

נוהל עבודה עם וירוסים, דם ורקמות ממקור אנושי – תשרי תשפ"ב

המסמך דלהלן יציג את נהל העבודה עם פתוגנים ודגימות ממקור אנושי, ולהלן יכללו כולם תחת הכינוי 'פתוגן'. דגימות רוק והפרשות ממקור אנושי אינן כלולות בהגדרות אלה וניתן לעבוד עימם ברמת בטיחות 2.

רמת הבטיחות המוגדרת (Biosafety level, BSL) היא +2, קרי, עבודה בתנאי בטיחות של רמה 2, תוך אימוץ חלק מנהלי העבודה של רמת בטיחות 3. עבודה עם פתוגן שמהונדס גנטית ליצירת אונקוגן או רעלן מצריכה אישור מיוחד של הוועדה למחוללי מחלות.

כל ההנחיות שלהלן, באות להוסיף על נהלי העבודה הקיימים במעבדות ביולוגיות בכלל, ובמעבדות ברמת בטיחות 2 בפרט.

עובדים/סטודנטים חדשים יעבדו תחת פיקוח בתחילת עבודתם ויקבלו הנחיות ברורות לגבי אופי העבודה. אין לאפשר לסטודנטים חסרי ניסיון בעבודה מעין זו, ואשר באים לתקופה קצרה ("מעבדה מתקדמת" או תוכנית קיץ, כדוג'), לעבוד עם פתוגנים.

מיגון אישי

- עבודה עם מיגון אישי רגיל, דהיינו, חלוק, כפפות, משקפי מגן ונעליים סגורות.
- ובנוסף, נדרשים לעבודה ברמה +2 שימוש בכפפות כפולות וכיסוי המרווח שבין השרוול לכפפה (שרווליות או כפפות ארוכות).
- יש להקצות חלוקים נפרדים לעבודה עם הפתוגן, ולהקפיד להסיר את החלוקים עם סיום העבודה.
- אין לעבוד עם פצעים חשופים.
- כל עבודה הכרוכה בחשיפה לדם, מוצרי דם, נוזלי גוף או רקמות ממקור אנושי, מחייבת קבלת חיסון כנגד צהבת מסוג B, טרם תחילת העבודה.

ציוד

- עבודה עם הפתוגן תתבצע אך ורק במנדף ביולוגי. העבודה מחוץ למנדף מותרת רק כאשר הפתוגן נוטרל או קובע.
- מומלץ לייחד מנדף נפרד לעבודה עם הפתוגן, אך אפשר גם לעבוד במנדף המשותף לעבודה שאינה קשורה לפתוגן. במצב זה יש לחטא היטב את המנדף בסיום העבודה עם הפתוגן.



- רצוי לייחד פיפטורים ייעודיים לעבודה עם הפתוגן, אך ניתן לשתף עם עבודות אחרות בתנאי שהפיפטורים נוקו היטב לאחר העבודה עם הפתוגן (שטיפה עם 70% אתנול), ובתנאי שהפיפטורים הללו משמשים אך ורק לעבודה במנדף הביולוגי.
- אין להשתמש במכשיר יניקה – לא יניקה על ידי צנרת האוויר הציבורית ולא משאבה מקומית. כל השאיבה תתבצע על ידי פיפטור בלבד. שימוש במכשיר יניקה יתאפשר רק במידה והותקן מסנן HEPA על מכשיר היניקה.
- ככל הניתן, יש להשתמש בצידוד מעבדתי מתכלה (פיפטות, מבחנות וכו') לשם הקטנת הסיכונים.
- אין לגדל את הפתוגן בצלחות אלא אך ורק בפלסקים, ועדיף בפלסקים עם פילטר. גידול פתוגן בצלחות יתאפשר רק לאחר ביצוע הערכת סיכונים על ידי בעל סמכות לדבר.
- אין להשתמש בכלים חדים (מחטים, אזמל מנתחים וכיו"ב) בעבודה עם פתוגן. שימוש בצידוד חד יתאפשר רק לאחר ביצוע הערכת סיכונים על ידי בעל סמכות לדבר ובתנאי שאין אפשרות לבצע את הניסוי הנדרש ללא השימוש במכשיר החד.
- שימוש באינקובטור - רצוי אינקובטור נפרד. אבל אפשרי משותף בתנאים הללו: צלחות עם פתוגנים במדף נפרד (עדיף תחתון), סימון ברור של האינקובטור כ"סכנה ביולוגית", יידוע כל מי שעובד עם האינקובטור על קיומם ומיקומם של הפתוגנים.

שיטות עבודה

- אין להעביר נוזל המכיל פתוגן על ידי שפיכה מכלי אל כלי. העברת הנוזל תתבצע על ידי פיפטציה בלבד.
- בכל מעבר מעבודה עם פתוגן לעבודה / שימוש בצידוד המשמש גם לעבודה רגילה, יש להסיר את הכפפות העליונות (בתוך המנדף) ולהשליך בפח המצוי בתוך המנדף.
- יש לסמן באופן ברור מבחנות/קופסאות/מקפאים/מקררים/אינקובטורים וכל מכשור אחר המכילים את הפתוגן.
- יש להימנע מגידול נפחים גדולים של פתוגן שלא לצורך ובכל מקרה אין להעמיס נפח נוזל גדול בכלי בודד.
- לפני הוצאה של פלסק מהאינקובטור, יש להקפיד לסגור את הפקק.
- כל עבודה עם פתוגן בצידוד ציבורי, מחייבת יידוע של אחראי המכשיר לפתוגן והסכמתו לשימוש.
- בפרוטוקול הכולל יצירה של וירוסים על ידי טרנספקציה של פלסמידים לתאים, ניתן להכניס את הצלחת לאינקובטור מיידית, ללא ההחמרות של רמת בטיחות 2+, ומכאן ואילך הצלחת תיחשב כמכילה פתוגן.



- החלטה על מספר העברות התאים הנדרש לאחר הדבקה בוורוס, על מנת לעבור לעבודה ברמת בטיחות 2, תבוצע לאחר הערכת סיכונים על ידי מוסמך לכך. הערכת הסיכונים תתייחס לשרידות של הוורוס בתרבות, הסיכוי להיווצרות רוורטנטים, נוכחות אפיוזמים וכיו"ב. (לדוג', לאחר הדבקה בוורוס הלנטי יש להמתין שלושה פיצולים לפני שחוזר להיחשב כשורת תאים ברמת בטיחות 2). שימוש בתאים אלו בצידוד ציבורי מחייבים יידוע של האחראי על המכשיר כי התאים המובאים לבדיקה הם תאים לאחר הדבקה, וקבלת הסכמתו לביצוע הניסוי.
- עם סיום העבודה עם הפתוגן יש לחטא את משטח המנדף ב- 70% אתנול או באקונומיקה (תמיסה טרייה מהולה 1:10).
- יש לשטוף ידיים במים וסבון בתום העבודה.
- יש לנהל רישום קפדני, במחברת מיוחדת: על מקורות הדמים ונוזלי הגוף המגיעים למעבדה, שמות העובדים אשר טיפלו בהם, תאריך, אופן השימוש ומקום העבודה.
- בכל מקרה של תקלה/שפך יש לדווח לגורמים הבאים:
ראש מעבדה / מנהל מעבדה
מוקד הבטחון: 03-531-7777

טיפול באשפה: כל החומר המזהם נשאר בתוך המנדף!

הכלל הוא: הוצאה של חומר שנעשה בו שימוש עם פתוגן תתבצע רק לאחר שהפתוגן נוטרל בצורה מלאה, או כשהוא בכלי סגור המועבר לעיקור באוטוקלב. נוזל יעוקר במנדף על ידי אקונומיקה. דליים או שקיות עם ציוד ייסגרו היטב (לאחר הוספת כ 50 מ"ל מים) בתוך המנדף, ויוצאו ישירות לעיקור באוטוקלב.

שימוש בצנטריפוגה:

צנטריפוגה עם זווית קבועה: פתיחה וסגירה של הרוטור תבוצע בתוך מנדף ביולוגי. צנטריפוגה עם זווית משתנה: יש להשתמש בגביעים עם מכסה. פתיחה וסגירה של הגביעים תתבצע בתוך המנדף בלבד. אין למלא את המבחנות עד סופן. לאחר הסרכוז, יש לוודא שלא נשפך נוזל מהמבחנות בתוך הרוטור ובצנטריפוגה, ולחטא בדטרגנט או ב- 70% אתנול במידה שנשפכו נוזלים.

סרכוז בצנטריפוגה שאינה שייכת למעבדת האם: יש לתאם עם האחראי על הצנטריפוגה, ולחטא היטב את הרוטור ואת דפנות חלל הצנטריפוגה לאחר השימוש. פתוגן שמדביק על ידי אירוסול: יש להקפיד על שני מחסומים מתוך השלושה הבאים: מכסי גביעים, מכסה רוטור, אטם גומי סביב המכסה של הסרכוז. במידה ואין שני מחסומים – כל הנוכחים בחדר מחוייבים בחבישת נשמית במהלך הסרכוז.



התבוננות במיקרוסקופ:

במיקרוסקופ מעבדתי המיועד לעבודה עם פתוגנים, יש לחטא את משטח העבודה לאחר השימוש. יש ליידע את חברי המעבדה כי המכשיר משמש לעבודה עם חומר ברמת סיכון 2+. לחלופין, ניתן לעטוף בניילון נצמד את הפלסק / צלחת לפני ההנחה על גבי המיקרוסקופ.

התבוננות בפתוגן במיקרוסקופ שאינו חלק מצידוד מעבדת האם, מחייב קבלת אישור של האחראי על המיקרוסקופ.

ניוד כלים המכילים פתוגן בין חדרים באוניברסיטה:

בזמן העברה של כלים המכילים פתוגן בתוך האוניברסיטה, יש להוביל את הכלים בתוך כלי סגור היטב העשוי מחומר שאינו שביר. יש להחליף את הכפפות לאחר הנחת הכלי עם הפתוגן בכלי ההובלה, על מנת שלא לזהם מבחוץ את כלי ההובלה. על הכלי החיצוני יהיה סימון ברור של סיכון ביולוגי. יש לחטא את הכלי באתנול לאחר השימוש.

קבלת ומשלוח פתוגנים מחוץ לאוניברסיטה:

אין להכניס ו/או להוציא מהאוניברסיטה פתוגנים ללא אישור של ממונה בטיחות. הובלת הפתוגן תיעשה בתוך שלוש אריזות, קרי, (1) מבחנה בתוך (2) כלי סגור היטב העשוי מחומר לא שביר המכיל חומר סופח בכמות מתאימה (3) אריזה חיצונית (קרטון או קלקר) סגורה עם סימון "סיכון ביולוגי".