

ΥΓΙΕΙΝΗ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΩΝ ΕΡΓΑΖΟΜΕΝΩΝ ΣΕ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ - ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ

2^ο ΜΕΡΟΣ: ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΑ ΑΕΡΟΛΥΜΑΤΑ-ΕΠΙΠΕΔΑ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

Τούκας Δημήτρης Msc, Ph.D, ΚΕΠΕΚ ΑΝ. ΑΤΤΙΚΗΣ Σ.ΕΠ.Ε.
Λογοθετίδη Μαίρη, Ph.D, Ελληνικό Ινστιτούτο Pasteur

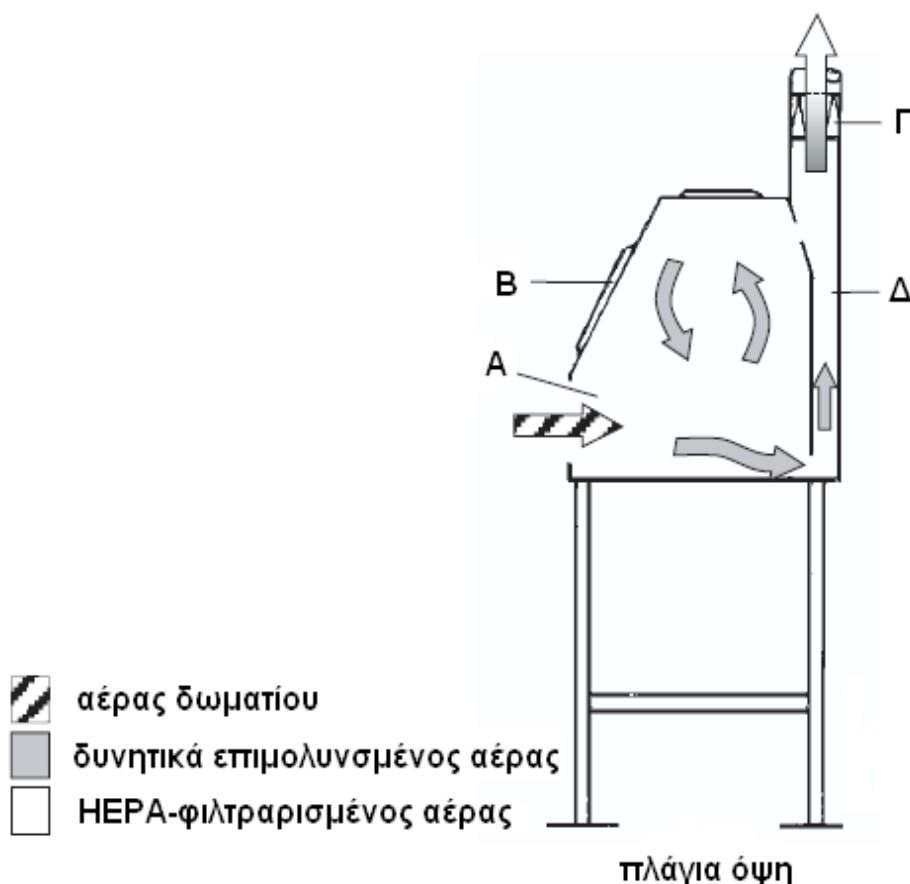
Σε ένα διαγνωστικό-ερευνητικό μικροβιολογικό εργαστήριο στο οποίο γίνεται χειρισμός μολυσματικού ή δυνητικά μολυσματικού βιολογικού υλικού με συμβατικές μικροβιολογικές μεθόδους (καλλιέργειες-ανακαλλιέργειες, βιοχημικός χαρακτηρισμός κ.τ.λ.) ή/και με τεχνικές μοριακής βιολογίας (PCR-PFLPs, SSCP, νουκλεοτιδική ανάλυση DNA, κ.τ.λ.) είναι αναπόφευκτη η δημιουργία αερολυμάτων, που ενδεχομένως να περιέχουν δυνητικά παθογόνους μικροοργανισμούς. Τα αερολύματα που δημιουργούνται κατά τις εργαστηριακές πρακτικές μπορούν να περιέχουν μικροοργανισμούς με την μορφή σωματιδίων (π.χ. λυοφιλοποιημένα κύτταρα) ή με την μορφή μικροσταγονιδίων (π.χ. κύτταρα καλλιέργειών) με διάμετρο μικρότερη των 150 μm τα οποία αιωρούνται εντός του εργαστηρίου. Οι εργαζόμενοι εισπνέοντας μολυσματικά αερολύματα μπορούν να προσβληθούν από τον παθογόνο μικροοργανισμό και να εκδηλώσουν λοιμώξεις των οποίων η βαρύτητα ποικίλει ανάλογα με το είδος του μικροοργανισμού και την ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή (εργαζομένου) ενώ πολλές από αυτές μπορούν να αποβούν μοιραίες.

Για την εξάλειψη ή τον περιορισμό του κινδύνου των εισπνεόμενων αερολυμάτων στον εργαστηριακό χώρο χρησιμοποιούνται κατά κανόνα οι θάλαμοι ασφαλείας (Biological safety cabinets-BSCs). Ο θάλαμος ασφαλείας αποτελεί εργαστηριακό εξοπλισμό, ο οποίος, αν επιλεγεί και χρησιμοποιηθεί με σωστό τρόπο, παίζει σημαντικότατο ρόλο στην πρόληψη ενδεχόμενης μόλυνσης των εργαζομένων από μολυσματικά αερολύματα και για τον λόγο αυτό θεωρείται εξοπλισμός συλλογικής προστασίας. Από την άλλη πλευρά ο θάλαμος ασφαλείας εγγυάται την ασφάλεια του βιολογικού δείγματος προλαμβάνοντας εξωτερικές ή διασταυρούμενες επιμολύνσεις [1].

Σε ένα θάλαμο ασφαλείας εκτελούνται όλες οι εργαστηριακές διαδικασίες που παράγουν αερολύματα τα οποία, μέσω του συστήματος απαγωγής του θαλάμου, διοχετεύονται εκτός του εργαστηρίου. Έτσι ο εργαζόμενος ο οποίος χειρίζεται τους βιολογικούς παράγοντες προστατεύεται από τον κίνδυνο εισπνοής αερολυμάτων είτε από τη νηματική ροή αέρα της καμπίνας η οποία δρα σαν «κουρτίνα προστασίας» εμποδίζοντας την έξοδο των αερολυμάτων στον περιβάλλοντα εργαστηριακό χώρο (θάλαμος ασφαλείας τύπου I και II) είτε από φυσικά συστήματα προστασίας (θάλαμος ασφαλείας τύπου III).

Βάσει διεθνών προδιαγραφών (NFS-49 USA, BSI 5726 GB, 5300 Bonn Germany, 2252 Australia, AFNOR-NF-PPX 44-201 France) οι βιολογικοί θάλαμοι ασφαλείας διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το εγγυημένο επίπεδο προστασίας:

Θάλαμοι ασφαλείας τύπου I (BSC-I): Είναι θάλαμοι που εγγυώνται την προστασία του χειριστή μέσω μιας εισερχόμενης νηματικής ροής αέρα αλλά όχι του προϊόντος (βιολογικού υλικού) αφού ο εισερχόμενος αέρας δεν φιλτράρεται (εικόνα 1). Χαρακτηρίζονται από την παρουσία φίλτρων HEPA στον αεραγωγό του εξερχόμενου αέρα. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον χειρισμό βιολογικών παραγόντων χαμηλής επικινδυνότητας (ομάδες βιολογικών παραγόντων 1 και 2) και για διαδικασίες που δεν απαιτούν την προστασία του βιολογικού δείγματος.



Εικόνα 1: Σχηματικό διάγραμμα βιολογικού θαλάμου ασφαλείας τύπου I

A = Πρόσθιο άνοιγμα, B = διαφανές παραπέτασμα, Γ= φίλτρο HEPA εξερχόμενου αέρα, Δ = αεραγωγός εξερχόμενου αέρα. (WHO-laboratory biosafety manual-3rd edition τροποποιημένο)

Θάλαμοι ασφαλείας τύπου II (BSC-II): Οι θάλαμοι αυτού του τύπου χρησιμοποιούνται στα περισσότερα μικροβιολογικά εργαστήρια. Είναι θάλαμοι κατασκευασμένοι α) για την προστασία του χειριστή, β) την προστασία του βιολογικού υλικού το οποίο χειρίζεται ο εργαζόμενος και γ) την προστασία του περιβάλλοντος χώρου. Σ' αυτή την κατηγορία των θαλάμων η εισερχόμενη νηματοειδής ροή του αέρα απορροφάται κάτω από τον πάγκο εργασίας του θαλάμου, φιλτράρεται και επανέρχεται πάλι στην κυκλοφορία από πάνω προς τα κάτω (εικόνα 2). Δημιουργείται με αυτό τον τρόπο μια κάθετη νηματοειδής ροή αποστειρωμένου αέρα που αποτελεί ένα «τείχος προστασίας» μεταξύ του εσωτερικού της καμπίνας και του χειριστή. Ο εισερχόμενος αέρας περνά προληπτικά μέσω φίλτρου HEPA ενώ ένα 2^ο φίλτρο HEPA χρησιμοποιείται για τον εξερχόμενο αέρα..

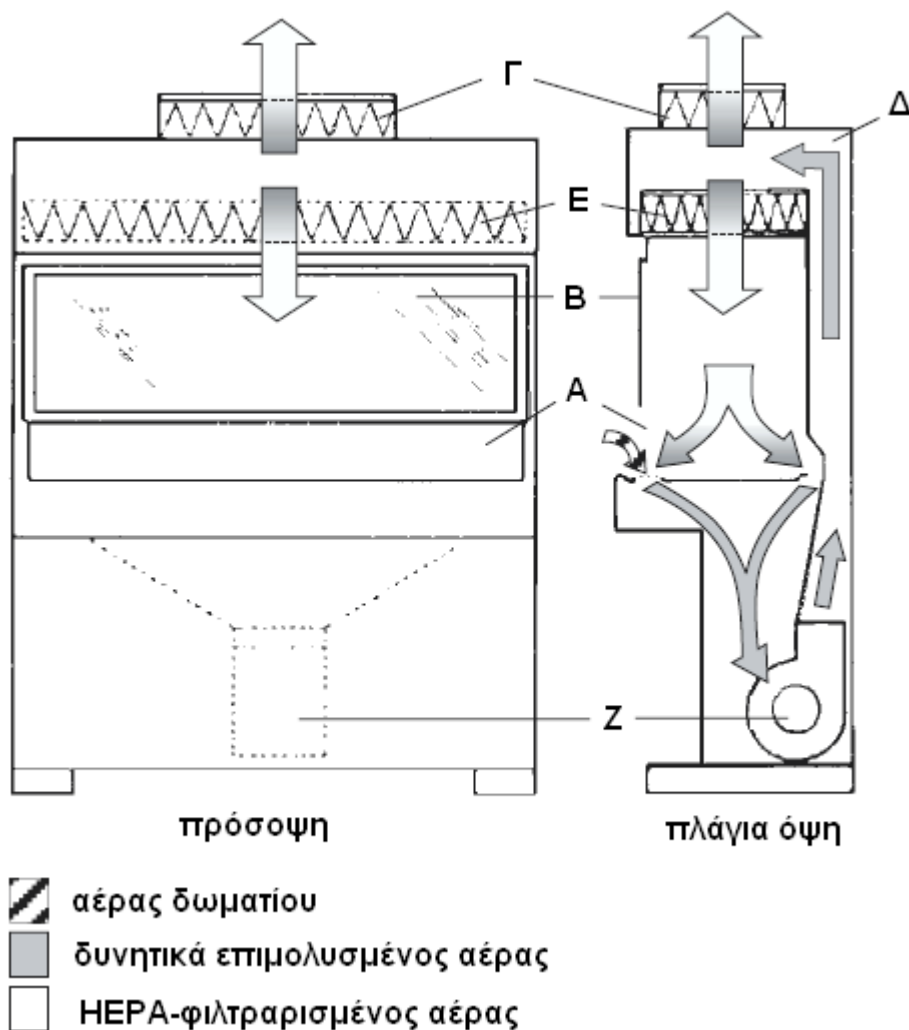
Να σημειωθεί ότι ενώ όλοι οι θάλαμοι ασφαλείας τύπου II χαρακτηρίζονται από την κάθετη νηματοειδή ροή του αέρα στον πάγκο εργασίας, υπάρχουν διαφορές στην εσωτερική αεροδυναμική τους (ποσοστό του επανακυκλοφορούμενου ή απαγομένου αέρα) και με αυτό το κριτήριο διακρίνονται σε 3 υποτύπους:

1. **Υπότυπος II Α.:** το 70% του αέρα επανακυκλοφορεί και το 30% απάγεται στον εξωτερικό χώρο. Χρησιμοποιείται για μικροοργανισμούς χαμηλής επικινδυνότητας (κατηγορίες 1 και 2) αλλά και για χειρισμούς μικρών ποσοτήτων τοξικών μη πτητικών χημικών ουσιών και ραδιονουκλιδίων (των οποίων ιχνοστοιχεία ενδέχεται να υπάρχουν σε καλλιέργειες)

2. **Υπότυπος II Β1:** το 30% του αέρα επανακυκλοφορεί ενώ το υπόλοιπο 70% διοχετεύεται απευθείας εκτός του εργαστηρίου μέσω αεραγωγού που βρίσκεται στο πίσω μέρος του θαλάμου. Είναι

κατάλληλος για χειρισμό βιολογικών παραγόντων μεσαίας επικινδυνότητας (κατηγορίες 2 και 3) και μεγαλύτερων ποσοτήτων τοξικών, πτητικών ή ραδιενεργών χημικών ουσιών σε σχέση με τον προηγούμενο υπότυπο θαλάμου.

3. Υπότυπος II B2: απάγεται το 100% του φιλτραρισμένου αέρα. Ενδείκνυται για χειρισμό παθογόνων μικροοργανισμών των κατηγοριών 2 και 3, και για καλλιέργειες επεξεργασμένες με καρκινογόνες ή μεταλλαξιογόνες ή με ραδιοενεργά ισότοπα χημικές ουσίες.

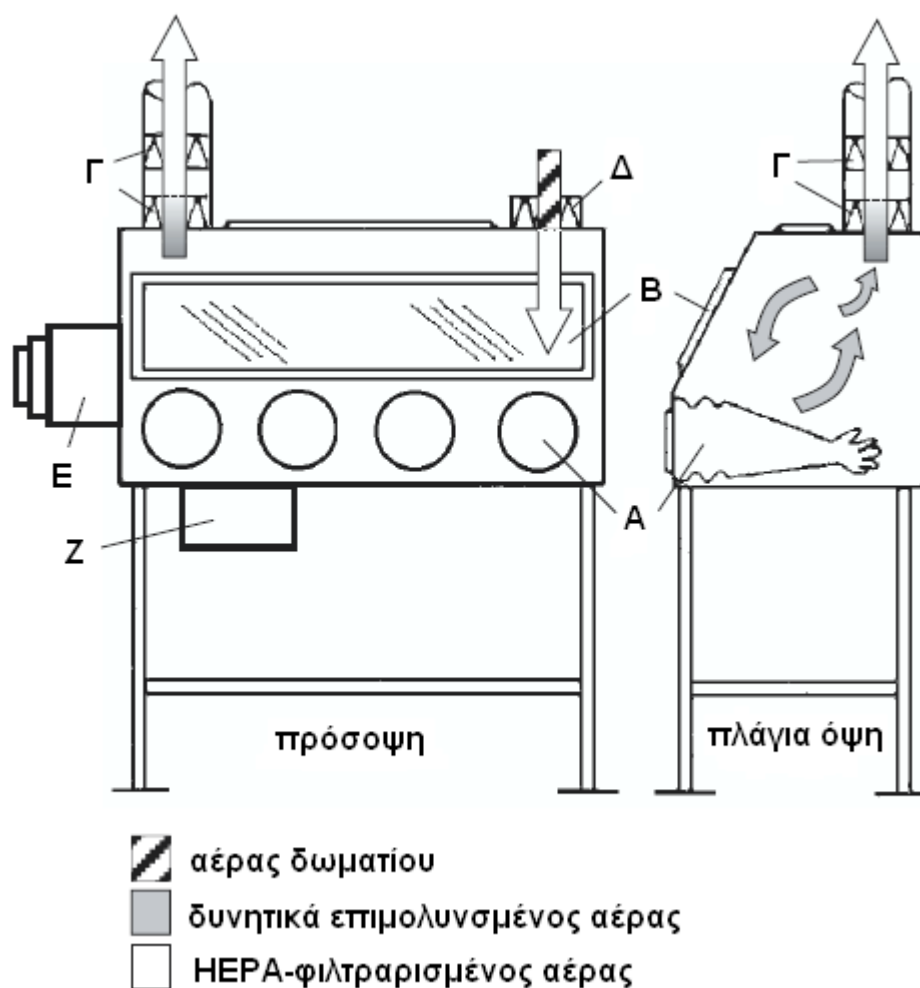


Εικόνα 2: Σχηματικό διάγραμμα βιολογικού θαλάμου ασφαλείας τύπου ΠΑ. [2]

A = Πρόσθιο άνοιγμα, B = διαφανές παραπέτασμα, Γ= φίλτρο HEPA εξερχόμενου αέρα, Δ = αεραγωγός εξερχόμενου αέρα, E= φίλτρο HEPA εισερχόμενου αέρα, Z= σύστημα απαγωγής. (WHO-laboratory biosafety manual-3rd edition τροποποιημένο)

Θάλαμοι ασφαλείας τύπου III (BSC-III): Είναι θάλαμοι «glove box» ερμητικά κλειστοί. Ο χειριστής επεξεργάζεται το βιολογικό υλικό αφού φορέσει τα ειδικά πλαστικά γάντια τα οποία αποτελούν μέρος του θαλάμου (εικόνα 3). Ο αέρας εισέρχεται στον θάλαμο μέσω ενός φίλτρου HEPA και εξέρχεται μέσω διπλού φίλτρου HEPA δημιουργώντας στο εσωτερικό αρνητική πίεση.

Χρησιμοποιείται για τον χειρισμό μικροοργανισμών υψηλής επικινδυνότητας (ομάδα 4) και προσφέρει απόλυτη προστασία στον χειριστή.



Εικόνα 3: Σχηματικό διάγραμμα βιολογικού θαλάμου ασφαλείας τύπου ΠΑ. [2]

A = Γάντια χειρών-βραχιόνων, B = διαφανές παραπέτασμα, Γ= διπλά φίλτρα HEPA εξερχόμενου αέρα, Δ = φίλτρο HEPA εισερχόμενου αέρα, E= αυτόκαυστο διπλής εισόδου ή άνοιγμα εισαγωγής του βιολογικού υλικού, Z= δοχείο συλλογής των βιολογικών αποβλήτων. (WHO-laboratory biosafety manual-3rd edition τροποποιημένο)

Πολύ σημαντικό για την προστασία της υγείας του χειριστή αλλά και του βιολογικού δείγματος από τις επιμολύνσεις είναι η γνώση εκ μέρους των εργαζομένων των βασικών αρχών λειτουργίας του θαλάμου ασφαλείας και των ορθών πρακτικών εργασίας που πρέπει να εφαρμοστούν κατά τον χειρισμό των βιολογικών δειγμάτων στο εσωτερικό του. Στον πίνακα 1 είναι καταγεγραμμένες οι κυριότερες οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [2] σχετικά με την σωστή χρήση των θαλάμων ασφαλείας:

Ο θάλαμος ασφαλείας πρέπει να είναι ο κατάλληλος ανάλογα με τον βιολογικό παράγοντα που υπάρχει ή που ενδέχεται να υπάρχει στο υπό επεξεργασία βιολογικό δείγμα.(θάλαμος τύπου I,II και III)
Μετά την εγκατάσταση του θαλάμου πρέπει να οριστεί περιοδικό πρόγραμμα συντήρησης σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
Πριν την έναρξη της εργασίας βεβαιωθείτε ότι οι λάμπες UV του θαλάμου είναι σβηστές.
Το πρόσθιο γυάλινο διαφανές παραπέτασμα, ρυθμίζεται καθ' ύψος, ανάλογα με το ύψος του χειριστή.
Αρχίστε την εργασία στον θάλαμο ασφαλείας τουλάχιστον 10 λεπτά μετά την λειτουργία του κινητήρα του έτσι ώστε να σταθεροποιηθεί η νηματική ροή του αέρα.
Ο χειρισμός των βιολογικών παραγόντων γίνεται στο μέσον και στο βάθος της επιφάνειας εργασίας.
Στους θαλάμους ασφαλείας τύπου II και III απαγορεύεται η χρήση των λύχνων Bunsen (γκαζάκια) αφού δημιουργούν ανοδικά ρεύματα ζεστού αέρα τα οποία διαταράσσουν την προδιαγραμμένη εσωτερική νηματική ροή του αέρα.
Η απολύμανση των θαλάμων να γίνεται με διάλυμα αιθανόλης 70% ή υποχλωρικού νατρίου 0.05% σε συνδυασμό με την υπερϊώδη ακτινοβολία των UV λαμπτήρων του θαλάμου.
Στην περίπτωση που χυθεί βιολογικό υλικό στον πάγκο εργασίας του θαλάμου ασφαλείας ακολουθείστε την παρακάτω διαδικασία: <ul style="list-style-type: none"> ▶ Μην σβήσετε τον θάλαμο ασφαλείας. ▶ Καθαρίστε άμεσα τον πάγκο εργασίας με διηθητικό χαρτί εμποτισμένο με απολυμαντική ουσία ▶ Απολυμάνετε τα τοιχώματα και τις επιφάνειες του θαλάμου. Αν ο πάγκος εργασίας είναι συνεχόμενος επικαλύψτε με απολυμαντικό για τουλάχιστον 10 λεπτά. Αν ο πάγκος εργασίας είναι διάτρητος απολυμάνετε κάθε στοιχείο του ξεχωριστά ▶ αφήστε τον θάλαμο 20 λεπτά σε λειτουργία μετά την διαδικασία της απολύμανσης

Πίνακας 1. Οδηγίες για την ασφαλή χρήση των βιολογικών θαλάμων ασφαλείας [1,2]

Πρέπει να επισημανθεί ότι κατά την χρήση των θαλάμων ασφαλείας τύπου I και II αν και ο εργαζόμενος προστατεύεται από τον κίνδυνο εισπνοής των αερολυμάτων, τα χέρια του είναι εκτεθειμένα στον βιολογικό παράγοντα αφού βρίσκονται στο εσωτερικό του θαλάμου. Είναι λοιπόν επιτακτική σε τέτοιου είδους εργασίες η χρήση των κατάλληλων μέσων ατομικής προστασίας όπως τα γάντια latex και η εργαστηριακή ποδιά με κουμπωμένα τα μανίκια [3,4].

ΕΠΙΠΕΔΑ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΣΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ

Οι θάλαμοι ασφαλείας αν και είναι αποτελεσματικοί έναντι των αερολυμάτων εντούτοις από μόνοι τους δεν προσφέρουν την μέγιστη προστασία στους εργαζόμενους. Για την ασφάλεια της εργασίας στα διαγνωστικά-ερευνητικά μικροβιολογικά εργαστήρια είναι αναγκαία η παρεμβατικού χαρακτήρα λήψη μέτρων πρόληψης σε περισσότερα από ένα μέτωπα. Καταρχάς είναι σημαντικό να εφαρμόζονται σωστά όλες εκείνες οι μικροβιολογικές τεχνικές οι οποίες δεν μπορούν να γίνουν αυτοματοποιημένα μέσω ειδικών εξοπλισμών/συσκευών. Είναι επίσης αναγκαίο οι χειρισμοί των βιολογικών παραγόντων να γίνονται στους κατάλληλους θαλάμους ασφαλείας, να εφαρμόζονται οι βασικοί κανόνες εργαστηριακής συμπεριφοράς [3] (όπως η μηχανική αναρρόφηση των βιολογικών υγρών, η τήρηση των εργαστηριακών πρωτοκόλλων, η συστηματική χρήση των μέσων ατομικής προστασίας,...) και υγιεινής [2] (όπως η απαγόρευση φαγητού κατά την διάρκεια της εργασίας, η σωστή υγιεινή των χεριών, η απαγόρευση περιβολής εκτός του εργαστηρίου με την εργαστηριακή ποδιά,...).

Είναι αναγκαίο λοιπόν για τη επίτευξη της μέγιστης προστασίας των εργαζομένων να επέμβουμε σε περισσότερα σημεία και σε πολλαπλά επίπεδα εφαρμόζοντας την κατάλληλη στρατηγική.

Η στρατηγική που ακολουθείται, είναι εκείνη της ελαχιστοποίησης της επικινδυνότητας και βασίζεται στην έννοια του «περιορισμού» (containment) των βιολογικών παραγόντων. Ο όρος «περιορισμός»

αφορά τις διαδικασίες που πρέπει να εφαρμοστούν έτσι ώστε να προληφθεί ή να ελεγχθεί η έκθεση των εργαζομένων στους βιολογικούς παράγοντες όχι μόνο στο εσωτερικό του εργαστηρίου αλλά και κοντά ή έξω από αυτό. Οι διαδικασίες αυτές μπορούν σχηματικά να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις ομάδες: α) σε διαδικασίες που στοχεύουν στην οργάνωση της εργασίας β) σε διαδικασίες που βασίζονται στην τεχνολογική εξέλιξη και γ) σε διαδικασίες που βασίζονται στην αντικατάσταση μιας επικίνδυνης εργαστηριακής πρακτικής από μία άλλη που δεν είναι επικίνδυνη ή είναι λιγότερο επικίνδυνη.

Όταν οι εφαρμοζόμενες διαδικασίες αφορούν την προστασία των εργαζομένων και του άμεσου εργαστηριακού περιβάλλοντος μιλάμε για **πρωτοβάθμιο περιορισμό** της επικινδυνότητας (primary containment) ενώ όταν έχουν στόχο την προστασία όλων των εργαζομένων στο εργαστήριο καθώς και του εξωτερικού περιβάλλοντος μιλάμε για **δευτεροβάθμιο περιορισμό** (secondary containment).

Ο πρωτοβάθμιος περιορισμός επιτυγχάνεται με την εφαρμογή καθορισμένων μικροβιολογικών μεθόδων και τεχνικών, την χρήση του κατάλληλου εργαστηριακού εξοπλισμού (όπως οι θάλαμοι ασφαλείας τύπου I, II και III) και την συστηματική χρήση των κατάλληλων μέσων ατομικής προστασίας (γάντια, προστατευτικά γυαλιά, εργαστηριακός μαιτισμός κ.τ.λ.).

Να σημειωθεί ότι σε περίπτωση ατυχήματος ο πρωτοβάθμιος περιορισμός μπορεί να μην είναι επαρκής για την προστασία του περιβάλλοντος χώρου, ειδικά όταν οι εργαζόμενοι χειρίζονται παθογόνους βιολογικούς παράγοντες των κατηγοριών 3 και 4 που μεταδίδονται αερογενώς. Την μεταφορά των παθογόνων βιολογικών παραγόντων στο εξωτερικό περιβάλλον του εργαστηρίου αποτρέπει ο δευτερογενής περιορισμός ο οποίος επιτυγχάνεται με επαρκείς και κατάλληλες κτιριακές εγκαταστάσεις (φυσικά συστήματα ασφαλείας) και την εφαρμογή σε αυτές συγκεκριμένων λειτουργικών διαδικασιών (ελεγχόμενη είσοδος, ασφαλής διάθεση απορριμμάτων, λειτουργία συστημάτων εξαερισμού, παροχή μέσων απολύμανσης-αποστείρωσης κ.τ.λ.) [5].

Για την επίτευξη τόσο του πρωτοβάθμιου όσο και του δευτεροβάθμιου περιορισμού είναι αναγκαία η λήψη μέτρων ασφαλείας, ιεραρχικά ταξινομημένων, τα οποία αυξάνονται κατά περίπτωση ανάλογα με την επικινδυνότητα του βιολογικού παράγοντα. Η λήψη μίας σειράς τέτοιων μέτρων οδηγεί στην δημιουργία επιπέδων ασφαλείας ή καλύτερα επιπέδων βιοασφάλειας (biosafety level ή BSL), τα οποία στοχεύουν στην αποτελεσματική προστασία των εργαζομένων του εργαστηρίου.

Σύμφωνα με τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [2] οι οποίες έχουν ενσωματωθεί και στην Ευρωπαϊκή νομοθεσία υπάρχουν τα παρακάτω επίπεδα βιοασφάλειας:

1. Επίπεδο βιοασφάλειας 1 (BSL-1): Εφαρμόζεται κυρίως σε εργαστήρια προορισμένα για διδακτικούς σκοπούς. Συνιστάται στις περιπτώσεις χειρισμού μικροοργανισμών που δεν προκαλούν λοιμώξεις (*Bacillus subtilis*, *Naegleria gruberi*) για οποίες είναι αρκετή η τήρηση των βασικών κανόνων ασφαλείας όπως προσδιορίζονται από τα μεθοδολογικά πρωτόκολλα.

2. Επίπεδο βιοασφάλειας 2 (BSL-2): Εφαρμόζεται σε διαγνωστικά-ερευνητικά εργαστήρια στα οποία χρησιμοποιούνται βιολογικά δείγματα (αίμα και παράγωγά του, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ιστοί, κ.τ.λ) καθώς και στο μεγαλύτερο ποσοστό των μικροβιολογικών εργαστηρίων των νοσοκομείων [16]. Για οποιαδήποτε μεθοδολογική διαδικασία η οποία μπορεί να παράγει αερολύματα χρησιμοποιούνται απαραίτητα οι ενδεικνύμενοι θάλαμοι ασφαλείας. Συνήθως οι χειριζόμενοι μικροοργανισμοί στο συγκεκριμένο επίπεδο βιοασφάλειας ανήκουν στην ομάδα επικινδυνότητας 2 (σαλμονέλες, ιοί της γρίπης, της ανεμοβλογιάς κ.τ.λ.). Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις [6] όπου το επίπεδο βιοασφάλειας 2 εφαρμόζεται και σε βιολογικούς παράγοντες της ομάδας 3 οι οποίοι δεν μεταδίδονται αερογενώς (π.χ. ο ιός HIV [AIDS], οι ιοί της ηπατίτιδας B και C, κ.τ.λ.)

3. Επίπεδο βιοασφάλειας 3 (BSL-3): Εφαρμόζεται σε μικροβιολογικά εργαστήρια όπου χρησιμοποιούνται κυρίως αερογενώς μεταδιδόμενοι βιολογικοί παράγοντες. Αυτοί οι βιολογικοί παράγοντες συνήθως είναι υπεύθυνοι για την πρόκληση σοβαρών ασθενειών (*M. Tuberculosis*, *Coxiella burnetti*, SARS-CoV) [7,9]. Τα συγκεκριμένο επίπεδο βιοασφάλειας εφαρμόζεται επίσης στις περιπτώσεις χειρισμού μεγάλων ποσοτήτων βιολογικών παραγόντων για τους οποίους σε άλλες συνθήκες προβλεπόταν το επίπεδο βιοασφάλειας 2 [8].

Ως προς τις συνθήκες των προδιαγραφών των χώρων, το εργαστήριο πρέπει να είναι διαχωρισμένο με μία «περιοχή φίλτρο» από τους άλλους χώρους (είσοδος μέσω διπλής πόρτας) ενώ στο εσωτερικό του η πίεση του αέρα πρέπει να είναι αρνητική έτσι ώστε να εμποδίζεται η έξοδος του δυνητικά επιμολυσμένου αέρα [2]. Επίσης ο εισερχόμενος αέρας στο εργαστήριο, μέσω του συστήματος εξαερισμού, πρέπει να διέρχεται μέσω φίλτρων HEPA.

4. Επίπεδο βιοασφάλειας 4 (BSL-4): Εφαρμόζεται όταν χρησιμοποιούνται βιολογικοί παράγοντες μεταδιδόμενοι αερογενώς και υπεύθυνοι για την πρόκληση σοβαρότατων ασθενειών (ιός Marburg, ο ιός Lassa, ο ιός Ebola) καθώς και σε κέντρα έρευνας βιολογικού πολέμου [10,11]. Τα εργαστήρια BSL-4 είναι μέγιστης ασφάλειας και όλοι οι χειρισμοί των βιολογικών παραγόντων γίνονται σε θάλαμο ασφαλείας τύπου III ή σε θάλαμο ασφαλείας τύπου II αν ο χειριστής φορά ειδική φόρμα με θετική πίεση στο εσωτερικό της.

Κάθε επίπεδο βιοασφάλειας αντικατοπτρίζει τις συνθήκες εργασίας που εξασφαλίζουν την προστασία των εργαζομένων από τους βιολογικούς παράγοντες και βασίζεται σε προκαθορισμένα κριτήρια που αφορούν τον σχεδιασμό, τον εξαερισμό, τον εξοπλισμό και τις μεθοδολογικές διαδικασίες του εργαστηρίου (πίνακας 2). Τυπικά το επίπεδο βιοασφάλειας ενός εργαστηρίου καθορίζεται από την ομάδα επικινδυνότητας του κάθε μικροοργανισμού. Για παράδειγμα για τα στελέχη του *Staphylococcus aureus* τα οποία ανήκουν στην ομάδα επικινδυνότητας 2 πρέπει να τηρείται το επίπεδο βιοασφάλειας 2 (BSL-2) και για τα στελέχη *Mycobacterium tuberculosis* (ομάδα επικινδυνότητας 3) το επίπεδο βιοασφάλειας 3 (BSL-3).

Υπάρχουν όμως περιπτώσεις κατά τις οποίες ο χειρισμός συγκεκριμένων μικροοργανισμών γίνεται σε επίπεδο βιοασφάλειας χαμηλότερο από αυτό το οποίο θα έπρεπε [6]. Είναι περιπτώσεις στις οποίες κάποιες προϋποθέσεις που απαιτούνται από ένα επίπεδο βιοασφάλειας δεν μπορούν να ικανοποιηθούν (κυρίως λόγω κόστους) και αντισταθμίζονται από την εφαρμογή εξειδικευμένων εργαστηριακών πρακτικών που προσδιορίζονται από κατευθυντήριες γραμμές (guidelines).

Οι μη αερογενώς μεταδιδόμενοι βιολογικοί παράγοντες (όπως οι ιοί HBV, HCV, HIV, τα βακτήρια *Salmonella typhi* & *paratyphi*, *Brucella spp*, *Sigella dysenteriae*, κ.τ.λ.) οι οποίοι ανήκουν στην ομάδα επικινδυνότητας 3 και ο χειρισμός τους γίνεται συνήθως σε επίπεδο βιοασφάλειας 2 βάσει προκαθορισμένων διαδικασιών, αποτελούν χαρακτηριστικό παράδειγμα της ελαστικοποίησης της διαχείρισης της επαγγελματικής επικινδυνότητας που έχει ως αποτέλεσμα τον ασφαλή χειρισμό των μικροοργανισμών σε συνθήκες μειωμένων στάνταρτ ασφαλείας [6,15].

Τα χαρακτηριστικά του κάθε επιπέδου βιοασφάλειας (πίνακας 2) (σχεδιασμός των χώρων, εργαστηριακός εξοπλισμός, πρακτικές εργασίας) προσδιορίζονται από νομοθετικές διατάξεις (Π.Δ. 186/95, Π.Δ. 174/97 και Π.Δ. 15/99) τις οποίες κάθε εργαστήριο πρέπει να εφαρμόζει. Η προσαρμογή των συνθηκών εργασίας του εργαστηρίου εντός του νομοθετικού πλαισίου επιτυγχάνεται κυρίως με την υιοθέτηση κατευθυντηρίων γραμμών (guidelines) διεθνών οργανισμών και την χρήση καθορισμένων διαδικασιών και πρωτοκόλλων [13]. Τα τελευταία μάλιστα (οι διαδικασίες και τα πρωτόκολλα) δεν επιτρέπουν στον εργαζόμενο να προσωποποιήσει μία εργαστηριακή πρακτική μειώνοντας έτσι έμμεσα τα δυνητικά ανθρώπινα λάθη και εγγυούνται την βέλτιστη ποιότητα του αποτελέσματος ενός πειράματος ή μιας διάγνωσης σε συνδυασμό με την προστασία των εργαζομένων από τους βιολογικούς κινδύνους. Ο δυϊσμός «ποιότητα προϊόντος-ασφάλεια εργασίας» επισημαίνεται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια με την τάση υιοθέτησης, από τα ερευνητικά-διαγνωστικά κέντρα, συστημάτων διαχείρισης υγιεινής και ασφάλειας της εργασίας συνδεδεμένων με ένα πρότυπο σύστημα ποιότητας βάση (όπως το ISO 9000) το οποίο μπορεί να εφαρμοστεί σε οποιαδήποτε παραγωγική διαδικασία. Ας σημειωθεί ότι από το Μάρτιο του 2006 στην χώρα μας υπάρχει ειδικό πρότυπο (ΕΛΟΤ EN ISO 15189) για την διαπίστευση κλινικών εργαστηρίων το οποίο εκτός από την ποιότητα του προϊόντος (επαναληψιμότητα διαγνωστικών αποτελεσμάτων, προαναλυτικές-μεταναλυτικές διαδικασίες κ.τ.λ.) εξετάζει τον πρωτοβάθμιο/δευτεροβάθμιο περιορισμό και γενικότερα τα επίπεδα βιοασφάλειας στο εργαστήριο (προστασία των εργαζομένων από τις μολύνσεις, ελεγχόμενη πρόσβαση-μέτρα, διαχείριση μολυσματικών αποβλήτων κ.τ.λ.) καθώς και οργανωτικά θέματα (ενημέρωση-εκπαίδευση των εργαζομένων, τήρηση αρχείου ιατρικής παρακολούθησης,

τήρηση αρχείου ατυχημάτων κ.τ.λ.). Στο συγκεκριμένο πρότυπο διαπίστευσης ενώ διατηρείται ο σκληρός πυρήνας της παραδοσιακής στρατηγικής περιορισμού της επικινδυνότητας (ορθές εργαστηριακές πρακτικές, κατάλληλος εξοπλισμός, οργάνωση της εργασίας, χρήση κατάλληλων ατομικών μέσων προστασίας, έλεγχος της αποτελεσματικότητας των μέτρων προστασίας) δίδεται έμφαση στον δευτεροβάθμιο περιορισμό της επικινδυνότητας με την υιοθέτηση στοιχείων της βιοπροστασίας (biosecurity) [5,14] και της βιοεγγύησης (biosurety) [17] των εργαστηρίων (φυσικά συστήματα ασφαλείας, προστασία δεδομένων και ηλεκτρονικών τεχνολογικών συστημάτων, ηλεκτρονικά ελεγχόμενα είσοδοι, μέτρα για την μεταφορά ή/και κλοπή συγκεκριμένων βιολογικών παραγόντων, σχέδια έκτακτης ανάγκης κ.τ.λ.).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. U.S. Department of Health and Human Services. *Primary containment for biohazard: selection, installation and use of biological safety cabinets*. Washington, U.S. Government Printing Office 2000
2. World Health Organization- Laboratory biosafety manual-3rd edition- -Geneva 2004
3. Richmond JY, Nesby-O'Dell SL. *Laboratory security and emergency response guidance for laboratories working with select agents*. Center for Disease Control and Prevention (CDC). MMWR Recomm Rep. 2002; 51(RR-19):1-6.
4. Padhye AA, Bennett JE, McGinnis MR, Sigler L, Fliss A, Salkin IF. *Biosafety considerations in handling medically important fungi*. Med Mycol. 1998;36 Suppl 1:258-65
5. World Health Organization. *Biorisk management-Laboratory biosecurity guidance* - September 2006
6. Barkham TMS. *Laboratory safety aspects of SARS at biosafety level 2*. Review Article. Ann Acad Med Singapore. 2004; 33:252-256.
7. Lim W, Ng KC, Tsang DN. *Laboratory containment of SARS virus*. Ann Acad Med Singapore. 2006; 35(5):354-360
8. Sewell LD. *Laboratory-associated infections and biosafety*. Clin Microbiology Rev. 1995;8:389-405
9. Li L, Gu J, Shi X, Gong E, Li X, Shao H, Shi X, Jiang H, Gao X, Cheng D, Guo L, Wang H, Shi X, Wang P, Zhang Q, Shen B.
10. *Biosafety level 3 laboratory for autopsies of patients with severe acute respiratory syndrome: principles, practices, and prospects*. Clin Infect Dis. 2005 Sep 15;41(6):815-21.
11. Marklund LA. *Patient care in a biological safety level-4 (BSL-4) environment*. Crit Care Nurs Clin North Am. 2003;25(2):245-255.
12. Vidal DR, Paucod JC, Thibault F, Isoard P. *Biological safety in the laboratory. Biological risk, standardization and practice*. Ann Pharm Fr. 1993;51(3):154-66
13. Herwaldt B. *Laboratory-acquired parasitic infections for accidental exposures*. Clin. Microbiol Rev 2001;14:659-688
14. Vonesch N, Tomao P, Di Renzi S, Vita S, Signorini S. *La biosicurezza nei laboratori per gli esposti ad agenti biologici*. G. Ital. Med. Lav. Erg. 2006;28(4):444-456.
15. Centers for Diseases Control and Prevention *Laboratory security and emergency response guidance for laboratories working with select agents*. 2002;51(RR-19):1-6
16. Pasquarella C, Torregrossa V, Orecchio F. *Biological risk in microbiology laboratories: epidemiology and prevention*. Ann Ig. 2000 Jul-Aug;12(4 Suppl 2):273-88
17. Jin-Yong Lee, Sang-Jun Eun, Ki-dong Park, Jong-Kyun Kim, Jeong-Soo Im, Yoo-Sung Hwang, Yong-Ik Kim. *Biosafety of Microbiological Laboratories in Korea*. J Prev Med Public Health 2005;38(4):449-456
18. Pastel RH De. *Clinical laboratories, the select agent program, and biological surety (biosurety)*. Clin. Lab. Med. 2006;26(2):299-312

2^ο ΜΕΡΟΣ: ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΟΙ ΑΠΟ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΑ ΑΕΡΟΛΥΜΑΤΑ-ΕΠΙΠΕΔΑ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

B S L	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ/ΧΩΡΩΝ	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΕΞΑΕΡΙΣΜΟΥ	ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ	
				ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ- ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ	ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ
2	<ul style="list-style-type: none"> ■ Προδιαγραφές του Π.Δ. 16/1996 και επιπλέον: ■ Σήμανση του βιολογικού κινδύνου ■ Πρόσβαση μόνο σε εξουσιοδοτημένους εργαζόμενους* ■ Αδιάβροχες και ευκολοκαθαρίστες επιφάνειες (πάγκοι) ■ Επιφάνειες ανθεκτικές στα οξέα, αλκάλια, τους διαλύτες και τα απολυμαντικά* ■ Παράθυρο παρατήρησης εργαζομένων* 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Φυσικός εξαερισμός μέσω παραθύρων (όταν δεν υπάρχει τεχνητός εξαερισμός) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Θάλαμοι ασφαλείας τύπου Ι ή ΙΙ ■ Άλλος εργαστηριακός εξοπλισμός που περιορίζει την επικινδυνότητα όπως πλαστικές πιπέτες Pasteur, μηχανικός εξοπλισμός αναρρόφησης μολυσματικών υγρών κτλ. ■ Αυτόκαυστο (autoclave) ■ Κατάλληλα μέσα ατομικής προστασίας (εργαστηριακός μαιτισμός, γάντια κ.τ.λ.) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Καθορισμένες μέθοδοι απολύμανσης ■ Διαθέσιμο αυτόκαυστο ■ Αποστείρωση των μολυσματικών απορριμμάτων ■ Αποτελεσματικός έλεγχος φορέων (τροκτικά, έντομα)* 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Ασφαλής αποθήκευση βιολογικών παραγόντων ■ Απαγορεύεται: το πιετόρισμα με το στόμα, η κατανάλωση φαγητού – ποτού, το κάπνισμα ■ Εφαρμογή πρωτοκόλλων για την ελαχιστοποίηση των αερολυμάτων/ σταγονιδίων και των μικροτραυματισμών με αιχμηρά αντικείμενα
3	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 2 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Ο χώρος εργασίας να είναι σε ξεχωριστό μέρος από το χώρο των άλλων δραστηριοτήτων στο ίδιο κτίριο* ■ Πρόσβαση μόνο σε εξουσιοδοτημένους εργαζόμενους μέσω διπλής πόρτας (προθάλαμος) ■ Αδιάβροχες και ευκολοκαθαρίστες επιφάνειες (πάγκοι & δάπεδα) ■ Επιφάνειες ανθεκτικές στα οξέα, αλκάλια, τους διαλύτες και τα απολυμαντικά ■ Παράθυρο παρατήρησης εργαζομένων* ■ Χώρος μακριά από την γενική κυκλοφορία 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 2 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Ο προσαγόμενος και απαγόμενος αέρας να διηθείται με φίλτρο HEPA ■ Χώρος εργασίας υπό αρνητική πίεση 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 2 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Θάλαμοι ασφαλείας τύπου Ι ή ΙΙ (συνιστούνται οι υπότυποι ΠΒ1 & ΠΒ2) ■ Πλήρης ατομικός προστατευτικός εξοπλισμός ■ Κάθε εργαστήριο να έχει τον δικό του εξοπλισμό* 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 2 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Διαθέσιμος κλίβανος για την αποτέφρωση των πτωμάτων των πειραματόζωων ■ Αποστείρωση όλων των απορριμμάτων ■ Αποτελεσματικός έλεγχος φορέων (τροκτικά, έντομα) ■ Δυνατότητα σφραγίσματος του χώρου εργασίας με σκοπό την απολύμανση* 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 2 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Εφαρμογή του νόμου των «δύο ατόμων» (μην παραμένετε μόνοι στο εργαστήριο)
4	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 3 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Ο χώρος εργασίας να είναι σε ξεχωριστό μέρος από το χώρο των άλλων δραστηριοτήτων στο ίδιο κτίριο ■ Η πρόσβαση πρέπει να επιτρέπεται μόνο σε εξουσιοδοτημένους εργαζόμενους μέσω αεροστεγούς προθαλάμου (αλλαγή ρουχισμού κατά την είσοδο-ντούς κατά την έξοδο) ■ Αδιάβροχες και ευκολοκαθαρίστες επιφάνειες (πάγκοι τοίχοι, δάπεδο & οροφή) ■ Παράθυρο παρατήρησης εργαζομένων ■ Ανεξάρτητο κτίριο ή απομονωμένος χώρος 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 3 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Χώρος εργασίας και προθάλαμος υπό αρνητική πίεση ■ Προσαγόμενος και απαγόμενος αέρας διηθείται μέσω φίλτρου ή σειράς φίλτρων (HEPA) 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 3 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Θάλαμοι ασφαλείας τύπου ΙΙΙ ■ Ειδικού τύπου αυτόκαυστο (με διπλό άνοιγμα για την αποστείρωση υλικών και αποβλήτων) ■ Ειδικός ατομικός προστατευτικός εξοπλισμός (ολόσωμη στολή με θετική εσωτερική πίεση) ■ Χημικό ντούς ■ Κάθε εργαστήριο να έχει τον δικό του εξοπλισμό 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 3 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Κλίβανος για την αποτέφρωση των πτωμάτων των πειραματόζωων εντός του εργαστηρίου ■ Ειδικό αυτόκαυστο εντός του εργαστηρίου για αποστείρωση υλικών και αποβλήτων ■ Αδρανοποίηση όλων των υγρών αποβλήτων με καθορισμένες μεθόδους ■ Σφράγισμα του χώρου εργασίας με σκοπό την απολύμανση 	<p>ΕΠΙΠΕΔΟ ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑΣ 3 & ΕΠΙΠΛΕΟΝ</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Αλλαγή ρουχισμού κατά την είσοδο-ντούς κατά την έξοδο

Πίνακας 2. Συσχετισμός των επιπέδων βιοασφάλειας με τον σχεδιασμό, τον εξαερισμό, τον εξοπλισμό και τις μεθοδολογικές διαδικασίες του εργαστηρίου [2,3]. * Προτεινόμενα μέτρα για τα επίπεδα βιοασφάλειας 2 ή/και 3.