

KLİNİK MATERYALİN HASTADAN ALINMASI VE LABORATUVARA GÖNDERİLMESİ

Prof.Dr. Meltem UZUN

İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı

İnfeksiyon hastalıklarının tanısının doğru yapılabilmesi için uygulanan yöntemlerin duyarlılığının yanısıra, incelenecek klinik örneklerin alınmasında ve laboratuvara gönderilmesinde belirli kurallara uyulması gerekmektedir. Tüberküloz tanısı için de klinik örneklerin alınma, laboratuvara gönderilme ve işlenmesinde belirli kurallar vardır.

Örnek alınması ve laboratuvara ulaştırılması ile ilgili genel kurallar:

- Örnekler temiz, steril, sızdırmaz, burgulu kapaklı, dayanıklı ve tek kullanımlık kaplar içine yeterli miktarda alınmalıdır. Örnek enjektöre alınacak ve enjektörle gönderilecekse luer tipi kapaklı enjektörler kullanılmalıdır.
- Kabin üzerine örneğin kimden, ne zaman alındığı ve örnek tipi yazılmalı, ayrıca istek kağıdında (veya otomasyon programı olan kurumlarda elektronik ortamda) hasta ve örnek ile ilgili gerekli bilgiler belirtilmelidir.
- İlk örnekler antimikrobiyal tedavi başlamadan önce alınmalıdır.
- Endojen flora ve çevresel kontaminasyonu en aza indirmek için örnekler olabildiğince aseptik şartlarda alınmalıdır.
- Üremeyi engelleyici herhangi bir koruyucu kimyasal maddeler kullanılmamalıdır.
- Kontaminant bakteri ve mantarların üremesinden kaçınmak için alınan örnekler olası en kısa zamanda laboratuvara gönderilmeli ve işlenmelidir. Bu süre bir saati aşacaksa örnek 2-8 °C'de bekletilmelidir (kan hariç). Kabul edilmemesi gereken örnekler:

- Sürüntü örnekleri;
(Ancak başka bir şekilde örnek alınamıyorsa, kurumaya engel olmak için sürüntü örnekleri bir transport besiyerine konularak gönderilen örnekler kabul edilebilir)
- Uygun olmayan kapta gelen örnekler;
- 24 saatlik, biriktirilmiş örnekler;
- Dondurulmuş örneklerdeki canlı basil oranı azaldığından Kabul edilmeyen örnekler için yapılacak işlemler:
- Hemen ilgili doktor telefonla aranır, örneğin kabul edilemez olduğu ve nedeni

açıklanır.

- Örnek ile ilgili bilgilere ek olarak, örneğin işlenmeme nedeni, telefonla bilgilendirilen kişinin adı ve görüşme zamanı not edilir.

İşlenmeyen örnekler 2-8°C 'de 3 gün bekletilir. Tekrar örnek alınamaması durumlarında mevcut örnek değerlendirilir.

I. Pulmoner Örnekler :

Ekspektore veya indüklenmiş balgam, açlık mide suyu, bronkoalveoler lavaj, transtrakeal aspirasyon, bronşial fırçalama ve laringeal sürüntü örnekleri pulmoner örneklerdir .

Balgam:

- Birbirini izleyen üç ayrı günde 5-10 ml(miktarı alındığı kabın 1/5 ini geçmemelidir;örn; 50 ml'lik kaplara en fazla 10 ml) sabah balgamı alınması tercih edilir. Ardı ardına 5-6 günden fazla örnek alınması gereksizdir.
- Tedavi takibinde, tedavinin başlamasından 3 hafta sonra ilk kez olmak üzere, birer hafta aralıklarla balgam örnekleri alınmalıdır.
- Alınan balgam örneği derin, prodüktif bir öksürükle akciğerlerden gelen koyu, eksüdatif örnek olmalıdır.
- Yiyecek artıkları ve ağız florası ile balgamın kontamine olmasını engellemek için balgam çıkarmadan önce hasta ağızını suyla çalkalamalıdır.
- Hastaya uygun balgamı nasıl vereceği, tükürüğün ve nasofaringeal sekresyonların balgam olmadığı anlatılmalıdır.
- Balgam özel bir odada veya açık havada çıkartılmalı, bu mümkün değilse gerekli korunma önlemleri alınmalıdır.

İndüklenmiş balgam:

Hasta balgam çıkaramazsa indüklenmiş balgam örneği alınabilir. Balgam indüksiyonu;

- Steril, ılık, aerosolize hipertonic tuzlu su (%10 NaCl) inhalasyonu ile yapılır.
- Bu solüsyon hastaya nebulizatör yardımı ile 10 dakika kadar derin ve yavaş solutulur, sonra derin ve kuvvetli bir öksürük ile balgam alınır.
- Örnek en az 10 ml olmalıdır.

İndüklenmiş balgam suludur ve tükürüğe benzer bu nedenle reddedilme riskine karşı indüklenmiş balgam olduğu istek kağıdında belirtilmelidir.

- Musluk suyundaki saprofit mikobakteriler yanlış pozitif sonuçlara neden olabileceğinden nebulizatör suyu ile balgamin kontaminasyonundan kaçınılmalıdır.

Bronkoalveoler lavaj (BAL):

- Steril kaplara en az 5 ml. örnek alınmalıdır.
- Kullanılan bronkoskobun musluk suyu ile kontaminasyonundan kaçınılmalıdır.
- Kontamine bronkoskop ile bulaş olabileceğinden bronkoskopun fiziksel temizliği ve yüksek düzey dezenfeksiyonu önemlidir.

Bronşiyal fırçalama:

Bronşiyal fırçalama ile elde edilen örnek Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren steril kaplara konulmalıdır.

Transtakeal aspirat:

Çok sık gelen bir örnek değildir. Bazı olgularda yararlı olabilir. Enjektörle veya steril kaplara, olabildiğince fazla miktarda alınmalıdır.

Açlık mide suyu (gastrik lavaj sıvısı):

Tüberküloz tanısı için uygun bir örnek değildir ancak; tüberküloz olduğu radyolojik olarak kanıtlanmış balgamı negatif kalan hastalarda, balgam çıkaramayan ya da balgamını yutan hastalarda, nörolojik hastalıklar veya koma hali nedeniyle öksüremeyen hastalarda veya balgam alımının zor olduğu bebek/küçük çocuklarda başka yöntemlerle pulmoner örnek alınamıyorsa tercih edilebilir. Bu sıvı;

- En az 5-10 ml. olmalı ve birbirini takip eden üç gün boyunca, sabah erken aç karnına alınmalıdır.
- Örnek alımı hasta uyandıktan hemen sonra, tercihen yatağından kalkmadan önce yapılmalıdır.
- Örnek dört saat içinde işlenemeyecekse 100 mg sodyum karbonat bulunan steril kaplara alınarak laboratuvara gönderilmelidir.

Larenks sürüntüsü:

Sürüntü örneği, 1 ml kadar serum fizyolojik veya tampon çözeltisi içeren bir kap içinde gönderilmelidir.

II. Ekstrapulmoner Örnekler:

Laboratuvara en sık gönderilen ekstrapulmoner örnekler idrar, steril vücut sıvıları ve dokulardır. Nadir olarak kan ve dışkı örnekleri de gelebilir.

İdrar:

- Birbirini izleyen 3-5 gün süre ile en az 40 ml. olacak şekilde orta akım sabah ilk idrarı alınır.
- İdrar verilmeden önce dış üro-genital bölgenin temizlenmesi kontaminasyon riskini azaltır.
- Orta akım idrar alınamıyorsa kateter ile idrar alınabilir.
- 24 saatlik biriktirilmiş veya kateter torbasından alınan idrar kabul edilmemelidir.

Steril Vücut Sıvıları (plevral, perikardiyal, peritoneal sıvılar ve beyin omurilik sıvısı):

- Miktarı mümkün olduğunca fazla olmalı(mümkünse 50 ml) ve 10-15 mililitreden az olmamalıdır (BOS için en az 2 ml). Miktar daha az ise direkt olarak Bactec 13A şişesine veya diğer bir sıvı besiyerine (Middlebrook 7H9, Dubos tween albümin) ekilebilir.
- Bu sıvıların çoğu fibrinojen içerebileceğinden toplama kabına antikoagülan olarak sodyum polianetol sülfonat (SPS) veya heparin eklemek gerekebilir.

Abse örnekleri ve Aspirasyon sıvıları:

Örnek alımından önce alkol ile cilt temizliği yapılarak, mümkün olduğunca çok miktarda örnek enjektör ile aspire edilmelidir. Küçük miktarlardaki aspirasyon sıvılarının taşınması için Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri kullanılabilir. Aspirasyon için hacim yeterli olmadığı durumlarda sürüntü alınabilir. Sürüntü örneklerinden elde edilen negatif sonuçların güvenilir olmadığı rapor edilmelidir.

Doku örnekleri (lenf nodu, deri ve diğer biyopsi örnekleri):

- En az 1 gram doku parçası, mümkünse aseptik şartlarda steril kaplar içine alınmalıdır.Çok küçük miktarda biopsi örneği alınmışsa mutlaka serum fizyolojik içine koyulmalıdır. Alınan örnek gazlı beze sarılmamalıdır.
- Lezyonun kazeöz kısmı seçilmeli ve deri ülserlerinde lezyonun periferinden biyopsi alınmalıdır.
- Formalin içinde gönderilen örnekler kabul edilmemelidir.

Kan:

- Aseptik koşullarda alınan kan örneği direkt olarak hasta başında 10 ml'lik isolatör tüpe veya Bactec 13A şişesine ve bu amaçla kullanılan diğer kan költür şişelerine 5 ml.olacak şekilde aktarılır.
- Hasta başında ekim yapılamadığı durumlarda 10 ml kan SPS veya heparin içeren steril tüplere alınır.
- EDTA (etilendiamintetraasetik asit)'lı tüplere toplanan kanlar ve koagüle kanlar kabul edilmez.

Dışkı:

- En az 1 gr dışkı örneği steril, tek kullanımlık, parafin içermeyen bir kap içine alınır.
- AIDS hastalarının dışkılarından Mycobacterium avium complex (MAC) sıklıkla üretilebilir.Ancak bu hastalar için rutin inceleme önerilmez.

Örneklerin Gönderilmesi:

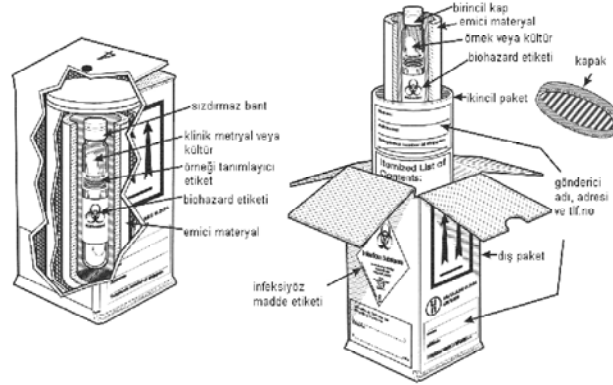
Dünya sağlık örgütü (DSÖ), CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ve uluslararası yasal düzenlemeler klinik örneklerin ve mikobakteri költürlerinin postalanmasında üçlü kap sistemini zorunlu kılmaktadır.Mikobakteri költürlerinin postalanmasında burgulu kapaklı tüplerdeki katı besiyerine pasaj yapılmalı, petri kutusu veya sıvı besiyeri kullanılmamalıdır. (Resim 1)

Birincil kap (primer kap): materyalin konduğu, cam veya plastikten yapılmış burgulu kapaklı,sızdırmaz, çok ve basınç değişikliklerine dirençli kaplardır. Kapaklar ayrıca bir bant veya benzer materyal ile sarılabilir. Örneği tanımlayıcı bilgi veya numara kabın üzerine yazılmalıdır.

İkincil kap (sekonder kap): Bir veya daha fazla birincil kabın konulduğu sızdırmaz, dayanıklı bir kaptır. İkincil kap ile birincil kap arasındaki boşluğa (alt, üst ve yanlar) herhangi bir sızma durumunda tüm içeriği emebilecek ve birincil kapların birbiriyle temasını engelleyecek kuvvetli bir emici madde (bez, pamuk) yerleştirilmelidir. İkincil kap üzerine göndericinin adı, adresi ve telefon numarası yazılmalıdır.

Dış kap (postalama kabı): İkincil kabın konulduğu, dayanıklı, sert bir malzemeden yapılmış (tahta, oluklu mukavva, sert plastik, vs.) kaptır. Kabın içine ikincil kap ile beraber içeriğin ayrıntılı listesi de konulmalıdır. Kuru buz

kullanılacaksa bunlar ikincil kap ile dış kap arasına konulmalı ve kuru buz buharlaştığında ikincil kabın orijinal pozisyonu bozulmayacak şekilde desteklenmeli, buz kullanılacaksa su sızdırmaz şekilde olmalıdır. Dış kap üzerine gönderici ve alıcının adı, adresi, telefon numarası yazılmalı, enfeksiyöz (bulaşıcı) madde yazısı ve biyolojik tehlike (biohazard) etiketi yapıştırılmalıdır.



Resim 1: İnfeksiyöz maddelerin paketlenmesi ve etiketlenmesi (CDC'den)

KAYNAKLAR:

- 1 Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) HHS Publication (CDC), 4th Edition. May 1999.
- 2 Dunlap NE, Bass J, Fujiwara P, et al. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 1376–1395.
- 3 Forbes BA,, Sahm DF, Wissfeld AS. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 10th. Ed. St.louse, Missouri: Mosby-Year Book. 2002:547-8.
- 4 WHO. Guidelines for the Safe Transport of Infectious Substances and Diagnostic Specimens WHO/EMC/97.3.
- 5 Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. Atlanta: HHS Publication (CDC),. 1985: 21-30.
- 6 Winn WC, , Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL.Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th. Ed. Philadelphia, Newyork: Lippincott Williams&Wilkins. 2006:1064-11244.
- 7 Master RN. Mycobacteriology. In: Isenberg HD (ed.). Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington DC: ASM, 1992: 3.2.1-6.

- 8 Pfyffer GE, Brown-Elliott BA, Wallace RJ. Mycobacterium: General characteristics, isolation and staining procedures. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC eds. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington DC: ASM; 2003:532-59.
- 9 CDC. Packaging, Labeling and Shipping Infectious Substances. Public Health Practice Program Office, CDC (www.phppo.cdc.gov/nltn/pdf/2000/3.0/shipdoc4.pdf)
- 10 Strong BE, Kubica GP. Isolation and identification of Mycobacterium tuberculosis: A Guide for the Level II Laboratory. Atlanta: HHS Publication (CDC), 1979:35-42.