minute după terminarea lucrului pentru a permite evacuarea aerului contaminat.
- Utilizarea lampii UV nu se impune. Dacă se folosește, să se ștergă praful de pe tub cel puțin odată pe săptămână.
- În cazul unui incident prin stropire în incinta hotei, trebuie dezinfectată imediat în timp ce hota rămâne în funcțiune.

- După terminarea lucrului toate obiectele se scot din hotă. Echipamentele se decontaminează. Nu se lasă medii de cultură în interior. Hota se dezinfectează înaintea începerii și după terminarea lucrului.
- Pentru dezinfectarea hotei se va folosi dezinfectant potrivit microorganismelor cu care se lucrează. Se preferă soluțiile de alcool 70%, cele pe bază de clor, peroxid. În cadrul decontaminării de la terminarea lucrului se vor șterge inclusiv pereții hotei, partea interioară și exterioară a geamului. Dacă se folosesc substanțe corozive (de ex. hipocloriți), se va face o ștergere adițională cu lavetă îmbibată cu apă sterilă.
- Persoana care lucrează la hotă trebuie să poarte halat preferabil cu închidere la spate, cu mânecă lungă, cu manșetă elastică, mănușile trase peste manșetă.

Manevre care implică risc de contaminare

- Pipetare cu pipete automate
 - se pot genera aerosoli când din vârf cade o picătură pe suprafața de lucru, când se amestecă în lichid prin aspirare-dispersare, când se elimină ultimele picături din vârf
 - pentru evitarea formării aerosolilor se va pipeta lent, nu se vor amesteca materialele infecțioase prin aspirare-dispersare
 - pe aria de lucru se poate așeza un material absorbant care se îndepărtează după terminarea lucrului în containere de infecțioase
 - se poate evita aspirarea aerosolilor generați prin pipetare prin lucrul în hotă
- Transferul materialului infecțios
 - pentru a evita caderea materialului infecțios din ansă, se recomandă să se folosească anse cu bucla închisă, cu diametrul între 2-3 mm
 - se preferă arzătoarele electrice sau ansele de unică folosință (în cursul arderii anselor la becul Bunsen se poate dispersa materialul infecțios în jurul becului)
- Centrifugarea
 - Centrifuga trebuie supravegheată – în eventualitatea spargerii unui tub, trebuie oprită – se deschide doar după 30 de minute de la oprire, cu echipament de protecție inclusiv respiratorie și se dezinfectează interiorul centrifugii.
 - Dacă spargerea unui tub se observă numai după oprirea centrifugii, capacul se reînchide imediat și se lasă închis 30 de minute. După aceea se procedează conform celor descrise mai sus.
 - În cazul în care nu au loc incidente, centrifuga se deschide după o pauză de 10 minute

- Deschiderea recipientelor cu material biologic se face strict în hotă.
- Froturi: procesul de fixare nu distruge neapărat toate microorganismele – de aceea trebuie manevrate cu grijă, ca și potențial contaminate.

Incidente:

- În caz de stropire: recipientele sparte, materialul scurs se acoperă cu prosop de hârtie, dezinfectantul se aplică peste acesta și se lasă durata timpului de contact, în funcție de tipul dezinfectantului. Se îndepărtează prosopul de hârtie, rămășițele. Se poartă mănuși pe toată durata procesului.

Igiena mâinilor în laborator

- se va respecta procedura descrisă în documentul Institutului Național de Sănătate Publică: <http://www.cnsctb.ro/index.php/informatii-pentru-personalul-medico-sanitar/1487-reguli-de-urmat-in-igiena-mainilor-pentru-personalul-medical-care-ingrijeste-persoanele-suspecte-sau-confirmate-cu-infectie-cu-noul-coronavirus/file>
- Este absolut interzisă folosirea prosoapelor textile în laboratoare!
- Pentru efectuarea corectă a igienei mâinilor se interzice:
 - o purtarea inelelor, brățărilor, ceasurilor tip brățară sau a altor bijuterii în timpul activității;
 - o purtarea unghiilor lungi sau lăcuite, indiferent de tipul sau vechimea lacului de unghii; unghiile artificiale;

Bibliografie :

- Ghidul OMS pentru biosiguranța în laboratoare în contextul pandemiei COVID-19 (februarie 2020) <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331138/WHO-WPE-GIH-2020.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Laboratory Safety Manual, OMS, Geneva Edition 2004 <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>