



Mikrobiyolojik Güvenlik ve Mikrobiyolojik Güvenlik Kabinleri için Performans Kriterleri

Microbiological Safety and Performance Criteria For Microbiological Safety Cabinets

Baha Kılıç¹, Eyüp Agah İslam¹, Ekrem Sınır², Mustafa Murat Bilgiç¹

¹Unitest Deney ve Kalibrasyon Hizmetleri, İstanbul, Türkiye

{baha, eyup, proje}@unitest.com.tr

²TÜBİTAK-UME, Kocaeli, Türkiye

ekrem.sinir@tubitak.gov.tr

Özetçe— Mikrobiyolojik Güvenlik Kabinleri (MGK), biyogüvenlik seviyesinin 1, 2, 3 veya 4 olduğu tüm laboratuvarlarda yapılan çalışmalarda biyolojik olarak tehlikeli işlemlerin muhafaza altında tutulmasını sağlayan ve filtrelenmiş hava ile çalışan kabinlerdir. Bu çalışmada 5 Farklı üreticinin Mikrobiyolojik güvenlik kabinlerinin performans testleri incelenerek ülkemizde hem ithal edilen hem de üretilen bu ürünlerin TS EN 12469 Standardına uygunluğu test edilmiş ve sonuçlar analiz edilmiştir.

Anahtar Kelimeler — Mikrobiyolojik Güvenlik Kabinler, MGK, MSC, BSC, EN 12469, NSF49.

Abstract— Microbiological Safety Cabinets (MSC) designed to minimize hazards inherent in work with agents assigned to biosafety levels 1, 2, 3, or 4 by keeping hazards work in controlled area via filtered air flow. This work defines the tests that shall be passed by such cabinetry to meet the EN 12469 standard. In this work, 5 different types of MSCs' were tested according to the EN 12469 standards and 5 different test methods were analysed.

Keywords — Microbiological Safety Cabinets, MSC, BSC, 12469, NSF49

I. GİRİŞ

Mikrobiyolojik güvenlik kabinleri (MGK), filtre edilerek atmosfere atılan hava ile potansiyel olarak tehlikeli ve tehlikeli mikroorganizmalar ile çalışılması sonucu ortaya çıkan aerosollere karşı kullanıcı ve çevreye koruma sağlayan havalandırılmış kabinlerdir.

Biyogüvenlik kabinleri esas itibarıyla çalışan personel ve çevreyi enfeksiyöz aerosol ve sıçramalardan korumaya yönelik tasarlanan hava akımı düzenlenmiş kontrollü ortamlardır. Bu cihazların en önemli iki özelliğinden biri; amaca yönelik kontrollü hava akımı sağlaması, diğeri ise hava içerisindeki mikroskobik partikülleri elimine

etmesidir. Eliminasyon, MGK içerisindeki ventilasyon ya da mekanik hava yolu üzerine yerleştirilmiş HEPA adı verilen bir tür filtre veya filtre sistemleri tarafından sağlanmaktadır. Ancak bu oluşumun fonksiyonel olabilmesi için MGK'ların;

1. Üretim aşamasında standardizasyon ve kalite kontrolleri yapılarak piyasaya verilmesi (CE),
2. Kurulduğu alanlarda kullanım öncesi performans testlerinin yapılması,
3. Yıllık kontrol, bakım veya sertifikasyon işlemlerinin yapılması,
4. Kullanım kural ve şartlarına uygun şekilde kullanılması ile mümkün olabilir.

Uygun üretim ve kullanım testleri yapılmamış Mikrobiyolojik güvenlik kabinlerinin kullanılması çoğu zaman yarardan çok zarar verebilir.

II. ULUSLARARASI STANDARTLAR

Mikrobiyolojik güvenlik kabinlerinin çalışma esasları ve sağlaması gereken minimum özellikler; "TS EN 12469:2004 Biyoteknoloji: Mikrobiyolojik Güvenlik Kabinleri ile İlgili Performans Özellikleri", "NSF/ANSI 49:2008 Biyogüvenlik kabinleri: Tasarım, Yapım, Performans ve Saha Onayı", "BS 5726:2005 Biyogüvenlik kabinlerinin kullanımı hakkında öneriler" standartlarında detaylı olarak sunulmuştur.

MGK'leri zaman içerisinde yapısal olarak bazı değişikliklere uğramış olmasına rağmen bugün; Sınıf I, Sınıf II ve Sınıf III olmak üzere üç ana sınıflandırmaya sahiptirler. Sınıf II kabinler A ve B tipi olmak üzere iki tipi, her bir tipin ise A1/A2 ve B1/B2 olmak üzere ikişer alt tipleri mevcuttur. Aralarında esas itibarıyla ön açıklıktan kabin içine alınan hava akış hızları, sirkülasyon oranları ve egzoz sistemleri yönünden farklar bulunmaktadır.

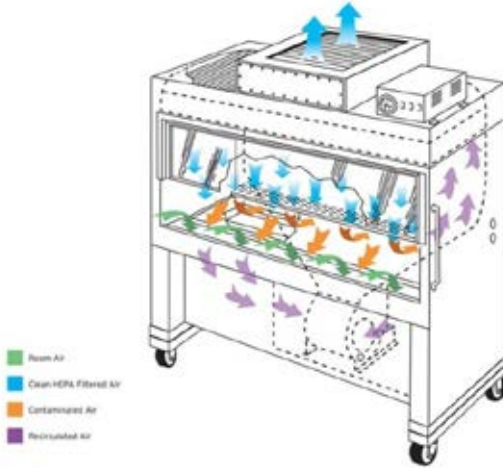


Klinik Mühendisliği 2

3. Gün / 29 Ekim 2016, Cumartesi

A. Sınıf I biyogüvenlik kabinleri (BSC-I)

Sınıf I MGK'leri çalışan kişiyi ve çevreyi mikrobiyal enfeksiyon riskinden 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 yoktur. Ancak potansiyel olarak kirli/kirlenen havanın HEPA filtrelerden atılması personelin ve çevrenin korunmasını sağlar. Ayrıca doğrudan dış ortam bağlantısı yapıldığında uçucu radyoaktif/kimyasal maddeler ile daha güvenli çalışma sağlarlar. Basit tasarımları dolayısıyla dünyada halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Hava akış hızı TS EN 12469 standardına göre 0,7 (m/s) ile 1.0 (m/s) arasında olmalıdır. Daha fazla olması, istenmeyen türbülans oluşumuna neden olur. Risk değerlendirmesi sonucunda "thimble" tipi doğrudan dış ortam bağlantılı veya bağlantısız şekilde kullanılabilir.



Şekil 1. Operatör ve çevre koruma sağlar. Ön pencereden havayı alır, filtre ettikten sonra tamamını egzoz olarak atar. Hava Akışı ön pencereden içeri doğru (inflow) ve üst filtreden aşağı doğru (laminar downflow). [1]

B. Sınıf II biyogüvenlik kabinleri (BSC-II):

Bu tür kabinler daha karmaşık yapıya sahiptirler. Personel ve çevre korunması yanında ürün korumaya yönelik olarak da tasarlanmış olmaları dolayısıyla daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışma yüzeyindeki ön panel açıklık altında bir ızgara sistemi bulunur. Buradan dış ortam oda havası doğrudan HEPA filtrelerle yönlendirerek önce temizlenir. Daha sonra ise temiz havanın ön panel açıklıktan giren hava ile "güvenli hava duvarı" oluşturacak şekilde çalışma yüzeyine laminar akım halinde basılması sağlanır. Bir kısım hava dışarıya atılır. Böylece hem çalışma yüzeyi temiz kalır hem de personel ve çevre korunmuş olur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün son bir sınıflandırması ile hava akım hızları ve resirkülasyon oranlarına göre iki farklı tipin (A ve B), dört alt tipi (A1, A2, B1 ve B2) tarif edilmiştir (daha önce CDC kaynaklarında MGK Sınıf II/B3 olarak tanımlanan alt tip burada A2 olarak ifade edilmektedir). Risk grup 2-3 mikroorganizmalar ile çalışılırken kullanılması

önerilmektedir. Ayrıca pozitif basınçlı laboratuvar giysileri kullanılan BSL-4 "suit" laboratuvarları içerisinde de kullanılacakları belirtilmektedir.

C. Sınıf-II A1 MGK

Ön açıklıktan içe doğru hava akış hızı en az 0,38 m/saniye olmalıdır. Oda ortamından alınan hava HEPA filtrelerden geçirilerek çalışma yüzeyine temiz laminar hava akımı olarak gönderilir. Laminar hava akımı türbülansı düşürerek potansiyel çapraz kontaminasyon oranını minimize eder. Çalışma alanı içerisinde oluşan aerosol, akım içerisinde tutularak bertaraf edilir. Hava akım resirkülasyon oranı %70 olup, HEPA filtre yoluyla oda içerisine veya dışarıya atılan hava %30'dur. BSC-IIA1 dış ortama doğrudan veya "thimble" bağlantı yapılarak kullanılabilir. Uçucu kimyasal veya toksik maddelerle kullanıldığında dış bağlantısının yapılması gereklidir. Bu durumda oda içi basınç değişimlerine bağlı olarak geri tepme ve türbülans önlemleri alınarak bina havalandırmasına veya mekanik fan sistemi içerisine bağlanmalıdır.

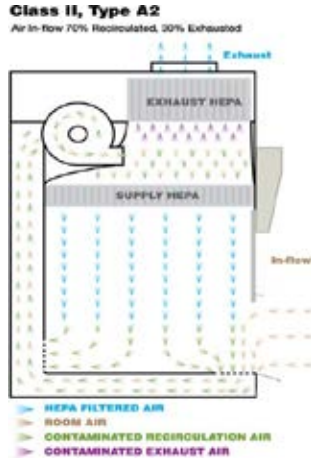
D. Sınıf II A2, B1 ve B2 MGK

Bu kabin türleri esas itibarıyla negatif basınçlı alanlarda ve/veya negatif havalandırma sistemlerine sahip bina egzozlarında kullanılır. Aralarındaki en önemli fark içerisinden yeniden sirküle eden hava oranlarıdır

Sınıf II/A2 kabinler yeniden sirküle hava oranı Sınıf IIA1'de olduğu gibi %70'tir. Ancak sistem dış bağlantısı (doğrudan veya "thimble" tipte) yapılmış olmalıdır. CDC kaynaklarında BSC Sınıf IIB3 olarak ele alınmaktadır. Kabin içerisindeki tüm kontamine pozitif hava akımı çevresinde oluşturulmuş negatif basınç sistemleri sayesinde çevreye ve personele zarar vermeyecek şekilde elimine edilmesi sağlanır.

Sınıf II/B1 kabinler bazı biyomedikal araştırma laboratuvarlarında zararlı kimyasal (örneğin, kanserojen) veya toksik maddelerle çalışmalar yapılması gerekmektedir. B tipi kabinler bu amaçla Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından tasarlanmıştır. Resirküle hava oranı %30 olup doğrudan dış bağlantısının yapılması zorunludur. Ayrıca acil enerji kaynağı yanında sistematik hava akım ve basınç kontrol sistemleri kurulmalıdır. Tehlikeli olabilecek en küçük değişimler sesli uyarı vermelidir.

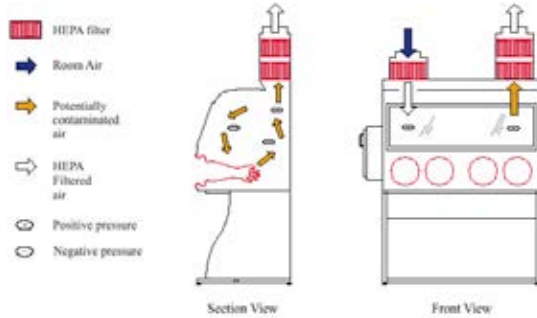
Sınıf II/B2 kabin içerisinden hava resirkülasyon yoktur. %100 temiz hava prensibine göre tasarlanmıştır. Kabin içerisine giren havanın tamamı HEPA filtrelerden doğrudan dışarı atılır. Bu kabinler genel olarak kimyasal ve toksik maddelerden korunma amacıyla kullanılmakta oluşu dolayısıyla çoğu zaman filtreler zarar görmekte ve tehlikeli durumların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle hava akım sistemlerindeki değişimleri önleyecek mekanizma ve alarm sistemleri mevcuttur.



Şekil 2. Sınıf II/A2 MGK [2]

E. Sınıf III MGK

Esas itibarıyla BSL-4 laboratuvarlarında risk grup 4 mikroorganizmalarla çalışmaya yönelik tamamen kapalı bir sistem kabini olarak üretilmişlerdir. İç hava resirkülasyonu yoktur ve tam yalıtım sağlanmış durumdadır. Materyal akışı geçiş kutusu ve otoklav yoluyla yapıldığı ve atık yolu doğrudan otoklav bağlantılı olduğu için güvenlik maksimumdur.



Şekil 3. Sınıf III MGK [1]

F. Biyogüvenlik Kabinlerinin Seçimi

MGK seçiminde dikkat edilecek en önemli nokta risk değerlendirmesidir. Çalışılacak mikroorganizma, test ve yöntemlerin potansiyel riskleri ve hangi amaca yönelik olduğu (personel, çevre ve/veya ürün koruma) hesap edilerek MGK seçilmelidir. Uçucu kimyasal, toksik ve radyoaktif maddeler ile çalışılacak ise oda içi resirkülasyon yapan MGK'leri kullanılmamalıdır. Bugün ülkemizde mikrobiyoloji laboratuvarlarında hem ürün koruma hem de personel ve çevre koruma amacıyla en yaygın kullanılan biyogüvenlik kabini genel olarak Sınıf II A1 tipidir. Ancak Türkiye'de üretim, kontrol ve sertifikasyon henüz tam olarak standardize edilemediğinden, dolayısıyla ciddi bir boşluk doğmaktadır. Uluslararası standartlara uygun şekilde üretilmiş bile olsa kabinin nakliye işlemlerinden sonra kurulduğu laboratuvarında ayrıca kontrol ve performans testlerinin tekrarlanması yanında yıllık sertifikasyon işlemlerinin yapılması zorunludur. Bu durum firma ve kullanıcıların bilgisizliği ile birleştiğinde tehlikeli

ve risk dolu bir kabine sahip olma ve kullanma olasılığını arttırmaktadır.

III. MGK'LARIN PERFORMANS TESTLERİ

Mikrobiyolojik güvenlik kabinlerinin rutin kontrolleri (kalite kontrol testleri) dört test ile gerçekleştirilir.

A. Görsel Muayene

Testlere başlamadan MGK'lar öncelikli olarak görsel bir muayeneden geçer. Kabinin fiziksel bütünlüğünde bir sorun olup olmadığı, temel fonksiyonlarının düzgün çalışıp çalışmadığı ve alarmlarının düzgün işleyip işlemediği kontrol edilir.

B. Ön Açıklık Alıkonma Testi

MGK'ların standart gereği kabin içerisindeki havanın güvenlik gereği dışarı çıkmaması gereklidir. Inflow olarak adlandırılan bu test ile personel koruması sağlanır. Şekil 4 deki ön açıklıktan giren havayı ölçmek için E harfi ile işaretlenmiş noktalarından anemometre probu ile m/s cinsinden 9 adet hava akış hızı ölçümü alınır.

C. Filtre Testi

MGK siteminde bulunan HEPA üretim standardına göre verimliliğinin test edilmesi işlemidir. Sızdırmazlık testi olarak da adlandırılır. HEPA filtrenin üretim standardına göre geçirgenlik oranı test edilerek kontrol sağlanır. Şekil 4 deki HEPA filtreden aerosol jeneratörü ve fotometre ile gaz akış oranı ölçülür.

D. Ürün Koruma Testi

MGK'da laminar hava akışı ile ürün koruması sağlanır. Kabin içerisindeki laminar hava akışı standartta belirtilen metoda göre ölçülerek hesaplanır ve laminar olup olmadığı kararlaştırılır. Şekil 4 eki A anemometre probu ile m/s cinsinden 8 adet hava akış hızı ölçümü alınır.

E. Çapraz Kontaminasyon Testi

MGK'daki laminar havadaki türbülans oranını ölçmek için uygulanır. İki adet ürünün çalışıldığı ortamlarda ürünler arası geçiş olma riskine karşı türbülans olması istenmez. Şekil 4 deki A noktalarından alınan ölçümlerin ortalamaya olan farkları karşılaştırılarak belirlenir.

F. Görselleştirme Testi

MGK'daki laminar hava akışı, ön açıklıktaki hava akışı aerosol gazı vasıtasıyla görselleştirilir.

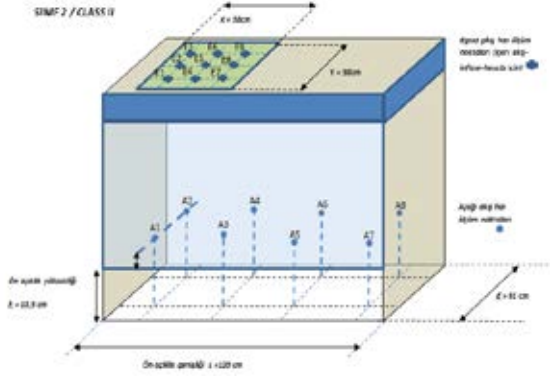
IV. YÖNEYLEM ARAŞTIRMASI

Türkiye'de net bir sayıya ulaşmamakla beraber 6000 civarı mikrobiyolojik güvenlik kabini bulunduğunu var saymaktayız. 2014-2016 yılları arasında kamu hastaneleri, özel hastaneler, üniversite laboratuvarları, halk sağlığı merkezleri ve özel laboratuvarlarda 114 adet mikrobiyolojik güvenlik kabini TS EN 12469 standartlarına göre muayene edilmiştir. 6000 adet olduğu

Klinik Mühendisliği 2

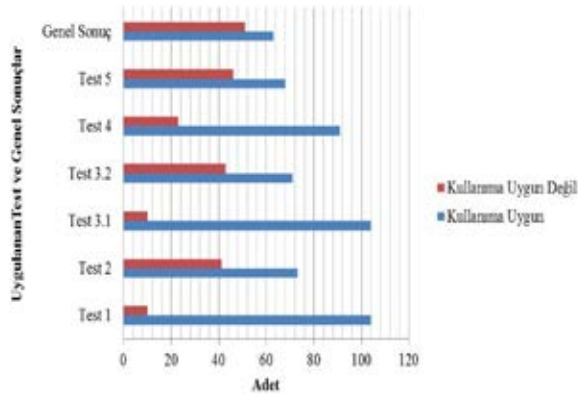
3. Gün / 29 Ekim 2016, Cumartesi

öngörülen bir popülasyonda; %95 güvenilirlik seviyesinde test tabii tutulmuş olan 114 örneklem (16 farklı marka) üzerinden Türkiye genelindeki durum hakkında yorum yapmak istenirse %9.1'lük bir hata payı bulunduğunu göstermektedir.



Şekil 4. Sınıf II MGK'ların testlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılan ölçüm noktaları

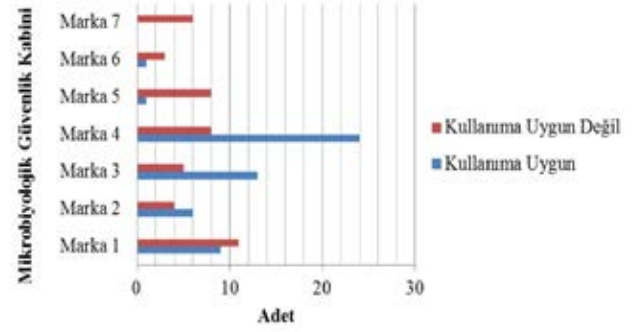
Tüm MGK'lar sırasıyla Görsel Muayene Testi (Test 1), Filtre Sızdırmazlık Testi (Test 2), Ürün Koruma Testi (Test 3.1), Çapraz Kontaminasyon Testi (Test 3.2), Ön Açıklık Alıkonma Testi (Test 4) ve Görselleştirme Testi (Test 5) uygulanmıştır. Standartlar gereği; MGK'ların, test 5 hariç, tüm testlerden başarılı olması gerekmektedir. Test 2,3 ve 4'ten başarılı sağlayamayan bir cihaz görselleştirme testinde de başarısız olacaktır. Bir testten bile geçemediği takdirde MGK'nin kullanım dışı bırakılması ve düzeltici faaliyetlerin uygulanması gerekmektedir.



Şekil 5. Test tabii tutulmuş olan 114 adet MGK'nın sonuçları

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde incelenmiş olan 114 adet mikrobiyolojik güvenlik kabinlerine uygulanan 5 testin ayrı ayrı ve genel muayene sonuçları grafiksel olarak Şekil 5'te gösterilmiştir. Test bazlı incelemelerde MGK filtre sızdırmazlık ve çapraz kontaminasyon testlerinde yüksek oranlarda başarısız oldukları tespit edilmiştir. Genel sonuçlar ülkemizde kullanılmakta olan kabinlerin %45'nin kullanıma uygun olmadığını göstermektedir.

Şekil 6 ise Türkiye'de yaygın olarak kullanılan yed farklı markanın, tüm testler üzerinden durumlarını sergilemektedir.



Şekil 6. Yaygın kullanılan markaların test sonuçları

V. SONUÇLAR

Mikrobiyolojik Güvenlik Kabinleri öncelikli olarak personeli ve çevreyi, sonrasında ise çalışılan ürünü/ürünleri korumak üzere tasarlanmış filtre edilmiş hava ile çalışan özel cihazlardır. Yapılan yöneylem araştırması ülkemizde kullanılmakta olan mikrobiyolojik güvenlik kabinlerinin neredeyse yarısının kullanıma uygun olmadığını göstermektedir. Bu sebeple cihazları kullanan ve sorumlusu olan tüm personelin, kullandıkları cihazın kalite kontrolüne mutlaka önem vermeleri gerekmektedir.

Filtre sızdırmazlık, Ürün koruma, Çapraz kontaminasyon ve Ön Açıklık Alıkonma Testlerindeki başarısızlıkların iki temel sebebi bulunmaktadır. Birincisi bu cihazların baştan standartlara uygun üretilmemesi, ikincisi de düzenli bakım onarım faaliyetleri esnasında hatalı filtre değişimleridir. Analizlerimizde özellikle Marka 5, Marka 6 ve Marka 7 cihazlarının kurulum aşamasında yapılan testler bu cihazların standartlara uygun olarak üretilmediğini göstermektedir. Marka 1, 2, 3 ve 4 ise çoğunlukla uygun bakım ve filtre değişimi geçirmediği için kullanım dışı kalmaktadır.

KAYNAKÇA

- [1] www.nuaire.com
- [2] www.biogent.pl
- [3] TS EN 12469:2004, Biyoteknoloji: Mikrobiyolojik Güvenlik Kabinleri ile İlgili Performans Özellikleri.
- [4] NSF/ANSI 49:2008, Biyogüvenlik kabinleri: Tasarım, Yapım, Performans ve Saha Onayı.
- [5] BS 5726:2005 Biyogüvenlik Kabinlerinin Kullanımı Hakkında Öneriler.
- [6] Akbaş E. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında biyogüvenlik ve iyi laboratuvar pratiği: Bulaşıcı hastalıkların ihbarı ve bildirim sistemi. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Ankara, 2004.
- [7] Uzm. Dr. İsmail CEYHAN, Biyogüvenlik Laboratuvar Seviyeleri ve Biyogüvenlik Kabinlerinin Seçimi Kullanımı ve Bakımı.