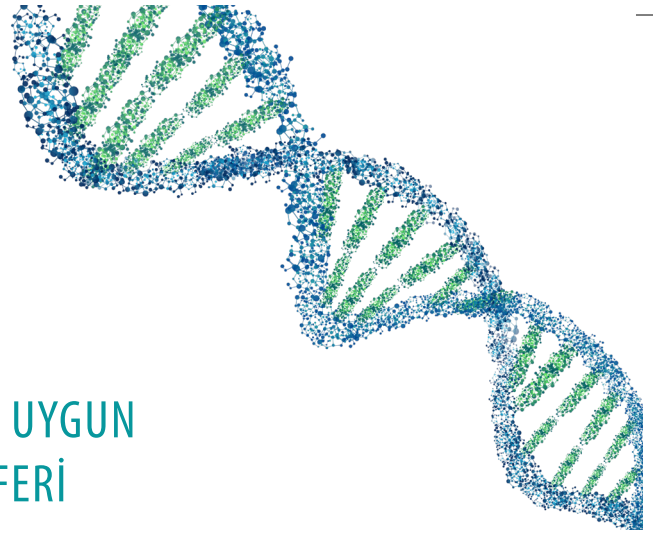


BÖLÜM 3

MOLEKÜLER MİKROBİYOLOJİK TANI İÇİN UYGUN ÖRNEK SEÇİMİ, SAKLANMASI VE TRANSFERİ



Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK¹

Moleküler mikrobiyolojik testlerde güvenilir sonuçların elde edilmesinde klinik örneklerin uygun şekilde alınması, uygun koşullarda saklanması ve yine uygun koşullarda transfer edilerek laboratuvara ulaştırılması çok önemlidir. Uygun örnek alınması kadar etkenin kuluçka süresi veya saçılım süresi gözetilerek uygun zamanda örnek alınması da kritik öneme sahiptir¹⁻⁴. Örneklerin işlenmesinde amaç, nükleik asidin bütünlüğünü bozmadan hücre içerisinden çıkmasını sağlamak, örneğin enfektif özelliğini ortadan kaldırmak ve inhibitör maddeleri ortadan uzaklaştırmaktır^{1,5}. Bu işlemlerin kaliteli ve işe yarar şekilde yapılması pre-analitik sürecin en önemli aşaması olan kaliteli örnek alınması, bu örneğin taşınması ve uygun şekilde transferine bağlıdır.

Örnek Alımı ve Saklanması İle İlgili Genel Kurallar

Örneklerin alınması, taşınması ve saklanması daha çok laboratuvar dışı koşullara bağlı olan preanalitik süreç yönetimine dahil olunan işlemlerden

oluşur. Öncelikle tüm örnekler enfektif kabul edilmelidir. Örnek alacak personel eğitim almış olmalıdır. Hasta güvenliği gözönünde bulundurulmalı, örnek alma işlemi hakkında hasta bilgilendirilmeli ve kimlik doğrulama yapılmalıdır. Örneklerin üzerine hasta kayıt bilgilerini içeren barkodu yapıştırılmalıdır^{2,6}. Örnek alma zamanı, örneğin laboratuvara kabul zamanı ve testin onay zamanının kaydedilmesi diğer tüm testlerde olduğu gibi moleküler testler için de örneğin ne zaman alındığı, alındıktan sonra bekletilip bekletilmediği, bekletilmiş ise hangi koşullarda saklandığının takip edilmesi için son derece önemli kayıtlardır. Örneğin; çoğu viral enfeksiyon için etken mikroorganizma akut hastalığın sadece ilk birkaç gününde saptanabilmektedir. Örneğin bu zamanlamaya göre alınması kritiktir. Örnek almadan önce çalışan güvenliği açısından örnek alacak personel kişisel koruyucu ekipman (KKE) çeşitliliği ve kullanımı konusunda bilgi sahibi olmalıdır. Örnek alınmasında kullanılacak ekipman (besiyeri, eküvyon, vb.) önceden hazırlanmalıdır, örnekler uygun örnek kaplarına alınmalıdır¹. Genellikle moleküler test çalışmaları için labora-

¹ Prof. Dr., İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., aysegul.copur@medipol.edu.tr

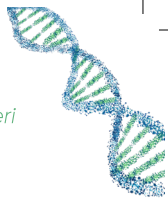
Tablo 5. Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku Örnekleri Alınması, Taşınması, Saklanması ³⁶

Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku Örnekleri	Örnek Alma Tekniği	Örneklerin Taşınması, Saklanması Ve Diğer Özel Durumlar
Deritüberkülozu şüpheli örnek	Deride bulunan ülserin sağlam doku ile olan sınırından alınan biyopsi örneği	Steril besiyerinde, oda sıcaklığında, ≤ 2 saat;
Göz örnekleri (Konjunktivit, blefarit, keratit, endoftalmit, dakriosistit)	Kornea kazıntısı, göz kenarından sürüntü, püy, ön kamara sıvısı, vitröz biyopsi	Aerop bakteriler steril besiyerinde, oda sıcaklığında, ≤ 2 saat; (hatta 30 dakikada), CMV, HSV, VZV gibi viral etken düşünüldüğünde 2-8 °C de transfer edilmeli.

ları hava almayacak şekilde kapanabilmeli gıda ile reaksiyona girmemeli gıdanın tat, koku ve pH'sını değiştirmemelidir. Sıvı gıdalar filtreden geçirilerek, katı gıdalar uygun tampon çözeltisiyle (örneğin; 10 g et/tavuk, 90 ml %0,1 steril peptonlu su ile homojenize edilir, Homojenizasyonu takiben dokuz ml steril peptonlu su içeren tüplerde 10⁻⁸e kadar seyreltme yapılarak işlem gerçekleştirilebilir ³⁷⁻³⁹. Özetle; gerek rutin test gerek bilimsel araştırma çalışmaları gerekse Covid-19 gibi olağanüstü durumlarda moleküler mikrobiyolojik analizler için örneklerin nasıl alınacağı, kimlerin alacağı, örneklerin alınması, taşınması, saklanması ve imhası gibi durumların nasıl yönetileceği, aksaklık olması durumunda hangi alternatif uygulamaların yapılacağı gibi preanalitik süreçlerin gözden geçirilerek işlemlerin belirlenmesi ve ilgili personelin eğitilmesi şarttır. Ayrıca saklama koşullarının sağlandığını gösteren oda sıcaklığı, buzdolabı sıcaklığı takiplerinin yapılması da gereklidir. Kalite kontrol çalışmaları kapsamında laboratuvarlar, moleküler testler bazında; reddedilen örnek oranı, maksimum transfer süresini aşan örnek oranı, tekrar alınan numune oranı, yetersiz numune miktarı, uygunsuz numune oranı gibi performans takibi yapmalıdır. Ayrıca laboratuvar-klinik işbirliğini artırmaya yönelik iletişimin sağlıklı olması da ayrıca önem arz etmektedir.

Kaynaklar

1. T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Numune Alma El Kitabı (2022), Revizyon Tarih/No: 10.01.2022/03.Ankara, <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/kurumsal/plan-ve-faaliyetler/numune-alma-el-kitabi.pdf>
2. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği, KLİMUD Pandemi Rehberi. 2021-10/21.Ver1.0 sayfa: 61-70.
3. PCR for Clinical Microbiology. An Australian and International Perspective. Ed. Shruller M, Sloots TP, James GS, Halliday CL, Carter IWJ. 2010. Springer.
4. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Laboratuvar Güvenliği Rehberi.2.versiyon.2021.https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/kurumsal/yayinlarimiz/rehberler/UMS-Laboratuvar_GAve-liAi_Rehberi-2021_2_versiyon.pdf
5. Aktaş E. Moleküler Mikrobiyoloji, pp:129-142. In: Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kitabı. Altındış M (ed). 2013. 1. Basım. Nobel Kitabevi, Ankara.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı- Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlıkta Kalite, Akreditasyon ve Çalışan Hakları Dairesi Başkanlığı. SKS Işığında COVID-19 Tanı Laboratuvarları Kalite Yönetimi Rehberi. <https://shgmkalitedb.saglik.gov.tr/TR-66534/sks-isiginda-covid-19-tani-laboratuvarlari-kalite-yonetimi-rehberihakkinda.html>.
7. Özyurt M, Hoşbul T. Enfeksiyöz Örneklerin Taşınması ve İşlenmesi, pp: 203-221. In: Başustaoğlu A, Güney M, (eds) Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Biyogüvenlik. KLİMUD Yayınları. No:2. 2012. Ankara.
8. Sağıroğlu P. Sistemlere Göre Klinik Örneklerin Değerlendirilmesi, pp: 369-392. In: Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kitabı. 2022, 1. Basım. Nobel Kitabevi, Ankara.
9. Begüm Maşlak, A. Funda Bağcıgil.Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2018;1(1): 31-36.
10. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, John R. PCR inhibitors- occurrence, properties and removal. Journal of Applied Microbiology 2012;113: 1014-1026.



11. Demeke T, Jenkins GR. Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2010;396: 1977-1990.
12. Radstrom P, et al. Pre-PCR processing: strategies to generate PCR-compatible samples. *Molecular Biotechnology* 2004;26(2): 133-46.
13. Chaturvedi U, et al. Detection of canine adenoviral infections in urine and faeces by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods* 2008;149(2): 260-263.
14. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Refearans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi (2014), Cilt 1. P: 10/30Ankara, T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara.
15. Baran I. Moleküler Mikrobiyolojide Kullanılan Yöntemler, pp: 365-371. In: Hemşirelik Uygulamalarında Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları. Başustaoğlu A, Avcı MZ (eds). 1. Basım. 2016. Hipokrat Yayınevi, Ankara.
16. Wang K, Zhu X, Xu J. Laboratory Biosafety Considerations of SARS-CoV-2 at Biosafety Level 2. *Health Secur* 2020;18(3): 232-236.
17. T.C Sağlık Bakanlığı, Sağlıkta Kalite Standartları (SKS)-Hastane (Versiyon-6). Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlıkta Kalite ve Akreditasyon Daire Başkanlığı. 1. Baskı: Haziran 2020 ISBN: 978-975-590-766-6 Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1156. Tam Pozitif Reklamcılık / Matbaa. Sayfa:512. Ankara.
18. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2017.5th Ed. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Chapter 3: 121-162.
19. Austin, B. The value of cultures to modern microbiology. *Antonie van Leeuwenhoek* 2017;110: 1247.
20. Grønseth R, Drengenes C, Wiker HG, et al. Protected sampling is preferable in bronchoscopic studies of the airway microbiome. *ERJ Open Research* 2017;3(3): 00019-02017.
21. Gürsoy NC, Otlu B. Mikrobiyotada Çalışmalarında Moleküler Tanı Yöntemleri. *J Biotechnol and Strategic Health Res* 2017;1(Special issue): 56-67.
22. Kocagöz T, Sancak B, Mutlu E, Cirit OS, Can O, Cicek C, et al. Gargle and Mouthwash Can Replace Nasopharyngeal Swab Sampling When Concentrated with a New Method for the Diagnosis of COVID-19. 31st ECCMID Online-9-12 July 2021 Poster No: 01107.
23. Solunum Sistemi Örnekleri. 2015, ISBN: 978-605-84108-5-5 Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği Yayınları No: 10. Ankara.
24. Cirit OS., Mutlu E, Sancak B, Kocagöz T, Can Ö, Çicek C. Comparison of a novel antigen detection test with reverse transcription polymerase chain reaction assay for laboratory diagnosis of SARSCoV2 infection. *Infection* 2022; 5:1-6.
25. Steril Vücut Sıvıları Laboratuvar İnceleme Rehberi. 2020, ISBN: 978-605-84108-3-1 KLİMUD Kaynak No: 5 Düzeltmiş 2. Baskı KLİMUD-SVS.REH.10/20. Ver02. Ankara.
26. Karcher DS. McPherson RA. Cerebrospinal, synovial, serous body fluids, and alternative specimens. In: McPherson RA, Pincus MR eds. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22 nd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2011. 29: Chapter. pp: 480-506.
27. Garcia LS, Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington: ASM Press; 2010.
28. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB Jr, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57(4): 485-8.
29. Ohl CA, Forster D. Infectious arthritis of native joints. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Updated Edition. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015. Chapter 105, p. 1302-17.
30. Genital Sistem Örnekleri Kasım 2015, Ankara ISBN: 978-605-84108-1-7 KLİMUD Kaynak No: 6. Ankara.
31. Üriner Sistem Örneklerinin Laboratuvar Tanısı Rehberi. 2020, ISBN:978-605-84108-2-4 KLİMUD Kaynak No:7. Düzeltilmiş 2. Baskı KLİMUD-ÜRG.REH.09/20. Ver02.1. Ankara.
32. Zarakolu P, Ünal S. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar ve genel özellikleri. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Yayınevi, 2008: 1111-15.
33. Zarakolu P, Ünal S. Cinsel yolla bulaşan hastalıklar ve pelvik enfeksiyonlar. In: Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürkan T, Önderoğlu LS, Yaralı H, Yüce K (eds). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. 2. baskı. Ankara: Güneş Kitapevi Ltd. Şti., 2008: 817-827.
34. Gastrointestinal Sistem Örnekleri (GIS) Örnekleri, Kasım 2017, Ankara ISBN: 978-605-84108-6-2. KLİMUD Kaynak No: 12. Ankara
35. <https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/stool/moleculardx.html> Erişim tarihi: 15.05.2022
36. Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku ve Göz Örnekleri Kasım 2015, Ankara ISBN: 978-605-84108-0-0. KLİMUD Kaynak No: 8. Ankara.
37. <https://vetkontrol.tarimorman.gov.tr/samsun/Belgeler/Makaleler/GIDA%20KAYNAKLI%20PATOJEN%20BAKTER%20C4%B0LER%20HIZLI%20TANI%20Y%C3%96NTEMLER%20C4%B0.pdf> Ulaşım Tarihi: 29.05.2022
38. Aydın A, Mert Sudağdan M. Gıda Mikrobiyolojisinde Moleküler Biyolojik Tekniklerin Kullanımı ve Tiplendirme Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics* 2016;2(1): 1-9.
39. Tutar E, Köksalan E, Akyol İ. Gıdalarda bulunan mikrobiyal patojenlerin karakterizasyonunda Real Time PCR teknolojisi. *KSÜ Doğa Bil Derg* 2015;18(4): 26-39.