

# Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Biyogüvenlik

Tamer ŞANLIDAĞ(\*), İbrahim TUĞLU(\*\*), Beril ÖZBAKKALOĞLU(\*)

(\*) Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Manisa

(\*\*) Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Manisa

## ÖZET

İnsanlarda hastalık oluşturan mikroorganizmaların izolasyonu ve identifikasyonunu takiben kısa süre içerisinde o mikroorganizmaya bağlı bir laboratuvar kaynaklı enfeksiyon meydana geldiği bilinmektedir. Mikroorganizmalarla çalışmak bilim adamları, sağlık çalışanları ve laboratuvar personeli ve aynı zamanda çevre için de tehlike oluşturmaktadır. Human immunodeficiency virus (HIV)'un yayılımı, süregelen hepatit B virusu (HBV) problemi ve tekrar ortaya çıkan Mycobacterium tuberculosis (MT) nedeni ile biyogüvenlik yeniden önem kazanmıştır. Dikkatsizlik, infekte materyalle çalışmada kullanılan yetersiz teknikler, iğne batma kazaları ve infekte aerosollere maruz kalma, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların ana nedenleridir. Biyogüvenlik, iyi mikrobiyolojik teknikler, güvenlik ekipmanları ve laboratuvar tasarımından oluşan bir temele bağlıdır. Biyogüvenlik programının ana kaynağı olan risk faktörleri rehberi, enfeksiyon ajanının kaynağı, patojenitesi ve bulaşma yolu ile çalışana bağlı risk faktörleri ve laboratuvar tasarımını içerir. Değişik hükümet ve yetkili kurumlarca yayınlanmış biyogüvenlik rehberlerine bağlılık, gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda enfeksiyon ajanlarına maruz kalma riskini azaltır. Buna karşın ülkemizde biyogüvenliğin önemi tam olarak anlaşılmamıştır. Bu nedenle çalışmamız, laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların kısa tarihçesi, nedenleri ve önlenmesi için alınacak tedbirler, biyogüvenlik düzeyleri ve çalışma yöntemlerini de içine alacak şekilde derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Laboratuvar kaynaklı enfeksiyonlar, biyogüvenlik düzeyleri

## SUMMARY

### Biosafety in Microbiology Laboratories

It has been well known that laboratory-acquired infections occurs in a short time period after isolation and identification of microorganisms. Working with microorganisms is a potential hazard for scientists, health care and laboratory workers, and also for the environment. The emergence of HIV, the continuing problem of HBV, and the reemergence of MT have renewed interest in biosafety. Carelessness, poor technique in the handling of infectious materials, needle-stick accidents or infectious aerosol exposure are the main cause of laboratory acquired infection. Biosafety is based on the combination of good microbiological techniques, safety equipments and facility design of the laboratory. Risk factors guideline which is the initial step in a biosafety program include the pathogenicity, the source and route of the infectious agent, worker-related risk factors, and the design of the laboratory facility. Adherence to the biosafety guidelines proposed by various governmental and accrediting agencies reduces the risk of an occupational exposure to infectious agents handled in the studies of well developed countries. Unfortunately, the importance of biosafety has not been well understood in our country. Therefore, this review examines the brief history, the causes, and the methods for prevention of laboratory-acquired infections including biosafety levels and working procedures.

Key Words: Laboratory-acquired infections, biosafety levels.

## GİRİŞ

İlk insanlar hastalıkların oluşumunu doğa üstü bir güce bağlayarak bunu Tanrı tarafından gönderilen bir ceza olarak kabul etmişlerdir (1). Mısırlılar ise hastalıkların temas yoluyla bulaştığına inanırlardı. Tıbbın babası Hippocrates hastalıkların miasma ve malaria denilen iki komponentten oluştuğunu, büyük İtalyan hekim ve şairi Girolamo Fracastoro 1546 yılında "contagium vivum" adını verdiği canlı bir aja-

nın bulaşıcı hastalıklara sebep olduğunu bildirmiştir (1, 2). 1676 yılında Antony van Leeuwenhoek bakterileri keşfederek tanımlamış olmasına rağmen, Bakterioloji 19. yüzyılın ortalarında Louis Pasteur'ün bilimsel çalışmalarıyla gerçek anlamda bir bilim olarak gelişmiştir (1,2). Bu dönemde Mikrobiyoloji'nin gelişmesini engelleyen en önemli sebeplerden birisi hastalık oluşturan bakterilerin saf kültürlerinin yapılamamasıydı.

Tablo 1. İlk laboratuvar kaynaklı infeksiyonlar

Buluş veya laboratuvar kaynaklı infeksiyon tarihi	OLAY
1676	Leeuwenhoek, bakterileri tanımladı
1857	Pasteur, laktik fermentasyonla ilgili bir makale yazdı
1866	Koch, mikroorganizmaların saf kültürünü elde etti.
1881-1884	Difteri etkeninin izolasyonu ve kültürü yapıldı
1898	Pipet ile, laboratuvar kaynaklı difteri infeksiyonu
1882	Koch, tüberküloz basilini izole etti
1883	Koch, kolera vibriyonunu izole etti
1894	Pipet ile, laboratuvar kaynaklı kolera infeksiyonu
1884	Gaffky, tifo basilini izole etti
1885	Bilinmeyen yolla, laboratuvar kaynaklı tifo infeksiyonu
1887	Bruce, Brucella melitensis'i izole etti
1887	Şiringa ile, laboratuvar kaynaklı Brucella infeksiyonu
1889	Kitasato, tetanoz basilini izole etti
1893	Şiringa ile, laboratuvar kaynaklı tetanoz infeksiyonu
1896	Gilchrist, Blastomyces dermatitidis'i tanımladı
1903	İğne batması ile, laboratuvar kaynaklı blastomikoz
1896	Schenk, Sporothrix schenckii'yi izole etti
1904	Şiringadan spreyle, laboratuvar kaynaklı sporotrikoz

Çünkü kullanılan besiyerleri sıvıydı ve bu durum karışık kültürlerden tek bir mikroorganizmanın elde edilmesi için uygun değildi (2). Robert Koch, önce-leri jelatinle daha sonraları ise agar agar kullanarak, steril tekniklerle, hastalıklara neden olan organizmaların izolasyonunu, kültürünü ve identifikasyonunu başarmış ve bu başarısı Tıp tarihindeki en büyük ilerlemelerden biri olarak kabul edilmiştir. Bu tarihten itibaren Mikrobiyoloji alanında birçok buluş yapılmış ancak insanlarda hastalık oluşturan mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonunu takiben 15 yıl içerisinde mikroorganizmalara bağlı laboratuvar kaynaklı infeksiyonlar meydana gelmiştir (Tablo 1) (2)

#### TARİHÇE

Rapor edilen laboratuvar kaynaklı ilk infeksiyon Fransa'da 1893 yılında yayınlanan ve kaza ile inokülasyon sonucu meydana gelen tetanoz infeksiyonudur. Amerika'da ise ilk laboratuvar kaynaklı infeksiyon 1903'de, sistemik blastomikozdan ölmüş bir hastanın otopsisinde sırasında bir doktorun kaza ile yaralanması sonucu meydana gelmiştir (2).

Laboratuvar kaynaklı infeksiyonlarla ilgili gerçek

Tablo 2. Yakın geçmişteki laboratuvar kaynaklı infeksiyonlar

Yıl	Olgu sayısı	İnfeksiyon	Bulaşma yolu
1915	50	Tifo	Ağızla pipetleme
1929	59	Tifo	
1930		Psittakoz	Aerosol
1940		Bruselloz	
1940	15	Q Ateşi	
1941	74	Bruselloz	
1947	47	Q Ateşi	
1949	13	Q Ateşi	
1949	227	Viral infeksiyon	İnfekte materyalin yüze sıçraması
1950	1342	Bruselloz, tifo, tularemi, tüberküloz, streptokok.	Bilinen yollarla bulaş %12
1962		Sovyet hemorajik ateşi	Aerosol
1965	641	Bruselloz, tifo, tularemi, hepatit, venedüella at ansefaliti	Bilinen yollarla bulaş %20
1967	428	Arbovirüs	Aerosol
1967	492	Mikoz	Aerosol
1969	2912		
1973	109		İğne batma kazası, aerosol, pipetleme
1976	3921	Arbovirüs	İğne batma kazası, aerosol, pipetleme
1978	4079		İğne batma kazası, aerosol, pipetleme
1980	818		Aerosol

anlamdaki araştırmalar, Almanya'da 1885-1915 yılları arasında meydana gelen laboratuvar kaynaklı 50 olgunun bildirilmesi ile başlamış ve yakın tarihimize kadar bu tür infeksiyonlar ve bulaşma yolları birçok araştırıcı tarafından rapor edilmiştir (Tablo 2).

ABD'deki klinik laboratuvarlarda mikroor-ganizmalarla direkt olarak çalışan sağlık personelinde laboratuvar kaynaklı infeksiyonlarının oranı % 0.5'tir (3). Bununla birlikte tüberküloz, şigeloz ve hepatit B gibi infeksiyonlar genel popülasyona göre laboratuvar personelinde daha yüksek oranlarda görölmektedir (4).

1970'li yılların sonlarında Pike (5), en sık görölen laboratuvar kaynaklı infeksiyonlar olarak bruselloz ve Q ateşi'ni bildirmesine rağmen günümüzde tüberküloz, hepatit B, hepatit C ve HIV/AIDS daha önemli bir yer tutmaktadır (6).

#### LABORATUVAR KAYNAKLI İNFEKSİYONLAR

##### a. Tüberküloz

Tüberkülozun laboratuvar kaynaklı infeksiyon olarak belirlenmesi oldukça güçtür (6). Bununla birlikte İngiltere, İsveç, Kanada, ve ABD'deki Tıp Fakülteleri ve laboratuvar çalışanlarında birçok tüberküloz olgusu tanımlanmıştır. İnfeksiyöz materyalle karşı karşıya olan laboratuvar personelinde olmayanlara göre 3 kat daha fazla aktif pulmoner tüberküloz görölmektedir (2). Harrington ve Shannon'a göre (7) klinik laboratuvarlarında çalışan sağlık personelinde tüberküloz riski genel popülasyona göre 5 kat daha fazladır. Benzer şekilde genel popülasyona göre hayvanlarla çalışanlarda tüberkülin konversiyonunun 25 misli daha fazla olduğu belirtilmektedir. İngiltere'de yapılan bir araştırmada laboratuvar kaynaklı tüberküloz infeksiyonu insidansının % 0.0035-0.056 arasında olduğu saptanmıştır (8). Müller (9) ise Almanya, İsviçre ve Avusturya'daki 77 tüberküloz laboratuvarında yaptığı araştırma sonucunda bu insidansın % 2.63 olduğunu bildirmiştir.

Laboratuvar kaynaklı 13 tüberküloz olgusu üzerinde yapılan bir araştırmada infekte olmuş laboratuvar personelinin direkt hava ile temas ettiklerinin farkında olmadıkları ve laboratuvar ekipmanının uygun bakımını bilmedikleri belirlenmiştir (10). Son yıllarda hızla artış gösteren AIDS epidemisinin tüberkü-

loz insidansını ve laboratuvarlarda Mycobacterium türleri ile çalışmayı arttırdığı ve böylelikle de laboratuvar kaynaklı tüberküloz olgularında ciddi bir artış gözlemlendiği bildirilmektedir (11).

##### b. Hepatit B

En sık görölen laboratuvar kaynaklı infeksiyonların başında HBV infeksiyonu gelmektedir (6,12). Bu nedenle Hepatit B virüsü tüm laboratuvar personelinin yakından ilgilendirmektedir. HBV insidansının normal popülasyona göre klinik laboratuvar personelinde 7 kat daha fazla olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (4,13). 1951 yılında laboratuvar kaynaklı HBV infeksiyonu 99 iken bu sayı 1978 yılında 268'e ulaşmıştır (2). ABD'de çalışan sağlık personelinde laboratuvar kaynaklı HBV infeksiyonu %0.34-0.46 arasında değişmektedir (14, 15).

HBV, kan nakli, mukozalara kan teması, yüksek miktarlarda virüs içeren materyalden veya infekte hayvanlardan laboratuvar personeline bulaşabilir (6). Peterson ve ark.larının (16) laboratuvar ortamında HBV'yi saptamaya yönelik yaptıkları çalışmada havadan alınan örneklerde HBsAg varlığını saptayamamalarına rağmen laboratuvar yüzeylerinden aldıkları örneklerin % 15'inde HBsAg'yi saptamışlardır. Benzer bir çalışmada ise laboratuvar yüzeylerinden alınan örneklerde HBsAg oranı % 34 olarak bildirilmiştir (17).

CDC (18) her yıl 5 milyon sağlık personelinin 18000'inin hepatit B olduğunu tahmin etmektedir. Bu olguların 12000'inin bağışıklık kazandığı, %10'unun taşıyıcı olduğu ve taşıyıcı olanlarda her yıl hepatit B'ye bağlı ölümlerin 250 civarında olduğu belirtilmektedir. HBV, kan, vücut sıvıları ve dokularda bulunur ve deri bütünlüğünün bozulması ve/veya mukoz membranlarla temas ve paranteral yolla bulaşmaktadır. Virüs, sekresyonlarda, serumda, infektif kanla kontamine yüzeylerde, test tüplerinde ve laboratuvar yüzeylerinde bulunabilmekte ve indirekt olarak da bulaşabilmektedir. İnfeksiyon riskini azaltmak için;

- 1) Sıkça el yıkamak
- 2) Eldiven ve koruyucu giysi kullanmak
- 3) Güvenlik ekipmanları kullanmak
- 4) Mükemmel bireysel korunma gibi spesifik önlenim kurallarının yanısıra HBV riski altındaki tüm labora-

tuvar personelinin aşılması önerilmektedir (19).

#### c. HIV/AIDS

AIDS'in ilk rapor edildiği Haziran 1981'den bu yana araştırmacılar yoğun olarak hastalık parametrelerini tanımlamak, risk gruplarını belirlemek, virüsün bulaşma yollarını saptamak, etken virüsü izole etmek, HIV antikollarını saptamak için tarama yöntemleri geliştirmek, vücut sıvılarında HIV antijenini saptamak, sağlık personeli için rehberler geliştirmek ve tehlikelere karşı risk gruplarını eğitmek için çalışmaktadır (2). HIV, primer olarak kan veya kan ürünleri, cinsel temas ve perinatal yolla bulaşır (20). Günümüzde sağlık personeli için en riskli durum çalışma ortamında kontamine kan ve vücut sıvılarına maruz kalarak HIV ile infekte olmaktır. En sık görülen bulaş yolu iğne batma yaralanmasıdır (% 80). Kan ve vücut sıvılarına maruz kalmanın diğer yolları ise kesici aletlerle yaralanma (% 8), açık yaranın kontamine olması (% 6) ve mukoz membranların kontaminasyonudur (6). CDC'nin Eylül 1992'ye kadar olan HIV/AIDS vakalarını bildirdiği raporda laboratuvar personeli (% 25) ve hemşireler (% 26) gibi en yüksek bulaş oranına sahiptir (21).

İnfekte kanla temas sonrası HIV enfeksiyonunun rölatif riski % 0.25-0.30 arasındadır (22, 23). Ancak, serokonversiyon riski fazla miktarda kan veya yüksek konsantrasyonlarda virüs inoküle edildiğinde artmaktadır (%21) (23). Bu yüzden kan ve vücut sıvıları ile çalışırken HBV'de alınan önlemler HIV'de de uygulanmalıdır.

Tüm önlemler ve rehberlere rağmen laboratuvar kaynaklı enfeksiyonların en önemli ögesi olan iğne batması, dünyada bildirilen laboratuvar kaynaklı 25 HIV enfeksiyonunun 16'sından sorumlu bulunmuştur (24).

#### d. Hepatit C

Çalışma ortamında kanla direkt temas halinde olan sağlık personeli kanla geçen patojenlerle infekte olma riski altındadırlar. HCV enfeksiyon riski tam olarak bilinmemesine rağmen % 2-10 arasında olduğuna inanılmaktadır (6). Ancak ortopedist, genel cerrah ve diş hekimi gibi sağlık personelinde HCV enfeksiyonu prevalansı genel popülasyondan fazla değildir (% 1-2) ve HBV enfeksiyonundan 10 kat daha az gö-

rülmektedir (25, 26, 27).

HCV enfeksiyonunun risk faktörlerinin değerlendirildiği çalışmalarda iğne batma yaralanmasının tek risk faktörü olduğu belirlenmiştir (28). HCV-pozitif bir kaynaktan iğne batma kazası sonrası anti-HCV serokonversiyonu insidansı % 1.8 (% 0-% 7)'dir (29-33).

Her ne kadar bütünlüğü bozulmamış deriden veya mukoz membranlar yolu ile bulaşma bildirilmemişse de konjunktivaya kan sıçraması ile bulaş olduğu tanımlanmıştır (34).

Kanla bulaşan patojenlerin bulaş yolları ve önlenmesi konusunda sağlık personelinin eğitilmesi gerekmektedir. Kanla teması önlemek için güvenli ekipmanla çalışma ve standart önlemler uygulanmalıdır. Bunun yanı sıra tüm sağlık personeli aseptik teknikler ve el yıkama, koruyucu bariyerler ve kesici-delici aletlerin dikkatli kullanımı gibi standart önlemlere uymalıdır.

### BİYOGÜVENLİK DÜZEYLERİ

#### a. BİYOGÜVENLİK DÜZEYİ 1

Biyogüvenlik düzeyi 1, sağlıklı erişkinlerde hastalık yapmadığı bilinen, iyi tanımlanmış ajanları içeren ve laboratuvar personeli ile çevre için çok düşük tehlike potansiyeline sahip olan çalışmalarda geçerlidir. BGD 1'de laboratuvarın, binanın genel insan trafiğinden ayrılması gerekmemektedir. Çalışmalar, genelde üstü açık bankolarda yapılır. Laboratuvarında özel birtakım daimi ekipman veya özel bir yerleşim şekli gerekmemektedir. Laboratuvar personeli laboratuvarında yürütülen işlemler konusunda özel bir eğitime sahiptir ve Mikrobiyoloji veya ilgili bir bilim dalında genel eğitim almış bir öğretim üyesinin gözetimi altındadır (27).

#### A. Standart Mikrobiyolojik Uygulamalar

1. Deneyler yapılırken laboratuvara girişler laboratuvar sorumlusunun bilgisiyle ve yetkisiyle sınırlanır veya yasaklanır.
2. İnfeksiyöz maddeler ve hayvanlara dokunanlar ellerini yıkar ve laboratuvarından çıkarken dekontaminasyon duşunu alarak çıkarlar.
3. Laboratuvarında yemek, içmek, sigara kullanmak,

kontakt lenslerle uğraşmak, kozmetik kullanımı kesinlikle yasaktır. Laboratuvarında kontakt lens kullanan kişiler aynı zamanda maske veya göz kalkanı kullanmalıdır. Yiyecekler, bu amaç için ayrılmış kabin veya buzdolaplarında çalışma bölgesinin dışında saklanabilir.

4. Ağızla pipetleme yasaktır yalnızca mekanik pipetleme kullanılabilir.

5. Aerosollerin oluşma olasılığını minimuma indirmek için tüm işlemler dikkatle uygulanır.

6. Tüm yüzeyler günde en az bir kez dekontamine edilir, hastalık yapıcı materyalin saçılması durumunda derhal dekontamine edilir.

7. İnsekt ve kemirgen kontrol programı uygulanır.

8. Çalışma sırasında önlük giyilmelidir.

#### B. Özel Uygulamalar

1. Dekontamine edilecek materyal kapaklı ve sızdırmaz kaplarda toplanır. Bu kaplar laboratuvar dışına çıkmadan önce kapakları kapatılır.

#### C. Güvenlik Ekipmanları (Primer Bariyerler)

Genellikle gerekli değildir.

#### D. Laboratuvar Tasarımı (Sekonder Bariyerler)

1. Kolay temizlenebilmelidir.

2. Bankolar su geçirmez olmalı ve asit, alkali, organik çözücüler ve ısıya dayanıklı olmalıdır.

3. Eşyalar arasında yeterince boşluk olmalıdır.

4. Açılabilen pencereler varsa sinek teli takılmış olmalıdır.

#### b. BİYOGÜVENLİK DÜZEYİ 2

Biyogüvenlik düzeyi 2, BGD 1'e benzer ve çalışan personel ile çevreye orta düzeyli tehlike potansiyeli içeren ajanlarla yapılan uygulamalarda geçerlidir (35). Farklı olduğu konular şunlardır (27, 36, 37) ;

a) Laboratuvar personeli patojenik ajanlarla çalışma konusunda özel bir eğitime sahiptir ve o konunun uzmanı öğretim üyelerince yönlendirilir.

b) Çalışma sırasında laboratuvara giriş-çıkış sınırlandırılır.

a) Kontamine olmuş ucu sivri araçlar için üst düzey

önlemler alınır.

b) İnfekte aerosollerin ve sıvıların oluşabileceği belirli işlemler biyolojik güvenlik kabinlerinde veya benzer koşullarda yürütülür.

#### A. Standart Mikrobiyolojik Uygulamalar

1. Deneyler yapılırken laboratuvara girişler laboratuvar sorumlusunun bilgisiyle ve yetkisiyle sınırlandırılır veya yasaklanır.

2. İnfeksiyöz maddeler ve hayvanlara dokunanlar ellerini yıkar ve laboratuvarından çıkarken dekontaminasyonunu alarak çıkarlar.

3. Laboratuvarında yemek, içmek, sigara kullanmak, kontakt lenslerle uğraşmak, kozmetik kullanımı kesinlikle yasaktır. Laboratuvarında kontakt lens kullanan kişiler aynı zamanda maske veya göz kalkanı kullanmalıdır. Yiyecekler, bu amaç için ayrılmış kabin veya buzdolaplarında çalışma bölgesinin dışında saklanabilir.

4. Ağızla pipetleme yasaktır yalnızca mekanik pipetleme kullanılabilir.

5. Aerosollerin oluşma olasılığını minimuma indirmek için tüm işlemler dikkatlice uygulanır.

6. Tüm yüzeyler günde en az bir kez dekontamine edilir, hastalık yapıcı materyalin saçılması durumunda derhal dekontamine edilir.

7. İnsekt ve kemirgen kontrol programı uygulanır.

#### B. Özel Uygulamalar

1. Dekontamine edilecek materyal kapaklı ve sızdırmaz kaplarda toplanır. Bu kaplar laboratuvar dışına çıkmadan önce kapakları kapatılır.

2. Laboratuvar sorumlusu giriş ve çıkışları kısıtlayabilir (ör. yüksek riskli bireyler).

3. Laboratuvar sorumlusu çalışan kişileri olası riskler konusunda uyarır ve gerekli önlemleri almış kişilerin (ör. aşılınmış) çalışmasına izin verir.

4. Çalışılan materyal özel önlemler alınmasını gerektiriyorsa bu durum kapıya yapıştırılan "Biyozarar" işareti ile belirtilir. Bu işaretin altında infeksiyöz ajanın adı, laboratuvar sorumlusunun adı, telefon numarası ve laboratuvara girmek için gerekli koşullar

yer alır.

5. İnsekt ve kemirgen kontrol programı uygulanır.
6. Çalışmalar sırasında önlük giyilir ve dışarıya çıkarken (ör. kafeterya, kütüphane) önlük mutlaka çıkarılır.
7. Çalışmalar sırasında eldiven giyilir.
8. Tüm atıklar atılmadan önce dekontamine edilir.
9. Laboratuvarda gerekmedikçe sivri uçlu ve kesici cisimler (ör. şırınga) kullanılmaz. Kullanılan bu tür cisimler delinmeye dirençli kaplarda toplanır. İğne kapakları kesinlikle geri takılmaz.
10. İnfeksiyöz materyale maruz kalma ile sonuçlanabilecek her türlü kaza (ör. tüp kırılması, dökülme vb.) sorumluya bildirilir. Medikal değerlendirme, izleme ve tedavi başlatılır. Olayın yazılı kayıtları tutulur.
11. Gerekli durumlarda çalışanlardan belirli aralıklar ile serum örnekleri alınır ve saklanır.
12. Bir biyogüvenlik el kitabı hazırlanır. Bu kitabı tüm çalışanların okuması ve anlaması sağlanır. Uygulamalar denetlenir.

#### C. Güvenlik Ekipmanı (Primer Bariyerler)

Sınıf I yada II güvenlik kabinleri gerekli ise diğer güvenlik gereçleri şu koşullar varsa kullanılmalıdır.

1. İnfeksiyöz aerosoller oluşturacak işlemlerin yapılmasında (ör. santrifüjleme, vorteksleme, sonik parçalama).
2. Yüksek konsantrasyonlarda yada büyük hacimlerde infeksiyöz ajanların kullanılmasında. Bu tür materyaller için kapaklı tüpler ya da güvenlik kapakları olan santrifüjlerde döndürülmeleri halinde açık bankalarda işlemlenebilir. Ancak tüp kapakları kabin içinde açılmalıdır.

#### D. Laboratuvar Tasarımı (Sekonder Bariyerler)

1. Kolay temizlenebilmelidir.
2. Bankolar su geçirmez olmalı ve asit, alkali, organik çözücüler ve ısıya dayanıklı olmalıdır.
3. Eşyalar arasında yeterince boşluk olmalıdır.
4. Açılabilen pencereler varsa sinek teli takılmış ol-

malıdır.

5. Her laboratuvarında el yıkamak için ayakla, dirseklerle yada otomatik olarak kumanda edilebilen lavabo olmalıdır.
6. İnfeksiyöz ajanların dekontaminasyonu için bir otoklav bulunmalıdır.

#### c. BİYOGÜVENLİK DÜZEYİ 3

Biyogüvenlik düzeyi 3, tüm kliniklere, tanı, eğitim, araştırma ve üretim yapan kurumlara uygundur. Uygulanan çalışmalar, inhalasyonla vücuda girdiğinde oldukça ciddi ve öldürücü klinik tablolar yaratan, tehlikeli ve fazla bilinmeyen ajanlarla yapılır (27). Laboratuvar personeli patojenik ve öldürücü potansiyeldeki ajanlar konusunda özel bir eğitime sahiptir ve bu ajanlar konusunda tecrübeli öğretim üyelerinin gözetimi altındadır.

İnfekte materyal ile çalışılan tüm işlemler biyolojik güvenlik kabinlerinde veya benzer fiziksel koşullarda yada uygun koruyucu giysiler giyen personel tarafından yürütülür. Laboratuvarın tasarımı ve yerleşimi özeldir (38).

Bununla birlikte bugün için birçok kurumda BGD 3 için söylenen önlemlerin olmadığı görülmektedir (örneğin giriş-çıkış bölgesi, hava akımının yönlendirilmesi vb). Bu gibi durumlarda gerekli güvenliği sağlamak için BGD 2'ye uygun kurumlardaki rutin ve tekrarlayan işlemler (örneğin bir ajanın identifikasyonu, tiplendirilmesi ve duyarlılık testleri) uygulanır. Yine de önerilen standart mikrobiyolojik uygulamalar, özel uygulamalar ve BGD 3 için güvenlik ekipmanı ciddiyetle takip edilmelidir. BGD 3 içeriğinde böylesi bir değişikliği uygulama kararını yalnız laboratuvar sorumlusu verebilir (38, 39).

#### A. Standart Mikrobiyolojik Uygulamalar

1. Deneyle yapılırken laboratuvara girişler laboratuvar sorumlusunun bilgisiyle ve yetkisiyle sınırlandırılır veya yasaklanır.
2. İnfeksiyöz maddeler ve hayvanlara dokunanlar ellerini yıkar ve laboratuvarından çıkarken dekontaminasyon duşunu alarak çıkarlar.
3. Laboratuvarında yemek, içmek, sigara kullanmak, kontakt lenslerle uğraşmak, kozmetik kullanımı ke-

sinlikle yasaktır. Laboratuvarında kontakt lens kullanan kişiler aynı zamanda maske veya göz kalkını kullanmalıdır. Yiyecekler, bu amaç için ayrılmış kabin veya buzdolaplarında çalışma bölgesinin dışında saklanabilir.

4. Ağızla pipetleme yasaktır yalnızca mekanik pipetleme kullanılabilir.

5. Aerosollerin oluşma olasılığını minimuma indirmek için tüm işlemler dikkatlice uygulanır.

6. Tüm yüzeyler günde en az bir kez dekontamine edilir, hastalık yapıcı materyalin saçılması durumunda derhal dekontamine edilir.

7. İnsekt ve kemirgen kontrol programı uygulanır.

#### B. Özel Uygulamalar

1. Deneyle sırasında kapılar kapatılmalıdır.

2. Dekontamine edilecek materyal kapaklı ve sızdırmaz kaplarda toplanır. Bu kaplar laboratuvar dışına çıkmadan önce kapakları kapatılır.

3. Laboratuvar sorumlusu giriş ve çıkışları kısıtlayabilir (ör. yüksek riskli bireyler).

4. Laboratuvar sorumlusu çalışan kişileri olası riskler konusunda uyarır ve gerekli önlemleri almış kişilerin (ör. aşılınmış) çalışmasına izin verir.

5. Çalışılan materyal özel önlemler alınmasını gerektiriyorsa bu durum kapıya yapıştırılan "Biyozarar" işareti ile belirtilir. Bu işaretin altında enfeksiyöz ajanın adı, laboratuvar sorumlusunun adı, telefon numarası ve laboratuvara girmek için gerekli koşullar yer alır.

6. Tüm çalışmalar güvenlik kabinlerinde yapılmalıdır.

7. Tüm çalışma yüzeyleri (güvenlik kabinleri dahil) çalışmadan sonra dekontamine edilmelidir.

8. İnsekt ve kemirgen kontrol programı uygulanır.

9. Laboratuvar önlükleri yalnızca laboratuvarında giyilmeli ve yıkamadan önce dekontamine edilmelidir.

10. Çalışmalar sırasında eldiven giyilir.

11. Tüm atıklar atılmadan önce dekontamine edilir.

12. Laboratuvarında gerekmedikçe sivri uçlu ve kesici cisimler (ör. şırınga) kullanılmaz. Kullanılan bu tür cisimler delinmeye dirençli kaplarda toplanır. İğne kapakları kesinlikle geri takılmaz.

13. Enfeksiyöz materyale maruz kalma ile sonuçlanabilecek her türlü kaza (ör. tüp kırılması, dökülme vb.) sorumluya bildirilir. Medikal değerlendirme, izleme ve tedavi başlatılır. Olayın yazılı kayıtları tutulur.

14. Çalışan kişilerden ilk işe başladıklarında ve daha sonra belirli aralıklar ile serum örnekleri alınıp saklanmalıdır..

15. Bir biyogüvenlik el kitabı hazırlanır. Bu kitabı tüm çalışanların okuması ve anlaması sağlanır. Uygulamalar denetlenir.

#### C. Güvenlik Ekipmanı (Primer Bariyerler)

Aerosol oluşumuna yol açabilecek tüm uygulamalarda (ör. petri kutularının açılması vb.) Sınıf I, II yada III güvenlik kabinleri kullanılmalıdır.

#### D. Laboratuvar Tasarımı (Sekonder Bariyerler)

1. Laboratuvar, trafiğin yoğun olduğu bölgelerden uzağa kurulmalıdır. Laboratuvara giriş için en az 2 kapıdan geçilmesi sağlanmalıdır.

2. Laboratuvarın tüm iç yüzeyi (yerler, duvarlar, tavan) su geçirmez malzeme ile kaplanmış olmalıdır.

3. Bankolar su geçirmez olmalı ve asit, alkali, organik çözücüler ve ısıya dayanıklı olmalıdır.

4. Eşyalar arasında yeterince boşluk olmalıdır.

5. Her laboratuvarında el yıkamak için ayakla, dirseklerle yada otomatik olarak kumanda edilebilen lavabo olmalıdır.

6. Tüm pencereler açılmaz biçimde yapılmış olmalıdır.

7. Laboratuvar giriş kapısı itme ile açılabilen ve kendi kendine kapanabilen tipte olmalıdır.

8. Laboratuvar içinde dekontaminasyon için otoklav bulunmalıdır.

9. Yönlendirilmiş havalandırma sistemi olmalıdır. Hava temiz bölümlerden laboratuvar içine girmeli ve buradan doğrudan doğruya dış ortama verilmelidir. Dışarıya verilen havanın filtre edilmesi yada başka türlü işlemlerden geçirilmesi gerekli değildir.

10. Güvenlik kabinleri içindeki hava HEPA filtrelerden geçtikten sonra ya doğrudan dışarıya yada havalandırma sistemine verilmelidir.

#### d. BİYOGÜVENLİK DÜZEYİ 4

Biyogüvenlik düzeyi 4, aerosol ile geçen laboratuvar enfeksiyonları ve hayatı tehdit edici hastalık oluşturan yüksek riskli tehlikeli ve ekzotik ajanlarla çalışmalarda gereklidir. Biyogüvenlik düzeyi 4 ajanlarıyla benzer antijenik ilişkisi olan ajanlarda ise, yeterli bilgi elde edilene ve daha alt düzeyde güvenliğin yeterli olduğu ispatlanana kadar bu seviyede çalışılmaktadır. Laboratuvar personeli aşırı zararlı enfeksiyöz ajanların kullanımını ve taşınımını ile ilgili yoğun şekilde eğitilmeli, laboratuvar tasarım özelliklerini, taşıma teçhizatını ve özelliklerini bilmelidir. Bu personel bu ajanlarla çalışan bilim adamlarının denetimi altında çalışmalıdır. Laboratuvara giriş, laboratuvar direktörü tarafından sıkı biçimde kontrol edilmelidir. Alan ya ayrı binadır veya bir binada diğer bölgelerden tamamen izole edilmiş biçimde bulunmalıdır. Özgün bir bina kullanım el kitabı hazırlanmalıdır.

Binanın çalışma bölgelerinde tüm aktiviteler Sınıf III biyolojik güvenlik kabinlerinde veya yaşam destek sistemiyle havalandırılan, tek parçalı pozitif basınçlı personel giysisi kullanılan Sınıf II biyogüvenlik kabinlerinde gerçekleştirilir. Mikroorganizmaların çevreye yayılmalarının önlenmesi amacıyla biyogüvenlik düzeyi 4 laboratuvarları, özel mühendislik ve tasarım özelliklerine sahiptir (27).

Aşağıdaki standart işlemler, özel güvenlik uygulama malzemeleri ve binaları, BGD 4 düzeyinde çalışılan ajanlarda uygulamalara ait standartlardır.

##### A. Standart Mikrobiyolojik Uygulamalar

1. Deneyle yapılırken, laboratuvara girişler laboratuvar sorumlusunun bilgisiyle ve yetkisiyle sınırlandırılır veya yasaklanır.
2. İnfeksiyöz maddeler ve hayvanlara dokunanlar ellerini yıkar ve laboratuvardan çıkarken dekontaminasyon duşunu alarak çıkarlar.
3. Laboratuvarda yemek, içmek, sigara kullanmak, kontakt lenslerle uğraşmak, kozmetik kullanımı kesinlikle yasaktır. Laboratuvarda kontakt lens kullanan kişiler aynı zamanda maske veya göz kalkanı kullanılmalıdır. Yiyecekler, çalışma bölgesinin dışında bu amaç için ayrılmış kabin veya buzdolaplarında saklanır.
4. Ağızla pipetleme yasaktır yalnızca mekanik pipetleme kullanılabilir.

petleme kullanılabilir.

5. Aerosollerin oluşma olasılığını minimuma indirmek için tüm işlemler dikkatlice uygulanır.
6. Tüm yüzeyler günde en az bir kez dekontamine edilir, hastalık yapıcı materyalin saçılması durumunda derhal dekontamine edilir.
7. İnsekt ve kemirgen kontrol programı uygulanır.

##### B. Özel Uygulamalar

1. Bina veya özel belli laboratuvar odalarında program veya destek amaçlı bulunması gerekenlerin girmesine izin verilir. İnfeksiyonlar açısından immün bütünlüğü bozulmuş veya immün süprese hastalar risk altındadırlar. Çocuklar veya hamileler gibi özellikle zarar görecekt bireylerin laboratuvar veya hayvan odalarına girmeleri yasaktır. Laboratuvar sorumlusu veya direktörünün her durumu değerlendirme ve işe veya laboratuvara kimlerin girebileceğini belirleme yetkileri vardır. Bölgeye giriş güvenlik, kilitli kapılarla sınırlandırılır. Girişler, laboratuvar direktörü, biozararlı maddeler kontrol memuru veya bölgenin fiziksel güvenliğinden sorumlu bir başka kişi tarafından kontrol edilir. Girişten önce; kişiler potansiyel biozararlı maddelerle, onların güvenliklerine dair ve acil durumlardaki davranışlarla ilgili bilgilendirilir. Giriş ve çıkış işlemleri yetkili kişilerce uygulanır. Tüm personel tarafından imza edilen bir kayıt defteri tüm giriş ve çıkışların gün ve saatini belirtir, kaydeder. Acil durumlar için pratik ve etkin protokoller belirlenir.

2. Laboratuvar veya hayvan odalarında enfeksiyöz maddeler veya infekte hayvanlar mevcutsa, evrensel biyolojik zarar sembolü tüm giriş kapılarının üzerinde bulunur. Tabelada ajanın tanımı, laboratuvar direktörü veya diğer sorumlu kişi veya kişilerin isimleri ve bölgeye girişte gerekli olan özel gereksinimleri (aşılama veya respiratörle giriş) belirtilir.

3. BGD 4'deki organizmalarla çalışmadan önce laboratuvar direktörü tüm personelin standart mikrobiyolojik pratik ve teknikleri başarıyla uyguladığından ve laboratuvarın kendi tasarımına uygun özgül bazı özel pratik ve işlemleri başarılı bir şekilde uygulayabileceklerinden emin olmalıdır. İnsan patojenleri ile ilgili o personelin önceki dene-



yimleri ile ilişkili bir bilgi veya önceden bir laboratuvar direktörü veya eşdeğer bilim adamlarınca verilmiş özel bir eğitim önemlidir.

4. Uğraşılacak ajanlar veya laboratuvardaki potansiyel tehlikeli olanlara karşı laboratuvar personeline uygun immunizasyon uygulanır.

5. Tüm laboratuvar personeli veya diğer risk altındaki kişilerin bazal değer serum örnekleri toplanıp depolanır. Laboratuvarın işlevine bağlı olarak uğraşılacak ajanlara da bağlı şekilde ek serum örnekleri periyodik olarak istenebilir. Her toplama intervalinde antijenlere karşı oluşmuş antikor düzeyleri değerlendirilerek sonuçlar ilgili kişilere iletilir.

6. Bir biyogüvenlik el kitabı hazırlanır. Personel özel zararlar hakkında bilgilendirilir, onların bu el kitabını okumaları ve talimatlara göre hareket etmeleri sağlanır.

7. Yapılan işle ilgili olarak laboratuvar personeli olası zararlara karşı uygun bir eğitim alır. Eğitim, temasın engellenmesine dair önlemler ve temas değerlendirme prosedürlerini içerir. Personel yıllık güncelleştirmelerle bilgilendirilir veya prosedürel değişiklikler durumunda ek eğitim gereklidir.

8. Personel yalnızca giyinme, soyunma ve duş odaları yoluyla binaya girip çıkabilir. Çıkışlarda daima duş alınır. Personel ancak acil bir durumda laboratuvara giriş ve çıkış için hava kilitlerini kullanır.

9. Kişisel giysiler dış giysi değişim odasında çıkarılır ve orada saklanır. İç giyim, ayakkabı, eldiven gibi tam bir laboratuvar giysisi bölgeye giriş çıkışta tüm personel tarafından kullanılır. Laboratuvarı terk ederken ve duş bölgesine gitmeden önce iç değişim odasında laboratuvar giysisi çıkartılır. Yıkamaya verilmeden önce kullanılmış malzemeler otoklavlanır.

10. Çalışma bölgesinde ihtiyaç olunan malzeme çift kapılı otoklav, fumigasyon çemberi veya hava kilidi yoluyla girer ve her kullanımdan önce ve sonra uygun dekontaminasyonu yapılır. Dış kapılar kapandıktan sonra bölgenin içindeki personel otoklavın fumigasyon çemberi veya hava kilidinin iç kapılarını açarak girişini sağlar. Bölgeye girişten sonra bu kapılar da kapatılır.

11. Tüm sivri cisimlerin kontaminasyonunda azami dikkat gerekir. Parenteral enjeksiyon, flebotomi, laboratuvar hayvanlarından sıvı aspirasyonu veya diafram şişeleri gibi alternatifin olmayacağı durumlar dışında iğne, şırınga ve diğer sivri aletlerin girişine izin verilmez. Her maddede plastik alternatif aranmalı ve kullanılmalıdır.

a) Yalnız iğne kilitlemeli şırıngalar veya atılan iğne şırıngalar (iğnenin şırıngayla bütün olduğu maddeler) infeksiyöz maddelerin aspirasyon veya enjeksiyonunda kullanılır. Atılmadan önce kullanılmış iğneler ile oynanmamalı (bükme, koparma) ve sivri uçlu maddeler delinmeye dirençli kutulara dikkatlice atılmalıdır. Atılmayan sert maddeler, transport için sert cidarlı konteynerlere konmalı ve dekontaminasyon için gideceği işlem bölgesine böyle götürülmelidir. Dekontaminasyonlarında otoklavlama tercih edilmelidir.

b) Mümkün olduğunca iğnesiz şırıngalar veya iğnenin basitçe değiştirildiği şırıngalar kullanılır.

c) Kırılmış cam; fırça, kürek veya forseps ile alınmalı asla doğrudan müdahale edilmemelidir. Yerel hükümet, bakanlık veya federal kurallara uygun olarak kontamine iğne veya kırılmış cam içeren kutular atılmadan önce dekontamine edilir.

12. Bir besiyeri veya korumalı durumda BGD 4 veya sınıf III kabinden uzaklaştırılacak biyolojik maddeler önce kırılmaz mühürlenmiş (izole edilmiş) primer konteynere daha sonra kırılmaz ve dışarıdan izole ikinci konteynere alınır. Bunlar ise bu amaç için tasarlanmış dezenfektan tankı, fumigasyon çemberi veya hava kilidi aracılığıyla bölgeden çıkarılır.

13. Otoklavlanmadan veya dekontamine olmadan, besiyeri veya intakt durum haricindeki hiçbir materyal BGD 4 laboratuvarından çıkartılmaz. Yüksek ısı veya buhar ile hasarlanacak bir materyal bunun yerine özgül biçimde tasarlanmış gazlı veya buharlı metot ile çalışan bir hava kilidi veya çemberde dekontamine edilir.

14. İnfeksiyöz materyallerle çalışma bitirildiğinde, laboratuvar aleti rutin olarak dekontamine edilir (özellikle infeksiyöz materyalle bulaş varsa). Kontaminasyon aletinin kendisi de tamir veya bakıma gön-

derilmeden önce dekontamine edilir.

15. İnfeksiyöz madde döküntüleri, bu konuda bilgili ve deneyimli personelce uygun şekilde temizlenir.

16. Laboratuvar kazaları, temaslar ve çalışanların yokluğunun bildirileceği bir sistem kurulmalıdır. Yazılı kayıtlar tutulmalı ve saklanmalıdır. Böylece bir bildirim sisteminin en hayati konusu olan potansiyel veya bilinen bir laboratuvar kaynaklı hastalık durumunda standart karantina, izolasyon ve tıbbi bakım imkanlarının belirlenmesi sağlanır.

17. Deneyle herhangi bir ilgisi olmayan bitki, hayvan, giyecek veya herhangi bir materyal bölgeye sokulmamalıdır.

#### C. Güvenlik Ekipmanı (Primer Bariyerler)

1. BGD 4 ile ilişkin tüm ajanlarla ilgili tüm işlemler, sınıf II veya sınıf III güvenlik kabinlerinde, yaşam destek sistemiyle ventilasyonu sağlanan, tek parçalı, pozitif basınçlı personel giysisiyle uygulanabilir.

BGD 4 ikincil içeriklerini içeren viral ajanlarla yapılan aktiviteler bölge içindeki sınıf II güvenlik kabinlerinde uygulanabilir. Eğer:

- a) bölge, tesis dekontamine edilmişse
- b) BGD 4 ile ilgili başka bir ajanla çalışma yapılmıyorsa
- c) Tüm personel spesifik ajan için immünize edilmiş, koruyucu antikor seviyeleri gösterilmişse
- d) Diğer tüm standart ve özel pratikler izlenmişse, tek parçalı giysi olmaksızın uygulanabilir.

2. Tüm personelin iç giyim, ayakkabı, eldiveni de içeren tam bir laboratuvar giyimi olmalıdır. Duştan önce ve laboratuvarı terkederken tüm kişisel koruyucu ekipman çıkartılır.

#### D. Laboratuvar Tasarımı (Sekonder Bariyerler)

1. BGD 4 binası (bölgesi) ya ayrı bir binadır veya binanın içinde sınırları belirgin biçimde belirtilip izole edilmiş bir alandır. Kişisel giriş çıkışların yapıldığı iç ve dış odalar bir duş ile ayrılır. Değişim odaları üzerinden gelmeyen teçhizatlar için çift kapılı otoklav, fumigasyon çemberi veya ventile hava kilidi vardır.

2. Binanın taban, tavan ve duvarları fumigasyon ya-

ratan ve hayvan ve haşaratı geçirmeyen bir iç tabakayla örtülür. Bu tabakanın iç yüzeyleri binanın temizleme ve dekontaminasyonuna olanak verir şekilde sıvı ve kimyasallara dirençlidir. Bu yapı ve yüzeylerdeki tüm delikler örtülmüştür. Drenaj boşlukları birbiriyle birleşip sıvı atık dekontaminasyon sistemine bağlanır ve hedef ajana etkin dezenfektanla doldurulmuştur. Havalandırma sistemi HEPA filtre içerir.

3. İç binadaki lamba, hava borusu ve su boruları ayarlanarak toz birikimi için minimum yüzey yaratılması ve kolay dekontaminasyona olanak vermesi sağlanır.

4. Bankoların yüzeyi pürüzsüz olup asit, alkali organik çözücü ve orta ısıya dirençlidir.

5. Laboratuvarın mobilyaları basit, kırılmaz olup kolay temizliğe izin verir şekilde aralıklı yerleşmiş ve yüzeyleri ona göre ayarlanmıştır.

6. Binadaki her laboratuvarın kapısının yanına bir el, dirsek veya en güzeli otomatik çalışan el yıkama kabı konmalıdır.

7. Bir merkezi vakum sistemi varsa binanın dışındaki bölgeler için çalıştırılmamalıdır. Her kullanım noktasına mümkün olduğunca yakın olmak üzere HEPA filtresi konur. Binaya sıvı veya gaz girişi geri akımı önleyici aletlerle korunur olmalıdır.

8. Eğer su içme aletleri konulacaksa bunlar ayakla çalıştırılanlardan olmalı ve laboratuvar dışı koridorlarda bulunmalıdır. Su çeşmesine gelen su, laboratuvara su dağıtan geriye kaçma korumalı sisteme bağlanmamalıdır.

9. Laboratuvara giriş kapıları kendinden kapanmalı ve kilitlenebilir olmalıdır.

10. Tüm pencereler kırılmaya karşı dirençli olmalıdır.

11. Yapının dışına dekontamine olan maddelerin çıkartılmasında çift kapılı otoklav kullanılmalı. Otoklavın dış kapısı dış duvarla örtülü olmalı ve otomatik olarak kontrol edilmelidir (dış kapının sterilizasyon siklusu bitmeden açılmaması için).

12. İçinden geçirilmeli havuz, fumigasyon çemberi

veya eşdeğer tekniklerle otoklavlanamayan materyaller binadan güvenli bir şekilde çıkartılmalıdır.

13. Laboratuvar lavaboları, biyolojik güvenlik kabinleri, eğer kullanılıyorsa drenaj kanalları ve otoklav çemberlerinden gelen sıvı dışarı akımlar, sanitasyon çıkışına alınmadan önce ısıyla dekontamine edilmelidir. Fiziksel ve biyolojik olarak, devamlı ısı

takibi yapabilecek gereçlerle hedef organizmaların ısıya hassasiyet dereceleri bilinmelidir.

14. Havanın tekrar dolaşıma verilmediği bir havalandırma sistemi sağlanmalıdır. Aletin destek ve çıkış parçalarının az zarar riski olan bölgeden en riskli bölgelere doğru doğrusal olarak hava akımı gönderilecek şekilde dengelenir. Bu farklı bölgeler arasında

Tablo 3. Bakterileri (Mikoplazmalar dahil) için önerilen biyogüvenlik düzeyleri

Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi	Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2	<i>Mycobacterium africanum</i>	2-3
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2	MAIS kompleksi	3
<i>Actinomyces</i> spp.	2	<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	2-3
<i>Actinobacillus</i> spp.	2	<i>Mycobacterium chelonae</i>	2-3
<i>Aeromonas hydrophilia</i>	2	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	3
<i>Arachnia propionica</i>	2	<i>Mycobacterium kansasii</i>	3
<i>Bacillus anthracis</i>	2-3	<i>Mycobacterium leprae</i>	2-3
<i>Bacillus cereus</i>	1	<i>Mycobacterium marinum</i>	2-3
<i>Bacillus subtilis</i>	2	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	2-3
<i>Bacteroides</i> spp.	2	<i>Mycobacterium simiae</i>	2-3
<i>Bartonella bacilliformis</i>	2	<i>Mycobacterium szulgai</i>	3
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	2	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3
<i>Bordetella pertussis</i>	2-3	<i>Mycobacterium ulcerans</i>	2-3
<i>Borrelia</i> spp.	2-3	<i>Mycobacterium xenopi</i>	2-3
<i>Brucella</i> spp.	3	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2-3
<i>Campylobacter fetus</i>	2-3	<i>Neisseria</i> spp.	2-3
<i>Chlamydia</i> spp.	2-3	<i>Nocardia</i> spp.	2-3
<i>Clostridium botulinum</i>	2-3	<i>Pasteurella</i> spp.	2-3
<i>Clostridium chauvoei</i>	2-3	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2
<i>Clostridium difficile</i>	2	<i>Proteus</i> spp.	2
<i>Clostridium sordellii</i>	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
<i>Clostridium</i> spp.	2-3	<i>Pseudomonas mallei</i>	3
<i>Clostridium tetani</i>	2-3	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	3
<i>Corynebacterium</i> spp.	2-3	<i>Salmonella arizonae</i>	2
<i>Edwardsiella tarda</i>	2	<i>Salmonella choleraesuis</i>	2-3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	<i>Salmonella enteritidis</i>	2-3
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	2-3	<i>Salmonella typhi</i>	2-3
<i>Escherichia coli</i>	2	<i>Serratia marcescens</i>	2
<i>Escherichia coli</i> K12	1	<i>Shigella</i> spp.	2-3
<i>Francisella novicida</i>	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	2-3
<i>Francisella tularensis</i>	3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2-3	<i>Streptobacillus moniliformis</i>	2-3
<i>Haemophilus</i> spp.	2	<i>Streptobacillus</i> spp.	2-3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2-3	<i>Treponema</i> spp.	2-3
<i>Lactobacillus</i> spp.	1	<i>Vibrio cholerae</i>	2-3
<i>Legionella pneumophila</i>	2-3	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2
<i>Leptospira interrogans</i>	2-3	<i>Vibrio vulnificus</i>	2-3
<i>Listeria monocytogenes</i>	2-3	<i>Yersinia pestis</i>	3
<i>Moraxella</i> spp.	2	<i>Yersinia enterocolytica</i>	2-3
		<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	2-3

Tablo 4. Virus ve Riketsiyalar için önerilen biyogüvenlik düzeyleri.

Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi	Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi
Adenovirüsler	2	Cowpox	2-3
Arenavirüsler: LCM virus	2-3	Molluscum contagiosum	2-3
Coronavirüsler	2	Monkeypox	3-4
Herpesvirus hominis	2-3	Orf	2-3
Cytomegalovirus	2-3	Paravaccinia	2-3
Epsteinn-Barr virus	2-3	Vaccinia	2-3
Herpesvirus simiae	4	Yabapox	2-3
Pseudorabies virus	2-3	Simian virus 40	2-3
Varicella virus	2-3	BK virus	2-3
İnfluenza virus	2-3	Creutzfeld-Jacob ajanı	2-3
Kızamık virüsü	2	Kuru ajanı	2-3
Kabakulak virüsü	2	HIV	3
Newcastle etkeni	2-3	HTLV I-II	3
Parainfluenza virüsleri	2-3	Rotavirus	2
Respiratory syncytial virus	2-3	Rubella	2
Coxsackievirüsler	2	Coxiella burnetii	3
Echovirus	2	Rickettsia spp.	3
Poliomyelit virus	2-3	Rickettsia prowazekii	3
Rhinovirus	2	Rickettsia rickettsii	3
		Rochalimaea quintana	3
		Parvovirus B19	2-3
		Hepatit virüsleri	2-3
		Norwalk ajanı	2-3

Tablo 5. Mantarlar için önerilen biyogüvenlik düzeyleri

Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi	Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi
Absidia spp.	2	Loboa loboii	2
Aspergillus spp.	2	Madurella mycetomi	2
Blastomyces dermatitidis	2-3	Microsporium spp.	2
Candida spp.	2	Mucor spp.	2
Coccidioides immitis	3	Paracoccidioides brasiliensis	3
Crptococcus neoformans	2-3	Rhizopus spp.	2
Dermatophilus congolensis	2	Sporothrix schenckii	2
Epidermophyton spp.	2	Trichophyton spp.	2
Geotrichum spp.	2	Trichosporon spp.	2
Histoplasma capsulatum	3	Xylohypha bantania	2
Histoplasma farcinimosum	3		

Tablo 6. Parazitler için önerilen biyogüvenlik düzeyleri.

Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi	Mikroorganizma	Biyogüvenlik düzeyi
Acanthocheilonema spp.	2	Leishmania spp.	2
Acanthamoeba spp.	2	Linguatula spp.	2
Ancylostoma spp.	2	Loa spp.	2
Angiostrongylus spp.	2	Macracanthorhynchus spp.	2
Ascaris spp.	2	Necator spp.	2
Babesia spp.	2	Naegleria fowleri	2-3
Balantidium spp.	2	Naegleria gruberi	1
Brugia spp.	2	Onchocerca spp.	2
Capillaria spp.	2	Opistorchis spp.	2
Clonorchis spp.	2	Paragonimus spp.	2
Cysticercus spp.	2	Plasmodium spp.	2
Dicrocoelium spp.	2	Pneumocystis carinii	2
Dipetalonema spp.	2	Schistosoma spp.	2
Diphyllobothrium spp.	2	Strongyloides spp.	2
Dipylidium spp.	2	Taenia spp.	2
Dracunculus spp.	2	Toxascaris spp.	2
Echinococcus spp.	2	Toxocara spp.	2
Entamoeba histolytica	2	Toxoplasma spp.	2
Enterobius spp.	2	Trichinella spp.	2
Fasciola spp.	2	Trichomonas vaginalis	2
Fasciolopsis spp.	2	Trichostrongylus spp.	2
Giardia spp.	2	Trichuris trichiura	2
Hymenolepis spp.	2	Trypanosoma spp.	2
Heterophyes spp.	2	Wuchereria spp.	2
Isospora spp.	2		

değişen basınç/düz hava akımları ölçülür ve sistemin çalışmaması durumunda alarm verecek şekilde programlanır. Destek ve çıkış kısımlarındaki hava akımı taranır ve içeri veya sıfır hava akımı sağlanıncaya dek parçalar birbiriyle ilişkili olarak kilitlenir.

15. Sınıf II kabin sisteminde iş yapılmış bir ortamdan hava dışarı atılmadan önce HEPA filtrelerden geçer. Hava, kapalı bölgelerden veya hava boşluğunun olduğu bölgelerden de alınıp atılabilir olmalıdır. Potansiyel olarak kontamine olabilecek hava sisteminin önlenmesi için HEPA filtreler kullanılmaktadır. HEPA filtre çerçeveleri, dekontaminasyonun önlenmesi ve steril kullanımları için özel tasarlanmıştır.

16. Sınıf III kabinleriyle sağlandığı gibi bir özel tasarlanmış giysi bölümü hazırlanır. Bu bölüme giren personel tek parçadan oluşan, pozitif basınçlı ve yaşam destek sisteminde uygun olan bir giysi giyerler. Yaşam destek sistemi, alarmlar ve acil destek oksijenli solunum tankları içerir. Bu bölgeye giriş hava sızdırmaz kilitli kapılar aracılığıyla olur. Çalışan personel bölgeyi terketmeden önce giysinin yüzeyinin dekontaminasyonu için bir kimyasal duş alır. Giysi bölümünden çıkan hava 2 setli HEPA sisteminde dekontamine edilir. Filtrelerde çiftli bir filtrasyon birimi, eksoz fanı ve otomatik devreye giren acil güç kaynağı olmalıdır. Giyinme bölgesinin havası diğer yandaş bölgelerden daha düşüktür. Bu bölge tüm dış etkenlere karşı içerden kaplanmıştır. Bir çift kapılı otoklav ile bu bölgeden çıkartılacak olası dekontamine atıkların sterilizasyonu sağlanır.

17. Çalışanların pozitif basınçlı giysilerini giydikleri bölgeden sınıf II biyolojik kabinlerinden çıkan hava, hayvan odasına atılabilir veya binanın dışına açılan ve tek yönlü giden hava atılım sistemine eklenebilir.

Biyolojik güvenlik kabinleri 12 aylık aralıklarla test edilir ve sertifikalandırılır. Sınıf III biyolojik güvenlik kabinlerinden çıkan hava ikili HEPA filtre serisinde süzülür ve dışarı atılır. Eğer atılım havası bina atılım sistemine bağlanıp atılıyorsa, kabinlerin hava değerleri veya binanın hava atılım sistemini etkilemeyecek bir şekilde bağlanmalıdır.

## MİKROORGANİZMALAR İÇİN ÖNERİLEN BİYOGÜVENLİK DÜZEYLERİ

Genel olarak orta düzeyde patojen mikro-organizmalar için Biyogüvenlik düzeyi 1 veya 2; aerosollerle ciddi infeksiyonlar oluşturabilen ajanlar (ör. *Mycobacterium tuberculosis*) için Biyogüvenlik düzeyi 3 (40); öldürücü virüsler için Biyogüvenlik düzeyi 4 önerilmektedir (CDC).

Klinik örnekler genellikle Biyogüvenlik düzeyi 2'de işlenebilir (37). Ancak aerosollerle infeksiyon oluşturabilen mikroorganizmaların kültürleri mutlaka Biyogüvenlik düzeyi 3'de incelenmelidir (38).

Mikroorganizmalara göre önerilen biyogüvenlik düzeyleri Tablo 3,4,5,6 'da belirtilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Akan E: Genel Mikrobiyoloji, s.4, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Adana (1992).
2. Kruse HR, Puckett WH, Richardson JH: Biological safety cabinetry. *Clin Microbiol Rev* 4:207 (1991).
3. Vesley D, Hartmann HM: Laboratory-acquired infections and injuries in clinical laboratories: a 1986 survey. *Am J Public Health* 78:1213 (1988).
4. Skinhoj P: Occupational risks in Danish clinical chemical laboratories. II infections. *Scand J Clin Lab Invest* 33: 27 (1974).
5. Pike RM: Laboratory-associated infections. Incidents, facilities, causes, and prevention. *Annu Rev Microbiol* 93:41(1979).
6. Sewell DL: Laboratory-associated infections and biosafety. *Clin Microbiol Rev* 8:389 (1995).
7. Harrington JM, Shannon HS. Incidence of tuberculosis, hepatitis, brucellosis and shigellosis in British Medical Laboratory workers. *Br Med J* 1:759 (1976).
8. Grist NR: Infections in British clinical laboratories 1980-81. *J Clin Pathol* 36:121 (1983).
9. Muller HE: Laboratory-acquired mycobacterial infection. *Lancet* 1988; ii: 331.
10. Kubica GP: Tuberculosis and laboratory safety,. 29Th Annu. Meet. Biol. Safety Conf. Program abstr p.49 (1986).
11. Snider DE, Hutton MD: Tuberculosis in correctional institutions. *J Am Med Assoc* 261: 436 (1989).

12. Favero MS: Hepatitis-the clinical laboratory nemesis.. 29 th Annu Meet Biol Safety Conf Program Abstr p. 53 (1986).
13. Levy BS, Harris JC, Smith JC et al: Hepatitis B in ward and clinical laboratory employees of a general hospital. *Am J Epidemiol* 106:330 (1977).
14. Dienstag JL, Ryan DM: Occupational exposures to hepatitis B virus in hospital personnel: infection or immunity? *Am J Epidemiol* 115:26 (1982).
15. West D: The risk of hepatitis B infection among health care professionals in the United States: a review. *Am J Med Sci* 287: 26 (1984).
16. Peterson NJ, Bond WW, Marshall JH, Favero MS, Raj L: An air sampling technique for hepatitis B surface antigen. *Health Lab Sci* 13:233 (1976).
17. Lauer JL, van Drunen NA, Washburn JW, Balfour HH: Transmission of hepatitis B virus in clinical laboratory areas. *J Infect Dis* 140:513 (1979).
18. Centers for Disease Control. Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to health-care and public-safety workers, *Morbidity Mortal Weekly Rep* 38: 1 (1989).
19. Khuri-Bulos NA, Toukan A, Mahafzah A, Al Adham M, Faori I, Abu Khader I, Abu Rumeileh ZI: Epidemiology of needlestick and sharp injuries at a university hospital in a developing country: a 3-year prospective study at the Jordan University Hospital, 1993 through 1995. *Am J Infect Control* 25:322 (1997).
20. Conte JE Jr: Infection with human immunodeficiency virus in the hospital. *Epidemiology, infection control, and biosafety considerations. Ann Intern Med* 105: 730 (1986).
21. Centers for Disease Control. Surveillance for occupationally acquired HIV infection-United States, 1981-92, *Morbidity Mortal Weekly Rep* 41: 823 (1992).
22. Hunt DL: Human immunodeficiency virus type 1 and other blood-borne pathogens. " Fleming DO, Richardson JH, Tulis JI and Vesley D (eds). *Laboratory safety: principle and practices*. 2 nd ed. ASM, Washington DC, p. 33-66 (1995).
23. Wall SD, Howe JM, Sawhney R: Human immunodeficiency virus infection and hepatitis: biosafety in radiology, *Radiology* 205 (3): 619 (1997).
24. Centers for Disease Control. Agent summary statement for human immunodeficiency virus syndrome and report on laboratory acquired infection with HIV. *Morbidity Mortal Weekly Rep* 37 (suppl. 4-5): 1 (1988).
25. Cooper BW, Krusell A, Tilton RC, Goodwin R, Levitz RE: Seroprevalence of antibodies to hepatitis C virus in high-risk hospital personnel. *Infect Control Hosp Epidemiol* 13:82 (1992).
26. Thomas DL, Gruninger SE, Siew C, Joy ED, Quinn TC: Occupational risk of hepatitis C infections among general dentists and oral surgeons in North America. *Am J Med* 100:41(1996).
27. U.S. Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and biomedical laboratories. HHS publication (CDC) 93-8395. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. (1993).
28. Alter MJ: Occupational exposure to hepatitis C virus: a dilemma. *Infect Control Hosp Epidemiol* 15:742 (1994).
29. Lanphear BP, Linnemann CC Jr, Cannon CG, DeRonde MM, Pandy L, Kerley LM: Hepatitis C virus infection in healthcare workers: risk of exposure and infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 15:745 (1994).
30. Puro V, Petrosillo N, Ippolito G: Italian Study Group on Occupational Risk of HIV and Other Bloodborne Infections. Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposures in health care workers. *Am J Infect Control* 23:273 (1995).
31. Mitsu-i T, Iwano K, Masuko K, et al: Hepatitis C virus infection in medical personnel after needlestick accident. *Hepatology* 16:1109 (1992).
32. Sartori M, La Terra G, Aglietta M, Manzin A, Navino C: Verzetti Transmission of hepatitis C via blood splash into conjunctiva {Letter}, *Scand J Infect Dis* 25:270 (1993).
33. Şanlıdağ T, Sayan M, Sengin SŞ, Hahar İH: Hemşirelerde iğne batma kazası sonrası HCV enfeksiyonu. *Viral Hepatit Dergisi'nde yayınlanmak üzere kabul edildi*.
34. Ippolito G, Puro V, Petrosillo N, et al: Simultaneous infection with HIV and hepatitis C virus following occupational conjunctival blood exposure {Letter}, *JAMA* 280:28 (1998).
35. Vidal DR, Paucod JC, Thibault F, Isoard P: Biological safety in the laboratory. Biological risk, standardization and practice. *Ann Pharm Fr* 51:154 (1993).
36. Kellenberger E: Genetic ecology: a new interdisciplinary science, fundamental for evolution, biodiversity and biosafety evaluations. *Experientia* 50: 429 (1994).
37. Lairmore MD, Kaplan JE, Daniel MD et al: Guidelines for the prevention of simian immunodeficiency virus infection in laboratory workers and animal handlers. *J Med Primatol* 18:167 (1989).
38. Hunt GJ, Tabachnick WJ: Handling small arbovirus vectors safely during biosafety level 3 containment: *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) and exotic bluetongue viruses. *J Med Entomol* 33: 271 (1996).
39. Cory JS, Hails RS. The ecology and biosafety of baculoviruses. *Curr Opin Biotechnol* 8 : 323 (1997).
40. Rake BW. Influence of cross drafts on the performance of

a biological safety cabinet, Appl Environ Microbiol 36: 278 (1978).