

LABORATUVAR KAZALARINDA YAPILMASI GEREKENLER ve GÜVENLİK ÖNLEMLERİ

Prof. Dr. Dr. Murat Günaydın

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

İnfekte klinik örneklerin çalışıldığı laboratuvarlarda personel eğitimi önemlidir. Mikobakteriyoloji laboratuvarında çalışan personel diğer bölgelerde çalışan görevlilere göre 3-5 kat daha fazla risk altındadır. Tüberküloz dışı mikobakterilerin laboratuvar bulaş riski çok küçük olmakla birlikte, tüberküloz basilleri kompleksinde bu risk büyüktür. Bu riskleri önlemek yada en aza indirmek için tedbirler alınmalıdır. Öncelikle laboratuvar sorumlusunun uyması gereken bazı kurallar vardır. Bu kurallar *tablo 1*'de sunulmuştur.

Tablo – 1: Laboratuvar sorumlusunun yükümlülükleri

1. Tıbbi personelin sağlık durumunu düzenli olarak takip etmek.
2. Laboratuvar işlemlerinin nasıl en güvenli yapılacağı konusunda eğitim vermek.
3. Özel dikkat gerektiren, tehlikeli teknik ve işlemler hakkında bilgilendirme yapmak.
4. Bir kaza anında çabuk ve doğru karar verebilmek için protokoller oluşturmak, hazırlık yapmak ve eğitim vermek.
5. Cihazlar satın alınırken yeterince güvenli olanları tercih etmek.

Mikobakteri Laboratuvarlarının Sınıflandırılması

Hastalık oluşturma riskine göre mikroorganizmalar gruplandırılır, sınıflara ayrılır. Avrupa Birliği kriterlerine göre bakteriler oluşturdıkları risk düzeylerine göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamaya göre tehlike kaynağındaki mikroorganizma grupları ve özellikleri *tablo 2*'de verilmiştir.

Mycobacterium tuberculosis complex'in üyeleri tehlikeli olarak tanımlanmış olup, üçüncü grupta yer almaktadır. Bununla birlikte, non-tüberküloz mikobakteriler orta düzey riskli, kabul edilerek ikinci gruba konulmuştur (*tablo 3*).

Tüberküloz laboratuvarında kullanılan mikrobiyolojik güvenlik önlemleri kazara yutma ve aşılama sonucu ortaya çıkan enfeksiyonu önlemeyi amaçlamaktan çok solunum yolu ile enfeksiyon tehlikelerini de minimize etmek için gerekli olan tedbirlerdir.

Mikobakteriyoloji laboratuvarında uygulanan pek çok teknik aerosoller oluşumuna yol açar. Boncuk ile süspansiyon hazırlarken, vorteksleme ile homojenizasyon

yapılırken aerosol oluşur. Ayrıca santrifüj işleminde tüplerin kırılması durumunda, sıvının küçük deliklerden fışkırması, pipetleme ve dökme sırasında da aerosol oluşur. Her bir damlacık bir veya daha fazla mikroorganizma içerebilir. Özellikle çapı 5 µm'den küçük olan damlacıklar geç çöker, ve

Tablo – 2: Tehlike kaynağındaki mikrorganizmaların sınıflandırılması*

Gruplar	Özellikleri
Grup 1	İnsanlarda hastalık yapma olasılığı olmayan biyolojik bir ajan
Grup 2	İnsanlarda hastalığa sebep olabilecek ve çalışanlar için tehlikeli olabilecek biyolojik bir ajan; toplum içinde yayılma olasılığı yok; genellikle etkili profilaksi ve tedavi mevcuttur.
Grup 3	İnsanlarda şiddetli şekilde hastalığa sebep olabilir ve çalışanlar için ciddi bir tehlike arz eden biyolojik bir ajan; toplum içinde yayılma riski olabilir, fakat genellikle etkili profilaksi ve tedavi mevcuttur.
Grup 4**	İnsanlarda şiddetli şekilde hastalığa sebep olur ve çalışanlar için ciddi bir tehlike arz eden biyolojik bir ajan; toplum içinde yayılma riski olabilir, fakat genellikle etkili profilaksi ve tedavi mevcut değildir.

* Avrupa Komiteleri Komisyonu (1990)

**Grup 4'te Mikobakteriler yoktur.

uzun süre havada asılı kalır, en küçük bir hava akımında bile ortamda hareket ederler. Eğer bunlar solunum yoluyla alınırsa alveollere ulaşır ve enfeksiyonu başlatabilir. Daha büyük damlacıklar ise daha hızlı çökerler ve yüzeyleri, elleri ve giysileri kontamine ederler.

Tüberküloz bulaş riskini azaltmak için uygulanabilecek bazı önlemler aşağıda açıklanmıştır.

a. Bakteriyolojik özelerle çalışma durumunda: Mikroskopi için lam preparatın hazırlanması ve kültür ortamına inokülasyon sırasında özeler kullanılmaktadır. Bu işlemi yaparken infekte materyalin etrafa yayılmasından sakınılmalıdır. Özeler nazik şekilde kullanılmalıdır. İnfekte özelerin direkt olarak alevde tutulması basillerin sıçramasına ve çalışma yüzeyini infekte etmesine neden olabilir. Bunsen tipi bekler (çay bardağı büyüklüğünde bir çukuru bulunan ve içi elektrik enerjisi ile içi akkor haline gelmiş seramikten yapılmış bek) kullanıldığında bu risk azalır. İnfekte özeler önce içinde %90 alkol-kum karışımı bulunan beher içinde döndürerek temizlenmeli ve sonra alevde steril edilmelidir. Tek kullanımlı plastik özeler tel özelere tercih edilmelidir.

Tablo – 3: Mikobakterilerin tehlike gruplandırılmaları *

Grup 2	
M. asiaticum	M. paratuberculosis
M. avium	M. scrofulaceum
M. chelonae	M. shimoidei
M. fortuitum	M. simiae
M. haemophilum	M. szulgai
M. intracellulare	M. ulcerans
M. kansasii	M. xenopi
M. malmoense	
M. marimum	
Grup 3	
M. tuberculosis	
M. bovis	
M. africanum	
M. microti	
M. leprae	

b. Pipetleme: Pipetler sıvıyı kolay akıtmalı, fışkırtır tarzda şiddetli bir şekilde akıtmamalı, ya da son damla patlayan hava kabarcıkları ve aerosoller oluşturacak şekilde olmamalıdır. Pasteur pipetlerinin özellikle hava kabarcıkları oluşturma olasılığı yüksektir. Pipetleme araçları dikkatle seçilmelidir. Tüberküloz işlemlerinde ağız ile pipetleme yapılmaz.

c. Kültür şişelerinin ve besiyerlerinin açılması : Eğer şişe kenarı ve kapağı arasında veya bir petrinin kapağı ile kenarı arasındaki sıvıda ince bir basil artığı varsa; şişe ve petrileri açarken aerosoller oluşabilir. Mikobakteriyel kültürler içeren tüpler ve petriler bir güvenlik kabininde açılmalıdır. Ayrıca liyofilize edilmiş mikroorganizmanın ampülü açılırken de etrafa yayılabilir ve infekte edebilir.

d. Santrifüj: Santrifüj edilirken sıvı, kapaksız santrifüj tüplerinden dökülebilir ve aerosolleşebilir. Böyle aerosoller kapak ile rotor arasındaki aralıktan ve vantilasyon açıklıklarından büyük bir hızla dışarı çıkabilir. Tüpler kapaklı bile olsa, bir tüpün kırılmasıyla büyük bir miktarda aerosol çıkarak bir risk oluşturabilir. Bu nedenle tüberküloz laboratuvarlarında her zaman vida kapaklı santrifüj kovaları kullanılmalıdır. Ayrıca kovaların karşılıklı olarak dengelenmesini ve kovaların sağlam bir şekilde yerlerine yerleştirilmesini sağlayacak genel tedbirler de alınmalıdır. Kovaların kapakları mikrobiyolojik emniyet kabininde açılmalıdır.

e. Mekanik homojenleştiriciler: Vortek cihazları, balgam ve diğer materyalleri homojen hale getirmede kullanılır, dolayısıyla dekontaminasyon kolaylaşır. Tüplerin

kapakları sıkıca kapatılmazsa ortama aerosol yayılır. Ayrıca vorteksleme sonrasında tüpte aerosoller meydana geleceğinden, tüpler hemen açılmamalı, bir mikrobiyolojik güvenlik kabininde 5-10 dakika bekletildikten sonra açılmalıdır.

f. Dekontamine edilmiş materyalin dezenfektan içine dökülmesi: Infekte materyal dezenfektan içine döküldüğünde etrafa sıçrayıp kontamine edebilir veya aerosol meydana getirebilir. İçine dezenfektan konmuş sızdırmaz bir kap ve etrafa infekte materyalin saçılmaması için huni ve oluşabilecek aerosollerini önlemek amacı ile huni bir mantar /lastik tıpa yardımı ile kabın ağzına sıkıca yerleştirilmelidir. Huni'nin ucu kavanoz veya kabın içindeki dezenfektan yüzeyinin altında olmalıdır ve materyal huninin kenarından dikkatlice dezenfektan içine dökülmelidir. Bir kabın içeriğini dökerken kabın kenarını kontamine etmesi kaçınılmazdır. Bu dezenfektanla ıslatılmış bir filtre kağıdıyla kurutulmalıdır.

g. Yutma tehlikesi: Etiketlerin yalanması, kalemlerin emilmesi, sigara içilmesi, yiyecek yenilmesi ve içilmesi kesinlikle yasaklanmalıdır. Balgam kaplarının dışındaki tüberkül basillerine parmaklar temas edebilir. 1993 yılında Allen ve Darrel yaptıkları bir çalışmada 279 balgam konteynerından 18'inde (%6.5) bu yolla bulaş göstermişlerdir. Rutin bir tedbir olarak işlem bittikten sonra balgam kaplarının dezenfekte veya steril edilmeleri gerekir.

h. İnokülasyon tehlikesi: İğne batması şeklindeki kazalarla karşılaşmak olağandır. Enjektör kapağı kesinlikle tekrar kapatılmamalıdır. Enjektör iğnesi kullanılıyor ise iğnenin batırıldığı şişe elle tutulmaz ve

yakınlarına el yaklaştırılmaz. Radyometrik Bactec vb. kapalı sistem kullananlar mutlaka enjektör kullanmak zorundadır. Cam aletlerden kaynaklanan kesikler de oluşabilir. Bu nedenle yumuşak plastik türler çok daha güvenlidir ve tercih edilmelidir. Laboratuvar kaynaklı iğne batması ve diğer yaralanmalarda ilgili sağlık departmanlarına hemen rapor verilmelidir.

i. Dezenfektan kullanımı: Mikrobisidal bir dezenfektan etkin konsantrasyonda, uygun temas süresi kadar kullanılır. Organik maddelerin dezenfektanın etkinliğinde azalmaya neden olacağı unutulmamalıdır. Aldehid türevleri ve fenol toksik etkilerinden dolayı kullanılmamalıdır. Ancak toksik etkisi azaltılmış fenol türevleri kullanılabilir. Sodyum hipokloridin %0.1-0.5 (ev için hazırlanmış hipoklorid solüsyonunun 1/50 dilüsyonu)'lik konsantrasyonları etkilidir. Quarterner amonyum bileşikleri mikobakteriostatiktir. Yeni üretilen quarterner amonyum bileşiklerinin etkili olduğu bildirilmektedir. Kullanılacak dezenfektanın mikobakterisidal etkisinin olduğu bilinmelidir. El bulaşında %70'lik isopropil alkol ve ardından deterjanla ellerin yıkanması etkin bir yöntemdir. Mikrobiyolojik emniyet kabininin silinmesinde alkol ve hipoklorid solüsyonunun ardışık olarak kullanımı yaygındır.

i. Mikrobiyolojik güvenlik kabini içinde çalışma: Mikrobiyolojik güvenlik kabini kullanımı ile aerosollerin ya da manipülasyonlar sırasında yanlışlıkla yada bir kaza sonucu çıkabilecek diğer infekte solunum yolu partiküllerinin inhalasyonundan çalışanların korunması amaçlanır. Ayrıca

çalışmayı da oda havasındaki kirletici etkenlerden korur. Klas II mikrobiyolojik emniyet kabini kullanılmalıdır. Ayrıca çalışma esnasında hepa filtreli yüz veya ağız-burun maskesi kullanılır.

Mikrobiyolojik güvenlik kabini içinde infekte materyal ile yapılacak manipülasyonlar için öneriler önlemler ve teknik prosedürler aşağıda verilmiştir.

- Fanı açtıktan sonra, çalışanlar güvenli bir hava akımı saptanana kadar çalışmaya başlamamalıdır. Güvenli bir hava akımı olduğu sayaç veya duyulabilir ikaz sinyali ile anlaşılabilir.
- Çalışmaya başlamadan önce bütün gerekli ekipmanlar kabine yerleştirilmelidir. Eğer ekipmanların ve materyallerin yerini değiştirmek ve kaldırmak gerekirse, sayaç uyardığında yeterli hava akımı sağlanana kadar çalışmaya tekrar başlanmamalıdır. Kabine el ve kolların sıkça sokulup, çıkarılması havayı karıştırarak, laminar hava akımının güvenliğini tehlikeye sokabilir.
- Bütün çalışma kabinde yürütülmelidir.
- Klasik alevli bekler kabinde kullanılmamalıdır. Çünkü bunlar hava akımını tehlikeye uğratar ve filtrelerle zarar verebilir. Tek kullanımlık plastik inokülasyon özelerinin kullanılması önerilir.
- Kullanılan pipetler dezenfektan içeren kaplara konulmalıdır.
- Çalışma bittikten sonra, kullanılan araçlar kabinde hemen çıkarılmamalıdır. İşlem bittikten sonra

kabin beş dakika daha çalıştırılarak, aerosollerin çıkmasına olanak verilmelidir.

- j. Personel tedbirleri: Laboratuvar çalışanlarının kişisel hijyen kurallarına en üst düzeyde uymalıdır. Koruyucu elbiselerini çıkardıktan sonra ve odayı terk ederken ellerini muhakkak yıkamalıdır. Deri yüzeyindeki herhangi bir kesik ve sıyrık varsa üzeri su geçirmez pansuman bandı ile kapatılmalıdır. Personel günlük kıyafetlerini ve evine götüreceği alışveriş çantalarını ve diğer eşyalarını laboratuvarın dışındaki kilitli dolabına koymalıdır.

Personelin üzerinde her zaman koruyucu elbiseler olmalıdır. Kenarları bağlı, boyun ve göğse kadar gelen ve bütün vücudu saran bir önlük veya uzun operasyon kıyafeti giyilmelidir. Önlüğün kollarının uzunluğu bileğe kadar olmalıdır ve personel bir güvenlik kabinini kullanırken, normal kıyafetinin kollarını kontaminasyondan korumak ve kollardan içeri partiküllerin girmesini önlemek için elbisenin kolları kıvrılmalıdır. Personel laboratuvarı ayrılmadan önce koruyucu elbiselerini çıkarmalıdır. Laboratuvar elbiseleri çamaşırhaneye verilmeden önce otoklavlanmalıdır.

Personel hepa filtreli maske kullanılmalıdır. Cerrahi maskeler 5µm'den büyük partikülleri tutabilir. Bu maskeler yeterli koruma sağlamaz ve kişiye yanlış olarak güvenlik düşüncesi verir, bu nedenle cerrahi maskeler kullanılmamalıdır. Gözlük ve yüz maskeleri oluşabilecek laboratuvar kazalarından en az zararlı personelin kazayı

atlatmasına yardımcı olacaktır. Tek kullanımlık eldivenler, iyi kalitede operasyon eldiveni olmalı, çeşitli boyları temin edilmeli ve personel infekte materyalleri taşıırken eldivenleri giymesi için özendirilmelidir.

k. Medikal gözetim: Tüberküloz basilleriyle çalışan personel grubu sağlıklı olmalı ve iyi beslenmelidir. İlk işe başlamadan önce medikal bir muayeneden geçirilmeli ve göğüs radyografisi olmalıdır. BCG aşılama politikaları ülkeden ülkeye değişir. Büyük Britanya ve Kuzey İrlanda Birleşik Krallığı'nda, önceden aşılanıp aşılanmadığı kesin değilse ve tüberkulin testi negatif olan kişilere BCG yaptırmayı önerilir. BCG ile aşılanması gereken personel, aşılanana kadar laboratuvarın dışında tutulmalıdır.

Mesleki sağlık hekimi tarafından yapılmış düzenli medikal muayeneler (örneğin; yıllık muayeneleri) önerilir. Yıllık göğüs radyografisinin kullanımındaki radyasyon tehlike miktarı çelişkilidir. Eğer çalışanlarda kronik öksürük gibi semptomlar gelişirse, tüberküloz açısından araştırılmalıdır. Semptom incelemeleri (uygun sorulara dayalı) de kullanılabilir

Laboratuvar kazası olursa alınacak önlemler:

Laboratuvar kazalarının olabileceği genellikle hesaba katılmaz. Oluşabilecek bu tür kazaların en aza indirilmesi veya önlenmesi için gerekli önlemlerin alınması birinci şarttır. Su geçirmez önlük, hepa filtreli yüz maskesi, eldiven en önemli koruma araçlarıdır. Ancak laboratuvar kazalarının olabileceği konusunda personel bilinçlendirilmeli ve önemli olan kazanın olması değil, oluşturabileceği zararlı etkilerin

en kısa zamanda ve en etkin bir şekilde nasıl giderilebileceğine dair aksiyon planının çıkarılmasıdır. Ayrıca en mükemmel hepa filtreli havalandırma sistemlerinin dahi aerosol oluşumunda koruma açısından yeterli olmayacağı personel tarafından bilinmelidir.

Katı kültür tüpünün kırılması veya balgam bulunan bir kabın dökülmesi gibi minimal aerosol oluştuğu durumlarda;

1. Daha sonra oluşabilecek aerosolü önlemek için büyük bir havlu hatta laboratuvar önlüğünü dökülen materyalin üzerine ve çevresine örtün.
2. Dezenfektanla bu örtüyü ıslatın, geniş bir ıslak alan oluşturun.
3. En az iki saat odaya girmeyecek şekilde ayrılın.
4. Odaya tekrar girerken koruyucu elbise, maske, gözlük takın.
5. Dökülen materyal temizlenir ve bu materyal otoklava koyun.
6. Tüm zemin ve tezgahları dezenfektanla silin.

Yoğun bakteri içeren sıvı kültür tüpü veya flask kırılması ile büyük miktarda aerosol oluşmuş ise;

1. Odayı derhal boşaltın. Aerosoller dökülen alandan çok ötelere yayılmıştır.
2. Biyolojik emniyet kabinini kapatmadan 4 saat süre ile odadan uzaklaşın.
3. Dört saat sonra formaldehid gazı (%36-40 yoğunlukta) ile odanın sterilizasyonu sağlanmalıdır. Bunun için odanın hacmi hesaplanır, örneğin 30 m³'lük bir oda için 100 cc formalin kullanılır. %70'lik nemli ortam

oluşturmalıdır. Bunun için 100 cc formaline 900 cc su konur ve bir elektrikli ısıtıcı yardımı ile 90-100°C'de buharlaşması sağlanır. Formaldehidin toksik ve kanserojen bir gaz olduğu unutulmamalıdır.

4. Odanın havanın girişi ve çıkışına neden olan delikler bant yardımı ile kapatılır.
5. En az 12 saat süre ile formaldehid ile oda steril edilir. Kapıya formaldehid ile steril edildiği yazılır.
6. Nadiren odada formaline bağlı beyaz kalıntı kalır ise %10'luk amonyum hidroksid ile silinir.

KAYNAKLAR:

1. Collins CH, Grange JM, Yates MD. Tuberculosis Bacteriology: The prevention of laboratory-acquired tuberculosis. Second edition, Reed educational and professional Publishing LTD, Oxford, 1997.
2. Haas DW. Mycobacterium tuberculosis. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases (Fifth edition). Churchill Livingstone, London, 2000: 2576-2607.
3. Kent TP, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology A guide for the Level III Laboratory: Safety in the Laboratory, US Department of Health and Human Service, 1985.
4. Mycobacterium. In: Murray R, Rosenthal KS, Kobayashi FS, Pfaller MA(eds). Medical Microbiology (fourth ed). Mosby Co, St Louis, 2002: 366-377.