1. AMAÇ:

Bu talimatın amacı, enfeksiyon etkeninin doğru bir şekilde tanımlanabilmesi için doğru numunelerin, uygun bir şekilde alınmasını sağlamaktır.

2. KAPSAM:

Bu talimat, tüm birimleri, doktor, hemşire ve laboratuvar çalışanlarını kapsar.

3. UYGULAMA:

Her hangi bir vücut bölgesindeki enfeksiyon varlığında olası etkeninin doğru bir şekilde tanımlanabilmesi için doğru yerden, doğru zamanda uygun bir şekilde örnek alınması gerekmektedir. Uygun şekilde seçilmiş, toplanmış ve nakledilmiş ise, örneğin içerdiği patojen mikroorganizma gerçek pozitif sonucu gösterir.

3.1. ÖRNEKLERE İLİŞKİN GENEL PRENSİPLER

3.1.1. Örnekler enfeksiyonu en iyi temsil eden bölgeden (mikroorganizmanın en yoğun ve canlı olduğu bölgeden), mümkün olduğu kadar endojen mikrobiyal flora ile kontaminasyon önlenerek alınır.

3.1.2. Örnekler infeksiyonun akut safhasında mümkün ise antibiyotik tedavisi başlanmadan alınır. Eğer antibiyotik tedavisine başlanmış ise örnek yeni antibiyotik dozu verilmeden hemen önce alınmalı ve laboratuvar bilgilendirilir.

3.1.3. Kontrol amacıyla kültür, antibiyotik kesildikten en az 48 saat geçtikten sonra alınır.

3.1.4. Örneklerin toplamasında steril ekipman kullanılır ve aseptik teknikler uygulanır.

3.1.5. Örneklerin alındığı kaplara hasta adı, soyadı, örneğin alındığı tarih ve saat kaydedilir.

3.1.6. Örneğin kaynağı ve/veya özel bölge hem istem formu hem de örnek kabı üzerinde açık ve doğru olarak tanımlanır.

3.1.7. Örnek miktarı yapılacak işlemler için yeterli olmalıdır. Yetersiz miktardaki örnekler genellikle hatalı negatif sonuçlara neden olur.

3.1.8. Özellikle invaziv girişimle alınacak örneklerde risk/fayda oranı iyi değerlendirilmeli; sağlayabileceği ek veriler konusunda laboratuvarla iletişim kurulur.

3.1.9. Akşamüzeri alınan örnekler ertesi sabah yeterince üremez .

3.1.10. Hastadan alınan her türlü örnek **"Kültür Takip Formu"** ile takip edilir.

3.2. ÖRNEK REDDİNE SEBEP OLAN DURUMLAR

3.2.1. Hasta adı ve soyadı veya örnek tanımının yapılmadığı, hatalı yapıldığı veya istek formu ile örnek kabında uyumsuzluk olan durumlarda,

3.2.2. Yukarıda belirtilen istisnalar dışında 24 saat içinde bir hastadan aynı mikrobiyolojik incelemenin istenmesine ait örnekler,

3.2.3. Steril olamayan ve özelliğini yitirmiş örnek toplama kapları ile gönderilen örnekler,

3.2.4. Başka bir materyalle kontamine örnekler,

3.2.5. Miktar olarak yetersiz örnekler,

3.2.6. Naklinde gecikme olan örnekler,

3.2.7. Mikrobiyolojik inceleme için alınan ve formalin içinde nakledilen örnekler,

3.2.8. Mantar ve mikobakteri incelemesi dahil 24 saat süre ile toplanan balgam ve idrar örnekleri,

3.2.9. Flora ile kontaminasyon olasılığından dolayı hatalı mikrobiyolojik veri sağlama ihtimali bulunan örnekler,Anaerobik inceleme için uygun olamayan örnekler.

3.3. BOĞAZ SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ

3.3.1. Dil basacağı ile dili aşağıya doğru bastırılır.

3.3.2. Eküvyon ile boğazın arka kısmı, tonsiller ve posterior farenks üzerindeki enflamasyon alanları ve eksüdadan örnek alınır.

3.3.3. Eküvyon ağızdan dışarı çıkarılırken dil, yanak, damak, diş ve diş etlerine dokunulmaz

3.3.4. A gurubu streptokok izolasyonunu inhibe edebileceğinden tükürük ile kontaminasyonu mümkün olduğunca önlenir

3.3.5. Materyal 1 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır.

3.3.6. Transport besiyerinde; < 24 saat, oda ısısında saklanabilir.

3.4. ORAL SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ

3.4.1. Maya veya fuzobakteri hastalıklarının araştırılmasında kullanılır.

3.4.2. Ağız steril serum fizyolojik ile çalkalanır.

3.4.3. Lezyon gazlı bezle kurulanır.

3.4.4. Eküvyon ile normal dokulara değdirmeden eksüdasyon veya ülserasyon bölgesinden kazınarak numune alınır.

3.4.5. En uygun örnek iğne aspirasyonudur.

3.4.6. 1 saat içeririnde laboratuvara ulaştırılır.

3.4.7. Transport besiyerinde; < 24 saat, oda ısısında saklanır.

3.5. NAZAL SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ

3.5.1. Primer olarak staphylococcus taşıyıcılarını araştırmak için yapılır.

3.5.2. Eküvyonu steril serum fizyolojik ile ıslatılır.

3.5.3. Burun deliklerinden yaklaşık 2.5 cm kadar içeri sokulur.

3.5.4. Nazal mukozaya kuvvetlice sürterek çevirilir.

3.5.5. Burnun diğer deliği ile aynı işlem tekrarlanır.

3.5.6. Örnek bir saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır.

3.5.7. Buzdolabunda örnek bekletilmez.

3.5.8. Transport besiyerinde; < 24 saat, oda ısısında saklanır.

3.6. NAZOFARENGİAL SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ

3.6.1. Primer olarak N.meningitidis taşıyıcılarını araştırmak ve B.pertussis'i teşhis etmek için kullanılır.

3.6.2. Kalsiyum aljinat uçlu eküvyon kullanılır.

3.6.3. Eküvyonu burun deliklerinden yavaşça posterior farenkse sokulur (Eküvyonu burun tabanına ve septuma sürmemek gerekir)

3.6.4. Sekresyonları absorbe etmesi için eküvyonu yavaşça 5 saniye çeviriniz. Eküvyonu çıkarınız.

3.6.5. Hasta başında ekim yapınız veya mutlaka transport besiyeri kullanınız.

3.6.6. Direk besiyerine ekim; < 15 dakika, oda ısısında saklanır.

3.6.7. Kalsiyum aljinat eküvyon; < 2 saat, oda ısısında saklanır.

3.6.8. Kalsiyum aljinat eküvyon ve transport besiyeri; < 24 saat, oda ısısında saklanır.

3.7. NAZOFARENGİAL ASPİRAT KÜLTÜRÜ

3.7.1. S.pyogenes, N.meningitidis, C.dipththeriae ve B.pertussis taşıyıcılarını araştırmak için yapılır.

3.7.2. Nazofarinks'den alınan aspirat materyali steril bir kapta toplanır.

3.7.3. 1 saat içinde laboratuvara ulaştırılır.

3.8. NAZAL YIKAMA KÜLTÜRÜ

3.8.1. Primer olarak viral kültürler için önerilir.

3.8.2. İşlem sırasında hastaya yıkama sıvısını yutmaması söylenir .

3.8.3. Hastanın başı yaklaşık 70°lik açı ile arkaya doğru eğilir ve 5 ml kadar % 0,85 NaCl herbir burun deliğine verilir .

3.8.4. Materyali toplamak için baş öne doğru eğilerek sıvının burun deliklerinden steril kaba akması sağlanır.

3.8.5. Serum fizyolojik (SF)'li yıkantı sıvısı, eşit hacimde viral transport ortamına aktarılır veya steril bir kap içinde transport edilir.

3.9. BALGAM KÜLTÜRÜ

3.9.1. Hastaya tükürük ile balgam arasındaki farkı anlatılır.

3.9.2. Varsa diş protezlerini çıkartılır, su ile ağzını çalkalaması söylenir.

3.9.3. Derin bir öksürüğü takiben tek seferde balgam çıkarması söylenir.

3.9.4. Steril kültür kabına, kapağının da sterilliğine dikkat edilerek alınmalıdır.

3.9.5. Sabah ilk balgamın verilmesi anlamlıdır.

3.9.6. < 2 saat, oda ısısında saklanabilir

3.9.7. < 24 saat, 4^{o}C derece de saklanabilir

3.10. YARA VE APSE ÖRNEKLERİ

3.10.1. Açık lezyonlarda;

- % 70 alkol ile yara çevresindeki deri silinir kuruması beklenir.
- Tercihan biyopsi veya derin doku örnekleri alınır.
- Sürüntü örneği gönderilmesi durumunda yara tabanına iki ayrı eküvyonla sürterek derin doku örneği alınır.
- Kronik yaralarda ve yanık yaralarından biyopsi alınması uygundur
- < 2 saat, oda ısısında saklanır.
- Transport besiyerinde; < 24 saat, oda ısısnda saklanır.

3.10.2. Kapalı lezyonlarda;

- Kapalı abselerde deri yüzeyi %70 alkol ile silinir. Steril enjektör ile ponksiyon sıvısı alınıp steril koşullarda laboratuara ulaştırılır.
- Enjektörün havası boşaltılıp ucu hava almayacak biçimde kapatılır.(kıvırmak önerilmiyor yaralanmalara neden olduğu için)
- < 2 saat, oda ısısında saklanır.
- Transport besiyerinde; < 24 saat, o da ısısında saklanır.

3.11. BEYİN OMURİLİK SIVISI KÜLTÜRÜ

3.11.1. Enfeksiyonu önlemek için iğne sokulacak bölge alkol ve antiseptik solusyon ile temizlenir

3.11.2.İğne ile L3-L4, çocuklarda L4-L5, veya L5-S1 arasından girilir. Subaraknoid boşluğa ulaşıldığında piston çekilir ve spinal sıvı iğne içine dolmaya başlar

3.11.3.BOS yavaşca steril tüplere alınır. Genellikle mikrobiyoloji, hematoloji ve biyokimya testleri için 3 ayrı tüpe alınır. İkinci alınan tüp mikrobiyolojik tetkik için, son tüp ise hematoloji için kullanılır. En yoğun tüp mikrobiyolojiye gönderilir.

3.11.4. Materyal 15 dakika oda ısısında saklanabilir asla buzdolabına koyulmaz**.**

3.12. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ÖRNEKLERİ

3.12.1. Beyin apseleri:

- Beyin apselerinin % 90'ından anaerobik bakteriler ürer. Anaerop transport sistemleri kullanılmalıdır.
- Klinisyen lezyondan materyali aspire eder ve anaerop transport sistemi içinde mikrobiyoloji laboratuvarına gönderir.
- Anaerop transport sistem olmadığı durumlarda, materyal, iğnesinin ucu kapatılmış enjektör içinde hiç geçikmeden laboratuvara gönderilir.

3.12.2.Santral sinir sistemi biyopsi örnekleri

- Cerrahi ile lezyondan alınan biyopsi örneği anaerop transport sistem içinde mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilir. Formalin ilave edillir.

3.13. VÜCUT SIVILARI KÜLTÜRÜ (Abdominal, Asit, Safra, Peritoneal, Plevral, Eklem, Sinoviyal)

3.13.1. Cilt iyot ile dezenfekte edilir.

3.13.2. Cerrahi veya perkütan iğne aspirasyonu ile örnek alınır.

3.13.3. Derhal laboratuara ulaştırılır.

3.13.4. Olabildiğince çok sıvı alınır.

3.13.5. Asla eküvyon kullanılmaz.

3.13.6. 15 dakika oda ısısında saklanir.

3.13.7. Transport besiyerinde < 2 saat oda ısısında saklanabilir**.**

3.14. KAN KÜLTÜRÜ

3.14.1. Deri Hazırlığı ve Kan Alma Prosedürü

- Kan kültürlerinde en fazla üreyen mikroorganizmalar deride bulunan mikroorganizmalardır. Bu nedenle kan kültüründe kontaminasyonu azaltmada en önemli etken deri antisepsisinin iyi yapılır.

- Kan kültürünü eğitilmiş sağlık personeli alınır.
- Kan kültürü alırken steril eldiven giyilir.
- Kan alımında ilk girişim başarısız olmuşsa enjektör değiştirilerek tekrar kan alınır.
- Venöz ponksiyondan önce kan kültür şişesinin kauçuk başlığı % 70 alkol ile silinir (iyot kauçuğun yapısını bozacağından tercih edilmez)
- Venöz ponksiyon için uygun bölge seçildikten sonra turnike uygulanır ve ven palpe edilir. Sonra %70 alkol ile deri temizlenmeli alkol kuruduktan sonra %10 povidon iyot ile merkezden başlayıp perifere doğru dairesel hareketlerle silinir. İyodun antiseptik özelliği zaman bağlı olduğundan iyot kuruyana kadar beklenir (1.5-2 dk)
- Kanı alan kişi dezenfeksiyondan sonra steril eldiven giymemiş ise yeniden cildi palpe etmez.
- Kan enjektöre alınır ve iğne değiştirilerek kan kültür şişesine aktarılır
- Kan alındıktan sonra derinin tahrişini önlemek için iyot artıkları % 70 alkolle temizlenir.
- Bir kan kültürü şişesine erişkinler için **5-10ml,** çocuklar için **3-5ml,** yenidoğan **0.5-1 ml** kan alınır.
- Kan kültürü alma tarihi ve saati hastaya ait bilgilerle beraber ve şüphelenilen enfeksiyon mutlaka şişe üzerine yazılır.

3.14.2. Kan Kültürünün Alınma zamanı ve Kültür Sayısı

- 2 yada 3 ayrı set kan kültürü alınır.
- Kanda en fazla mikroorganizma sayısının ateş veya üşüme titremelerinin başlamasından 1-2 saat önce olduğu yapılan çalışmalarla saptanmıştır. Bu nedenle kan kültürnün ateş pikinden 1.5 saat önce alınması idealdir. Fakat ne zaman hastanın ateşinin olacağını bilemediğimizden dolayı semptomlar başlar başlamaz (ateş, üşüme, titreme vb) kan kültürü alınır.
- Hasta antibiyotik tedavisi alıyorsa bir sonraki dozdan hemen önce alınmasına dikkat edilir.
- Kateter ilişkili sepsis düşünüldüğünde hem kateterden hem de periferden kan alınır.
- Oda ısında maksimum 2 saat bekletilir.Şişenin dışarıda bekleme süresi ne kadar uzarsa bakteri izolasyon şansı o kadar azalır.
- **Kan kültürleri asla buzdolabında saklanmaz**

3.14.3. Kan kültürü alırken kontaminasyonların önlenmesi için **"Kan Kültürü Alırken Kontaminasyon Önlenmesi Demet Formu"** nda belirtilen kurallara uygun olarak çalışılır.

3.15. KATETER UCU KÜLTÜRÜ

3.15.1. Kateter çevresindeki cildi alkol ile temizlenir.

3.15.2. Aseptik koşullarda kateter çıkartılır; distal ucundan 5 cm'lik bölümü steril tüpe konulur.

3.15.3. Kurumaması için derhal laboratuvara ulaştırılır.

3.16. BİYOPSİ ÖRNEKLERİ

3.16.1. Steril kaba alınır,

3.16.2.Özellikle küçük boyutlardaki örneklerin kurumaması için steril serum fizyolojik eklenir.

3.16.3. Kurumasına engel olunur.

3.16.4.erobik transport sistemi kullanılır.

3.16.5. Hemen laboratuvara gönderilir.

3.17. İDRAR KÜLTÜRÜ

3.17.1. Kadınlarda üretral ve vajinal bölgeyi önden arkaya doğru, erkeklerde glans penisi su ve sabun ile temizlenir

3.17.2. Islak gazlı bez ile bölgeyi durulanır,

3.17.3. Temizleme ve örnek alma arasında kadınlarda labiumları bir el ile sürekli açık tutulur,

3.17.4. İdrarın ilk birkaç mililitresini dışarı yaptıktan sonra, işemeyi durdurmadan orta akım bölümünü kavanoza alınır

3.17.5. Steril kavanozun kapağını hızla kapatılır.

3.17.6. İdrar alındıktan sonra en geç 2 saat içinde laboratuvara taşınmalıdır. Buna olanak yoksa idrar örneği +4°C'de buzdolabına koyulmalıdır. Bakteri sayısı en fazla 2 saat 4°C de sabit kalır

Sonda ile idrar toplama

- Üretral bölgeyi su ve sabun ile temizleyiniz. Islak gazlı bez ile durulanır
- Aseptik koşullarda sondayı mesaneye ilerletilir
- İlk 15 ml'lik idrarı sondadan atılır
- Orta veya geç idrar bölümünü kavanoza alınır

Daimi sonda takılmış hastalardan örnek toplama

- Sondanın üretraya yakın bölümü %70 lik alkol ile temizlenir ve klemplenir
- Aseptik koşullarda enjektör ile 5-10ml idrar çekilir
- İdrar steril kavanoza aktarılır
- **<u>Örnek asla idrar torbasından alınmaz</u>**

3.18. DIŞKI KÜLTÜRÜ

3.18.1. Doğrudan temiz ve kuru bir gaita toplama kabına gaita yapılması sağlanır, gaita tuvaletten kaba aktarılmaz

3.18.2. Bir saat içinde laboratuvara ulaştırılır veya eküvyon ile transport besiyerine aktarılır

3.19. REKTAL SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ

3.19.1. Eküvyon anal sfinkterden yaklaşık 2.5 cm kadar içeri itilir

3.19.2. Eküvyon rektum içinde çevirerek örnek alınır,

3.19.3. Gonokok için örnek alırken fekal kontaminasyonu ekarte ederek anal kriptlerden örnek alınır

3.19.4.Örnek 1 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır.

3.20. BASI YARA KÜLTÜRÜ

3.20.1. Steril serum fizyolojik ile bölge temizlenir.

3.20.2. Biyopsi örneği tercih edilir.

3.20.3. Biyopsi örneği alınması mümkün değilse lezyonun ilerleyen sınırı ve tabanına eküvyon kuvvetlice sürtülür.

3.20.4. Eküvyon transport besiyerine alınır.

3.20.5.2 saat içerisinde laboratuvara gönderilir.

3.21. ÖRNEKLERİN NAKLİ

3.21.1. Tüm örneklerin laboratuvara nakli hemen, hiç bekletilmeden yapılır (Örnekler lokal anestezik maddeler kullanılarak alınmış ise bu maddeler antibakteriyel etki göstereceğinden lokal anestezik ile örneğin temas süresinin mümkün olduğunca kısa olmasına dikkat edilir.) ve bu istek formuna yazılır.

3.21.2. Herhangi bir nedenle örneğin nakli hemen sağlanamıyorsa aşağıdaki istisnalar dışında örnekler 2-8 derecede buzdolabında bekletilerek muhafaza edilir.(Örnek kabı üzerinde örnek alınma zamanı kaydelir.)

3.21.3. Buzdolabında muhafaza edilmediği sürece idrar ve solunum sistemine ait örnekler alındığı andan itibaren 1 saat içinde laboratuvara ulaşır. İdrar örnekleri 2-8 saat buzdolabında tutulur.

3.21.4. Dışkı örnekleri nakil besiyeri kullanılıyorsa 1 saat içinde laboratuvara ulaşmış olmalıdır. Aksi takdirde flora elemanları çoğalarak patojen bakterilerin tespitini önler.

3.21.5. Yara ve vücut sıvıları alındığı andan itibaren 1 saat içinde laboratuvara ulaşır.

3.21.6. Örnek kaplarının dış kısımları içinde bulunan örnekle bulaşlı olmaması gerekir.

ÖRNEKLERİN SAKLAMA KOŞULLARI

Buzdolabı ısında (+4C)	**Oda Isısında (22C)**	**Vücut ısısında (37 C)**	**Dondurucu ısıda (-20/70 C)**
İdrar Dışkı, rektal sürüntü Virüs,klamidya, mikoplazma tanımlanacak örnekler Balgam, BAL Sürüntüler Mantar kültürü için alınmış örnekler	Anaerop örnekler Kan Genital bölgeden örnekler Göz iç kulak örnekleri Vücut sıvıları Boğaz,nazofarenks sürüntüleri	BOS (hemen ekilmeli) Gastrik biyopsi (hemen ekilmeli) Gastrikaspirat(alındıktan sonra 1 saat içinde nötralize edilmeli) Kemik, Kemik iliği	Serum örnekleri (1 hafta – 20 C) Dokular (- 70 C alkol veya formol koyulmamalı) Uzun süre saklanacak tüm örnekler (-70 C) Bakteri stok kültürleri Virüs tanımlanacak örnekler

6.İlgili Dökümanlar

6.1. Kan Kültürü Alırken Kontaminasyon Önlenmesi Demet Formu
6.2. Kan Kültürü Takip Formu