
Laboratuvarlarımız Biyogüvenlik Düzeylerine Uygun Çalışıyor mu? Biyogüvenlik Kabinleri Güvenli mi? Nasıl Kontrol Edilmelidir?

Uzm. Dr. İsmail CEYHAN

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

Biyogüvenlik, “özellikle insanlara zarar verdiği bilinen veya potansiyel risk taşıyan biyolojik materyal, infeksiyöz mikroorganizmalar veya onların genetik ya da toksik komponentleriyle yapılan çalışmaların, insan, hayvan ve çevre için güvenli biçimde yapılmasını sağlamaya yönelik laboratuvar alt yapı, tasarım, donanım, uygulama ve tekniklerin en uygun kombinasyonu” olarak tanımlanabilir.

Biyogüvenliğin amacı; çalışanın hem kendisini, hem beraber çalıştığı kişileri hem de çevreyi ve diğer insanları biyolojik zararlardan korumaktır. Korumak veya korunmak, kavramsal ifadeyle tecrit amaca uygun iki temel teknik savunma hattını kapsar. İyi laboratuvar uygulamaları, biyogüvenlik donanımlarının kullanımı ve çalışanın önceden alınan önlemlerle (gerektiğinde aşılama) korunmasına yönelik uygulamalar birincil korunma, laboratuvar dışında kalan çevrenin de korunması kaygısıyla alınması gerekli diğer önlemlerin tamamı ise ikincil korunma olarak ifade edilir.

Mikroorganizmaların kendileri, komponentleri veya klinik materyal ile analiz, çalışma ya da araştırma yapan laboratuvarlarda potansiyel mikrobiyolojik tehlike ve riskler bulunmaktadır. Bu bağlamda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) mikroorganizmaları dört risk grubuna ayırmıştır. Gruplandırma yapılırken mikroorganizmanın konakçı varlığı/özellikleri, patojenitesi, infeksiyöz dozu, bulaş yolu, toplum sağlığına etkileri, korunma ve tedavisinin bulunup 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

hastalık oluşturmeyen 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 tanımlanmaktadır. 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 bulunduğu 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.

Laboratuvarların alt yapıları oluşturulurken ve alınması gerekli önlemler belirlenirken risk gruplarına paralel dört farklı biyogüvenlik laboratuvar seviye tipi belirlenmiş durumdadır. 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) ise “Maksimum Tecrit Laboratuvarı” olarak adlandırılır.

Her laboratuvar, 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, ayrıntılı çalışma sistematığı ile birlikte profesyonel risk analizi yapılmadan kolaylıkla söylenemez. Çalışılan mikroorganizmanın önceden bilindiği durumlarda risk grubuna uygun önlemler ve güvenli çalışma koşulları tasarlanabilir ki zaten bunun çoğunlukla o risk grubu ile aynı düzeyde olması önerilebilir (Tablo 1). Klinik materyal söz konusu olduğunda materyallerin genel olarak risk grup 2 mikroorganizmaları içerebileceği öngörüsünden hareket edilmektedir. Bu nedenle hastanelerin mikrobiyoloji, biyokimya ve patoloji laboratuvarları ile çoğu halk sağlığı laboratuvarlarının alt yapı, uygulamalar ve mikrobiyal teknikler açısından minimum olarak BSL-2 olması gerekmektedir. Bu bağlamda bir klinik laboratuvarda BSL-2 alt yapı biyogüvenlik, iyi laboratuvar uygulamaları ve kurallarına azami ölçüde uyulmalıdır (Tablo 2). Ancak mikrobiyal risk açısından çalışma ve uygulamalar değerlendirildiğinde ilave önlemlere gerek duyulduğunda alt yapı ve/veya uygulamalar BSL-3’e yükseltilebilmelidir.

Laboratuvar kaynaklı infeksiyöz hastalıklarda kişiye bağlı bilgisizlik, hata ve dikkatsizlikler, laboratuvar donanımları ve alt yapı çok önemli roller oynar. Laboratuvar kazaları, uygun olmayan donanım, alt yapı veya amacı aşan ya da işlevi bozan havalandırma infeksiyonun yayılmasına yardım eder. Hatta bazen kendileri birer infeksiyon kaynağı haline dönüşebilirler. Bu nedenle infeksiyonlardan korunmak için iyi laboratuvar uygulamaları yanında mikrobiyal riske uygun alt yapı, donanım ve tasarım da zorunludur. Kısacası tek başına ne iyi laboratuvar uygulamaları, ne uygun fiziki yapı, ne de donanım yeterli olur. Maksimum koruma/koruma iç içe geçmiş üç önemli eleman ile;

Tablo 1. Biyogüvenlik laboratuvar seviyeleri.

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

- İyi laboratuvar uygulamaları (eğitilmiş, yeterli ve yetkin personelin güvenli teknikleri bilmeleri ve uygulamaları),
- Biyogüvenlik donanımları,
- Laboratuvar alt yapı ve tasarımları ile sağlanır.

Biyogüvenlik seviyelerine uygun gerekli minimum alt yapı ve tasarım Tablo 3'te özetlenmiştir.

BİYOÜVENLİK KABİNLERİ

Biyogüvenlik kabinleri (BGK) çalışan personeli ve çevreyi korumak amacıyla hava akımı düzenlenmiş cihazlardır. Bu cihazların en önemli iki özelliğinden biri amaca yönelik kontrollü hava akımı sağlaması, diğeri ise hava içerisindeki mikrobiyal partikülleri elimine etmesidir. Eliminasyon, BGK'ler içerisindeki mekanik hava ve ventilasyon yolu üzerine yerleştirilmiş HEPA (high efficiency particulate air) adı verilen filtre veya filtre sistemleri tarafından sağlanmaktadır. Ancak bu oluşumun fonksiyonel olabilmesi için BGK'lerin;

1. Üretim aşamasında üreticinin standart test ve kalite kontrollerini yaparak kabinin güvenli ve uygun olduğunun belgelendirilmesi,

Tablo 2. Biyogüvenlik seviye 2 (BSL-2) için iyi laboratuvar uygulamaları ve güvenli teknikler.

1. Giriş ve çıkış minimize edilmeli/limitasyon uygulanmalıdır.
2. Giriş kapısında biyogüvenlik işareti (biyolojik tehlike amblemi) bulundurulmalıdır. Ayrıca, laboratuvar seviyesi ve varsa 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 çalışmalıdır. 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/sertifike 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.

2. Kurulduğu alanda kullanım öncesi performans testlerinin yapılması,

3. Kullanım kural ve şartlarına uygun şekilde kullanılmasıyla mümkün olabilir.

Her ülkenin kendine özgü ulusal standartları bulunmaktadır. Tablo 4'te bazı ülkelerde geçerli BGK'lerin test, performans ve bazı teknik özelliklerinin tanımlandığı standart isimleri verilmiştir. Türkiye'de uygulama zorunluluğu olmamakla birlikte kabul gören TS EN 12469 standardıdır.

Tablo 3. Biyogüvenlik seviyeleri alt yapı ve tasarım gerekleri.

	Biyogüvenlik Seviyesi			
	1	2	3	4
Laboratuvarın izolasyonu ^a	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 ^b	Evet
Çift kapı giriş-çıkışı	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 ^c	Hayır
Sıvı atıkların işlenmesi/özel atık işleme sistemi	Hayır	Hayır	Evet/Hayır ^c	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 ^d	Evet

^a Genel insan trafiğinden, fonksiyonel ve çevresel izolasyon.

^b Çıkışın bulunduğu yere bağlı.

^c Laboratuvarda kullanılan mikroorganizmaya bağlı.

^d Örneğin pencere, kapalı devre monitörize izleme, çift yönlü iletişim vb.

Tablo 4. Bazı ülkelerdeki geçerli biyogüvenlik kabinleri standartları.

1. European standard EN12469 (BS 5726, DIN 12950 ve NF X44-201)
2. NSF Standard 49 (USA)
3. Japanese Industrial Standard JIS K 3800 (JACA)
4. Canadian standard CSA Z316.3-95
5. South African standards SABS 0226:2001; VC 8041:2001
6. Australian standards AS2252.1, AS2252.2
7. German standard DIN 12980 ve European standard EN12469:2000

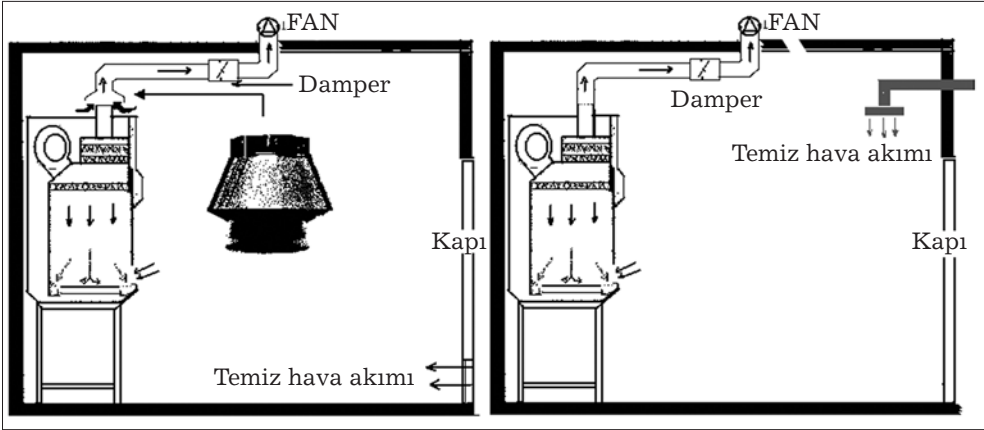
HEPA, 0.3 mikrondan daha büyük mikrobiyal parçacıkların %99.97'sini tutabilen borosilikat fiberden üretilmiş filtreler olarak bilinmektedir. Bu özellik patojen infeksiyöz ajanları etkili şekilde tutarak mikroptan arındırılmış hava sağlama anlamına gelmektedir. Bugün HEPA filtreler kullanılarak imal edilmiş ve laminar hava akımı içeren BGK'lerden temel olarak farklı amaçla üretilen bir diğer kabin türü; temiz çalışma kabinleri (Clean Bench/TK)'dir. TK'ler yalnızca ürünü korumaya yönelik tasarlanmış temiz çalışma bankoları olup çevre ve personel koruması sağlamamaktadır. Steril veya patojen mikroorganizma içermediği düşünülen ürünlerin, çevresel ve personel kaynaklı veya çapraz kontaminasyonlardan korunması amacıyla kullanılırlar. 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.

SINIFLANDIRMA

Sınıf-I, Sınıf-II ve Sınıf-III olmak üzere üç sınıf BGK tanımlanmış durumdadır. Sınıf-II kabinlerin A ve B tipi olmak üzere iki tipi, her bir tipin ise A1/A2(B3) ve B1/B2 olmak üzere alt tipleri mevcuttur. Aralarında esas itibariyle ön açıklıktan kabin içine alınan hava akım miktarı/hızları, resirkülasyon oranları ve egzoz sistemleri yönünden farklar bulunmaktadır.

Sınıf-I kabinler çalışan kişiyi ve çevreyi potansiyel mikrobiyal infeksiyon riskinden korumaya yönelik tasarlanmış çalışma kabinleridir. Ayrıca, doğrudan dış ortama bağlantı yapıldığında ve bazı ek önlemler alındığında (karbon filtre gibi) uçucu radyoaktif/kimyasal maddelerle daha güvenli çalışma sağlarlar. Basit tasarımları dolayısıyla primer işlev personel korumak amacıyla dünyada halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Oda havası çalışma yüzeyine doğrudan ulaşır ve ancak HEPA filtrelerden geçerek kabin dışına atılır. Çalışma yüzeyine doğrudan odanın havasının girmesi dolayısıyla ürün koruma özellikleri yoktur. Bu nedenle hücre kültürü gibi ürün korumaya yönelik işlerde kullanılamaz. Hava akış hızı TS EN 12469 standardına göre 0.7 m/s ile 1.0 m/s arasında olmalıdır. Daha fazla olması, istenmeyen türbülans oluşumuna neden olur. Risk değerlendirmesi sonucunda "thimble" tip (yüksük veya/davlumbaz tipi/Şekil 1), doğrudan dış ortam bağlantılı (hard duck) veya bağlantısız şekilde kullanılabilir.

Sınıf-II biyogüvenlik kabinleri (BGK-II) personel ve çevre korunması yanında ürün korumaya yönelik olarak da tasarlanmış olmaları dolayısıyla daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapısal olarak biraz daha karmaşık yapıya sahiptir. Sınıf-II kabinlerde de Sınıf-I kabinlerde olduğu gibi ön açıklıktan hava girmesine rağmen, sistem bu havanın çalışma alanında dolaşıma girmeden önce HEPA filtrelere yönlendirmesini sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Bu, dış ortam oda havasının doğrudan HEPA filtre/lere yönlendirilerek önce temizlenmesini sağlar. Daha sonra ise temiz havanın açıklıktan giren hava ile ön panelde "güvenli hava duvarı" oluşturacak şekilde çalışma yüzeyine laminar akım halinde akması sağlanır. Bir kısım hava egzoz tarafından kabin dışına atılır. Böylece hem çalışma yüzeyi temiz kalır hem de personel ve çevre korunmuş olur. Klinik materyal ile çalışan



Şekil 1. Kabinlerin dış ortama bağlantı tipleri. Yüksük tipi (sol), doğrudan bağlantı tipi (sağ).

laboratuvarlarda ve risk grup 2-3 mikroorganizmalarla çalışılırken kullanılması önerilmektedir. Ayrıca, pozitif basınçlı laboratuvar giysileri kullanılan BSL-4 "suit" laboratuvarları içerisinde de kullanılabilir.

BİYOGÜVENLİK KABİNLERİNİN SEÇİMİ

BGK seçiminde dikkat edilecek en önemli nokta risk değerlendirmesidir. Çalışılacak materyal, mikroorganizma, test ve yöntemlerin potansiyel riskleri ve hangi amaca yönelik olduğu (personel, çevre ve/veya ürün koruma) göz önüne alınarak BGK seçilmelidir. Ürün korunmasının önemli olmadığı durumlarda Sınıf-I kabinler kullanılabilir. Personel korunması yanında ürün korunmasının da önemli olduğu durumlarda Sınıf-II kabinler tercih edilmelidir. Uçucu kimyasal, toksik ve radyoaktif maddelerle çalışılacaksa oda içi resirkülasyon yapan BGK'ler kullanılmamalıdır. Klinik materyal ile çalışılması durumunda en uygun kabin Sınıf-II kabinlerdir. Ancak amaca yönelik olarak bazen Sınıf-I kabinler, bazen de Sınıf-III kabinler daha güvenli olabilir. Örneğin; tüberküloz şüpheli materyalin kültür için homojenizasyon-dekontaminasyon işlemlerinde Sınıf-I kabinler kullanılabilir. Tablo 5 koruma tipine göre seçilebilecek BGK'leri göstermektedir.

KONTROL ve SERTİFİKASYON

Kabin hem üretim aşamasında, hem son kullanıcı alanında kurulduğu yerde hem de yıllık olarak düzenli şekilde sertifikaya edilmelidir. Gerçi bugün için böyle bir sertifikasyon işleminin tamamını güvenilir biçimde yapan bir kurum/kuruluş henüz ülkemizde olmadığı gibi bu konuyu düzenleyen ve yapılmasını zorunlu kılan bir mevzuat da yoktur. Ancak böyle bir mevzuatın bulunmaması kullanıcının, kullandığı kabinin yeteri kadar koruyucu olup olmadığını bilmemesini haklı kılmaz. Bu anlamda her kullanıcının, üreticiden veya yetkili teknik servisinden bu testlerin, mutlaka garanti kapsamında, kabinin yerine kurulumundan hemen son-

Tablo 5. Koruma tipine göre biyogüvenlik kabinlerinin seçimi.

Koruma tipi	Seçilebilecek BGK
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(B3) (dış bağlantı yapılmış)
Uçucu radyoaktif/kimyasallardan korunma	Sınıf-I, Sınıf-IIB2, Sınıf-III

ra ve yıllık olarak yapılması, hatta mümkünse güvenilir bağımsız bir kuruluşa yaptırılmasını istemesi gereklidir.

Bir sertifikasyon veya kontrol işleminde; kabin bütünlük, HEPA filtre sızdırmazlık, kabin içi hava akım profili, içeri doğru 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 6'da sertifikasyon işlemleri sırasında bazı zorunlu testler belirtilmiştir.

KABİNLERİN LABORATUVARA YERLEŞTİRİLMESİ

Sınıf-II kabinlerde ön açıklıkta oluşan hava duvarı hem ürün koruma hem de personel korumaya yönelik olarak tasarlanmış en önemli koruma ve korunma önlemidir. Bu nedenle kabin etrafında hava akımını bozacak veya yönünü değiştirecek hiçbir doğal ya da mekanik sistem olmamalıdır. Ayrıca, BGK'ler insanların

Tablo 6. Biyogüvenlik kabinlerinin kullanılmasına yönelik uygulanması gerekli bazı kontrol ve sertifikasyon testleri.

Testin adı	Biyogüvenlik kabini		
	Sınıf-I	Sınıf-II	Sınıf-III
Birincil koruma			
Kabin bütünlük	Uygulanmaz	A	A
HEPA filtre sızdırmazlık	Zorunlu	Zorunlu	Zorunlu
Kabin içi hava akım profili	Uygulanmaz	Zorunlu	Uygulanmaz
İçeri doğru ön hava akımı	Zorunlu	Zorunlu	Uygulanmaz
Hava akımı duman testi	Zorunlu	Zorunlu	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.

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.

Kabinlerin dış ortama bağlantı yapılması çalışma güvenliğini artırması bakımından tercih edilmelidir. İki tip dış ortam bağlantısı yapılabilmektedir. Yüksük bağlantı (thimble veya davlumbaz) adı verilen bağlantı tipinde egzoz hem oda içinden hem de kabin çıkışından oda dışına hava atar. Bu tür bağlantının en önemli avantajı oda içi basınç ayarlamasının kolay olmasıdır. Kabin ve egzoz fanının aynı anda açılması zorunlu değildir. Egzoz fanı kabinden önce, sonra veya aynı anda açılabilir. Ancak daha güvenli bir çalışma için egzoz fanının, kabin çalıştırılmadan 10-15 dakika önce çalıştırılması ve 10-15 dakika sonra kapatılması önerilebilir. Kabinin doğrudan dışarıya veya bina egzozuna bağlı olduğu durumlarda ise biyogüvenlik kabini ve egzoz fanı aynı anda çalıştırılmalıdır.

KABİNLERİN KULLANIMI

Kural olarak aerosol oluşturma ya da sıçrama riski olan tüm işlemler kabin içinde yapılmalıdır. Ancak Sınıf-I ve Sınıf-II kabinlerin hemen hemen hiçbirinin yapısal olarak tek başına %100 koruyuculuğa sahip olmadığı hatırdan çıkarılmamalıdır. Bu nedenle kabinlerin kullanımından maksimum verim elde etmek için dikkatli olunmalıdır.

Kabin kullanımını beklenenden daha fazla güven duygusu oluşturabilir. Koruma ve korunmanın istenilen düzeye yükseltilmesi, kaliteli kabin seçimi kadar kurallara uygun kullanılmasıyla mümkün olabilir. Kabin açıldıktan sonra yaklaşık 15 dakika beklenerek hava akımının güvenli duruma gelmesi sağlanmalıdır. Kabin ön cam açıklığı güvenli pozisyonda olmalı çalışma yüzeyindeki hava delikleri kapatılmamalı ve hava akımını bozacak gereğinden fazla malzeme kabin içerisine konulmamalıdır. Çalışma yaparken eller dışarı çıkarılmamalı veya bu işlem minimize edilmelidir. Kabin içerisinde bunzen beki yerine mikro-insineratör veya tek kullanımlık öze kullanılmalıdır. Çalışma bitiminde kabin en az beş dakika daha çalıştırılmalıdır. Daha sonra 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.

KABİNLERİN BAKIMI

Kabinler yıllık sertifikasyon testleri yanında gerekli durumlarda ve özellikle filtre değişimleri öncesinde dezenfekte edilmelidir. Dezenfekte edilmeden filtre değişimi ve bakım yapılamaz. Dezenfeksiyon işlemi profesyonel olarak yapılması gerekli teknik bir iştir. Ticari olarak kullanılabilen formaldehid gaz dezenfeksiyon kitleri kullanılabilir. Ancak Dünya Sağlık Örgütü alternatif olarak şu yöntemi tarif etmiştir:

a. Elektrikli bir ısıtıcı üzerine içinde uygun miktarda paraformaldehid (havadaki final konsantrasyonu %0.8 olacak şekilde) veya Tablo 7'deki oranlarda formalin içeren kap konur. Elektrik ocağı kabin dışından kontrol edilebilmelidir.

Tablo 7. 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. Bir diğer benzer ocak üzerine ise paraformaldehiden %10 daha fazla amonyum bikarbonat içeren kap konur.

c. Görelî 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 yasaklanır veya sınırlandırılır.

f. Kabin çalışmaz durumda iken formalin içeren kabın 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 kabın 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.

ÜLKEMİZDEKİ DURUM

Ülkemizde laboratuvarlar Ek 1'de model olarak verilmiş standart formlar ile kontrol edilmemesi ve kazalar veya laboratuvar kaynaklı hastalıkların bildirimini yapmaması yeterli ve güvenilir veri eksikliğine neden olmaktadır. Bu biyogüvenlik boyutlarının ölçümünü zorlaştırmaktadır. Ülkemizde biyogüvenlik alt yapı ve düzenlemelerin son derece yetersiz olduğunu söyleyebiliriz. Zira birçok laboratuvarında biyogüvenlik hem teknik açıdan uygulamalara hem de fiziki koşullar ya da alt yapı sorunu nedeniyle günlük pratiğe yansımamaktadır. Biyogüvenlik seviyeleri ve uygulamalar büyük ölçüde ya bilinmemekte ya da uygulanamamaktadır. 2003 yılında Dr. Efsun Akbaş ve Vedat Buyurgan tarafından yapılan 1000'e yakın laboratuvarın katıldığı geniş kapsamlı bir anket çalışmasında laboratuvarların biyogüvenlik durumları da sorgulanmış, çarpıcı sonuçlar elde edilmiştir. Sınırlı sorgulama kriterlerine rağmen alt yapı ve uygulamalar açısından değerlendirmeler yapılabilmektedir. Buna göre BSL-2 olması önerilen klinik laboratuvarların oranı %2 gibi çok düşük bir düzeyde kalmış, %8 civarında BSL-1-

BSL-2 arasında kabul edilebilecek laboratuvar olduğu saptanmıştır. Geri kalanların hemen hepsinin ne yazık ki ancak belki BSL-1 düzeyinde olabileceği saptanmıştır. Bu durum aslında en azından BSL-2 düzeyinde olması gereken laboratuvarların ne durumda olduğunun acı bir göstergesidir. Laboratuvarların önemli bir kısmında ofis alanları ile çalışma alanları ortak kullanılmakta ve giriş sıralaması bulunmamaktadır. Kullanılan donanım açısından da durum pek iç açıcı değildir. BGK var olan yer sayısı %7 civarında olmakla birlikte bu kabinlerin ne kadar güvenli olduğu veya yeterince doğru kullanılıp kullanılmadığı konusunda yeterli bilgi mevcut değildir.

Anket çalışmasındaki bir başka çarpıcı sonuç da uygulamalarda biyogüvenlik bilincinin yoksun olduğu olgusudur. BGK olduğunu ifade eden bazı yerlerde ağız ile pipetlemenin devam etmesi, eldiven ve maskenin kullanılmaması veya yanlış malzeme kullanımı gibi durumlar olayın farkındalığı konusunda kuşkulara neden olmaktadır. Bilgi-bilinç eksikliği yanında alışkanlıkların terk edilememesi sorunun büyümesine neden olmaktadır. Ayrıca, laboratuvarlarda biyogüvenlik bilincini oluşturacak ve yönetecek uzman eksikliği de önemli bir sorundur (handikaptır). Laboratuvarların yarısından fazlasında klinik mikrobiyoloji veya enfeksiyon hastalıkları uzmanının bulunmadığı saptanmıştır.

Ankette laboratuvarlarda kullanılan kabinlerin kalitesi sorgulanamamıştır. Bu konuda yapılan sistematik bir araştırma ve güvenilir veriler de yoktur. Ancak bu konuda bazı bireysel deneyimler mevcuttur. Kabin konusunu iyi bilen ve konuya hakim uzman kişilerin deneyim ve bilgileri laboratuvarlarda kullanılmakta olan BGK'ler konusunda ciddi kuşku ve sorunların varlığına işaret etmektedir. Kabinlerin seçimi, laboratuvara yerleştirilmesi, kullanımı ve bakımları ile ilgili konularda önemli hatalar yapılabilmektedir. Ürün korumaya yönelik tasarlanmış temiz çalışma kabinlerinin BGK amacıyla kullanıldığı ve bunun tersi durumların da olduğu bazı laboratuvarlar gözlenmiştir.

Kabinlerin kontrol, bakım ve sertifikasyon işlemleri birer sorunlar yumağı halindedir. Bakım ve sertifikasyon işlemlerinin tam olarak bilinmemesiyle beraber mevzuat açısından eksiklikler ve boşlukların bulunması sorunun büyümesine yol açmaktadır. Bu nedenle birçok kişinin satın aldığı veya kullandığı kabinin kalitesi konusunda değerlendirme yapmak güçleşmektedir. Hatta birçok kullanıcı, kullanması gerektiği kabin konusunda bilgi sahibi olsa bile kontrol ve testlerin sonuçlarını yorumlayabilecek tecrübeye sahip değildir. Aslında üretim ve satış yapan firmaların sorumluluğunda olması gereken bu tür teknik hizmetler henüz sistematik olarak talep edilmediği gibi buna hazırlıklı firma da yok gibidir. Ayrıca, sertifikasyon ve kontrol testlerinin tamamı yapılamamaktadır. Kabinlerin yanlış yerlere yerleştirilmesi ve yanlış biçimde kullanılması da azımsanmayacak boyutlardadır.

Kabinlerin satın alınmadan önce teknik özelliklerinin çok iyi bilinmesi amaca uygun kabin seçilmesi açısından son derece önemlidir. Bir güvenlik kabini havayı dışarıdan içine doğru çeker. Bu çok basit bir biçimde kabin çalışma yüzeyine tüt-

sü veya duman tutularak test edilebilir. Bu yöntem kabinin güvenlik kabini mi yoksa temiz çalışma kabini mi olduğu konusunda bir fikir verebilir. Hatta çalışma yüzeyinin ön tarafında delik veya ızgaranın bulunması ve dumanın buradan kabin içine çekilmesi Sınıf-II kabinini işaret edebilir. Ancak BGK'nin istenen ölçülerde koruyucu olduğunu asla garanti edemez. Çünkü sızdırmazlık, kabin bütünlüğü, hava akış hızları vb. hayati testler yapılmadan kabinin güvenli olduğu söylenemez.

Bugün ülkemizde mikrobiyoloji laboratuvarlarında hem ürün koruma hem de personel ve çevre koruma amacıyla en yaygın kullanılan BGK genel olarak Sınıf-IIA tipidir. Kabinler bugün dünyada her ülkenin kendi ulusal standartlarına uygun üretilmesi gereken önemli teknik özelliklere haiz cihazlardır. Türkiye'de Avrupa standardı TS EN 12469 no'lu standart esas alınmaktadır. Bu standardı yerine getirdiğini ifade eden veya bu belgeyi sağlayan bazı firmaların bile ürettiği kabinlerde bağımsız ölçüm kuruluşları tarafından yapılan birkaç ön testin bile zaman zaman olumsuz sonuçlanması kalite konusunda kuşku arttırmaktadır. Bunu önleme adına kullanıcı öncelikle kabin pazarlayan ve üretim yapan firmaların üretim aşamasında hangi kalite kontrol testlerinin yapıldığı öğrenmelidir. Bununla birlikte kabinin kurulduğu yerde hangi performans testlerini hangi yetkinlikte kimlerin yapacağını soruşturmalıdır. Çünkü üretim aşamasında testlerin yapılması ve sertifikaya edilmesi BGK'nin maksimum koruması için yeterli değildir. Son kullanılacağı yerde de BGK'lere performans testleri yapılmalıdır (Tablo 5). Ayrıca, bu test ve kontrollerin güvenilir olmasını sağlamak da gereklidir. Bunun için testler mümkünse bağımsız, akredite veya kalibrasyon sertifikalı kuruluşlara yaptırılmalıdır.

Sonuç olarak; biyogüvenlik standartlarının hayata geçirilmesi son derece elzem ve acil olmakla birlikte sorunun her boyutu ile çözümlenmesi biraz daha zaman alacak gibi gözükmektedir. Zira bir ucunda teknik ve uygulamaların yer aldığı diğer ucunda idari, mevzuat, bilgi ve eğitim boyutunun olduğu bu sorun, ciddi operasyonel ve organizasyonel bir iş gibi gözükmektedir. Ancak bu konuda her bir laboratuvarın yapabileceği işler de yok değildir. Laboratuvar kendi kendini Ek 1'de verilen değerlendirme listesine göre kontrol etmekle işe başlayabilir. Öncelikle herhangi bir yatırım gerektirmeyen işler yapılmalıdır ki, bunların başında yanlış alışkanlıklarla savaşmak ve onları düzeltmek gelmektedir. Var olan biyogüvenlik donanımının kullanılmasının zor ve sıkıntılı olduğu gerekçesiyle tercih edilmemesi gibi alışkanlıkların değiştirilmesi sanıldığı kadar kolay değildir. Bu ve benzeri zorlukların aşılmasında yapılacak ilk işlerden biri belki potansiyel riskleri değerlendirip laboratuvara özgü bir biyogüvenlik çalışma ve uygulama prensiplerinin dokümanını hazırlayarak eğitim ve denetim yapabilecek sorumlu bir uzman görevlendirilmesi olabilir. Daha sonrasında ise sistematik çalışmalar, sorunun boyutlarına uygun, hem kurumsal (idari) ve bireysel (teknik/uygulama) odaklı bilinç düzeyinin yükseltilmesini sağlayacak hem de sistemin kurulmasını ve işlemlerini kolaylaştıracaktır.

BİYOGÜVENLİK SEVİYE 2 LABORATUVAR DEĞERLENDİRME LİSTESİ**BİYOGÜVENLİK KONTROL LİSTESİ: Referans: CDC/BMBL****2007****Bina/Oda:** _____**Bölüm/Birim:** _____**Bölüm/Birim Sorumlusu** _____ **Tel.** _____**Bölüm/Birim Biyogüvenlik Sorumlusu** _____ **Tel.** _____**A. Standart Mikrobiyal Uygulamalar**

	E	H	U	Yorum/Öneriler
1. Laboratuvar içinde çalışma yapılırken giriş çıkış sınırlı mı?				
2. Çalışanlar çalışma sonunda ve/veya laboratuvardan ayrılırken elleri yıkıyorlar mı ?				
3. Yemek içmek yiyecek depolama yasaklanmış mı?				
4. Ağız ile pipetaj yasaklanmış mekanik pipetör kullanılıyor.				
5. Kesici-delici kullanımı konusunda güvenlik prosedürleri uygulanıyor mu?				
6. Sıçrama ve aerosoller minimize ediliyor mu?				
7. Çalışma masaları günlük olarak, her çalışma sonunda ve sıçramalar sonrasında etkili dezenfektan/ lar ile siliniyor mu?				
8. Atıklar güvenli biçimde bertaraf ediliyor mu?				
9. Böcek sinek ve kemirgen kontrol altında mı?				

B. Özel Uygulamalar

	E	H	U	Yorum/Öneriler
1. Laboratuvar içinde enfeksiyöz ajanlar ile çalışma yapılırken giriş çıkış sınırlı/yasak mı?				
2. Tehlike ve/veya immünizasyon gerektiren durumlar konusunda personel uyarılmış ve önlemler alınmış mı?				
3. Biyogüvenlik işareti var mı? Eğer varsa sorumlusunun adı, telefonu, laboratuvar seviyesi vb. belirtilmiş durumda mı?				
4. Patojen ajanlar ile çalışan personel uygun aşılama ve/veya testleri yaptırıyor mu?				
5. "Baseline serum" uygun şekilde saklanıyor mu?				
6. Biyogüvenlik el kitabı/dokümanı laboratuvara özgü tehlikelere uygun adapte edilmiş mi?				
7. Birim/bölüm sorumlusu personelin uygun eğitim almasını ve/veya eğitimin yıllık güncellemesi yapılmasını sağlamış mı?				
8. Kesici-delici önlemler: İğneler, camlar, pipetler, tüpler, bistüri, lam vb.				
a. Kesici ve deliciler zorunlu olmadıkça kullanılmıyor mu?				
b. İğneler koruyucu ilaveli veya güvenli mi? Diğer kesici-deliciler emniyetli mi?				
c. Kesici-delici aletler güvenli ve uygun biçimde kullanılıyor mu?				
d. Kırılan cam malzemeler uygun şekilde (mekanik vb.) temizlenip bertaraf ediliyor mu?				
9. Örnek kapları sızdırmaz mı? Taşıma uygun (sıkıca kapalı, dökülme, kırılma önlemleri alınmış vb.) şekilde yapılıyor mu?				
10. Cihazlar, donanım, çalışma masaları düzenli olarak ve sıçramalar sonrasında etkili dezenfektan/ lar ile siliniyor mu?				
11. Dökülme, kırılma ve kazalar rapor ediliyor mu? Uygun tıbbi gözetim-izleme uygulanıyor mu?				
12. Çalışma amacı dışında laboratuvara hayvan girişi var mı?				

C. Biyogüvenlik Ekipmanları (Birincil Koruma)

	E	H	U	Yorum/Öneriler
1. Biyogüvenlik kabinleri (Sınıf-I/Sınıf-II) ve diğer donanım veya kişisel koruyucular				
a. Kabin kontrol ve sertifikasyon ediliyor mu? Güvenilir mi? Test raporları var mı?				
b. Potansiyel aerosol veya sıçrama olasılığı olan işlemlerde kullanılıyor mu?				
c. Ajan veya materyallerin yüksek konsantrasyon veya fazla hacimli olması durumunda kullanılıyor mu?				
2. Biyogüvenlik kabini dışında yapılan/yapılması zorunlu işlemlerde sıçrama riski varsa yüz koruyucular kullanılıyor mu?				
3. Laboratuvar önlükleri				
a. Laboratuvar önlükleri yalnızca çalışma yapılan alanda giyiliyor, dışarı çıkarken laboratuvarda bırakılıyor mu?				
b. Önlükler dış kıyafetlerle ayrı yerde saklanıyor mu?				
c. Laboratuvar önlükleri laboratuvar/kurumda mı yıkanıyor?				
4. Ajanlar/materyallerle çalışırken eldiven giyiliyor mu? Pudralı eldivenlere alternatif var mı?				

D. Laboratuvar Alt Yapısı (İkincil Koruma)

	E	H	U	Yorum/Öneriler
1. Kendiliğinden kapanan ve kilitlenebilir kapı var mı?				
2. Genel kullanım alanlarından uzak mı?				
3. Laboratuvar içinde musluk ve lavabo var mı?				
4. Zemin, duvarlar vb. temizlenir malzemeden yapılmış durumda mı? (halı veya benzeri toz üreten malzeme bulunmamalı)				
5. Çalışma masaları su ve kimyasallara dayanıklı mı?				
6. Dolap ve diğer mobilyalar malzeme depolama ve saklamaya uygun ve dayanıklı mı? Aralarında toz ve kir barındırmayacak şekilde yüzey ve boşluklar temizlemeye uygun mu?				
7. Biyogüvenlik kabinleri kapıdan ve geçiş trafiğinden uzakta mı?				
8. Acil göz yıkama aпараты ve/veya duş var mı? Kolay ulaşılabilir mi?				
9. Işıklandırma uygun/yeterli mi? Parlama, yansıma vb. rahatsızlık oluşturmayacak şekilde mi?				
10. Negatif basınç (zorunlu değil) var mı? Pencereler sinek ve böceklerle karşı korumalı mı?				
11. Otoklav var mı?				
a. Otoklav varsa yeterliliği kontrol ediliyor mu?				
Evet ise nasıl?				

Personel Eğitimi

	E	H	U	Yorum/Öneriler
Biyogüvenlik eğitimi kayıtları var mı?				
Kan ile bulaşan hastalıklar eğitimi yapılıyor mu? Kayıtları tutuluyor mu?				

BSL-2+

	E	H	U	Yorum/Öneriler
1. BSL-3 standart ve özel uygulamaları yapıyor mu? Özel donanımları mevcut mu?				
2. Negatif basınç var mı?				
3. Çalışma esnasında giriş-çıkış yasak mı?				
4. Laboratuvar havası dışarı atılıyor mu?				

CDC/BMBL: CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Richmond JY, McKinney R (eds). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Fourth edition. April 1999.

E: Evet, H: Hayır, U: Uygulanmaz.

BSL-2+: Biyogüvenlik seviye-2 üstü.

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. Akbaş E, Buyurgan V. Bildirimi zorunlu bulaşıcı hastalıklar için klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının tanı kapasitelerinin değerlendirilmesi: Bir anket çalışması. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Antalya.
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). Richmond JY, McKinney R (eds). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Fourth edition. April 1999.
5. CDC Primary Contamination for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. 2nd ed. 2000.
6. Ceyhan İ. Biyogüvenlik laboratuvar seviyeleri ve biyogüvenlik kabinlerinin seçimi, kullanımı ve bakımı. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, Kongre Kitabı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005:608-33.
7. Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D (eds) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Appendix-I). Laboratory Safety. Principles and Practices. ASM Press, 1995:293-354.
8. WHO (2004). Laboratory Biosafety Manual Third Edition WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11