

---

---

# Biyogüvenlik Laboratuvar Seviyeleri ve Biyogüvenlik Kabinlerinin Seçimi Kullanımı ve Bakımı

*Uzm. Dr. İsmail CEYHAN*

*Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı,  
Tüberküloz Referans Laboratuvarı, ANKARA*

---

---

**B**irçok meslek ve çalışma alanında olduğu gibi sağlık alanında da çalışan kişilerin maruz kaldığı tehlike veya aldığı risklerin boyutu çoğu zaman acı deneyimler sonucu ortaya çıkmıştır. İyi kayıt ve raporlama sistemine sahip Amerika Birleşik Devletleri'nde bu tür deneyimler sonucunda özellikle laboratuvar kazaları ve uygulamalarının ne kadar ciddi ve hayati risklere sahip olduğu anlaşılmıştır. İlk kez 1941 yılında Meyer ve Edie laboratuvar kaynaklı 74 bruselloz vakası yayınlamışlardır. Sulkin ve Pike 1949 yılında 21'i ölümle sonuçlanan 222 viral enfeksiyon bildirmişlerdir. 1976 yılında Pike tarafından yayınlanan surveyansa dayalı bir başka çalışmada ise büyük çoğunluğu bakteriyel (%42.5) ve viral (%26.7) olmak üzere 3921 enfeksiyon bildirilmiş ve toplam %4.2 ölüm oranı rapor edilmiştir. Bunların yaklaşık %20'sinin sebebi bilinen bir laboratuvar kazasına, geri kalan kısmının ise büyük olasılıkla aerosol kaynaklı kontrolsüz laboratuvar uygulamalarına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Bu kötü ancak öğretici deneyimler, öncelikle laboratuvarlarda çalışan personelin çalışma koşullarına ve uygulamalara bağlı riskleri azaltmanın daha iyisi tamamen ortadan kaldırmanın önemini ortaya koymuş ve girişimlere zemin hazırlamıştır. Bu anlamdaki girişimler genel anlamıyla "Laboratuvar Güvenliği" daha spesifik olarak ise "Biyogüvenlik" başlığı altında irdelenmektedir.

Biyogüvenlik kavramı, kriterleri, standartları ve uygulamaları, zaman içerisinde değişim/gelişim göstermekle birlikte, günümüzde özellikle mikrobiyoloji, biyokimya ve patoloji gibi potansiyel risk taşıyan materyal ile çalışılan laboratu-

varlarda personel ve çevrenin korunması amacıyla alınması gerekli önlemler yeterince standardize edilmiş durumdadır. Tüm sağlık kurum ve kuruluşlarında güncel biyogüvenlik kriterlerine uygun alt yapı, teknik, uygulama ve sistemlerin kurulması sağlık personelinin hastalanma risklerini önemli ölçüde azaltabilir.

Bugün biyogüvenlik, “özellikle insanlar için potansiyel patojenik tehlike içeren materyal, infeksiyöz mikroorganizmalar veya onların genetik ya da toksik komponentleri ile yapılan çalışmaların, insan ve çevre için güvenli şekilde yapılmasını sağlamak amacıyla laboratuvar alt yapı, tasarım, ekipman, teknik ve uygulamalarının en uygun kombinasyonu” olarak tanımlanabilir.

Biyogüvenliğin amacı çalışanları, diğer insanları ve çevreyi potansiyel tehlikeli mikrobiyolojik ajanlardan korumaktır. Korunma, kavramsal ifadeyle tecrit (containment) amaca uygun kullanımlarda temel olarak iki teknik savunma hatını kapsamaktadır. İyi laboratuvar uygulamaları, biyogüvenlik ekipmanlarının kullanımı ve gerektiğinde risk altındaki çalışanın aşılmasını birincil korunma, laboratuvar dışında kalan çevrenin de korunması kaygısıyla alınması gerekli diğer önlemlerin tamamı ise ikincil korunma olarak ifade edilir. Bu nedenle maksimum korunma/koruma amacıyla birbirleriyle iç içe geçmiş;

- a. Laboratuvar uygulamaları ve teknikler,
- b. Biyogüvenlik ekipmanları,
- c. Laboratuvar tasarım/dizaynları ve alt yapı, olmak üzere biyogüvenliğin üç önemli elemanı vardır.

Korunmanın en önemli elemanı standart ve/veya özel mikrobiyolojik pratiklere ve tekniklere çok sıkı bir şekilde uymaktır. Her bir laboratuvar, çalıştığı alanlardaki tehlikelere ve maruz kalabileceği potansiyel risklere uygun biyogüvenlik pratiklerini belirlemesi ve uygulamaya geçirmesi, bu bağlamda her laboratuvarın risk değerlendirmesi yapması ve buna en uygun biyogüvenlik elementlerini bir araya toplaması çok önemlidir.

Bir laboratuvar, temel yaklaşımlarla değerlendirildiğinde potansiyel mikrobiyolojik tehlike ve risklere sahiptir. Bu kapsamda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) mikroorganizmaları dört risk grubuna ayırmıştır (Tablo 1). Gruplandırma yapılırken mikroorganizmanın konakçı varlığı/özellikleri, patojenitesi, infeksiyöz dozu, bulaş yolu, toplum sağlığına etkileri, ne tür korunma ve tedavisinin bulunduğu (ya da bulunmadığı) gibi kriterler göz önüne alınmıştır. Risk grup 1’de bireysel ve toplumsal riski olmayan ya da bu riskin önemli ölçüde az olduğu mikroorganizmalar yer almaktadır. İnsanda infeksiyona neden olmadığı kesinlikle bilinen mikroorganizmalar (*Bacillus subtilis* gibi) bu grupta yer alır. Klinik mikrobiyolojide çoğu kez karşımıza çıkan ve insanlarda hastalık nedeni olduğu bilinen birçok mikroorganizma risk grup 2’de tanımlanmıştır. Genel olarak grup 2’deki mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların etkili tedavi/korunma yolları vardır ve toplum sağlığı açısından oluşturduğu risk sınırlıdır. Toplumsal risk düşük ancak bireysel risk yüksek olmakla birlikte etkili tedavi ve korunma yollarının bulundu-

**Tablo 1. İnfektif mikroorganizmaların risk gruplarına göre sınıflandırılması.**

**Risk grup 1 bireysel ve toplumsal risk yok veya oldukça az**

İnsan ve hayvanlarda hastalık yapma riski olmayan mikroorganizmalar.

**Risk grup 2 ılımlı bireysel risk, düşük toplumsal risk**

İnsanlarda ve hayvanlarda hastalık oluşturabilen ancak çevre, laboratuvar çalışanları, evcil hayvanlar ve halk sağlığına ciddi şekilde tehdit oluşturmayan mikroorganizmalar. Laboratuvar çalışmaları ciddi enfeksiyonlara neden olabilir ancak etkili tedavi ve korunma yöntemleri bulunmaktadır. Ayrıca yayılma riski sınırlıdır.

**Risk grup 3 yüksek bireysel risk, düşük toplumsal risk**

İnsan ve hayvanlarda ciddi hastalık etkeni olmakla birlikte genel olarak infekte bir kişiden diğerine bulaşmaz. Etkili tedavi ve korunma mümkündür.

**Risk grup 4 yüksek bireysel risk ve toplumsal risk**

İnsan ve hayvanlarda önemli hastalık etkeni olup aynı zamanda infektif kişiden bir diğerine doğrudan veya dolaylı olarak kolaylıkla bulaşabilen yani halk sağlığını tehdit eden buna karşılık etkili tedavi ve korunma yolu genellikle bulunmayan mikroorganizmalar bu grupta yer alır.

ğu mikroorganizmalar risk grup 3'te hem toplumsal hem de bireysel riskin yüksek buna karşılık etkili korunma ve tedavi yöntemlerinin genellikle bulunmadığı mikroorganizmalar ise risk grup 4'te yer almışlardır. Bu risk gruplarının yalnızca laboratuvar çalışmaları için kullanılması önerilmektedir.

Laboratuvar alt yapıları risk gruplarına paralel uygulama ve korunma kriterleri açısından dört farklı seviyede tasarlanmıştır. Biyogüvenlik seviye 1 (BSL-1) ve seviye 2 (BSL-2) "**Temel Laboratuvarlar**"dır. Biyogüvenlik seviye 3 (BSL-3) "**Tecrit Laboratuvarı**", Biyogüvenlik seviye 4 (BSL-4) laboratuvarı ise "**Maksimum Tecrit Laboratuvarı**" olarak adlandırılır. Bir mikroorganizmanın hangi risk grubunda yer alacağı ve çalışmanın hangi seviyede yürütüleceği dört önemli faktöre bağlıdır. Bunlar aşağıda kısaca özetlenmiştir;

1. Organizmanın patojenitesi,
2. Bulaş yolu ve konakçı durumu (konakçı varlığı, sayısı, türü vb.'nin bölgesel yayılımı),
3. Lokal olarak etkili korunma yollarının varlığı,
4. Lokal olarak etkili tedavi yollarının varlığı.

Hastane ve tıp merkezleri bünyelerinde yer alan mikrobiyoloji, biyokimya laboratuvarları ile çoğu halk sağlığı laboratuvarlarında çalışılan potansiyel enfektif materyallerin içerisinde bulunabilecek mikroorganizmaların büyük çoğunluğu genel olarak risk grup 2'de yer almaktadır. Bu nedenle bu tür laboratuvarlar alt yapı ve mikrobiyal teknikler açısından minimum olarak BSL-2 olmalıdır. Ayrıca çalışma ve uygulamalar değerlendirilerek ilave önlem ve esaslar belirlenmelidir. Esas itibarıyla belli risk grubu içerisinde tanımlanan bir mikroorganizma için ge-

rekli çalışma koşulları o risk grubu için tanımlanan seviye için geçerlidir (Tablo 2). Ancak bu durum her zaman doğru olmayabilir. Örneğin; risk grup 2 içerisinde tanımlanmış bir mikroorganizmanın kültüre edilmiş veya yoğun mikrobiyal çalışmaları, dolayısıyla yüksek konsantrasyonda aerosol riski olan durumlarda BSL-3 uygulamaları ve alt yapısı gerektirebilir.

Her ülke, bölge veya laboratuvar, çalışacağı mikroorganizmanın bulunduğu risk grubu yanında yapacağı çalışmalardaki tehlikeleri ve potansiyel riskleri çok iyi hesap etmelidir. Çalışmaların hangi düzeyde yapılması gerektiği her risk grubu için az-çok bilinmesine rağmen bir laboratuvarın çalışacağı düzey ve ayrıntılı çalışma sistematığı profesyonel risk analizi yapılmadan kolaylıkla söylenemez. Biyogüvenlik seviyeleri için gerekli alt yapı ve tasarım Tablo 3'te özetlenmiştir.

<b>Tablo 2. Risk gruplarına karşılık biyogüvenlik seviyeleri.</b>				
<b>Risk grubu</b>	<b>Biyogüvenlik seviyesi</b>	<b>Laboratuvar tipi</b>	<b>Laboratuvar uygulamaları</b>	<b>Güvenlik ekipmanları</b>
1	<b>Temel</b> Biyogüvenlik seviye 1 (BSL-1)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temel öğretim laboratuvarı</li> <li>• Araştırma laboratuvarı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İyi laboratuvar uygulamaları (İLU)</li> </ul>	Gerekmez (açık banko çalışması yeterlidir)
2	<b>Temel</b> Biyogüvenlik seviye 2 (BSL-2)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Halk sağlığı laboratuvarı</li> <li>• Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı</li> <li>• Araştırma laboratuvarı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İLU ile birlikte</li> <li>• Biyolojik tehlike işareti</li> <li>• Koruyucu giysi giyilmesi</li> </ul>	Açık banko yanında potansiyel aerosol için biyogüvenlik kabinleri (BGK)
3	<b>Tecrit</b> Biyogüvenlik seviye 3 (BSL-3)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Özel tanı laboratuvarı</li> <li>• Araştırma laboratuvarı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BSL-2'ye ilave olarak</li> <li>• Özel koruyucu giysi</li> <li>• Kontrollü giriş-çıkış</li> <li>• Tek yönlü hava akımı/negatif basınç</li> </ul>	BGK ve/veya tüm aktiviteler için diğer birincil korunma ekipmanları
4	<b>Maksimum tecrit</b> Biyogüvenlik seviye 4 (BSL-4)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Çok tehlikeli patojen çalışma laboratuvarı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BSL-3'e ilave olarak</li> <li>• Hava kilitli giriş</li> <li>• Duşlu çıkış</li> <li>• Özel atık sistemi</li> </ul>	Sınıf III/BGK veya Sınıf II/BGK ile birlikte pozitif basınçlı özel koruyucu giysi

	Biyogüvenlik seviyesi			
	1	2	3	4
Laboratuvarın izolasyonu <sup>a</sup>	Hayır	Hayır	Evet	Evet
Odanın (buhar ile) dekontaminasyon için tamamen kapatılabilmesi	Hayır	Hayır	Evet	Evet
Havalandırma				
• İçeriye doğru hava akımı	Hayır	İsteğe bağlı	Evet	Evet
• Kontrollü hava akımı sağlanması	Hayır	İsteğe bağlı	Evet	Evet
• Dış ortama atılan havanın HEPA filtreden atılması	Hayır	Hayır	Evet/Hayır <sup>b</sup>	Evet
Çift kapı giriş-çıkış	Hayır	Hayır	Evet	Evet
Hava kilidi (airlock)	Hayır	Hayır	Hayır	Evet
Duşlu hava kilidi	Hayır	Hayır	Hayır	Evet
Giriş alanı (anteroom)	Hayır	Hayır	Evet	-
Duşlu giriş alanı	Hayır	Hayır	Evet/Hayır <sup>c</sup>	Hayır
Sıvı atıkların işlenmesi/özel atık işleme sistemi	Hayır	Hayır	Evet/Hayır <sup>c</sup>	Evet
Otoklav				
• Yanında (aynı katta veya ulaşılabilir durumda)	Hayır	İsteğe bağlı	Evet	Evet
• Laboratuvar içinde	Hayır	Hayır	İsteğe bağlı	Evet
• Çift yönlü	Hayır	Hayır	İsteğe bağlı	Evet
Biyogüvenlik kabini	Hayır	İsteğe bağlı	Evet	Evet
Personel izlem-gözlem	Hayır	Hayır	İsteğe bağlı <sup>d</sup>	Evet

<sup>a</sup> Genel insan trafiğinden, fonksiyonel ve çevresel izolasyon.

<sup>b</sup> Çıkışın bulunduğu yere bağlı.

<sup>c</sup> Laboratuvarda kullanılan mikroorganizmaya bağlı.

<sup>d</sup> Örneğin; pencere, kapalı devre monitörize izleme, çift yönlü iletişim vb.

### MİKROBİYAL RİSK DEĞERLENDİRME

Biyogüvenliğin omurgası mikrobiyal risk değerlendirmesidir. Her bir laboratuvar çalışacağı mikroorganizmanın özel karakteristikleri, bulaş yolu, hayvan modelleri, tedavi ve korunma yolları (aşısının olup-olmaması/temini) ile birlikte yapılacak çalışmanın yöntem ve prosedürleri gibi özellikleri dikkate alarak mikrobiyal risk değerlendirmesi yapılmalıdır. Buna göre oluşturulacak alt yapı kurulmalı ve birincil korunma ekipmanları seçilerek kullanımı sağlanmalıdır. Zaman içerisinde kazanılan deneyim ve yeni bilgiler ışığında sistem düzenli şekilde gözden geçirilme-

li ve gerekiyorsa revizyonlar yapılmalıdır. Risk değerlendirme sırasında çalışılacak mikroorganizmanın hangi risk grubunda olduğu göz önüne alınacak önemli bir kriter olmakla birlikte tek kriter değildir. Bu faktörler kısaca şöyle özetlenebilir:

1. Mikroorganizmanın patojenitesi ve infeksiyöz dozu,
2. Potansiyel maruziyet ve doğal bulaş yolu,
3. Diğer infeksiyon yolları (laboratuvar çalışması sırasında oluşabilecek kazalar sonucu parenteral, yutma veya hava yolu ile bulaş olup olmaması gibi),
4. Mikroorganizmanın çevreye dayanıklılığı,
5. Çalışmalarda kullanılacak mikroorganizma veya içeriğinin hacimsel büyüklüğü ve konsantrasyonu,
6. Uygun konakçıların varlığı ve çeşitliliği,
7. Konakçılar konusunda yapılan çalışmalar, klinik raporlar, deneyimler ve literatür bilgisi,
8. Laboratuvar aktivite planları ve yapılacak çalışmalardaki teknikler (sonikasyon, pipetaj, sanrifügasyon vb.),
9. Tedavi ve korunma yolunun bulunup-bulunmaması yanında bunlara ulaşmadaki kolaylık/zorluk.

Bilinen bir mikroorganizma için risk değerlendirmesi yapmak ve buna uygun alt yapı, birincil ya da Kişisel Koruyucu Ekipman (KKE) kullanımını sağlamak göreceli olarak kolay olabilir. Ancak tanı amacıyla laboratuvarda işlenmesi gerekli birçok klinik materyalde olduğu gibi, nedeni bilinmeyen salgın ya da hastalık araştırmasında veya epidemiyolojik araştırma amaçlı sahadan toplanan örneklerde risk değerlendirmesi yapacak yeterli bilgi çoğu zaman yoktur. Bilinmeyen bir materyalin laboratuvar çalışmalarında bazı ek bilgiler risk değerlendirmesinde yararlı olabilir.

1. Hastanın medikal kayıtları (hikayesi, laboratuvar ve klinik bulgular vb.),
2. Epidemiyolojik veriler (mortalite, morbidite, hastalığın bilinen geçiş yolu(ları) ve diğer salgın bilgileri),
3. Materyalin temin edildiği kaynak ve elde edildiği coğrafik bilgiler.

Bu tür örneklerin çalışılması durumunda;

1. Standart biyogüvenlik önlemleri alınmalı (yüz koruyucu, maske, eldiven, önlük gibi),
2. Minimum BSL-2 alt yapı ve uygulamaları tercih edilmeli,
3. Materyal, ulusal veya uluslararası kurallara göre taşınmalıdır.

#### **TEMEL LABORATUVARLAR**

##### **Biyogüvenlik Seviye 1 (BSL-1) ve Seviye 2 (BSL-2)**

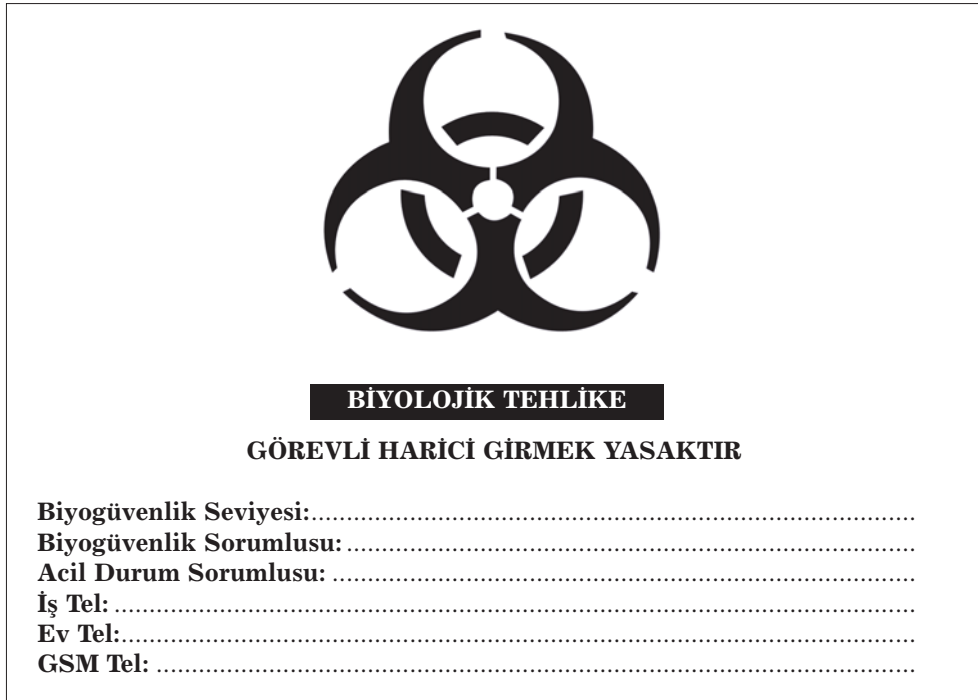
Risk grup 1 içinde yer alan mikroorganizmalarla çalışmalar oldukça güvenli kabul edilmesi dolayısıyla alınması zorunlu olmayan birçok önlem göz ardı edile-

bilir. Ancak yinede bu grup için gerekli BSL-1 laboratuvarlarında iyi mikrobiyal uygulamalar (örneğin; güvenli) tercih edilmelidir. Klinik tanı (mikrobiyal, biyokimyasal ve patoloji gibi) laboratuvarları minimum BSL-2 olmalı, önlem ve uygulamaları risk değerlendirmesi sonucunda amaca uygun şekilde dikkatle seçmelidir. Temel laboratuvarlarda kesici-delici araç, gereç ve aletler özel önem taşımakta atık sistemi ve önlemler genel olarak bunların doğuracağı tehlikelere yönelik olmalıdır.

### Giriş-Çıkış

1. BSL-2 için kapı girişine uluslararası biyogüvenlik uyarı amblemi (biyolojik tehlike işareti) konulmalı ve laboratuvar seviyesi yazılmalıdır. Ayrıca laboratuvar biyogüvenlik sorumlusunun adı ve acil durumlarda ulaşılması için iş ve iş-dışı telefonları belirtilmelidir (Şekil 1).

2. Çalışma alanlarına yalnızca görevli ve/veya sorumlu kişiler girebilmelidir.
3. Laboratuvar kapıları çalışma sırasında kapalı tutulmalıdır.
4. Çocukların girişine izin verilmemelidir.
5. Laboratuvara çalışma amacı belirlenmemiş hiçbir hayvan türü sokulmamalıdır.



Şekil 1. Biyolojik tehlike işareti.

### **Personel Koruma/Korunma**

1. Laboratuvar çalışmalarında koruyucu giysi-önlük giyilmelidir.
2. Şüpheli kan, vücut sıvısı veya potansiyel infeksiyöz materyal/hayvan ile doğrudan ya da kazara temastan kaçınmak amacıyla önlem olarak uygun eldiven giyilmelidir. Kullanım sonucu eldiven aseptik olarak uzaklaştırılmalı ve eller uygun antiseptik madde ile temizlenmelidir.
3. Personel infeksiyöz materyal/hayvan ile temastan sonra ve laboratuvardan ayrılmadan önce ellerini yıkamalıdır.
4. Gerekli olduğu durumlarda (özellikle kan, vücut sıvısı ve potansiyel infeksiyöz materyalin sıçrama/dökülme ya da UV maruziyeti gibi) göz ve mukozaların korunması amacıyla güvenlik gözlüğü/yüz koruyucu veya diğer korunma ekipmanları giyilmelidir.
5. Laboratuvar çalışmalarında giyilen önlük/gözlük gibi giysiler kantin, ofis ve kütüphane gibi sosyal alanlarda giyilmemelidir.
6. Açık sandalet türü terlik giyilmemelidir.
7. Laboratuvarda alanlarında yemek yemek, sigara ve içecek içmek kesinlikle yasaklanmalıdır.
8. Çalışma alanlarındaki dolap veya buzdolaplarında yiyecek ve içecek bulundurulmamalıdır.
9. Çalışma önlüğü ile dış/ev kıyafetleri aynı dolaba konulmamalıdır.

### **Prosedürler**

1. Doğrudan ağız ile kullanılan tüm cihazlar (pipet gibi) yasaklanmalıdır. Laboratuvar içindeki hiçbir malzeme (örneğin; kalem, silgi) veya materyal (örneğin; etiket gibi) ağıza alınmamalıdır.
2. Laboratuvarda kullanılan tüm teknikler/yöntemler aerosol ve sıçrama olasılıklarını minimize edecek şekilde düzenlenmelidir.
3. Laboratuvarda iğneli enjektör kullanımı sınırlanmalıdır.
4. Her türlü kaza ya da potansiyel infeksiyöz materyal maruziyeti veya benzeri dökülme/sıçrama sorumlu kişiye rapor edilmelidir.
5. Dökülme ve sıçrama sırasında/sonrasında alınacak önlemler, uyulacak kurallar ile dezenfeksiyon ve temizleme prosedürleri yazılı olarak bulundurulmalı, uygulanması sağlanmalıdır.
6. Kontamine sıvı atıklar, atık (lavabo) sistemine boşaltılmadan önce kimyasal veya fiziksel olarak dekontamine edilmelidir. Risk değerlendirmesi sonucu atık işleme sistemine gerek var ise bu kurulmalıdır.
7. Yazılı prosedürler, talimatlar, diğer dokümanlar veya dosyalar laboratuvar dışında da kullanılabilmesi için laboratuvar içerisinde kontaminasyonlardan korunmalıdır.



**Tablo 4. Biyogüvenlik seviye 2 için temel alt yapı ve uygulamalar.**

1. Giriş ve çıkış minimize edilmeli/limitasyon uygulanmalıdır.
2. Giriş kapısında biyogüvenlik işareti (biyolojik tehlike amblemi) bulundurulmalıdır. Ayrıca laboratuvar seviyesi, çalışılan mikroorganizma/lar ve sorumlu personel ismi yer almalıdır.
3. Biyolojik materyal ve şüpheli örnekler gerekli önlemler alındıktan sonra (örneğin; eldiven, maske veya yüz koruyucu giyilerek) ele alınmalı ve çalışılmalıdır. Bu işlemler sonrasında mutlaka eller yıkanmalıdır.
4. Laboratuvar içerisinde yemek yenmez, sigara ve sıvı içecekler içilmez.
5. Ağızla kullanılan pipetler kullanılmaz. Mekanik pipetler veya tek kullanımlık pipetler tercih edilmelidir.
6. Pipet kullanımı sırasında hava çekilmesi, pipetaj yapılması, oluşan kabarcıkların patlatılması, karıştırılması vb. işlemler önemli aerosol risk taşıyıcıdır. Bu gibi uygulamalardan mümkün mertebe kaçınılmalı ya da biyogüvenlik kabini içerisinde dikkatli, titiz ve minimum aerosol oluşturacak şekilde yapılmalıdır.
7. Kesici ve delici aletler minimize edilmeli başka bir alternatifin bulunmadığı durumlarda en uygun malzeme maksimum dikkat sarf edilerek kullanılmalıdır. Enjektör ancak zorunlu durumlarda kullanılır (kan alma ve hayvan enjeksiyonu gibi). Bu durumda yer kilitli (luer-lock) enjektör tercih edilmelidir. Enjektörler pipetaj amacıyla kullanılmamalı ve uygun sistem içinde atılmalıdır.
8. Sıçrama, dökülme ve aerosol oluşturan işlem ve teknikler yıllık olarak bakımı yapılmış/sertifika edilmiş biyogüvenlik kabinleri içerisinde yapılmalıdır.
9. Çalışma sırasında laboratuvar önlüğü giyilmelidir. Ayrıca sıçrama riskine karşı göz ve yüz koruyucu ekipman giyilmelidir (göz ve yüz koruyucu gözlük/vb.)
10. Çalışma yüzeyleri her çalışma sonunda dezenfekte edilmeli, yerler her gün temizlenmelidir.
11. Atıklar dekontamine veya sterilize edilmelidir.
12. Laboratuvar giysileri ile dış/ev giysileri ayrı tutulmalıdır.
13. Şüpheli materyal uygun taşıma kapları içerisinde taşınmalıdır.
14. Çalışan personel normal çalışma prosedürleri riskli ve acil durumlar için eğitim almalıdır. Eğitim almamış hiçbir personel çalışma alanlarına sokulmamalıdır.
15. Kazalar, yaralanmalar ve hastalık durumları rapor edilmelidir.

### **Laboratuvar Çalışma Alanları**

1. Laboratuvar her zaman düzenli, temiz ve çalışmaya uygun şekilde tutulmalı, lüzumsuz ya da lüzumundan fazla cihaz, ekipman ve materyal bulundurulmamalıdır.
2. Çalışma bankoları her çalışma sonunda ve potansiyel infeksiyöz materyal dökülmesi sonrasında dekontamine edilmelidir.
3. Tüm kontamine materyaller, örnekler ve kültürler (kültür tüpleri veya cam malzemeleri) tekrar kullanım amacıyla temizlenmeden veya atılmadan önce dekontamine ya da sterilize edilmelidir.

4. İnfeksiyöz madde ya da kültürlerin taşıma ve kargo işlemleri ulusal veya uluslararası talimatlara göre yapılmalıdır.

5. Pencereleer açılabilir durumda ise sinek, böcek veya diğer haşaratın girmesi/geçişini önleyecek şekilde tasarımlanmalıdır.

#### **Biyogüvenlik Yönetimi**

1. Laboratuvar sorumlusu biyogüvenlik yönetim planı oluşturma ve prosedür/talimatlar el kitabı hazırlanmasını sağlamalıdır.

2. Düzenli biyogüvenlik eğitim programları verilmelidir. Bu eğitimler;

a. Laboratuvarda kullanılan alet, ekipman ve yöntemlerin olası aerosol ve solunum riskleri,

b. Yutma riskleri,

c. Kesici ve delici aletlerin riskleri,

d. Hayvan ısırma ve tırmalama riskleri,

e. Materyalin taşıma ve çalışma sırasındaki kırılma, dökülme ve sıçrama riskleri ve alınması gerekli önlemler ile,

f. Dekontamasyon/sterilizasyon, atık ve kesici-delici alet atık yönetimi bilgilerini içermelidir.

3. Çalışan personel laboratuvar tehlikeleri konusunda bilgilendirilmeli ve bilinçlendirilmelidir. Ayrıca standart uygulamalar ile birlikte özel talimatlara ve kurallara uyması konusunda uyarılmalıdır. Biyogüvenlik el kitabı, talimat, uyarı ve diğer dokümanlar personelin kolaylıkla ulaşabileceği şekilde laboratuvarda bulundurulmalıdır.

4. Haşarat kontrol programı uygulanmalıdır.

5. Personele sağlık kayıt sistemi getirilmelidir. Çalışmaya başlamadan önce sağlık taramasından geçirilmeli ve kan serumu saklanmalıdır. Gerekiyor ve varsa aşılanmalıdır. Düzenli sağlık taraması ve kayıtları tutulmalıdır.

#### **Laboratuvar Tasarım ve Alt Yapısı**

Temel alt yapı ve tasarım öncesinde laboratuvar biyogüvenlik açısından önemli olabilecek ve dikkatle değerlendirilmesi gerekli durumlar vardır. Bunlardan bazıları şu şekilde özetlenebilir.

1. Laboratuvar çalışmalarında aerosol oluşması,

2. Yoğun mikrobiyal veya hacimsel olarak fazla miktar materyal ile çalışılması,

3. Laboratuvar içerisinde fazla sayıda ya da karmaşıklığa sebep olacak cihaz ve ekipman bulunması/bulundurulması,

4. Haşarat saldırısı (sinek, böcek, fare gibi),

5. Yetkisiz giriş ve çıkışlar,

6. Çalışma düzeni, iş akış sistemi.

BSL-1/BSL-2 laboratuvarları minimal aşağıdaki gibi düzenlenmelidir:

1. Laboratuvar içinde güvenli şekilde çalışma, temizlik, dezenfeksiyon ve bakım/onarım için yeterli alan bulunmalıdır.

2. Duvar, yer ve tavanlar düz, sıvı/su geçirimsiz, kolay temizlenebilir, kimyasallara (asit, alkali ve diğer aşındırıcılara) dayanıklı olmalıdır. Yerler ayrıca kaymayı önleyici şekilde yapılandırılmalıdır.

3. Çalışma bankoları asit, alkali, organik çözücülerle, dezenfektanlara ve orta derece hararete dayanıklı olmalıdır.

4. Işıklandırma uygun olmalı, parlama, çok fazla ve az aydınlatmadan kaçınılmalıdır.

5. Laboratuvar mobilyaları dayanıklı olmalı, bankolar ve mobilyalar arası/altı temizlemeye ve dezenfeksiyona uygun olmalıdır.

6. Laboratuvarda kullanılan sarf ve kimyasalların kullanımı ve depolanması amaca uygun şekilde sistematize edilmelidir. Laboratuvar içi, çalışma alanları ve bankolarda düzensiz ekipman ve sarf maddeleri bulundurulmamalıdır. Fazla miktarlar laboratuvar dışında depolanmalıdır.

7. Tehlikeli veya zararlı kimyasallar (radyoaktif materyaller ve sıkıştırılmış/sıvılaştırılmış gazlar) uygun ve güvenli şekilde saklanmalıdır.

8. Yemek yemek, dinlenmek ve benzeri şahsi ihtiyaçlar için gereken alanlar laboratuvar dışında konuşlandırılmalıdır.

9. Her bir çalışma alanında lavabo ve atık su sistemi bulunmalı ve bu mümkünse çıkış kapısı yanında olmalıdır.

10. Kapılar da bir gözlem penceresi bulunmalı ve tercihan kendiliğinden kapanan tipte yapılmalıdır.

11. BSL-2 için, ulaşılabilecek durumda otoklav ya da uygun dekontaminasyon sistemi bulunmalıdır.

12. Güvenlik sistemi; elektrik, yangın, acil çıkış, acil duş gibi sistemlerden oluşturulmalıdır.

13. Acil yardım odası ve kiti sağlanmalıdır.

14. Yapı yeniden yapılıyor ise uygun mekanik havalandırma sistemi kurulabilir. Bu sistem laboratuvar dışı alanlardan havanın resirküle etmesini önleyecek şekilde olmalı, laboratuvar içine doğru (laboratuvar içinden tek yönlü geçiş olacak şekilde) mekanik ventilasyon ve havalandırma sağlamalıdır. Eğer bu mümkün değilse pencereler açılabilir ancak hasarat girişine engel olacak şekilde tasarlanmalıdır.

15. Temiz su devamlılığı sağlanacak şekilde yedek depo sistemi ile desteklenmelidir. Atık suların, genel atık sistemi içerisinde geri dönüşümsüz biçimde atımı sağlanmalıdır.

16. Acil durumlarda alınması gerekli önlemler (güvenli çıkış gibi) için hemen devreye girecek jeneratör bulunmalıdır.

17. Her türlü güvenlik amacıyla (yangın, hırsızlık, deprem vb. gibi) bina, kapı ve pencereleri sağlam ve güvenli şekilde tasarımlanmalıdır.

#### **Laboratuvar Ekipmanları**

Bir laboratuvarında kullanılacak ekipman ve cihazlarda biyogüvenlik kaygıları ve amaca uygunluk gözetilmelidir. Laboratuvar biyogüvenlik sorumlusu ve varsa biyogüvenlik komitesi önerileri doğrultusunda seçim yapılmalıdır. Genel olarak seçimi yapılacak ekipmanlarda şu özelliklere dikkat edilmelidir.

1. Kullanıcıyı potansiyel/infektif materyalden korumalı veya aralarında maksimum bariyer oluşturacak şekilde tasarlanmış olmalıdır (örneğin; aerosol korumalı santrifüjler).

2. Cihaz içi, su ve akışkan diğer maddelerden korumak amacıyla geçirimsiz ve aşındırıcı maddelere karşı dayanıklı olmalıdır.

3. Kullanıcının doğrudan ulaşabildiği ekipman yüzeyleri düzgün, köşeler keskin olmayan şekilde yumuşatılmış olmalı, hareket eden parçalar korunmalıdır.

4. Cihaz kullanımı, tamiri, temizlenmesi, bakımı, dezenfeksiyon ve kalibrasyon testleri kolaylıkla yapılabilecek şekilde tasarlanmış olması gereklidir.

#### **Gerekli Biyogüvenlik Ekipmanları**

1. Mekanik pipetler: Ağız ile kullanılan pipetler yerine kullanılmalıdır.

2. Biyogüvenlik kabin/leri (BSC): Aerosol riski taşıyan işlemler için gereklidir.

3. Öze: Mümkünse plastik tek kullanımlık olmalıdır. Mümkün değilse kullanımı sırasında biyogüvenlik önlemleri artırılmış alternatif yöntemler tercih edilmelidir.

4. Burgu kapaklı tüp ve şişeler.

5. Otoklav ya da infeksiyöz materyali dekontamine edecek uygun diğer yöntem veya cihazlar.

6. Plastik tek kullanımlık pastör pipetleri tercih edilmelidir.

7. Biyogüvenlik ekipmanları (otoklav ve BSC/leri gibi) kullanılmadan önce mutlaka ve ayrıca kullanım sırasında düzenli olarak test ve sertifikasyon edilmelidir.

#### **TECRİT LABORATUVARI (BİYOGÜVENLİK SEVİYE-III/BSL-3)**

Esas itibarıyla aerosol yol ile bulaşan infektif mikroorganizmalar için alt yapı, uygulamalar ve prensipleri içerir. Tecrit laboratuvarı/BSL-3 risk grup 3'te yer alan mikroorganizmalar ile yoğun, yüksek konsantrasyon ve hacimsel olarak fazla miktarlarda çalışılan risk grup 2 mikroorganizmaların çalışılacağı laboratuvarlar için oluşturulmalıdır.

Tecrit laboratuvarı, öncelikle BSL-2 koşullarının tamamını gözden geçirilmesi, amaca uygun şekilde yerine getirilmesinden sonra ilave alt yapı ile birlikte, güçlendirilmiş ve geliştirilmiş teknik, uygulama ve önlemleri içerir.

1. Laboratuvar kapı girişine biyogüvenlik tehlike işareti yanında giriş limitasyonundan sorumlu laboratuvar biyogüvenlik sorumlusu ve özel giriş koşulları belirtilmelidir.

2. Potansiyel infeksiyöz materyallerin çalışılmasında Biyolojik Güvenlik Kabinleri ve/veya diğer birincil korunma ekipmanları kullanılmalıdır.

3. Laboratuvar içerisinde kullanılacak önlük, ayakkabı ve diğer koruyucu giysiler laboratuvara özgü ve özel olmalıdır. Önlükler ön kısmı dayanıklı, arkadan düğmeli, kolları lastikli olmalı, ayakkabı açık sandalet türü olmalıdır. Amaca uygun maske (N9-5, FFP-2 veya FFP-3), kepek, eldiven seçilmelidir. Laboratuvar içinde kullanılan malzeme ve giyilen hiçbir KKE veya giysi gerekli güvenlik önlemleri alınmadan dışarıya çıkarılmamalıdır.

#### **Laboratuvar Alt Yapı ve Tasarımı**

1. Laboratuvar mümkünse ayrı bir binada ya da insan trafiğinden en uzak kör koridor sonu gibi bir yere konuşlandırılmalıdır. Giriş-çıkış alanı (anteroom) giysilerin ayrı şekilde tutulduğu bir alan olarak kullanılmalıdır.

2. Giriş-çıkış alanı kendiğinden kapanan, tercihan kilitlenebilen iki kapılı olmalı, her iki kapı aynı anda açılmamalı veya açılmamalıdır. Ayrıca acil çıkış bulunmalıdır.

3. Laboratuvar ve havalandırma sistemi buhar dezenfeksiyonuna uygun, kapatılabilir ve izolasyon yapılabilir olmalıdır.

4. Duvar, tavan ve yer yüzeyleri kolay temizlenebilir, suya ve dezenfeksiyona dayanıklı olmalıdır. Yerler mümkünse antistatik ve antibakteriyel malzemeden (epoksi gibi) yapılmalıdır.

5. Pencerele dayanıklı ve kapalı olmalıdır.

6. Lavabo ayak, dirsek veya fotosel ile kontrol edilebilen tipte ve çıkışa yakın bir yerde bulunmalı, atık su sisteminin geri tepecek önlemleri alınmalıdır.

7. Hava akımı mekanik olarak laboratuvar içine yönlendirilmeli, ölçülebilir düzeyde tutulmalıdır.

8. Laboratuvar içerisine alınan ve dışarı atılan hava binanın diğer alanlarında resirküle etmemelidir. Giren ve/veya çıkan hava çıkış bacasının bulunduğu yere ve laboratuvarda çalışılan mikroorganizmaya göre "High Efficiency Particulate Air (HEPA)" filtreden geçirilip geçirilmeyeceğine karar verilmelidir.

9. Tüm HEPA filtreler kolay değiştirilebilir, ölçülebilir (kontrol, etkinlik ve performans testleri için) ve dekontamine edilebilir olmalıdır.

10. Biyogüvenlik kabinleri çalışma sırasında kabinin hava akımını bozacak (ventilasyon sistemi, geçiş trafiği ve giriş-çıkış kapısı gibi) dolayısı ile güvenli kullanımına engel olacak faktörlerden uzak bir yere konuşlandırılmalıdır.

11. Biyogüvenlik kabinlerinin dış ortam bağlantısı laboratuvar içi basınç değişimlerinden etkilenmeyecek şekilde monte edilmelidir.

12. Laboratuvar içerisinde otoklav bulunmalıdır. Tüm katı ve sıvı atıklar dekontamine veya sterilize edildikten sonra atılmalıdır. İnfeksiyöz maddeler veya atıklar dekontamine ya da sterilizasyon amacıyla başka bir alana taşınacak ise tamamen kapatılmış, dayanıklı, kırılmaz, sızdırmaz kaplar içerisinde güvenlik ve biyogüvenlik önlemleri alınmış olarak transfer edilebilir.

13. İyi bir dokümantasyon sistemine sahip olmalıdır. Laboratuvar planları, uygulamalar, teknikler, kazalar, personel medikal takip sistemi kayıtları sistematize edilmelidir.

#### **MAKSİMUM TECRİT LABORATUVARI (BSL-4)**

Bu laboratuvar son derece güçlendirilmiş ve geliştirilmiş biyogüvenlik alt yapı, önlem ve uygulamalarına sahiptir. Hayati tehlikenin fazla olduğu risk grup 4 içerisinde yer alan virüsler bu laboratuvarlarda çalışılmalıdır. Birincil korunma amacıyla iki farklı tipi vardır:

- a. “Kabin” laboratuvarı (Sınıf III BSC Laboratuvarı),
- b. “Suit” laboratuvarı.

1. Birincil korunma yöntem ve ekipmanları güçlendirilmedir. Laboratuvarın alt yapı, uygulamalar ve risk değerlendirmesine uygun BSC seçilmelidir. Kabin laboratuvarında BSC Sınıf III kabinler zorunludur, suit laboratuvarlarında Sınıf I veya Sınıf II kabinler kullanılabilir.

2. Giysiler özel tasarlanmış ve laboratuvar tipine uygun (suit laboratuvarlar için pozitif basınçlı giysiler gibi) olmalıdır.

3. Giriş-çıkışlar son derece kontrollüdür. Laboratuvarda en az iki kişinin birlikte çalışması zorunlu olup görevli ve sorumlular dışında laboratuvara giriş yapılamaz.

4. Maksimum kayıt ve sağlık sürveyansı zorunludur.

5. Havalandırma mekanik kontrollü kombine filtre sistemlerine sahiptir.

6. Uygulama ve teknikler maksimum kontrol esasına dayanır.

7. Dekontaminasyon, sterilizasyon ve atık sistemleri özel yapılandırılmıştır.

8. İlave ikincil korunma alt yapılarına sahiptir. Hava kilitli oda (air-lock), duşlu çıkış vb. önlemler güçlendirilmiştir.

9. Acil enerji sistemi vazgeçilmez bir alt yapı elemanıdır.

Özetle bu tür laboratuvar yapımı ve içerisinde çalışılması oldukça profesyonel bilgi, risk değerlendirme, kurulum ve işletim sistemlerine sahip olmalıdır.

#### **Biyogüvenlik Kabinleri**

Biyogüvenlik kabinleri (BSC/leri) esas itibarıyla çalışan personel ve çevreyi enfeksiyöz aerosol ve sıçramalardan korumaya yönelik tasarlanan hava akımı düzenlenmiş cihazlardır. Bu cihazların en önemli iki özelliğinden biri amaca yönelik kontrollü hava akımı sağlaması diğeri ise hava içerisindeki mikroskobik partikül-

leri elimine etmesidir. Eliminasyon, BSC/ler içerisindeki ventilasyon ya da mekanik hava yolu üzerine yerleştirilmiş HEPA adı verilen bir tür filtre veya filtre sistemleri tarafından sağlanmaktadır. Ancak bu oluşumun fonksiyonel olabilmesi için BSC/lerin;

1. Üretim aşamasında standardizasyon ve kalite kontrolleri yapılarak sertifikasyon edilmesi,
2. Kurulduğu alanlarda kullanım öncesi performans testlerinin yapılması,
3. Yıllık kontrol, bakım veya sertifikasyon işlemlerinin yapılması,
4. Kullanım kural ve şartlarına uygun şekilde kullanılması ile mümkün olabilir.

**Uygun üretim ve kullanım testleri yapılmamış BSC/lerin kullanılması çoğu zaman yarardan çok zarar verebilir.**

HEPA, 0.3 µm'den daha büyük mikroskobik parçacıkların %99.97'sine karşı geçirgen olmayan, hatta daha küçük partikülleri de tutabilme özelliğinde olan borosilikat fiberden üretilmiş filtreler olarak bilinmektedir. Bu özellik bilinen tüm enfeksiyöz ajanların etkili şekilde tutarak mikroptan arındırılmış hava sağlama anlamına gelmektedir. Bugün HEPA filtreler kullanılarak imal edilmiş ve laminar hava akımı içeren BSC/lerden temel olarak farklı amaçla üretilen bir diğer kabin türü; **Temiz çalışma kabinleri (Clean Bench/CB)**'dir. CB'ler yalnızca ürünü korumaya yönelik tasarlanmış temiz çalışma bankoları olup çevre ve personel koruması sağlamadıkları için biyogüvenlik laboratuvarlarında kullanılması mümkün değildir. Çoğu zaman steril veya patojen mikroorganizma içermediği düşünülen ürünlerin (örneğin; bazı ilaçlar), çevresel ve personel kaynaklı kontaminasyonlardan korunması amacıyla kullanılırlar. Ancak bu tür kabinlerin temiz çalışma alanlarında besiyeri vb. madde hazırlanmasında ürün korumaya yönelik olarak kullanılmasında mahsur olmayabilir. Bu durumda cihazın zaman içerisinde yanlış kullanımını engelleyecek her türden önlemin alınması gereklidir.

### **Sınıflandırma**

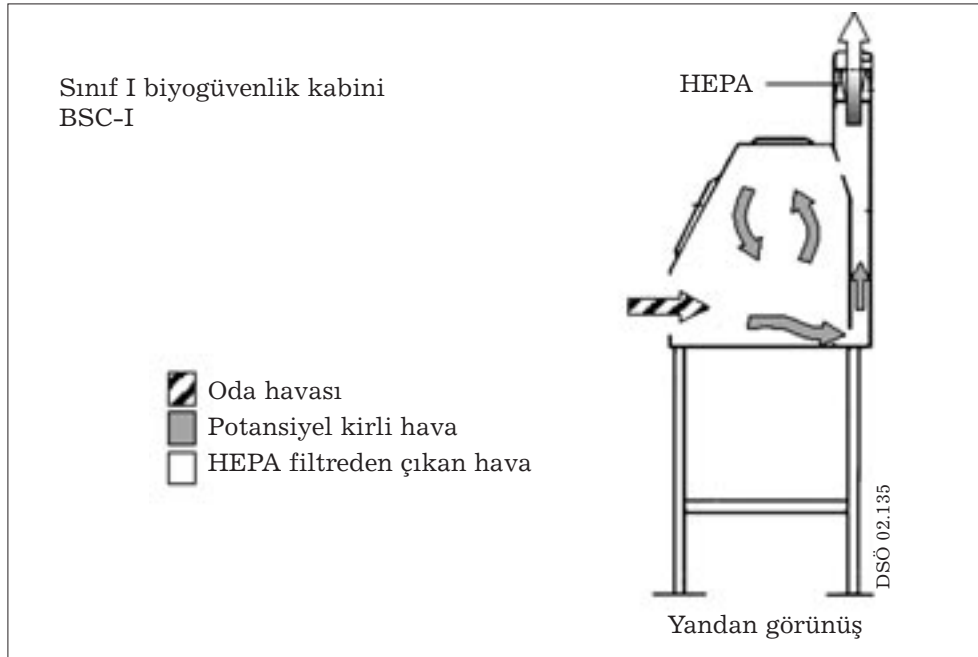
BSC/ler zaman içerisinde az ya da çok bazı değişikliklere uğramış olmasına rağmen bugün son sınıflandırmaya göre üç sınıf biyogüvenlik kabini vardır. Sınıf II kabinler A ve B tipi olmak üzere iki tipi, her bir tipin ise A1/A2 ve B1/B2 olmak üzere ikişer alt tipleri mevcuttur. Aralarında esas itibarıyla ön açıklıktan kabin içine alınan hava akım miktarı/hızları, sirkülasyon oranları ve egzoz sistemleri yönünden farklar bulunmaktadır (Tablo 5).

**1. Sınıf I biyogüvenlik kabinleri (BSC-I):** Sınıf I BSC'ler çalışan kişiyi ve çevreyi mikrobiyal enfeksiyon riskinden korumaya yönelik tasarlanmış çalışma kabinleridir. Oda havası ön açıklıktan içeri, oradan da HEPA filtrelerden geçerek dışarıya atılır. Çalışma yüzeyine doğrudan oda havasının girmesi dolayısıyla ürün koruma özellikleri yoktur. Ancak potansiyel olarak kirli/kirlenen havanın HEPA filtreden atılması personelin ve çevrenin korunmasını sağlar. Ayrıca doğrudan dış ortam bağlantısı yapıldığında uçucu radyoaktif/kimyasal maddeler ile daha güvenli çalışma

**Tablo 5. Sınıf I, II ve III BSC/leri aralarındaki farklar (WHO, Laboratory Biosafety Manual, 3<sup>rd</sup> ed, 2004).**

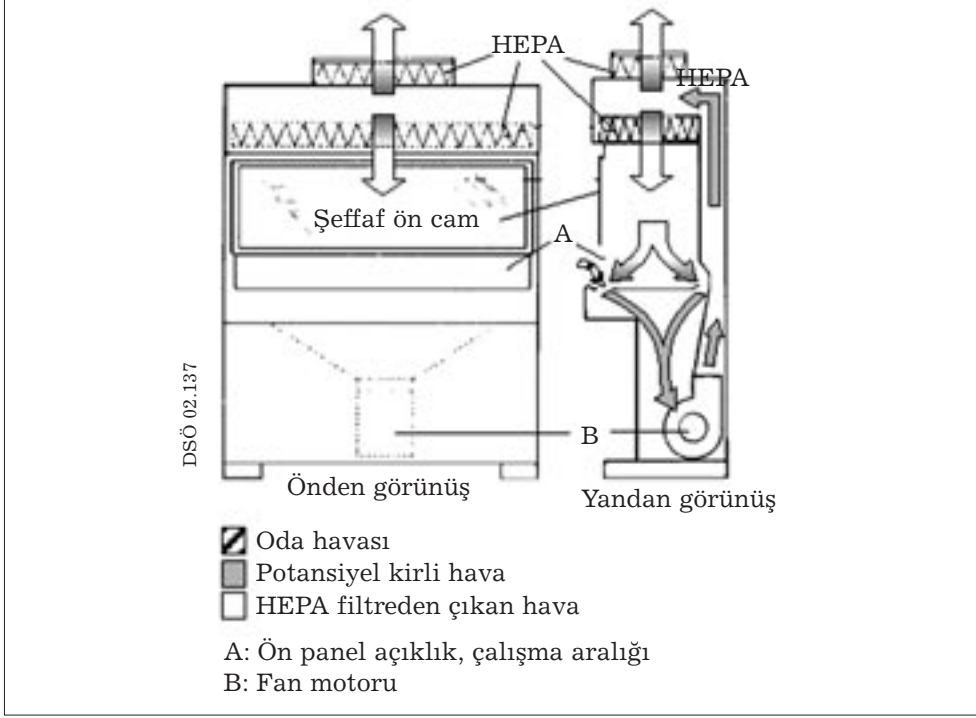
BSC	Ön hava akımı (m/s)	Hava akımı (%)		Egzoz sistemi
		Resirkülasyon	Egzoz	
Sınıf I <sup>a</sup>	0.36	0	100	Doğrudan
Sınıf IIA1	0.38/0.51	70	30	Oda içi veya "thimble" bağlantı
Sınıf IIA2 dışarı ventilasyon <sup>a</sup>	0.51	70	30	Oda içi veya "thimble" bağlantı
Sınıf IIB1 <sup>a</sup>	0.51	30	70	Doğrudan
Sınıf IIB2 <sup>a</sup>	0.51	0	100	Doğrudan
Sınıf III <sup>a</sup>	Y	0	100	Doğrudan

Y: Uygulanmaz.

<sup>a</sup> Negatif basınçlı ortam ve/veya havalandırma kanallarında uygulanmalıdır.**Şekil 2. Sınıf I biyogüvenlik kabini (BSC-I).**

sağlarlar. Basit tasarımları dolayısıyla dünyada halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Hava akış hızı TS EN 12469 standardına göre 0.7 m/saniye ile 1.0 m/saniye arasında olmalıdır. Daha fazla olması istenmeyen türbülans oluşumuna neden olur. Risk değerlendirmesi sonucunda "thimble" tip (dikiş yüksüğü/Şekil 4), doğrudan dış ortam bağlantılı (hard duck) veya bağlantısız şekilde kullanılabilir.

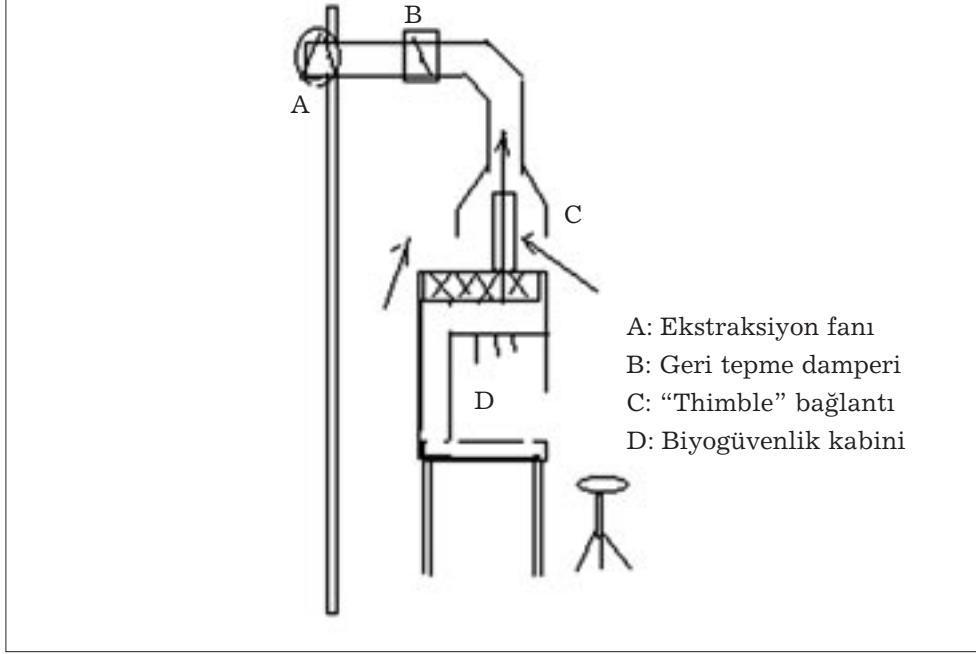




Şekil 3. Sınıf IIA1 biyogüvenlik kabini.

**2. Sınıf II biyogüvenlik kabinleri (BSC-II):** Bu tür kabinler daha kompleks yapıya sahiptirler. Personel ve çevre korunması yanında ürün korumaya yönelik olarak da tasarlanmış olmaları dolayısıyla daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışma yüzeyindeki ön panel açıklık altında bir ızgara sistemi bulunur. Buradan dış ortam oda havası doğrudan HEPA filtre/lere yönlendirilerek önce temizlenir. Daha sonra ise temiz havanın ön panel açıklıktan giren hava ile “güvenli hava duvarı” oluşturacak şekilde çalışma yüzeyine laminar akım halinde basılması sağlanır. Bir kısım hava dışarıya atılır. Böylece hem çalışma yüzeyi temiz kalır hem de personel ve çevre korunmuş olur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün son bir sınıflandırması ile hava akım hızları ve resirkülasyon oranlarına göre iki farklı tipin (A ve B), dört alt tipi (A1, A2, B1 ve B2) tarif edilmiştir (daha önce CDC kaynaklarında BSC Sınıf/IIB3 olarak tanımlanan alt tip burada A2 olarak ifade edilmektedir). Risk grup 2-3 mikroorganizmalar ile çalışılırken kullanılması önerilmektedir. Ayrıca pozitif basınçlı laboratuvar giysileri kullanılan BSL-4 “suit” laboratuvarları içerisinde de kullanılabilecekleri belirtilmektedir.

**3. Sınıf-IIA1 BSC:** Ön açıklıktan içe doğru hava akış hızı en az 0.38 m/saniye olmalıdır. Oda ortamından alınan hava HEPA filtreden geçirilerek çalışma yüzeyine temiz laminar hava akımı olarak gönderilir. Laminar hava akımı türbülansı düşürerek potansiyel çapraz kontaminasyon oranını minimize eder. Çalışma ala-



Şekil 4. "Thimble" bağlantı tipi.

nı içerisinde oluşan aerosol, akım içerisinde tutularak bertaraf edilir. Hava akım resirkülasyon oranı %70 olup, HEPA filtre yoluyla oda içerisine veya dışarıya atılan hava %30'dur. BSC-IIA1 dış ortama doğrudan veya "thimble" bağlantı yapılarak kullanılabilir. Uçucu kimyasal veya toksik maddelerle kullanıldığında dış bağlantısının yapılması gereklidir. Bu durumda oda içi basınç değişimlerine bağlı olarak geri tepme ve türbülans önlemleri alınarak bina havalandırmasına veya mekanik fan sistemi içerisine bağlanmalıdır.

**4. Sınıf IIA2, B1 ve B2 BSC:** Bu kabin türleri esas itibariyle negatif basınçlı alanlarda ve/veya negatif havalandırma sistemlerine sahip bina egzozlarında kullanılır. Aralarındaki en önemli fark içerisinde resirküle eden hava oranlarıdır (Tablo 5).

**a. Sınıf IIA2:** Resirküle hava oranı Sınıf IIA1'de olduğu gibi %70'tir. Ancak sistem dış bağlantısı (doğrudan veya "thimble" tipte) yapılmış olmalıdır. CDC kaynaklarında BSC Sınıf IIB3 olarak ele alınmaktadır. Kabin içerisindeki tüm kontamine pozitif hava akımı çevresinde oluşturulmuş negatif basınç sistemleri sayesinde çevreye ve personele zarar vermeyecek şekilde elimine edilmesi sağlanır.

**b. Sınıf IIB1:** Bazı biyomedikal araştırma laboratuvarlarında zararlı kimyasal (örneğin, kanserojen) veya toksik maddelerle çalışmalar yapılması gerekmektedir. B tipi kabinler bu amaçla Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından tasarlanmıştır. Resirküle hava oranı %30 olup doğrudan dış bağlantısının yapılması zo-

runludur. Ayrıca acil enerji kaynağı yanında sistematik hava akım ve basınç kontrol sistemleri kurulmalıdır. Tehlikeli olabilecek en küçük değişimler sesli uyarı vermelidir.

**c. Sınıf IIB2:** Kabin içerisinde hava resirkülasyonu yoktur. %100 temiz hava presibine göre tasarlanmıştır. Kabin içerisine giren havanın tamamı HEPA filtreden doğrudan dışarı atılır. Bu kabinler genel olarak kimyasal ve toksik maddelerden korunma amacıyla kullanılmakta oluşu dolayısıyla çoğu zaman filtreler zarar görmekte ve tehlikeli durumların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle hava akım sistemlerindeki değişimleri önleyecek mekanizma ve alarm sistemleri mevcuttur.

**5. Sınıf III BSC:** Esas itibariyle BSL-4 laboratuvarlarında risk grup 4 mikroorganizmalarla çalışmaya yönelik tamamen kapalı bir sistem kabini olarak üretilmişlerdir. İç hava resirkülasyonu yoktur ve tam izolasyon sağlanmış durumdadır. Doğrudan dış ortam bağlantısı yapılır. Materyal akışı pas-box ve otoklav yoluyla yapıldığı ve atık yolu doğrudan otoklav bağlantılı olduğu için güvenlik maksimumdur. Çalışma yüzeyine kabin ile kombine tasarlanmış oldukça dayanıklı (heavy-duty) lastik eldivenler yoluyla ulaşılır.

#### **Biyogüvenlik Kabinlerinin Seçimi**

BSC seçiminde dikkat edilecek en önemli nokta risk değerlendirmesidir. Çalışılacak mikroorganizma, test ve yöntemlerin potansiyel riskleri ve hangi amaca yönelik olduğu (personel, çevre ve/veya ürün koruma) hesap edilerek BSC seçilmelidir. Uçucu kimyasal, toksik ve radyoaktif maddeler ile çalışılacak ise oda içi resirkülasyon yapan BSC'ler kullanılmamalıdır. Tablo 6 koruma tipine göre seçilebilecek BSC'leri göstermektedir.

Bugün ülkemizde mikrobiyoloji laboratuvarlarında hem ürün koruma hem de personel ve çevre koruma amacıyla en yaygın kullanılan biyogüvenlik kabini genel olarak Sınıf II A1 tipidir. Ancak Türkiye'de üretim, kontrol ve sertifikasyon henüz tam olarak standardize edilemediğinden, dolayısıyla ciddi bir boşluk doğmaktadır. Örneğin; standartlar içerisinde üretim yapılamadığı gibi sertifikasyon yapan bir kuruluş da yoktur. Birkaç ön test ve değerlendirme yapabilen özel ve kamu kuruluşu vardır. Fakat biyogüvenlik kabinlerinin kontrol ve performans testlerini tanımlayan ve düzenleyen TS EN 12469 nolu standardın tamamını yerine getirebilecek bir kuruluş bulunmamaktadır. Örneğin; çapraz kontaminasyon ve personel koruma testleri standartlarda belirtildiği şekli ile yapılamamaktadır (Tablo 7, 8). Ayrıca uluslararası standartlara uygun şekilde üretilmiş bile olsa kabinin nakliye işlemlerinden sonra kurulduğu laboratuvarda ayrıca kontrol ve performans testlerinin tekrarlanması yanında yıllık sertifikasyon işlemlerinin yapılması zorunludur. Bu durum firma ve kullanıcıların bilgisizliği ile birleştiğinde tehlikeli ve risk dolu bir kabine sahip olma ve kullanma olasılığını arttırmaktadır. Bunu önleme adına kullanıcı öncelikle kabin pazarlayan ve üretim yapan firmaların üretim aşamasında hangi sertifikasyon ve kontrol işlemlerini yaptığını ve kurulduğu yerde hangi performans testlerini yapılabileceğini soruşturmalıdır.

<b>Koruma tipi</b>	<b>Seçilebilecek BSC</b>
Personel korunması, risk grup 1-3 mikroorganizmalar	Sınıf I, Sınıf II, Sınıf III
Personel korunması, risk grup 4 mikroorganizmalar “kabin” laboratuvarı	Sınıf III
Personel korunması, risk grup 4 mikroorganizmalar “suit” laboratuvarı	Sınıf I, Sınıf II
Ürün korunması	Sınıf II, Sınıf III
Uçucu radyoaktif/kimyasallardan korunma (az miktarlar için)	Sınıf IIB1, Sınıf IIA2 (dış bağlantı yapılmış)
Uçucu radyoaktif/kimyasallardan korunma	Sınıf I, Sınıf IIB2, Sınıf III

<b>Sınıf</b>	<b>Ön açıklıkta tutuş<sup>a</sup></b>	<b>Sızdırmazlık</b>	<b>Ürün koruma</b>	<b>Çapraz kontaminasyon</b>
I	Operatör testlerinde <sup>b</sup> ≤ 10 cfu ve distürbans olmayan <sup>c</sup> testlerde ≤ 5 cfu <sup>d</sup> ya da $A_{pf} \geq 1 \times 10^5$	Gövde için LI-C <sup>e</sup>	Uygulanmaz	Uygulanmaz
II	Operatör testlerinde <sup>2</sup> ≤ 10 cfu ve distürbans olmayan <sup>3</sup> testlerde ≤ 5 cfu ya da $A_{pf} \geq 1 \times 10^5$	Gövde için LI-C	Testlerde ≤ 5 cfu	Testlerde ≤ 2 cfu

<sup>a</sup> Apf: Aralık koruma faktörü,  
<sup>b</sup> Operatör-kullanıcı pozisyonunda,  
<sup>c</sup> Kenar pozisyonlarda ve distürbans olmayan testlerde saptanan ön boşluktaki iç akış,  
<sup>d</sup> cfu: Koloni oluşturan ünite,  
<sup>e</sup> LI-C: C sınıfı sızdırmazlık indeksi: Tanımlanmış koşullar altında test edilen hedef mikroorganizma sızıntısı ve ortaya çıkarma sınırı ya da değer altında sızıntı.

Üretim aşamasında testlerin yapılması ve sertifikaya edilmesi BSC'nin maksimum korunması için yeterli değildir. Son kullanılacağı yerde de BSC'lere performans testleri (sertifikasyon testleri Tablo 8) yapılmalıdır.

**Tablo 8. Biyogüvenlik kabinlerinin (BSC) kullanılmasına yönelik uygulanması gerekli bazı sertifikasyon testleri.**

Testin adı	BSC		
	Sınıf I	Sınıf II	Sınıf III
Birincil koruma	Uygulanmaz	<b>A</b>	A
Kabin bütünlük	Uygulanmaz	<b>A</b>	A
HEPA filtre sızdırmazlık	Zorunlu	<b>Zorunlu</b>	Zorunlu
Kabin içi hava akım profili	Uygulanmaz	<b>Zorunlu</b>	Uygulanmaz
Ön hava akımı	Zorunlu	<b>Zorunlu</b>	Uygulanmaz
Hava akımı duman testi	Zorunlu	<b>Zorunlu</b>	B/C

A: Kabin yeri değiştirildiğinde, yeni kurulduğunda ya da yeni model veya yeni üretim ise zorunludur.  
B: İsteğe bağlı.  
C: İş akışı temizden kirliye doğru planlandığı ve uygulandığı durumlarda.

### Sertifikasyon

Kabin hem üretim aşamasında hem ilk kurulduğu yerde hem de yıllık olarak düzenli şekilde sertifikaya edilmelidir. Bir sertifikasyon işleminde; kabin bütünlük, HEPA filtre sızdırmazlık, kabin içi hava akım profili, ön hava akış, negatif basınç/ventilasyon oranı, hava akım duman testi ve uyarı testleri yapılması gereklidir. Ayrıca gerekiyorsa elektrik kaçak testi, vibrasyon ve ses düzey testleri de yapılabilir. Tablo 8'de sertifikasyon işlemleri sırasında bazı zorunlu testler belirtilmiştir.

### BSC/lerin Laboratuvara Yerleştirilmesi

BSC/lerin önemli elemanlarından biri uygun dizayn edilmiş hava akım profilidir. Mekanik olarak bir miktar hava içeriye alınıp ya sirküle edilir ve/ya da dışarı atılır. Sınıf II kabinlerde ön açıklıkta oluşan hava duvarı hem ürün koruma hem de personel korumaya yönelik olarak tasarlanmış en önemli koruma ve korunma önleimidir. Bu nedenle kabin etrafında hava akımını bozacak veya yönünü değiştirecek hiçbir doğal ya da mekanik sistem olmamalıdır. Ayrıca BSC/ler insanların sıklıkla geçtiği, gezindiği, geçit koridoru benzeri güzergahlara yakın konmamalıdır. Laboratuvar içerisinde mümkün olduğu kadar kapı, pencere ve mekanik havalandırma kaynaklarından uzak noktalar seçilmelidir. Çalışma sırasında geçişler yasaklanmalı veya minimize edilmelidir. Genel olarak bir güvenlik kabini laboratuvar içerisinde konuşlandırılırken şu noktalara dikkat edilmelidir;

- Geçiş güzergahına en az 1000 mm uzaklıkta,
- Kabin sağ veya sol yanınında bulunan duvar veya kolonlara en az 300 mm uzaklıkta,
- Çalışma sırasında kapı kapalı olmak koşulu ile; kapıdan en az 1500 mm uzaklık (bu uzaklık hava akımları açısından ayrıca test edilmelidir),

- d. Eğer laboratuvarında kabin karşısında açık banko varsa ikisi arasındaki uzaklık: Bankonun kabinin ön açıklığına en az 1500 mm,
- e. Kabin karşısında duvar var ise, kabin önündeki duvar kabin çalışma yüzeyinden en az 2000 mm uzaklıkta,
- f. Kabinin sağ veya sol pozisyonunda dik açı yapacak şekilde çalışma bankosu (çalışan kişi hava akımını bozar) olmamalı,
- g. Kabin yanlarındaki çalışma bankoları en az 1000 mm uzakta,
- h. İki kabin karşılıklı konacak ise çalışma yüzeylerinin birbirlerine uzaklığı en az 3000 mm olmalıdır.

#### **Biyogüvenlik Kabinlerinin Kullanımı**

Hemen hemen hiçbir kabin yapısal olarak tek başına %100 koruyuculuğa sahip değildir. Özellikle Sınıf I ve Sınıf II kabinlerde koruma ve korunmanın istenilen düzeye yükseltilmesi uygun şekilde kullanılması ile mümkün olabilir. Bu anlamda Sınıf II kabinlerin kullanımını oldukça önem kazanmaktadır.

#### **Çalışma sırasında uyulacak kurallar:**

- a. Kabin çalışma yüzeyindeki hava delikleri kapatılmamalı ve hava akımını bozacak gereğinden fazla malzeme kabin içerisine konulmamalıdır.
- b. Kabinde çalışma yapılırken etrafta dolaşılmalı, kapı ve pencereler kapalı tutulmalıdır.
- c. Kabin içerisinde çalışma yaparken eller dışarı çıkarılmamalı veya bu işlem minimize edilmelidir. Bu durumda çalışmaya tekrar başlamak için eller içeriye sokulduktan sonra 2-3 dakika beklenmelidir.
- d. Kabin içerisinde bunzen beki kullanılmamalıdır. Mikro-insineratör veya tek kullanımlık öze tercih edilmelidir.
- e. Kabin çalışmaz durumda ve güvenli hava akımı oluşmadığı/olmadığı durumlarda kullanılmamalıdır.
- f. Çalışma başlamadan önce çalışmanın tüm ayrıntıları gözden geçirilmeli, planlanmalı ve gerekli malzemeler önceden hazırlanmalı ve kabin içerisine konması gerekli olanlar belirlenerek kabin içerisine belli bir sistematik dahilinde yerleştirilmelidir (örneğin; temizden kirliye doğru).
- g. Çalışma yüzeyine dezenfektan emdirilmiş ped yerleştirilmelidir.
- h. Kabin açıldıktan sonra yaklaşık 15 dakika beklenerek hava akımının güvenli duruma gelmesi sağlanmalıdır.
- i. Kabin ön cam açıklığı güvenli pozisyondan daha az veya daha çok açılmamalıdır.
- j. Kabin çalışma bitiminden sonra kirliler dezenfeksiyon veya sterilizasyon amacıyla uygun şekilde kabinden uzaklaştırılmalıdır.
- k. Kabin en az beş dakika daha çalıştırılmalıdır.

1. Daha sonra kabin içi temizlenmeli ve dezenfekte (%70'lik alkol veya %0.5-1'lik sodyum hipoklorid) edilmelidir. Sodyum hipoklorid aşındırıcı olduğu için dezenfeksiyon sonrasında çalışma yüzeyinin su ile tekrar silinmesi gerekebilir.

**BSC/lerin bakımı:** Kabinlerin yıllık sertifikasyon testleri yanında gerekli durumlarda ve özellikle filtre değişimleri öncesinde dezenfekte edilmelidirler. Dezenfekte edilmeden filtre değişimi ve bakım yapılamaz. Dezenfeksiyon işlemi profesyonel olarak yapılması gerekli teknik bir iştir. Ticari olarak kullanılacak formaldehid gaz dezenfeksiyon kitleri kullanılabilir. Ancak DSÖ alternatif olarak şu yöntemi tarif etmiştir:

a. Elektrikli bir ısıtıcı üzerine içinde uygun miktarda paraformaldehid (havadaki final konsantrasyonu %0.8 olacak şekilde) veya Tablo 9'daki oranlarda formalin içeren kap konur. Elektrik ocağı kabin dışından kontrol edilebilir.

b. Bir diğer benzer ocak üzerine ise paraformaldehiden %10 daha fazla amonyum bikarbonat içeren kap konur.

c. Görel nem oranı %70'ten az olduğu durumlarda yine kabin içerisine nem oranını yükseltmek amacıyla kaynar su konabilir.

d. Kabin kapağının ve tüm dış bağlantı elemanlarının (geri tepme damperi gibi) içeriden dışarıya gaz sızıntısı olmayacak şekilde izolasyonu yapılır.

e. Gaz dezenfeksiyonu süresinde kabin üzerinde işlem hakkında uyarıcı işaretler bulundurulur ve odaya giriş-çıkış sınırlandırılır.

f. Kabin çalışmaz durumda iken formalin içeren kabin elektrik ocağı çalıştırılır ve kap içerisindeki kimyasalın tamamen buharlaşması sağlanarak akım kesilir. Bu şekilde en az altı saat veya bir gece beklenir.

g. Amonyum bikarbonat içeren kabin elektrik ocağı çalıştırılır. Kimyasalın buharlaşması sağlanır ve akım kesilir. Kabin iki saniye kadar kısa süre ile çalıştırılıp tekrar kapatılır. Otuz dakika beklenir.

h. Kabin izolasyonu kaldırılır ve 15 dakika çalıştırılır.

i. Kabin iç yüzeyi temizlenir.

**Tablo 9. Sınıf II biyogüvenlik kabinlerinin gaz dezenfeksiyon amacıyla kullanılacak formalin/su oran ve miktarları.**

Kabin uzunluğu (mm)	BP formalin (mL)	Su (mL)
900	20	20
1200	25	25
1800	30	30

<b>Biyolojik Ajan Sınıflandırması (bazı örnek ajanlar) (Listenin tamamı için Bakınız: Avrupa Birliği Direktif No: 2000/54/EC, AnnexIII).</b>					
<b>Biyolojik ajan bakteriler</b>	<b>Sınıf (risk grup)</b>	<b>Not</b>	<b>Biyolojik ajan Virüsler</b>	<b>Sınıf (risk grup)</b>	<b>Not</b>
<i>Actinomyces</i> spp.	2		Adenoviridae	2	
<i>Bacillus anthracis</i>	3		Lassa virüs	4	
<i>Bacteroides fragilis</i>	2		Mopeia virüs	2	
<i>Bordetella pertussis</i>	2	V	Sabia virüs	4	
<i>Borrelia</i> spp.	2		Ebola virüs	4	
<i>Brucella abortus</i>	3		Marburg virüs	4	
<i>Brucella canis</i>	3		Deng virüs	3	
<i>Burkholderia mallei</i> ( <i>Pseudomonas mallei</i> )	3		Hepatit C ve G virüsleri	3 (*)	D
<i>Burkholderia pseudomallei</i> ( <i>Pseudomonas pseudomallei</i> )	3		Hepatit B ve D virüsleri	3 (*)	V, D
<i>Campylobacter</i> spp.	2		Herpes virüs smiae (B virüs)	3	
<i>Chlamydia psittaci</i> (avian kökeni)	3		Herpes virüs varisella-zoster	2	
<i>Chlamydia psittaci</i> (diğer kökenler)	2		İnfluenza virüsleri (Tip A, B ve C)	2	V(e)
<i>Clostridium botulinum</i>	2	T	Kızamık virüsü	2	V
<i>Clostridium</i> spp.	2		HIV virüsü	3 (*)	D
<i>Clostridium tetani</i>	2	T, V	Kuduz virüsü	3 (*)	V
<i>Coxiella burnetti</i>	3		Bovin spongiform encephalopathy (BSE)	3 (*)	D (d)
<i>Francisella tularensis</i> (Tip A)	3		<b>Parazitler</b>		
<i>Francisella tularensis</i> (Tip B)	2		<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	A
<i>Legionella</i> spp.	2		<i>Echinococcus granulosus</i>	3 (*)	
<i>Listeria monocytogenes</i>	2		<i>Fasciola hepatica</i>	2	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3	V	<i>Hymenolepis nana</i>	2	
<i>Mycobacterium bovis</i> (BCG hariç)	3	V	<i>Leishmania donovani</i>	3 (*)	
<i>Mycobacterium avium/</i> <i>intracellulare</i>	2		<i>Naegleria fowleri</i>	3	
<i>Mycobacterium microti</i>	3 (*)		<i>Plasmodium falciparum</i>	3 (*)	



<b>Biyolojik Ajan Sınıflandırması (bazı örnek ajanlar) (Listenin tamamı için Bakınız: Avrupa Birliği Direktif No: 2000/54/EC, AnnexIII) (devamı).</b>					
<b>Biyolojik ajan bakteriler</b>	<b>Sınıf (risk grup)</b>	<b>Not</b>	<b>Biyolojik ajan Virüsler</b>	<b>Sınıf (risk grup)</b>	<b>Not</b>
<i>Mycobacterium leprae</i>	3		<i>Plasmodium</i> spp.	2	
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	3 (*)		<i>Taenia saginata</i>	2	
<i>Mycobacterium kansasii</i>	2		<i>Taenia solium</i>	3(*)	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	2		<i>Toxoplasma gondii</i>	2	
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	2		<i>Trypanosoma brucei</i> var. <i>brucei</i>	2	
<i>Nocardia asteroides</i>	2		<i>Trypanosoma brucei</i> var. <i>rhodense</i>	3(*)	
<i>Proteus vulgaris</i>	2		<b>Mantarlar</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		<i>Candida albicans</i>	2	
<i>Rickettsia akari</i>	3(*)		<i>Histoplasma capsulatum</i>	3	
<i>Rickettsia typhi</i>	3		<i>Cryptococcus neoformans</i>	2	A
<i>Salmonella typhi</i>	3(*)	V	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	3	
<i>Salmonella</i> spp. (diğerleri)	2		<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	A
<i>Shigella dysenteriae</i> (tip 1)	3(*)	T	<i>Epidermophyton floccosum</i>	2	A
Tip 1 dışında <i>Shigella dysenteriae</i> ve diğer	2		<i>Microsporum</i> spp.	2	
<i>Shigella</i> spp.			<i>Penicillium marneffeii</i>	2	
<i>Treponema</i> spp.	2		<i>Sporothrix schenckii</i>	2	
<i>Vibrio</i> spp.			<i>Trichophyton rubrum</i>	2	
<i>Yersinia pestis</i>	3	V			

(\*) Normal olarak aerosol yol ile bulaşmaz. Risk değerlendirmesine göre alınacak önlemler ve uygulamalar belirlenmelidir.

V: Aşısı bulunmaktadır, T: Toksin üretir, D: Maruziyet kayıtları 10 yıl süre ile saklanmalıdır, V(c): Yalnızca A ve B tipi için, D(d): Yalnızca doğrudan maruziyet durumunda, A: Allerjik etki.

### KAYNAKLAR

1. Akbaş E. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında biyogüvenlik ve iyi laboratuvar pratiği: Bulaşıcı hastalıkların ihbarı ve bildirim sistemi. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Ankara, 2004.
2. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (appendix-I). In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D (eds). Laboratory Safety. Principles and Practices. ASM Press, 1995:293-354.
3. CDC (1998) Laboratory risk assessment: What, Why, and How. <http://www.cdc.gov/phppo/dls/pdf/irawwh.pdf>

4. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). In: Richmond JY, McKinney R (eds). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4<sup>th</sup> ed. April 1999.
5. CDC Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. 2nd ed, 2000.
6. Harding L, Liberman DF. Epidemiology of laboratory-associated infections. In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D (eds). Laboratory Safety. Principles and Practices. ASM Press, 1995:7-15.
7. WHO (2004). Laboratory Biosafety Manual. 3rd ed. WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11