

ÜLKEMİZE UYGUN TÜBERKÜLOZ LABORATUVARI YAPILANMASI

Uzm. Dr. İsmail CEYHAN

Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü Tüberküloz Referans Laboratuvarı Şefi, Ankara

TB (Tüberküloz) bakteriyolojisi Ulusal kontrol programının temel taşlarından biri ve DOTS'un (Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi) en önemli ana unsurudur. Kontrol programı kapsamındaki tüberküloz laboratuvarların birincil amacı, enfeksiyöz akciğer tüberküloz olgularının tesbiti,

tedavinin takibi ve tedavi sonrasında kür'ün dökümante edilmesidir. Akciğer dışı TB olgularının teşhisine katkıda bulunmak ikincil amaçtır(1,2). Program kapsamında çalışan Tüberküloz laboratuvarlarda kullanılan bazı temel test ve analiz yöntemleri tablo.1.de verilmiştir.

Tablo.1.Tüberküloz laboratuvarlarında teknik açıdan temel çalışma alanları	
Yayma Mikroskopisi: ARB (Aside Dirençli Bakteri Boyaması)	Bu bakteriyolojik test akciğer TB'unun tanısını sağlar. Basit ucuz ve hızlı bir laboratuvar testi olup ayrıca hasta izlenmesi için de yararlıdır. Yayma pozitif hastalar toplum ve yakın çevreleri için önemli enfeksiyon kaynaklarıdır. Duyarlılığı materyalin özelliklerine, tekniğin uygulanmasına ve teknisyenin yeterliliğine bağlı olarak değişir.
Kültür	Bu test, yaymadan daha duyarlı ve TB'un kesin tanısını sağlar. Sonuç 3-10 hafta içinde alınır. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 'in identifiye edilmesi için spesifik, ancak Tüberküloz dışı mikobakterilerin ayırımı için ileri teknikler gerekebilir.
İlaç duyarlılık testleri	Major anti- tüberküloz ilaç duyarlılığı bazı vakalarda tedavi düzenlenmesi açısından yararlı olabilir. Klasik yöntemlerle çalışıldığında ortalama 4-5 haftada sonuç alınır.

Bir ülkede Tüberküloz savaşı Ulusal kontrol otoritesinin koordinasyonunda gönüllü kurum ve kuruluşlarla işbirliği içersinde, sistemli, kontrollü, organize ve planlı bir program

dahinde yürütülmesi gereklidir. Bu programa Ulusal Tüberküloz Kontrol Programı denir. Programın amacı tüberkülozun sebep olduğu ekonomik, sosyal ve epidemiyolojik zararları

yok etmek veya azaltmaktır. Etkili bir programın üç önemli özelliği vardır(1):

1. Kapsam:Hastalığın bulaşması, kaynağı ve toplum hareketliliği gibi epidemiyolojik özellikler dolayısıyla program; bölge ve yörelerin durumları da göz önüne alınarak tüm ülkeyi kapsamalıdır.
2. Devamlılık:Enfeksiyonun kronik olması ve enfektif kişilerin hastalanma veya bulaştırıcı olma ya da daha önce hastalığı geçiren kişilerin tekrar hastalanma riskleri gibi durumlar dolayısıyla program kesintisiz sürdürülmelidir.
3. Kalite: Programın hedef ve amaçlarına ulaşmada etkili ve sürekli çözüm üretmede en önemli faktör kalitedir. Bu nedenle programın bir kalite anlayışı olmalıdır.

Dünya Sağlık Örgütü Program ile ilgili diğer kriter ve esasları şöyle sıralamaktadır:

1. Programının amacı;

Tüberküloz kontrol programının ana amacı TB enfeksiyon insidansını düşürmektir.

2. Programının hedefi;

1. Toplumdaki yayma pozitif vakaların en az %70'ini saptamak,
2. Bu vakaların en az %85'ini etkili şekilde tedavi etmektir.

3. Programın aktiviteleri;

1. Korumak,
2. Vaka bulmak,
3. Tedavi etmek.

4. Prensipleri;

- 1.Enfeksiyon zincirini kırmak, bunun için enfektif kişileri en kısa zamanda bulmak,
- 2.Hasta sayısını azaltmak, enfektif olmayan kişileri enfektif hale dönüşmeden tedavi etmek.
- 3.Enfeksiyondan korumak, henüz enfekte olmamış kişileri korumak şeklinde özetlenebilir(1).

Laboratuvar Tasarımı

İdeal olarak Tüberküloz laboratuvarları genel kullanım alanlarından ve diğer laboratuvarlardan ayrı olarak planlanmalı ve özel olarak tasarlanıp dizayn edilmelidir. Doğrudan mikroskopi yapan perifer laboratuvarları veya dispanserler çalışmalarını açık bankolarda yapabilirler. Ancak laboratuvar kayıt-kabul, çalışma alanı ve mikroskopi olmak üzere üç bölüme ayrılmalıdır. Laboratuvarda en az bir lavabo olması gerekli ve yeterlidir. Materyal akışı ve hava akımı aynı yönde paralel olarak temiz alanlardan kirli alanlara doğru olması sağlanmalıdır (Dışa açılan duvar veya pencereye aspiratör takılabilir). Laboratuvarda çalışma sırasında hava akımı tek yönlü olmalı, kontrolsüz sirkülasyon (klima ve benzeri cihaz gibi) yapmamalıdır. Dezenfeksiyon açısından yeterli ve uygun U.V. (Ultraviole lambalar) ile desteklenmelidir. Doğrudan mikroskopi yapan laboratuvarlarda aerosol oluşumu ve bulaş riski göreceli olarak düşük olduğundan kişisel korunma ekipmanları, önlemleri ve hijyen yeterlidir(2).

Yoğunlaştırma ile mikroskopi ve kültür çalışılan laboratuvarlarda daha özel tasarım gerekir. Hava ve materyal akımı yanında her bir çalışma alanı dikkatle seçilmeli amaca uygun tasarımılanmalıdır. Laboratuvara giriş ve çıkışlar hem kontrollü hem de yalnızca sorumlu ve eğitim almış kişilerle sınırlı olmalıdır. İzinsiz ve 12 yaş altı kişilerin girmesi yasaklanmalıdır. İzolasyon odası; koridor, diğer çalışma alanları ve temiz oda(besiyeri odası gibi) alanlara göre negatif basınçlı olmalı ve oda içersinde kontrolsüz sirkülasyon (klima gibi) olmamalıdır. Çalışma alanları yeterli miktarda ışık ve dezenfeksiyon sağlayan U.V. lambaları ile desteklenmelidir. Kültür ve ilaç duyarlılık çalışılan laboratuvarlarda en az bir BGK(Biyogüvenlik Kabini) bulunması zorunludur. Kişisel korunma ekipmanları yanında aerosol oluşturan (pipetleme, vorteksleme, karıştırma, çalkalama, aktarma gibi) işlemler mutlaka Biyogüvenlik kabinleri içersinde yapılmalı, santrifüjleme işlemi için ise özel olarak tasarlanmış santrifüjler kullanılmalıdır. Laboratuvar içersinde en az bir otoklav bulunmalı kirli materyal otoklavlandıktan sonra atılmalıdır(3,4).

Laboratuvar ağı ve organizasyonu

Programın en önemli ayağı Tüberküloz Bakteriyojoloji laboratuvarlarıdır. Tüberküloz laboratuvarları kontrol programının epidemiyolojik, klinik ve yönetsel açıdan en yakın pozisyonunda olmalı ve aktivelerini koordineli olarak yapmalıdırlar. Bu; programın ortak amaç ve hedeflerine ulaşmak için farklı yapı ve seviyede hizmet veren laboratuvarların dayanışma anlayışı içinde uyumlu bir şekilde faaliyetlerini

sürdürdükleri bir yapıyı, *Laboratuvar Ağı'nı* ortaya çıkarır. Uyum ve dayanışma esasına dayalı organizasyon; bilgi sistemleri, servis hizmetleri, materyal, teknik ve kalite kontrol açısından belli standartlar içinde olmalıdır(1).

Kontrol programı içersinde yer alan, Mikobakteri laboratuvarları aşağıdaki fonksiyon ve aktiviteleri yerine getirmelidirler(1):

1. Mikroskopi ile Aside Dirençli Bakteri(ARB:Asido-Rezistan Bakteri)) aranması,
2. Mikobakteri kültürü
3. Tip tayini
4. İlaç duyarlılık testleri
5. Yeterlilik testleri (kalite kontrol)/Kalite Güvence Sistemi,
6. Sağlık Çalışanlarına ve kurumlara TB konsültasyonu, yönetim ve biyogüvenlik rehberliği,
7. Epidemiyolojik amaçlı data toplanması ve analizi,
8. Laboratuvar personel eğitimi,
9. Epidemiyolojik ve metodolojik çalışma ve araştırmalar.

Yukarıda vurgulanan amaç ve hedefleri gerçekleştirmek üzere program kapsamında yer alan mikobakteri laboratuvarları üstlendikleri fonksiyon ve kapasiteleri doğrultusunda yani organizasyonel ve teknik açıdan 3 farklı seviyede hizmet vermelidirler. Bu laboratuvarların bir ülkede nerelere, nasıl yerleştirileceği ulusal kontrol otoritesi ve konunun uzmanlardan oluşan bir kurul tarafından tartışılıp değerlendirilerek karar verilmeli ve aktiviteleri takip edilmelidir (1,4,5,6).

Seviye I: Dispanserler veya perifer laboratuvarları ideal olarak 1 veya 2 teknisyen sayesinde 100.000 nüfusa hizmet verecek ve mikroskop, kayıt defterleri, boyalar ve diğer sarf maddeleri bulunacak şekilde olmalıdır. Görevler ve aktiviteleri:

1. Mikobakteriyal analiz için uygun klinik materyal toplar,
2. Direkt (doğrudan) mikroskopi yapar.
3. Materyali uygun biyogüvenlik kuralları içinde kültür ve ileri testler için bir üst laboratuvara gönderir.
4. Yeterlilik ve kalite kontrol programı içinde yer alır.

Seviye II: Orta seviye laboratuvarlar, ideal olarak 500.000-1.000.000 nüfusa hizmet edecek şekilde olmalı, aşağıdaki aktivite ve fonksiyonları yerine getirmelidir:

1. Seviye-1 laboratuvar aktivitelerini yerine getirir.
2. Teksif (yoğunlaştırma ile) mikroskopi yapar,
3. Mikobakteri kültürü (homojenizasyon-dekontaminasyon yöntemi ile) ve identifikasyonu yapar.

Seviye III: Merkez laboratuvarlar: ideal olarak yaklaşık 10.000.000 nüfusa hizmet edecek şekilde olmalı, aşağıdaki aktivite ve fonksiyonları yerine getirmelidir:

1. Seviye II fonksiyonlarını yerine getirebilir.
2. Mikobakteri tip tayini yapar.
3. Majör ilaç duyarlılık testleri yapar.
4. Süpervizyon (gözetim), eğitim ve kalite kontrol programına katılır ve yönetir.

Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı(UTBRL)

Nüfusu ne olursa olsun ideal olarak bir ülkede 1 adet Ulusal Referans Laboratuvarı gerekli ve yeterlidir. UTBRL; metot, yöntem, test ve analiz standartlarını koyma, değerlendirme, izleme, koordinasyondan sorumludur. Kendisinin tüm ülkeye yetecek kapasitesinin olmadığı durumlarda yayma mikroskopisinin kalite kontrolü ve teknisyen eğitimi gibi bazı aktivite ve fonksiyonlarını yeterli kapasiteye sahip birkaç seviye-III laboratuvar ile paylaşabilir. Ancak tüm laboratuvar ağını etkili şekilde koordine etmelidir.

Amaç ve hedefleri

1. Yüksek güvenilirlikte ve yeterlilikte kalite kontrol, süpervizyon ve eğitim sağlamalı ve bu amaçla sınırlı sayıda mikroskopi, kültür ve major ilaç duyarlılık testleri yapar,
2. Tüm ileri, hızlı, epidemiyolojik ve moleküler teknikleri referans düzeyde çalışır.
3. Tüberküloz ve tüberküloz dışı diğer mikobakteri izolasyon, tanı, tiplendirme ve tüm direnç testlerini yapar.
4. Major ve minor ilaç duyarlılık süpervizyon programı yürütür.

Aktiviteleri

1. Amaca yönelik yöntem, teknik ve işlemleri standardize ederek alt seviye laboratuvarları sertifikası vermek
2. Yeni metotlar için uygun modifikasyonlar veya öneriler yapmak.

3. Alt seviye laboratuvarlar için iyi planlanmış ve sistematize edilmiş gözetim ve kalite kontrol programını yönetmek ve aktivitelerine yardım etmek.
4. Laboratuvar ağındaki çalışmalara ait istatistiksel verileri toplamak. Primer ve sekonder ilaç direnci ile ilgili epidemiyolojik çalışmaları organize ve koordine etmek.
5. Teknisyenler ve diğer teknik elemanlar için eğitim sağlamak.
6. Özellikle akciğer dışı tüberküloz ve tanısı zor vakalarda kültür ve ilaç duyarlılık testleri yapmak.
7. Programın ihtiyaçları doğrultusunda metodolojik, epidemiyolojik ve teknik araştırmalar yapmak veya koordine etmek.

Kalite Güvence Sistemi

Kalite Güvence sistemi laboratuvar hizmetlerinin verimliliğinin, güvenilirliğinin ve etkinliğinin devamlı bir şekilde yükseltilmesini sağlamak amacıyla oluşturulmuş düzenli izleme, denetim ve değerlendirme sistemidir. Kalite güvence sisteminin birbirine bağımlı 3 ana elemanı vardır:

- 1.Kalite kontrol,
- 2.Kalitenin geliştirilmesi/iyileştirilmesi
- 3.Yeterlilik testleri,

Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı da dahil olmak üzere tüm mikobakteri çalışan laboratuvarların uluslararası kuruluşların önerileri doğrultusunda kalite güvence sistemi içinde yer alması zorunludur.

1.Kalite Kontrol:

Laboratuvar çalışmalarının ve test veriminin kabul edilebilir sınırlar içerisinde olmasını sağlamak, laboratuvar verimini etkili ve devamlı bir şekilde yükseltmek için sistematik olarak izlenmesidir İç denetim(internal supervision) olarak da bilinir. Özellikle yayma mikroskopisinde oluşturulan kalite kontrol sistemi, mikroskopi kalitesinin yükseltilmesini sağladığı gibi bir çok problemin görülmesine ve çözülmesine katkıda bulunur. Ayrıca eğitime alınacak veya tekrar eğitilmesi gerekli kişilere yeni bilgi ve yetenek kazandırılmasına yardımcı olur(1).

2.Kalitenin iyileştirilmesi/geliştirilmesi:

Laboratuvar hizmetlerinin başarıya ulaşmasındaki engel ve darboğazların, kalıcı bir biçimde kaldırılması için düzenli bir izleme ve değerlendirme sistemidir. En önemli elemanlar veri toplama, veri analizleri ve yaratıcı çözüm üretimidir. Bu sistem düzenli denetimler sayesinde daha etkin bir işleyiş kazanabilir(1).

3.Yeterlilik testleri:

Laboratuvar ve laboratuvarlar arası test ve sonuçlarının referans standartlarla geriye dönük ve objektif olarak bir üst laboratuvar tarafından karşılaştırılması sistemidir. Bu “dış kalite değerlendirme sistemi” olarak da ifade edilmektedir. Doğrudan veya dolaylı denetim (supervizyon) olmak üzere iki şekilde uygulanabilir(1).

Denetim(Süpervizyon):

Kalite güvence sisteminin en önemli elemanı denetimdir. Esas amacı eğitim, destekleme ve koordinasyon sağlamaktır. Asla teftiş veya sorumlu aramak için yapılmaz. Ancak denetim olmayan bir laboratuvar program içindeki bilgi akışından zamanla kopar ve kalitesini, verimini, etkinliğini, standart yöntemleri uygulama yeteneğini, yeterliliğini ve motivasyonunu kaybetmeye başlar(1).

Mikobakteriyoloji Laboratuvarlarında Biyogüvenlik

Biyogüvenlik çalışan kişiyi, çevreyi ve diğer kişileri korumaya yönelik önlemlerin tümüdür. *Mycobacterium tuberculosis (M tuberculosis)* aerosol yol ile bulaşan önemli bir enfeksiyon hastalığı olup, Dünya Sağlık Örgütü'nün risk sınıflandırmasında Grup-III de yer alır(3).

Hastalık özellikle laboratuvar çalışanlarında aynı kurumun sekreter ve diğer ofis personellerine göre 3-5 kez daha fazla görülür. Bu nedenle alınması gerekli önlemler özel bir önem taşır(7).

Mikobakteri laboratuvarına gelen her türlü materyal tüberküloz şüpheli hastalardan alındığı için olası *M tuberculosis* içerdiği kabul edilmeli ve önlemler buna göre alınmalıdır. Tüm laboratuvar personeli hem kendilerini hem de diğer kişileri enfeksiyondan korumak amacıyla bu önlemlerin alınması ve uygulanması konusunda bilinçli, bilgili ve dikkatli olmalıdır. Ayrıca yönetim bu konuda alınması gerekli tüm önlem ve desteği sağlamalıdır. Yönetimin sorumlulukları Tablo.2. de belirtilmiştir(7).

Tablo.2.Yönetimin biyogüvenlik sorumlulukları

1.	Personelin rutin medikal taramalarının yaptırılması,
2.	Biyogüvenlik eğitimi,
3.	Tehlikeli prosedür, yöntem ve işlemler için gerekli/yeterli bilgi ve özel dikkatin sağlanması,
4.	Acil durumlar ve kazalar için gerekli her türlü önlemlerin alınması,
5.	Gerekli tasarım ve yeterli biyogüvenlik ekipmanlarının sağlanması.

Her bir laboratuvar personeli öncelikle kendisinin ve yakın çalışma arkadaşının güvenliğinden sorumludur. Çalışanlar fiziksel ve mental olarak yeterli kapasitede olmalıdır. Tüberküloz laboratuvarında çalışmaya başlamadan önce tüberkülin ve röntgen

çektirmeli, laboratuvar yöntem ve prosedürleri için yeterli eğitimi almış olmalıdırlar. Çalışılan laboratuvar koşullarına göre riskler bilinmeli ve bu risklere karşı alması gerekli önlem ve davranışları alışkanlık haline getirilmelidir(3,7) (Tablo.3.).

Tablo.3. TB laboratuvarlarında biyogüvenlik önlemleri

1. Sigara içmek, yemek yemek ve makyaj yapmak kesinlikle yasaktır.
2. Ağız ile pipet kullanmak ve kalem benzeri her türlü nesneyi ağıza almak yasaktır
3. Eller laboratuvara girişte, önlük, maske vb. ekipman değiştirdikten ve özellikle şüpheli materyal ile temastan sonra veya çalışma sonunda uygun bakterisidal kimyasal bir madde veya sabunla yıkanmalıdır.
4. Cihaz ve ekipmanların gerekli güvenlik önlemleri alınmadan temizlik, servis ve testleri yapılmamalıdır (Örneğin; Biyogüvenlik kabinlerinin test edilmesi veya filtrelerinin değiştirilmesi formol dezenfeksiyonu gibi uygun işlemlerden sonra yapılmalıdır).
5. Tüm laboratuvar alanları ve çalışma yüzeyleri potansiyel olarak kirli kabul edildiğinden uygun dezenfektan ile temizlenmelidir.
6. Kültür ve ilaç duyarlılık çalışılan laboratuvarlarda aerosol oluşturma olası işlemler BGK sınıf I veya BGK sınıf II içersinde yapılmalıdır.

Tablo.4.Potansiyel risk ve aerosol oluşturan işlemler ve alınması gerekli önlemler		
Potansiyel risk taşıyan işlemler	Doğrudan mikroskopi yapan laboratuvarlar	Kültür yapan laboratuvarlar
1. Örnek kabının açılması.	Çalışma bankosunda, bunzen beki yanında ve dikkatlice	Biyogüvenlik (Sınıf I veya Sınıf II) kabini içinde
2. Pipetleme yapılması ve materyalin aktarılması (preparat hazırlanması)	1. Pipetleme yapılmaz. 2. Preparat hazırlanırken öze ile veya tahta çubuk ile dikkatli ve yavaşça hazırlanır. Ani ve hızlı hareketlerden sakınmalı sıçratmamalıdır.	Biyogüvenlik (Sınıf I veya Sınıf II) kabini içinde
3. Santrifüjleme işlemleri	Santrifüjleme yapılmaz.	Biyogüvenlik önlemleri alınmış alanda ve aerosol korumalı santrifüjlerde
4. Vorteksleme, çalkalama, ezme vb işlemler	Bu işlemler yapılmaz.	Biyogüvenlik (Sınıf I veya Sınıf II) kabini içinde
5. Şırınga içindeki materyalin boşaltılması	Zorunlu durumlarda maske giyilerek ve alev yanında çalışma bankosunda yapılabilir.	Biyogüvenlik (Sınıf I veya Sınıf II) kabini içinde
6. Liyofilize ampul açılması ve kültür tüplerinden pasaj veya ilaç duyarlılık için işlem yapılması	Bu işlemler yapılmaz.	Negatif basınçlı özel alanlarda ve Biyogüvenlik (Sınıf II) kabini içinde
7. Özenin yakılması	1. İçinde yıkanmış kum veya 3-5mm çaplı cam boncuklar bulunan kap(*) içersinde iyice temizlenip dezenfekte edildikten sonra akkor hale gelinceye kadar yakılır. Tahta çubuk kullanılıyor ise çubuk içinde dezenfektan olan atık kabı içine atılır ve daha sonra ya otoklavda ya da yakılarak sterilize edilir. 2. Tek kullanımlık öze veya çubuklar kullanılabilir. (*)250-500ml litrelik kapaklı erlen veya kavanozun 1/3'ü boncuk ya da temiz, yıkanmış kum, 2/3 ü alkol ile doldurulur. Erlen kolay alev almayacak şekilde ateşten uzakta ve kullanılmadığı durumlarda kapalı tutulur.	

Doğrudan mikroskopi çalışılan laboratuvarlarda risk göreceli olarak düşüktür. Bu nedenle pahalı ve gelişmiş koruyucu ekipman alınmasına gerek yoktur. Ancak bu tür laboratuvarlarda kişisel koruyucu önlemler ve ekipmanlar yanında tasarım önem kazanır. İşlemler sırasında potansiyel risk prosedürleri iyi bilinmeli ve gerekli önlemler alınmalıdır (1) **(Tablo4).**

Kültür ve ilaç duyarlılığı çalışılan laboratuvarlarda daha ciddi tasarım, düzenleme, ekipman ve önlemlerin alınması zorunludur(2) **(Tablo.4 ve 5.).**

Biyogüvenlik kabinleri(BGK)

Biyogüvenlik kabinleri(BGK) Mikobakteriyoloji laboratuvarlarını en vazgeçilmez güvenlik ekipmanlarından biridir. Kültür ve ilaç duyarlılığı testleri çalışılan laboratuvarlarda bulunması zorunludur. BGK'leri Sınıf I, II ve III olarak sınıflandırılırlar. Güvenlik kabininin özellikleri ile ilişkili olarak kullanım alanları farklıdır. Genel olarak BGK nin bazı temel özellikleri ve kullanım alanları tablo 6.da gösterilmiştir. Tüberküloz laboratuvarlarında Sınıf I veya Sınıf II tipleri kullanılabilir. Sınıf I kabinler personel ve çevre korumaya

yönelik olarak tasarlanmıştır. Sınıf II kabinler ise bunlara ilave olarak ürünü de korurlar. Bu nedenle Sınıf II BGK tercih edilmelidir. BGK'lerinin seçimi sırasında dikkat edilmesi gerekli en önemli nokta bunların Temiz kabinlerle karıştırılma-masıdır. Çünkü BGK'leri en çok laminair-flow olarak bilinen Temiz Çalışma kabinleri (CB:Clean Bench) ile karıştırılabilir. Temiz Çalışma kabinleri yalnızca ürünü korumaya yönelik laminair-flow'lar olduğundan içersinde kesinlikle enfeksiyöz ve klinik örnekler gibi risk taşıyan materyaller çalışılmaz. BGK'leri ile aralarındaki bu önemli fark dolayısıyla klinik laboratuvarlarında kullanılmaları yarardan çok zarar getirir. Bu nedenle farklı amaçlar için tasarlanmış laminair-flow'ları birbirinden ayırt etmek çok önemlidir. BGK'leri ile CB'leri basitçe ayırımını yapmak için çalışma düzeyi ve yüzeyine duman veya tütsü tutulabilir:dumanı içeri çekiyor ise BGK, dışarı kaçırıyor veya taşıyor ise CB'dir. *Fakat her şeye rağmen Avrupa (EN12469) veya eşdeğeri diğer uluslar arası ya da ulusal standartlarda ve sertifikalı bir Biyogüvenlik kabini kullanılmalı standart dışı ve sertifikasız kabin asla kullanılmamalıdır(8).*

Tablo.5.TB Laboratuvarlarının biyogüvenlik tasarım ve ekipmanları		
	Doğrudan mikroskopi yapan laboratuvarlar	Kültür yapan laboratuvarlar
Tasarım/alt yapı	1.Laboratuvar amaca uygun 3 bölüme ayrılmalıdır. 2.Materyal akışı ve hava akımı düzenlenmelidir 3.Lavabo olmalıdır. 4.Çalışma alanlarında direkt ve üst hava ışımalı UV lambalar⁽¹⁾ , Hasta odaları, bekleme salonları, muayene odalarında ise üst hava ışımalı UV lambalar ya da mekanik hava sirkülasyonu sağlayan kapalı U.V. cihazları bulunmalıdır.	1.Laboratuvar sıcak alanlar⁽²⁾ ve soğuk (temiz) alanlar olarak iki ana bölüme ayrılmalıdır. Materyal akışı ve hava akımı soğuk alanlardan sıcak alanlara doğru yönlendirilerek kontrol edilebilir düzeyde tutulmalıdır. Sıcak alanlar soğuk alanlara oranla negatif basınçlı olmalıdır. 2.Lavabo olmalıdır. 3. Çalışma alanlarında direkt ve üst hava ışımalı UV lambalar⁽¹⁾ , Hasta odaları, bekleme salonları, muayene odalarında ise üst hava ışımalı UV lambalar ya da mekanik hava sirkülasyonu sağlayan kapalı U.V. cihazları bulunmalıdır..
Güvenlik ekipmanları	Maske⁽³⁾:Respiratuvar tip maske zorunludur. Cerrahi maskeler koruyucu değildir. Önlük: Normal laboratuvar önlüğü yeterlidir. Eldiven: Plastik tek kullanımlık eldiven kullanılması zorunludur.	Maske⁽³⁾: Respiratuvar tip maske zorunludur. Önlük:Önü kapalı arkadan bağlanan özel tip önlük tercih edilmelidir. Eldiven: plastik tek kullanımlık eldiven kullanılması zorunludur Biyogüvenlik kabinleri⁽⁴⁾:sınıf I veya Sınıf II tipte olmalı kullanılması zorunludur. Santrifüj⁽⁵⁾: En az 3000xg santrifügasyon sağlayan, Soğutmalı, kilitli ana kapaklı ve anti-aerosol biyogüvenlik korumalı sistemlerine sahip olmalıdır.
Sterilizasyon ve dezenfeksiyon	Yakma işlemi, etkili kimyasal dezenfeksiyon, kaynatma ve hijyen içeren temizlik yeterlidir. Otoklav zorunlu değildir.	Yakma işlemi, etkili kimyasal dezenfeksiyon, kaynatma ve hijyen içeren temizlik yanında, Otoklav zorunludur.
Dezenfeksiyon	Hipoklorit(%1-5), %70 lik Alkol (etanol veya propanol), Fenol (%2-5), Glutaraldehit(%2) kullanılabilir. 4'lü amonyum bileşikleri (zeytin veya sefril gibi) kullanılamaz	
(1)UV.Ultra-viole lamba. (2) Sıcak alanlar: şüpheli materyal ya da kültür, ilaç duyarlılık, pasaj, tiplendirme gibi enfeksiyon riski olan çalışmaların yapıldığı alanlar. (3) N95, P2 veya P3 standartlarında (EN149) (4)EN 12469 veya eşdeğer standartlarında olmalıdır. (5)Hem komple kilitli kapaklı, hem de anti-aerosol korumalı tip olmalı, tüp gode kısımları burgu kapaklı ve çalışma yüküne uygun olarak en az 24 adet 50 ml'lik materyal tüpleri için uygun olmalıdır.		

Tablo:6.Biyogüvenlik kabinlerinin bazı özellik ve kullanım alanları					
Sınıfı ve Tipi	I	II/A	II/B1	II/B2	II/B3
Inflow/lfpm* Hava akış hızı (İçeri doğru hava akımı)	75	75	100	100	100
% Resirkülasyon	0	70	30	0	70
Downflow/lfpm Hava akış hızı (iç hava akımı)	0	75	50	80	50
Kullanım:					
Biyogüvenlik	+	+	+	+	+
Toksik ve zararlı uçucu gazlar	+	-	+/-	+	+/-
Koruma Kullanıcı(K)/Ürün(Ü)	K	K/Ü	K/Ü	K/Ü	K/Ü
*lfmp:linear feet per minute					

Ultra-viole (U.V.) lambalar

Vazgeçilemeyecek bir diğer biyogüvenlik ekipmanı da UV lambalardır. Direkt ve üst hava ışımalı olarak kullanılabilirler. En etkili UV'ler dalga boyu 254 nm (nanometre) olan TUV-C tipleridir. Yararlı ömürleri teknik özelliklerinde belirtilmemiş ise yaklaşık 2500-3000 saat arasında değişir. Bundan dolayı daha uzun süre kullanılması yarar getirmez. Teknik olarak kontrol edilmeli ya da üretici firma güvencesi aranmalıdır. UV lambaların penetrasyon özelliği olmadığı için diğer dezenfeksiyon işlemleri ile birlikte kullanılmalıdır. Lambalar reflektör içinde yerden 210cm yukarıda duvara monte edilmiş olmalıdır. Reflektörlü/korunmuş UV lamba altında çalışmak zararlı değildir. Ancak direkt ışımalı UV lamba altında özel korunma sağlayan giysi, başlık ve gözlük olmaksızın çalışmak veya altında bulunmak zararlı ve tehlikelidir. Üst hava ışımalı UV

lambalar hava dezenfeksiyonu sağlarken, direkt ışımalı olanlar hem hava hem de yüzey dezenfeksiyonuna yardım ederler. Teknik olarak direkt ve üst hava ışımalı UV lambalar, reflektöre hareket kabiliyeti sağlayan (reflektör üst ve alt kısımlara kolaylıkla hareket edebilir) pratik bir tasarımla birleştirilmişlerdir. Böylece bir UV lamba hem direkt hem de üst ışımalı tipte kullanılabilir. Bir odaya yerleştirilecek UV lamba adedi odanın boyutlarına göre değişir (Tablo.7.). Lambalar kısa zamanda toz tuttuğu için 2-4 haftada bir alkollü bez ile silinmelidirler(7,9).

Yüzey dezenfeksiyonu gerektirmeyen alanlarda, örneğin tüberkülozlu hasta odaları, muayene odaları ya da hasta bekleme salonları gibi genel kullanım alanlarında mekanik hava sirkülasyonu sağlayan kapalı U.V. lamba içeren özel tasarlanmış cihazlar kullanılabilir.

Tablo.7. Laboratuvar boyutlarına göre takılması gerekli üst hava ısımalı UV lamba adetleri			
Tavan yüksekliği: 2.7-3m		Oda uzunluğu:3-4 m Genişliği: 3-4 m	Oda uzunluğu:3-4 m Genişliği:5.5-7m
Personel en fazla 8 saat ışıma altında	%90 hava dezenfeksiyonu için:	1adet 15 Watt (W)	3 adet 15 W veya 1 adet 30 W veya 1 adet 40 W
	%99 hava dezenfeksiyonu için:	2 adet 15 W veya 1 adet 30 W	6 adet 15 W veya 2 adet 30 W veya 2 adet 40 W
Personel sürekli ışıma altında	%90 hava dezenfeksiyonu için:	1 adet 15 Watt (W)	2 adet 15 W veya 1 adet 30 W veya
	%99 hava dezenfeksiyonu için:	2 adet 15 Watt (W)	3 adet 15 W veya 1 adet 30 W veya 1 adet 40 W

Personel Koruyucu ekipmanlar:

Biyogüvenlik kabinleri %100 etkili ve koruyucu olmadıkları için özellikle iyi seçilmiş maske, önlük ve eldiven gibi diğer personel koruyucu giysiler ile birlikte kullanılmalıdır. Maskeler respiratuvar tipte, 0.5-1.0.µm büyüklüğündeki partiküller için %90 dan fazla koruyucu özellikte N95 veya EN149-P2 ya da P3 (EN149 FFP2, EN149 FFP3 veya N95) standartlarında olmalıdır. Ayrıca tek kullanımlık plastik muayene eldiveni kullanılmalıdır(3,7,).

Her çalışma da mutlaka önlük giyilmelidir. Ayrıca izolasyon odasında otoklavlanabilir ve/veya değiştirilebilir ayakkabılar kullanılması uygundur. İzolasyon odasında kullanılan koruyucu giysiler U.V. lamba altında 1-2 saat tutulduktan sonra tekrar kullanılabilir. Yıpranmış ve kullanılamayacak durumda olan koruyucu malzemeler kapalı kap ya da otoklavlanabilir poşetler içersinde sterilize

edildikten sonra atılır. Belirgin şekilde kirlenen ancak tekrar kullanılabilecek durumda olan malzemeler benzer şekilde sterilize edildikten sonra kullanılmalıdır.

Örnek Toplama ve Nakletme

Tüberküloz hastalığının kesin tanısı ve takibi, uygun klinik örneklerin mikrobiyolojik test ve analiz yöntemlerine dayanır. Doğru tanı için klinik örneğin nereden, ne zaman, nasıl ve niçin alındığının iyi bilinmesi ve örneklerin uygun biçimde işlenmesi gereklidir.

Tüberküloz tanısında en sık toplanan örnek balgamdır. Bunun dışında doku ve organ tutulumuna göre çeşitli doku örnekleri, steril vücut sıvıları, idrar ve ağız mide suyu da toplanmaktadır. Kan ve gaita özellikle AIDS hastalarından alınması gerekebilecek materyallerdendir. Uygun materyal toplanması ve nakledilmesi mikobakteri izolasyonunu doğrudan etkilediğinden özellikle dikkat edilmelidir(7,12).

Örnekler temiz, steril kaplara alınmalı; kap içerisine mikobakterilerin canlılığını etkileyebilecek kimyasal ajan, dezenfektan ve koruyucu fiksatif konmamalıdır. Tüm örnekler en kısa zamanda ve eğer mümkünse soğuk zincir ile laboratuvara ulaştırılmalıdır. Balgam soğukta (No-frost olmayan buzdolabında +4 ile +10°C derecede) ve kapağı sıkıca kapatılmış durumda bir süre saklanabilir. Diğer örnekler hemen laboratuvara gönderilmeli ve işleme alınmalıdır. Bunun mümkün olmadığı durumlarda materyalin özelliğine bağlı olarak birkaç gün soğukta saklanabilir(7,12).

Çoğu zaman klinik örneklerden direk mikroskopi yanında, teksif-kültür de yapılır. Tüm bu işlemlerin aynı kap içerisinde yapılması önemli avantajlar sağladığı için toplama kapları bu amaçlara yönelik olarak 50ml'lik burgu kapaklı, konik tabanlı, yaklaşık 12cm uzunluğunda, 3cm genişliğinde, tercihen polipropilen veya polistiren malzemeden mamul olmalıdır. Şeffaf olması kap içindeki örneğin kalitesini göstermesi açısından avantaj sağlar. Ancak güneş ışığı ve UV lamba ışımından korumak gereklidir. Hasta adı, protokol numarası ve tarih örnek kaplarının üzerine (hasta bilgilerinin sadece kapağa yazılması sakıncalıdır) yazılmalıdır(12)

Balgam alınacak yer

Akciğer tüberkülozlu hasta öksürdüğü zaman enfeksiyon tehlikesi çok yüksektir. Çünkü *M tuberculosis*'in bulaşması esas itibariyle genel olarak 5µm'den daha küçük infeksiyöz partiküllerin ve bakterilerin solunum yolu ile alınarak alveollere kadar

ulaşması sonucu olur. Bu nedenle hastalara özellikle aksırma ve öksürme esnasında ağız kapatma konusunda alışkanlık kazandırılması önemlidir(11, 12).

Hastaların balgamı, özellikle klinik ve laboratuvar dışında, açık havada, تنها bir yerde ve mümkünse bol güneşli ortamda çıkarmaları istenmelidir. Klinik içindeki oda ya da tuvalet gibi yerlerde hastalardan balgam çıkarmasını istemek sakıncalıdır. Ancak özel tasarlanmış üst hava ısımalı UV lamba veya UV lambalı hava dezenfektan cihazı içeren ve oldukça iyi havalandırılan odalar da balgam çıkartılması için uygun olabilir. Bu tür odalar negatif basınçlı olmalı, koridor ve diğer odalara buradan hava kaçmamalıdır(12).

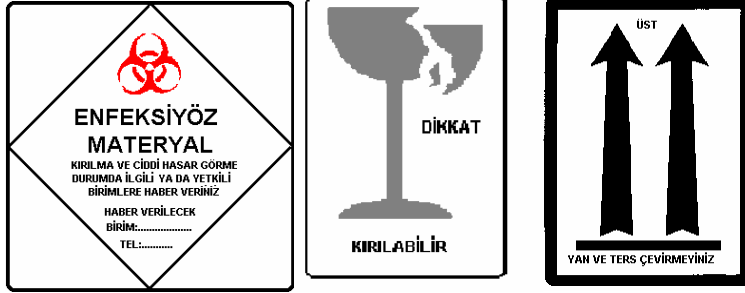
Balgam kaplarının taşınması

Kural olarak potansiyel risk taşıyan patolojik materyalin taşıma kabı; kırılmaz, sızdırmaz, darbelere ve suya dayanıklı malzemeden yapılmış ve emniyet kilitli olmalıdır. Balgam kabının burgu kapaklı olması taşıma sırasında dökülmemesi için çok önemlidir. Nakil işlemi özel kurye veya eğitim almış kişiler tarafından yapılacak ise özel muhafazalı nakil kapları kullanılabilir. Bu kaplar genellikle üsten taşıma kulpu, kapaklı olup yaklaşık 25-40 adet balgam kabı alabilecek kapasitededir(10,11,12).

Posta veya kargo ile gönderilmesi durumunda ise nakil kabı, materyal kaplarından olası sızdırma ve kırılma durumlarını önlemek için yeterli ve güçlü absorban özellikte bir yatak ile desteklenmelidir. Bunun için balgam kabı absorban madde ile sarıldıktan sonra ikinci bir ambalaj (naylon poşet, parafilm, jelatin film gibi) ile sızdırmayacak şekilde sıkıca

sarılmalı ve koli bandı ile yapıştırılmalıdır. Daha sonra üzerinde gerekli uyarı işaretleri bulunan, darbelere karşı destekli ve yumuşak yatak içeren bir üçüncü dış kap içersine konduktan sonra kargo şirketine

veya özel taşıma personeline teslim edilmelidir (Şekil 1-2). Materyaller ile ilgili hasta listesi ve diğer her türlü bilgi dış kap içersine konmalıdır(12).



Şekil 1. Nakil kapları üzerine yapıştırılması gerekli uyarı işaretleri

Kültür tüplerinin nakledilmesi

Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ) enfektif materyal naklinin iç içe giren 3 kap içinde yapılmasını önermektedir (Şekil 3). Buna göre *birinci kap* doğrudan bakteriyi veya materyali içeren kültür tüpüdür. *İkinci kap*; kültür tüpünün kuvvetli emici yumuşak bir madde ile sarıldıktan sonra içine yerleştirileceği; darbelere dayanıklı, sızdırmaz, su geçirmez, kelepçe-kilitli veya burgu kapaklı özel bir kaptır. *Üçüncü kap* ise ikinci kabı darbelerden koruyan, yumuşak yatak içeren ve suya dayanıklı malzemeden yapılmış dış kap veya taşıma kabıdır(12, 13).

Kültür tüpleri absorban ve yumuşak bir yatak ile sarıldıktan sonra kelepçe-kilitli veya burgu kapaklı ikinci kap içersine yerleştirilir. Hasta protokol kağıtları, listeler ve kültür tüplerini içeren ikinci kap, dış kap (üçüncü kutunun) içersine ayrı olarak yerleştirilir. Sonra kutu kapatılarak üzerine acil durumda haber verilecek sorumlu

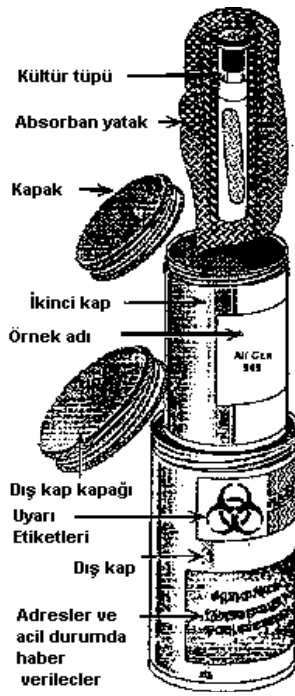
kişilerin adres ve 24 saat ulaşılabilir telefon numaraları not edildikten ve aşağıdaki uyarıcı etiketler (Şekil.1.) yapıştırıldıktan sonra posta veya kargoya verilir(12,13).

1. Tehlikeli Biyolojik Etken "Enfeksiyöz Materyal" etiketi.
2. "Kırılabilir Eşya" veya "Dikkatli Taşınmalıdır" yazısı (ya da işaretleri).
3. Kutunun üstünü-altını (ters-düz yönünü) açıkça belirten etiketler.

Daha önce önerilen hiçbir modifiye taşıma metodu standartlara uygun olmadığı ve bazı ciddi hatalara sebep olduğu için artık kullanılmamalıdır. Ayrıca DSÖ ve uluslararası standart taşıma kurallarına uygun hem yerli hem de ithal taşıma kapları artık ülkemizde ticari olarak temin edilebilmektedir (Şekil 2).



Şekil 2 Model kültür tüpleri taşıma kapları



Şekil 3 DSÖ'nün önerdiği üçlü kültür taşıma sistemi

KAYNAKLAR

1. International Union against TB and Lung Disease (IUATLD)-WHO, International Course on the Management of TB Laboratory Networks in Low-Income Countries. Ottawa, Canada, 2000.
2. WHO (World Health Organization), Laboratory services in Tuberculosis Control. Part II: Microscopy. WHO/TB/98.258. Geneva, 1998
3. Richmond, J.Y., McKinney, R.W., Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Fourth Edition. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Washington. 1999.
4. Kent, P.T. and Kubica, G.P. Public Health Mycobacteriology, A Guide For The Level III Laboratory. Centers for Disease Control. Atlanta. Georgia 1985.
5. WHO (World Health Organisation), Tuberculosis Handbook (1998) (WHO/TB/98.253). Geneva, 1998
6. WHO (World Health Organization), Laboratory services in Tuberculosis Control. Part I: Organization And Management, WHO/TB/98.258. Geneva, 1998
7. WHO. TB Manual National Tuberculosis Programme Guidelines, Warsaw. 2001.
8. Richmond, J.Y., McKinney, R.W., Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets 2nd Edition. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Washington. 2000.
9. Philips (Teknik rapor). Mikrop Öldürücü Lambalar ve Uygulamalar.
10. International Union against TB and Lung Disease (IUATLD)., Technical Guide, Sputum examination for Tuberculosis by Direct Microscopy in Low Income Countries. Fifth Edition, Paris, 2000.
11. IUATLD., The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and National Laboratory Network. Paris, 1998.
12. Özkara, Ş., Aktaş, Z., Özkan, S. ve Ecevit, H., Türkiye'de Tüberkülozun Kontrolü için Başvuru Kitabı. T.C.Sağlık Bakanlığı, Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Ankara. 2003.
13. WHO. Guidelines for the Safe Transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens. WHO/EMC/97.3. 1997.