

|                                                                                                   |                                                                                                               |            |                                                                                 |              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------------------------------------------------------------------------------|--------------|
|                  | <div>Јавна здравствена установа</div> <div>Болница „Свети Врачеви“ Бијељина</div> <div>Српске војске 53</div> |            |                                                                                 | УП-10-132    |
| Безбједно извођење обраде клиничких узорака и изоловања бацила туберкулозе на хранљивим подлогама |                                                                                                               |            |                                                                                 |              |
| Страна 1 од 7                                                                                     | Издање:                                                                                                       | Важи од:   | Одобрио                                                                         | Копија број: |
|                                                                                                   | 4                                                                                                             | 2024-09-18 | др Санда Лазин<br>руководилац Службе за<br>микробиологију са<br>паразитологијом | Е            |

## 1. ПРЕДМЕТ И ПОДРУЧЈЕ ПРИМЈЕНЕ

### 1.1 Предмет примјене

Ово упутство даје смјернице за безбједно извођење поступака обраде клиничких узорака, изоловања бацила ТБ на вјештачким хранљивим подлогама и руковања културама и описује употребу опреме и одјеће за личну заштиту приликом извођења ових поступака.

### 1.2 Подручје примјене

Ова процедура се примјењује у Служби за микробиологију са паразитологијом, Одсјек за микробиологију у ЈЗУ Болница „Свети Врачеви“ Бијељина.

### 1.3 Надлежности за примјену

За осигурање примјене ове процедуре надлежан је руководилац Службе за микробиологију са паразитологијом, руководилац квалитета и лице задужено за безбиједност Службе за микробиологију са паразитологијом (које је је у обавези да едукује особље, редовно надгледа, прати и извјештава руководиоца службе о спровођењу процедуре), а сви запослени су дужни познавати и примјењивати исту.

## 2. ВЕЗА СА ДРУГИМ ДОКУМЕНТИМА

### 2.1 Референтни документи

- Водич за микробиолошку дијагностику туберкулозе, Министарство здравља Републике Србије, 2015.
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th edition, Washington, DC, 2007. United States Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 2007.
- Guidance for countries on the preparation and implementation of TB laboratory standard operating procedures (SOPs), 2009.  
([http://www.tbcare1.org/publications/toolbox/tools/complab/Lab\\_Tools.zip](http://www.tbcare1.org/publications/toolbox/tools/complab/Lab_Tools.zip)).
- Laboratory biosafety manual, 3rd edition, Geneva, World Health Organization, 2004.
- Tuberculosis laboratory biosafety manual, Geneva, World Health Organization, 2012.

### 2.2 Остали документи

- Упутства произвођача за рад на апаратима,
- УП-10-026: Употреба дезинфицијенаса у лабораторији за дијагностику туберкулозе,
- УП-10-085: Упутство за рад са биосигурносним кабинетом у лабораторији за дијагностику туберкулозе,
- УП-10-023: Употреба средстава личне заштите у Служби за микробиологију са паразитологијом,
- УП-10-142: Мјере заштите на раду у Служби за микробиологију са паразитологијом.

|                  |               |         |            |           |
|------------------|---------------|---------|------------|-----------|
| Болница Бијељина | Страна 2 од 7 | Издање: | Важи од:   | УП-10-132 |
|                  |               | 4       | 2024-09-18 |           |

### 3. ТЕРМИНИ И СКРАЋЕНИЦЕ

#### 3.1 Термини

- **Добре микробиолошке технике:** Подразумевају асептичне технике и друге приступе за које не постоји јединствена дефиниција, али су неопходне у спречавању контаминације лабораторије инфективним агенсима са којима се ради и контаминације материјала у раду микроорганизмима из окружења.
- **ХЕПА филтер:** High Efficiency Particulate Air филтери високе ефикасности који из ваздуха уклањају најмање 99,97% партикула чији је промер  $\geq 0,3 \mu\text{m}$ .
- **Инфективни аеросол:** Суспензија партикула микроскопске величине (1–60  $\mu\text{m}$ ) које носе инфективне агенсе (бациле ТБ); удисање инфективног аеросола може довести до инфекције; инфективни аеросол је најважнији фактор ризика у лабораторијама за дијагностику ТБ; током извођења лабораторијске дијагностике ТБ примјењује се већи број процедура праћених настанком аеросола услед дјеловања различитих механичких сила (на примјер, пипетирање, вортексирање, центрифугирање, мијешање).
- **Природна вентилација:** Примјена природних сила за унос и дистрибуцију ваздуха у и из лабораторије (на примјер, отварање прозора).
- **Вентилација:** Омогућава унос ваздуха из спољашње средине у лабораторију и дистрибуцију тог ваздуха у простору лабораторије. Постиге се разрјеђивање инфективног аеросола насталог у лабораторији и проток ваздуха који треба да обезбиједи одговарајућу учесталост измјена ваздуха у лабораторији.

#### 3.2 Скраћенице

- Тб-туберкулоза,
- ДСТ-испитивање осјетљивости на антитуберкулозе [Drug Susceptibility Testing]-тест резистенције.

### 4. ОПИС ПОСТУПКА

#### 4.1 Особље

##### 4.1.1 Медицинска подобност

Препоруке су да се спроводи одговарајућа здравствена контрола лица запослених у лабораторији за дијагностику ТБ:

- прије запошљавања;
- касније у правилним интервалима (годишње или два пута годишње);
- после било ког лабораторијског акцидента;
- приликом појаве симптома ТБ.

Запослени у микобактериолошкој лабораторији треба да буду упознати са клиничком сликом ТБ. Неопходно је водити здравствени упитник особља на присуство симптома туберкулозе, ОБ-10-338: *Тромјесечни здравствени упитник*. Упитник попуњава квартално надлежни доктор медицине/микробиолог. Лабораторијском особљу треба понудити могућност савјетовања и тестирања на ХИВ. Особе са било којим обликом имунског дефицита треба распоредити на радна мјеста одвојена од подручја са високим ризиком инфекције.

##### 4.1.2. Едукација и обука

Едукација и обука треба да обухвате следеће:

- симптоми и начини трансмисије ТБ;
- мјере за смањивање ризика за настанак аеросола;
- правила понашања у лабораторији;

|                  |               |         |            |           |
|------------------|---------------|---------|------------|-----------|
| Болница Бијељина | Страна 3 од 7 | Издање: | Важи од:   | УП-10-132 |
|                  |               | 4       | 2024-09-18 |           |

- ношење и употреба опреме и одјеће за личну заштиту;
- мјере за спрјечавање лабораторијског акцидента и мјере које треба предузети у случају акцидента;
- дизајн лабораторије, укључујући и систем вентилације;
- исправно руковање отпадним материјалом;
- организација тока рада.

Обука треба да се обави прије него што особа приступи раду у лабораторији и да се периодично понавља, по могућности сваке године.

#### 4.2 Процјена ризика

- Опасност се дефинише као било која могуће штетна ситуација (на примјер, ломљење лабораторијског стакленог посуђа), активност (на примјер, пипетирање инфективног материјала) или материјал (на примјер, аеросол који садржи бациле ТБ).
- Ризик представља комбинацију вјероватноће излагања некој опасности и последица догађаја везаних за ту опасност. Кључни фактори за процјену ризика у лабораторијама за дијагностику ТБ представљени су у Табели 1.

Табела 1. Фактори за процјену ризика у лабораторијама за дијагностику ТБ

| Фактори који се мијењају у зависности од процедуре или нивоа лабораторије за дијагностику ТБ                                            | Процедура                                    |                                                      |                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                                                                                                                         | Директна микроскопија без обраде узорака     | Обрада узорака за микроскопију и културу; засијавање | Руковање културама бацила ТБ; ДСТ           |
| Релативни ризик (95% ИП) за обољевање од ТБ код особља у лабораторијама за дијагностику ТБ у поређењу са осталим здравственим радницима | 1,4<br>(0,2 – 10)                            | 7,8<br>(1,7 – 34,9)                                  | 22<br>(4,5 – 102,5)                         |
| Бациларност материјала којим се рукује                                                                                                  | Варијабилна<br>0 – 10 <sup>6</sup> бацила/ml | Варијабилна<br>0 – 10 <sup>6</sup> бацила/ ml        | Увијек висока<br>>10 <sup>8</sup> бацила/ml |
| Вијабилност бацила ТБ                                                                                                                   | Непозната, али се претпоставља да је висока  | Обрада убија до 90% бацила ТБ                        | Висока                                      |
| Вјероватноћа настанка инфективног аеросола приликом извођења                                                                            | Ниска                                        | Умјерена                                             | Висока                                      |

ИП – интервал повјерења

#### 4.3 Принцип процедуре

Приликом извођења обраде клиничких узорака, изоловања бацила ТБ на вјештачким хранљивим подлогама и руковања културама, без обзира на примјену принципа добрих микробиолошких техника, ризик за настанак инфективног аеросола процјењује се као умјерено висок. Процес обраде подразумијева ликвефакцију узорака, при чему се вискозитет

|                  |               |         |            |           |
|------------------|---------------|---------|------------|-----------|
| Болница Бијељина | Страна 4 од 7 | Издање: | Важи од:   | УП-10-132 |
|                  |               | 4       | 2024-09-18 |           |

узорака, примарно спутума, смањује. Услед тога вјероватноћа настанка инфективног аеросола расте.

Руковање културама бацила ТБ, нарочито течним, такође може довести до настанка аеросола који садржи велики број бацила ТБ. За извођење свих наведених процедура примарни ниво заштите је комора за безбједан рад, а секундарни сама лабораторија односно прије свега вентилација и организација лабораторијског простора.

#### **4.3.1. Комора за безбједан рад**

Сви поступци са могуће инфективним материјалом морају се изводити у комори за безбједан рад која представља примарну баријеру заштите. Правилна употреба коморе и примјена добрих микробиолошких техника су од кључног значаја за безбједан рад у лабораторијама II нивоа дијагностике ТБ.

#### **4.3.2. Вентилација**

Кључна секундарна баријера је вентилација у лабораторији, односно једносмјерни ток ваздуха у лабораторији од „чистог“ ка „прљавом“, у складу са процесом рада, и одговарајући број измјена ваздуха, најмање 6 до 12 током једног сата. Примјена природне вентилације није препорука за лабораторије за дијагностику ТБ у којима је ризик од настанка аеросола умјерено висок и висок, јер у овим лабораторијама прозори стално треба да буду затворени. Препорука је да се одговарајућа вентилација може постићи примјеном комора за безбједан рад које треба да усмјере ток ваздуха од „чистог“ ка „прљавом“ дијелу лабораторије, у складу са процесом рада, и коначно избацивање ваздуха из лабораторије у спољашњу средину.

#### **4.3.3 УВ лампе**

Поред вентилације, друга веома значајна мјера контроле средине у лабораторијама за дијагностику ТБ у којима је ризик од настанка аеросола умјерено висок и висок су УВ лампе. УВ лампе одговарајућих карактеристика постављене и одржаване на исправан начин представљају веома ефикасну и економичну мјеру контроле средине. У питању су извори УВ зрачења таласне дужине 254 nm који обезбјеђују бактерицидно дјеловање у горњим дијеловима простора лабораторије, а истовремено су безбједни за особље лабораторије, односно извори УВ зрачења који раде током цијелокупног радног времена.

#### **4.3.4 Простор/радна површина**

Карактеристике и дизајн лабораторијског простора такође су важна секундарна заштитна баријера за особље. Ове лабораторије требало би да буду у дијелу зграде одвојеном од осталог особља и пацијената дате установе. Улаз у лабораторију мора бити означен на одговарајући начин (знак биохазарда). Лабораторије треба да имају довољно простора тако да је омогућен неометан рад, одржавање и чишћење. Зидови, под и таваница треба да буду глатки и погодни за чишћење. Под мора бити од материјала који има квалификацију „отпоран на клизање“. Простор мора бити добро освијетљен за све планиране активности; освјетљење треба да буде постављено тако да се избјегну одсјаји и сенке. На прозоре не треба ставити завесе. Простор за одлагање личних ствари особља као и простор за одмор и исхрану особља морају бити одвојени од радног дијела лабораторије.

Кључна радна површина у лабораторијама са умјерено високим ризиком од настанка аеросола је површина у комори за безбједан рад и треба да задовољи опште захтјеве за радне површине: отпорност на воду, дезинфицијенсе који се користе и умјерено високу температуру.

На радним површинама треба држати само предмете и реагенсе који се користе у свакодневном раду. Простор између и испод лабораторијског намјештаја и опреме мора бити доступан за чишћење. На лабораторијски намјештај не смију се стављати покривачи украсне или друге намјене од тканина.

|                  |               |         |            |           |
|------------------|---------------|---------|------------|-----------|
| Болница Бијељина | Страна 5 од 7 | Издање: | Важи од:   | УП-10-132 |
|                  |               | 4       | 2024-09-18 |           |

#### 4.3.5 Смањивање ризика за настанак аеросола

- Посуде са узорцима треба отворати пажљиво и полако. Приликом пријема узорака провјерити да ли су посуде за узорке добро затворене. Непотпуно затворене посуде треба одбацити, али ако ипак остају у раду, обавезно их треба пребрисати дезинфицијенсом;
- Не препоручује се употреба металних еза које се стерилишу жарењем и стаклених пипета, већ се препоручују пластичне езе и пипете за једнократну употребу. Ако се изводи стерилизација езе жарењем, препоручују се затворени инцинератори. Прије стерилизације езе жарењем, у затвореном инцинератору или на отвореном пламену, обавезно је чишћење езе у посуди са алкохолом и пијеском.
- Током пипетирања не смије се на силу истискивати могуће инфективна течност из пипете као ни ваздух из пипете у могуће инфективну течност. Када се користи пипета за додавање реагенса у могуће инфективну течност, пипету треба прислонити уз унутрашњи зид посуде и течност полако и пажљиво истиснути. За мијешање течности не смије се користити наизмјенично понављано пуњење и пражњење пипете. Ако се користе микропипете, у посуду се улази само наставком и мора се водити рачуна да сама микропипета не дође у контакт са могуће инфективном течношћу. Када се из епрувете одлива течност, епрувета се мора држати под одговарајућим углом тако да течност полако отиче низ зид епрувете и затим низ зид посуде за одливање без прскања.
- Препорука је да се посуде након вортексирања, центрифугирања и мијешања оставе затворене током 10 минута, што омогућава слијегање аеросола. Током центрифугирања постоји могућност настанка инфективног аеросола. Центрифуге морају имати квалификацију „aerosol-tight“ и корпе морају имати одговарајуће поклопце. Центрифуга је уобичајено смјештена у отвореном лабораторијском простору односно ван коморе за безбједан рад, али се корпе пуне и припремају за центрифугирање у комори. Поклопац са корпи након центрифугирања скида се такође искључиво у комори.
- За прављење размаза из седимента или са култура користити дрвене штапиће или једнократне езе. Приликом прављења размаза штапићем или езом покрети морају бити спори и уједначени, како би се смањило стварање аеросола. Размазе током сушења на ваздуху не треба помјерати. Размази морају бити потпуно суви прије фиксирања топлотом. Најмање безбједан начин фиксирања препарата је на отвореном пламену, јер је праћен настанком аеросола. Фиксирање размаза из седимента и из културе стога треба радити у комори за безбједан рад. Извјестан број бацила ТБ задржава вијабилност и након фиксирања, без обзира на начин фиксирања, тако да је до завршетка поступка бојења неопходна примјена рукавица приликом руковања препаратима.

### 4.4 Опрема и одјећа за личну заштиту

#### 4.4.1 Маске/респиратори

Хируршке маске не пружају заштиту лабораторијским радницима који изводе дијагностичке технике током којих настаје аеросол, јер нису дизајниране да спријече инхалацију малих инфективних честица. Коришћење респиратора (N95/FFP2) се не препоручује за извођење процедура код којих је ризик настанка аеросола умјерен односно лабораторијске дијагностике ТБ II нивоа, под условом да се цјелокупан рад са инфективним материјалом изводи у комори за безбједан рад. При извођењу процедуре идентификације култура при раду у биосигурносном кабинету и фиксирања препарата које се изводи ван биосигурносног кабинета може се користити респиратор, ако је доступан.

#### 4.4.2 Рукавице/прање руку

У складу са општим мјерама предострожности, потребно је носити одговарајуће рукавице приликом извођења свих процедура које укључују руковање потенцијално инфективним

|                  |               |         |            |           |
|------------------|---------------|---------|------------|-----------|
| Болница Бијељина | Страна 6 од 7 | Издање: | Важи од:   | УП-10-132 |
|                  |               | 4       | 2024-09-18 |           |

материјалом (клинички узорци, предметне плочице прије завршетка поступка бојења). Треба користити рукавице за једнократну употребу од латекса, винила без латекса или од нитрила, а треба их обезбједити у одговарајућим величинама (мале, средње и велике). Рукавице од хипоалергенских материјала треба набавити у случају алергије на протеине латекса и/или прашак/талк.

Рукавице обавезно мијењати после сваког прекида рада и након завршетка рада са могуће инфективним материјалом. Рукавице могу да пруже лажан осјећај заштите. Контаминирани рукавице могу представљати извор ризика за друге чланове особља ако се користе приликом руковања лабораторијском опремом. Никада не треба носити рукавице изван лабораторије. Поновна употреба рукавица за једнократну употребу није дозвољена.

Поступак безбједног скидања рукавица изводи се на следећи начин:

1. прво се повуче слободни дио (манжетна), пресавије преко шаке и скине са једне шаке тако да остане изврнута, односно да је контаминирана страна унутра;
2. скинуту изврнуту рукавицу узети шаком друге руке на којој је још увек навучена рукавица; пажљиво откривеним прстима прве руке заврнути манжетну друге рукавице, али тако да се не додирује контаминирана површина рукавице;
3. скинути другу рукавицу тако да остане изврнута и током скидања је навлачити преко прве рукавице;
4. резултат је једна „кеса“ употребљених рукавица чије су контаминирани стране унутра;
5. употребљене рукавице одложити на одговарајући начин.

Одмах после безбједног скидања рукавица, треба опрати руке сапуном и водом. Правилно прање руку сапуном један је од критичних елемената безбједне лабораторијске праксе. Прање руку обавезно је након скидања рукавица, након прекида у раду, након завршетка рада са инфективним материјалом и прије изласка из лабораторије. Руке треба насапуњати и трљати током најмање 30 секунди, испрати водом и осушити чистим папирним убрсом. У свакој просторији треба да постоји лавабо за прање руку, најбоље у близини излаза. Препоручују се славине које се пуштају у рад лактом или стопалом. Гдје то није могуће, славине треба затварати папирним убрсом да би се избјегла поновна контаминација опраних руку.

#### 4.4.3 Лабораторијски мантил

Увијек треба носити заштитни мантил у лабораторији (никада изван лабораторије!).

Мантил треба да буде потпуно закопчан. За извођење поступака код којих је ризик настанка аеросола умјерен, препоручују се лабораторијски мантили/огртачи који се закопчавају на леђима и на рукавима имају еластичне манжетне дужине најмање 30 mm. Лабораторијски мантили/огртачи морају бити доступни у различитим величинама одговарајућим за особље. Лабораторијски мантили/огртачи морају се држати одвојено од личне одеће. Треба их мијењати најмање једном недељно.

Мантили који се користе у лабораторијама за дијагностику ТБ не смију се прати код куће.

#### 4.5 Руковање отпадним материјалом

Сав отпад из лабораторије за дијагностику ТБ II нивоа сматра се потенцијално инфективним и мора се аутоклавирати или спалити. Пластичне посуде за узорке, езе за једнократну употребу, пластичне пипете и употријебљене рукавице могу се одлагати у пластичне кесе за одлагање инфективног материјала.

Затворене кесе треба прослиједити на аутоклавирање/спаљивање. Препорука је да на сваком радном мјесту постоји посуда за одлагање инфективног материјала. Посуда треба да буде неломљива (пластика, метал), са поклопцем и да садржи одговарајући дезинфицијенс. У

|                  |               |         |            |           |
|------------------|---------------|---------|------------|-----------|
| Болница Бијељина | Страна 7 од 7 | Издање: | Важи од:   | УП-10-132 |
|                  |               | 4       | 2024-09-18 |           |

овакве посуде обавезно се одлажу материјали који ће након стерилизације бити поново употребљени, јер је за њих прије стерилизације неопходна деконтаминација.

Поломљено стакло треба одлагати у посуде од материјала који је отпоран на предмете оштрих ивица и са поклопцем на навој. Такве посуде треба обиљежити ознаком „ОШТРО“ и не смију се пунити до врха. Када су испуњене до три четвртине запремине, треба их ставити у контејнер за инфективни отпад предвиђен за аутоклавирање/спаљивање.

Културе бацила ТБ не смију се без аутоклавирања одлагати; аутоклав треба да је доступан или у самој лабораторији или у непосредној близини; потребно је вршити биолошку контролу процеса стерилизације најмање једном недељно. За аутоклавирање отпада из микобактериолошких лабораторија препоручују се слиједећи услови: температура 121°C током 45 минута.

5. ПРИЛОЗИ И ОБРАСЦИ

- ОБ-10-338: Тромјесечни здравствени упитник.

6. ЗАПИСИ

Табела 2:

| Назив документа                 | Ознака обрасца | Документ формира                           | Број примјерака | Рок чувања | Мјесто чувања                                     | Евидентирање |
|---------------------------------|----------------|--------------------------------------------|-----------------|------------|---------------------------------------------------|--------------|
| Тромјесечни здравствени упитник | ОБ-10-338      | др<br>медицине/с<br>пец<br>микробиоло<br>г | 1               | 1 година   | Служба за<br>микробиологију са<br>паразитологијом | -            |