

Aleksander Chmiel

Akademia Medyczna  
oraz Centrum Mikrobiologii  
i Wirusologii PAN  
Łódź**Zasady bezpiecznej pracy  
z drobnoustrojami****Raport z prac European Federation of  
Biotechnology: Working Party on Safety in  
Biotechnology (WPSB EFB)**

W poprzednich doniesieniach przedstawione zostały ogólne problemy bezpieczeństwa w biotechnologii (1) oraz bezpieczeństwa w pracy z patogenami roślin (2). W tym opracowaniu zaprezentowany zostanie w skrócie raport opracowany przez WPSB EFB (3), dotyczący zaleceń i środków ostrożności w pracy z drobnoustrojami należącymi do różnych kategorii zagrożenia dla ludzi. Raport ten zawiera konsensus ustaleń i przepisów obowiązujących w niektórych krajach Europy Zachodniej oraz w USA. Poniżej podano przyjętą klasyfikację drobnoustrojów (zest. 1), z pominięciem listy drobnoustrojów bezpiecznych, które nigdy nie były identyfikowane jako patogeny ludzi, zwierząt lub roślin i do których należy zresztą zdecydowana większość drobnoustrojów stosowanych w biotechnologii. W pracy z nimi obowiązują podstawowe zasady zawodowego **bezpieczeństwa i higieny pracy**, które w odniesieniu do skali produkcyjnej zostały sformułowane jako przepisy prawidłowej **praktyki wielkoprzemysłowej** (*Good Industrial Large Scale Practice – GILSP*, zest. 2).

Problem bezpiecznej pracy z drobnoustrojami chorobotwórczymi dotyczy w biotechnologii zasadniczo trzech nurtów:

- 1) klasycznych biotechnologii szczepionek;
- 2) pozyskiwania nowych szczepów do celów biotechnologicznych z różnych środowisk (potencjalna możliwość izolacji patogenów przed ich identyfikacją, stosowanie testowych drobnoustrojów chorobotwórczych do poszukiwania nowych antybiotyków);
- 3) genetycznej modyfikacji drobnoustrojów oraz pozyskiwania materiału genetycznego z drobnoustrojów chorobotwórczych.

Konieczna jest świadomość potencjalnego zagrożenia oraz znajomość sposobów jego eliminacji. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że potencjalna możliwość wystąpienia choroby zależy nie tylko od zjadliwości zarazków, ale także od szeregu innych czynników. Należą do nich m.in. droga infekcji, liczba infekujących zarazków, wrażliwość zarazków na warunki zewnętrzne (np. wysuszenie, wysoką temperaturę), siły obronne organizmu – naturalne lub wywołane szczepieniami.

Istnieje cały szereg sposobów pozwalających na ochronę pracowników przed atakiem drobnoustrojów, z którymi oni pracują, jak również zabezpieczających przed wydostaniem się drobnoustrojów z laboratoriów lub instalacji technologicznych. Są one dyskutowane w pracy Collinsa (4) publikowanej w tym numerze. Podstawowe zalecenia w tym zakresie zostały sformułowane jako prawidłowe techniki mikrobiologiczne (*Good Microbiological Techniques – GMT*, zest. 3).

**Literatura**

1. Chmiel A., (1988), *Postępy Mikrobiologii*, 27, 127–135.
2. Chmiel A., (1989), *Biotechnologia P.I.*, 3–4 (5–6), 86–89.
3. Frommer W., Ager B., Archer L., Brunius G., Collins C. H., Donikian R., Frontali C., Hamp S., Houwink E. H., Küenzi M. T., Kramer P., Lagast H., Lund S., Mahler J. L., Normand-Plessier F., Sargeant K., Tuijnburg Muijs G., Vranich S., Wener R. G., (1989), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 30, 541–552.
4. Collins C. H., (1990), *Biotechnologia P.I.*, 4.

## Zestawienie 1

## Klasyfikacja drobnoustrojów chorobotwórczych dla ludzi oraz zabezpieczenia w pracy z nimi

**A. Drobnoustroje o niskim stopniu zagrożenia** (EFB Class 2), które mogą wywoływać choroby u ludzi i stanowią zagrożenie dla pracowników laboratoriów, ale ich rozprzestrzenianie się do środowiska jest mało prawdopodobne; istnieją efektywne metody profilaktyczne.

Wymagane zabezpieczenia (kategoria 1):

- zasady GMT (zest. 3),
- zasady GILSP (zest. 2), a ponadto
- podłogi, ściany, sufity i przejścia muszą być łatwe do czyszczenia i dezynfekcji,
- zakażone odpady i narzędzia należy autoklawować lub dezynfekować przed czyszczeniem (myciem),
- operacje, w których powstają aerozole, muszą być wykonywane w sposób kontrolowany, w zamkniętych urządzeniach (pojemnikach, pomieszczeniach),
- dostęp do urządzeń (pomieszczeń) musi być ograniczony.

**Bakterie**

*Acinetobacter calcoaceticus*  
*Actinobacillus actinomycetemcomitans*,  
*A. lignieresii*, *A. suis*\*  
*Actinomadura madurae*, *A. pelletieri*  
*Actinomyces bovis*, *A. israelii*  
*Aeromonas hydrophila*  
 Arizona  
*Bacillus cereus*  
*Bordetella parapertussis*, *B. pertussis*  
*Borrelia*  
*Campylobacter fetus*, *C. jejuni*, *C. sputorum*  
*Clostridium botulinum*, *C. chauvoei*, *C. haemolyticum*, *C. histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. tetani*  
*Corynebacterium diphtheriae*, *C. equi*, *C. haemolyticum*, *C. pseudotuberculosis*  
*C. pyogenes*, *C. renale*, *C. ulcerans*  
*Edwardsiella tarda*  
*Eikenella corrodens*  
*Enterobacter*\*  
*Erysipelothrix insidiosus* (*rhusiopathiae*)  
*Escherichia coli* – typy enteropatogeniczne (liczne

szczyepy defektywne – zmutowane, np. K12 – są bezpieczne)

*Flavobacterium meningosepticum*  
*Haemophilus*  
*Klebsiella* (gatunki patogeniczne\*)  
*Legionella*  
*Leptospira interrogans*  
*Moraxella*  
*Mycobacterium avium*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. ulcerans*  
*Mycoplasma agalactiae*, *M. mycoides*, *M. pneumoniae*  
*Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*  
*Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*  
*Pasteurella* (niektóre szczepy *P. multocida* są bezpieczne)  
*Plesiomonas shigelloides*  
*Proteus*  
*Providencia*  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Salmonella serovar*  
*Serratia (marcescens)*  
*Shigella*  
*Staphylococcus aureus*  
*Streptobacillus moniliformis*  
*Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*  
*Treponema carateum*, *T. pallidum*, *T. pertenue*  
*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*  
*Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*

**Riketsje i chlamydie**

*Chlamydia psittaci* (poza szczepami ptasimi, które należą do grupy zarazków o średnim zagrożeniu)

**Grzyby**

*Absidia*  
*Aspergillus*\*  
*Candida albicans*  
*Cryptococcus neoformans*  
*Epidermophyton floccosum*  
*Microsporum*  
*Mucor*\*  
*Rhizopus*\*  
*Sporothrix schenckii*  
*Trichophyton*

\* – występują również gatunki lub szczepy nie stanowiące zagrożenia dla ludzi lub środowiska, należące do grupy 1 (EFB Class 1) drobnoustrojów bezpiecznych, które nigdy nie były identyfikowane jako zarazki chorobotwórcze.

**Pasożyty**

*Acanthamoeba spp*  
*Ancylostoma duodenale*  
*Ascaris lumbricoides*  
*Babesia microti*, *B. divergens*  
*Balantidium coli*, *B. divergens*  
*Brugia spp*  
*Clonorchis sinensis*  
*Dipetalonema streptocerca*, *D. perstans*  
*Diphyllobothrium latum*  
*Dracunculus medinensis*  
*Entamoeba histolytica*  
*Enterobius spp*  
*Fasciola hepatica*, *F. gigantea*  
*Fasciolopsis (buskii)*  
*Giardia (lamblia)*  
*Hymenolepis nana*  
*Isoospora belli*  
*Loa loa*  
*Mansonella ozzardii*  
*Necator (americanus)*  
*Onchocerca volvulus*  
*Opistorchis spp*  
*Paragonimus (westermanni)*  
*Plasmodium (ludzkie i malpie)*  
*Pneumocystis carinii*  
*Sarcocystis*  
*Schistosoma haematobium*, *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*  
*Strongyloides spp*  
*Taenia saginata*, *T. solium*  
*Toxocara canis*  
*Trichinella (spiralis)*  
*Trichomonas vaginalis*  
*Trichostrongylus*  
*Trichiuris trichuria*  
*Trypanosoma brucei*  
*Wuchereria bancroftii*

**Wirusy**

Adenowirusy ludzkie – wszystkie typy  
 Coxsackie A, B  
 Creutzfeldt–Jacob agent  
 Cytomegalowirusy  
 Echowirusy – wszystkie typy  
 Encephalomyocarditis  
 Hepatitis A, non–A–non–B  
 Herpes (poza małpimi, które należą do zarazków o średnim zagrożeniu)  
 Influenza  
 Kuru agent  
 Measles  
 Mumps  
 Newcastle disease

**Parainfluenza\***

Polio  
 Pox vaccina (i inne, poza Monkeypox – zarazek o średnim zagrożeniu oraz Variola – zarazek o dużym zagrożeniu)  
 Resp sync  
 Rhinowirusy  
 Rubella  
 Scrapie agent  
 Wirusy małpie (poza HV simiae – zarazek o średnim zagrożeniu i Marburg – zarazek o dużym zagrożeniu)  
 Varicella

**B. Drobnoustroje o średnim stopniu zagrożenia**

(EFB class 3), przede wszystkim dla pracowników laboratoriów, przy stosunkowo niewielkim ryzyku niebezpieczeństwa dla pozostałych ludzi; istnieją skuteczne metody profilaktyczne.

**Wymagane zabezpieczenia (kategoria 2):**

- takie jak dla kategorii 1, a ponadto
- do pracy dopuszczany może być jedynie personel przeszkolony; jeżeli dostępne są szczepionki, personel musi być zaszczepiony,
- powstające odpady muszą być odkażane lub sterylizowane,
- autoklawy muszą być w obrębie miejsca pracy,
- wszystkie operacje z drobnoustrojami muszą być prowadzone w hermetycznie zamkniętych urządzeniach lub boksach do bezpiecznej pracy,
- personel musi używać fartuchów ochronnych zapinanych z tyłu,
- ręce i przedramiona muszą być myte i dezynfekowane w regularnych przedziałach czasu, nie można nosić biżuterii.

**Bakterie**

*Bacillus anthracis*, *B. bacilliformis*  
*Brucella*  
*Francisella* typu A  
*Mycobacterium africanum*, *M. bovis*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. leprae*, *M. mageritense*, *M. simiae*, *M. szulgai*, *M. tuberculosis*, *M. xenopi*  
*Pseudomonas mallei*, *P. pseudomallei*  
*Salmonella paratyphi* A, B, C, S, typhi  
*Yersinia pestis*

**Riketsie i chlamydie**

*Chlamydia psittaci* – szczepy ptasie  
*Coxiella burnetii*  
*Rickettsia prowazekii* i inne spp

**Grzyby**

*Blastomyces dermatitidis*  
*Coccidioides immitis*  
*Histoplasma (capsulatum) spp*  
*Paracoccidioides brasiliensis*

**Pasożyty**

*Echinococcus spp*  
*Leishmania spp*  
*Naegleria (fowleri)*  
*Toxoplasma gondii*  
*Trypanosoma crusei*

**Wirusy**

*Dengue*  
*Eastern equine encephalomyelitis*  
*Hantaan*  
*Hepatitis B*  
*Herpes (małpi)*  
*Japanese B*  
*Korean HF*  
*LCM*  
*Louping ill*  
*Monkeypox*  
*Murray Valley enceph*  
*Rabies*  
*Retrowirusy HIV*  
*Rift Valley*  
*St. Louis enceph*  
*Venezuelan EE*  
*Western equine encephalomyelitis*  
*Yellow fever (dziki in vitro)*

**C. Drobnoustroje o wysokim stopniu zagrożenia**

(EFB Class 4) dla pracowników laboratoriów i innych ludzi; na ogół brak jest efektywnych metod profilaktycznych.

**Wymagane zabezpieczenia (kategoria 3):**

- jak w kategorii 2, a ponadto
- nie dopuszcza się wizytatorów,
- miejsce pracy musi być całkowicie izolowane,
- pomieszczenie do całkowitej zmiany odzieży musi być wyposażone w służbę powietrzną z przymusowym natryskiem,
- w pomieszczeniu roboczym musi być utrzymywane podciśnienie, a kanały powietrza muszą być wyposażone w podwójne wysokosprawne filtry powietrza typu HEPA (*High Efficiency Particulate Air*),
- wszystkie odpady muszą być sterylizowane,
- autoklaw musi być usytuowany w miejscu pracy,
- materiały zawierające zarazki o wysokim stopniu zagrożenia muszą być absolutnie izolowane od pracowników,
- fartuchy ochronne muszą być jednorazowego użytku.

**Wirusy**

*Ebola*  
 Haemorrhagic fever (Congo, Crimea, Juni, Machupo, Lassa, Mopeia)  
 Variola  
 Trick-borne (encephalitis complex, Kyasanur, Omsk, RSSE, etc.)

**Zestawienie 2****Zasady bezpiecznej pracy i higieny w dużej skali przemysłowej (GILSP)**

- opracowanie i przestrzeganie lokalnych przepisów bezpieczeństwa personelu oraz odpowiednia kontrola oceny higieny i bezpieczeństwa,
- odpowiednie instrukcje pisemne oraz praktyczne przeszkolenie personelu w zakresie utrzymywania miejsca pracy w czystości, jak również zachowania w możliwie najniższym stopniu ekspozycji pracowników na czynniki biologiczne, chemiczne i fizyczne,
- użytkowanie pomieszczeń do zmiany odzieży i mycia rąk oraz używanie do pracy odzieży ochronnej,
- w miejscu pracy niedozwolone jest jedzenie, picie oraz palenie papierosów.

**Zestawienie 3**

**Prawidłowe techniki mikrobiologiczne (GMT) zapewniające bezpieczną pracę z drobnoustrojami mogącymi stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi; techniki te zabezpieczają pracowników i produkty**

1. Pracownik powinien posiadać podstawową wiedzę mikrobiologiczną. Nie można dopuścić do rozprzestrzeniania się drobnoustrojów (np.

przez skażone powierzchnie robocze, ręce, ubranie). Wszyscy pracownicy powinni być świadomi zagrożenia dla ludzi z otoczenia ze

- strony hodowanych drobnoustrojów chorobotwórczych. Wejście do miejsca pracy z tymi drobnoustrojami powinno być ograniczone tylko dla osób świadomych istniejącego zagrożenia.
2. Nie może być kontaktu ust pracownika z materiałami lub narzędziami używanymi na stanowisku pracy. Jedzenie, picie i pipetowanie ustami jest zabronione.
  3. Na stanowisku pracy niedozwolone są operacje, takie jak wirowanie i mielenie, w wyniku których mogą powstawać aerozole; napełnianie butelek lub tub należy prowadzić w specjalnych boksach zapewniających bezpieczną pracę z drobnoustrojami.
  4. Zainfekowane odpady należy umieszczać w szczelnie zamykanych pojemnikach, których zewnętrzna powierzchnia musi być odkażana przed transportem do autoklawu lub pieca.
  5. Zabiegi sterylizacji ciepłej lub chemicznej muszą być najpierw sprawdzone pod względem skuteczności niszczenia drobnoustrojów.
  6. Należy używać jedynie niezawodnego sprzętu.
  7. Po każdej pracy należy dezynfekować powierzchnie robocze, stoły i ręce.
  8. W razie rozlania materiału zakaźnego powierzchnie robocze, stoły, podłogi i ręce powinny być zdezynfekowane.
  9. Powinna być dostępna szczegółowa instrukcja postępowania, obejmująca pierwszą pomoc, czyszczenie i dezynfekcję; personel powinien być przeszkolony w tym zakresie.

*Adres dla korespondencji:*

Aleksander Chmiel, Instytut Technologii i Chemii Leków, Akademia Medyczna, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź.