

1. KAPSAM

Bu talimat, mikrobiyolojik analiz amaçlı yüzey, ekipman ve personelden swab örneği alma, taşıma ve saklama koşullarını tarif etmektedir.

2. SORUMLULUKLAR

Bu talimatın hazırlanmasından ve yönetiminden LBS, LM, prosedürün uygulanmasından prosedürün içindeki personel sorumludur.

3. UYGULAMA YÖNTEMLERİ

3.1. GENEL

Mikrobiyolojik analizler için alınacak swab numunelerinin dışarıdan kontaminasyona mahal vermeden alınması esastır. Bunun için gerekli olan malzeme steril edilmeli ya da steril, tek kullanımlık olarak dışarıdan temin edilmelidir. Personel numune alımına çıkmadan önce malzeme kontrolü yapar. Malzeme miktarı, alınacak numunenin miktarına ve niteliğine göre belirlenmelidir. Herhangi bir aksilik durumuna karşılık yedekli olacak biçimde set hazırlanır.

Numune alımı esnasında personel önlüğünü giyer ve önünü ilikler, maske, bone ve steril eldivenini takar. Daha sonra aşağıda tarif edildiği şekilde numuneyi alır. Alınan numune derhal, içinde buz kalıpları olan yalıtımlı taşıma kabına aktarılır. Mümkün olan en kısa sürede laboratuvara gönderilir.

Numune alım işleminden sonra numuneyi alan personel "**Ç.02.PR.22/T.03- Yüzeylerden Numune Alma Planı / Analiz Talep Formu**"nu doldurur.

3.1.1. Gerekli Besiyerleri

- Nötralizan kimyasal içeren dilüsyon çözeltileri (Polysorbate 80, Lesitin, Sodium thiosulphate, Süperin, vb.)
- Kuru swab (Amies veya Stuart)
- **Sünger swab**
- Dipslide (Besiyerleri analiz metodlarına uygun olan)

3.1.2. Uygun Nötralizan Çözeltisinin Seçilmesi

Numune alma personeli nötralizan seçimini işletmenin beyanına esasen yapar ve numune alımı sırasında uygun nötralizan çözeltisini yanında bulundurur.

Nötralizan çözeltileri Laboratuvarlarda hazırlanıp kodlandıktan sonra numune alma ekipmanları ile birlikte numune alma personeline teslim edilir. Numune alma personeli numune alım sırasında yüzey dezenfeksiyonunda kullanılan antimikrobiyal ajana göre numune alma işlemini gerçekleştirir ve yüzey örneğini uygun nötralizanlı besiyerinin içine koyar. Eğer örnek alınan yüzeydeki dezenfektanın aktif maddesi bilinmiyorsa genel nötralizan besiyeri kullanılmalıdır. Numune alma sırasında kullanılan swabın çeşidi, numune alım tarih ve saati, numune alma yerinin tanımı, numune alınan yüzeyin alanı, numunenin laboratuvara teslim saati ve teslim alan kişi bu formda açıkça belirtilmelidir.

KONTROLSÜZ KOPYADIR

| HAZIRLAYAN | KONTROL EDEN | ONAYLAYAN |
|---|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Ayşe ÖZGÜR Mikrobiyoloji Laboratuvarları Koordinatörü | Ayşe Seren AKDEMİR KYS Sorumlusu | Gül GÜCVENÇ Laboratuvar Müdürü |

Dezenfektan etken maddelerine göre kullanılacak nötralizanlar aşağıdaki gibidir.

| Nötralizan Grupları | | | |
|---|---|--|-----------------|
| Antimikrobiyal Ajan | Antimikrobiyal Aktiviteyi Nötralize Edebilen Kimyasal Bileşikler | Uygun Nötralizan Oranları | Nötralizan Kodu |
| Kuaterner amonyum bileşikleri ve yağ aminleri | Lesiti, Saponin, Polisorbate 80, Sodyum Dodesil Sülfat, yağ alkolünün etilen oksit kondensatı (iyonik olmayan yüzey aktif maddeler) | Polisorbate 80, 30 g/L + Saponin 30 g/L + Lesitin 3 g/L Polisorbate 80, 30 g/L + Sodyum Dodesil Sülfat 4g/L + Lesitin 3g/L Yağ Alkolünün Etilen Oksit Kondensatı 3g/L + Lesitin 20 g/L + Polisorbate 80 5g/L | 1 |
| Biguanidler ve Benzeri Bileşikler | Lesitin, Saponin, Polisorbate 80 | Polisorbate 80, 30 g/L + Saponin 30 g/L + Lesitin 3 g/L | 2 |
| Oksitleyici Bileşikler (Klor, iyot, hidrojen peroksit, perasetik asit, hipokloritler vb.) | sodyum tiyosülfat, katalaz veya peroksidaz (hidrojen peroksit veya hidrojen peroksit salın ürünler için) | Sodyum Tiyosülfat 3g/L + Polisorbate 80 30g/L + Lesitin 3g/L Polisorbate 80 50 g/L + Katalaz 0,25 g/L | 3 |
| Aldehitler | L-Histidin veya glisin | Polisorbate 80 30g /L + Lesitin 3 g/L + L-Histidin 1g/L Polisorbate 80 30 g/L + Saponin 30 g/L + L-Histidine 1g/L | 4 |
| Fenol ve türevli Bileşikler: orto fenilfenol, fenoksietanol, triklorolan, feniletanol, vb.) | Lesitin, Polisorbate 80, Etilen Oksit | Polisorbate 80 30g /L + Lesitin 3 g/L Yağ Alkolünün Etilen Oksit Kondensatı 7 g/L + Lesitin 20 g/L + Polisorbate 80 4 g/L | 5 |

Genel Nötralizan Besiyeri;

| | | |
|-----------------------|------|---|
| - Polysorbate 80 | 30,0 | g |
| - Lecithin | 3,0 | g |
| - Saponin | 30,0 | g |
| - L-histidine | 1,0 | g |
| - Sodium thiosulphate | 5,0 | g |

HAZIRLAYAN

Ayşe ÖZGÜR
Mikrobiyoloji Laboratuvarları
Koordinatörü

KONTROL EDEN

Ayşe Seren AKDEMİR
KYS Sorumlusu

ONAYLAYAN

Gül GÜCVENÇ
Laboratuvar Müdürü

Bileşenler 1 L olacak şekilde hazırlanmış Maksimum Recovery Dilüentin içerisine eklenir. 10 mL olarak tüplere paylaşılır ve 121°C'de 15 dk otoklavlanır.

4. NUMUNE ALMA

4.1. Swab Yöntemi (Sünger Yöntemi Dahil)

Kuru swab (steril eküvyon çubuğu) dilüsyon sıvısı içerisine kaldırılarak ısıtılır. Bu sayede ortamda var olan mikroorganizmaların swaba tutunmaları sağlanır. 20-100 cm² lik bir alan belirlenir (template kullanılabilir) ve alan üzerinde swab döndürülerek bir birine dik iki yönde ve çapraz örnekleme yapılır. Örnekleme yapılan swab içerisinde amies ya da swart besiyeri bulunan tüplerin içine konur ve ağzı sıkıca kapatılır.

Sünger yönteminde ise önce eldiven giyilir. Sünger tamponlu su veya nötralizerli solüsyon ile nemlendirilmeli (eğer nötralizerli besiyeri içermiyorsa), biyosit içermemeli ve organizma canlılığını etkilememelidir. Tamponlu Pepton Broth Suyu (Buffered Peptone Water Broth) bir seyrelti olarak ya da seçici zenginleştirme ve yalıtım öncesi gıda ve çevre numunelerinden Salmonella species ya da *E. coli* gibi mikroorganizmaların seçici olmayan zenginleştirilmesi için kullanılır. Sünger yöntemi ile swab almak için aşağıdaki işlemler adımları takip edilir.

- Çubuk torbanın ucuna doğru sallanır.
- Açmak için torba yırtılır.
- Eğer swab nötralizerli bir besiyerinin içerisindedir ise torba sıkarak açılır. Süngeri çıkarmak için, çubuk başparmak duruş çizgisinin yukarısından aseptik olarak kavranır.
- Sünger tüm numune yüzeyi boyunca aseptik olarak sürülür.
- Süngeri 90° çevrilecek yöne değiştirilir. Aynı numune alma yüzeyine zıt yönde aseptik olarak sürülür. Çapraz da örnekleme yapılabilir.
- Sünger torbanın içine başparmak duruş çizgisine kadar aseptik olarak yerleştirilir.
- Çubuğu bükerek çıkarılır. Süngerin torbanın içine düşmesi sağlanır. Çubuk atılır.
- Torba katlanarak kapatılır.
- Tekerin ucu içe doğru katlanır.
- Numune alınan yüzeydeki kalıntı %70 lik alkol ile temizlenir.

4.2. Kontak Petri ve Dipslide

Dipslide veya kontak petrinin agar yüzeyi yatay bir hareket yapmadan doğrudan test edilecek yüzeyin üzerine bastırılır. Kontak petri için en uygun kontak süresi 10 saniye, uygulanan basınç ise 500 g'dır. Temastan sonra kontak petri veya dipslide bekletilmeden kapatılmalıdır.

5. SAKLAMA ve TAŞIMA

Swab örnekleri (kuru ve sünger) numune alımından hemen sonra soğuk numune taşıma kaplarına aktarılır. Numuneler 1-8°C'de taşınmalı ve numune alımından itibaren 24 saati geçmeyecek şekilde analize alınmalıdır. Eğer numune alımı ve analiz süresi arasındaki saklama süresi uzayacaksa örnekler 3±2°C de 48 saat süreyle de saklanabilir.

| HAZIRLAYAN | KONTROL EDEN | ONAYLAYAN |
|---|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Ayşe ÖZGÜR Mikrobiyoloji Laboratuvarları Koordinatörü | Ayşe Seren AKDEMİR KYS Sorumlusu | Gül GÜCVENÇ Laboratuvar Müdürü |

Kontak petri ve dipslide lar numune alımından hemen sonra soğuk numune taşıma kaplarına aktarılır. Numuneler 1-8°C'de taşınmalı ve numune alımından itibaren 48 saati geçmeyecek şekilde analize alınmalıdır.

Örnekler laboratuvara ulaştıktan sonra sıcaklık kontrolü sağlanır ve sıcaklık limit aşımı tespit edilmediği takdirde numune kabul işlemine geçilir.

6. İLGİLİ BELGELER/KAYNAKLAR VE EKLER

PR.22

PR.17

Ç.02.PR.22/T.03

ISO 18593

Numune Alma Taşıma ve Saklama Prosedürü

Numune Kabul, Kayıt ve Analiz Raporu Hazırlama Prosedürü

Yüzeyle Numune Alma Planı Ve Analiz Talep Formu

Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs

7. KAYIT KONTROL

Bu talimat sonucu ortaya çıkan kayıtlar "Kayıt Kontrol, Arşiv ve Bilgi Yönetimi Prosedürü (PR.09)" ne uygun olarak muhafaza edilir. Kayıtlara ait sorumluluklar "Kayıt Listesi (Ek-1.PR.09)" dokümanında tarif edilmiştir.

8. DAĞITIM

Bu talimat ilgili birime elektronik ortamda sunulur.

9. REVİZYON DURUMU

| Tarih | Revizyon Sayısı | Revizyon Yapılan Madde | Revizyon Nedeni | Revizyonu Yapan |
|------------|-----------------|------------------------|--|---------------------------|
| 20.04.2019 | 01 | Tablo | Uygulamalar ve kısaltmalar güncellendi. | Ayşe ÖZGÜR |
| 11.09.2020 | 02 | 3.1 | Numune Alma Formu güncellendi. | Arzuhan ÇETİN KARADERİ |
| | | 6.0 | Form güncellendi. | |
| 15.10.2020 | 03 | 3.1.2 | Uygun Nötralizan Seçim Yöntemleri Tanımlanmıştır. | Ayşe ÖZGÜR |
| 25.05.2021 | 04 | 3.1. ve 3.1.2. | Numune alımı sonrası doldurulması gereken form güncellenmiştir. Daha önceden kullanılan numune alma formu yayından kaldırılmıştır ve bu forma istinaden yapılan atıflar dokümandan kaldırılmıştır. | Semih ÇAKIR |
| | | 3.1 | Yüzeyle Numune Alma Planı / Formu tanımlanmıştır. | Ayşe ÖZGÜR |

KONTROL SÜZ KOPYADIR

| HAZIRLAYAN | KONTROL EDEN | ONAYLAYAN |
|---|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Ayşe ÖZGÜR Mikrobiyoloji Laboratuvarları Koordinatörü | Ayşe Seren AKDEMİR KYS Sorumlusu | Gül GÜCVENÇ Laboratuvar Müdürü |

| | | | | |
|------------|----|-------|--|------------|
| 04.05.2023 | 05 | 3.1.2 | Genel nötralizerli besiyeri kullanımı ve içeriği tanımlanmıştır. kaydedilmesi gereken bilgilere ilave yapılmıştır. | Ayşe ÖZGÜR |
| | | 4.1 | Sünger swabın alım şekli detaylandırılmıştır. | |
| | | 5.0 | Başlığa saklama ifadesi eklenmiştir. Dışeklerin saklanma ve taşıma şekilleri detaylandırılmıştır. | |
| | | 6.0 | İlgili dokümanlara Yüzeylerden Numune Alma Planı / Formu tanımlanmıştır. | |
| 03.03.2026 | 06 | 3.1 | Yüzeylerden Numune Alma Planı Ve Analiz Formu tanımlanmıştır. | Ayşe ÖZGÜR |
| | | 3.1.1 | Gerekli besiyerine sünger swab eklenmiştir. | |
| | | 6.0 | İlgili dokümanlara Yüzeylerden Numune Alma Planı Ve Analiz Formu eklenmiştir. | |
| | | 8.0 | Dağıtım yeri güncellenmiştir. | |

ÇIKTI ALINDI KONTROLSÜZ KOPYADIR

HAZIRLAYAN**KONTROL EDEN****ONAYLAYAN**Ayşe ÖZGÜR
Mikrobiyoloji Laboratuvarları
KoordinatörüAyşe Seren AKDEMİR
KYS SorumlusuGül GÜCVENÇ
Laboratuvar Müdürü