



TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI
M KROB YOLOJ K KÜLTÜR TAL MATI

DOKÜMAN NO	ML.TL.34
YAYIN TAR H	25.03.2016
REV ZYON NO	00
REV ZYON TAR.	-
SAYFA	1 / 2

1. AMAÇ : Bu talimatın amacı, bakteriyel hastalıklara neden olan etkenleri klinik örneklerden izole ve tanımlanması, antimikrobik duyarlılık testlerinin yapılması için bir sistem oluşturulmasıdır.

2. KAPSAM: Bu talimat tüm laboratuvarı kapsar.

3. KISALTMALAR :

- EMB: Eosin Metilen Mavis
- VRE : Vankomisin Dirençli Enterokok
- SDA : Sabouraud Dextrose Agar
- BOS : Beyin Omurilik Sıvısı
- BAL : Bronkoalveoler Lavaj

4. TANIMLAR:--

5. SORUMLULAR:

- Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Ba kanı
- Tıbbi Mikrobiyoloji Bakteriyoloji Lâboratuvarı Teknisyenleri

6. FAAL YET AKI I:

6.1.Ekim – inkübasyon – de erlendirme i lemleri : (Örnek bazında) Mikrobiyoloji örnek kabul biriminden posta veya pnömatik sistemle gelen mikrobiyolojik örneklerden bakteriyoloji laboratuvarını ilgilendiren örnekler ayrılır. Barkot etiketleri örnek kabına yapıştırılıp bilgisayara girer yapılır. Kültür için gönderilen tüm örneklerin besiyerlerine ekimi Sınıf II biyogüvenlik kabinde yapılır. Mikrobiyolojik kültür için gönderilen örnekler bekletilmeden i leme alınmalıdır. Hemen i leme alınamayacaksa floralı örnekler (bo az, balgam, idrar, gaita vb.) buzdolabında (+4°C), BOS inkübatörde (35 °C), kan, plevral sıvı, doku vb. oda ısısında bekletilmelidir.

6.1.1. Bo az sürüntü örnekleri bölüm teknisyenleri tarafından kanlı agar besiyerine ekilir. 35°C’ de 18-24 saat CO₂’li etüvde inkübe edilerek bu süre sonunda ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.2. Pü, kulak, burun ve yara sürüntü örnekleri EMB ve kanlı agar besiyerlerine ekilir. 35°C’ de 18-24 saat CO₂’li etüvde inkübe edilir. İlgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.3. Göz örnekleri kanlı ve çukulata besiyerlerine ekilir. 35°C’ de 24-48 saat etüvde inkübe edilir. İlgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından (yarı kantitatif olarak) de erlendirilir.

6.1.4. Vagen örnekleri SDA ve kanlı agar besiyerlerine ekilir. 35°C’ de 24-48 saat etüvde inkübe edilir. İlgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.5. Balgam örnekleri kanlı, EMB, basitrasimli çukulata besiyerlerine ekilir. 35°C’ de 24-48 saat etüvde inkübe edilir. İlgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

Alt solunum yolu örnekleri (Endotrakeal Aspirat, korunmuş fırça, biyopsi, BAL vb..) kanlı, EMB ve basitrasimli çukulata agar besiyerlerine dilüsyonlu (1/100, 1/1000, 1/10000) olarak ekilir. 48 saat 35°C’de CO₂’li etüvde inkübe edilir. İlgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından kantitatif (kob/ml) olarak de erlendirilir.

6.1.6. Cary-Blair transport besiyerinde ya da di ki kabında gelen gaita örnekleri kanlı, EMB ve XLD besiyerlerine ekilir. 18-24 saat sonra ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.7. Kan ve di er (BOS, plevral sıvı, asit sıvısı..) steril vücut sıvıları sürekli moniterize kan kültür sistemi i elerine ekilmi olarak laboratuvara gönderilir. Ekim yapılmı i eler BACTEC 240 cihazına yerleştirilerek 5 gün inkübe edilir.

Pozitif üreme sinyali veren örnekler için; gram boyalı inceleme ve biyokimyasal testlerle ön tanımlama yapılarak ilgili servislere bilgi verilir ve kanlı EMB, çukulata besiyerine pasaj yapılır. E er gram boyama incelemesinde maya görülürse, CHROM Agar Candida ve SDA besiyerlerine ekim yapılır. 24 saat içinde ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.



**TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI
M KROB YOLOJ K KÜLTÜR TAL MATI**

DOKÜMAN NO	ML.TL.34
YAYIN TAR H	25.03.2016
REV ZYON NO	00
REV ZYON TAR.	-
SAYFA	2 / 2

Be günlük inkübasyon süresi sonunda üreme sinyali vermeyen örneklerden çukulata besiyerine pasaj yapılır. 18-24 saat içinde inkübe edilerek yalancı negatiflik açısından de erlendirilir.

6.1.8. Steril tüplerde gönderilmi BOS örnekleri kanlı, EMB, çukulata besiyerlerine ekilir ve 35°C'de %5 CO₂'li etüvde 24-48 saat inkübe edilir. İgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.9. Steril artlarda gönderilmi doku örnekleri tartılarak belirli miktardaki steril serum fizyolojik ile homojenizatör kullanılarak homojenize edilir ve 1/100, 1/1000, 1/10.000 dilüsyonlarda kanlı, EMB besiyerlerine ölçülü olarak ekilir. 35°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından kantitatif olarak de erlendirilir. Mantar kültürü için gönderilen doku örnekleri homojenize edilmez.

6.1.10. *Helicobacter pylori* kültürü için gönderilen biyopsi örneklerinin, brucella agar ve Christensen's üre besiyerlerine ekilir. Brucella agar besiyerleri mikroaerofilik ortamda 1 haftalık inkübasyondan sonra, üre besiyerleri ise 24 saatlik inkübasyondan sonra ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.11. VRE taraması için transport besiyerinde gönderilen rektal sürüntü örnekleri bile esculin azid agara ekilir. 35°C'de 48-72 saatlik inkübasyondan sonra ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir.

6.1.12. Anaerob kültür için, örnekler uygun ko ullarda gönderilir, bekletilmeden anaerop besiyerine ekimi yapılarak, anaerob jara alınır. E zamanlı olarak örne in aerop kültürü de yapılır. 35°C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra de erlendirilir.

6.1.13. Özel istek oldu unda *Legionella*, *Trichomonas*, *Vibrio* vb. etkenler için özel besiyerlerine ekim yapılır.

6.2. İdentifikasyon lemleri: Etken olarak saptanan bakteriler, saf kültür pasajları yapılarak otomatize identifikasyon sistemine alınır.

Ayrıca bu sistemle hastalık etkeni olan bakterilerin farklı antibiyotiklere duyarlılık durumları mikrobroth dilüsyon yöntemi ile saptanır. Antibiyotik duyarlılık testi Kirby – Bauer disk difüzyon yöntemi ve E test ile de yapılmaktadır. Disk difüzyon yöntemi için 0,5 McFarland bulanıklıktaki bakteri süspansiyonu hazırlanır. Müeller Hinton agar besiyerine steril pamuklu eküvyonlarla yayılır ve 15 dakika içinde etken mikroorganizma için seçilmi antibiyotik diskleri yerle tirilir. 24 saat 35°C'de inkübasyondan sonra ilgili ara tırma görevlileri ve uzmanlar tarafından de erlendirilir. Ayrıca izole edilen bakterilerdeki özel direnç mekanizmaları da disk difüzyon veya E test yöntemleri ile belirlenir. Otomasyon sisteminde veya manuel olarak çalı ilan antibiyotik duyarlılık testi sonuçları etken bakteride saptanan direnç mekanizmaları göz önüne alınarak yorumlanır. Final sonuçlar L S sistemine aktarılır. İgili ara tırma görevlileri ve ö retim üyeleri tarafından do rulandıktan sonra raporlar L S sisteminde onaylanarak ilgili birimlere ula tırılır.

6.2.1.Direkt Mikroskopik: Gram, ARB, Giemsa ve Wright boyası ile incelenmesi için gönderilen klinik örnekler sorumlu teknisyenler tarafından hazırlanıp boyanarak, sorumlu asistan ve ö retim üyesi tarafından de erlendirilirler. Mikroskopik inceleme sonuçları kayıt edilir ve L S sistemiyle ilgili bilim dallarına iletilir.

7. LG L DÖKÜMANLAR: --

HAZIRLAYAN TIBB M KROB YOLOJ ANAB L M DALI Ö RET M ÜYES	KONTROL EDEN KAL TE YÖNET M D REKTÖRÜ	ONAYLAYAN BA HEK M
--	--	-------------------------------