

Gıdaların Mikrobiyolojik Analizi (02)

03. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvar Güvenliği

A. Kadir Halkman¹

03.01. Giriş

İstenmeyen mikroorganizmaların analiz edildiği tüm laboratuvarlarda, laboratuvar personeli risk altındadır. Bu risk, patojenlerin analiz edildiği laboratuvarlarda çok daha yüksektir. Sadece, salçada laktobasil arayan/sayan bir laboratuvar da bile mikrobiyolojik açıdan az da olsa bir risk vardır. Çünkü laktobasil analizi yapılan besiyerlerinde laktobasil dışında başka patojenlerin de dâhil olduğu bakteriler de gelişebilmektedir. Kuşkusuz, salça üretim teknolojisi ile bütünleştirildiğinde bunların salçada varlığı ve dolayısı ile besiyerinde gelişmeleri beklenmemektedir.

Bu bölümde mikrobiyoloji laboratuvarına yönelik olmak üzere çalışanların sağlık riskleri her yönü ile incelenecektir. Dolayısı ile bu bölüm sadece gıda mikrobiyolojisi değil; klinik, veteriner, çevre laboratuvarlarına da yönelik olmaktadır.

"Laboratuvar da hiçbir şey yenilmez ve içilmez" gibi genel laboratuvar kurallarına burada tekrar değinilmeyecektir.

03.02. Mikrobiyolojik Riskler

Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışanlar öncelikle kendilerini mikroorganizmalardan korumak zorundadırlar. İşlenmemiş, en az (minimal) düzeyde işlenmiş ya da işlem teknolojisi gereği tekrar kontaminasyona açık olan gıdalarda patojen bakteriler bulunabilir. Patojenite, öncelikle mikroorganizma türü ve serotipi ile vücuda giren sayıya bağlıdır. Bunlara ilaveten, hastalıkların ortaya çıkmasında başta kişisel sağlık durumu olmak üzere pek çok faktör daha etkilidir.

Açıkta satılan bir gıdanın üzerindeki patojen bir bakteri sağlıklı bir insanı hastalandırmaya yetecek sayıda olmayabilir. Bununla birlikte; laboratuvardaki analiz sırasında bu bakterinin sayısında artış olacağı açıktır.

Bu durumda günlük yaşamda hastalık yapmaya yeterli sayıda olmayan farklı türdeki mikroorganizmalar, laboratuvar ortamında sayıları milyarlara eriştiğinde fark edilebilir olmaktadır.

¹ Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: halkman@eng.ankara.edu.tr

Daha açık bir ifade ile sokaktaki, hatta temiz bir lokantadaki ve hatta evlerde tüketilen gıdalarda patojen bakteriler olabilir. Bunlar, doğal ortamlarında, bir tek kişiyi dahi hastalandıramayacak kadar az sayıda olabilir iken, laboratuvar analizleri sırasında milyonlarca insanı öldürecek sayıya erişirler.

Mikrobiyoloji laboratuvarı böylesine tehlikeli bir yerdir. Patojenler ile çalışanlar arasındaki bariyer, çoğu defa ve sadece, bir Petri kutusunun kapağı ya da bir erlenin pamuğudur.

Primer ve fırsatçı patojenlerin dışında saprofitlerin de yüksek sayılarda olduklarında hastalıklara neden olabileceği, özellikle küflerin uzun dönemde etkilerini gösterebileceği gibi faktörler de dikkate alındığında tehlikenin boyutlarının daha da arttığı görülür.

Tüm bu tehlikelere karşın, basit kurallara uyulması ile risk kolaylıkla "yok denecek" boyuta indirilmektedir. Laboratuvardaki temel hijyen önlemleri, öncelikle çalışanın sağlığını korumaya yöneliktir. Analizin güvenliği ikinci plandadır.

Aşağıda genel hijyen önlemlerinin dışında bilgi verilmiştir. Laboratuvara yönelik "genel kurallara" başta www.mikrobiyoloji.org sitesi olmak üzere pek çok Türkçe kaynağa kolaylıkla erişilebilir.

03.02.01. Bunzen beki ile sterilizasyon

Standart bir mikrobiyoloji laboratuvarında çalışanların ve analizin güvenliğini sağlayan temel aygıt Bunzen bekidir. Alman fizikçi ve kimyacı Robert Wilhelm Bunsen² tarafından ısıtılmış elementlerin emisyon spektroskopisinin spektrum analizinde kullanılmak üzere 1855 yılında geliştirilmiş ve bu araştırmacının adına izafeten "Bunsen Burner (yakıcısı)" olarak isimlendirilmiş, Türkçeye fonetik olarak "Bunzen beki" olarak girmiştir.

Sistem, gaz ile hava karışımının yanma noktasından önce karıştırılmasından ibarettir. Buna göre içte parlak mavi, dışta soluk mavi bir alev elde edilir ve alevin en sıcak yeri içteki alevin üst noktasıdır. Alev, sarı-kırmızı renkli ise gaz-hava karışımı doğru değildir ve Bunzen beki soğuk alev verir.

Analiz güvenliği açısından öze, pipet ile tüp ve erlen ağzının Bunzen beki alevinden geçirilmesi gereklidir. Çalışanların güvenliği açısından ele alındığında özenin alevden geçirilmesi daha önemlidir.

Öze aleve dik olarak tutulmalıdır. Fiziksel olarak bir sıvı yüksek sıcaklıkta aleve maruz kaldığında etrafa sıçramalar olur ve bu sırada canlı mikroorganizmalar etrafa sıçrayabilir. Bu sıçrama sırasında alev ne kadar sıcak ve bir anlamda kalın ise canlı mikroorganizmaların geçişi o denli engellenir. Burada önemli olan hususlardan birisi de aleve giren özedeki sıvı miktarıdır. Tüpten tüpe inokülasyon sonrasında özenin sterilizasyonu gerektiğinde özenin tüpten çıkartılmadan önce inoküle edilen tüpün iç çeperine deydirmesi ile sıvının büyük kısmı tüpte kalmış olur.

² http://en.wikipedia.org/wiki/Robert_Bunsen

Bunzen beklerinde farklı yanıcı gazlar (doğal gaz, LPG vb.) kullanılmaktadır. Laboratuvar pratiği açısından Bunzen bekinin yanında ağız açık, besiyeri yüzeyi Bunzen beğine doğru ve yere dik tutulan bir genel besiyeri varlığında, tümüyle saprofit bir mikroorganizma içeren özenin Bunzen beki alevinden geçirilmesi, Petri kutusunun kullanılan bakterinin optimum gelişme koşullarında inkübe edilmesi, ayrıca sterilize olduğu varsayılan özenin genel bir besiyerine daldırılarak kontrolü önerilir.

Bu konuda bir standarda rastlanmamıştır. Laboratuvarın; analiz sıklığı, Petri kutusunun Bunzen beğine uzaklığı, kullanılan bakteri ve besiyeri vb. konularda kendi standardını kendisinin yapması ve yukarıda açıklanan sıvı ve katı besiyerinde mikroorganizma gelişmesi görülür ise düzeltici faaliyet uygulaması önerilir.

Bunzen bekinde öze sterilizasyonu konusunda dikkat etmek gereken bir başka husus özenin sadece tel kısmının sıvıya girmiş olmasıdır. Telin, gövdeye bağlandığı yer sıvıya girerse bu kontaminasyon, bek alevi ile sterilize edilemeyebilir. Özellikle patojenlerle çalışıldığında bu konu laboratuvar çalışanlarının güvenliği açısından çok daha önemlidir.

Çalışanların sağlığı açısından tüp ya da erlenin Bunzen beki alevinde aşırı ısıtılması fiziksel yanıklara neden olabilir. Mikrobiyolojik açıdan buradaki tehlike, eli yanan çalışanın tüpü refleksi ile yere düşürmesidir. Doğal olarak patojenlerle çalışılır iken bu gibi abartılı uygulamalar daha sık görülür ve buna bağlı olarak patojen içeren tüplerin ve erlenlerin kırılma riski daha yüksektir.

Benzer şekilde laboratuvar kazalarının oldukça önde gelenleri arasında Bunzen beki alevi ile saçların tutuşması ve alkolde dezenfekte edilen Drigalski spatüllerinde alkolün uzaklaştırılması amacı ile alevden geçirme sırasında alkol beherinin alev alması vardır.

Doğru (iyi) Laboratuvar Uygulamaları çerçevesinde bu konuya ayrıca değinilecektir.

03.02.02. Aşılama kabini

Çok genel olarak aşılama kabinleri, analiz güvenliğini sağlayan, çevre güvenliğini sağlayan ve çalışanın güvenliğini sağlayan olmak üzere 3 grupta incelenebilir. Standart bir mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak kullanılan analizin güvenliğini sağlayan gruptadır. Basit olarak, dışarıdan filtre edilmiş hava kabin içine verilir. UV lambalar ile kabin içinde önceden bir dezenfeksiyon sağlanabilir. Bu tip kabinlerde kabinden gelen hava dışarı (çalışana) doğru üflenir. Gelişmiş modellerde hava dışarı doğru değil, dik olarak sirküle eder ve çalışan da korunur.

Çevreyi koruyan kabinler daha çok viroloji ve mikoloji laboratuvarlarında kullanılır. Burada esas olan, çalışma sırasında küf sporları ve virüslerin kabin içinden dışarı çıkartılmamasıdır. Buna göre, hava dışarıdan emilir ve filtre edildikten sonra laboratuvar ortamına verilir.

Eldivenli kabin (glove box), patojen laboratuvarlarında başta çalışanlar olmak üzere ortamın kontamine edilmemesi amacı ile kullanılan bir uygulamadır. Basit olarak

çalışan kişi, tümüyle kapalı bir kabinde, kabinin bir parçası olan eldivenleri giyerek çalışır. Zorunlu anaeroblar ile çalışılırken de bu tip kabinler kullanılır.

Standart kabinlerde en önemli sorunlardan birisi Bunzen beki yakılmasıdır. Standart çalışma ortamı bu şekilde steril havanın akımı ile sağlansa dahi, öze ile tüpten Petri kutusuna sürme yapılması gibi basit bir uygulama öncesi ve sonrasında özenin bir şekilde sterilize edilmesi gerekir ve bu aşamada en makul çözüm Bunzen beki kullanımınıdır.

Ancak, hava üfleme sırasında Bunzen beki alevinin dağılması, alevin kabinin çalışma odasının tavanına zarar vermesi gibi olumsuzluklar da vardır.

03.02.03. Otomatik pipet kullanımı

Cam pipetlerin yıkanması ve ağızla pipetleme engellenmesi başta olmak üzere çeşitli olumsuzluklar nedeni ile mikrobiyoloji laboratuvarlarında tek kullanımlı (disposal) uçlar ile kullanılan otomatik pipetler giderek yaygınlaşmaktadır.

Bu pipetlerde en büyük sorun, pipet ana gövdesinin kontaminasyonudur. Kullanım hatasına bağlı olarak hızlı çekim sırasında ana gövde çalışılan materyaldeki farklı türlerdeki mikroorganizmalar ile kontamine olmakta, yeni uç olsa da tekrarlanan hata ile hızlı çekim sırasında yeni analiz materyali önceki materyal ile çapraz olarak kontamine olmaktadır.

Laboratuvar personeli açısından özellikle patojenler ile çalışıldığında bu şekilde çapraz kontaminasyona uğramış otomatik pipet doğrudan tehdit oluşturmamaktadır. Ancak, günlük (rutin) analizde bir grup malzeme doğrudan yıkanır.

Standart laboratuvar pratiğinde "zaten günlük tüketimde olan bir gıdadaki patojenlerin sayısı çoğunlukla hastalık yapacak düzeyde değildir. Dolayısıyla analizin ilk aşaması olan homojenizasyon ve seyreltmelerde kullanılan çözeltilerde söz konusu potansiyel patojenler daha da seyrelmiş olacağı için bunların hızla yıkanmasında bir sorun olmaz" şeklinde bir görüş vardır. Şüpheli olmayan ürün analizinde bu görüş geçerlidir.

Otomatik pipet kullanımında hatalı bir şekilde hızlı olarak çekim sırasında (örneğin *Salmonella* analizinde ön zenginleştirme aşamasından selektif zenginleştirmeye geçerken) otomatik pipet gövdesi besiyeri ve patojen ile kontamine olabilir. Zamanla besiyeri kurur ama kuruyuncaya kadar patojen gelişebilir ya da zaten yeterince gelişmiştir. Kuruma sonunda patojenlerin büyük çoğunluğu canlı kalır, zaten kurutma genel anlamda bir kültür koleksiyonu yöntemidir.

Böyle bir çalışmanın arkasından kontamine olmuş otomatik pipet ile günlük analiz sonrasında –hemen yukarıda açıklandığı şekli ile– yıkama sırasında laboratuvar personeli riske girer.

Bu gibi tehlike ve riskler günlük uygulamalarda ihmal edilmektedir. Ancak konu, *Listeria* analizine katılmaması gereken gebe bir personelin bir başkası tarafından hatalı olarak kullanılan otomatik pipeti kullanması ve analiz sonrasındaki "güvenli" yıkama aşamasında oldukça farklı bir boyuta gelmektedir.

Otomatik pipetlerin kullanımı konusunda laboratuvar personeline teknik eğitim verilmeli ve her analiz öncesinde bu pipetler alkol ya da başka bir dezenfektanda tutularak dezenfekte edilmelidir.

Dezenfeksiyon kuralları laboratuvar yönergelerinde (talimatlarında) açık bir şekilde belirtilmeli ve dezenfektan üreten firmanın ilgili önerilerine uyulmalıdır.

03.02.04. Dezenfeksiyon

Bir mikrobiyoloji laboratuvarında çalışma öncesinde ve sonrasında çalışanın ve analizin güvenliği açısından çalışma tezgâhlarının dezenfeksiyonu en önemli konulardan birisidir. Havanın dezenfeksiyonu, varsa klima kullanımı, analizi yapılacak gıdanın ambalajının dezenfeksiyonu analizin güvenliği açısından ilk sırada yer almakla birlikte, çalışanların sağlığı açısından önemli değildir.

Farklı ticari kuruluşlar tarafından tezgâh, ambalaj vb. yüzeylerin dezenfeksiyonu için çok farklı formüller sunulmaktadır. Uluslararası pazarda geçerliği kanıtlanmış olan ticari kuruluşların sunduğu ürünler güvenilirdir. Burada ön koşul, önerilen formülasyonun kullanım şekline tam olarak uyulmasıdır.

Laboratuvar personelinin güvenliği açısından; işe başlamadan önceye göre, işin tümüyle bitmesi (tezgâhların dezenfeksiyonu) sonrasında özellikle ellerin dezenfekte edilmesi "olmazsa olmaz" kuralı içindedir.

03.02.05. Kişisel sağlık

Mikrobiyoloji laboratuvarı personeli kişisel sağlığına özel önem göstermelidir. Basit olarak soğuk algınlığı, kişisel direnci düşürür. Bu durumdaki kişinin laboratuvarında hata yapma olasılığı artar.

Buna bağlı olarak ve doğrudan, gerek kendisi gerek yakın çevresi daha büyük tehdit ile karşılaşır.

Fırsatçı patojenler de dikkate alındığında durum farklı bir boyuta erişir.

Gebelik, risk grubu yüksek olarak tanımlanan 4 ana gruptan birisidir. Gebe olan ya da gebelik olasılığı var olan kişilerin mikrobiyoloji laboratuvarında çalışmaması gereklidir.

Listeria analizlerinde; gebe olan ya da gebelik olasılığı var olan kişilerin, bu analizlere katılmama hakkı gelişmiş toplumlarda korunmuştur.

AB sürecinin en önemli aşamalarından birisi de açıklık (şeffaflık)tır. Buna göre evli olmasa bile gebe kalmış kişilerin durumu üst makama bildirme ve başta *Listeria* olmak üzere patojen analizlerine katılmama talebi olmalıdır.

Bu, toplumsal bir konudur ve farklı platformlarda tartışılmalıdır.