

## **Biosicherheit in Laboratorien der Sicherheitsstufe 3: Resultate der Probenerhebungskampagne in TB-Laboratorien 2008/2009**

### **Gemeinsame Kampagne der Kantone Basel-Stadt (Schwerpunktlabor), Genf, Luzern, Neuenburg, St. Gallen, Tessin, Waadt und Zürich**

<i>Anzahl untersuchte Laboratorien:</i> 9	<i>davon mit signifikanter Kontamination:</i> 2
<i>Anzahl untersuchte Proben:</i> 93	<i>davon mit signifikanter Kontamination:</i> 5
<i>Oberflächen mit signifikanter Kontamination:</i>	Zentrifuge (2), Sicherheitswerkbank (1), Bedienpanel Autoklav (1), Umrahmung Wasserbad (1)

### **Ausgangslage**

Beim Umgang mit gentechnisch-veränderten oder pathogenen Mikroorganismen, wie es insbesondere in Forschungs- und Diagnostiklaboratorien geschieht, müssen nach Einschliessungsverordnung (ESV) entsprechende Sicherheitsmassnahmen zum Schutz der Umwelt getroffen werden. Diese werden durch regelmässige Inspektionen der zuständigen kantonalen Vollzugsbehörden und fallweise durch Erheben von Wischproben auf ihre Eignung überprüft. Die Wischproben werden auf die Anwesenheit entsprechender Mikroorganismen untersucht.

Die Erhebung von Wischproben von Laboroberflächen hat sich als geeignetes Instrument zur Erkennung von Schwachstellen in den von den Betrieben getroffenen Sicherheitsmassnahmen im Umgang mit ESV-relevanten Mikroorganismen erwiesen: Die Resultate aus Beprobungen von Laboratorien der Sicherheitsstufe 2 deuten darauf hin, dass vor allem Zentrifugen gelegentlich unabsichtlich kontaminiert werden<sup>1</sup>. Kontaminationen können u.a. verursacht werden durch

- Freisetzung von Aerosolen aus mangelhaft ausgerüsteten Anlagen (z.B. Zentrifugen, Ultraschallgeräten, Homogenisatoren),
- Spritzer und Verschleppungen infolge ungenügender Handhabung von Mikroorganismen und ungeeigneter Laborabläufe (z.B. Beladen/Entladen von Zentrifugenröhrchen, Pipettieren, unsachgemässer oder unterlassener Handschuhwechsel).

### **Untersuchungsziele**

Mit dieser Kampagne wurden erstmals Laboratorien der Sicherheitsstufe 3 auf Kontaminationen durch *Mycobacterium tuberculosis* bzw. mögliche Mängel in den Sicherheitsmassnahmen im Umgang mit diesem Organismus überprüft. Für diese landesweite Kampagne wurde mit *M. tuberculosis* ein Gruppe 3-Erreger gewählt, der in Stufe-3-Laboratorien - insbesondere der Diagnostik - vergleichsweise häufig verwendet wird.

### **Gesetzliche Grundlagen**

- Verordnung über den Umgang mit Organismen in geschlossenen Systemen (Einschliessungsverordnung, ESV) vom 25.08.99, SR 814.912
- Verordnung über den Schutz der Arbeitnehmerinnen und Arbeitnehmer vor Gefährdung durch Mikroorganismen (Arbeitnehmerschutzverordnung, SAMV) vom 25.08.1999, SR 832.321
- Verordnung über den Schutz vor Störfällen (Störfallverordnung, StFV) vom 27.02.1991, SR 814.012

Die Rechtsetzung regelt den beabsichtigten Umgang mit Mikroorganismen und das Treffen von geeigneten Sicherheitsmassnahmen, um den Austritt der Organismen aus den physikalischen Schranken zu minimieren bzw. zu verhindern. Die zu treffenden Sicherheitsmassnahmen sind in der ESV und der Arbeitnehmerschutzverordnung (SAMV) identisch festgehalten und beinhalten allgemeine, sowie auf die Risikogruppe der Mikroorganismen, die Risikoklasse der Tätigkeit, und auf die Art der Anlage abgestimmte Anforderungen (ESV, Anhang 4; SAMV, Anhang 3). Die Überwachung der Sicherheitsmassnahmen erfolgt durch den kantonalen Vollzug (ESV, Art.

<sup>1</sup> Vgl. Berichte zu früheren Kampagnen <http://www.kantonslabor-bs.ch/content.cfm?nav=17&content=23&Command=details&year=2008&kat=Umwelt&ID=655> und <http://www.kantonslabor-bs.ch/content.cfm?nav=17&content=23&Command=details&year=2006&kat=Umwelt&ID=558>

20) und kann das Erheben von Proben beinhalten (gemäss ESV: Art. 20, Anhang 4). Die SAMV wird durch die SUVA vollzogen.

## **Probenbeschreibung**

### Auswahl der Laboratorien

Ausgewählt wurden Betriebe mit Forschungs- oder Diagnostiklaboratorien, in denen mit natürlichen oder gentechnisch-veränderten Mykobakterien der Gattung *M. tuberculosis* gearbeitet wird. Bei den Diagnostiklabors wurden diejenigen einbezogen, bei denen der Nachweis von *M. tuberculosis* auch deren Kultivierung beinhaltet (in der Regel Klasse 3-Tätigkeit, Umgang in Laboratorien der Sicherheitsstufe 3).

Gemäss der bei der Kontaktstelle Biotechnologie des BAFU (Bundesamt für Umwelt) und beim BAG (Bundesamt für Gesundheit) registrierten Tätigkeiten gab es zum Zeitpunkt der Kampagne 15 Betriebe in 10 Kantonen mit solchen Tätigkeiten.

- Im Rahmen der Kampagne wurden in 7 Diagnostik- und 2 Forschungslabors in insgesamt 8 Kantonen Proben erhoben.

### Ablauf der Probenerhebungen

Die Probenerhebungen wurden den beteiligten Laboratorien vorab angekündigt. Sie wurden von einem Mitarbeitenden des Biosicherheitslabors des Kantonalen Laboratoriums Basel-Stadt durchgeführt und jeweils von einem Vertreter der Vollzugsbehörde des Standortkantones begleitet. Die Kampagne fand zwischen September 2008 und Januar 2009 statt.

Pro Labor wurde an 9 bis 12 Laborstellen jeweils eine Wischprobe erhoben:

- 9 Proben an einheitlich festgelegten Laborstellen, um die Vergleichbarkeit der Resultate sicherzustellen (*Tabelle 1; Abbildung 1*);
- 1 - 3 weitere Proben an vor Ort, situativ oder auf Vorschlag des Betreibers ausgewählten Laborstellen.

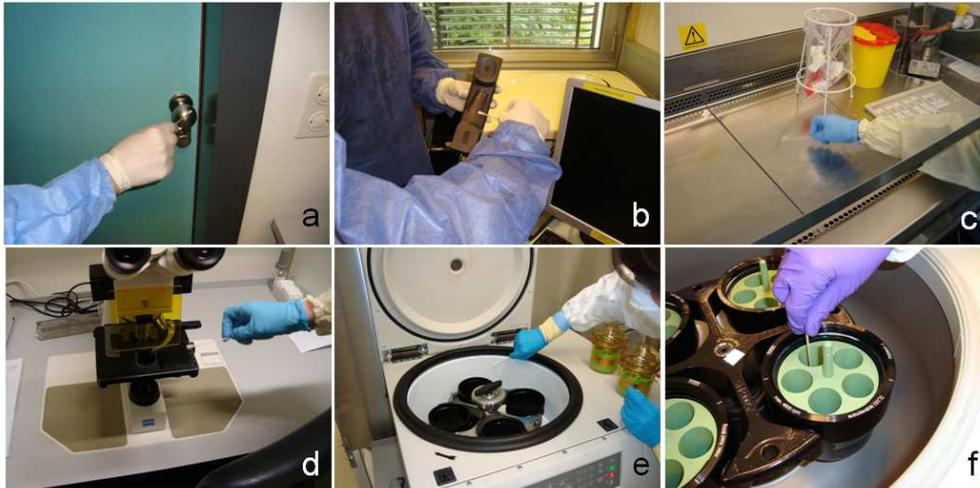
Die Erhebung aller Wischproben und die entsprechenden Laborstellen wurden durch Fotos dokumentiert.

### Tabelle 1: Liste der 9 übereinstimmenden Laborstellen

<b>Laborstellen</b>	<b>Laborbereich innerhalb des Stufe-3-Bereiches</b>
Arbeitsfläche Sicherheitswerkbank Zentrifuge Innenwand Zentrifuge Röhrchenhalter Färbewaschbecken Innenwand Mikroskop	<b>Arbeitsbereich,</b> an dem Tätigkeiten mit Mikroorganismen durchgeführt werden.
Boden neben od. Griff am Abfallkübel Telefonhörer Inkubatorgriff Türgriff Schleuse	<b>Arbeitsumgebung</b> Den Arbeitsbereich umgebende Einrichtungen des Stufe-3-Bereiches.

### Berichterstattung

Die Resultate wurden laborweise ausgewertet und in einem Untersuchungsbericht zusammengefasst. Dieser wurde zusammen mit der Fotodokumentation der jeweiligen Vollzugsbehörde des Standortkantones zugestellt, in deren Ermessen die Weiterleitung an die Betriebe lag.



**Abbildung 1:** 6 Beispiele übereinstimmender Probenahmestellen: (a) Türgriff Schleuse, (b) Telefon, (c) Sicherheitswerkbank, (d) Mikroskop, (e) Zentrifuge Innenwand, (f) Zentrifuge Röhrenhalter.

### Prüfverfahren

Die Untersuchung auf Kontaminationen mit *M. tuberculosis* mittels Erheben von Wischproben beinhaltet

- die Bestimmung des Kontaminationsgrades einer bestimmten Laboroberfläche anhand der Menge an *M. tuberculosis*-spezifischer DNA in der Wischprobe (SOP315).
- den Nachweis von lebenden *M. tuberculosis*-Keimen. Zu diesem Zweck wurden die Wischproben durch basische Behandlung von schnell wachsenden bakteriellen nicht-mykobakteriellen Kontaminanten befreit. Das Mykobakterien-spezifische Wachstum wurde nach Anzucht in Flüssigmedium anhand der Zunahme an *M. tuberculosis*-spezifischer DNA mittels real-time PCR nachgewiesen (SOP316).

### Ergebnisse

**Tabelle 2** enthält die Ergebnisse geordnet nach Probenahmestellen und Laborbereiche; **Tabelle 3** zeigt die Ergebnisse aufgeschlüsselt nach Laboratorien und Labortypen.

**Tabelle 2:** Ergebnisse geordnet nach Probenahmestellen und Laborbereiche.

Laborbereich	Stelle im Labor	Anzahl Proben total	Anzahl Proben mit analytischem Befund			
			Nicht nachgewiesen <sup>a</sup>	≥ Nachweisgrenze < signifikante Kontamination <sup>b</sup>	≥ signifikante Kontamination <sup>c</sup>	Lebende <i>M. tuberculosis</i> Keime
Arbeitsbereich	SWB Arbeitsfläche <sup>d</sup>	9	8	0	1	0
	ZE Innenwand <sup>d</sup>	9	9	0	0	0
	ZE Röhrenhalter <sup>d</sup>	9	6	1	2	0
	Färbewaschbecken <sup>d</sup>	6 <sup>e</sup>	6	0	0	0
	Mikroskop <sup>d</sup>	9	9	0	0	0
	div. Laboroberflächen <sup>f</sup>	3	2	0	1 <sup>g</sup>	0
Arbeitsumgebung	Nähe Abfallkübel <sup>d</sup>	10	9	1	0	0
	Telefonhörer <sup>d</sup>	9	9	0	0	0
	div. PC-Zubehör <sup>f</sup>	4	3	1	0	0
	Inkubatorgriff <sup>d</sup>	9	8	1	0	0
	div. Gerätebedienungsflächen <sup>f</sup>	6	5	0	1 <sup>h</sup>	0
Türgriff Schleuse <sup>d</sup>	10	9	1	0	0	
<b>Total</b>		<b>93</b>	<b>83</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>0</b>

<sup>a</sup> keine spezifische *M. tuberculosis*-DNA nachgewiesen

<sup>b</sup> Genomkopien/Wischproben ≥ Nachweisgrenze (600 *M. tuberculosis*-Genomkopien/Wischprobe) < signifikante Kontamination (6000 *M. tuberculosis*-Genomkopien/Wischprobe)

<sup>c</sup> Signifikante Kontamination entspricht dem 10-fachen der Nachweisgrenze (siehe b)

<sup>d</sup> Vordefinierte Beprobungsstelle

<sup>e</sup> In drei Fällen nicht beprobt (2 Forschungslabor: nicht vorhanden; 1 Diagnostiklabor: spezielle technische Lösung)

<sup>f</sup> Vor Ort gewählte Beprobungsstellen

<sup>g</sup> Umrahmung Wasserbad

<sup>h</sup> Bedienpanel Autoklav

**Tabelle 3:** Zusammenfassung der Ergebnisse bezüglich Labor und Labortyp.

Labortyp	Labor	Anzahl Proben total	Anzahl Proben mit entsprechendem analytischem Befund			
			Nicht nachgewiesen <sup>a</sup>	> Nachweisgrenze ≤ signifikante Kontamination <sup>b</sup>	≥ signifikante Kontamination <sup>c</sup>	Lebende <i>M. tuberculosis</i> Keime
Forschung	A	10	9	0	1	0
	B	11	3	4	4	0
Diagnostik	C	11	10	1	0	0
	D	9	9	0	0	0
	E	10	10	0	0	0
	F	11	11	0	0	0
	G	11	11	0	0	0
	H	10	10	0	0	0
	I	10	10	0	0	0
Total		93	83	5	5	0

<sup>a</sup> keine spezifische *M. tuberculosis*-DNA nachgewiesen

<sup>b</sup> Genomkopien/Wischproben ≥ Nachweisgrenze (600 *M. tuberculosis*-Genomkopien/Wischprobe) < signifikante Kontamination (6000 *M. tuberculosis*-Genomkopien/Wischprobe)

<sup>c</sup> Signifikante Kontamination entspricht dem 10-fachen der Nachweisgrenze (siehe b)

### Lebende *M. tuberculosis*-Keime

- In keiner der erhobenen Wischproben konnten lebende *M. tuberculosis*-Keime nachgewiesen werden.

Dieser Befund kann folgende Ursachen haben: An diesen Stellen haben sich nie Kontaminationen mit lebenden TB-Erregern ereignet (a), aufgetretene Kontaminationen mit lebenden *M. tuberculosis* an diesen Stellen wurden mittels Desinfektion inaktiviert (b), oder aufgrund der zu langen Eintrocknungsdauer waren diese Keime nicht mehr kultivierbar (c).

### Nachgewiesene *M. tuberculosis*-DNA

- 11 % der Wischproben (10 von 93) enthielten nachweisbare Mengen an *M. tuberculosis*-DNA, wobei 5 von 93 Stellen die Arbeitsumgebung (u.a. PC-Zubehör, Türgriff zur Schleuse) betrafen.
- In 5 % der Wischproben (5 von 93) konnte eine signifikante<sup>2</sup> *M. tuberculosis*-DNA Kontamination nachgewiesen werden. 2 von 5 signifikanten *M. tuberculosis*-DNA Kontaminationen wurden in der Zentrifuge (Röhrchenhalter) gefunden.
- In Labor B enthielten überdurchschnittlich viele (8 von 11) der erhobenen Proben *M. tuberculosis*-DNA. Dies deutet auf eine Verschleppung von *M. tuberculosis*-DNA oder *M. tuberculosis*-Keime enthaltendem Arbeitsmaterial im gesamten Labor hin.

### Vergleich zwischen den Laboratorien

- In den 7 beprobten Diagnostiklaboratorien wurden nur in einer von 72 Wischproben *M. tuberculosis*-DNA über der Nachweisgrenze detektiert.
- Sämtliche signifikant kontaminierten Wischproben stammen von den zwei Forschungslaboratorien, bzw. zu 80 % aus Labor B.

### **Empfehlungen/Massnahmen**

- Die Resultate in allen untersuchten Diagnostiklaboratorien gaben keinerlei Hinweis auf ungenügende Sorgfalt im Umgang mit *M. tuberculosis* und daher keinen Anlass für eine Empfehlung oder Massnahmen.
- Im Fall von Labor B wurde in Zusammenarbeit mit der zuständigen kantonalen Vollzugsstelle empfohlen, sämtliche experimentellen, sicherheitsrelevanten und Routine-Arbeitsabläufe zu analysieren. Dies beinhaltet beispielsweise, wie Geräte mit Proben be- und entladen werden, wie und wie häufig das kontaminierte Probenmaterial gesammelt und inaktiviert wird, oder wann und wie Handschuhwechsel durchgeführt werden.

<sup>2</sup> Aufgrund der tiefen Infektionsdosis von 1 bis 10 Keimen wird als signifikante Kontamination bereits ein Wert entsprechend dem 10-fachen der Nachweisgrenze angesehen (*M. tuberculosis*-Genomkopien/Wischprobe ≥ 6000).

**Schlussfolgerungen**

- Die Ergebnisse zeigen, dass die Methoden der Probenerhebung und Analyse sich für den Nachweis von möglichen Kontaminationen mit *M. tuberculosis* eignen.
- In keinem der beprobten Laboratorien wurden vermehrungsfähige *M. tuberculosis*-Keime nachgewiesen.
- Da die Ergebnisse der Diagnostiklaboratorien keinen direkten Hinweis auf ungenügende Sicherheitsmassnahmen aufzeigten, sind weitere Untersuchungen in Diagnostiklaboratorien gegenwärtig nicht angezeigt.
- In beiden Forschungslaboratorien wurden signifikante Mengen *M. tuberculosis*-DNA nachgewiesen. In einem Labor stammen 5 der 8 Wischproben mit nachweisbarer *M. tuberculosis*-DNA von Stellen der Arbeitsumgebung, wo kein direkter Umgang mit biologischem Material stattfindet. Aufgrund der gefundenen Werte in Forschungslaboratorien und der teilweisen mehrwöchigen Überlebenszeit der TB-Erreger in der Umwelt ist es wichtig, die im Umgang mit diesen Keimen getroffenen Sicherheitsmassnahmen auf dem Stand der Technik zu halten und korrekt anzuwenden.

**Danksagung**

Die Kampagne wurde durch finanzielle Zuschüsse des Bundesamtes für Gesundheit und der SUVA unterstützt.