

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Biyogüvenlik ve Önemi

Efsun AKBAŞ*

* Refik Saydam Hfzissihha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, ANKARA

“Hiç kuşuk yok ki bilim ve barış, cehalet ve savaşı yok edecektir. Ulusların yıkmak, yok etmek için değil, yaşamı yüceltmek için birleşeceğine, geleceğimizi bu yolda uğraş verenlere borçlu olacağımıza inanıyorum...”

Louis Pasteur

Bilim tarihi, bilim adamlarının, keşiflerini kimi zaman yaşamları pahasına gerçekleştirdiklerine dair öyküler ile doludur. İnfeksiyon hastalıkları ile uğraşan çok sayıda araştırmacının da üzerinde çalıştığı mikroorganizmanın öldürücü dozlarına maruz kaldığı ve yaşamını kaybettiği bilinir.

Sağlık çalışanlarının meslek riski sınıflandırmasında infeksiyon hastalıkları ilk sırada yer almaktadır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları ise, sağlık sektörü içinde, infeksiyöz ajanlardan kaynaklanabilecek meslek riskinin en yüksek olduğu alandır. Birinci neden; tanı konmak üzere çok sayıda bilinmeyen örneğin bu laboratuvarlarda bir araya gelmesidir. Diğer neden; örnekte pek az sayıda bulunan mikroorganizmayı saptanabilir kılmak için kullanılan çoğaltma yöntemleri (kültür) aracılığı ile, infeksiyöz ajanların etrafa yüksek dozda saçılma olasılığının artmasıdır.

1900'lü yılların ilk 60 yılında klinik laboratuvar çalışanları arasında başlıca meslek riski tifo, şigellozis, brusellozis ve tüberküloz infeksiyonları olmuştur.

Takip eden yıllarda virüs izolasyon ve identifikasyonuna yönelik çalışmaların yaygınlaşmasıyla çeşitli viral patojenlere bağlı meslek infeksiyonlarında da artış dikkati çeker. Nitekim 1980'li yılların sonuna gelindiğinde Amerikan İş Güvenliği ve Sağlığı Kuruluşu [Occupational Safety and Health Administration (OSHA)] Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde her yıl yaklaşık 12.000 olgu ve 200 kadar hepatit-ilişkili ölüm ile; hepatit B virüs (HBV) infeksiyonunu sağlık çalışanının karşı karşıya olduğu en ciddi iş riski olarak tanımlamıştır^[1]. OSHA'nın bu tarihten itibaren geliştirdiği ve sürekli güncellediği kan-kaynaklı patojenler için önerilen kurallar direktifinde her ne kadar kategorik bir ayırım yapılmıyorsa da; pek çok çalışma, HBV infeksiyonu insidansının laboratuvar çalışanları arasında normal popülasyondan birkaç kat yüksek olabileceğini göstermektedir^[2,3].

Laboratuvar güvenliği uygulamasına dair ilkelerin de geçtiğimiz yüzyılın başından itibaren şekillendiğini görmekteyiz. Eyre, 1913 tarihli “Bakteriyolojik Teknikler” kitabında, uyulması gereken güvenlik kurallarını şöyle tarif ediyordu: Koruyucu eldiven giyilmesi, infeksiyöz materyale temas sonrasında ellerin dezenfekte edilmesi, kullanıldıktan sonra kontamine ekipmanın hemen dezenfekte edilmesi, örnek ve kültür kabı etiketlerinin dil ile değil su ile ıslatılarak yapıştırılması, klinik örneklerin, kültürlerin ve diğer

Biosafety in Clinical Microbiology and Its Significance

Key Words: Biosafety, Biohazard, Containment, Microbiology, Laboratory, Occupational risk

Anahtar Kelimeler: Biyogüvenlik, Biyotehlike, Korunma, Mikrobiyoloji, Laboratuvar, İş riski

kontamine materyalin dezenfekte edildikten sonra atılması, infeksiyöz materyale maruz kalma ya da laboratuvar kazalarının mutlaka bildirilmesi... Bu öneriler daha sonraları iyi laboratuvar pratiğinin [Good Laboratory Practice (GLP)] temellerini oluşturmuş; günümüze kadar gelişen profesyonel standartlarda, güvenlik rehberlerinde ve infeksiyöz materyal kullanımını ile ilgili aktivitelerin tümü için geçerli evrensel düzenlemelerde yer almıştır^[4].

Mikrobiyoloji laboratuvarları, yalnızca personeli için değil toplumun diğer bireyleri ve çevre için de potansiyel riskler taşır. Bu riskleri azaltmak ya da ortadan kaldırmak yolunda gösterilen bütünsel çaba, günümüzde laboratuvar güvenliği konusunu önemli bir araştırma ve uygulama alanı haline getirmektedir. Laboratuvar güvenliği, çalışanın çevresi ile birlikte maruz kalabileceği hem biyolojik hem de kimyasal, fiziksel ve nükleer tüm tehlikelere (hazards) karşı korunmasını ifade eden geniş bir kavramdır. Spesifik olarak biyogüvenlik (biosafety) ise laboratuvar güvenliğinin bir alt başlığıdır ve klinik mikrobiyoloji ya da biyomedikal laboratuvarlarda uygulamaların temel eksenini oluşturmaktadır.

Biyogüvenlik alanı, biyolojik tehlike (biohazard) nedeniyle vardır.

Biyotehlike de modern mikrobiyolojinin tarihi kadar eski bir fenomendir. Ondokuzuncu yüzyılda *Corynebacterium diphtheriae*'nin Krebs tarafından kültürlerde üretilmesini takiben Pivet'in laboratuvar kaynaklı difteriye yakalandığı günden bu yana biyotehlike, mikrobiyoloji alanında kaydedilen her gelişme ile yeni bir boyut kazanmıştır. Bir yandan ikinci Dünya Savaşı deneyimi ile patojenik ajanların biyolojik savaş aracı olarak da kullanılabileceğinin görülmesi, diğer yandan 1970'li yıllardan bu yana biyoteknolojideki muazzam gelişmeler sonucu genetik olarak değiştirilmiş mikroorganizmaların insan yaşamına girmesiyle biyolojik tehlike, biyogüvenlik alanını sürekli ilerlemeye zorlamıştır.

Biyotehlike; mikroorganizmaların neden olabileceği, insan sağlığını etkileyecek veya tehdit edecek boyutta bütün, tehlike, zarar ve sorunlardır. Buna göre biyogüvenlik; infeksiyöz ajanlarla veya onların genetik ya da toksik her türlü komponenti ile yapılan çalışmanın, laboratuvar ortamında ve yakın çevresinde güvenli olmasını sağlamak için gerekli tüm metodları tarif eder.

LABORATUVAR KAYNAKLI İNFEKSİYONLARIN EPİDEMİYOLOJİSİ

Geçtiğimiz yüzyılın ikinci yarısı, hem çalışmaların laboratuvar kaynaklı infeksiyon epidemiyolojisi üze-

rine yoğunlaştığı hem de biyogüvenlik standartlarının geliştirildiği canlı bir dönemdir. Araştırmacıların karşı karşıya kaldıkları en önemli sorun kayıt yetersizliği olmuştur ve çoğu kez olaylar, zamanında rapor edilmediğinden, hatırlamaya dayalı olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, yaptığı pek çok araştırma ile Pike'in raporları, klinik mikrobiyolojide laboratuvar kaynaklı infeksiyon durumu hakkında bize ilk kapsamlı verileri sağlamaktadır^[5-7]. Buna göre 1924-1978 yılları arasındaki dönemde 168'i ölümlle sonuçlanan 4079 laboratuvar kaynaklı infeksiyon kaydedilmiştir^[5]. Olguların büyük kısmında, brusellozis, tifo, tularemi ve tüberküloz başta olmak üzere bakteriyel (%41.7) ve hepatitler ilk sırada olmak üzere viral (%28.9) patojenler sorumlu bulunmuş; bunu riketsiyal (%14.6), fungal (%8.7), klamidyal (%3.1) ve paraziter (%2.8) infeksiyonların izlediği anlaşılmıştır. Özellikle tifo ve brusellozun çok büyük kısmı ile (%96), hepatitlerin yarıdan fazlasının 1955 yılından önce bildirilen olgulara ait olduğuna dikkat çekilmektedir^[5]. Atak oranlarında belirgin bir azalma izlense de bu patojenler laboratuvar kaynaklı infeksiyon etkenleri olarak önemlerini sonraki yıllarda da korumaya devam etmişlerdir^[8-14].

Öte yandan laboratuvar kaynaklı infeksiyonların önemli bir kısmında olguların patojeni hangi yoldan ve nasıl aldıkları tanımlanamamaktadır. Pike, bu epidemilerin ancak %18'inde bilinen bir laboratuvar kazası ya da çalışanın hatası ile ilişki saptandığını belirtmektedir^[6]. En yaygın olay perkütan inokülasyon olup, %25'i enjektör iğnesinin batması, %16'sı da kırık cam ve benzeri kesici objelerle yaralanma şeklindedir. Dökülme-saçılma gibi kazaların sorumluluğu %27 olarak bulunmuştur. Diğer iki büyük kategori ise; pipetaj esnasında aspirasyon (%13) ile deney hayvanı tarafından yaralanma ve ektoparazitlerle temas (%13.5) öyküsü oluşturmaktadır^[6]. Miller ve arkadaşlarının çalışmasında farklı olarak 25 yıllık bir dönemde kaydedilen toplam 108 infeksiyonun %80'i bilinen bir laboratuvar kazası ile ilişkili bulunmuştur^[15]. Enjektör kullanımı esnasında yaralanma bu raporda da olguların büyük kısmından sorumludur. Herhangi bir laboratuvar kazasının hatırlanmadığı durumlarda en muhtemel bulaş yolunun ise aerosole maruz kalma olduğu ileri sürülmektedir^[5,6,15].

İlginç bir durum olarak çok sayıda sürveyans raporu bulunmasına rağmen, her yıl laboratuvar çalışanlarının ne kadarında infeksiyon ortaya çıkacağı (insidans) bilinmemekte, hangi infeksiyöz ajanların hangi sıklıkta infeksiyona neden olacağına dair etken dağılım tahmini yapılamamaktadır. Ancak kayıtlara geçen epidemilerin dağılımı, infeksiyonların yarı-

dan fazlasının yüksek mikroorganizma konsantrasyonu ile çalışılan araştırma laboratuvarları ile ilgili olduğunu ortaya koymaktadır. Bunu klinik tanı laboratuvarları ile ilişkili enfeksiyonlar takip etmekte; biyolojik üretim ve eğitim laboratuvarlarının sorumluluğu ise az sayıda enfeksiyon ile sınırlı kalmaktadır^[4,7,8,16]. ABD’de “Centers for Disease Control and Prevention (CDC)”ın bir meslek hastalığı olarak tüberküloz ile ilgili verileri de; tüberküloz hastalarına ait klinik örneklerin incelendiği laboratuvarlarda enfeksiyon riskinin belirgin derecede arttığına, *Mycobacterium tuberculosis* ile çalışan personelin diğerlerinden üç-beş kat daha fazla oranda hastalığa yakalandığına işaret etmektedir^[17].

Laboratuvar kaynaklı bir enfeksiyonun gelişmesi gerçekte doğada olduğundan farklı değildir; patojen organizma, bulaş yolu ve duyarlı konak üçlüsünün bir araya gelmesi gerekir. Ancak laboratuvarda edinilen enfeksiyon paterninde; enfeksiyöz ajanın konsantrasyonu, normal olmayan yollardan konağa ulaşma veya genetik değişikliklere uğramış olma olasılığı gibi belirgin farklılıklar vardır. Laboratuvarında tehlikeli ajan; laboratuvar kaynaklı enfeksiyona sıklıkla neden olmuş ajandır ya da çok küçük dozda öldürücü enfeksiyona neden olan mikroorganizmadır, denebilir. Örneğin; etkin kontrol programları brusellozisin toplumda görülme sıklığını çok azaltmış olsa bile, *Brucella* spp. ile çalışılan laboratuvarlarda başta aerosol inhalasyonu olmak üzere, yaygın bulaş yollarından biri ile hastalığın ortaya çıkma olasılığı halen yüksektir^[8,13,14]. Bireylerin %25-50’sinde enfeksiyona neden olan doz kriterine göre yapılan araştırmalarda, solunum yolu ile alınan 10 veya daha az *M. tuberculosis*, Q humması etkeni veya *Francisella tularensis* hastalık gelişmesi için yeterli görünmektedir. Bu doz, *Bacillus anthracis* için 1300’den fazladır^[8].

Laboratuvarında, enfeksiyon ile sonuçlanabilecek herhangi bir maruz kalma olayında başlıca neden “insan faktörü” olarak görünmektedir. İnsan (araştırmacı, teknisyen) enfeksiyöz ajana eline alır, deneyi yapar, ekipmanı kullanır, deney hayvanına temas eder ve döküleni temizler. Öyleyse, teknikler doğru ve yerinde kullanıldığında çoğu laboratuvar kaynaklı enfeksiyonun önleneyeceği ileri sürülebilir. Bu, elemanın “riskten haberdar olma” düzeyi ve spesifik eğitimi ile de yakından ilişkili olmalıdır. Nitekim araştırmalar; personelin, güvenliğe yönelik çabalarda uygun tutum ve davranışın önemini algıladığı, enfeksiyöz ajanelerden gelebilecek tehlikenin farkında olduğu ve dikkatini yönlendirdiği oranda laboratuvar enfeksiyo-

nu görülme oranının azaldığına işaret etmektedir^[8,18].

Ancak laboratuvarında çalışma güvenliğinin sağlanması insan faktörü ile ilişkili sorunların giderilmesinden başka ekonomik ve yönetsel boyutları da olan karmaşık bir konu olarak karşımıza çıkıyor. Örneğin; ABD’de sürdürülebilir bir program için; bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarında personel başına temin edilen temel koruyucu ekipmanın yıllık tahmini maliyetinin yaklaşık 500 dolar olduğu hesaplanmıştır. Bu maliyete; kurulan/sürdürülen biyogüvenlik düzeyine göre ihtiyaç duyulan minimum alt yapısal düzenlemeler için gerekli mühendislik giderleri, iş güvenliği servislerinin aktiviteleri, çalışma pratiği kontrolleri, yazılı kontrol planlarının geliştirilmesi/uygulanması, başlangıç eğitimi ve yıllık eğitimler, kayıtların saklanması ve enfeksiyöz ajana maruz kalma sonrasında gereken tıbbi harcamalar eklenirse konunun ekonomik boyutu daha iyi anlaşılabilir. Nitekim biyogüvenlik programları günümüzde bazı ülkelerde, kurum yönetimlerinin ve sağlık otoritelerinin sorumluluğunda, belirli bir mevzuat çerçevesinde yürütülen profesyonel etkinlikler haline gelmiştir^[4,8].

BİYOĞÜVENLİK PRENSİPLERİ

Patojen ajanlarla çalışma güvenliğinin sağlanması için gereken tüm prosedürler “containment” [koru(n)ma, muhafaza] kavramı ile ifade edilir. Kapsamı ise; laboratuvar elemanının ve yakın çevresinin enfeksiyöz ajana maruz kalma olasılığını azaltmak/önlmek [primer korunma (primary containment)] ve dış çevreyi potansiyel patojenlerden korumak [sekonder korunma (secondary containment)] şeklinde özetlenebilir^[19].

Kavramın kendisinin de çağrıştırdığı gibi primer korunma enfeksiyöz ajanla çalışma esnasındaki ilk savunma hattıdır; güvenlik ekipmanının (primer bariyerler) kullanımı, iyi mikrobiyolojik tekniklerin (GLP) uygulanması ve gerektiğinde personelin aşılması ile sağlanır^[20].

Güvenlik ekipmanı bir bakıma enfeksiyöz ajana, hayvanı veya çalışanı “çevreleyen” bir koruyucu zarf olarak düşünülebilecek herşeydir. Bu zarf, kapaklı bir konteyner veya hızla hareket eden doğrusal bir hava akımının oluşturduğu bir alan veya her ikisinin kombinasyonu olabilir. Kapaklı bir şişenin içindeki enfeksiyöz ajan bir primer bariyer ile çevrilidir. Şişe istenmeden kırılır veya birisi bilinçsizce kapağını açarsa veya içeriği istenmeden yeni bir sisteme, konağa ya da vektöre geçerse güvenlik problemi doğar. Ajanın saçılmasıyla sonuçlanabilecek benzer şartlar göz önüne getirildiğinde; enfeksiyöz materyal öyle kap-

lanmalıdır ki, yalnızca çalışanın değil yakın çevrede bulunan diğer kişilerin korunması da hesaba katılmış olsun. Bir biyogüvenlik kabininin de infeksiyöz ajanı oluşan hava perdesinin (laminar akım) altında tutarak bariyer fonksiyonu gördüğü söylenebilir. Eğer primer korunma herhangi bir şekilde yetersiz kalır veya başarısızlığa uğrarsa, bu kez giysi ve diğer kişisel koruyucular [personal protective equipment, (PPE)] biyolojik, fiziksel, kimyasal ya da nükleer bir maruz kalma karşısında önemli bir defans hattı haline gelir^[20].

Sekonder korunma ise laboratuvar dışında kalan çevrenin korunması da dahil olmak üzere bina ve alt yapı düzenlemeleri (facility design) için gerekli tüm önlemleri tarif eder. Çalışana güvenli bir ortam sağlanırken bina dışında yaşayan toplumun, diğer canlıların ve çevrenin korunması da önem taşımaktadır. Öyle ki laboratuvar güvenliği gerçekte mimari tasarım aşamasından itibaren başlayan bir etkinlikler bütünüdür. Çalışma alanları başta olmak üzere binanın ve elektrik, su, doğalgaz, biyolojik ve kimyasal atma gibi tüm destek yapıların henüz proje aşamasındayken biyogüvenlik standartları açısından düşünülmüş olması gerekir. Bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarının yerleşim dizaynında minimum unsurlar ise; çalışma alanlarının ofis alanlarından ayrı konumda ve kamuya kapalı olması, kirli materyalin laboratuvar içinde dekontamine edilebilmesi ve laboratuvar dan çıkmadan ellerin yıkanabileceği bir lavabo bulunmasıdır (Tablo 1)^[19].

Görüldüğü üzere GLP, güvenlik ekipmanı ve yerleşim dizaynı biyogüvenliğin üç ana elemanı olarak belirir. Bir laboratuvarın hangi biyogüvenlik düzeyine girdiğine ve buna göre sayılan elemanların hangi kombinasyonda bir araya getirileceğine karar vermek için de laboratuvarın çalışma kapsamına giren infeksiyöz ajan(lar)a göre yapılacak bir risk değerlendirilmesine ihtiyaç vardır^[19].

BİYOĞÜVENLİK DÜZEYLERİ

Biyogüvenlik alanında 1980'li yıllara gelinceye kadar çok sayıda araştırma yapılmış ve uygulamaya yönelik bazı düzenlemeler getirilmiş olsa da henüz evrensel kuralların oluşmadığı dikkati çekmektedir^[2,5-10,21]. 1970'li yıllar biterken Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), çok sayıda çalışma grubunu organize ederek, biyogüvenlikte uluslararası geçerli prensipleri belirleme yolunda önemli bir çalışma gerçekleştirmiş ve bir doküman hazırlamıştır. Bu dokümanda ilk kez sistematik olarak; mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışanların karşı karşıya oldukları risk, insanda hastalığa neden olan etkenlere göre tarif edilmekte

ve biyogüvenlik düzeyleri etken sınıflamasına göre önerilmektedir^[22]. Böylece tüm mikroorganizmalar dört risk grubuna ayrılırken, tüm biyomedikal laboratuvarlar da 1'den 4'e kadar dört biyogüvenlik düzeyi [Biosafety Level (BSL)] içinde sınıflandırılmışlardır (Tablo 1)^[22].

İnsanda infeksiyona neden olmadığı kesinlikle bilinen tüm mikroorganizmalar (*Bacillus subtilis*, *Naegleria gruberi*, *Escherichia coli* K12 gibi...) risk grubu 1'e girer. Bu grup ajanlarla çalışan bir laboratuvarın standardı da biyogüvenlik düzeyi-1 (BGD-1; BSL-1) olarak ifade edilir. Yüksek öğrenim öncesi eğitim laboratuvarları bu kategoriye örnek olarak verilebilir. Giriş sınırlaması yoktur, açık-banko (open-bench) çalışılır, biyogüvenlik kabini gerekmez (Tablo 1). Bira, ekmeğe gibi ürünlerin yapımında kullanılan endüstriyel mikroorganizmaların (*Penicillium camembertii*, *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*...) büyük ölçekli üretildiği yerler de BGD-1 laboratuvarlarıdır. Ancak genişletilmiş BGD-1 [G-BGD-1] (large scale-BSL-1; BSL-1LS) olarak tanımlanan bir ara kategoriyi oluştururlar ve bazı ek düzenlemeler gerektirirler^[23].

Klinik mikrobiyolojide sık karşılaşılan ve insanda hastalığa neden olduğu bilinen pek çok mikroorganizma (*Salmonella enteritidis*, *Shigella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, Hepatit B virüsü vb...) risk grubu 2 içinde yer alır (Tablo 1). Pratik olarak hastane mikrobiyoloji laboratuvarları ve halk sağlığı laboratuvarları personelinin hemen her gün risk grubu 2'ye giren ajanlarla karşılaştığı söylenebilir. Laboratuvarda bu ajanlara maruz kalmak kimi durumda ciddi bir infeksiyonla sonuçlanabilirse de, genel olarak etkili tedavi veya korunma yollarının bulunması ve toplumda yayılma riskinin sınırlı olması ile karakterizedir. Personel ve çevre için ılımlı tehlike potansiyeli taşıyan bu ajanlar ile çalışma biyogüvenlik düzeyi-2 (BGD-2) standardına sahip laboratuvar gerektirir. Kısaca BGD-2 tüm klinik tanı, halk sağlığı, araştırma ve üniversite mikrobiyoloji eğitim laboratuvarlarının standardıdır. Potansiyel aerosol üretim oranı düşük olduğu sürece işlemler açık-banko yapılabilir. Ancak personel mutlaka patojen ajanlarla çalışabilmek için gerekli spesifik mikrobiyoloji eğitimini almış kişilerden oluşmalı ve laboratuvar yetkin bir uzman tarafından yönetiliyor olmalıdır. Aerosol üretim riskinin yüksek olduğu çalışmalarda görev alacak elemanlar ise, mutlaka biyogüvenlik kabinini veya diğer güvenlik ekipmanını doğru kullanma eğitimi almış olmalıdır.

Tablo 1. İnfeksiyöz ajanlara göre önerilen BGD'ler ve minimum standart düzenlemeler (DSÖ ve CDC kaynaklarından uyarlanmıştır)[22,23]

Risk grupları (RG)	Mikroorganizmalar	BGD/ Örnek laboratuvarı	Uygulamalar	Güvenlik ekipmanı (primer bariyer)	Dizayn (sekonder bariyer)
RG-1 (bireysel ve toplumsal risk yok)	<i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> K12 <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Naegleria gruberi</i>	BGD-1 (P1) • Temel eğitim laboratuvarı	GLP	Gerekmez	Lavabo
RG-2 (orta bireysel risk, düşük toplumsal risk)	<i>S. enteritidis</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Y. pestis</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>Aeromonas</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Campylobacter</i> spp., <i>Legionella</i> spp., <i>B. mallei</i> *, <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>S. typhi</i> *, <i>C. diphtheriae</i> , <i>L. interrogans</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Chlamydia</i> spp., <i>G. vaginalis</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>B. pertussis</i> *, <i>Brucella</i> spp. *, <i>B. anthracis</i> *, <i>C. albicans</i> , <i>Aspergillus</i> spp., <i>C. neoformans</i> , <i>H. capsulatum</i> *, <i>T. gondii</i> hepatit B virüs, Norwalk virüs, Picornaviridae, Paramyxoviridae,	BGD-2 (P2) • Üniversite eğitim laboratuvarı • Klinik mikrobiyoloji tanı laboratuvarı • Halk sağlığı laboratuvarı • Araştırma laboratuvarı	• GLP+ • Giriş sınırlaması • "Kesci" önlemleri • Biyotehlike uyan işaretleri** • Bölüm/laboratuvar içi atık dekontaminasyonu • Biyogüvenlik rehberi	• Sınıf I veya II BCG • Potansiyel aerosol önleyici ekipman, • KKE (önlük, eldiven, gerekliyse gözlük)	• BGD-1+ • Otoklav
RG-3 (yüksek bireysel risk, düşük toplumsal risk)	<i>M. tuberculosis</i> , <i>C. burnetii</i> , <i>C. immitis</i> <i>Rickettsia</i> spp.* "Lassa fever" virüs, "St. Louis encephalitis" virüs, "Japanese encephalitis" virüs, "West Nile" virüs, "Yellow fever" virüs ve çok sayıda arbovirüsler#	BGD-3 (P3) • Özel tanı laboratuvarı (tüberküloz tanı ve araştırma laboratuvarı) • Üretim laboratuvarı	• BGD-2+ • Kontrollü giriş • Laboratuvar içi atık dekontaminasyonu • Yıkama öncesi giysi dekontaminasyonu • Giriş serumu	• BGD-2+ • Korunaklı laboratuvar giysisi, • Gerekirse ağız-burun maskesi	• BGD-2+ • Aynı giriş koridoru, • Kendi kapanan çift kapılı giriş, • Laboratuvar içine negatif hava akımı, • Havanın yeniden dolaşma girmesini önleyen sistem
RG-3 (yüksek bireysel risk, düşük toplumsal risk)	• İnsanda (veya hayvanda) ciddi ve bazen ölümcül hastalığa neden olabilen mikroorganizmalar • Başlıca maruz kalma yolu: Aerosol inhalasyonudur • Etkili tedavisi veya korunma önlemleri bulunur.				

Tablo 1. Infeksiyöz ajanlara göre önerilen BGD'ler ve minimum standart düzenlemeler (DSÖ ve CDC kaynaklarından uygulanmıştır) (devamı)[22,23]

Risk grupları (RG)	Mikroorganizmalar	BGD/ Örnek laboratuvarı	Uygulamalar	Güvenlik ekipmanı (primer bariyer)	Dizayn (sekonder bariyer)
RG-4 (yüksek bireysel ve toplumsal risk) <ul style="list-style-type: none"> • İnsanda (veya hayvanda) ölümcül hastalığa neden olan ve infekte bireylerden diğerlerine kolayca yayılabilen mikroorganizmalar • Başlıca maruz kalma yolu: Aerosol inhalasyonudur. • Etkili tedavisi ve korunma önlemleri yok. 	Ebola-Marburg virüs Lassa virüs, Junin virüs, Machupo virüs Guanarito virüs ve diğer bazı filovirüsler, arbovirüsler, arenavirüsler#	BGD-4 (P4) <ul style="list-style-type: none"> • Tehlikeli patojen ünitesi 	<ul style="list-style-type: none"> • BGD-3+ • Girişte özel kıyafet giyilmesi • Çıkışta duş, • Çıkışta bütün materyalin dekontaminasyonu 	<ul style="list-style-type: none"> • Sınıf III BGC veya • Sınıf II BGC+ • Tüm vücudu koruyan hava destekli ve pozitif basınçlı kıyafet 	<ul style="list-style-type: none"> • Aynı bina veya izole bölge, • Özel bina ve havalandırma dizaynı, "air-lock" kapı, • Çift-kapaklı otoklav

* Eğer mikroorganizma büyük volümlerde, yüksek konsantrasyonda kullanılıyor ya da yüksek oranda aerosol oluşumundan kaçınılmıyorsa RG-3 mikroorganizmalar gibi BGD-3 laboratuvarında çalışmalıdır.

** Biyotehlike uyarı işareti

"American Committee on Arthropod-Borne Viruses' Subcommittee on Arbovirus Laboratory Safety (SALS)" sınıflandırmasına göre.

BGD: Biyogüvenlik düzeyi, GLP: "Good Laboratory Practice", KKE: Kişisel koruyucu ekipman.

BGD-2'de giriş sınırlaması vardır; laboratuvarın ilgisiz kişilerin girişine izin vermeyecek yerleşimde olması ve girişinde "biyotehlike" uyarı levhası bulunması gerekir. Ek olarak BGD-2 laboratuvarlarda kontamine materyalin laboratuvar dışına çıkarılmadan önce dekontamine edilmesi sağlanır. Bu düzeyde başlıca biyogüvenlik sorunu; infeksiyöz ajanın kazara inokülasyonu, yutulması veya mukoz membranlara teması sonucu ortaya çıkar. Bu nedenle BGD-2 ayrıca kesici-delici önlemlerinin alınmasını gerektirir^[22,23]. Risk grubu 2'ye giren ajanlardan biri ile 10 L'den fazla kültür üretimini gerektiren çalışmalar yapıyorsa laboratuvar genişletilmiş BGD-2 (G-BGD-2) kategorisine girer. G-BGD-2 standardında kesinlikle açıkbanko çalışamaz. Laboratuvar, departman trafiğinden uzak bir yerleşime kurulur ve giriş sınırlaması daha katı uygulanır (Tablo 1)^[23].

Risk grubu 3'te yüksek aerosol bulaş potansiyeli ile, maruz kalan bireyde ciddi ve bazen öldürücü hastalığa neden olabilen, ancak toplumda yayılma riski sınırlı infeksiyöz ajanlar yer alır. *M. tuberculosis*, *Coxiella burnetii*, *Coccidioides immitis*, "West Nile virüs" ve "Yellow fever" virüs bu gruba giren patojenlerden bazılarıdır (Tablo 1). Biyogüvenlik düzeyi-3 (BGD-3) laboratuvarlar, böyle patojenlerin çalışılmasında gerekli standartlara karşılık gelir. Öte yandan *Brucella* spp., *Salmonella typhi*, *Neisseria meningitidis*, *F. tularensis*, *B. anthracis*, *Bordetella* spp., *Clostridium botulinum*, *Histoplasma capsulatum*, *Rickettsia* spp. ve HIV dahil retrovirüsler gibi bazı infeksiyöz ajanlar esasen risk grubu 2 içinde yer almalarına ve klinik örneklerden inceleme için BGD-2 standardı yeterli olmasına rağmen; çeşitli amaçlarla konsantrasyon ya da büyük hacimli kültürlerinin üretildiği durumlarda ve yüksek düzeyde aerosol oluşma potansiyeli olan uygulamalarda BGD-3'te çalışmaları önerilmektedir. BGD-3 personelinin, bu potansiyel öldürücü patojenlerle çalışma yeterliliğinde spesifik mikrobiyoloji eğitimi veya üst-eğitimi almış kişilerden oluşması ve laboratuvarın bu ajanlar üzerine spesifik deneyime sahip yetkin bir uzman/bilim adamı tarafından yönetiliyor olması kuraldır. Risk grubu 3 ajanlarla çalışma esnasında personel için tehlike yaratan en ciddi bulaşma yolu, inhalasyondur; geçiş zonu uygulaması ve yönlendirilmiş hava akımı gibi özel mühendislik düzenlemeleri de bu laboratuvarlarda öncelikle inhalasyon ile bulaşmayı önlemek amacıyla taşır. Ayrıca, BGD-2 için gerekli olandan daha donanımlı koruyucu giysi ve laboratuvara girişin bir dizi prosedürle gerçekleşmesi, çalışanın, kazara yutma veya otoinokülasyon gibi olaylardan kaçınmasına daha fazla katkıda bulunan bir

uyarıcı atmosfer sağlar. BGD-3 laboratuvarlar aynı zamanda çalışma konusu ajanların topluma yayılmasını kesinlikle önlemek sorumluluğunu da taşır. Bu nedenle laboratuvar yönetimi sistemin sorunsuz çalıştığından her zaman için emin olmak zorundadır^[22,23].

Risk grubu 4'te ise etkili tedavisi veya korunma önlemi bulunmayan, insan sağlığı açısından ciddi risk taşıyan ve hayatı tehdit eden mikroorganizmalar yer alır. Lassa fever virüs, Machupo, Marburg ve Ebola virüsler, diğer bazı filovirüsler ve arbovirüsler bu grupta sayılabilecek enfeksiyöz ajanlardır (Tablo 1). Ortak özellikleri; çok düşük dozlarda bile enfeksiyona neden olabilmeleri ve kişiden kişiye bulaş ile toplumda yayılabilmeleridir. Potansiyel enfeksiyöz klinik materyalin tanı amaçlı manipülasyonu dahil, risk grubu 4'e giren mikroorganizmalarla ilgili tüm çalışmaların, biyogüvenlik düzeyi-4 (BGD-4) standartlarına sahip laboratuvarlarda yapılması kuraldır. Bu laboratuvarlarda her türlü aktivite ve çalışma, maksimum koru(n)ma ekipmanında (sınıf III biyogüvenlik kabini) ya da tüm vücudu kapatan pozitif basınçlı ve solunum destekli özel koruyucu kıyafet ile kısmi koru(n)ma ekipmanı (sınıf II biyogüvenlik kabini) kullanılarak gerçekleştirilir. Laboratuvar yerleşimi hemen her zaman diğer binalardan ve kamusal alandan belirgin bir uzaklıktadır. Laboratuvara giriş ise ciddi sınırlama ve kontrol altındadır. Böylesine yüksek dikkat ve korunma gerektiren bu ajanlarla çalışan laboratuvar personeli veya infekte hayvan bakım personeli için en ciddi tehlike enfeksiyöz aerosollere maruz kalmaktır. Eğer uygun koruyucu giysi ve ekipman ile donanımlı ise, personel için kazara parenteral inokülasyon ya da mukoz membran teması ile infekte olma riski çok azdır. Ancak personelin yalnızca yüksek öğrenim seviyesinde mikrobiyoloji eğitimi değil, çalıştığı bu fevkalade tehlikeli patojenler için spesifik bir eğitimi de almış kişilerden olması ve laboratuvarın, bu ajanlar üzerine spesifik deneyime sahip yetkin bir uzman/bilim adamı tarafından yönetiliyor olması kuraldır^[22,23].

İYİ LABORATUVAR PRATİĞİ (GLP)

GLP; biyogüvenliğin temel prensiplerinden biri olarak bir kurallar bütünüdür. GLP kuralları kısaca teknik elemanın, laboratuvarında çalışması esnasında, muhtemel maruz kalma yollarının tümünden kaçınma tekniklerini kapsar^[19,22].

İnfeksiyöz ajana bilinen en sık maruz kalma yolu olan perkütan inokülasyon; enjektör veya diğer kesici-delicilerle çalışırken ya da kontamine cam kırıkla-

rının el ile toplanması esnasında, kaza ile batma sonucu meydana gelir. Kullanılan enjektör iğnelerinin tekrar plastik koruyucusuna takılmak istenmesi batma türü kazaların en sık nedenidir ve en ciddi risk kan kaynaklı patojenlerin, özellikle HBV ve HIV'in bulaşma olasılığıdır^[1,8,16,21]. Klinik mikrobiyolojide sıkça incelenen diğer potansiyel enfeksiyöz ajanların (risk grubu 2) benzer yaralanmalara bağlı parenteral inokülasyonu da ciddi hastalıkla sonuçlanabilir. İlginç olan ise bazı hayvan deneyleri hariç, mikrobiyoloji laboratuvarında enjektör kullanılmasını gerektiren neredeyse hiçbir işlem bulunmamıştır. Nitekim gözlemler hemen her laboratuvarında pipet, pastör pipeti, otomatik pipet gibi uygun ekipman bulunduğu halde, enjektörlerin yaygın olarak, amacı dışında, pipetaj ya da materyal transferi için kullanıldığını ortaya koymaktadır^[4]. GLP kuralları klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında enjektör kullanımını kesinlikle yasaklamaktadır. Zorunlu hallerde kullanılan enjektör iğnelerinin ise, kesinlikle plastik koruyucusuna tekrar takılmaması, eğilmemesi, kırılmaması ve enjektörden ayrılmaması önerilir^[1]. Enjektörlerin ve diğer kesici-delicilerin (bistüri ucu, lam, lamel..) işi biter bitmez ayrı bir kutuya atılması, kutunun kesilme ve delinmeye dayanıklı olması, laboratuvar dışına çıkarılmadan dekontamine edilmesi, diğer önemli uyarılardır^[19,22].

Doğrudan ya da dolaylı olarak mikroorganizmaların ağız yolu ile alınması da önemli bir maruz kalma yoludur. Ağızla pipetaj esnasında enfeksiyöz materyalin kazara yutulması oldukça sık rastlanan laboratuvar kazaları arasında yer alır^[6,15]. Ülkemizde laboratuvar kazaları sistematik olarak izlenmediğinden, sıklığını bilmiyorsak da güncel pratiğimizde, yakın çevremizde pipetaj esnasında yutma öyküleri dinlemiş ya da tanık olmuşuzdur. Pek çok laboratuvarımızda ekipman yetersizliği veya yerleşik alışkanlıklar nedeniyle serum ya da enfeksiyöz sıvıların pipetleme işlemleri halen ağız ile yapılmaktadır. Ekonomik nedenlerle sofistike pipetaj cihazları temin edilemese bile, basit plastik puar kullanımının yaygınlaştırılması bu tür kazaları önemli ölçüde ortadan kaldıracak bir önlemdir. Laboratuvarında çay-kahve, sigara içilmesi, yemek yenmesi, makyaj yapılması mikroorganizmaların ağız yolu ile alınmasında sayılabilecek diğer nedenlerdir. Bu potansiyel maruz kalma yolu; personelin çalışma dışında kalan zamanını geçireceği alanların laboratuvardan ayrılması, laboratuvar buzdolabına yiyecek konmaması ve laboratuvarında yeme-içme gibi aktivitelere izin verilmesi ile önenebilir^[19,22].

İnfeksiyöz sıvıların küçük parçacıklar (aerosol) halinde etrafa saçılması sonucu bulaş, belki de en önemli mekanizmadır. Potansiyel infeksiyon kaynakları ve rutin mikrobiyolojik teknikler arasındaki ilişki üzerine yapılan araştırmalar; hemen her bakteriyolojik ve virolojik rutin işlem esnasında aerosol üretildiğini ortaya koymaktadır. Özeyi alevde yakma, özenin besiyerinde soğutulması, her türlü dökülme/saçılma, santrifüj, vorteks, sonikasyon, ezme-parçalama işlemleri, örneklerin vakum altında filtrasyonu, liyofilize ampullerin açılması, pipetaj, pipetteki son damlanın üflenmesi, iğnenin enjektörden ayrılması, enjektör havasının alınması, infeksiyöz sıvıların bir kaptan diğerine aktarılması gibi aerosol üreten çok sayıda uygulama her gün defalarca tekrarlanır. Aerosol oluşumu laboratuvar güvenliğini iki nedenle tehdit eder; birincisi, 5 µm'den küçük partiküllerin solunum yolundan alınabilmesidir. Diğerisi ise daha büyük partiküllerin çalışma yüzeyine, ekipman üzerine veya personelin eline/giysisine düşmesidir ve mukoz membranlar veya hasarlı ciltten geçiş için potansiyel risk oluşturmaları^[24].

Geçtiğimiz yüzyılın ilk yarısında tüberkülozun bulaşma yolları üzerine yapılan çalışmalar esnasında damlacık çekirdeği (droplet nucleus) olarak adlandırılan bir konsept ortaya atılmıştır. Bu çalışmalarda çekilen aksırma ve öksürme fotoğrafları, çapları birkaç ile yüzlerce mikron arasında değişen binlerce damlacığın havaya saçıldığını gösterir. Gelişmiş fotoğraf teknikleri ve uygun modeller ile yapılan sonraki çalışmalar damlacıkların saçılmalarından sonraki çok kısa bir süre içinde evaporasyona (buharlaşıma) uğradığını; bunun damlacık büyüklüğüne de bağlı olarak bazen saniyenin yüzde biri kadar kısa sürede gerçekleştiğini ve damlacığın içerisinde taşıdığı partikül ve onu önceden çevreleyen sıvının içeriğiyle birlikte kuru bir kitleye dönüştüğünü ortaya koymaktadır. Bir insan boyu yükseklikten saçılan 140 µm'den büyük damlacıklar, buharlaşma olmasına yeterince zaman kalmadan birkaç saniye içinde düşmekte ve sıklıkla zemin tozu ile agregat oluşturarak havaya karışamayacak hale gelmektedir. İşte bu çalışmalarda daha küçük damlacıkların ise zemine varmadan sıvı kaybederek damlacık çekirdeğine dönüştükleri ve aerodinamik nedenlerle havada asılı kalabildikleri anlaşılmıştır^[24]. Tüberküloz araştırmaları esnasında elde edilen bu bulgular bugün laboratuvarında aerosol oluşumu ve davranışı ile ilgili teorilere de kaynaklık etmektedir. Aerosolizasyon hemen her zaman belirli bir kuvvet etkisi altındaki sıvılardan gerçekleşir. Bu anlamda mikrobiyolojik çalışma esnasında sıvı faz içindeki organizmaların infeksiyöz damlacıklara dö-

nüşme riski en fazladır. Pipetaj, çalkalama, sert yüzeylere düşme, dökülme, gibi etkiler infeksiyöz sıvılardan partiküllerin saçılması için yeterli kuvveti kolaylıkla sağlar. Basit bir örnek vermek gerekirse; bir pipetin ucundaki infeksiyöz damlanın çalışma yüzeyine düşmesi ile çok sayıda görünür damlacığın yanı sıra, gözle görülemez partiküller de oluşmakta ve bunlar damlacık çekirdeklerine dönüşebilmektedirler^[22-24]. Laboratuvar çalışmasında aerosol üreten işlemlerin yarattığı en ciddi risk solunum yolu ile (airborne) yayılma potansiyeli olan *M. tuberculosis*, *C. burnetii* gibi patojenlerin bulaşma olasılığıdır. Öte yandan; klinik mikrobiyolojide incelenen diğer infeksiyöz ajanları içeren aerosollerin inhalasyonu ya da saçılan partiküllere temas sonucu kontaminasyon da ciddi hastalıkla sonuçlanabilir^[6,15,23]. Öyle ki; pratik olarak, aerosol oluşumunu önlemek ya da minimuma indirmek için alınacak tedbirlerin, laboratuvar kaynaklı infeksiyonları önemli ölçüde engelleyeceği ileri sürülebilir (Tablo 2). Bu nedenle GLP kurallarına uyulması ve güvenlik ekipmanının kullanılması, aerosol üretme potansiyeli bulunan çalışmalarda ayrıca önem kazanır^[23].

GÜVENLİK EKİPMANI

Primer koru(n)manın gerçekleştirilmesi belli araçların kullanılmasıyla mümkündür. Bu araçlar güvenlik ekipmanı olarak tanımlanır. Biyogüvenlik kabinleri ise, aerosol etkilerinden korunmak için geliştirilmiş cihazlar olarak, güvenlik ekipmanı içinde özel bir yere sahiptir.

İlk biyogüvenlik kabininin, 1909 yılında tüberkülin üretimi esnasında *M. tuberculosis*'ten korunmak amacıyla, bir havalandırma bacası gibi dizayn edildiği ve üretildiği bilinmektedir. 1940'lı yıllarda tifüs ve Q humması çalışmalarında karşı karşıya kalınan yüksek infeksiyon riski, atılan havanın (exhausted air) içerdiği patojenin tutulması ya da yok edilmesini sağlayacak yeni güvenlik kabinlerinin dizayn edilmesine yönlendirmiştir. Önceleri atılan hava bir dezenfektandan ya da insineratörden geçirilmiş, bir süre sonra bugünkü çıkış filtrelerinin ilk örneği sayılabilecek cam elyafı filtre kullanılmaya başlanmıştır. Zaman içinde bu kabinlerde; görüntüyü engellemeyecek, çalışmanı sıçrayan damlalardan koruyacak, havanın düzenli bir şekilde dolaşımına yardım edecek ve kabinin dekontaminasyonu için kapatma gereksinimini karşılayacak sabit açıklıkta bir ön kapak önerilmiştir. Böylece 1960'lı yıllara gelindiğinde kabinin ön kısmında bir cam panel ve kabin içine giriş için 25 cm ya da daha az açıklık kabul edilmiş; atılan hava için yüksek-etkinlikli filtre standart hale gelmiştir^[20]. Gü-

Tablo 2. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında aerosol üretiminin önlenmesi ve potansiyel aerosol etkilerinden (inhalasyon, deri-mukoza teması) korunmada başlıca GLP kuralları

Teknik	İyi laboratuvar uygulaması
Pipet kullanma teknikleri	<ul style="list-style-type: none"> • Enfeksiyöz materyal asla pipetaj yapılarak karıştırılmamalıdır. • Pipete hava çekilmemesine azami dikkat gösterilmelidir. • Oluşan hava kabarcıkları patlatılmamalıdır. • Pipet ucunda kalan son damla asla üflenerek bırakılmamalı ya da bunun için üflemez pipetler tercih edilmelidir. • Enfeksiyöz sıvıların pipet ucundan damlamamasına özen gösterilmelidir; her ihtimale karşı çalışma masasına absorban pet (süzgeç kağıdı vb.) yayılmalıdır. • Pipete alınan sıvı, tüp veya şişenin iç duvarından akıtılarak bırakılmamalıdır. • Pipet atma kutusu biyogüvenlik kabini (BGK) içinde yer almalıdır.
Enjektör kullanma teknikleri	<p>Mikrobiyoloji laboratuvarında enjektör kullanımının yeri yoktur. Ancak kullanım zorunluluğu olduğu durumlarda (hayvan deneyleri gibi):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Enjektör iğnesinin şırıngaya takıldığı yer kilitli sistem (luer-lock) olmalıdır. • Enjektör içinde kalan hava çıkarılmak isteniyorsa BGK kullanılmalı veya alkol emdirilmiş gazlı bez ile enjektör iğnesi kapatıldıktan sonra hava çıkarma işlemi yapılmalıdır. • Enjektörler pipetaj amacıyla asla kullanılmamalıdır.
Öze kullanma teknikleri	<ul style="list-style-type: none"> • Özenin halkası kesinlikle tam kapalı olmalıdır. • Özenin sapa bağlanma uzunluğu 6 cm'yi geçmemelidir. • Özenin bunzen bekinde yakılması aerosol oluşturma riski taşıdığından mikro-insineratör kullanılmalı veya plastik disposibl özeler tercih edilmelidir. • Isı ile yakılmış özeler besiyerinde soğutulmamalı havada soğuması beklenmelidir. • Ekim yapılacak besiyeri yüzeyinin pürüzsüz olmasına dikkat edilmelidir; pürtüklü yüzeylerde ekim esnasında aerosol oluşturma riski vardır.
Diğer	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratuvarda tüp, erlen ve şişe ağızlarının kapatılmasında pamuk kullanımından vazgeçilmelidir; pamuk enfeksiyöz sıvıların kontamine olmaya ve enfeksiyöz partikül üretmeye elverişli bir maddedir. • Pamuklu şişeler ve tüpler yerine sızdırmaz burgu kapaklı şişeler ve tüpler kullanılmalıdır. • Çalkalama, vorteksleme, sonikasyon, santrifüj gibi işlemlerde mutlaka burgu kapaklı tüpler kullanılmalıdır. • Çalkalama, vorteksleme, sonikasyon, santrifüj gibi işlemlerden sonra tüp kapakları birkaç dakika bekledikten sonra ve mümkünse BGK içinde açılmalıdır. • Katalaz testi asla lamda yapılmamalı; bunun için tüp testi kullanılmalıdır veya BGK içinde "cover-glass" metodu kullanılmalıdır. • Liyofilize ampuller mutlaka BGK içinde açılmalıdır. • Çalışma alanına emici özelliği yüksek kağıt serilmelidir. • Çalışma alanı sık sık dezenfektan ile temizlenmelidir (%70 alkol veya %0.5-1.0 sodyum hipoklorit). • Dikkatli çalışma alışkanlığı kazanılmalıdır; çalışma esnasında dökülme, damlatma, sıçratma olmamasına özen gösterilmelidir.
Kişisel koruyucu ekipman kullanım teknikleri (primer bariyerler)	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratuvarda mutlaka önlük giyilmeli; önlük dizler dahil kapatıcı uzunlukta ve kol ağızları büzgülü olmalı, çalışırken düğmeler kapalı tutulmalıdır. • Laboratuvarda giyilen çalışma önlüğü ofis alanlarında kullanılmamalıdır. • Önlükler mümkünse kurumdan dışarı çıkarılmamalı; kurumda güvenli bir şekilde yıkanmalıdır. • Çalışma esnasında mutlaka eldiven giyilmelidir. • Eldiven önlük kol ağızlarını içine alacak şekilde giyilmelidir. • Eldivenlerin herhangi bir şekilde kontamine olduğu fark edildiğinde hemen yenisi ile değiştirilmelidir. • Klinik örneklere (serum, kan, idrar, balgam...) asla eldivensiz ellenmemelidir. • Laboratuvardan çıkmadan önce eller yıkanmalıdır. • Kontakt lens kullanan kişiler koruyucu gözlük takmalıdır.

nümüzde biyogüvenlik kabinleri; çalışma ortamında dolaşan havayı özel filtrelerden "High-Efficiency Particulate Air (HEPA)" geçirerek steril eden bir mekanizmanın, değişik amaçlara uygun, değişik versiyonları şeklinde dizayn edilir ve üç genel sınıf içinde tanımlanabilir. Sınıf I; sabit açıklık sağlayan ön panelli ve yalnız hava girişi (sirkülasyonsuz) kabinlerdir. Sınıf II; çeşitli alt tipleri de olan, açılır ön panelli ve vertikal hava akımlı kabinlerdir. Sınıf III ise tümüyle kapalı bir sistem olup, ön panelin sabit bir elemanı olan kol-boyu kauçuk eldivenlerle çalışma alanına ulaşılabilen cihazlardır^[20]. Bugünkü anlamda bir biyogüvenlik kabini HEPA filtreler olmaksızın düşünülemez. HEPA filtre ilk olarak İkinci Dünya Savaşı sırasında ABD'de geliştirilmiş bir askeri endüstri ürünüdür. Bu filtrelerin, 0.3 µm'den büyük partikülleri %99.97 oranında tutan çok yüksek bir etkinlik düzeyine sahip oldukları bilinmektedir. Daha da ilerisi bakteriyofajlar veya virüsler gibi küçük partikülleri de sıkıştırma ve tabakalandırma yoluyla alıkoyarlar^[20].

Sınıf I biyogüvenlik kabinleri çalışanı ve çevreyi mikrobiyal bulaştan korumak üzere dizayn edilmiştir. Ön açıklıktan doğrudan çalışma alanına giren hava üst kısımda yer alan HEPA filtreden geçerek atılır. Bu özelliği ile doku kültürü çalışmaları gibi çalışılan materyalin korunması gereken durumlar için önerilmez. Sınıf II biyogüvenlik kabinlerinin ayırdedici özelliği ise çalışanın ve çevrenin yanı sıra çalışılan materyalin de korunmasıdır. Bu grup ayrıca sınıf IIA ve IIB olmak üzere ikiye ayrılır^[20,22,25].

Sınıf II kabinlerde de ön açıklıktan hava girişi olmasına rağmen, sistem; bu havanın çalışma alanında dolaşma girmeden önce HEPA filtreden geçmesini sağlayacak şekilde dizayn edilmiştir. Kabinin üst kısmına yerleşik HEPA filtreden geçerek çalışma alanına giren hava çalışma alanında sabit bir akış hızı (velocity) ile düşey bir hava perdesi (laminar akım) oluşturur ve yaklaşık 10 dakikalık bir sürenin sonunda ve herhangi bir turbülans olmadığında kabin içi dolaşan hava pratik olarak steril (partikülsüz) kabul edilebilir. Yaklaşık giren hava kadar bir hacimde atık hava da kabinin üst kısmındaki ikinci bir HEPA filtreden geçirilerek laboratuvara veya dışarıya gönderilir. Sınıf IIA'da ön açıklıktan giren hava ve atık hava volümü, en az 0.4 m/s akış hızı ile, sistemde dolaşan havanın, yaklaşık %30'u kadardır. Sınıf IIB'de ise giren ve atık hava oranı %70-100 arasında değişir ve bu daha yüksek (0.5 m/s) hava akış hızı ile sağlanır. Sınıf IIB (üç ayrı alt tip olarak) toksik veya karsinogenik ajanlarla yapılan ya da düşük yoğunluklu nükleer madde kullanılan çalışmalar için üretilir.

Bu tür çalışmaların niteliği gereği, Sınıf IIB kabinlerde atık hava tümü ile laboratuvar/bina dışına gönderilir^[20,25].

Burada belirtmekte fayda olan bir nokta; kimi zaman fonksiyonları biyogüvenlik kabinleri ile karıştırılan çeker ocak (fume hood) ve temiz bankonun (clean bench) klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için uygun ekipmanlar olmadığıdır. Çeker ocaklar kimyasal analiz laboratuvarlarında yalnızca kimyasal madde buharını uzaklaştırmaya yarayan basit baca sistemleri olarak tanımlanabilir. Mikrobiyolojik amaçlarla kullanımında, çalışan için yeterli koruma sağlamadığı gibi materyali ve çevreyi kesinlikle korumaz. Daha da ilerisi potansiyel patojenlerin doğrudan çevreye atılmasına neden olur. Temiz banko ise ön paneli bulunmayan, yatay (horizontal) hava akımlı bir sistemdir ve ortam havasını HEPA filtreden geçirerek çalışma alanına verir. Kullanım amacı materyalin korunmasını gerektiren çalışmalarla sınırlıdır. Kişiyi korumaz; tam tersine, potansiyel patojenlerle bu tür bir cihazda çalışmak, oluşacak aerosollerini doğrudan çalışan bireye yönlendiren hava akımı nedeniyle fevkalade tehlikeli bir durum yaratır.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılacak biyogüvenlik kabininin seçimi önemli bir konudur. Bu, laboratuvarın biyogüvenlik düzeyinden ziyade, çalışılan organizmalara göre belirlenir. BGD 1-3 arası laboratuvarlarda, sınıf I ve II kullanılabilir. Sınıf III, daha çok BGD-4 amaçlarına uygundur. Ancak personel özel giysisi ile BGD-4'te sınıf II biyogüvenlik kabini de kullanılabilir. Klinik mikrobiyolojide ya da genel olarak BGD-2 laboratuvarlarda en yaygın tercih edilen tip sınıf IIA'dır. Kabin seçerken; sınıfı, akım yönü, akım hızı, atık hava yüzdesi, HEPA filtre sayısı bilinmesi gereken parametrelerdir. Ergonomi, kolay temizlenebilir olma, yeterli aydınlatma, UV lamba, elektrik, gaz ve vakum çıkışları bulunması, ön panelin güvenli çalışma sınırında tutulabilmesi, alarm mekanizması gibi özelliklerin de aranması gerekir. Ayrıca, güvenli bir çalışma için kullanıcı; kabin içi dekontaminasyon uygulamalarını biliyor ve hava akımı performans değerlendirmelerini düzenli aralıklarla yapıyor olmalıdır.

Pratik olarak aerosol oluşturma ya da sıçrama potansiyeli taşıyan tüm prosedürlerin biyogüvenlik kabini içinde gerçekleştirilmesi önerilir. Bunlar vorteksleme, dokuları ezme, parçalama, karıştırma, çalkalama, sonikasyon, santrifüj ya da bu işlemlere tabi tutulmuş tüp kapaklarının açılması, iç ve dış basınç farkı olabilecek infeksiyöz materyal içeren kapalı kutu veya tüplerin açılması, deney hayvanlarına burun

içi inokülasyon, infekte embriyonlu yumurta veya hayvan dokuları ile çalışma şeklinde sayılabilir. Klinik örneklerle (serum, balgam...) uygulanacak bütün işlemlerin de mümkün olduğunca biyogüvenlik kabini içinde gerçekleştirilmesi kuraldır. Araştırmacılar biyogüvenlik kabini kullanmanın yarattığı aşırı güven duygusuna da dikkati çekmekte; kabinin aerosol dışı infeksiyöz ajana maruz kalma yollarını ortadan kaldırmadığı vurgulanarak; GLP kurallarının, kesici-delici önerilerinin ve kişisel koruyucu ekipmanın (önlük ve eldiven...) ihmal edilmemesi gereği belirtilmektedir (Tablo 3)^[20].

Güvenlik ekipmanı içinde kapaklı kaplar önemli bir alt başlıktır. Mikrobiyolojide kapaklı kapların önemi; 19. yüzyılda Pasteur'ün, ağzı kapatılmış balon

içeriğinin havadan girebilecek organizmalara karşı korunduğunu, ilk kez kanıtladığı tarihten bu yana bilinir. Günümüzde infeksiyöz materyalin transportu, saklanması ve deneylerin yapılması ile ilgili her durumda kullanılan malzeme ve santrifüjlerin kapaklı olması; santrifüjleme, sonikasyon, çalkalama gibi işlemlerde kullanılan kapların sızdırmazlığından emin olunması bir biyogüvenlik standardıdır^[20,22]. Ülkemizdeki laboratuvarlarda kan, serum, balgam, gaita gibi infeksiyöz materyalin taşınması ve laboratuvarında korunmasında, tüm serolojik ve mikrobiyolojik prosedürlerde (aglutinasyon testleri, IMViC vb.) ağzı pamuk ile kapatılmış tüpler ve şişeler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Pamuğun bizzat partikül üreten bir materyal olması, farkına varılmadan kontamine ol-

Tablo 3. Sınıf II biyogüvenlik kabini kullanımı ile ilgili başlıca çalışma kuralları

Tablo 3. Sınıf II biyogüvenlik kabini kullanımı ile ilgili başlıca çalışma kuralları	
Genel kurallar	<ul style="list-style-type: none"> • Bütün kullanıcılara kabinin kullanımı ve sınırlamaları açıklanmalıdır. • Kabinin büyük miktarda dökülmeler ile oluşacak sıçrama, aerosol oluşumu ve deri kontaminasyonundan korumadığı unutulmamalıdır. Eldiven ve diğer kişisel koruyucular her zaman kullanılmalıdır. • Kabin laboratuvar içinde laminar akımı bozacak tüm etkilerden uzak bir noktaya yerleştirilmelidir. • Kabinde çalışma varken etrafta dolaşılmalı, laboratuvar kapısı kapalı tutulmalıdır. • Kabinde çalışma esnasında laminar akımı bozacak türden aşırı hareketlerden kaçınılmalı, eller mümkün olduğunca dışarıya çıkarılmamalı, kirlenen materyal, pipet vb. için kabin içinde atık kabı bulundurulmalıdır. • Çalışma esnasında ellerin dışarı çıkarılması gerekiyorsa, eller kabine sokulduktan sonra, yeniden çalışmaya başlamadan önce iki-üç dakika beklenmelidir. • Kabin içinde öze yakmak amacıyla bunzen beki kullanılmamalıdır. Alev, laminar akımı olumsuz etkiler, filtre yanabilir. Mikro-insineratör tercih edilmeli ya da disposibl öze kullanılmalıdır. • Kabin; fan çalışmazken ve "air-flow" göstergesi "güvenli" modunda değilken asla kullanılmamalıdır.
Çalışma esnasında uyulacak kurallar	<ul style="list-style-type: none"> • Çalışma öncesinde çalışmanın bütün aşamaları planlanmış olmalı ve gerekli ekipman ile malzemenin tamamı kabin içine yerleştirilmelidir. • Kabin içi materyal, malzeme ve cihaz miktarı optimum olmalıdır. Aşırı yüklemeye yapılmamalıdır. • Çalışma alanına dezenfektan emdirilmiş absorban pet (süzgeç kağıdı) yayılmalıdır. • Kabin fanı çalıştırdıktan sonra, "air-flow" göstergesi "güvenli" moduna geldiğinde (yaklaşık 15 dakika) çalışmaya başlanmalıdır. • Çalışırken ön cam panel "güvenli çalışma aralığı" kadar açılmalı, asla daha fazla açılmamalıdır. • Çalışmanın tamamı kabinin ortasında gerçekleştirilmeli, herşey ön güvenlik camından görülebilmelidir. • Kabin fanı çalışma bittikten sonra 15 dakika daha çalıştırılmalıdır. • İş biten tüm malzeme ve kirliler bu arada dışarı çıkarılmalı, kirli malzeme otoklava konulmalıdır. • Laminar akım kesildikten sonra mutlaka tüm çalışma yüzeyleri ve güvenlik camı iç yüzeyi dezenfektan ile (%70'lik alkol veya %0.5-1.0 sodyum hipoklorit) temizlenmelidir. • Ultraviyole (UV) lamba 30 dakika açık bırakılmalıdır.

duğunda çalışan ve çevre için bulaş kaynağı olabilmesi ve devrilen şişe ve tüplerden dökülme-saçılmalara karşı korunaklı olmaması nedeniyle gerçek bir biyolojik risk kaynağı olduğu söylenebilir.

Güvenlik ekipmanı olarak kişisel koruyucular mikrobiyolojik çalışma esnasında, özellikle diğer primer bariyerlerin beklenmedik bir şekilde ortadan kalkması halinde, tahmin edilemeyecek kadar büyük önem kazanır. Rutin mikrobiyolojide önlük ve eldivenden başka, galoş, iş gözlüğü, ağız-burun maskesi, yüz koruyucu gibi malzemeler başlıca kişisel koruyucu ekipmanı oluşturur. BGD-4 laboratuvarında ise solunum cihazıyla birlikte baş dahil tüm bedeni içine alan pozitif basınçlı özel giysiler kullanılmaktadır. Biyogüvenlik düzeyine göre hangi kişisel koruyucuların, hangi kombinasyonlarda kullanılacağına karar verilmiş olması ve uygulamanın takip edilmesi gerekir. Günlük pratikte en azından hiçbir işlemin önlüksüz yapılmaması ve hiçbir klinik örneğin eldivensiz ellenmemesi yolunda bir alışkanlık yerleşmiş olmalıdır (Tablo 2). Hayvan deneyleri gibi biyogüvenlik kabininin kullanılmadığı durumlarda ek olarak laboratuvar gözlüğü veya yüz maskesi de kullanılmalıdır^[20,22].

DİĞER UYGULAMALAR

Dökülme ve benzeri kontaminasyon olaylarında dezenfeksiyonun sağlanması ile mikrobiyolojik kirlilerin, atıkların ve infekte deney hayvanlarının dekontaminasyonu ayrı bir yazı konusu olacak büyüklüktedir. Ancak hemen belirtmekte yarar vardır ki biyogüvenlikle ilgili mevzuat sorunu belki de yalnızca bu alanda giderilmiş; 1993 yılında Çevre Bakanlığı'nın çıkardığı Tıbbi Atıkların Kontrolü Yönetmeliği [20.05.1993/21586 sayılı Resmi Gazete] ile ülkemizde spesifik olarak laboratuvarlar için değil ama, genel olarak infeksiyöz materyal için atık yönetimi tarif edilmiştir. Kural olarak BGD-2'den itibaren, her laboratuvarın, dökülme-saçımlarda yapılacak işlemler ve üretilen infekte materyali nasıl elimine edeceğine dair uygulama standardının yazılı olarak bulunması ve bunların herkes tarafından bilinmesi gerekir. Infeksiyöz atıklarla ilgili uygulamanın esas atıkların geri dönüşümlü, disposibl ve kesici-deliciler olmak üzere ayrıştırılmasıdır. Ayrıca, hiçbir kirli materyal laboratuvar dışına dekontamine edilmeden çıkarılmaz^[8,20].

Biyogüvenliğin önemli bir uygulama alanı da laboratuvar kazalarının izlenmesidir^[8]. Olası bir kazada yapılacaklar için önceden belirlenmiş bir yol olsa bile alınan önlemlerin etkili olup olmadığının araştırılması gerekebilir. Laboratuvar kazalarının sorumlu

kişiye haber verilmesi belki de en eski biyogüvenlik kurallarından biridir. Kaza, maruz kalan bireyi olduğu kadar diğerlerini ve çevreyi de etkileyecek türden sonuçlar doğurabilir. Ancak kazaların izlenmesi, personelin uyumu ile mümkündür. Mikrobiyoloji laboratuvarında her türlü kazanın (infeksiyöz materyal içeren tüplerin/petrilerin kırılması, dökülme, saçılma, santrifüj içinde tüp kırılması, iğne veya diğer kesicidelici batmaları, yüze, göze, deriye sıçrama, yutma...) sorumlu kişiye haber verilmesi kuralının yerleştirilmesinde genellikle çekingenlikler nedeniyle sorun yaşanmaktadır. Bu noktada eğitim, "her çalışanın başkalarının güvenliğinden de sorumlu olduğu" anlayışını kazandırabilecek çok önemli bir unsur olarak ortaya çıkmaktadır.

Ayrıca, laboratuvarında göz yıkama apareyi bulunması, kapıların kendiliğinden kapanır mekanizmasının olması, pencerelerde sineklik bulunması, biyogüvenlik kabinlerinin hava akımlarından etkilenmeyecek bir köşeye yerleştirilmesi, koroziv, toksik, yanıcı, patlayıcı kimyasalların üzerinde uyarı levhaları olan çelik dolaplarda korunması, buzdolabı ve derin dondurucuların temizlenmesi esnasında infeksiyöz materyal içeren kırılmış kapların potansiyel tehlikesi gibi burada yeterince yer verilemeyen bazı ayrıntıların da laboratuvar dizaynı ve uygulamalar esnasında hatırlanmasında fayda vardır^[20,22].

BİYOĞÜVENLİK KURALLARININ UYGULANMASI

Ülkemizde biyogüvenlik uygulamalarının henüz yeterince yaygın olmadığı söylenebilir. Daha da ilerisi, mevcut uygulamaların önemli bir kısmının ya da laboratuvarın fiziki koşullarının biyogüvenlik açısından kabul edilemez özelliklerinin çoğu durumda farkında bile olunmadığı ileri sürülebilir. Biyogüvenlik ile ilgili uygulamaların; deneyi yapan bireyden üst yönetime, en basit ekipmanın kullanımından yatırım planlarına, laboratuvar rehberi yazılmasından ilgili mevzuatın oluşturulmasına kadar geniş ve karmaşık bir organizasyon işi olduğu bir gerçektir. İşe neresinden başlanacağı da önemli bir soru olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yerleşik sistemlerde biyogüvenlik programlarının en önemli unsuru, biyogüvenlik uygulamalarının sürveyansından sorumlu uzmandır. Tek başına veya bir ekiple çalışırken başlıca etkinlikleri; laboratuvar biyogüvenlik rehberini hazırlamak/güncellemek, personele eğitim vermek, GLP ve diğer biyogüvenlik standartlarının korunup korunmadığını takip etmek, sorun noktalarını tespit etmek, tüm laboratuvar kazalarını izlemek, kaza etkilerinin sorunsuz giderilmesini

sağlamak, gerekiyorsa personelin immünite durumunu araştırmak ve aşılınmalarını sağlamak şeklinde sayılabilir.

Öyleyse herhangi bir mikrobiyoloji laboratuvarı da önce bir sorumlu atayarak yola koyulabilir. Biyogüvenlik çalışması, uzmanlığın yanı sıra belli ölçüde gönüllülük de gerektiren zorlu bir uğraş olabileceğinden, konuya ilgi duyan(lar)ın seçiminde başarı açısından fayda vardır. Başlangıçta bir durum saptamasının yapılması; eksiklerin/sorunların ortaya konması ve mevcut koşullar altında bunlardan ne kadarının hemen değiştirilebileceğinin, ne kadarı için mali ve idari destek gerekeceğinin ayrıntılı bir şekilde belirlenmesi önerilebilir. İlk uygulamalar da herhangi bir ek yatırım gerektirmeyen alanlarda başlatılabilir. Bu alan genellikle alışkanlıklar alanıdır. Ancak başlamak için elverişli ya da kolay bulunmasına karşın sonuç alınması en güç olan da alışkanlıklar olabilir. Eğitim yerleşik tutumların değiştirilmesinde en önemli unsurdur. Kararlı ve tekrarlayan eğitim programları bölümde çalışan destek personel dahil, tüm elemanları kapsamına almalıdır. Bir sonraki aşamada ya da sistem kurulduğunda, personelin kuruma geldiği gün temel eğitimi alacağı bir düzen de kurulmuş olmalıdır. Ülkemizden yurt dışına giden birçok araştırmacının tanıklığından yola çıkarak; kişinin laboratuvarında çalışma onayını, sorumlu uzman veya departman tarafından verilen biyogüvenlik seminerinden sonra aldığı söyleyebiliriz.

Hastane ve araştırma enstitüleri gibi kurumlarda genellikle biyogüvenlik çalışması, tek başına bir zamanın yürütebileceğinden büyük bir iştir. Laboratuvarlar arası standardizasyon için ve uygulamaların gerçekleştirilmesi bakımından profesyonel biyogüvenlik birimlerinin kurulmasına gerek duyulabilir.

Ülkelerin biyogüvenlik alanında buldukları düzey bir bakıma çalışma çeşitliliğinin, uygulama derinliğinin ve araştırma kapasitesinin de bir göstergesi gibidir. Hangi biyogüvenlik düzeyinde laboratuvarlara sahip olduğu da benzer bir gösterge olarak alınabilir. Yüksek teknolojik organizasyon ve yetkin personel gerektiren BGD-4 laboratuvarları dünyada oldukça az sayıda ülkede vardır. Buna karşın BGD-3 laboratuvarlar daha yaygındır. Klinik mikrobiyoloji alanında, ülkemizde bilinen tek BGD-3 laboratuvar, üç yıl kadar önce Refik Saydam Hıfızssihha Merkezi Başkanlığı'nda, tüberküloz araştırmaları için kurulmuştur. Ciddi bir yatırım olduğu kadar eğitim konusu da olan bu laboratuvarın biyogüvenlik deneyimlerine büyük katkısının olduğu düşünülürse; benzerlerinin artması halinde ortalama mikrobiyoloji laboratu-

varlarımızın biyogüvenlik standartlarının da yükseleceğini iddia etmek mümkündür.

Özetle; klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında sürdürülebilir biyolojik güvenliğin sağlanmasında temel stratejiler; insana bağlı hataların giderilmesi, gerekli yatırımın yapılması ve yasal sorumluluğun belirlenmesi şeklinde sıralanabilir. İnsan kaynaklarının istenen düzeye getirilmesi ve yatırım boyutu kısa ve orta vadeli projelerle gerçekleştirilebilirse de, yasal düzenlemelerin yapılması ülkemizde büyük olasılıkla, yerel uygulamaların yaygınlaşması ve sektörel bir talebin gelişmesiyle mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Occupational Safety and Health Administration. Occupational exposure to blood-borne pathogens, proposed rule. 29CFR Part 1910.1030 Fed Regist 1989;54: 23042-139.
2. Harrington JM, Shannon HS. Incidence of tuberculosis, hepatitis, brucellosis and shigellosis in British medical laboratory workers. Br Med J 1976;1:759-62.
3. Hicks CG, Hargiss CO, Harris JR. Prevalence survey for hepatitis B in high-risk university employees. Am J Infect Control 1985;12:1-6.
4. Harding L, Liberman DF. Epidemiology of laboratory-associated infections. In: Fleming DO, Richardson JH, Tullis JJ, Vesley D (eds). Laboratory Safety: Principles and Practices. 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 1995: 7-15.
5. Pike RM. Laboratory associated infections: Incidence, fatalities, causes, and prevention. Ann Rev Microbiol 1979;33:41-66.
6. Pike RM. Past and present hazards of working with infectious agents. Arch Pathol Lab Med 1978;102:333-6.
7. Pike RM. Laboratory-associated infections: Summary and analysis of 3921 cases. Health Lab Sci 1976; 13:105-14.
8. Sewell DL. Laboratory associated infections and biosafety. Clin Microbiol Rev 1995;8:389-405.
9. Blaser MJ, Hickman FW, Farmer JJ 3rd, Brenner DJ, Balows A, Feldman RA. *Salmonella typhi*: The laboratory as a reservoir of infection. J Infect Dis 1980;142: 934-8.
10. Grist NR. Infections in British clinical laboratories 1980-81. J Clin Pathol 1983;36:121-6.
11. Grist NR, Emslie JA. Infections in British clinical laboratories, 1986-87. J Clin Pathol 1989;42:677-8.
12. Walker D, Campbell D. A survey of infections in United Kingdom laboratories, 1994-1995. J Clin Pathol 1999; 52:415-8.
13. Staszkiwicz J, Lewis CM, Colville J, Zervos M, Band J. Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers in a community hospital. J Clin Microbiol 1991;29:287-90.
14. Fiori PL, Mastrandrea S, Rappelli P, Cappuccinelli P. *Brucella abortus* infection acquired in microbiology laboratories. J Clin Microbiol 2000;38:2005-6.

15. Miller CD, Songer JR, Sullivan JF. A twenty-five year review of laboratory-acquired human infections at the National Animal Disease Center. *Am Ind Hyg Assoc J* 1987;48:271-5.
16. Vesley D, Hartmann HM. Laboratory acquired infections and injuries in clinical laboratories: A 1986 survey. *Am J Public Health* 1988;78:1213-5.
17. http://www.osha.gov/SLTC/hospital_etool/lab/lab.html. 12.12.2002 Hospital eTool: Laboratory module. Common safety and health issues.
18. Gershon RRM, Zirkın BG. Behavioral factors in safety training. In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D (eds). *Laboratory Safety: Principles and Practices*. 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 1995:269-77.
19. <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>. Principles in biosafety. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*, Section II, 4th ed.
20. Kuehne RW, Chatigny MA, Stainbrook BW, Runkle RS, Stuart DG. Primary barriers and personal protective equipment in biomedical laboratories. In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D (eds). *Laboratory Safety: Principles and Practices*. 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 1995:145-70.
21. Center for Disease Control, Office of Biosafety. Classification of etiologic agents on the basis of hazard. 4th ed. US Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Atlanta 1974.
22. World Health Organization. *Laboratory biosafety manual*. 1st ed. World Health Organization, Geneva 1983.
23. <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>. Laboratory biosafety criteria. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*, Section III, 4th ed.
24. Gilchrist MJR. Biosafety precautions for airborne pathogens. In: Fleming DO, Richardson JH, Tulis JJ, Vesley D (eds). *Laboratory Safety: Principles and Practices*. 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 1995:67-76.
25. <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>. Primary containment: Biological safety cabinets. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*, Appendix A. 4th ed.

Yazışma Adresi:

Uzm. Dr. Efsun AKBAŞ

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı

Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü

AB Blok

06100 Sıhhiye, ANKARA

Makalenin Geliş Tarihi: 27.12.2002

Kabul Tarihi: 04.01.2003