

MİKROBİYOLOJİK İNCELEME İÇİN ÖRNEK ALINMASI, LABORATUVARA ULAŞTIRILMASI VE SAKLANMASI

Zeynep GÜLAY, Ayşe YÜCE

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Mikrobiyolojik inceleme için gönderilen örneklerden klinikte yaralı olabilecek bir somuca ulaşılabilmesi; içm, örnek alımı, laboratuvara iletimi, saklanma ve tanımlama işlemlerinin doğru olarak uygulanması gereklidir. Bu nedenle, örnek kalitesinin önemini bu süreçlerde ilgili tüm tıbbi personelce bilinmesi gereklidir.

Bu derieme, örnek alımı, transportu ve saklanması ile ilgili bilinen kuralları ve özellikle yararsız işlemleri azaltacak bazı yenilikleri hatırlatmayı amaçlamaktadır.

Anahtar sözcükler: Tanışal mikrobiy loji, örnek alımı, örnek işlenmesi, mikrobiyolojik inceleme, tanışal bakteriyoloji

SUMMARY

In terms of clinically relevant results, specimens submitted for microbiological testing require proper handling from the time of collection through all stages of transport, storage and processing. Consequently, all members of the medical staff involved in these processes, must know the importance of maintaining specimen quality throughout the testing process.

This review provides the traditional guidelines for proper collection and handling of specimens with an emphasis placed on modifying practices to decrease unnecessary work.

Key words: Diagnostic microbiology, specimen collection, specimen handling, microbiological testing, diagnostic bacteriology

Mikrobiyolojik inceleme sonuçlarının klinik anlam taşıması ve zamanında elde edilebilmesi için örnek seçimi, alınması, laboratuvara ulaşılması ve gerektiğinde uygun koşullarda saklanması ile ilgili kuraliara uyuşması son derece önemlidir.

Genel Kurallar

i. Güvenlik önlemleri:

1. Örnek alımı sırasında mutlaka önlük giyilmeli, eldiven takılmalı, gerektiğinde maske veya gözlük ile yüz ve mukozalar korunmalıdır.
2. Örnek alımında kullanılan kaplar güvenli olmalı, sıvıları sızdırmamalıdır.
3. Enjektör ile alınan örnekler uygun bir tüpe konmalıdır. Eğer miktar az ise igne çıkarılmalı (tüm servislerde bu işlem için özel cihazlar bulunmaktadır), enjektörün ucu kapatılmalıdır.

İğnenin örtülmesi veya laboratuvara açılması sırasında kazalar olabilmektedir. Bu nedenlerle, enjektörlerin igne üzerindeyken laboratuvara gönderilmemesi gereklidir.

4. Damlatan veya ağızı açık kaplarda örnek gönderilmemeli, eğer gönderildi ise laboratuvara işlenmemeli ve hemen otoklavlanmalıdır. Örneğin uygun şartlarda tekrar gönderilmesi önerilir (1-3).

ii. Örnek alımı:

Mikrobiyolojik inceleme için örnek alımına ilişkin çeşitli prensipler bulunmaktadır. Bunlar arasında en önemlisi, örneklerin etken mikroorganizmanın en yüksek olasılıkla izole edilebileceği anatomik bölgeden steril şartlarda alınmasıdır (1,2,4,5). Bu konu ile ilgili genel kuralları ele alırsak;

1. Normal flora ile kontaminasyondan kaçınmak gereklidir. Bu özellikle flora elemanlarının da etken olarak görülebileceği kan, kemik, diğer doku ve vücut sıvısı kültürlerinin ve infeksiyon bölgesinin mukoza ve deri ile ilgili olduğu örneklerin almında kritik önem taşımaktadır (6). Tablo I'de flora elemanları ile kontamine olabilecek örnekler yer almaktadır.
2. Örnek uygun teknikler ve malzeme kullanılarak doğru anatomi bölgeden alınmalıdır.
3. Anaerobik kültürlerin alınacağı bölgelerin seçimi özellik taşımaktadır (Tablo II). Genel olarak biyopsi ve iğne aspirasyon örnekleri yeğlenir. Buna karşın anaerobik sürüntü örnekleri daha az istenir (7). Anaerobik örnekler ile ilgili önemli bir başka kural da *bu örneklerin asla buzdolabına konulmaması, eğer laboratuvara ulaşım gecikiyorsa oda sıcaklığında tutulmasıdır* (8).
4. Örnek miktarının yeterli olması gereklidir. Aksi halde yalancı negatif sonuçlar çıkabilemektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen bir sürüntü örneği veya bir kaç damla vücut sıvisından rutin kültür, anaerop kültür, fungal ve mikrobakteriyolojik inceleme istenmesi oldukça sık rastlanan bir sorundur. Boğaz kültürü veya üretral kültür dışında, genel olarak doku ve sıvı örnekleri sürüntü örneklerine yeğlenmektedir. Sürüntü örneği alımının kolay olmasına karşın bu şekilde alınan örnekler, örnek miktarını kısıtlamakta, kontamine olmakta, direkt boyalı preparat hazırlanması ve değerlendirilmesinde hatalara yol açmaktadır ve bazı mikroorganizmaların izolasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir (2,4).
5. Örnek üzerinde hasta adı, protokol numarası, kaynağı, tarih, alındığı saat, hastanın antibiyotik kullanıp kullanmadığı, eğer varsa şüphe edilen özel patojen, gönderen kişinin adı belirtilmelidir. Hasta, laboratuvar personeli için zararlı olabilecek bir patojen (ör.Brucella, Mycobacterium tuberculosis vb.) ile infekte ise, bu durumun da istek belgesinde belirtilmesi gerekmektedir (1,2,9).
6. Örnek güvenli, sızdırmayan ve etkenin saklanması uygun bir kap veya tüp içerisinde alınmalıdır. Hasta adı, örnek numarası gibi bilgiler kap üzerinde de belirtilmelidir (1-5).

Tablo I: Kommensal mikroorganizmalar ile kontaminasyon

İnfeksiyon bölgesi	Kontaminasyon kaynağı
Mesane	Üretra ve perine
Kan	Deri
Endometrium	Vagina
Orta kulak	Dış kulak yolu
Nazal sindirim	Nasopharynx
Deri altı bölgelerdeki infeksiyonlar ve yüzeyel yaralar	Deri ve mukozalar

1. kaynaktan alınmıştır.

Tablo II: Anaerobik ekim için uygun materyal seçimi

Kabul edilebilir	Kabul edilemez
Aspirasyon materyali (igne ve enjektör ile)	Bronkoalveolar lavaj sıvısı
Safra	Servikal sürüntü
Bartholin bezİ absesi	Endotrakeal aspirat
Kan	Kontamine endoservikal sürüntü
Kemik iliği	Lochia
Protected brush ile alınan bronkoskopik örnek	Nasofaringeal sürüntü
Kuldosentez materyali	Perine sürüntüsü
Fallop tüpü	Prostat sıvısı ve meni
RIA(Aktinomikoz için)	Balgam
Overler	İndüklenmiş balgam
C/S ile alınan plasenta materyali	Dışkı ^a ve rektal sürüntü örnekİ
Sinüs aspiratı	Boğaz sürüntüsü
Dışkı (Clostridium spp için)	Trakeostomi aspiratı
Cerrahi sırasında alınan sürüntü	Üretral sürüntü
Cerrahi işlem sırasında alınan doku örnekİ	Orta idrar örnekİ
Transtrakeal aspirat	Katater ile alınan idrar örnekİ
Endometriyal aspirasyon materyali	Vaginal sürüntü
Suprapubik aspirasyon ile alınan idrar	Vulva sürüntüsü

1. kaynaktan alınmıştır.

RIA: Rahim içi araç; C/S: sezaryen

a) Ayrıcalıklı durumlar: Yenidoğan botulizmi, Clostridium perfringens'e bağlı gıda zehirlenmeleri, antibiyotik ile ilgili psödomembranöz enterokolit (*C. difficile* için), bazı malabsorbsiyon sendromlarında ince barsak kolonizasyonunun gösterilmesi de gerekebilir.

iii. Laboratuvara ullaştırma ve saklama

koşulları:

- Tüm örnekler en kısa zamanda (<2 saat) laboratuvara ullaştırılmalıdır (1). Örnek işlenmemesi gecikecekse Tablo III'de belirtilen şartlarda saklanmalıdır. İşlenmemesi gecikecek olan bir çok örnek'in buzdolabında saklanması gereklidir (2). Soğutma işlemi, patojenlerin canlılığını ve göreceli sayılarını korur. Bu, özellikle semikantitatif ve kantitatif kültürler için (ör. idrar ve balgam kültürleri) önem taşımaktadır.
- Genel bir kural olarak bakteriyolojik inceleme için gönderilen örnekler 24 saatten uzun süre saklanmaz. Buna karşın, virüsler +4°C'de 2 veya

3 gün stabil kalmaktadır (1,2,10).

3. Taşınma süreleri genel olarak, örnek miktarı ile ilişkilidir. Az ise, 15-30 dk içinde laboratuvara ullaştırılmalıdır. Doku biyopsileri 25°C de anaerobik transport sistemi içerisinde 20-24 saat saklanabilir (1,7).

4. Bazı mikroorganizmalar çevre koşullarına özellikle duyarlıdır. Bunlar arasında *Shigella* spp. (derhal işlenenir), *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae* (soğuğa duyarlı) sayılabilir (1,2). *Bunlar yanısıra, beyin-omurilik sıvısı (BOS), genital sistem, göz, iç kulak örnekleri ve kan kültürleri asla buzdolabına konulmamalıdır*(2).

Tablo III. Bakteriyolojik inceleme amacıyla gönderilen örnekler için uygun transport ve saklanma koşulları

Transport sistemi	Saklanma ıslısı	
	-4 °C	25°C
Koruma sistemi yok	Otopsi materyali Bronşiyal lavaj i.v. katater BQS(viral inceleme) A.C biyopsi örneği Perikard sıvısı Balgam İdrar (katater ile, orta vs)	BOS (Bakteriler için) Sinovyal sıvı
Anaerobik transport		Abdominal sıvılar Actinomyces spp. Amniyon sıvısı Anaerobik kültür Safra Cul-de-sac Derin lezyon AC aspirat örneği Sinüs aspiratı Cerrahi doku Transtrakeal aspirat İdrar (suprapubik)
Doğrudan besiyerine ekim yapıldıktan sonra gönderilen örnek		Korneal kazıntı Kan kültürü Bordatella spp. (Regan-Lowe, Bordet-Gengou) Gonorreal örnek (JEMBEC) Vitreus sıvısı
Transport besiyeri ^a	Yanık yarası biyopsi örneği Campylobacter spp. için inceleme Dış kulak yolundan alınan örnekler Shigella spp. Vibrio spp. Yersinia spp.	Kemik iliği Bordatella spp. Servikal sürüntü Konjunktival sürüntü Corynebacterium spp. İç kulaktan alınan sürüntü Genital kültürler Nazofaringeal sürüntü Neisseria spp. Salmonella spp.
Üst solunum yolu örnekleri		

1. kaynaktan alınmıştır.

2. a: Stuart , Amies, Cary- Blair transport besiyerleri

AC: Akciger

iv. Örneklerin kabul veya red edilmesi ile ilgili kriterler:

Mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen örneklerin pek çoğunun uygun olmayan biçimde seçildiği, alındığı ve getirildiği gözlenmektedir. Bu örneklerin işlenmesi ve sonuçlarının bildirilmesi, hem yanlış bilgi nedeniyle hasta tedavisinin yanlış yönlendirilmesine hem de gereksiz zaman ve para kayiplarına neden olmaktadır. ABD'de tek bir kontamine kan kültür örneğinin maliyeti hasta başına \$ 5,000 arttığı bildirilmektedir (11,12). Bu nedenle laboratuvarlarda örnek alımı veya redi ile ilgili kuralların bulunması ve çalışanların bunlara kesin bir biçimde uyması gereklidir. Bu konuya ilişkin sıkça karşılaşılan sorunlar ve ele alınmalıyla ilgili öneriler aşağıda belirtilmektedir:

1. Örnek üzerinde numara, hasta adı vb. tanımlayıcı bilgi taşıyan bir etiketin bulunmaması: Örneğin işlenmemesi, gönderen hekim veya hemşire ile ilişkiye geçilmesi gereklidir. Örnek invazif olmayan bir işlem ile alınabiliyorsa (idrar, balgam, boğaz sürüntüsü vb.) yeniden gönderilmesi önerilir. Invazif bir örnekte ise (ığne aspirasyonu, vücut sıvıları, dokular vb.), ancak örneği alan ve gönderen sorumlu hekime durum bildirildikten sonra işlem uygulanır. Sorun ve durumu düzeltmek için yapılan uygulamalar raporda belirtilir (1,2,4).
2. Örneğin laboratuvara iletildesinde gecikme: Örneklerin alımdan sonra 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılması gerekmektedir (1,13,14). Bu açıdan en fazla sorun ameliyat sırasında alınan

örneklerde yaşanmaktadır (14). Herhangi bir transport sistemine konulmamış bir örneğin alınışından sonra 12 saat aşıkın süre geçti ise kesin olarak red edilmesi gereklidir (2). Daha kısa süreli gecikmelerde de genellikle işlem uygulanmaz, konu sorumlu kişilere bildirilir ve örneğin tekrar gönderilmesi önerilir. Sorun, rapor kağıdında "Örnek uzun süre bekletildikten sonra getirilmiştir" şeklinde belirtilmelidir (1).

3. Örneğin içine konduğu kabin uygun olmaması (Sızdırın, çatlamış, kırılmış, steril olmayan vb): Örneğin işlenmemesi, durumun gönderen kişiye bildirilmesi ve yeni örnek istenmesi gereklidir. Sorun ve ilgili uygulamalar rapor kağıdında belirtilir (1-3).
4. Örneğin veya alım ve gönderilme koşullarının istenilen test için uygun olmaması (ör. aerop şartlarında getirilmiş bir örneden anaerobik kültür istenmesi, fiksatif içerisinde örnek gönderilmesi gibi): Örnek işlenmemeli, örneği gönderen kişiyle temasa geçilerek sorun aktarılmalı, istek doğrulattırılmalı ve belirtilen test için uygun şartlarda yeni örnek istenmelidir (1,2,14).
5. Örneğin aynı gün içerisinde aynı işlem için ikinci kez gönderilmesi (14): Bu özellikle hasta ile ilgili birden fazla hekim bulunduğuunda gözlenen bir sorundur. Bunun yanısıra, örneğin laboratuvara gönderildiğinden emin olmamak, hastanın sağlık durumunun endişe verici olması da tekrar örnek gönderilmesine neden olmaktadır. Kan kültürleri haricinde böyle bir istek ile karşılaşıldığında ikinci örneğin işlenmemesi, örneğin uygun bir transport besiyeri içerisinde alınarak uygun ısında saklanması gereklidir. Örneği gönderen kişi aranır ve

örneğin tekrar gönderildiği açıklanır. Sorun rapor kağıdında belirtilir (1). İstek üzerine daha nitelikli bir örneğin gönderilmesi duplikasyon olarak kabul edilmemelidir (2,14). Bunun yanı sıra, bazı örneklerin de her gün veya gün aşırı gönderildiği gözlenmektedir. Böyle bir durumun bilimsel olarak endike olduğu klinik tablolar son derece kısıtlıdır ve gereksiz ekonomik yük getirmektedir. Bartlett ve arkadaşlarının çalışmasında (14), kan kültürleri dışında aynı gün veya birbirini izleyen günlerde aynı örneğin aynı istekle gönderilmesinin laboratuvara maliyetinin yıllık 17.773 dolar, hastaya (veya devlete) maliyetinin ise 93.600 dolar olduğu ve servislerle temas geçilmesi sonucunda bir yıl sonra bu değerlerin 10.094 ve 41.472 dolara düşürülebildiği belirtilmektedir.

6. Örneğin gözle görülebilir biçimde kontamine olup (ör: Laboratuvara getirilen kan kültür sişesinde *Bacillus* spp. ye ait yüzeyel zar varlığı) (2): İlgilz kişiye sorun belirtildikten sonra örneğin tekrar istenmesi ve konunun rapor

kağıdında belirtilmesi gereklidir.

Bunlar dışında, örnek ile ilgili yazılı istek belgesinin bulunmaması, örneği alan veya gönderen kişinin adının istek belgesinde bulunmaması sık rastlanan ve ilgili servis ile temas kurularak çözümlenmesi gereken sorunlardır.

Kısaca özetlenecek olursa, bir örneğin reddedilmesini gerektiren durumlarda, sorunu rapor kağıdında belirtmek ve örneği alan kişiye bildirmek koşuldur. Bunun yanı sıra, bir laboratuvarın örnek reddi ile ilgili kriterleri tüm çalışanları tarafından bilinmeli ve katı bir şekilde uygulamalıdır. Bu şekilde uygulanan bir eğitim ile bu konudaki sorunların sayıca azaldığı bildirilmektedir (14-16).

v. Örneğin alınmasının özendirilmemesinin gerekli olduğu durumlar:

Bazır örnek, pek uygur olmasa da işlenilebilir. Bazı örnekler ise nasıl gönderilirse gönderilsin klinik açıdan önemli bir sonuç vermez (Tablo IV).

Tablo IV. İşlenmesinin klinik açıdan yararsız olduğu örnekler

Örnek, yöntem Alternatif yöntem

Yanık yarası, sürüntü	Doku veya aspirasyon materyali gönderilmeli
Kolostomi, akıntı	İşlenmemez
Dekubitus, sürüntü	Doku veya aspirat gönderilmeli
Foley kateter ucu	İşlenmemez
Yenidogan gastrik aspirat	İşlenmemez
Lochia	İşlenmemez
Perirektal abse, sürüntü	Doku veya aspirat gönderilmeli
Gangrenöz doku, sürüntü	Doku, aspirat gönderilmeli
Periodontal lezyon, sürüntü	Doku, aspirat gönderilmeli
Variköz ulcer, sürüntü	Doku veya aspirat gönderilmeli
Kusmuk	İşlenmemez

Çeşitli örnekler ile ilgili örnek alın kuralları

Kan kültürleri

Bakteriyemi ve fungeminin kısa sürede ve doğru olarak tanımlanması klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının en önemli işlevlerindendir. Laboratuvara ulaşmadan önce yer alan birçok değişken kan kültürlerinde mikroorganizma izolasyonunu, kontaminasyon oranlarını ve hekimin kültür sonuçlarını doğru olarak yorumlayabilmesini etkiler. Bu nedenlerle, kültür için kan örneklerinin uygun şartlarda alınması ve laboratuvara ulaştırılması önem taşımaktadır(17-21).

Kan örneklerinin alınması Kan kültür sonuclarının klinik açıdan anlamlı olması ve kan kültürlerinin maliyeti, çeşitli değişkenlere bağlıdır. Bunlar arasında en önemli, deri flora bakterileri ile kontamine olan kültür sayısıdır(12,22). Genel olarak, kan kültürlerinin sadece %8-9'unda gerçek bir bakteriyemi veya fungemi etkeni olabilecek bir mikroorganizma izole edilebilmektedir. Bu nedenle, kontaminasyonların enaza indirilmesi gereklidir.

Ancak, en iyi koşullarda bile kültürlerin %1-3'ü kontamine olmaktadır. Eğitim hastanelerinde ve acil servislerde kontaminasyon oranları daha da arımaktadır. Kontaminasyon olmaması için asepsi kurallarına kesin olarak uymalıdır. Kan örneklerinin alınması için kalıcı vasküler kataterler kullanılmamalıdır (23). Spitalnic ve arkadaşlarının çalışmasında (11), kan örneği kültür şişesine konmadan önce iğnenin

Saklama, örneklerin çoğu için bir başka test amacı ile depolama anlamındadır.)

değiştirilmesinin kontaminasyon oranlarını azalttığı bildirilmesine rağmen, bu uygulamanın iğne batma kazalarını artırdığı ve iğne değiştirilmesinin yararı olmadığını gösteren çalışmalar (24-26) da bulunduğu için bu konu halen tartışmalıdır. Deri temizliği için, genellikle, bir iyodofor veya tentürdiyon tek başına veya izopropil alkol ile birlikte kullanılması önerilmektedir(27-29). Burada kullanılan ajandan çok dezenfeksiyon tekniği önem taşımaktadır (2).

Kan alınacak deri bölgesinin dekontaminasyonu (1)

- a. Bölge %70'lük alkol ile temizlenir
- b. İyot bileşiği ile, dairesel olacak şekilde silinir.
- c. İyot bileşiginin kuruması beklenir.
- d. Temizlenen bölge artık palpe edilmez.
- e. Kan alınır
- f. Derideki iyot alkol ile temizlenir.

Iyodoforların maksimal antiseptik etkinliği için deri ile 1.5-2 dakika temas etmesi gereklidir. Oysa, tentürdiyonun etkisi bundan daha kısa sürede görülmektedir. Bu nedenle, özellikle kontaminasyon oranının yüksek olduğu, örneklerin tıp fakültesi öğrencileri tarafından aldığı kliniklerde deri antisepsisi için tentürdiyon kullanılmasının daha uygun olacağı belirtilmektedir (27).

Örnek miktarı Erişkinler için her kültür şişesine 10- 20 ml kan alınması gerekmektedir(30). Genellikle bu miktarlarda kan alınması halinde 2-3 kan kültürü ile baktereminin sürekli veya aralıklı olduğu septik episodların %90'ını tanımlayabilmektedir (31,32). Endokarditlerde normal flora bakterileri de etken olabileceği için 3-4

kültür alınması önerilmektedir. Endokardit için bir seferde 6 kan kültürü uygulamasının izolasyon oranlarını artırmadığı, buna karşın nozokomiyal anemi gelişmesine ve gereksiz maliyet artışına neden olduğu bildirilmektedir (2).

Yenidoğan veya çocukların için önerilen miktarlar ise 1-5 ml/set.dir (Yenidoğan, 1-2 ml; 1ay- 2yaş 2-3 ml; 3 yaş ve üzeri, 3-5 ml.)(33,34). Adolesan yaşı grubunda 10-20 ml örnek alınabilir (27). Bunun yanısıra, kan:besiyeri oranının 1:5-1:10 olması önerilmektedir (35,36).

Kültür sayısı Fungal veya rutin bakteriyel kültürler için tek örnek gönderilmesi yetersizdir (37). 24 saat içerisinde alınacak örnekler ile ilgili sınırlı的信息 (38). Bu konudaki tek ayrıcalık AIDS'lı hastalarda görülen yaygın Mycobacterium avium-intercellulare infeksiyonlarıdır. Bu hastalarda, tek örnek mikrobaktereminin tanımlanması için %98 oranında yeterli olmaktadır (39).

Genel olarak;

Akut sepsiste, 10 dakika içerisinde, değişik bölgelerden olmak üzere 2-3 kan kültürü;

Akut endokarditte, 1-2 saat içerisinde 3 farklı bölgeden 3 kan kültürü;

Subakut endokarditte, 15 dakika ara ile 3 ayrı bölgeden 3 kan kültürü (24 saatte üreme saptanmazsa tekrar).

Nedeni bilinmeyen ateş tablosunda, birer saat ara ile ayrı bölgelerden 2-3 kan kültürü (24 saatte üreme saptanmazsa tekrar), alınması önerilmektedir (1).

Zamanlama Kan kültürü için örneklerin yukarıda belirtilen aralıklarla alınması sürekli baktereinin gösterilebilmesi açısından yararlı olmaktadır. Ancak, 24 saatlik zaman aralığında kültürü

yapılacak kan örneklerinin aynı anda veya aralıklarla alınmasının etken izolasyon oranlarını önemli ölçüde etkilemediği de belirtilmektedir (27).

Transport ve saklama koşulları Kan kültürlerinin 2 saat içerisinde, oda sıcaklığında tutularak laboratuvara ulaştırılması gereklidir. Eğer ulaşım gecikmeliyorsa kültür asla buzdolabına konulmaz, oda sıcaklığında en fazla 24 saat bekletilebilir (1). Lizis-santrifügasyon sistemlerinde (Isolator sistemi) 8 saatlik aşırı gecikme mikroorganizma izolasyon oranlarını belirgin ölçüde azaltmaktadır (40).

Intravenöz kateter

Örnek alımı Kateter etrafındaki deri, alkol ile temizlenir. Kateter aseptik olarak çıkarılır, distal ucundan 5 cm. lik bir kısmı kesilerek direkt olarak steril, kapaklı bir tüpe konur. Kuruması için kısa sürede laboratuvara ulaştırılır.

Transport ve saklanma koşulları Kateterlerin oda sıcaklığında tutularak 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılması önerilmektedir. Kateter kültürleri semikantitatif olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, eğer ekim yapılamayacak ise örnek, 4°C'de 24 saat saklanabilir (41,42).

Beyin-omurilik sıvısı (BOS)

Örnek alımı Örnek alınacak bölge %2lik tentürdiyot ile temizlenir. Mandrenli lumbar ponksiyon iğnesi L3-L4, L4-L5, veya L5-S1 aralığından sokulur. Subaraknoid boşluğuna gelindiğinde, mandren geri çekilir, 3 sterili, kapaklı tübüne her birine 1-2 ml BOS alınır (1).

Örnek miktarı Bakteriler için ≥ 1 ml; funguslar için ≥ 2 ml; Asidorezistan bakteriler için ≥ 2 ml; viruslar için ≥ 1 ml örnek alınmalıdır. Genel

olarak BOS kültürleri ile eşzamanlı olarak kan kültürü alınması da önerilir. Eğer BOS örneği tek bir tübe alınabildi ise bu, gecikmeden, önce Mikrobiyoloji laboratuvarına götürülür. Eğer birden fazla tübe örnek alınabildi ise 2. tüp Mikrobiyoloji laboratuvarına götürülür (4,43). Transport ve saklanma koşulları Bakteriyel kültür için alınan BOS örneği oda温sında, 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılır. Menenjit etkeni olan bakteriler genel olarak çevresel koşullara duyarlı türler olduğu için en kısa zamanda laboratuvara ulaştırılması ve burada da gecikmeden işlem uygulanması gereklidir. Hatta direkt hasta başı ekim yöntemleri önerilmektedir. Bakteriyel kültürler için alınan BOS örnekleri asla buzdolabına konmaz, örnek saklanacaksa oda温sında tutulur (<24st). Viral kültür yapılacaksa, örnek 4°Cde, 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılır ve 4°Cde 72 saat saklanabilir (4,5,43,44).

Solunum sistemi örnekleri:

Alt solunum yolu örnekleri (Bronkoalveolar lavaj (BAL), protected brush, tracheal aspirat)
Örnek alımı Aspirat veya BAL örneği steril bir tüpe alınır. Brush kateter steril serum fizyolojik (SF) içeren bir tüpe konulur. Sıvı örneklerin 1ml'den fazla hacimde olması gereklidir.

Transport ve saklanma koşulları Örnek oda温sında, 2 saat içerisinde Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmalıdır. Kantitatif kültür yapılmışından saklanması için 24 saat, 4 °C'de tutulabilir (1).

Balgam

Örnek alımı Örnek hekimin veya hemşirenin gözetiminde alınmalıdır. Örnek alınmadan önce

hastanın ağını su ile çalkalaması istenir. Hastanın, derin bir öksürükle, alt solunum yolu örneği (postnazal akıntı değil) çıkartması istenir. Transport ve saklanma koşulları Örnek steril bir kap içerisinde en az 1 ml olacak şekilde alınır. Oda温sında 2 saat içerisinde laboratuvara ulaşılır. Saklanacaksa buzdolabında (4 °C) 24 saat tutulabilir (1,2,4).

İndüklenmiş Balgam

Örnek alımı Hasta dişlerini ve dilini fırçalandıktan sonra ağını su ile çalkalar. Bir nebulizatör aracılığı ile hastanın 25 ml. %3-10'luk steril tuzlu su inhale etmesi sağlanır. İndüklenmiş balgam örneği steril bir kap içerisinde toplanır.

Transport ve saklanma koşulları Balgam için belirtildiği gibidir. Örnek alındıktan sonra Histoplasma capsulatum ve Blastomyces dermatitidis gibi sistemik mikoz etkenlerinin ancak kısa sürelerle canlılıklarını koruyabildiği umutulmamalıdır (1).

Primer olarak balgam ve endotrakeal aspirat örneklerine uygulanmasına rağmen tüm alt solunum yolu örnekleri için geçerli olabilecek ve örnek kalitesinin değerlendirmesinde kullanılan bazı kriterler bulunmaktadır (Tablo V) (45-47). Bu amaçla mikroskopun küçük büyütmesi (x10) ile Gram boyalı preparatta nötrofil ve epitel hücreleri sayıları saptanmaktadır. Nötrofil sayıları hastanın klinik tablosuna (nötropeni, Legionella pnömonisi) göre değişimdiği için bu değerlendirmede esas olarak, ağız sekresyonları ile kontaminasyonun bir göstergesi olan epitel hücre sayıları kriter olarak alınması önerilmektedir (2,14). Genel olarak, Gram boyalı preparatta küçük büyütme ile > 10 yassı

epitel hücresi görülmeli örneğin vasıfsız olduğuna işaret etmektedir. Böyle bir durumda işlem uygulanmaksızın noninvazif örneklerin yeniden gönderilmesi istenmelidir. Invazif girişim ile alınan örneklerde ise sorumlu hekim ile konuşulduktan sonra işlem uygulanır. Mikrobakteriyel inceleme için gönderilen örneklerde benzer kriterlerin uygulanması önerilmemektedir.(48).

Üst solunum Yolu örnekleri:

Ağız

Örnek alımı Örnek alınmadan önce bir eküyon yardımı ile lezyon üzerindeki sekresyonlar ve debriş temizlenir. İkinci bir eküyon ile örnek alınır. Doku biyopsi veya iğne aspirasyon örnekleri, sürüntü örneklerine yeğlenir.

Transport ve saklama Sürüntü alındı ise eküyon bir transport besiyerine konularak, oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır. Örnek transport sistemi içerisinde, oda ısısında, 24 saat saklanabilir (1,4).

Tablo V. Balgam örneklerinin reddedilmesinde kullanılan kriterler

Bartlett (45,46)

Nötrofil sayısı/alan (x10)	Değerlendirme
<10	0
10-25	+1
>25	+2
Mukus varlığı	-1
Yassi epitel hücresayısı/alan(x10)	
10-25	+1
>25	-2
	Toplam

Nötrofil ve epitel hücrelerinin sayılarının belirlenmesinde x10 büyütme ile 20-30 alan incelenerek, toplam sayının ortalaması alınmaktadır. Son skorun ≤ 0 olması, tükürük ile kontaminasyonun ve/veya yangsal yanıt olmadığını göstergesidir.

Murray ve Washington (47)

Grup	Yassi epitel/ alan(x10)	Nötrofil/ alan(x10)	Kültür yapılsın mı?
1	>25	<10	Hayır
2	>25	10-25	Hayır
3	>25	>25	Hayır
4	10-25	>25	Hayır ^a
5	<10	>25	Evet

a: Bazı laboratuvarlar bu durumda ekim işlemi uygulamaktadır.

Burun

Anterior nares kültürleri stafilocokal veya streptokokal taşıyıcılığın saptanmasında veya nazal lezyon varlığında önerilmektedir.

Örnek alımı Steril SF ile ıslatılmış eküvyon naresten sokularak yaklaşık 2 cm ilerletilir. Eküvyon döndürülerek nazal mukozaya sürürlür. Taşıma ve saklama koşulları Sürtüntü örneği transport besiyerine yerleştirilir. Oda ısısında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır. Saklanacaksa oda ısısında 24 saat bekletilebilir (1,4).

Nazofarinks

Örnek alımı Kalsiyum alginatlı eküvyon burun yolu ile posterior nazofarinkse ilerletilir. Sekresyonları absorbe etmesi için eküvyon 5 saniye döndürülerek yerinde tutulur. Eküvyon çıkarılır ve direkt besiyerine ekim yapılır veya bir transport besiyerine yerleştirilir.

Transport ve saklama koşulları Ekim yapılmış plaklar oda ısısında 15 dakikada, eküvyonlar ise 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır. Saklanacak ise oda ısısında 24 saat bekletilebilir (1,4).

Boğaz

Örnek alımı Dil basacağı yardımı ile dil aşağıya bastırılırken eküvyon ile posterior farinks, tonsiller, yanlılı görünen diğer alanlardan örnek alınır. Akut epiglottit tablosunda boğaz kültürü alınması kontrendikedir.

Transport ve saklama koşulları Eküvyon bir transport besiyerine yerleştirilir. Oda ısısında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır. Saklanacaksa oda ısısında 24 saat bekletilebilir (1,2).

Kulak

İçkulak

Örnek alımı Timpanosentez ile örnek alımı

ancak komplike, rekürran veya kronik persistant otitis media da önerilmektedir. Eğer zar sağlama diş kulak yolu temizlendikten sonra, sıvı bir enjektör ile alınır. Zar rüptüre olmuşsa, fleksibl gövdeli eküvyonlar ile örnek alınabilir. Eküvyon steril bir tüp içerisinde, transport besiyerine veya anaerobik sistem içerisinde yerleştirilebilir.

Transport ve saklama koşulları Örnek oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır. 24 saatte kadar oda ısısında tutulabilir (1,).

Dış kulak

Örnek alımı Kulak kanalında bulunabilecek debri veya kabuklar ıslak bir eküvyon yardımı ile temizlenir. İkinci bir eküvyon dış kulak yolunun duvarına iyice sürülerek örnek alınır. Yüzeyel örnek alınırsa streptokokkal selülit saptanamayabilir.

Transport ve saklama koşulları Eküvyon transport besiyerine aktarılırak oda ısısında, 2 saat içerisinde laboratuvar ulaştırılır. 4°Cde 24 saatte kadar tutulabilir (1).

Göz

Konjunktiva

Örnek alımı Steril SF ile ıslatılmış eküvyonlar ile her iki konjunktivadan ayrı ayrı sürüntü örneği alınır. Örnek alınır alınmaz kanlı veya çukulataagara ekilir. Ekim işleminden sonra eküvyonlar lama sürülerek preparat hazırlanır. Her iki konjunktivadan da örnek alınmasının nedeni normal florayı değerlendirebilmektir.

Taşınma ve saklama koşulları Plaklar oda ısısında 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaşılır. Eküvyonlar transport besiyerine konuldu ise oda ısısında 24 saat tutulabilir (49,50).

Korneal kazıntı

Örnek alımı Yukarıda belirtildiği gibi korneal sürüntü örnekleri alınır. 2 damla lokal anestetik damlatılır. Steril bir spatül ile lezyon veya ülser kazınarak örnek alınır. Örnekler direkt olarak kanlı beyin kalp veya çukulata agar ve mikotik besiyerine ekilir. Kalan materyalden preparat hazırlanır. Korneal sürüntü örnekleri lokal anestetik damlatılmadan önce alınmalıdır. Kazıntı örnekleri ise, anestetik uygulanmasından sonra da alınabilir.

Transport ve saklama koşulları Örnekler oda ısısında 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılır. 24 saat oda ısısında tutulabilir (49,50).

Abse

Yüzeyde bulunabilecek eksüda steril fizyolojik tuzlu su veya %70'lik etanol ile silinerek temizlenir. Doku veya aspirasyon materyali her zaman sürüntü örneğine yeğ tutulmaktadır. Sürüntü örneklerinin kullanılmasının gerektiği durumlarda iki örnek alınır. Bunlardan biri ekim için, diğer Gram boyalı preparat için kullanılır. Sürüntü örnekleri Stuart veya Amies transport besiyeri içerisinde korunmalıdır (1,2,4,7).

Açık abse: Mümkinse aspirasyon materyali alınır. Alınamıyorsa, eküyon lezyonun içine sokularak sağlam dokuya komşu kenardan örnek alınır. Eküyon transport besiyerine konur. Oda ısısında, 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. En fazla 24 saat, oda ısısında saklanabilir. Aynı kaynaktan günde 1 örnek alınabilir.

Kapalı abse: Enjektör ile aspirasyon sıvısı alınır. Tüm materyal aseptik şartlarda bir anaerobik transport sistemine aktarılır. En az 1

ml örnek alınmalıdır. Transport için anaerobik bir sistem kullanılır. Laboratuvara ulaşım ve saklanma koşulları açık abseler için önerildiği gibidir. Kapalı abselerde, yüzeyel örnek alınması infeksiyon ile ilişkisiz kolonizan bakterilerin izole edilmesine neden olur.

İsırık yarası

Kurallar abseler için önerilenlere benzerdir. Hayvan isırıklarından sonra geçen süre 12 saatı aşmışsa, kültür yapılması önerilmez. Ayrıcalıklı durumlar yaranın el veya yüz bölgesinde bulunması veya infeksiyon belirtilerinin saptanmasıdır (1,4).

Selülit

Örnek alımı Örnek alınacak bölge steril SF veya %70lik alkol ile temizlenir. Yangının maksimal olduğu bölgeden (absenin aksine kenarlardan çok lezyonun ortasından) enjektör ile aspirasyon materyali alınır. Enjektör içerisinde az miktarda steril SF çekilir. İğne özel cihazlar ile çıkartılır ve enjektörün ağızı kapatılarak laboratuvara ulaşırılır.

Transport ve saklama koşulları Örnek oda ısısında tutularak 15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Oda ısısında en uzun 24 saat saklanabilir. Kültürün tekrarlanması önerilmez (1,2,4,51).

Selülit kültürlerinden potansiyel bir patojen ancak %25-35 oranında izole edilebilmektedir.

Dekubitus ülseri

Örnek alımı Yüzey steril SF ile temizlenir. Biopsi yapma olasılığı yoksa, lezyonun tabanına iyice bastırılarak sürüntü örneği alınır.

Eküvyon uygun transport besiyerine (veya anaerobik transport sistemine) konulur.

Transport ve saklanma koşulları Örnek oda ısısında, 2 saat tutularak laboratuvara ulaştırılır. Uygun transport sistemi içerisinde, oda ısısında, 24 saat saklanabilir. Aynı gün içerisinde aynı bölgeden yalnız bir örnek gönderilmesi yeterlidir.

Dekubitus ülseri kültürleri klinik açıdan fazla anlam taşımamaktadır. Bu nedenle alınmaları önerilmez (1,7).

Gangrenöz doku, fistüller, yara, pilonidal kist
Abse gibi uygulama yapılır.

İdrar

Orta idrar örneği, kadın hasta

Örnek alımı Üreteral alan sabun ve su ile temizlenir. Islak pedlerle tekrar silinir. Orta idrar örneği steril tüpe veya kaba alınır. Örnek miktarının en az 1 ml olması istenir.

Transport ve saklama koşulları Herhangi bir transport besiyeri olmaksızın oda ısısında en fazla 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır. Daha uzun süreler için (24 saatte kadar) 4°Cde tutulur (1,2,4,5,14). Bir hastadan günde en fazla bir örnek gönderilir. Örneklerin hergün gönderilmesi halinde laboratuvara antibiyogram testlerinin koagülaz (-) Staphylococcus spp. ve P. aeruginosa için her gün, Enterobacteriaceae üyeleri ile S.aureus için 3 günde bir uygulanması önerilmektedir. Örneğin her gün gönderildiği durumiarda birbirine benzer mikroorganizmaların üremesi halinde tam identifikasiyona gidilmez. Aynı gün içinde gelen iki örnekten sadece ilki işleme alınır (6,52).

Orta idrar örneği, erkek hasta

Örnek alımı Glans sabun ve su ile temizlendikten sonra, bölge ıslak pedler ile silinir. Orta idrar örneği steril tüp veya kap içeriye alınır.

Diger özellikler yukarıda belirtildiği gibidir.

Kateter ile

Üreteral floranın mesac içeriye girmesinden kaynaklanabilecek potansiyel kontaminasyon riski nedeniyle rutin idrar kültürleri için önerilmemektedir.

Örnek alımı Üreteral bölge sabun ve su ile yıkandıktan ve ıslak pedler ile durulandıktan sonra, Kateter aseptik şartlarda mesaneye sokulur. İlk 15 ml akıtıldıktan sonra gelen idrardan steril kap içeriye örnek alınır (1,4).

Diger özellikler yukarıda belirtildiği gibidir.

Sürekli idrar kateteri

Örnek alımı Katetrden örnek alınacak bölge %70 alkol ile silinerek dezenfekte edilir. Enjektör ile 5-10 ml örnek alınır ve steril bir tüp veya kap içeriye aktarılır (4).

Diger özellikler idrar kültürleri için belirtildiği gibidir.

Foley kateter ucu

Distal uretral flora ile kontamine olduğu için herhangi bir işlem uygulanmaz (1).

Genital Örnekler:

Genital lezyon

Örnek alımı Lezyon steril SF ile temizlenir. Lezyon yüzeyinde buiunabilecek kurut vb. steril bir bisturi yardımcı ile temizlenir. Transüda toplanması beklenir. Steril eküvyon ile örnek alınır. Eğer karanlık alan incelemesi yapılacak ise; tekrar transüda toplanması beklenip lam

transüdaya değerlendirilir, lamel ile kapatılıp derhal laboratuvara götürürler.

Transport ve saklama koşulları Eküvyon bir transport besiyeri içine yerleştirilerek, oda ısısında 2 saat içinde laboratuvara ulaştırılır. Saklanacaksız 24 saatte kadar oda ısısında bekletilebilir (1,2,4).

Prostat akıntısı

Örnek alımı Glans sabun ve su ile temizlenir. Prostat masajı uygulanarak, akıntı steril bir eküvyon ile toplanır.

Transport ve saklama Eküvyon transport besiyerine yerleştirilir ve 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır. Süre uzayacaksız aynı koşullarda 24 saatte kadar bekletilebilir.

Masajdan önce ve hemen sonra idrar örneği alınması ile klinik açıdan daha anlamlı sonuçlar elde edilebilmektedir (4).

Vagina

Örnek alımı Akıntı veya sekresyonun fazlası temizlenir. İki eküvyon ile örnek alınır.

Transport ve saklama koşulları Eküvyon transport besiyerine konularak oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvar ulaştırılır. Saklanacak ise aynı koşullarda 24 saatte kadar tutulabilmektedir.

Kültür için RIA gönderilecek ise tümünün steril bir kap içeresine konulması ve oda ısısında laboratuvara gönderilmesi gereklidir (1).

Cul de-sac, endometrium, gebelik materyali, amnion sıvısı, Bartholin bezı absesi kültürü için aspirasyon materyali veya doku (gebelik materyali) örneklerinin alınması ve amniyon sıvısının oda sıcaklığında 15 dakika, diğer örneklerin 2 saatte, anaerobik bir transport

sistemi içerisinde laboratuvara ulaşılması önerilmektedir (1,4,7).

Serviks

Örnek alımı Serviks lubrikant uygulanmamış spekulum yardımı ile görülür. Bir eküvyon ile mukus ve/veya sekresyonlar temizlenir. Bu eküvyon atılır. İkinci bir eküvyon endoservikal kanala sokularak örnek alınır ve transport besiyerine aktarılır.

Transport ve saklama koşulları diğer genitallerde önerildiği gibidir (1).

Dışkı

Rutin kültür

Dışkı kültürleri mikrobiyolojik inceleme istenen materyaller arasında önde gelenlerindendir. Enterik infeksiyonların tanımlanabilmesi için klinik görevlileri ile laboratuvarın işbirliği içinde olması gereklidir. Yapılan bir çok çalışmada, hastaneye yatanın üzerinden 3-4 gün geçtikten sonra diyare gelişen hastalarda rutin dışkı kültürlerinin ve parazitolojik incelemenin minimal önem taşıdığını gösterilmiştir (53-61). Bu durum hem erişkinler hem de çocuk hastalar için geçerlidir. Hastanede yatarken diyare gelişen hastaların dışkı örneklerinde Clostridium difficile aranması önerilmektedir (62). Buna benzer şekilde akut diyare için üç veya daha fazla örnek gönderilmesinin de gereksiz olduğu, akut diyareli hastalarda patojenlerin çoğunun (parazit veya bakteri) ilk örnekte saptanabildiği belirtilmektedir (56,59,61,63). Ancak bunun aksini savunan çalışmalar da (64) bulunduğu için mikrobiyoloji laboratuvarlarının bu açıdan kendi kriterlerini belirlemesi gereklidir. İlk

örnekte yapılan testler negatif olduğu halde hastanın bulguları sürerse tekrar örnek gönderilmesi önerilebilir.

Örnek alımı Rutin kültür için örnek (>2 gr) direkt olarak, temiz, sızdırmayan, kapaklı bir kaba alınır.

Transport ve saklanma koşulları Örnek 1 saat içerisinde oda ısısında laboratuvara ulaştırılmalıdır. Eğer süre uzayacak ise enterik transport besiyerleri içeresine alınmalıdır. Transport besiyerinde oda ısısında 48 saat saklanabilir. Korunmamış örnekler ise, 4°C'de 24 saatte tutulabilir (1,2,4).

Clostridium difficile için

Sıvı veya şekilsiz dışkı örneği (>5 ml) temiz, kapaklı bir kap içeresine alınır. Yumuşak, şekilsiz dışkı kap içeresinde kabin şeklini alan dışkıdır.

Örnek oda ısısında 1 saat içerisinde, 4°C'de 1-24 saatte, -20°C'de 24 saati aşabilen sürelerde laboratuvara götürülür (53,62).

E.coli O157:H7 için

Kanlı veya sulu dışkı örneği temiz, kapaklı kap içerisinde laboratuvara gönderilir. Transport ve saklanma şartları rutin kültürler için belirtildiği gibidir.

Hastanın bulgularının başlangıcından itibaren 6 gün içerisinde gönderilen kanlı veya sulu dışkı örneklerinden izolasyon şansı en fazladır (53).

Rektal sürüntü

Rektal sürüntü örnekleri, *Neisseria gonorrhoeae*, *Shigella*, *Campylobacter*, HSV, anal *S. pyogenes* ve *Enterococcus* taşıyıcılığının saptanmasında kullanılabilir.

Bu amaçla, eküvyon anal sfinkterin 1 cm. ilerisine kadar sokular, yavaşça çevrilerek örnek alınır. Örnek transport besiyeri içine konulur. Oda ısısında 2 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılır. Saklanacaksa oda ısısında 24 saat tutulabilmektedir (1).

Gördüğü gibi, mikrobiyolojik test sonuçlarının doğru ve klinik açıdan yararlı olabilmesi için örnek alım, transport ve saklama işlemlerinin doğru olarak uygulanması gereklidir. Bu işlemlerin uygun olduğu örneklerde, kontaminasyon oranları daha az olmakta, gerçek etken izolasyon şansı artmaktadır. Dolayısıyla, konu ile ilgili tüm tıbbi personelin örnek kalitesinin önemini anlaması ve bu derlemede de özetlenen kurallara uyması gereklidir.

KAYNAKLAR

- Miller MJ, Holmes HT. Specimen collection, transport, and storage. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaffer MA, Tenover FC, Yolken RH, ed. Manual of Clinical Microbiology, 6th edition. Washington DC: Am. Society for Microbiology. 1995:19-32
- Wilson ML. General principles of specimen collection and transport. Clin Infect Dis 1996; 22: 766-777 .
- McVicar JW, Suen J. Packaging and shipping biological materials. In: Fleming DO, Richardson JH, Tults JL, Vesley D, eds. Laboratory safety: principles and practices. 2nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology. 1995:239-246
- Shea YR. Specimen collection and transport . In: Isenberg HD, ed. Clinical procedures handbook, Vol 1. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992: 111-1.130
- Woods GL, Washington JA. The clinician and the microbiology laboratory. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of

- infectious diseases. Vol 1. 4th ed. New York : Churchill Livingstone; 1995: 169-199.
6. Bartlett RC. Quality control. In: Lennette EH, Balows A, Hausler Jr WJ, Shadomy HJ, eds. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1985:14-23
 7. Holden J. Collection and transport of clinical specimens for anaerobic culture. In: Isenberg HD, ed. Clinical procedures handbook. Vol 1. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992: 221-227
 8. Hagen JC, Wood WS, Hashimoto T. Effect of temperature on survival of *Bacteroides fragilis* subsp. *fragilis* and *Escherichia coli* in pus. *J Clin Microbiol* 1977; 6:567-570
 9. Cook JH, Pezzlo M. Specimen receipt and accessioning. In: Isenberg HD, ed. Clinical procedures handbook. Vol 1. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992:121- 124
 10. Johnson FB. Transport of viral specimens. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 120-131
 11. Spitalnic SJ, Woolard RH, Mermel LA. The significance of changing needles when inoculating blood cultures, a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1995; 21:1103-106
 12. Bates DW, Goldman L, Lee TH. Contaminant blood cultures and resource utilization, the true consequences of false-positive results. *JAMA* 1991;265:365-369
 13. Jefferson H, Dalton HP, Escobar MR, Allison MJ. Transportation delay and the microbiological quality of clinical specimens. *Am J Pathol*. 1975;64:689-693
 14. Bartlett RC, Sullivan MM, Tetreault SL, Nivard J. Evolving approaches to management of quality in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 55-88.
 15. Bartlett RC. Making optimum use of the microbiology laboratory.I. use of the laboratory. *JAMA* 1982; 247:857-859
 16. Bartlett RC. Results of the survey of microbiology laboratory management: summary and comments. *Clin Microbiol News* 1982; 4:97-101
 17. Ellis CJ. The use and abuse of blood cultures. *Infect Dis News* 1991; 10:27-30
 18. MacLowry JD, Murray PR, Reller LB. Blood cultures II. In: Washington JA, (coordinating ed.) Cumitech 1A, Washington DC: American Society for Microbiology, 1982
 19. Mattia AR. FDA review criteria for blood culture systems. *Clin Microbiol News* 1993; 15:132-136
 20. Riley JA, Weinstein MP. Laboratory diagnosis of bacteremia and endocarditis. *Infect Dis News* 1991; 10:4-6
 21. Ryan MR, Murray PR. Historical evolution of automated blood culture systems. *Clin Microbiol News* 1993; 15:105-108
 22. Aronson MD, Bor DH. Blood cultures. *Ann Intern Med* 1987;106:246-253
 23. Bryant JK, Strand CL. Reliability of blood cultures collected from intravascular catheter versus venipuncture. *Am J clin Pathol* 1987;88:113-116
 24. Isaacman DJ, Karsic RB. Lack of effect of changing needles on contamination of blood cultures. *Pediatr Infect Dis J* 1990;9:274-278
 25. Krumholz HM, Cummings S, York M. Blood culture phlebotomy: switching needles does not prevent contamination. *Ann Intern Med* 1990;113:290-292
 26. Leisure MK, Moore DM, Schwartzmann JH, Donovitz LG. Changing the needle when inoculating blood cultures: a no-benefit and high risk procedure. *JAMA* 1990;264:221-232
 27. Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and

- interpretation of results. *Clin Infect Dis* 1996; 23:40-46
28. Schifman RB, Pindur A. The effect of skin disinfection materials on reducing blood culture contamination. *Am J Pathol* 1993; 99:536-538
29. Strand CL, Wajsbort RR, Sturmann K. Effect of iodophor vs. iodine tincture skin preparation on blood culture contamination rate. *JAMA* 1993;269:1004-1006
30. Wilson ML, Weinstein MP. General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. *Clin Lab Med* 1994;14:69-82
31. Washington JA. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clin Proc* 1975;50:91-98
32. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis* 1983;5:35-53
33. La Scolea LJ Jr, Dryja D, Sullivan TD, Mosovich L, Ellerstein N, Neter E. Diagnosis of bacteremia in children by quantitative direct plating and aradiometric procedure. *J Clin Microbiol* 1981;13:478-482
34. Szymczak EG, Barr JT, Durbin WA, Goldmann DA. Evaluation of blood culture procedures in a pediatric hospital. *J Clin Microbiol* 1979; 9:88-92
35. Auckenthaler R, Ilstrup DM, Washington JA II. Comparison of recovery of organisms from blood cultures diluted 10% (volume/volume) and %20 (volume/volume). *J Clin Microbiol* 1982;15:860-4
36. Salventi JF, Davies TA, Randall EL, Whitaker S, Waters JR. Effect of blood dilution on recovery of microorganisms from clinical blood cultures in medium containing-sodium polyanethol sulfonate. *J Clin Microbiol* 1979; 9:248-252
37. Kellogg JA, Ferrentino FL, Liss J, Shapiro SL. Justification and implementation of a policy requiring two blood cultures when one is ordered. *Laboratory Medicine* 1994;25:323-330
38. Sewell DL, Schifman RB. Quality assurance: quality improvement, quality control, and test validation. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaffer MA, Tenover FC, Yolken RH, ed. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th edition. Washington DC: American Society for Microbiology, 1995: 55-66
39. Stone BL, Cohn DL, Kane MS, Hildred MV, Wilson ML, Reves RR. Utility of paired blood cultures and smears in diagnosis of disseminated *Mycobacterium avium* complex infections n AIDS patients. *J Clin Microbiol* 1994;32:841-842
40. Stockman L, Roberts GD, Ilstrup DM. Effect of storage of the Du Pont lysis -centrifugation on recovery of bacteria and fungi in a prospective clinical trial. *J Clin Microbiol* 1984;19:283-285
41. Goldmann DA, Pier GB. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:176-187
42. Linares JA, Sitges-Serra A, Garau J, Perez JL, Martin R. Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985;21:357-360
43. Gray LD, Fedorko DP. Laboratory diagnosis of bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 1992;5:130-145
44. Tunkel AR, Scheld WM. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:118-136
45. Bartlett RC. Medical microbiology: quality, cost and clinical relevance. New York: Wiley Interscience, 1974.
46. Bartlett RC, Tetreault J, Evers J. quality assurance of gram stained direct smears. *Am J Clin Pathol* 1979; 72:984-990
47. Murray PR, Washington JA. Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum.

- Mayo Clin Proc 1975; 50:339-344
48. Havlik D, Woods GL. Screening sputum specimens for mycobacterial culture. Laboratory Medicine 1995; 26:411-413
49. Baker AS, Paton B, Haaf J. Ocular infections: clinical and laboratory considerations. Clin Microbiol News 1989; 11:97-101
50. Jones DB, Liesegang TJ, Robinson NM. Laboratory diagnosis of ocular infections. In: Washington JA (coordinating ed), Cumitech 13, Washington DC: American Society for Microbiology, 1981
51. Swartz MN. Cellulitis and superficial infections. In: Mandell GL (ed). Principles and practice of infectious diseases. 4th edition. London: Churchill Livingstone, 1995; 796-807
52. Thomson RB Jr, File TM, Burgoon A. Repeat antimicrobial testing of identical isolates. J Clin Microbiol 1989; 27:1108-1111
53. Gilligan PH, Janda JM, Karmali MA, Miller JM. Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. In: Nolte FS (coordinating ed). Cumitech 12 A. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992
54. Siegel DL, Edelstein PH, Nachamkin I. Inappropriate testing for diarrheal diseases in the hospital. JAMA 1990; 263:979-982
55. Asnis DS, Bresciani A, Ryan M, Mcardle P, Ilardi CF. Costeffective approach to evaluation of diarrheal illness in hospitals. J Clin Microbiol 1993; 31:1675
56. Barbut F, Leluan P, Antoniotti G, Collignon A, Sedaillan A, Petit JC. Value of routine stool cultures in hospitalized patients with diarrhea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14:346-349
57. Bowman RA, Bowman JM, Arrow SA, Riley TV. Selective criteria for the microbiological examination of faecal specimens. J Clin Pathol 1992; 45:838-839
58. Church DL, Cadrain G, Kabani A, Jadavji T, Trevenen C. Practice guidelines for ordering stool cultures in a pediatric population. Am J Clin Pathol 1995; 103:149-153
59. Fan K, Morris AJ, Reller LB. Application of rejection criteria for stool cultures for bacterial enteric pathogens. J Clin Microbiol 1993; 31: 2233-2235
60. Kabani A, Cadrain G, Trevenen C, Jadavji T, Church DL. Practice guidelines for ordering stool ova and parasite testing in a pediatric population. Am J Clin Pathol 1995; 104: 272-278
61. Morris AJ, Wilson ML, Reller LB. Application of rejection criteria for stool ovum and parasite examinations. J Clin Microbiol 1992; 30:3213-3216
62. Manabe YC, Vinetz JM, Moore RD, Merz C, Charache P, Bartlett JG. Clostridium difficile colitis: an efficient approach to diagnosis. Ann Intern Med 1995; 123:835-840
63. Tamboli P, Mezger E. Is the examination of multiple stool specimens for ova and parasites justifiable. Am J Pathol 1993; 100:343
64. Hiatt RA, Markell EK, Ng E. How many stool specimens are necessary to detect intestinal protozoa? Am J Trop Med Hyg 1995; 53:36-39