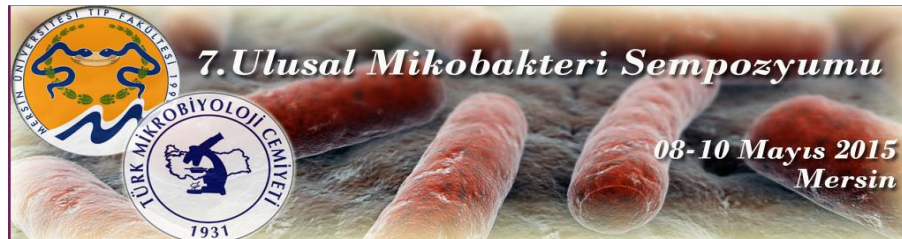


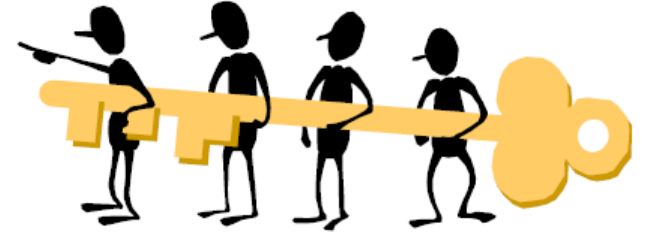


Tüberküloz laboratuvarında kalite kontrol

Prof. Dr. Aydan Özkütük
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD



Sunum planı



- ✓ Kalite gereklilikleri
- ✓ Yöntem geçerli kılma
- ✓ İç Kalite Kontrol Uygulamaları
 - ✓ Örnek işleme
 - ✓ Mikroskopi
 - ✓ Kültür işlemi
 - ✓ Tanı testleri
 - ✓ İDT
- ✓ Anahtar Mesajlar

Tüberküloz (TB) laboratuvarlarında kalite;

- ✓ Standartlar doğrultusunda
- ✓ Doğru
- ✓ Yinelenebilir
- ✓ Zamanında sonuç vermektir

Kalite güvencesi nasıl sağlanır?

“Kullanılan yöntemlerin uygunluğunun ve geçerliliğinin uluslar arası bilimsel kriterlere göre kanıtlanması ve onaylanması gerekir”

- ✓ Tüm ticari testlerin CE onayı olsa da laboratuvarlarda kullanıma girmeden önce yöntem geçerliliği değerlendirilmelidir
- ✓ Verifikasyon çalışmalarında minimum gereklilikler doğruluk ve tekrarlanabilirlik analizleridir

Yöntem geçerliliği neden değerlendirilmeli?

- ✓ **Test bizim koşullarımızda çalışıyor mu?**
 - ✓ Hasta grubunun farklılığı
 - ✓ Laboratuvarın su, elektrik vb. altyapısındaki farklılıklar
 - ✓ Bireysel uygulama değişiklikleri
 - ✓ Cihaza ait değişiklikler (yaşı vb.) farklılık yaratabilir

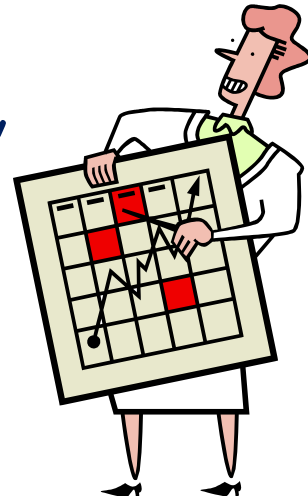
Laboratuvarda kalite güvencesi

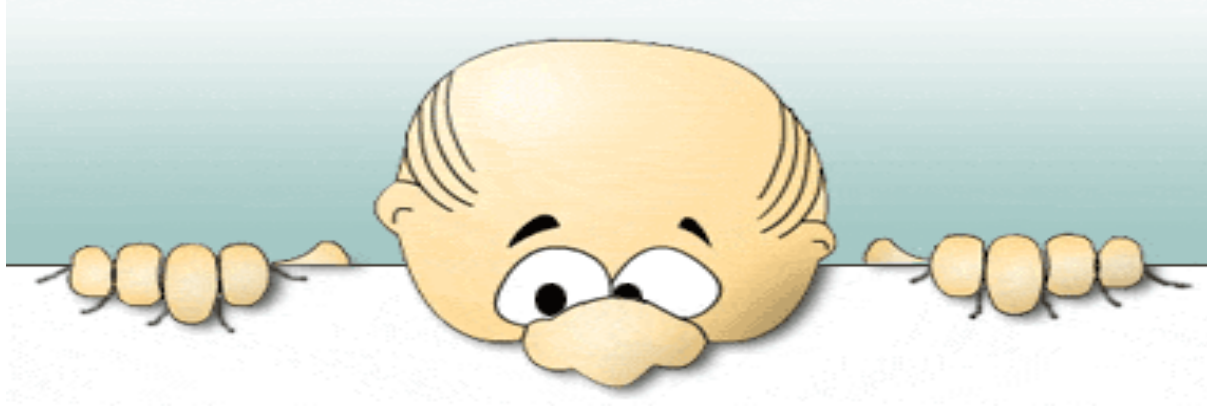
- ✓ Analiz öncesi (pre-analitik),
- ✓ Analitik
- ✓ Analiz sonrası (post-analitik)

süreçlerin test performansları yönünden sistematik olarak izlenmesi ile mümkündür

Kalite Kontrol süreci;

- ✓Yönergelerin hazırlığı,
 - ✓"Yazdığını yap, yaptığını yaz"
- ✓Personele uygulamalı eğitim,
 - ✓Görev tanımları
 - ✓Yetkinlik ve yeterlilik değerlendirmeleri
- ✓Kalite kontrol verilerinin düzenli kontrolü,
- ✓Düzeltilici/önleyici önlemler ve kayıt





İç Kalite kontrol uygulamaları

Örnek kalitesi

- ✓ Uygun ve yeterli miktarda örnek
- ✓ Red kriterlerinin uygulanması
- ✓ Hastalara örnek verme eğitimi

Laboratuvar kalite göstergesi-1:

- ✓ Örnek red oranları

Direkt mikroskopi

- ✓ Örneğin uygunluğu
- ✓ Yaymanın hazırlanış biçimi (Kalın/ince yayma, yayma alanının genişliği)
- ✓ ARB boyama kurallarına uyum
- ✓ Titiz mikroskobik inceleme



Yayma hazırlanmasının kontrolü;

- ✓ Kurutulmuş, tespit edilmiş boyanmamış yayma bir kitap sayfasının önüne tutulur
- ✓ Yaymanın arkasındaki yazılar rahatlıkla okunabiliyorsa yayma uygun kalınlıkta demektir



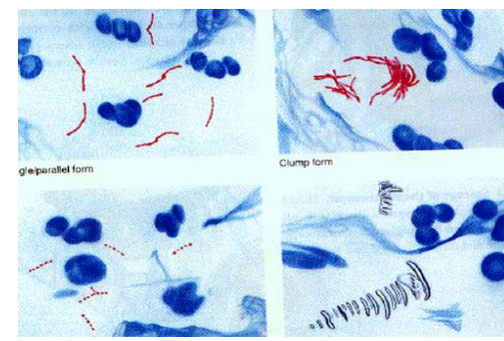
Boya hazırlandığında;



Tanımlayıcı etiketleme kullanılmalı;

- Boyanın/malzemenin adı
- Konsantrasyon (boya veya ayraç ise)
- Hazırlandığı tarih
- Kullanıma girdiği tarih
- Son kullanma tarihi/raf ömrü
- Hazırlayan kişinin adının baş harfleri vb. yazılmalı

Mikroskopide İKK



- ✓ Her boya hazırlandığında ve yeni lotta;
- ✓ Bir **negatif** kontrol
(*Escherichia coli* / negatif olduğu bilinen hasta yayması),
- ✓ Bir **pozitif** kontrol
(*M. tuberculosis* H37Ra ATCC 25177 / *M. goodii* / pozitif olduğu bilinen hasta yayması) kullanılır
- ✓ Kontrol preparatları hasta örneklerinden önce incelenir

Mikroskopide İKK

- ✓ Kontrollerde sorun olduğunda örnekler raporlanmaz,
- ✓ Yaymaların % 20'si deneyimli ikinci bir göz ile yeniden değerlendirilmelidir
- ✓ ~Yayma pozitif örneklerin% 90'ı kültür pozitif olmalıdır
- ✓ ~ Pozitif kültürlerin % 50'si yayma negatif örneklerle ait olmalıdır

(CLSI M48A 2012)

Mikroskopide hata kaynaklarını saptayabilmek için ipuçları;



- ✓ Pozitif ya da negatif yayma sayısının beklenenden yüksek olması
- ✓ Farklı hastalara ait ardışık yayma pozitifliği
- ✓ Yayma pozitif örneklerin kültürde ürememesi
- ✓ Yayma negatif örneklerin kültürde yoğun olarak üremesi

Laboratuvar kalite göstergesi-2

- ✓ Mikroskopi pozitiflik oranı

Besiyeri kontrolleri;

Yeni hazırlanan veya ticari olarak satın alınan hazır besiyerleri dahil İKK programı uygulanır

- Sterilite,
- Görünüm,
- pH,
- Performans (üremeyi destekleme becerisi)
- Uygun biyokimyasal sonucun eldesi



Besiyeri kontrolleri;

Performans kontrolü için;

- ✓ Pozitif kontrol

- ✓ *M. tuberculosis* ATCC 25177 (H37Ra)
- ✓ *M. kansasii* ATCC 12478
- ✓ *M. fortuitum* ATCC 2841 (hızlı üreme için)

- ✓ Negatif kontrol

- ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922

Yönerge:

- Rastgele 10 besiyeri seçilir→ renk, hava kabarcığı, yüzeyinde pürüz var mı?
- Sterilite kontrolü→ $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de boş besiyeri iki gün inkübe edilerek kontrol
- Üretim yeteneği ve hızının test edilmesi→ pozitif kontrol suşları ile ekim

- Besiyerleri;
 - 3. günde kontaminasyon takibi için,
 - Haftada bir üremeler açısından kontrol (6 hafta süreyle)
- Standart suşlar kullanılır (MB 7H9'da 0,5 McFarland bulanıklığında)
- Kalibre bir öze veya pipet ile 10 μ L besiyerine inoküle edilir

Örnek işleme

- ✓ Bu basamaktaki hatalar laboratuvarın kültür kontaminasyon oranları ile
 - ✓ "Katı besiyerlerinde %3-5 kontaminasyon,
 - ✓ Sıvı besiyerlerinde %5-10 kontaminasyon kabul edilebilir"
- ya da
- ✓ Yaygın bir kontaminant olan *M. gordonae* üreme oranı ile takip edilebilir

- ✓ Kontaminasyon oranı yüksek → işlem yetersiz
 - ✓ NaOH final konsantrasyonu %4'e kadar arttırılabilir
- ✓ Kontaminasyon oranı düşük → dekontaminasyon işlemi aşırı
 - ✓ Konsantrasyon düşürülmeli veya işlem süresi kısaltılmalı

Laboratuvar kalite göstergesi-3

- ✓ Kùltür pozitiflik oranları
- ✓ Kùltür besiyerlerindeki kontaminasyon oranları



Tür tayininde;

- ✓ Testlere göre kalite kontrol işlemleri farklılık gösterir
- ✓ Düzenli bakım ve kalibrasyon önemli
- ✓ Yapısal kontrolünü kendi içerisinde bulunduran ticari sistemlerde sonuçlar, kontrol sonuçlarının uygunluğuna göre verilir

Biyokimyasal testlerde kullanılması gereken kalite kontrol suşları

Test Adı	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
Katalaz Testi	<i>M. gordonae</i> ATCC 14470	<i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177
Niasin Testi	<i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177	<i>M. intracellulare</i> ATCC 13950
Nitrat Testi	<i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177	<i>M. intracellulare</i> ATCC 13950
PNB Testi	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177

Laboratuvar kalite göstergesi-4

- ✓ TDM oranları
- ✓ MTBC ve TDM saptama süreleri

(CLSI M48A 2012)



Moleküler Testler

Nükleik asit amplifikasyon testlerinde (NAAT);

- ✓ Kontaminasyon nedeni ile yalancı pozitif
- ✓ Düşük duyarlılık ve çeşitli inhibitörler nedeniyle yalancı negatif sonuçlar alınabilir
- ✓ Her çalışmada pozitif ve negatif kontroller kullanılır

Kontrol Materyallerinin Hazırlanması ve Saklanması

- ✓ Ticari ise aynı lot numaralı ürün kullanımı
- ✓ Üretici talimatlarına uyum
- ✓ Küçük alikotlarda ve uygun ısıda saklama
- ✓ Dondurucu /soğutucuların sıcaklık takibi
- ✓ Hazırlıkta tek (aynı) pipetin kullanımı
 - ✓ Liyofilize kontrollerin dilüsyonunda önemli
 - ✓ Analitin pipet duvarına yapışması ile yaşanabilecek kayıplara dikkat



Laboratuvar kalite göstergesi-5

- ✓ Pozitiflik oranları
- ✓ Kültüre göre pozitiflik /yalancı pozitiflik oranı

İlaç Duyarlılık Testleri (İDT)

- ✓ İlaç direnç oranlarının takibi
- ✓ Tüm ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) kullanılır
- ✓ Stok suşları -70°C 'de saklanır



- ✓ Besiyeri kontrolü
- ✓ Antibiyotik kontrolü
- ✓ Ekipman kontrolü
- ✓ Soğutucuların sıcaklık takibi ve bakımı
- ✓ İnkübatörlerin sıcaklık takibi, kalibrasyon ve bakımı
- ✓ Kullanılıyorsa otomatize sistemlerin kalibrasyon ve bakımları
- ✓ Ortam sıcaklık takibi

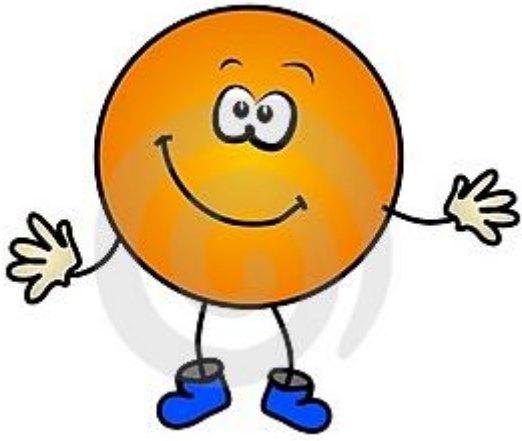
İlaç duyarlılık testlerinde kalite göstergeleri

- ✓ Laboratuvarların ilaç direnç oranları,
- ✓ RIF veya EMB'ye karşı tek ilaca direnç gibi ülke /laboratuvar verilerine göre beklenmeyen sonuçlar



Laboratuvar kalite göstergesi-6

- ✓ Tek ilaca direnç
- ✓ Tek R direnci
- ✓ Tek E direnci
- ✓ HR direnci



Anahtar Mesajlar

TB Lab.'da İKK çalışmalarının;

- ✓ Doğru, tekrarlanabilir ve güvenilir test sonuçları sağlama
- ✓ Hataları hızlı fark edebilme
- ✓ İyileştirme çalışmalarına olanak sağlama
- ✓ Personel motivasyonunu arttırmada önemli katkıları vardır



İzmir'den sevgilerimizle

7. Ulusal Mikobakteri
Sempozyumu Mersin