

“Ασφάλεια Εργαστηρίων Κοινές πρακτικές”



Χαράλαμπος Γ. Σπηλιανάκης

Αναπληρωτής καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας - Πανεπιστήμιο Κρήτης
Συνεργαζόμενο μέλος ΔΕΠ, IMBB - ΙΤΕ



www.spilianakislab.gr
spiliana@imbb.forth.gr

Agenda

- Ορισμοί
- Επίπεδα Βιοασφάλειας
- Πρακτικές Εργαστηριακής Ασφάλειας στο ΙΤΕ
- Τρόποι απολύμανσης
- Τι κάνουμε στην περίπτωση διαρροής;

Ορισμοί



Βιοασφάλεια

Η συνδυασμένη χρήση

- Εργαστηριακής πρακτικής,
- Εργαστηριακού εξοπλισμού και
- Προστατευτικού εξοπλισμού

για την εργασία με δυνητικά λοιμώδεις
μικροοργανισμούς

Γιατί Πρακτικές Βιοασφάλειας;

Για την Προστασία:

- Εργαζομένων/φοιτητών
- Συνεργατών
- Βοηθητικό προσωπικό
- Προϊόντων/πειραματικών αποτελεσμάτων
- Περιβάλλον/εργαστήριο

Biohazard/Βιολογικός Κίνδυνος

- Ένας παράγοντας βιολογικής προέλευσης που μπορεί να προκαλέσει ασθένεια στον άνθρωπο
 - Μικροοργανισμός
 - Τοξίνη
 - Αλλεργιογόνο



Εργαστηριακοί Βιολογικοί Κίνδυνοι

- **Λοιμώδεις παράγοντες και παθογόνα:**
 - Βακτήρια, ιοί, παράσιτα, μύκητες
 - Ανθρώπινοι ιστοί, κύτταρα, σωματικά υγρά
 - Ιστοί πρωτευόντων μη-ανθρώπινοι, κύτταρα, σωματικά υγρά
 - Ζώα-άγρια ή εργαστηριακά
- **Βιολογικές τοξίνες:**
 - Botulinum, tetrodotoxin, ricin, κ.α.
- **Ανασυνδυασμένο DNA, RNAi:**
 - Πλασμίδια, γραμμικό γυμνό DNA, συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια, κ.α.
- **Ϊικοί φορείς:**
 - Αδενοϊοί, MuLV, lentivirus, κ.α.
Όλα είναι σχεδιασμένα να εκφράζουν διαγονίδια. Πολλά εντίθενται στο γονιδίωμα.

Εργαστηριακοί κίνδυνοι

Εξοπλισμός	Κίνδυνος
<ul style="list-style-type: none">• Βελόνες	<ul style="list-style-type: none">■ Εμβολιασμός από ατύχημα, αερολύματα
<ul style="list-style-type: none">• Φυγόκεντροι	<ul style="list-style-type: none">■ Αερολύματα, θραύση δοκιμαστικών σωλήνων
<ul style="list-style-type: none">• Υδατόλουτρα	<ul style="list-style-type: none">■ Ανάπτυξη μικροοργανισμών

Διαδρομές Εισόδου

- Απορρόφηση από την επιδερμίδα
 - Γάντια, ποδιά, κλειστά παπούτσια, όχι make up
- Πιτσιλιές στα μάτια
 - Προστατευτικά Γυαλιά
- Κατάποση στο πεπτικό σύστημα
 - ΟΧΙ φαγητό ή ποτά, ΔΕΝ μασάμε τσίχλες ή στυλό
- Ένεση στην κυκλοφορία του αίματος
 - Σωστή χρήση αιχμηρών αντικειμένων
- Εισπνοή
 - Αποφυγή δημιουργίας αερολυμάτων
 - Χρήση απαγωγών

Ασφαλείς εργαστηριακές πρακτικές πρέπει να εφαρμόζονται:

- **ΠΡΙΝ** την πειραματική διαδικασία
 - Συλλογή δειγμάτων
 - Προετοιμασία δειγμάτων
 - Μεταφορά δειγμάτων
- **ΚΑΤΑ** την πειραματική διαδικασία
 - Πειραματική δοκιμή
- **ΜΕΤΑ** την πειραματική διαδικασία
 - Απόρριψη

Agenda

- Ορισμοί
- **Επίπεδα Βιοασφάλειας**
- Πρακτικές Εργαστηριακής Ασφάλειας στο ΙΤΕ
- Τρόποι απολύμανσης
- Τι κάνουμε στην περίπτωση διαρροής;

Επίπεδα Βιοασφάλειας



Επίπεδα Βιοασφάλειας (BSL)

Τα τέσσερα επίπεδα Βιοασφάλειας είναι:

- **BSL1** – παράγοντες που είναι γνωστό ότι δεν προκαλούν ασθένειες (B. subtilis, E. coli)
- **BSL2** – παράγοντες που σχετίζονται με ανθρώπινες ασθένειες (hepatitis B, Salmonellae, Toxoplasma)
- **BSL3** – εξωτικοί παράγοντες που σχετίζονται με ανθρώπινες ασθένειες και την πιθανότητα μετάδοσης δια αέρος (M. tuberculosis, C. burnetii)
- **BSL4** – επικίνδυνοι/εξωτικοί θανατογόνοι παράγοντες (Marbug and Ebola virus)

Επίπεδο Βιοασφάλειας 1 (BL-1)

Χρήση BL-1 όταν εργαζόμαστε με:

- Καλά χαρακτηρισμένους παράγοντες
- Παράγοντες που είναι γνωστό ότι δεν προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο
- Παράγοντες που είναι ελάχιστου κινδύνου για το προσωπικό και το περιβάλλον

Παραδείγματα BL-1 Παραγόντων:

- *E. coli* JM109, DH5a
- *Saccharomyces cerevisiae*

Επίπεδο Βιοασφάλειας 1 (BL-1)

Κοινή εργαστηριακή πρακτική

- Χρήση μηχανικών πιπεταδόρων



ΟΧΙ



ΝΑΙ

Επίπεδο Βιοασφάλειας 1 (BL-1)

Κοινή εργαστηριακή πρακτική

- Χρήση μηχανικών πιπεταδόρων
- Δεν τρώμε, δεν πίνουμε, δεν καπνίζουμε



Απαγορεύεται το φαγητό στα ψυγεία του εργαστηρίου

Επίπεδο Βιοασφάλειας 1 (BL-1)

Κοινή εργαστηριακή πρακτική

- Χρήση μηχανικών πιπεταδόρων
- Δεν τρώμε, δεν πίνουμε, δεν καπνίζουμε
- Συχνή πλύση χεριών



Επίπεδο Βιοασφάλειας 1 (BL-1)

Κοινή εργαστηριακή πρακτική

- Χρήση μηχανικών πιπεταδόρων
- Δεν τρώμε, δεν πίνουμε, δεν καπνίζουμε
- Συχνή πλύση χεριών
- Ελαχιστοποίηση σε πιτσιλιές και αερολύματα
- Καθημερινή απολύμανση επιφάνειας εργασίας
- Σωστή αποκομιδή απορριμάτων
- Ελεγχόμενο πρόγραμμα ανάπτυξης εντόμων και τρωκτικών

Επίπεδο Βιοασφάλειας 1 (BL-1)

Προστατευτικός εξοπλισμός

- Εργαστηριακή ποδιά
- Προστατευτικά γυαλιά
- Γάντια όταν απαιτείται



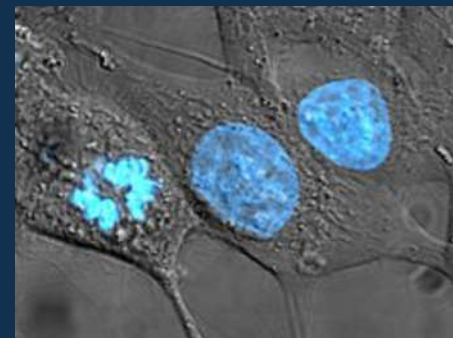
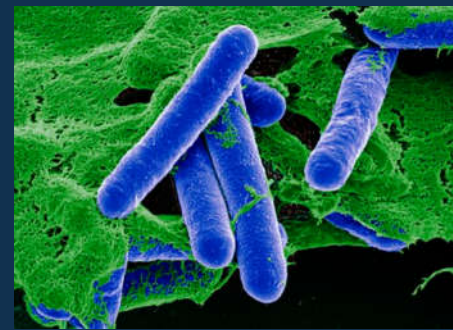
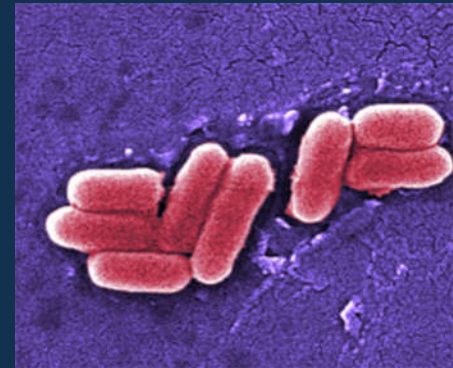
Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Χρήση BL-2 πρακτικών όταν εργαζόμαστε με:

- Παράγοντες μέτριας επικινδυνότητας για το προσωπικό και το περιβάλλον

Παραδείγματα BL-2 παραγόντων:

- Ανθρώπινο αίμα ή σωματικά υγρά
- *E. coli* 0157:H7
- *Clostridium botulinum*
- Ρετροϊικοί φορείς
- Ανθρώπινα κύτταρα σε κυτταροκαλλιέργεια



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εργαστηριακός εξοπλισμός

- Επαρκής φωτισμός
- Σταθμός πλύσης οφθαλμών



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εργαστηριακός εξοπλισμός

- Επαρκής φωτισμός
- Σταθμός πλύσης οφθαλμών
- Αρνητική πίεση αέρα
- Αυτόκαυστο



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εργαστηριακός εξοπλισμός

- Επαρκής φωτισμός
- Σταθμός πλύσης οφθαλμών
- Αρνητική πίεση αέρα
- Αυτόκαυστο
- Απαγωγός



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εργαστηριακός εξοπλισμός

- Επαρκής φωτισμός
- Σταθμός πλύσης οφθαλμών
- Αρνητική πίεση αέρα
- Αυτόκαυστο
- Απαγωγός
- Απομονωμένο εργαστήριο από τους κοινόχρηστους χώρους

Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Κοινή εργαστηριακή πρακτική (όπως BL-1)

- Χρήση μηχανικών πιπεταδόρων
- Συχνή πλύση χεριών
- Ελαχιστοποίηση σε πιτσιλιές και αερολύματα
- Καθημερινή απολύμανση επιφάνειας εργασίας
- Σωστή αποκομιδή απορριμάτων
- Ελεγχόμενο πρόγραμμα ανάπτυξης εντόμων και τρωκτικών

Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εξειδικευμένες πρακτικές

- Τοποθετείτε τις χρησιμοποιημένες υάλινες πλάκες μικροσκοπίου και τις καλυπτρίδες σε κατάλληλα δοχεία **και μόνον**



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εξειδικευμένες πρακτικές

- Τοποθετείτε τις χρησιμοποιημένες υάλινες πλάκες μικροσκοπίου και τις καλυπτρίδες σε κατάλληλα δοχεία *και μόνον*



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εξειδικευμένες πρακτικές

- ΔΕΝ απομακρύνουμε με τα χέρια σπασμένους υάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες



Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Εξειδικευμένες πρακτικές

- Αφαιρούμε τα γάντια και τις εργαστηριακές ποδιές πριν φύγουμε από το εργαστήριο
- ΔΕΝ επιτρέπονται ζώα στο εργαστήριο

Επίπεδο Βιοασφάλειας 2 (BL-2)

Προστατευτικός εξοπλισμός

- Εργαστηριακή ποδιά
- Προστατευτικά γυαλιά
- Γάντια
- Απαγωγός



Επίπεδο Βιοασφάλειας 3 (BL-3)



Επίπεδα Βιοασφάλειας (BSL)

Τα τέσσερα επίπεδα Βιοασφάλειας είναι:

- **BSL1** – παράγοντες που είναι γνωστό ότι δεν προκαλούν ασθένειες (B. subtilis, E. coli)
- **BSL2** – παράγοντες που σχετίζονται με ανθρώπινες ασθένειες (hepatitis B, Salmonellae, Toxoplasma)
- **BSL3** – εξωτικοί παράγοντες που σχετίζονται με ανθρώπινες ασθένειες και την πιθανότητα μετάδοσης δια αέρος (M. tuberculosis, C. burnetii)
- **BSL4** – επικίνδυνοι/εξωτικοί θανατογόνοι παράγοντες (Marbug and Ebola virus)

Επίπεδο Βιοασφάλειας 4 (BL-4)



Επίπεδα Βιοασφάλειας (BSL)

Τα τέσσερα επίπεδα Βιοασφάλειας είναι:

- **BSL1** – παράγοντες που είναι γνωστό ότι δεν προκαλούν ασθένειες (B. subtilis, E. coli)
- **BSL2** – παράγοντες που σχετίζονται με ανθρωπίνες ασθένειες (hepatitis B, Salmonellae, Toxoplasma)
- **BSL3** – εξωτικοί παράγοντες που σχετίζονται με ανθρωπίνες ασθένειες και την πιθανότητα μετάδοσης δια αέρος (M. tuberculosis, C. burnetii)
- **BSL4** – επικίνδυνοι/εξωτικοί θανατογόνοι παράγοντες (Marbug and Ebola virus)

Agenda

- Ορισμοί
- Επίπεδα Βιοασφάλειας
- **Πρακτικές Εργαστηριακής Ασφάλειας στο ΙΤΕ**
- Τρόποι απολύμανσης
- Τι κάνουμε στην περίπτωση διαρροής;

Πρακτικές Εργαστηριακής Ασφάλειας στο ΙΤΕ



Εργαστηριακή Ασφάλεια

- Ποδιές
- Προστατευτικά γυαλιά
- Κλειστά παπούτσια
- Πιασμένα πίσω τα μαλλιά
- ΔΕΝ τρώμε ούτε πίνουμε στο εργαστήριο



Πρακτικές Βιοασφάλειας

- Αφήνουμε στο εργαστήριο το βιολογικό υλικό
 - Πλένουμε τα χέρια αφού αφαιρέσουμε τα γάντια και πριν φύγουμε από το εργαστήριο
 - ΔΕΝ φοράμε ποδιά και γάντια εκτός εργαστηρίου



Πρακτικές Βιοασφάλειας

- Χρησιμοποιούμε αιχμηρά αντικείμενα μιας χρήσεως
- Χρησιμοποιούμε πλαστικά αντί για γυάλινα αντικείμενα όταν είναι δυνατόν



Πρακτικές Βιοασφάλειας

- Μειώνουμε τα αερολύματα

- Πιπετάρουμε αργά και προσεκτικά τα υγρά στα τοιχώματα δοκιμαστικών σωλήνων

- Χρησιμοποιούμε ένα δοχείο ή σακούλα βιολογικού υλικού μέσα στον απαγωγό για να μειωθούν οι στάλες



Πρακτικές Βιοασφάλειας



- Οι απαγωγοί απαιτούν πιστοποίηση ετησίως

Πρακτικές Βιοασφάλειας

- **Αποφεύγουμε την έντονη ροή αέρα μέσα στον απαγωγό**
 - Κρατάμε κατεβασμένο το προστατευτικό κάλυμμα
 - Δεν μπλοκάρουμε τη σχάρα
 - Κρατάμε τα υλικά προς το πίσω μέρος του απαγωγού
 - Κινούμε τα χέρια μας αργά

Πρακτικές Βιοασφάλειας

- **Αποφεύγουμε την έντονη ροή αέρα μέσα στον απαγωγό**
 - Κρατάμε κατεβασμένο το προστατευτικό κάλυμα
 - Δεν μπλοκάρουμε τη σχάρα
 - Κρατάμε τα υλικά προς το πίσω μέρος του απαγωγού
 - Κινούμε τα χέρια μας αργά



Πρακτικές Βιοασφάλειας

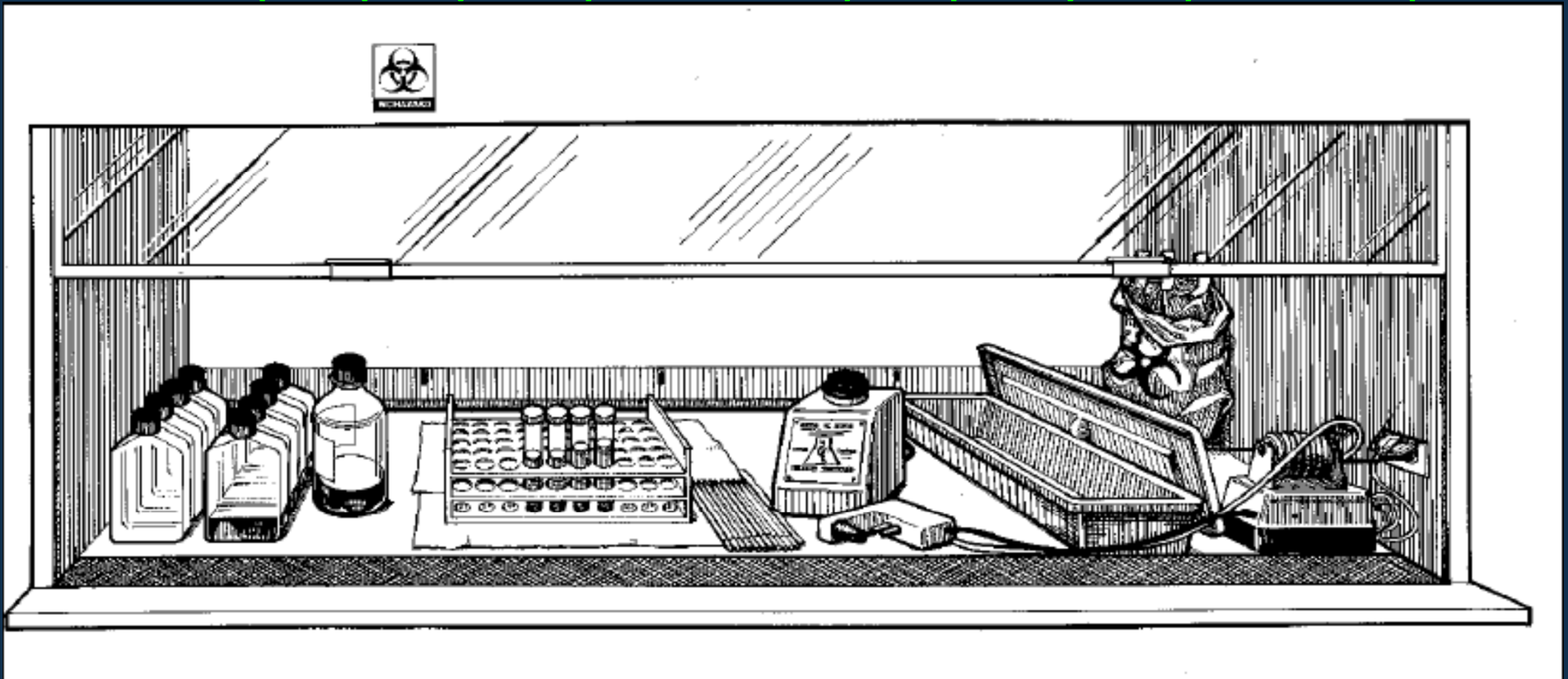
Χρήσιμες συμβουλές για εργασία σε απαγωγό

- Μπαίνουμε αμέσως στον απαγωγό χωρίς να ακουμπάμε στην επιφάνεια εργασίας
- Δεν τοποθετούμε υλικά πάνω στη σχάρα
- Κρατάμε ένα δοχείο ή μια σακούλα απορριμάτων μέσα στον απαγωγό
- Απολυμαίνουμε τα υλικά πριν τα απομακρύνουμε από τον απαγωγό

Πρακτικές Βιοασφάλειας

Χρήση Απαγωγού

Αποφεύγουμε τη διασταυρούμενη επιμόλυνση



Καθαρή
περιοχή

Περιοχή
εργασίας

Μολυσμένη
περιοχή

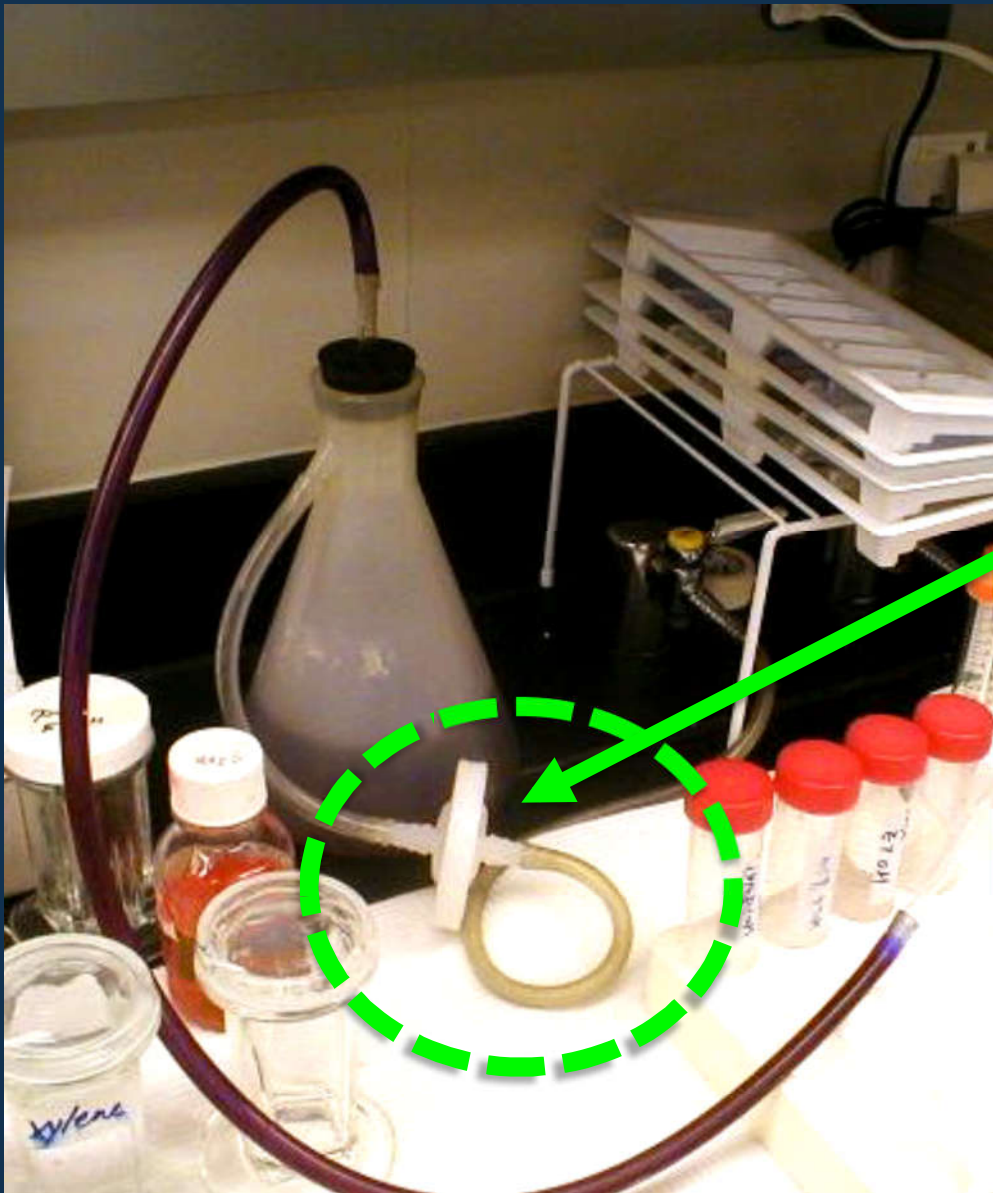
Πρακτικές Βιοασφάλειας

- Οι απαγωγοί για βιολογικό υλικό δεν χρησιμοποιούνται για εύφλεκτα υλικά



Πρακτικές Βιοασφάλειας

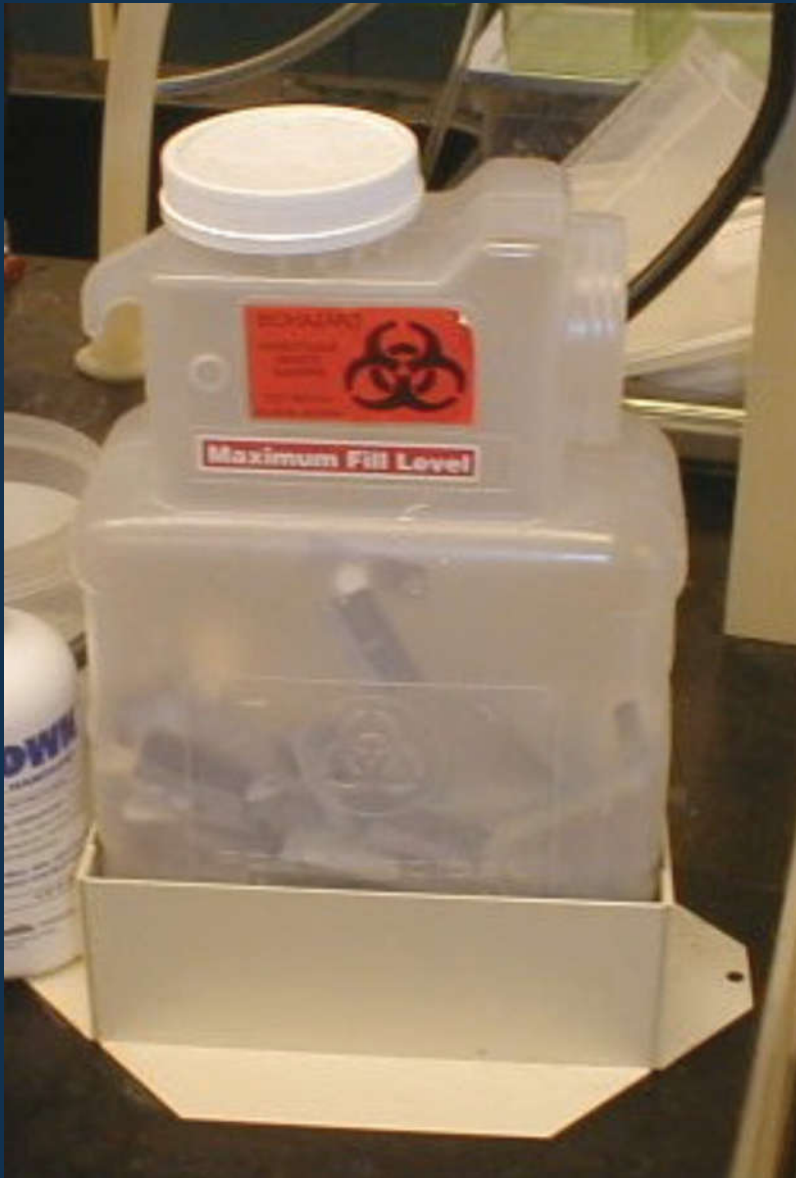
Προστατεύουμε τις αντλίες κενού



- Προστατεύουμε τις αντλίες κενού από τη φλάσκα με βιολογικό υλικό χρησιμοποιώντας φίλτρο

Πρακτικές Βιοασφάλειας

Αιχμηρά αντικείμενα



- Τοποθετούμε τα αιχμηρά αντικείμενα σε κατάλληλα δοχεία
- Δεν γεμίζουμε ασφυκτικά το δοχείο
- Όταν γεμίσει το δοχείο, το ασφαλίζουμε και το τοποθετούμε σε κατάλληλο κυτίο

Agenda

- Ορισμοί
- Επίπεδα Βιοασφάλειας
- Πρακτικές Εργαστηριακής Ασφάλειας στο ΙΤΕ
- **Τρόποι απολύμανσης**
- Τι κάνουμε στην περίπτωση διαρροής;

ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ

τρόποι απολύμανσης



Καθαρισμός

- **Αποστείρωση:**

καταστρέφει κάθε μικροβιακό οργανισμό συμπεριλαμβανομένων των σπορίων

- **Απολύμανση:**

καταστρέφει την πλειονότητα των βακτηρίων αλλά όχι απαραίτητα και τα σπόρια

- **Αντισηπτικά:**

βακτηριοστατικά που χρησιμοποιούνται στην επιδερμίδα για να αναστείλουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών

Καθαρισμός

Μέθοδοι

- **Θερμότητα:**
θερμός ατμός, ξηρή θέρμανση, αποτέφρωση
- **Χημικά:**
χλωρίνη, H_2O_2 , οξείδιο αιθυλενίου, PFA
- **Ακτινοβολία**

Καθαρισμός

**Τα απολυμαντικά δεν αντικαθιστούν
τις καθημερινές μικροβιολογικές
πρακτικές και τη σωστή υγιεινή!!!**

Agenda

- Ορισμοί
- Επίπεδα Βιοασφάλειας
- Πρακτικές Εργαστηριακής Ασφάλειας στο ΙΤΕ
- Τρόποι απολύμανσης
- **Τι κάνουμε στην περίπτωση διαρροής;**

Τι κάνουμε στην περίπτωση διαρροής;



Στην περίπτωση διαρροής

- Φοράμε γάντια μιας χρήσης
- Καλύπτουμε τη διαρροή (αίμα) με χαρτί, μουσκεύουμε με 10% χλωρίνη και αφήνουμε τουλάχιστον 5 λεπτά
- Μικρή κηλίδα- σκουπίζουμε με χαρτί βρεγμένο σε 10% χλωρίνη
- Πετάμε το μολυσμένο χαρτί σε κατάλληλα δοχεία
- Σκουπίζουμε την περιοχή με καθαρό χαρτί βρεγμένο στο ίδιο διάλυμα χλωρίνης
- Πλένουμε τα χέρια

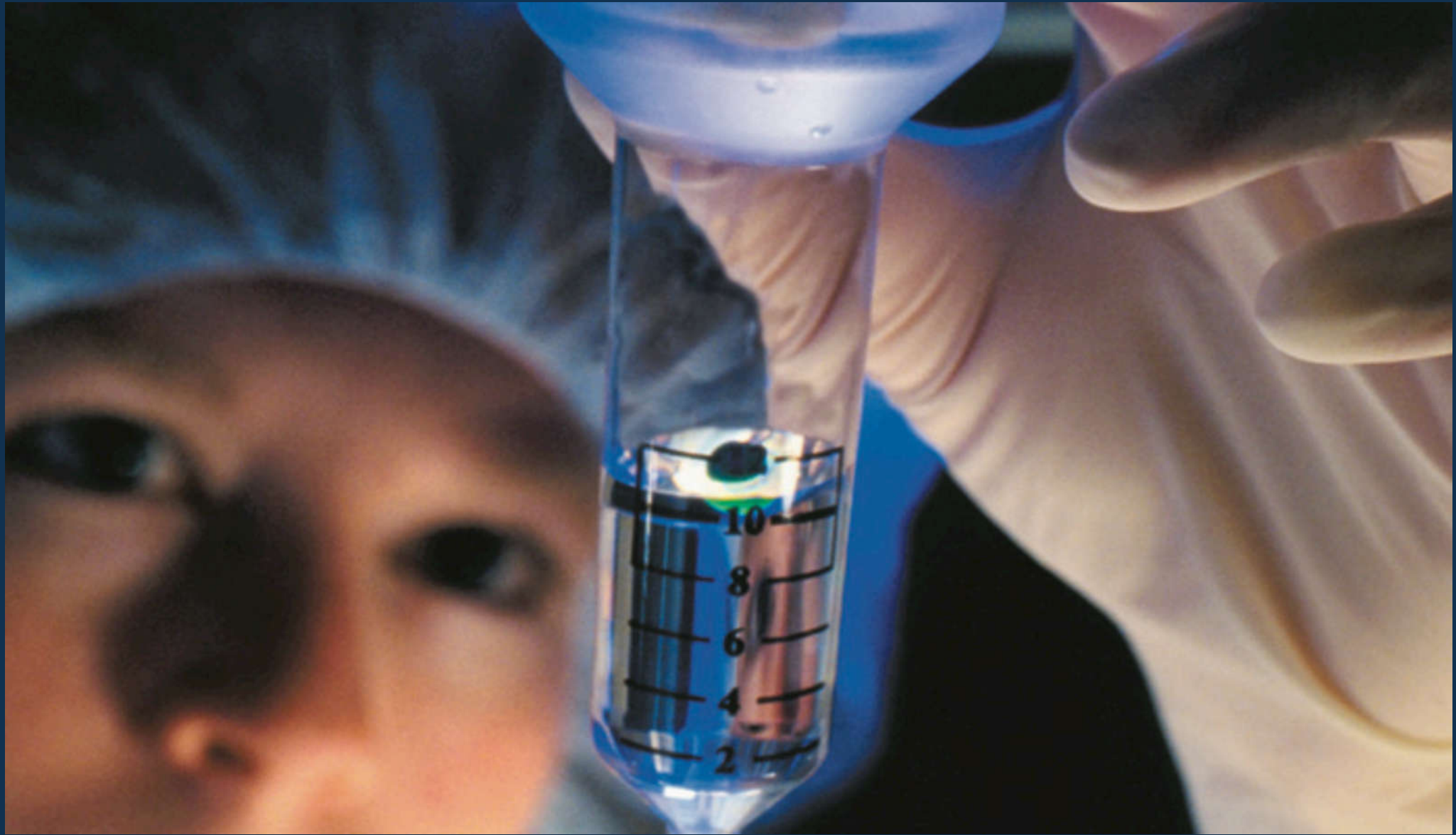
Στην περίπτωση διαρροής

- Για μεγάλη διαρροή
 1. Ενημερώνουμε τους συνεργάτες και απομονώνουμε τη μόλυνση
 - Εάν υπάρχουν επικίνδυνα αέρια εκκενώνουμε το δωμάτιο για 30 λεπτά
 2. Αντικαθιστούμε το μολυσμένο προστατευτικό εξοπλισμό
 3. Καλύπτουμε με απορροφητικό υλικό κορεσμένο σε 10% χλωρίνη
 4. Περιμένουμε 20-30 λεπτά και μετά πετάμε τα υλικά σε κουτί βιολογικού υλικού
 5. Αλλάζουμε τον προστατευτικό εξοπλισμό και πλένουμε τα χέρια
 6. Ενημερώνουμε τον υπεύθυνο Βιοασφάλειας και ζητάμε τη βοήθειά του για τον καθαρισμό της διαρροής
 7. Ενημερώνουμε τον επιστημονικό υπεύθυνο του εργαστηρίου για τη διαρροή

Απολύμανση χώρων εργασίας

- Υγρά Απολυμαντικά
 - 70% Ισοπροπυλική αλκοόλη ή αιθυλική αλκοόλη
 - Πτητικά και εύφλεκτα
 - Δρουν γρήγορα χωρίς υπολείμματα
 - 10% διάλυμα χλωρίνης
 - Πρέπει να παρασκευάζεται καθημερινά
 - Αποτελεσματικό για ευρεία κλίμακα παραγόντων
 - Απαιτεί άμεση επαφή και για εκτεταμένο χρόνο για να απενεργοποιήσει τον παράγοντα
 - Αφήνει υπολείμματα

Απολυμαίνετε τις επιφάνειες εργασίας καθημερινά και μετά από διαρροή!!!



Ευχαριστώ πολύ!!!