

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ شماره سند: MNG/GUD/97/1402/01	 معاونت بهداشت آزمایشگاه مرجع بهداشت	فرم: دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروب شناسی صفحه: ۱ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت	بخش: میکروبیولوژی و آنالیز ادرار	

دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروب شناسی

نام و امضاء مسئول فنی و تأیید کننده:	نام و امضاء تصویب کننده:	نام و امضاء تهیه کننده:
	علی حقی: کارشناس ارشد باکتری شناسی پزشکی	علی حقی: کارشناس ارشد باکتری شناسی پزشکی

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ شماره سند: MNG/GUD/97/1402/01	 معاونت بهداشت آزمایشگاه مرجع بهداشت	فرم: دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروبی شناسی صفحه: ۲ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش: میکروبیولوژی و آنالیز ادرار

عنوان: دستورالعمل کنترل کیفیت در باکتری شناسی تشخیص پزشکی

دامنه کاربرد: این مدرک در واحد مدیریت مدارک آزمایشگاه جهت اجرای فرآیند سیستم مدیریت کیفیت آزمایشگاههای بهداشتی در بخش باکتری شناسی کاربرد دارد.

مسئولیت ها:

مسئولیت اجرای این مدرک بر عهده مسئول فنی آزمایشگاه / یا مسئول بخش باکتری شناسی که توسط مسئول فنی انتخاب شده است، می باشد. مسئولیت نظارت بر اجرای این مدرک، برعهده مسئول آزمایشگاه و کارشناس مسئول استان است.

شرح:

کنترل کیفی محیط های کشت

- ارزیابی محیط ها شامل نگهداری محیط ها به صورت پودر خشک و محیط های تهیه شده است.
- محیط های به صورت پودر خشک باید در بسته، در جای خشک و خنک در حرارت زیر ۲۵ درجه سانتیگراد، دور از نور مستقیم خورشید و رطوبت نگهداری شود و از قرار دادن آنها در مجاورت منابع حرارتی مانند اتوکلاو و فور باید خودداری کرد.
- محیط های تهیه شده بایستی دور از حرارت و نور خورشید در یخچال و در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شود. تمامی محیط ها قبل از استفاده بایستی به دمای اتاق برسند.
- محیط های کشت طبق دستورالعمل بر روی آن نگهداری و محافظت می شود و بایستی از نظر تاریخ انقضاء مورد ارزیابی قرار گیرند (تمام محیط ها ماهیانه از نظر نحوه نگهداری، شرایط نگهداری و تاریخ انقضاء بایستی کنترل شوند و نتایج ماهانه ثبت گردد).

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ شماره سند: MNG/GUD/97/1402/01	 معاونت بهداشت آزمایشگاه مرجع بهداشت	فرم: دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروبی شناسی صفحه: ۳ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش: میکروبیولوژی و آنالیز ادرار

- با توجه به امکانات و داشتن سویه‌های استاندارد می‌توان محیط‌های کشت را از نظر رشد باکتری بر روی آنها کنترل و ارزیابی کرد. برای هر lot بهتر است این ارزیابی انجام شود.

- محیط‌های کشت بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده که بر روی آن آمده است ساخته می‌شوند و تمامی شرایط نوشته شده روی آن اجرا می‌گردد (به عنوان مثال pH محیط مولر هینتون آگار پس از تهیه بایستی توسط اسید کلریدریک یا سود بین ۷.۲-۷.۶ تنظیم شود) پس از ساخت طبق دستورالعمل محیط‌ها استریل و توزیع می‌شوند و یا قبل از استریل شدن با توجه به نوع محیط توزیع و استریل می‌شوند.

- برای کنترل آلودگی از هر محیط یک یا دو مورد به طور تصادفی جدا و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌شوند و سپس از نظر آلودگی ارزیابی شوند. (بهتر است در شرایط مختلف انکوبه شوند به عنوان مثال در شرایط بی‌هوایی، هوایی، آئروفیلیک و ...)

کنترل کیفی معرف ها، تست ها و محیط های شناسایی و تشخیصی

- برای ارزیابی تمامی معرف ها، تست ها و محیط های تشخیصی بهتر است در هر ران کاری که از این موارد استفاده می‌شود کنترل های مثبت و منفی نیز استفاده گردد و نتایج آن در کنار نتایج بیماران ثبت گردد.

به عنوان مثال در باکتری های گرم مثبت تست های کاتالاز، کوآگولاز، DNase، هیدرولیز هیپورات، تست CAMP، حساسیت به دیسک های تشخیصی و یا در باکتری های گرم منفی تست های MR، VP، سیترات، اکسیداز، اندول و ... تمامی تست هایی که از معرف ها، دیسک های تشخیصی و محیط های تشخیصی استفاده می‌شود یک نمونه کنترل منفی و یک نمونه کنترل مثبت نیز در کنار نمونه مجهول کار شود و نتایج ثبت گردد.

- تهیه نمونه های کنترل منفی و مثبت در مورد هر تست:

- ۱- خرید و استفاده از سویه های استاندارد (ATCC) که نتایج آنها در مورد هر یک از این تست ها مشخص است.
- ۲- نگهداری و استفاده از باکتری ها و سویه هایی که نتایج آنها در مورد هر تست قبلا مثبت و منفی تشخیص داده شده به عنوان کنترل مثبت و منفی در هر ران کاری. (به عنوان مثال اگر باکتری استاف اورئوس جدا شده که از نظر کوآگولاز، کاتالاز، DNase مثبت بوده است این سویه نگهداری شده و در هر ران کاری به عنوان کنترل مثبت انجام شود و یک باکتری که از نظر تست های فوق منفی است نیز به عنوان کنترل منفی).

- لازم به ذکر است که برای این نوع کنترل بهتر است از سویه های استاندارد که نتایج تست های آنها کاملا مشخص است استفاده گردد.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ شماره سند: MNG/GUD/97/1402/01	 معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروب شناسی صفحه: ۴ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت	آزمایشگاه مرجع بهداشت	بخش: میکروبیولوژی و آنالیز ادرار

- در آزمایشگاه سویه های استاندارد ATCC (استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوکوس فکالیس و اشرشیاکولی) موجود بوده و در مورد تست هایی که در این باکتری ها مثبت و منفی است از این باکتری ها به عنوان کنترل استفاده می شود. به عنوان مثال سودوموناس اکسیداز مثبت و اشرشیا اکسیداز منفی است و به عنوان کنترل تست اکسیداز استفاده می شوند.

- معرف ها محیط ها و دیسک های تشخیصی نیز بایستی ماهانه و با ورود هر Lot از نظر نگهداری تاریخ انقضا و ... ارزیابی و نتایج آنها ثبت شود.

- محلول هایی که در آزمایشگاه توسط پرسنل فنی این بخش ساخته می شوند از نظر شرایط نگهداری نوع ماده شیمیایی، نام فرد سازنده، تاریخ تهیه، شرایط نگهداری و ... بایستی لیبل زده شوند.

کنترل کیفی رنگ ها و روش رنگ آمیزی:

- کیت ها و معرف های مربوط به رنگ آمیزی بایستی هر هفته و با ورود یک Lot جدید از نظر تاریخ انقضا، شرایط نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج ثبت گردد.

- برای ارزیابی و کنترل کیفی رنگ ها به ویژه رنگ آمیزی گرم هر هفته توسط این رنگ دو باکتری استاندارد یکی اشرشیاکولی ATCC25922 به عنوان باسیل گرم منفی و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 به عنوان کوکسی گرم مثبت رنگ شده و از نظر نوع رنگ آمیزی شامل:

۱- فیکس شدن قبل از رنگ آمیزی (استفاده از الکل متانول و یا حرارت)

۲- گرم منفی و گرم مثبت بودن

۳- تثبیت کردن ید در گرم مثبت ها

۴- از نظر رنگ بری (الکل استن)

۵- از نظر رنگ زمینه سافرانین و یا فوشین و ...

ارزیابی می شود و نتایج آن ثبت می گردد.

- برای سایر رنگ ها نیز مثل آلبرت و یا اسپور بایستی از سویه های مورد نظر مثل باسیل دیفتری و یا باسیلوس ها در صورت در دسترس بودن استفاده کرد.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ شماره سند: MNG/GUD/97/1402/01	 معاونت بهداشت آزمایشگاه مرجع بهداشت	فرم: دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروبی شناسی صفحه: ۵ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش: میکروبیولوژی و آنالیز ادرار

کنترل کیفی نیمه مک فارلند:

همانطور که در دستورالعمل تهیه نیمه مک فارلند آمده این محلول پس از ساخت در داخل یخچال و دور از نور ۶ ماه پایداری دارد. برای کنترل کیفی نیمه مک فارلند ساخته شده می توان ماهانه مقداری از آن را در شرایط استریل برداشت و از نظر کدورت توسط اسپکتروفوتومتر ارزیابی کرد. میزان جذب نوری این محلول در طول موج ۶۲۵ نانومتر بایستی بین ۰.۰۸ تا ۰.۱۳ باشد.

کنترل کیفی دیسک های آنتی بیوتیکی:

- دیسک های آنتی بیوتیکی بایستی هر هفته و با ورود هر Lot جدید توسط سویه های استاندارد طبق SOP حساسیت آنتی بیوتیکی کنترل و نتایج آن ثبت گردد. جهت کنترل کیفی دیسک ها و شرایط آن از دستورالعمل های آزمایشگاه مرجع باید استفاده شود.

کنترل کیفی تجهیزات:

- درجه حرارت انکوباتور، یخچال و فریزر بایستی روزانه کنترل و ثبت شود.
- کالیبراسیون لوپ طبق دستورالعمل مربوطه بطور ماهانه و به محض تعویض لوپ بایستی انجام شود و منحنی آن نیز کشیده و نصب گردد.
- کالیبراسیون ترازو نیز بایستی با استفاده از وزنه های کالیبر انجام شود و بر روی آن برگه کالیبراسیون نصب گردد. (کالیبراسیون هر ۶ ماه و همچنین زمانی انجام می شود که عدم انطباق مشاهده گردد).
- کنترل و ارزیابی عملکرد استریلیزاسیون اتوکلاو و فور بایستی توسط اندیکاتورهای شیمیایی (در هر ران استفاده) و بیولوژیک بسته به شرایط و میزان استفاده (ترجیحا در هفته یک بار) انجام گرفته و نتایج آن به همراه اندیکاتورها ثبت و نگهداری شوند.
- لازم بذکر است که برای استفاده صحیح از تمامی تجهیزات (نحوه کاربری، نگهداری، کنترل کیفی و ...) بایستی به SOP مربوط به هر دستگاه مراجعه کرد.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۶ شماره سند: MNG/GUD/97/1402/01	 معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل کنترل کیفی بخش میکروب شناسی صفحه: ۶ از ۶
محدوده توزیع: تضمین کیفیت	آزمایشگاه مرجع بهداشت	بخش: میکروبیولوژی و آنالیز ادرار

مراجع و منابع:

- کتاب جامع تجهیزات آزمایشگاهی و فرآورده های تشخیصی
- الزامات آزمایشگاه مرجع سلامت
- کتب مرجع باکتری شناسی پزشکی و دستورعمل های الزامات آزمایشگاه مرجع سلامت



معاونت بهداشت

آزمایشگاه مرجع بهداشت