



KORONAVİRÜS HASTALIĞI (COVID-19) LABORATUVAR BİYOGÜVENLİĞİ REHBERİ*

* KLİMUD Laboratuvar Güvenliği Çalışma Grubu tarafından Dünya Sağlık Örgütü'nün 12 Şubat 2020 tarihli geçici kılavuzu referans alınarak hazırlanmıştır.

1. Giriş

Bu belgenin amacı, Wuhan, Çin'de tanımlanan yeni koronavirüs (2019-nCoV) vaka tanımını karşılayan hastaların klinik örneklerinin test edilmesiyle ilgili laboratuvar biyogüvenliği hakkında geçici rehberlik sağlamaktır.

Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) hakkındaki bilgilerimiz sınırlı olmakla birlikte hızla artmaktadır, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) gelişmeleri takip etmektedir ve bu öneriler gerekligörüldüğünde yenilenecektir.

COVID-19 Laboratuvar Biyogüvenliği Hakkında Önemli Noktalar

- Tüm prosedürler risk değerlendirmesine dayalı, ilgili protokollere sıkı sıkıya bağlı ve yalnızca yetkin personel tarafından gerçekleştirilmelidir.
- Tüm numunelerin ilk işlemesi (inaktivasyondan önce) onaylanmış tercihen sınıf II bir biyolojik güvenlik kabininde (BGK) yapılmalıdır.
- Bulaştırıcı olmayan tanısal çalışmalar (örneğin sekanslama, nükleik asit amplifikasyon testi [NAAT]) Biyogüvenlik Düzeyi 2 (BGD-2) laboratuvarlarda yapılmalıdır.
- Bulaştırıcı çalışmalar (örneğin virüs kültürü, izolasyon veya nötralizasyon deneyleri) içeri doğru hava akışı bulunan laboratuvarlarda (BGD-3) yapılmalıdır.
- Zarflı virüslere karşı etkinliği kanıtlanmış uygun dezenfektanlar kullanılmalıdır (örneğin hipoklorit, alkol, hidrojen peroksit, kuaterner amonyum bileşikleri ve fenolik bileşikler).
- Şüpheli veya kesin vakalardan elde edilen örnekler UN3373, "Biyolojik Madde Kategori B" olarak taşınmalıdır. Viral kültürler veya izolatlar Kategori A, UN2814, "insanları etkileyen bulaşıcı madde" olarak taşınmalıdır. Yurt içinde örnek transferi yapılması gerekiyor ise üç kaplı taşıma sistemi kullanılmalıdır.

2. Laboratuvar biyogüvenliği

Laboratuvarların uygun biyogüvenlik uygulamalarına bağlı kalmasını sağlamak esastır. COVID-19'dan sorumlu virüsün varlığını araştırmaya yönelik testler veya şüpheli vaka tanımını karşılayan hastalardan alınan klinik örneklere yönelik testler, ilgili teknik ve güvenlik prosedürleri konusunda eğitilmiş personel tarafından, uygun şekilde donatılmış laboratuvarlarda yapılmalıdır. Her durumda laboratuvar biyogüvenliği ile ilgili ulusal kılavuzlara uyulmalıdır. Laboratuvar biyogüvenlik yönergeleri hakkında genel bilgi için DSÖ Laboratuvar Biyogüvenlik Rehberi'ne ve Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Laboratuvar Güvenliği Rehberi'ne bakınız.

Anahtar Noktalar

- Her laboratuvar, planlanan testi uygun risk kontrol önlemleri ile güvenli bir şekilde gerçekleştirmeye uygun olduğundan emin olmak için yerel ve kurumsal bir risk değerlendirmesi yapmalıdır.
- Serolojik testler için kan da dahil olmak üzere numunelerin alınması ve işlenmesi sırasında, iyi mikrobiyolojik uygulamalar ve prosedürler (GMPP) için temel olan laboratuvar uygulamaları ve prosedürleri izlenmelidir.
- şüpheli veya doğrulanmış COVID-19 enfeksiyonu olan vakalardan hematoloji veya kan gazı analizi gibi ek laboratuvar testleri için alınan numunelerin işlenmesi sırasında, potansiyel enfeksiyöz materyallerin işlenmesi ile ilgili ulusal kılavuzlara uyulmalıdır.
- COVID-19 ile enfekte olduğundan şüphelenilen veya teyit edilen hastalardan alınan örneklerde uygulanan bulaştırıcı olmayan tanısıl çalışmalar (örneğin sekanslama, NAAT) BGD-2 laboratuvarlarda yapılmalıdır.
- Yüksek konsantrasyonlarda canlı virüs (virüs yayılımı, virüs izolasyonu veya nötralizasyon deneyleri yapılırken) veya büyük miktardaki bulaşıcı materyallerin kullanıldığı çalışmalar, yalnızca uygun şekilde eğitilmiş ve yetkin personel tarafından BGD-3 laboratuvarlarda gerçekleştirilmelidir.
- Sekanslama ve NAAT için olanlar da dahil olmak üzere tüm numunelerin ilk işlenmesi (inaktivasyondan önce) onaylanmış sınıf II BGK'da yapılmalıdır.
- Zarflı virüslere karşı etkinliği kanıtlanmış uygun dezenfektanlar, önerilen temas süresi boyunca, doğru seyreltmede ve çalışma çözeltisi hazırlandıktan sonraki miadı içerisinde kullanılmalıdır.
- Tüm teknik prosedürler, aerosollerin ve damlacıkların oluşumunu en aza indirecek şekilde yapılmalıdır.

- Ayrıntılı bir risk değerlendirmesiyle belirlenen uygun kişisel koruyucu donanım (KKD), bu örnekleri çalışan tüm laboratuvar personeli tarafından kullanılmalıdır.
- Şüpheli veya kesin vakalardan elde edilen örnekler UN3373, “Biyolojik Madde Kategori B” olarak taşınmalıdır. Viral kültürler veya izolatlar Kategori A, UN2814, “insanları etkileyen bulaşıcı madde” olarak taşınmalıdır. Yurt içinde örnek transferi yapılması gerekiyor ise üç kaplı taşıma sistemi kullanılmalıdır.

3. Laboratuvar uygulamalarındaki spesifik manipülasyonlar ile ilişkili asgari/gerekli çalışma koşullarını ele alan öneriler

Bu bölümde sunulan ek öneriler laboratuvar uygulamalarındaki spesifik manipülasyonlar ile ilişkili asgari/gerekli çalışma koşullarını ele almaktadır.

a. Risk değerlendirmesi

Risk değerlendirmesi riski kabul edilebilir bir düzeye indirmek için bilgi toplanmasının ve maruz kalmanın olasılıklarının ve sonuçlarının veya tehlikenin serbest hale geçmesinin değerlendirilmesinin ve uygun risk kontrol önlemlerinin belirlenmesinin sistematik bir sürecidir. Bu tehlikelerin tek başına insanlar veya hayvanlar için risk oluşturmadığını not etmek önemlidir. Bu nedenle değerlendirme ayrıca kullanılan ekipman türlerine ve biyolojik ajanlar ile uygulanacak prosedürlere göre yapılmalıdır.

Her bir işlem adımı (numune toplama, numune alımı, klinik testler, virüs izolasyonu için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); sadece uygun olan yerlerde) için lokal risk değerlendirmesi yaparak başlamanız şiddetle tavsiye edilir. Belirli tehlikeler değerlendirilmiş risk derecesi ile birlikte her işlem adımı (aerosol oluşumu gibi numune işleme sırasında maruz kalma; numune işleme sırasında göze sıçrama; bulaşıcı kültür materyali dökülmesi ve sızdıran numune; numune alımı durumunda) için dikkate alınmalıdır. Tanımlanan her risk için uygun risk kontrol önlemleri aşağıdaki önerileri içermelidir ancak bunlar ile sınırlı olmamalıdır, riskleri kabul edilebilir seviyeye kadar azaltmak için seçilmiş ve uygulanmış olmalıdır. Risk değerlendirme yapabilmek için Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Laboratuvar Güvenliği Rehberi’nde bulunan şablonlardan faydalanabilirsiniz.

b. Prognostik olmayan tanı çalışmaları ve PCR analizi dahil rutin laboratuvar prosedürleri

COVID-19 ile enfekte olduğu kanıtlanan veya şüphelenilen hastaların klinik örneklerinin PCR analizi ve kültüre dayalı olmayan tanısal laboratuvar çalışmaları, konvansiyonel klinik ve mikrobiyoloji laboratuvarları uygulamalarına ve prosedürlerine göre yapılmalıdır.

Bununla birlikte, sıçramaya neden olabilecek bulaşıcı maddelerin damlacıkları veya aerosolleri de dahil potansiyel bulaşıcı olabilecek tüm manipülasyonlar (örneğin; santrifüjü kullanma,

öğütme, karıştırma, kuvvetli çalkalama veya karıştırma, ortam basıncından daha farklı iç basınca sahip enfeksiyöz materyal kutularının açılması) uygun kişisel koruyucu donanımları sağlamış yetkin personel tarafından onaylanmış ve valide edilmiş biyogüvenlik kabini de uygun şekilde yapılmalıdır.

Rutin laboratuvar prosedürlerine örnekler:

- Serumun tanıtıcı testleri; kan (hematoloji ve klinik kimya dahil); nazofaringeal ve orofaringeal sürüntüler gibi solunum örnekleri, balgam ve/veya endotrakeal aspirat veya bronkoalveoler lavaj; dışkı; veya diğer örnekler
- Solunum yolu örneklerinin mikotik ve bakteri kültürlerinin rutin incelenmesi.

Çalışma şartlarının temel gereksinimleri Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Laboratuvar Güvenliği Rehberi'nde tanımlanmıştır.

c. Uygun dezenfektanların kullanımı

- Bu yeni virüs hakkında çok az şey bilinmesine rağmen, COVID-19 and MERS-CoV arasındaki karşılaştırılabilir genetik özellikler ile COVID-19 virüsünün sodyum hipoklorit dahil (çamaşır suyu; genel yüzey dezenfeksiyonu için %0.1, kan dökülmelerinin dezenfeksiyonu için %1'lik; %62-71 etanol; %0.5 hidrojen peroksit; kuarterner amonyum bileşikleri; ve fenolik bileşikler) olmak üzere zarflı virüslere karşı etkinliği kanıtlanmış dezenfektanlara karşı duyarlı olabildiği gösterilmiştir. %0.05-0.2 benzalkonyum klorür veya %0.02 klorheksidin diglukonat gibi diğer biyosidal ajanlar daha az etkili olmaktadır.
- Sadece dezenfektan seçimi değil, aynı zamanda temas süresi (örneğin, 10 dakika), dilüsyon oranı (aktif bileşen konsantrasyonu) ve solüsyon hazırlandıktan sonraki son kullanma tarihi de önemlidir.
- Genel olarak insan koronavirüslerinin metal, cam veya plastik gibi cansız yüzeylerde 9 güne kadar canlı kalabildiği bilinmektedir

d. Virüs izolasyonu

Bir ülke aksini kararlaştırmadıkça, COVID-19 ile enfekte olduğu kanıtlanan veya şüphelenilen hastaların klinik örneklerinin viral izolasyonu yukarıda açıklanan koruyucu önlemler dikkate alınarak sadece aşağıdaki ek sınırlama ölçütlerini karşılayan laboratuvarlarda yapılmalıdır.

- Laboratuvar içinde tek yönlü hava akımı sağlayan kontrollü bir havalandırma sistemi

- Laboratuvar odasındaki havanın bina içindeki diğer alanlara devirdaim edilmemesi, HEPA filtresi kullanılması
- Laboratuvarda özel bir el yıkama lavabosu bulundurulması
- Tüm bulaşıcı veya potansiyel olarak bulaşıcı materyaller ile yapılan tüm manipülasyonların onaylanmış ve valide edilmiş biyogüvenlik kabiniinde uygulanması
- Laboratuvar çalışanlarının kişisel koruyucu ekipmanları kullanması (tek kullanımlık eldivenler, ön veya etrafı saran düz önlük, kolluk, bone, galoş, göz koruması (gözlük veya yüz kalkanı), uygun test edilmiş maske; EU FFP2, US 6 NIOSH sertifikalı N95'e eşdeğer veya daha yüksek koruma)
- Örneklerin santrifüjlenmesinin özel santrifüj rotorları veya numune kapları ile yapılması

e. Virüs izolasyonu ile ilişkili ek riskler

Virüsle deneysel çalışmalar virüsteki mutasyona bağlı olarak patojenitesinde artma ve/veya virüsün bulaş yollarında değişiklik veya virüsün antijenik yapısında farklılıklar veya antivirallere karşı duyarlılık farklılıkları gibi ilave riskler oluşturabileceği yönünde dikkatli olunmalıdır. Etkene özgü risk değerlendirme her koşulda yapılmalı ve riski azaltacak koruyucu önlemler belirlenerek aşağıda tanımlanmış çalışma koşullarına uygulanabilir hale getirilmelidir.

- Farklı koronavirüslerin hücre kültürlerinde ko-enfeksiyon çalışmaları veya ko-enfeksiyonla sonuçlanması muhtemel her türlü çalışmalar
- Antiviral ilaçlarla duyarlılığının test edileceği kültür çalışmaları
- Virüsün genetik yapısında gerçekleştirilecek değişikliklerin yapılacağı çalışmalar

f. COVID-19 ile enfekte hayvanlarla çalışma

- Deneysel hayvanlarına virüsün inokülasyonu
- COVID-19 virüsün muhtemel etken olduğunu doğrulamak amacıyla inokülasyon dahil tüm işlemler daha önce rehberlerde tanımlanmış hayvanlarla çalışma BGD-3 çalışma ortamı ve güvenli çalışma koşulları dikkate alınarak gerçekleştirilmelidir.

g. Örneklerin uygun koruyucu önlemlerin mevcut olduğu merkezlere gönderimi

Örneklerin alınması ve işlenmesi ile ilişkili uygun biyogüvenlik düzeyine sahip olmayan laboratuvarların örneklerin doğrulanması için uygun koşullara sahip ulusal referans laboratuvarlarına örnekleri göndermeleri gerekir.

4. Biyolojik örneklerin paketlenmesi ve transferi

Laboratuvarlar arasında gönderilecek tüm örnekler muhtemel kırılma, saçılma veya sızıntıya karşı ikinci bir koruyucu kap içerisinde gönderilmelidir. Paketleme işlemi biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilmelidir. Örneğin paketlenmesi sonrası çalışma alanları dekontamine edilmelidir. Biyolojik örneklerin gönderilmesine ilişkin ulusal ve uluslararası kurallara uyulmalıdır.

Şüpheli olgu veya doğrulanma amacıyla gönderilecek hasta örnekleri UN3373 “Biyolojik örnek Kategori B” standartlarına uygun koşullarda gönderilmelidir. Viral kültürler veya virüs izolatlar UN2814 “İnsanı etkileyebilecek enfeksiyöz örnek Kategori A” koşullarına uygun olarak paketlenmeli, etiketlenmeli ve uygun formları doldurularak dökümante edilmiş şekilde gönderilmelidir. Yurt içinde örnek transferi yapılması gerekiyor ise üç kaplı taşıma sistemi kullanılmalıdır.