



MİKROBİYOLOJİ LAB-I (Ekim 2022)

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI'NDA ÇALIŞMA KURALLARI VE BİYOGÜVENLİK

ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ

Veteriner Hekim Evrim Genç

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA KULLANILAN TEMEL CİHAZ VE ALETLER



microbe notes

Mikrobiyoloji Lab ve Biyogüvenlik Kabini





Biyogüvenlik

Laboratuvar personeli canlı mikroorganizmalar veya
onların toksik ürünleriyle ilgili testleri yaparken;

Önemli
problem

Kendilerini, diğer laboratuvar çalışanlarını, toplumu ve
çevreyi korumak için aktif, etkin, kanıta dayalı işlemleri
kullanmalıdırlar

- Amaç:

Laboratuvar personelinde laboratuvar kaynaklı enfeksiyonları engellemek ve sporadik veya salgınlar şeklinde tehlike yaratabilecek canlı mikroorganizmaların veya bunların toksinlerinin çevreye yayılmasına engel olmaktır.



- **Veteriner Mikrobiyoloji Laboratuvarlarının Görevleri**

1. Enfeksiyon şüphesi ile gönderilen örnekleri incelemek,
2. Enfeksiyon etkeni mikroorganizmaları doğru olarak tanımlamak,
3. Gerek duyulduğunda bu organizmalar için duyarlılık testi yapmak,
4. Elde edilen sonuçlar ışığında klinisyenlere yardımcı olmak



- Laboratuvarda çalışan personel risk altındadır.

❖Güvenlik uygulamaları;

- mikrobiyolojik yöntemleri,
- güvenlik donanımlarını,
- laboratuvar çalışanlarını korumaya yönelik hizmetleri,
- laboratuvar ortamının düzenini kapsar

İncelemeye alınan klinik örnek ne örneği olursa olsun mutlaka



"ENFEKSİYON KAYNAĞI" olduğu düşünülmeli

-Laboratuvarda dolaylı veya doğrudan bu örnekler ile çalışan tüm personel hem çevre güvenliği hem de kişisel güvenlikleri açısından bilgili ve tedbirli olmak zorundadır.

- Enfeksiyon etkeni ajanların laboratuvar içerisinde bulaşması;

1.Direkt temas ile bulaş:

- Parenteral (enjeksiyon/iğne batması)
- İntakt olmayan deri (kesikler, çatlaklar, sıyrılmalar veya eksudatif deri lezyonları)
- Mukoz membranlar (göz, burun, ağız)

2. Hava ile bulaş (aerosol)

3. Fekal-oral geçiş/sindirim

- **Biyolojik Tehlike:** İnsanlar üzerinde zararlı etki oluşturma kapasitesine sahip biyolojik orijinli her türlü ajan/etken veya madde (mikroorganizmalar gibi)
-



- **Biyogüvenlik**

Sağlık çalışanlarının, diğer insanların ve çevrenin potansiyel olarak tehlike içeren enfeksiyöz mikroorganizmalar ile onlara ait genetik ve toksik çeşitli komponentlerine maruziyetini mümkün olan en alt seviyeye indirmek ya da tamamıyla ortadan kaldırmak için gerekli uygulamaların tümünü içerir

Biyogüvenlik

- enfeksiyöz ajanlar için risk değerlendirilmesi,
- mühendislik teknolojileri,
- kişisel koruyucu ekipman ve diğer güvenlik malzemeleri,
- iyi laboratuvar uygulamaları gibi konular biyogüvenlik kavramının temel ilkeleri olarak değerlendirilmektedir.

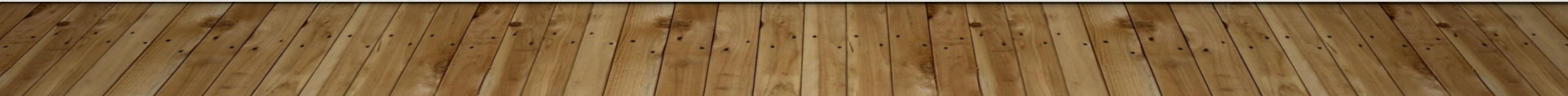
Biyogüvenlikte korunma/kontrol mekanizmaları

1- Korunma

- Laboratuvar çalışanının standart ya da özel mikrobiyolojik uygulamaların tümüne uygun hareket ederek personelin ve laboratuvar çevresinin enfeksiyöz ajanlardan korunmasıdır.
- **Korunmanın en önemli unsuru iyi laboratuvar uygulamaları ve teknikleridir.**

Bu kapsamda;

Enfeksiyöz ajanlar ya da enfekte olma riski yüksek materyaller ile çalışan personel bulaş açısından muhtemel tehlikenin farkında olmalı ve gerekli eğitimi almalı



- Korunmanın diğer unsuru ise **güvenlik ekipmanlarıdır.**
- Güvenlik ekipmanları tehlikeli biyolojik materyallere maruziyetin önüne geçebilmek için tasarlanmıştır.

-**Biyogüvenlik kabinleri (BGK)** —————> en önemli güvenlik ekipmanı

- Diğer güvenlik ekipmanları;

-Eldivenler, önlükler, ayakkabı koruyucuları, botlar, maskeler, yüz koruyucuları ve koruyucu gözlüklerdir (Kişisel koruyucu ekipmanlar).

- ✓ Kişisel koruyucu ekipman ve BGK çalışılan ajana ya da materyale göre birlikte kombine edilerek kullanılmalıdır

Risk Gruplarının Belirlenmesi:

- Organizmaların risk gruplarına göre sınıflandırılması enfeksiyöz ajanların bulaş riskine göre yapılmaktadır.
-
- ✓ Bir mikroorganizmanın hangi risk grubunda yer alacağı ve çalışmanın hangi seviyede yürütüleceği dört önemli faktöre bağlıdır:
 1. Organizmanın patojenitesi
 2. Bulaş yolu ve organizmanın konakçı dağılımı
 3. Etkili korunma yollarının varlığı
 4. Etkili tedavi yollarının mevcudiyeti

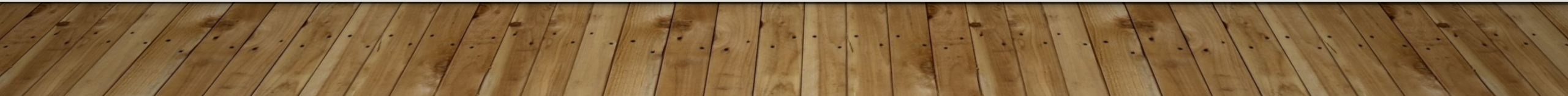
Ayrıca;

a. Mikroorganizmanın enfeksiyöz dozu ve çevreye dayanıklılığı

b. Çalışmalarda kullanılacak mikroorganizma veya içeriğinin hacimsel büyüklüğü ve konsantrasyonu.

Laboratuvar kaynaklı enfeksiyonlarla ilgili yapılmış olan çalışmalar da organizmanın bulaştırıcılığını ortaya koymak açısından önemlidir

Tüm bu kriterler göz önüne alınarak DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) ve OIE (Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü) tarafından mikroorganizmalar dört risk grubuna ayrılmıştır



Mikroorganizmaların risk grubuna göre sınıflandırılması.

Grup-1	Risk grup 1'de bireysel ve toplumsal riski olmayan ya da bu riskin önemli ölçüde az olduğu mikroorganizmalar yer almaktadır. ^{Sağlıklı insanda} enfeksiyona neden olmadığı kesinlikle bilinen mikroorganizmalar (<i>Bacillus subtilis</i> gibi) bu grupta yer alır.
Grup-2	Klinik mikrobiyolojide çoğu kez karşımıza çıkan ve insanlarda hastalık nedeni olduğu bilinen birçok mikroorganizma Risk Grup 2'de tanımlanmıştır. Genel olarak Risk Grup 2'deki mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların etkili tedavi/korunma yolları vardır ve toplum sağlığı açısından oluşturduğu risk sınırlıdır.
Grup-3	Toplumsal risk düşük ancak bireysel risk yüksek olmakla birlikte etkili tedavi ve korunma yollarının bulunduğu mikroorganizmalar Risk Grup 3'te yer alır.
Grup-4	Hem toplumsal hem de bireysel riskin yüksek buna karşılık etkili korunma ve tedavi yöntemlerinin genellikle bulunmadığı mikroorganizmalar ise Risk Grup 4'te yer almaktadır.

Risk Grup 1

- Sağlıklı insanlarda hastalığa yol açmayan enfeksiyöz ajanlar yer almaktadır:
Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis ...
-

Risk Grup 2

- Bakteriyel etkenlerin birçoğu
- Mantar etkenlerinin çoğu
- İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), Hepatit B virüsü, Hepatit C virüsü, Hepatit D virüsü

Risk Grup 3

- *Bacillus anthracis, Coxiella burnetii, Francisella tularensis, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Yersinia pestis, Rickettsia spp., Mycobacteria spp....*
- *Histoplasma capsulatum duboisii, Paracoccidioides brasiliensis*

Risk Grup 4

- Herhangi bir bakteriyel ve fungal etken bulunmamaktadır.
- Kırım-Kongo hemorajik ateş virüsü ve Ebola virüsü

Laboratuvar Biyogüvenlik Seviyeleri

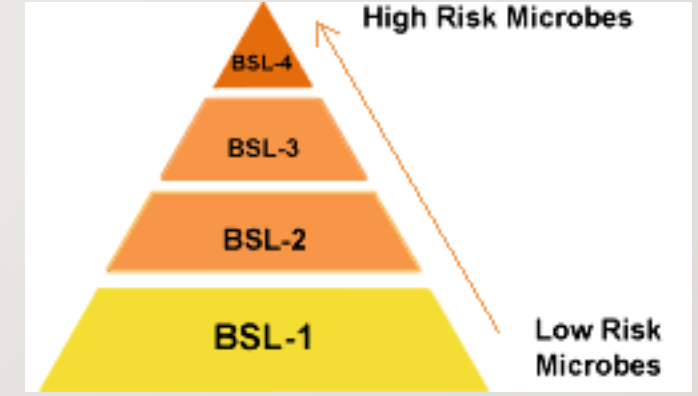
- Mikrobiyolojik risk grupları dikkate alınarak laboratuvarlar dört farklı güvenlik seviyesinde tasarlanmıştır:

Biyogüvenlik Seviye 1 (BGS-1) "Temel Laboratuvarlar",

Biyogüvenlik Seviye 2 (BGS-2) "Temel Laboratuvarlar",

Biyogüvenlik Seviye 3 (BGS-3) "Tecrit Laboratuvarı",

Biyogüvenlik Seviye 4 (BGS-4) "Maksimum Tecrit Laboratuvarı"



BİYO GÜVENLİK SEVİYELERİ

BULAŞ RİSKİNİ AZALTACAK GENEL ÖNLEMLER

- Kan alırken, girişimsel işlemlerde veya her türlü vücut sıvısı ile temasta prosedürlerde belirtilen koruyucu önlemler alınmalıdır.
- Kaza yaralanmalarında cilt hemen su ve sabunla yıkanarak mekanik uzaklaştırma yapılmalıdır.

Bulaş Riskini Azaltacak Genel Önlemler

- Laboratuvar işlemleri sırasında enfekte materyalin sıçrama riski varsa maske, gözlük ve önlük kullanılmalı, tek kullanımlık atılabilir malzemeler kullanılmalı, iğneler kılıfına takılmamalı, bükülmemeli ve diğer delici-kesiciler ile birlikte delinmeyen sağlam kutularda toplanmalıdır.
- Cilt lezyonu olan personel hastalarla direkt olarak temas etmemeli, örnekler taşınma sırasında sızıntıyı önleyecek kapaklı kutulara konulmalı, hasta materyalleri ile çalışanlar eldiven giymelidir.

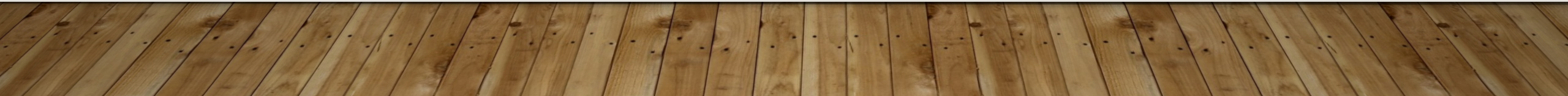
- **Biyogüvenlik Kabinleri**

- Biyogüvenlik kabinleri esas itibariyle çalışan personel ve çevreyi infeksiyöz aerosol ve sıçramalardan korumaya yönelik tasarımlanan hava akımı düzenlenmiş cihazlardır.

-Amaca yönelik kontrollü hava akımı sağlar

-Hava içerisindeki mikroskobik partikülleri elimine eder.

Eliminasyon, BGK'leri içerisindeki ventilasyon ya da mekanik hava yolu üzerine yerleştirilmiş HEPA filtreleri ile sağlanmaktadır.



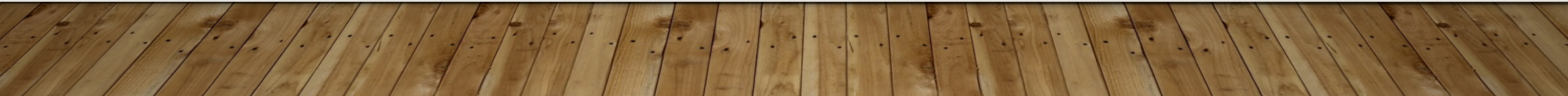
Biyogüvenlik Kabinleri

- Üç sınıf biyogüvenlik kabini vardır:
-

1-Sınıf I biyogüvenlik kabinleri (BGK-I): Çalışan kişiyi ve çevreyi mikrobiyal infeksiyon riskinden belirli bir düzeyde korumaya yönelik tasarlanmış çalışma kabinleridir.

Oda havası ön açıklıktan içeri, oradan da HEPA filtrelerden geçerek dışarıya atılır.

Çalışma yüzeyine doğrudan oda havasının girmesi dolayısıyla ürün koruma özellikleri yüksektir.



2. Sınıf II biyogüvenlik kabinleri (BGK-II)

Bu tür kabinler daha kompleks yapıya sahiptirler. Personel ve çevre korunması yanında ürün korumaya yönelik olarak da tasarlanmış olmaları dolayısıyla daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

Dış ortam oda havası doğrudan HEPA filtre/lere yönlendirilerek önce temizlenir. Böylece hem çalışma yüzeyi temiz kalır hem de personel ve çevre korunmuş olur.

- ✓ Risk grup 2-3 mikroorganizmalar ile çalışılırken kullanılması önerilmektedir.

Biyogüvenlik Düzeyi 2



İnsan hastalıklarıyla geniş çapta ilişkili, ancak sıçrama veya havaya karışarak solunum yolu ile enfeksiyon yaptığı bilinmeyen mikroorganizmalar ile çalışılırken ~~Biyogüvenlik seviyesi 2 Kabinler~~ kullanılır.

Örnek: Salmonella Spp.

Laboratuvarda tezgah üzerinde de alev yakınında dikkatli çalışılabilir.

MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARINDA Biyogüvenlik Düzeyi 2 KABİNDE ÇALIŞMA



3-Sınıf III biyogüvenlik kabinleri (BGK-III)

Esas itibariyle BSL-4 laboratuvarlarında risk grup 4 mikroorganizmalarla çalışmaya yönelik tamamen kapalı bir sistem kabini olarak üretilmişlerdir.

İç hava re-sirkülasyonu yoktur ve tam izolasyon sağlanmış durumdadır.

Doğrudan dış ortam bağlantısı yapılır.

Çalışma yüzeyine kabin ile kombine tasarlanmış oldukça dayanıklı (heavy-duty) lastik eldivenler yoluyla ulaşılır

Biyogüvenlik Seviyesi 3



Solunumla Bulaşma potansiyeli olan ve potansiyel olarak ölümcül enfeksiyonlara neden olduğu açıkça bilinen mikroorganizmalar ile biyogüvenlik seviyesi 3'te çalışılmalıdır.

Bu gibi mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda

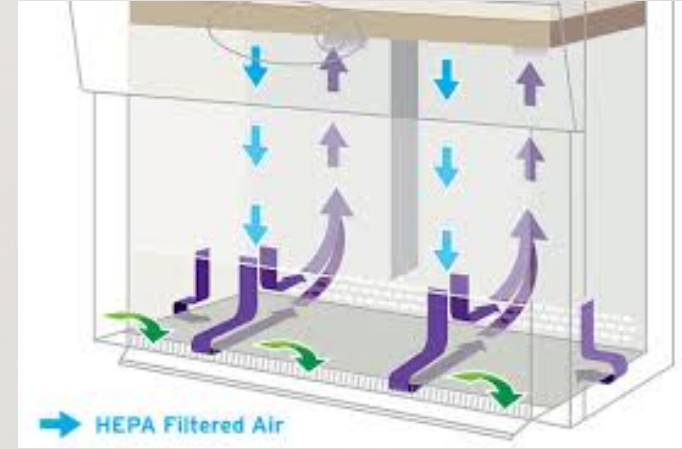
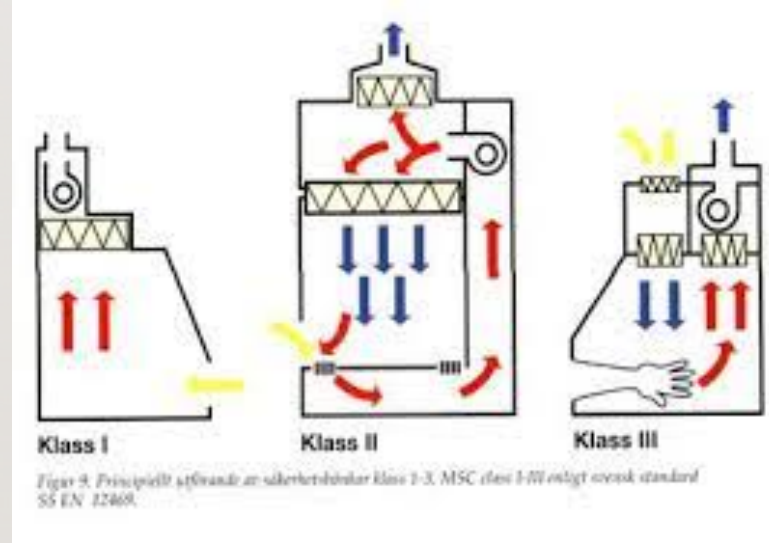
Biyogüvenlik Kabini–Seviye 3'ün kullanılması gerekir.

Örnek: *Mycobacterium Tuberculosis*

Biyogüvenlik KABİNLERİ (I, II,III)

- Biyogüvenlik Kabinleri

Hepa Filtreli havalandırma



Biyogüvenlik Seviyesi 4

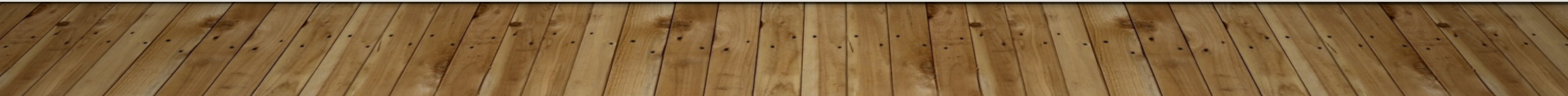
Hava ile bulaşabilecek çok tehlikeli ve aşı ya da tedavisi olmayan ajanlarla çalışılırken biyogüvenlik seviyesi 4 ortamlarda çalışılması gereklidir.

Çalışılan laboratuvar ortamının (odanın) Biyogüvenlik Seviyesi 4 koşullarına sahip olması gerekir.

Özel ekipman ve düzenler gerekir.

Örn: Dış ortam ile hava bağlantısını kesen, korumalı özel kıyafetler giyilmesi önemli.

Örnek: Kırım Kongo Hemorajik Ateşi



Biyogüvenlik Seviyesi 4 ÇALIŞMA ORTAMI



BİYO GÜVENLİK

- ✓ Mikrobiyoloji laboratuvarında yönetmelik ve talimatlara her zaman uyulmalıdır.
- ✓ Tehlikeli ve hastalık yapıcı mikroorganizmalar (bakteriler, virüsler, mantarlar vs) ile çalışırken biyogüvenlik kurallarına uyulmalıdır.
- ✓ Tehlikeli ve hastalık yapıcı mikroorganizmaları bulundurabilecek örnekler ile çalışılırken, mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanan tüm işlemler, şüpheli mikroorganizmaların biyogüvenlik düzeylerine göre yürütülmelidir.

Mikrobiyoloji ÖĞRENCİ UYGULAMA Laboratuvarında Uyulması Gereken Kurallar

- ✓ Laboratuvara önlük giyilmeden girilmemelidir. Laboratuvar önlüğünün düğmeleri daima kapalı olmalıdır.
- ✓ Palto, ceket, şapka, çanta vb. kişisel eşyaların tezgah üzerine konulmaması gerekir.
- ✓ Laboratuvarlara hiçbir şekilde yiyecek, içecek getirilmemeli ve tüketilmemeli, asla sakız çiğnenmemelidir.
- ✓ Laboratuvara giren öğrencilerin saçları toplanmış olmalıdır.

Mikrobiyoloji Laboratuvarında Uyulması Gereken Kurallar

- ✓ Laboratuvarda kontak lens kullanılmamalıdır.
- ✓ Laboratuvarda çalışıldığı sürece çalışmanın özelliğine göre eldiven, gözlük, yüz maskesi, vb. gözü ve cildi koruyucu ekipmanlar kullanılmalıdır.
- ✓ Eller; yüz, göz ve ağızdan uzak tutulmalıdır, çalışma bittikten sonra sabunlu su ve gerektiğinde antiseptik bir sıvı ile yıkanmalıdır.
- ✓ Laboratuvar ortamında çalışılırken her türlü açık yara mutlaka yara bandı ile kapatılmalıdır.

Mikrobiyoloji Laboratuvarında Uyulması Gereken Kurallar

- ✓ Kimyasal madde dökülmesine ve cam kırıklarına tedbir olarak daima kapalı ayakkabı giyilmelidir.
- ✓ Laboratuvarda yüzük, künye, kolye, bilezik gibi takılar; kimyasalların deri ile temas süresini arttıracığından, çalışmaya başlamadan önce mutlaka çıkarılmalılardır.
- ✓ Çalışma bittikten sonra kullanılan malzemelerin, deney düzeneğinin ve deney tezgahının temizliği gereken özenle yapılmalıdır. Malzemeler, alındığı yere bırakılmalıdır

Mikrobiyoloji Laboratuvarında Uyulması Gereken Kurallar

- ✓ Laboratuvar çöp sepetleri içinde otoklavlanabilir poşet bulunmalı, çöpler otoklavlandıktan sonra atılmalıdır. Atık çöp kutularının ağzı açık bırakılmamalıdır.
- ✓ Kesici ve delici aletlerle çalışmalarda gerekli önlemler alınmalı, bu atıkların uzaklaştırılmasında sert plastik atık kapları kullanılmalıdır. Tıbbi atıkların toplanmasında kırmızı renkli plastik torbalar kullanılmalıdır.
- ✓ Herhangi bir acil duruma karşı güvenlik malzemeleri, çıkış kapılarının nerede olduğu ve acil durum esnasında ne yapılması gerektiği bilinmelidir.
- ✓ Laboratuvar sorumlusu izin vermedikçe hiçbir deney düzeneğine, kimyasala ve diğer malzemelere dokunulmamalıdır.

BİYO GÜVENLİKTE ÖNEMLİ CİHAZ: OTOKLAV



BİYO GÜVENLİKTE ÖNEMLİ MALZEMELER

DELİCİ KESİCİ ATIK KABI



TIBBİ ATIK POŞETİ



OTOKLAV POŞETİ



TeŞekkürler

