

Laboratuvarlarda DAS Uygulamaları ve Biyogüvenlik

Prof. Dr. Bülent GÜRLER

Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

e-posta: gurlerb@netone.com.tr

Laboratuvarların doğasında her zaman bulunan bir potansiyel, çalışanlar için doğal risk içermesidir. Bu risklere karşı önlem almak, mutlak ve ölçülebilir bir değer olmadığı için çoğunlukla önlem almak için gerekli idari işlemleri yönetmek de zor olacaktır. Laboratuvarlarda güvenli bir çalışma ortamı oluşturulması ve çalışanların tehlikelerden dolayı zarar görmemesini sağlamak, laboratuvar kontaminasyonunu önlemek için, güncel bilgilere dayalı laboratuvar risk kriterleri sürekli değerlendirilmeli ve güvenlik uygulamaları tam ve eksiksiz yerine getirilmelidir. Laboratuvardaki kazalar, çoğunlukla çalışan kişinin tehlikeli durum tanımlamasında yeterli olamamasından, kişisel endişelerini zamanla azaltmasından ya da çok uzun periyotta zaman zaman aşırı risk almasından kaynaklanır. Böylece bir bireyin davranışı, iş yerinde var olan mesleki risk derecesini etkiler. Risk alanlar; bireysel güvenlik tedbirlerini önemsemeyenler, sadece kendilerinin sonuçlardan zarar görmelerini değil, aynı zamanda yanında onların meslektaşları, aileleri ve arkadaşlarını da risk altında bırakmaktadırlar.

Klinik laboratuvar çevresi, çalışanlar için biyolojik, fiziksel, kimyasal ve radyolojik tehlikeler içermektedir. Biyolojik tehlikeler; örneğin; kan, vücut sıvıları ve diğer örneklerle karşı karşıya gelme, insan immünyetmezlik virüsü (HIV), hepatit gibi infeksiyon hastalıkları, Kırım-Kongo kanamalı ateşi (KKKA), SARS gibi yeni tanımlanan patojenler ya da biyoterör ajanları olup günümüzde laboratuvar çalışanları için büyük bir risk oluşturmaktadır. Bu gibi infeksiyon tehlikeleri güvenilir bir önlemler paketini içeren uygulama oluşturulması ve koruyucu önlemler alınması ihtiyacının da daha çok artırılmasını gerektirmiştir. Örneklerdeki aerosol ya da damlacık yolu ile bulaşan patojenler diğer çalışanlara, ailelerine ya da halka mesleki infeksiyon yayabilir. Günümüzde, terörizm ajanları olarak biyolojik, kimyasal ve radyoaktif maddelerin kullanımı laboratuvar emniyeti ve güvenliği yönünden de endişeli bir durum oluşturmaktadır. Bazı çalışanların tehlikeli kimyasallara maruz kalması sonucu kişilerde önceden var olan akut ya da kronik hastalıkları daha büyük bir risk oluşturabilir ve durumları daha da kötüleşebilir. Zehirli olan laboratuvar kim-

yasalarının sayı ve niceliğinin azaltılması için de devamlı bir çaba gösterilmektedir. Ayrıca karsinojenik, yakıcı, yanıcı veya radyoaktif olan bu bileşiklerin laboratuvar ortamından çıkartılması da tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle gerekli emniyet önlemlerinin yerinde ve zamanında alınmasına gayret edilmelidir. Laboratuvarlarda bu gibi risklerin yanı sıra laboratuvar ekipman ve araçları, biyolojik, radyolojik ve kimyasal tehlikeler, yangınlar ve elektrik kazaları da çalışanların zarar görmelerinin nedeni olabilmektedir.

Tüm bu tehlike alternatiflerine rağmen, risklerin tanımlanması ve gerekli önlemlerin alınmasıyla, olasılıklar azaltıldığı zaman ve personelin iyi bir şekilde idari olarak kontrol edilmesiyle, uygun ekipmanlarla zaman zaman pratik uygulama tatbikatlarıyla, laboratuvarların çok daha güvenli bir çalışma alanı haline getirilmesi mümkün olabilir.

LABORATUVARDA HANGİ TEHLİKELER VAR?

Laboratuvarlar çok çeşitli tehlikelerin kaynağı olabilmektedir. Bunlar genel olarak; biyolojik, kimyasal, fiziksel ve radyolojik olarak dört grupta sınıflandırılabilir. Herhangi bir tehlikeli durumda ya da olası bir kaza esnasında, çalışanlarda yaralanma gibi fiziksel zarar ya da ortamda bazı hasarlar meydana gelebilir. Bu tehlikelerin idaresi; işlerin karmaşıklığı ve çeşitliliği yüzünden çok önemli zorlukları beraberinde getirmektedir. Yapılan işlerin ya da önlemlerin farklılığının çok olmasının yanı sıra, laboratuvarlarda mevcut bulunan tehlikelerin çeşitliliği de göz önünde bulundurulmalıdır. Tehlikeli maddelerin toksisitesi ya da patojenitesi, tehlikeli maddeye maruz kalma seviyesi ve süresi ile ilişki içindedir, bunun yanı sıra mevcut güvenlik kontrollerini yaş ya da genel sağlık gibi faktörler de laboratuvar çalışanlarını etkilemektedir. Laboratuvardaki tehlikeli maddeler küçük miktarlarda ve uygun kaplarda depolanırsa, bu tür maddelerden kaynaklanabilecek tehditler en aza indirilebilir. Yüksek toksik kimyasallar yerine, daha az tehlikeli maddeler mümkün olduğunca kullanılmalıdır.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün açıklamış olduğu risk grupları ve bu grupların karakterleriyle, güvenlik tedbirleri içinde yer alan bazı kimyasal maddelerin dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemlerinde kullanılmaları, bunlarla ilgili tehlikeleri ve özellikle klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının aktiviteleri ve hangi önlemlerin alınması gerektiği (Tablo 1-4)'te görülmektedir.

STANDART GÜVENLİK ÖNLEMLERİ

Tüm laboratuvarlar, bütün hastaların ve laboratuvar örneklerinin potansiyel olarak bulaşıcı olduğunu belirten ve standart alınması gerekli güvenlik önlemlerini alarak bunlara uygunluğunu da deklare etmelidir. Bu önlemlerin detaylandırılması ve kapsamının genişletilmesi hastalardaki tanımlanamayan enfeksiyonlardan ve ciddi tehdit olasılıklarından kaynaklanmaktadır. Standart güvenlik önlemleri önceleri, kan ve vücut salgısı ile ilgili güvenlik önlemleri, evrensel güvenlik önlemleri, vücut-madde güvenlik önlemleri gibi isimlendirilmiş ve OSHA (Amerika Birleşik Devletleri'nde iş güvenliği sağlık daireisi) dokümanlarında yer almıştır. Standart güvenlik önlemleri, sağlık çalışanları için tüm enfeksiyon ajanlarının ve diğer bazı potansiyel enfeksiyon materyallerin risk oluşturduğunu vurgularken, OSHA dokümanları HIV, hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsü (HCV) gibi kan kaynaklı patojenleri ön plana çıkarmıştır.

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü'nün risk grupları

Risk grubu	Karakter
1	Hastalıklara yol açması mümkün değildir. Enfeksiyonlar dikkate alınmaz.
2	Orta bireysel, düşük genel risk. Ciddi bir hastalığa neden olması ya da bulaş mümkün değildir. Etkili tedavi ve önleyici tedbirler bulunmaktadır.
3	Yüksek bireysel ve genel risk. Ciddi enfeksiyonlara yol açabilir ancak kolayca bulaş söz konusu değildir.
4	Yüksek bireysel ve genel risk. Kolayca yayılır ve etkili tedavi ya da önleyici tedbirler yoktur.

Tablo 2. Antiseptik maddelerin aktiviteleri ve zararları

Ürün/Yöntem	Sulandırılmış konsantrasyon	Aktivite düzeyi	Tehlikeler
Sterilizasyon			
Gluteraldehid	D	Yok	Dermatid, toksik
Hidrojen peroksit	%6-30	Yok	İrritasyon
Formaldehid	%6-30	Yok	İrritasyon, toksik, duyarlık
Klor dioksit	D	Yok	İrritasyon, toksik gaz
Perasetik asit	D	Yok	İrritasyon
Dezenfeksiyon			
Gluteraldehid	D	Orta yüksek	Dermatid, toksik
Hidrojen peroksit	%3-6	Orta yüksek	İrritasyon
Formaldehid	%1-8	Düşük yüksek	İrritasyon, toksik, duyarlık
Klor dioksit	D	Yüksek	İrritasyon, toksik gaz
Perasetik asit	D	Yüksek	İrritasyon
Klor bileşikleri	500-5000 mg/L kullanılabilir klor	Orta	İrritasyon, toksik gaz
Alkoller	%70	Orta	Toksik (isopropil)
Fenol bileşikleri	%0.5-3	Düşük orta	Lökoderma, depigmentasyon
İyodoform bileşikleri	40-50 mg/L'den 10.000 mg/L'ye kadar kullanılabilir iyodin.	Düşük orta	Cilt irritasyonu
Kuaterner amonyum bileşikleri	%0.1-0.2	Düşük	Dermatid, duyarlık

D: Değişken.

Tablo 3. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında risklere karşı planlama*

Laboratuvarlar ve görevleri	Direkt bulaş riski		PPE		Mühendislik kontrol		
	Kan ve vücut sıvıları	Kültür	Eldivenler	Laboratuvar giysisi	Yüz koruyucu	BSK konteyneri	Kesici aletler
Genel yerler							
<i>Malzeme defteri</i>	D			Giysi			
Memura ait: bilgisayar girişi, telefonlar, kayıtlar vs.	D		P	Önlük			
<i>Araç bakımı</i>							
Kirlenmiş araçlar	Y	Değişken	G	Önlük			
Kirlenmemiş araçlar	D	Değişken	IB	Giysi			
<i>Yüzey dekontaminasyon</i>	D	Değişken	G	Giysi			
<i>Çöp atımı</i>	Y	Değişken	G	Önlük	A (IB)		Kesici aletler
Bakteriyoloji							
Materyal işlenmesi	Y	BSL 2	G	Giysi		G	Kesici aletler
Kan kültür şişeleri	Y	BSL 2	G	Giysi	A	A	İğneler
Üremiş şişeler							
Sıvı kültür	D	BSL 2		Giysi			Kesici aletler
Lam hazırlama, sabitleme, boyama, inceleme	D	BSL 2		Giysi			Lamlar
Identifikasyon testleri ve antimikrobiyal duyarlılık	D	BSL 2		Giysi			Kesici aletler

Tablo 3. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında risklere karşı planlama (devamı)*

Laboratuvarlar ve görevleri	Direkt bulaş riski		PPE		Mühendislik kontrol		
	Kan ve vücut sıvıları	Kültür	Eldivenler	Laboratuvar giysisi	Yüz koruyucu	BSK konteyneri	Kesici aletler
Mikoloji ve mikobakteriyoloji							
Ömek işlenmesi	Y	BSL 2/3	G	Önlük	G		Kesici aletler
Lam-lamel arası yayma hazırlanması, ıslak lamı sabitleme	Y	BSL 2/3	G	Önlük	G		Lamlar
Lam-lamel arasında örneğin incelenmesi	Y	BSL 2	G	Giysi			Lamlar
Kültürlerin lam-lamel arasında incelenmesi	D	BSL 2/3	G	Giysi			Lamlar
Kapalı kültürlerin incelenmesi	D	BSL 2/3 g		Giysi			
Yaymanın sabitlenmesi, boyanması ve incelenmesi	D			Giysi			Lamlar
Maya kültürlerinin işlenmesi, yayılması ve sabitlenmesi	D	BSL 2		Giysi		IB	Lamlar
Mikobakteriyoloji küflerin işlenmesi	D	BSL 2/3 h	G	Önlük		G	Kesici aletler

Tablo 3. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında risklere karşı planlama (devamı)*

Laboratuvarlar ve görevleri	Direkt bulaş riski		PPE		Mühendislik kontrol		
	Kan ve vücut sıvıları	Kültür	Eldivenler	Laboratuvar giysisi	Yüz koruyucu	BSK konteyneri	Kesici aletler
Viroloji							
Materyal incelenmesi	Y	BSL 2	G	Giysi	G		Kesici aletler
Inoküle olmamış hücrelerin maddelerinin ayarlanması	D			Giysi			Pipetler
Sitopatik etki için hücrelerin incelenmesi	D	BSL 2	G	Giysi			Pipetler
Inoküle olmuş hücrelerin maddelerinin ayarlanması	Y	BSL 2	G	Giysi	G		Pipetler
Identifikasyon testlerinin performansı	Y	BSL 2	G	Giysi	İB		Kesici aletler
Boyanmış lamalar ve incelenmesi	D			Giysi			Lamlar
Parazitoloji							
Dışkı örneklerinin lam-lamel arası yayılması	D	BSL 2	G	Önlük	G		Pipetler Cam çubuklar
Lam-lamel arası preparatın incelenmesi	D	BSL 2	G	Önlük			Lamlar

Tablo 3. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında risklere karşı planlama (devamı)*

Laboratuvarlar ve görevleri	Direkt bulaş riski		PPE		Mühendislik kontrol		
	Kan ve vücut sıvıları	Kültür	Eldivenler	Laboratuvar giysisi	Yüz koruyucu	BSK konteyneri	Kesici aletler
Kan örneklerinin ve lamların incelenmesi	Y	BSL 2	G	Önlük		A	Lamlar
Preparatların boyanması ve incelenmesi	D			Önlük			Lamlar
Seroloji							
Serum hazırlanması	Y	BSL 2	G	Önlük	A		Pipetler
Tüplere ayıraçların dağıtılması ve düzenlenmesi	D			Önlük			
Serum ve ayıraçların karıştırılması, okunması ve testin sonlanması	Y	BSL 2	G	Önlük	A	A	Pipetler

* 4 no'lu kaynaktan alınmıştır.

D: Düşük seviyede, Y: Yüksek seviyede, PPE: Kişisel koruyucu materyal, G: Giyimli, B: İsteğe bağlı, A: Alternatifli.

Tablo 4. Laboratuvarlarda tehlikeli olabilecek etkenler

Bakteriler	Virüsler (devam)
<i>Bacillus anthracis</i>	Monkeypox virüsü
<i>Brucella</i> türleri	Rift vadisi ateşi virüsü
<i>Burkholderia mallei</i> ve <i>B. pseudomallei</i>	Güney Amerikan kanamalı ateş virüsü
<i>Clostridium botulinum</i>	Kene kaynaklı ensefalit virüsü
<i>Francisella tularensis</i>	Büyük ve küçük çiçek virüsü (smallpox virüsü)
<i>Yersinia pestis</i>	Sarı humma virüsü
Rickettsiae	Toksinler
<i>Coxiella burnetii</i>	Abrin
<i>Rickettsia prowazekii</i> ve <i>Rickettsia rickettsii</i>	Botulinum toksinleri
Mantarlar	<i>Clostridium perfringens</i> epsilon toksin
<i>Coccidioides immitis</i> ve <i>C. posadasii</i>	Konotoksinler
Virüsler	Diacetoxycirpenol ????
Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü	Risin
Doğu at ensefalit virüsü	Saksitoksinler
Ebola virüs	Shiga toksinler
At morbilivirüs ??? (Hendre, Nipah)	Stafilokokal enterotoksin
Herpesvirüs 1 (herpes B virüs)	Tetradoksin
Lassa ateş virüsü	T-2 toksin
Marburg virüs	

OSHA, çalışanlar kan kaynaklı patojenlere maruz kalırsa, çalışanı risklerden korumak için yapılması gerekli uygulamaları içermektedir. İş pratiği kontrol çalışma yöntemleri sonucunda ve birtakım mühendislik araçları vasıtası ile infeksiyon ajanlarına maruz kalma riski en aza indirilebilir ve laboratuvar çalışanları infeksiyöz maddelerden korunabilir. Bunun yanı sıra, OSHA çalışanların düzenli HBV aşılamalarının sağlanması gerektiğini vurgulamaktadır, maruziyet sonrası tepkiler değerlendirilmeli ve uygun kayıtlar alınmalı, çalışanlar tehlikelere karşı bilgilendirilmelidir. HBV'ye karşı bağışıklık aşısını reddeden çalışanlar, HBV aşı sapma formunu imzalamalıdır gibi standart belli başlı önlemler alınabilmektedir.

Kan ve Vücut Salgılarıyla Kontaminasyonda Yapılması Gerekenler

Sağlık çalışanları çeşitli patojenlere kan ve vücut salgılarıyla ve deneysel çalışmalar sırasında işleri gereği mikroorganizmalarla karşı karşıya kalmaktadırlar. Risk çok düşük olsa bile "sıfır" değildir. İğne batması, kesilme, göze, buruna, ağıza sıçrama ve deriye temas yoluyla infekte kanla temas sonrası HIV infeksiyonu rapor edilmiştir.

- En yüksek HIV enfeksiyonu riski iğne batması ve kesilme sonucu doğar (ortalama risk %0.3).
- Göz/burun/ağız yoluyla kontaminasyon sonucu risk %0.1'dir.
- HIV pozitif kanın deriye teması sonucu riskin %0.1'in altında olduğu tahmin edilmektedir.
- Eğer çok miktarda kana veya HIV'in yüksek dozlarına karşılaşıldığında bulaş yolu ne olursa olsun, risk artar.
- Sağlık çalışanları HIV'dan başka ayrıca, hepatit B, hepatit C ve diğer önemli enfeksiyon hastalıkları etkenleriyle de karşı karşıya kalabilirler.
- Bu durumda izlenecek yol şu şekilde belirlenmiştir:
 1. İğne batması veya kesilme halinde, yara yeri bolca su ve sabunla yıkanır.
 2. Ağız, burun, deriye sıçrama olduğunda; bulaşan materyal bol su ile uzaklaştırılır.
 3. Göze sıçramada; göz, temiz su veya fizyolojik serumla yıkanır.
 4. Olaydan laboratuvar sorumluları haberdar edilir, eğer endikasyon varsa da tedaviye 1-2 saat içinde başlamak için derhal bildirim yapılması gerekmektedir.
 5. Tedavi ve öneriler için kliniğe başvurulmalıdır.
 6. Bulaşa neden olan örnek incelenmek için saklanmalıdır.

Güvenlik Önlemleri

Genel olarak mikrobiyoloji laboratuvarlarında alınması gereken güvenlik önlemleri ise şöyle sıralanabilir:

1. İnfeksiyöz ajanlarla çalışan laboratuvara giriş laboratuvar sorumlusu tarafından sınırlanmalı veya yasaklanmalıdır.
2. Laboratuvarda yeme-içme, sigara içme, kontakt lense dokunma ve makyaj yapmaya izin verilmemelidir.
3. Ağızla pipetaj kesinlikle yapılmamalıdır.
4. Tüm prosedürler aerosol oluşumunu veya saçılmaları en aza indirecek şekilde uygulanmalıdır.
5. Aerosol oluşumu veya saçılma potansiyeli varsa veya enfeksiyöz ajanlarla büyük hacimde ya da yüksek konsantrasyonları ile çalışılıyorsa güvenlik kabini kullanılmalıdır.
6. Laboratuvarda çalışırken mutlaka laboratuvar önlüğü giyilmelidir.
7. İnfeksiyöz materyale, klinik örneklerle, kontamine ekipmana veya yüzeylere dokunulacaksa veya infekte hayvanla çalışılacaksa eldiven giyilmelidir.
8. Eldiven çıkarıldıktan sonra ve laboratuvar terk edilmeden önce eller mutlaka yıkanmalıdır.
9. Çalışma yüzeyleri her gün en az bir kez, enfeksiyöz materyal döküldüğünde ise, dökülmenin hemen ardından laboratuvar çalışanın kendisi tarafından dekontamine edilmelidir.

10. Tüm kültürler, stoklar, üretilen kirli atıklar ve enfeksiyöz materyal atılmadan önce dekontamine edilmelidir.

11. Bütün laboratuvar girişlerine çalışanların isimleri yazılmalı ve “BİYOTEHLİKE” işareti asılmalıdır.

12. Göze veya yüze sıçrama riski olan materyal ile çalışılıyorsa, koruyucu gözlük takılmalıdır.

13. Laboratuvarıda parmakları açıkta bırakan terlik giyilmemelidir.

14. Enfeksiyöz materyal doğru bir şekilde paketlenmelidir.

Atık maddeler için;

1. Her türlü kesici-delici malzeme kullanıldıktan sonra kesici-delici atık kabına atılmalıdır.

2. Enjektörleri materyal transferi ve pipetaj için kullanılmamalıdır.

3. Atık kabı kesinlikle ağzına kadar doldurulmamalıdır.

4. Kabın 3/4'ü dolduğunda üzerine 250-500 mL germisid solüsyon eklenmelidir.

5. İçeriği yazılarak otoklav bandı yapıştırılmalıdır.

Yüzey dekontaminasyonu için;

1. Kontamine alan tespit edilir.

2. Dökülen sıvı üzerine absorban madde örtülür.

3. Örtünün üzerine dezenfektan dökülür.

4. Dezenfektan 20 dakika süre bekletilmeli ve absorban alınarak ortam yüzey deterjanlı su veya alkol ile temizlenmelidir.

5. Dezenfektan olarak klor bazlı ya da QAC kullanılabilir.

6. Büyük miktarda kontamine materyal dökülmüşse yoğun dezenfektanla dekontaminasyon yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. CDC (Center for Disease Control and Prevention). In: Richmond JY, McKinney R (eds). *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 4th ed. April 1999.
2. WHO: *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. WHO/CDS/CSR/LYO 2004.
3. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (appendix-1)*. In: Fleming DO, Richardson JH, Tullis JJ, Vesley D (eds). *Laboratory safety. Principles and Practices*. ASM Pres, 1995:293-354.
4. David LS. *Laboratory Safety*. In: *Clinical Laboratory Management*, Lynne S.Garcia (eds chief). ASM Press, Washington DC, p. 2004:446-472.
5. Denys GA: *Biohazards and Safety*, In: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Isenberg HD (eds). 2nd ed. ASM Press Washington DC, 2004.
6. Fleming DO. *Prudent Biosafety Practices*, In: Fleming DO, Hunt DL (eds). *Biological Safety: Principles and Practices*, 3rd ed. ASM Pres 2000:369-81.
7. Sewell DL. *Laboratory-associated infections and biosafety*. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:89-93.