

Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию

Федеральное государственное учреждение

Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии

Утверждено:

Ученым советом

(Протокол № 6 от 13.09.05 г.)

Директор УНИИФ

д.м.н., профессор

_____ Д.Н. Голубев

«_____» _____ 2005 г.

**ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
В ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ**

Пособие для врачей

Екатеринбург

2005

АННОТАЦИЯ

В работе обобщен опыт организации внутрилабораторного контроля качества в бактериологической лаборатории УНИИФ и изложены принципы, механизмы осуществления и нормативы затрат времени на процедуры внутрилабораторного контроля качества микробиологических исследований при туберкулезе. Особое внимание уделено вопросам стандартизации используемых в ходе исследований реактивов, приборов и лабораторного оборудования. Описаны процедуры внутрилабораторного контроля качества микроскопических, культуральных исследований и определения лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза.

Пособие предназначено для врачей-бактериологов и специалистов, осуществляющих контроль качества лабораторных диагностических исследований во фтизиатрии.

Организация-разработчик: Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Росздрава

Авторы: Кравченко М.А., Вахрушева Д.В., Шульгина М.В.

ВВЕДЕНИЕ

Повышение роли микробиологических исследований при выявлении туберкулеза и контроле химиотерапии делает необходимым интеграцию лабораторий всех уровней и ведомственной подчиненности в единую лабораторную сеть. Стержнем этой интеграции должна стать система обеспечения качества, подразумевающая

- систему непрерывного образования и повышения квалификации работников лабораторий,
- обеспечение лабораторий оборудованием, реактивами и расходными материалами, соответствующим по своим техническим характеристикам и качеству поставленным задачам и в достаточных количествах,
- внутрилабораторный и внешний контроль качества исследований.

Для поддержания квалификации персонала необходимо проведение его обучения стандартизованным методам исследования, планированию и организации работы лаборатории, технике безопасности при работе с инфекционным материалом. Кроме того, необходимо проведение повторных курсов, позволяющих обновить знания персонала, обменяться опытом и обсудить возникающие проблемы.

Качество и достаточное количество оборудования лабораторий, а также качество и количество необходимых реактивов является обязательным условием получения достоверных результатов

исследования. Идеальным вариантом является централизованное обеспечение лабораторной службы всем необходимым в рамках Республиканской Программы.

Контроль качества является неотъемлемой частью работы лабораторной сети. Это процесс систематического и эффективного отслеживания работы лаборатории в сравнении с принятыми стандартами. Контроль гарантирует правильность, надежность и воспроизводимость лабораторных данных и служит механизмом подтверждения компетенции диагностической службы.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА

Противопоказаний нет.

МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ МЕТОДА

При осуществлении процедур внутрилабораторного контроля качества должны использоваться соответствующие каждой процедуре реактивы, приборы и лабораторное оборудование, указанные в Приложениях №№ 10, 11 приказа МЗ РФ №109 от 21.03.03. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации».

ОПИСАНИЕ МЕТОДА

Внутрилабораторный контроль качества.

Внутрилабораторный контроль качества должен осуществляться на регулярной основе во всех лабораториях. Его осуществление гарантирует, что информация, полученная в ходе исследований точна, надежна и воспроизводима. Каждый сотрудник лаборатории ответственен за качество проводимых им работ.

В рамках программы внутрилабораторного контроля качества необходимо проводить:

- планирование и оптимизацию расположения функциональных зон лаборатории и оборудования,
- выполнение требований Госсанэпиднадзора к организации исследований и соблюдению техники безопасности в соответствии со специализацией лаборатории,
- контроль качества доставленного материала,
- контроль за обработкой материала,
- соблюдение утвержденных стандартизованных методик,
- использование качественных реагентов,
- регулярный контроль сроков годности используемых реактивов и растворов, правильности их хранения и соответствия их внешнего вида стандарту,
- проверку правильности и своевременности выдачи результатов,

- контроль регистрации исследований, направленный как на обеспечение правильного ведения журналов и оформления ответов, так и на выявление отклонений показателей работы от обычного для этой лаборатории уровня.

Внутрилабораторный контроль качества микроскопии.

Организация работы лаборатории микроскопических исследований.

Помещение лаборатории микроскопии.

Помещение лаборатории, в которой проводятся микроскопические исследования, должно соответствовать требованиям Госсанэпиднадзора Российской Федерации и быть достаточным для организации четырех изолированных рабочих зон: для приема образцов, для приготовления и окраски мазков, для микроскопии и для регистрации результатов.

Помещение, в котором проводится исследование, должно быть сухое, с хорошей вентиляцией (наличие вытяжного шкафа, системы принудительной вентиляции), хорошо освещенное. Стены помещения должны быть покрыты легко моющимся материалом. Выделение отдельной комнаты для проведения микроскопических исследований в наибольшей степени позволяет обеспечить безопасность проведения анализа.

Лабораторное оборудование.

Лаборатория, проводящая микроскопические исследования мокроты по Ziehl-Neelsen, должна быть оснащена водопроводом и канализацией,

бинокулярным микроскопом с увеличением в 1000 раз с иммерсией, укомплектованным механическим столиком.

В случае, если лаборатория сама готовит растворы реактивов, она должна иметь мерные цилиндры, химические стаканы и пипетки, весы с чувствительностью не менее 0,001 г (соответствующие ГОСТы указаны в приказе МЗ РФ №109), дистиллированную воду. Такая лаборатория должна также иметь холодильник для хранения реактивов.

Обращение с оборудованием должно соответствовать требованиям и спецификациям производителя. Руководство по эксплуатации всего оборудования следует держать в доступном месте. В паспорта оборудования регулярно вносятся даты сервисного обслуживания. Оборудование регулярно проверяется специалистом, который обеспечивает правильность и точность его настроек.

Реагенты и красители.

Все используемые для исследования растворы должны быть подписаны, и на них должна быть указана дата изготовления и их срок годности.

Запрещается использование реактивов с истекшим сроком годности, несоответствующей степени чистоты или не соответствующих стандарту по внешнему виду!

Любой реактив неудовлетворительного качества немедленно выбрасывается, о чем делается соответствующая запись в журнале учета

реактивов. Необходимо контролировать оборот запасов на складе (первыми использовать те реактивы и красители, срок годности которых подходит к концу). В лаборатории всегда должен быть запас реактивов и расходных материалов в соответствии с ее функциями и уровнем: запас реактивов (спирт, фенол, фуксин, метиленовая синька, кислота серная или соляная) и расходных материалов (например, предметные стекла), достаточный для проведения бесперебойных микроскопических исследований в данной лаборатории и соответствовать расходам лаборатории за прошедший год плюс 6-ти месячный запас.

В случае, если лаборатория получает готовые растворы из центральной лаборатории, запас растворов не должен превышать 1-месячную потребность лаборатории и быть менее, чем 1-недельный запас. Запас расходных материалов (предметных стекол) – не менее, чем на 1 месяц.

Срок годности реактивов не может быть менее 1 года. Реактивы должны храниться в соответствии с рекомендациями производителей.

В лаборатории должны быть методики приготовления растворов, весы с чувствительностью 0,01 г. Флаконы с реактивами должны быть правильно подписаны (указано название раствора, концентрация и дата приготовления) и не содержать осадка на дне или стенках, внешний вид реактивов должен соответствовать стандарту (фенол имеет вид бесцветных кристаллов, раствор карболовой кислоты бесцветен и т.д.).

Диагностический материал и направление на анализ.

- Анализы выполняются только при наличии сопровождающей заполненной формы направления. Недопустимо проведение исследований на основании устного запроса, без соответствующего письменного направления.
- Направления и другие сопроводительные документы должны доставляться отдельно от контейнеров с мокротой. Направления, загрязненные материалом должны быть автоклавированы или подвергнуты термической обработке в сухожаровом шкафу.
- В направлении должна быть предоставлена полная информация о больном: имя, фамилия, адрес, возраст, пол, цель исследования, регистрационный номер больного при условии анализа для контроля химиотерапии, фамилия направившего врача и медучреждения. Дата сбора материала. Номер порции материала. На контейнере также должна быть информация для однозначной идентификации пробы. Не принимайте контейнеры, на которых невозможно разобрать надпись.
- Отмечайте характер диагностического материала в лабораторном журнале и в бланке результатов исследования. Для облегчения оформления ответов целесообразно изготовить печать с подобным комментарием.

- Немедленно стерилизуйте (автоклавированием, кипячением, химической обработкой) разбитые или протекающие контейнеры с мокротой и направьте запрос на повторный сбор мокроты.

Обучение персонала.

Руководитель лаборатории должен обеспечить обучение персонала применяемым методикам и технике безопасности при проведении исследований, а также регулярное повышение квалификации сотрудников.

Соблюдение стандартных методик..

Для проведения микроскопических исследований мокроты лаборатория должна применять только утвержденные Приказом №109 МЗ Российской Федерации методы. Лаборатория должна иметь описания применяемых методов и прописи реактивов. Описание выполнения каждой методики, используемой в лаборатории, должно быть доступно для сотрудников, например, крепиться на стене возле рабочего места.

Окрашивание и микроскопия мазков.

Для контроля качества окраски мазка и работы микроскопа в каждой лаборатории, проводящей микроскопию, должен быть набор заведомо положительных и отрицательных неокрашенных мазков. Эти наборы должны предоставляться в клиничко-диагностические лаборатории общей лечебной сети референс-лабораторией противотуберкулезной службы, или готовиться в самих лабораториях. Каждый раз, когда лаборатория проводит окраску мазков, одновременно должны окрашиваться по одному

отрицательному и положительному мазку из контрольного набора. Результаты контрольного исследования заносятся в отдельный журнал «Внутренний контроль качества исследований методом Ziehl-Neelsen/люминесцентной микроскопии». При неудовлетворительной окраске контрольного положительного мазка или выявлении КУБ в отрицательном мазке, необходимо срочное принятие мер по выяснению причин ошибки и их устранению. Партию мазков, окрашенных одновременно с некачественными контрольными мазками необходимо переделать. В связи с этим, *необходимо сохранять исследуемые образцы до получения результата микроскопического исследования контрольных мазков.* Окрашенные контрольные мазки должны сохраняться до приезда кураторов, но не более 1 месяца.

Для обеспечения качественного окрашивания мазков, последующей микроскопии и минимизации последствий ошибок:

- сохраняйте исследуемые образцы до окончания микроскопического исследования;
- окрашивайте мазки партиями максимум по 12 штук;
- ежедневно включайте в число окрашиваемых образцов положительный и отрицательный контроль;
- просмотр контрольных мазков должен осуществляться до просмотра мазков от больных. *Контроль не выдержан в следующих случаях:*

- 1) КУБ в положительном контроле не окрашены в красный цвет
- 2) в отрицательном контроле фон остается красным после обесцвечивания
- 3) в отрицательном контроле обнаружены КУБ
- 4) некачественное фоновое окрашивание

Результаты просмотра контрольных мазков необходимо фиксировать в специальном журнале.

Пример журнала контроля качества окраски:

ДАТА	Контрольный мазок	Степень положительности мазка	Качество мазка	Комментарии	Подпись лаборанта
24.03.04	Положительный	3+	Удовл.		Исмаилова
	Отрицательный	отр	Удовл.		Исмаилова
25.03.04	Положительный	3+	Удовле.		Рахимова
	Отрицательный	5/100	Неудовл	Переделаны красители, заменено масло	

- после ликвидации причины низкого качества мазков, перекрасьте все мазки, а также контроли. Результаты микроскопии контрольных мазков внесите в Журнал контроля качества окраски.

Причины неудовлетворительного качества контрольного мазка должны быть выявлены и устранены. Действия по исправлению причин низкого качества и результат микроскопии контрольных мазков после из исправления должны быть отражены в журнале контроля качества.

- очищайте предметные стекла с мазками от иммерсионного масла. Храните мазки в отдельных ящиках для внешнего контроля качества.
- храните все положительные и отрицательные мазки для программы внешнего контроля качества согласно принятым стандартам.

Качество мазка. Согласно требованиям Приказа №109, размер мазка-1x2см, толщина мазка в высушенном неокрашенном состоянии позволяет прочесть через него газетный текст на расстоянии 5-10см. При удовлетворительной окраске кислотоустойчивые бактерии представлены в виде тонких, слегка изогнутых палочек красного цвета, располагающихся по отдельности, парами или в виде групп, хорошо выделяющихся на голубом фоне. Мазок имеет достаточную толщину и равномерен. На мазке отсутствуют включения кристаллов красителей. Фон полностью обесцвечен, и мазок имеет голубой цвет.

Хранение мазков. Контрольные мазки и мазки текущих анализов должны храниться в специальных коробках, так, чтобы мазки не соприкасались. Все отрицательные мазки сохраняются до того, как координатор произведет выборку мазков для реанализа, но не менее, чем 3 месяца. Положительные мазки хранятся 1 год.

Регистрация исследований должна производиться при поступлении материала в лабораторном журнале ТБ04. Данные о пациенте вносятся в ТБ04 на основании приложенных направлений. Результаты исследований

вносятся в ТБ04 и в соответствующую часть направления.

Лабораторный журнал должен храниться не менее 2 лет!

Регистрация и выдача результатов:

- выдача полученных результатов должна осуществляться в кратчайшие сроки, предпочтительно в течение 24 часов с момента получения материала,
- регулярно анализируйте результаты микроскопии, еженедельно или ежемесячно высчитывая процент положительных результатов. Следует обращать внимание на резкие отклонения от средних показателей работы лаборатории. В случае любого отклонения от нормы следует выявлять его причину и устранять ее.
- При анализе ТБ04 необходимо обращать особое внимание на случаи, когда в нескольких мазках подряд определяется высокое содержание КУБ (1 и более в поле зрения). Это может быть результатом переноса КУБ с одного мазка на другой во время их приготовления или окраски.
- Для учета нагрузки лаборатории и эффективности выявления больных туберкулезом в данном медучреждении необходимо ежемесячно учитывать число обследованных и выявленных больных, а также число проведенных исследований и положительных мазков по форме, представленной ниже.

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ ОТЧЕТ ЛАБОРАТОРИИ

(заполняется совместно с фтизиатром)

Наименование лаборатории _____

Отчетный период _ _____

	Число обследованных пациентов	Число мазков
Всего		
Для диагностики		
Всего положительных		
Положительных для новых случаев		

Вышеприведенный отчет необходимо ежемесячно предоставлять областному (районному или городскому) координатору лабораторной службы.

В графе «Всего» указывают количество всех пациентов, обследованных методом микроскопии (для диагностики и контроля химиотерапии) и число исследований, проведенных за истекший месяц.

В графе «Для диагностики» указывают количество обследованных пациентов и проведенных анализов с целью диагностики. Это количество должно согласовываться с координатором-фтизиатром, поскольку в ТБ04 могут быть отмечены как диагностические пациенты, обследуемые с целью диагностики, а также те, кто обследуется для контроля химиотерапии.

В графе «Всего положительных» указывается число всех пациентов с положительным мазком (для диагностики и контроля химиотерапии), а также всех положительных мазков.

В графе «Положительные для диагностики» указывается число пациентов с положительным мазком и число положительных мазков среди обследованных с целью диагностики.

Из приведенных в таблице данных вы можете вычислить уровень нагрузки лаборатории, кратность обследования диагностических больных, эффективность микроскопии.

Например, лаборатория N предоставила отчет о работе за апрель:

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ ОТЧЕТ ЛАБОРАТОРИИ

(заполняется совместно с фтизиатром)

Наименование лаборатории _____ N _____

Отчетный период _26 марта - 25 апреля _____

	Число обследованных пациентов	Число мазков
Всего	45	105
Для диагностики	30	82
Всего положительных	3	8
Положительных для новых случаев	2	6

Для определения *уровня нагрузки лаборатории* необходимо число всех исследованных мазков (105) разделить на число рабочих дней. Например, в апреле число рабочих дней составило 22. Среднее число мазков,

приготавливаемых ежедневно составляет 4,7 мазка, т.е. средняя нагрузка составляет 4-5 мазков в день. Максимально допустимая нагрузка на 1 микроскописта в день при микроскопии по Цилю-Нильсену составляет 20 мазков; минимальная, обеспечивающая поддержание профессионального уровня микроскописта – 2-3 мазка в день. Таким образом, в лаборатории N нагрузка в апреле месяце была умеренная.

Для определения *кратности обследования для диагностики* число мазков, сделанных для диагностики (82) необходимо разделить на число пациентов, обследованных с целью диагностики (30). Кратность по данным вышеприведенного отчета составляет 2,7. Для диагностики требуется трехкратное обследование. Средняя кратность 2,7 показывает, что не все пациенты были обследованы трехкратно. Однако доля пациентов, обследованных трехкратно, достаточно высока.

Для определения *выявляемости* надо число новых пациентов с положительным мазком (2) разделить на число всех пациентов, обследованных для диагностики (30), и умножить на 100%. В приведенном примере выявляемость составила 6,7%.

Соблюдение техники безопасности

считается удовлетворительным, если помещения, где проводятся исследования соответствует требованиям Госсанэпиднадзора.

Сотрудники лаборатории должны иметь и правильно использовать защитные принадлежности и одежду, включающие в себя халат, шапочку,

передник, перчатки и маски, которые обеспечивают задержку более 95% частиц диаметром более 1 мкм. Сотрудники лаборатории должны соблюдать правила техники безопасности и применять безопасные манипуляции при проведении исследований.

Внутрилабораторный контроль качества в микробиологической лаборатории.

Организация работы микробиологической лаборатории.

Помещение, в котором должна располагаться микробиологическая лаборатория, осуществляющая исследования с целью диагностики туберкулеза должны соответствовать требованиям, предъявляемым к работе с микроорганизмами 3 группы патогенности. Помещение должно быть оборудовано автономной приточно-вытяжной вентиляцией, водопроводом и канализацией. Лаборатория должна иметь следующие помещения: офисная часть, средоварка, приемная для анализов, картотека, бокс или биологический шкаф безопасности, автоклавная, моечная, термостатная, микроскопная, склад. Стены помещения и пол должны быть покрыты легко моющимся материалом, устойчивым к действию дезинфектантов. При организации исследований должна быть соблюдена поточность поступления анализов и работы с ними – по направлению от «чистой» части помещения к более «грязной».

Микробиологическая лаборатория, работающая с возбудителями 3-ей группы патогенности, должна быть оснащена необходимым оборудованием, обеспечивающим безопасную работу, и посудой.

Требования к проведению исследований методом микроскопии включают в себя все вышеперечисленные требования к лабораториям микроскопии.

Регистрация исследований

должна производиться при поступлении материала в лабораторном журнале. Данные о пациенте и цель исследования вносятся в журнал на основании приложенных направлений. Результаты исследований также вносятся в лабораторный журнал. Отрицательный ответ направившему на исследование материал врачу заполняется в соответствии с формой не позднее чем через 10 недель после посева. При получении положительного результата, немедленно выдается предварительный ответ. Такая же форма заполняется в случае пророста материала: необходимо затребовать еще одну пробу и повторить анализ. Окончательный ответ о результатах посева дается после проведения определения вида микобактерий и определения их лекарственной чувствительности. Результаты определения вида микобактерий и лекарственной чувствительности вносятся в «Журнал определения лекарственной чувствительности». Все результаты исследования для каждого больного заносятся в компьютерную базу

данных и/или бактериотеку. Все лабораторные документы должны храниться не менее 2 лет!

Контроль качества питательных сред.

Тест на стерильность.

6 пробирок из свежеприготовленной партии среды помещают в термостат при 37⁰С на 3 суток, достаточных для роста нетуберкулезных микроорганизмов. Если прорастает среда хотя бы в 1 пробирке, аналогичным образом должны быть проверены 10 дополнительных пробирок. Если хотя бы в одной из этих 10 появляется рост, аналогичным образом должны быть проверены все пробирки данной партии. Все пробирки с ростом загрязняющей микрофлоры следует удалить. Остальные неконтаминированные пробирки могут быть использованы.

Тест на проверку ростовых качеств сред.

Необходимо проводить тестирование ростовых качеств каждой партии среды с помощью стандартного тест-штамма. В качестве тест-штамма используют лабораторный (музейный) штамм *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Необходимо приготовить суспензию этой культуры с поверхности плотной среды (сделать смыв с 4-недельного посева с обильным/сплошным ростом), гомогенизировать суспензию с помощью встряхивания со стеклянными бусами на встряхивателе 1 минуту и сделать несколько ее разведений следующим образом:

- Развести бактериальную суспензию по стандарту мутности №5 – суспензия №1 с концентрацией МБТ 5×10^8 /мл.
- Приготовить 5 серийных 10-кратных разведений каждой культуры из суспензии №1, чтобы получить 5×10^3 и 5×10^4 бактерий в 1 мл;
- Засеять по 0,2 мл суспензий 5×10^3 и 5×10^4 /мл на поверхность двух пробирок новоприготовленной партии среды и двух пробирок предшествующей партии среды (по 4 пробирки из каждой партии).

Дальнейшую инкубацию производить в обычном порядке.

Регистрировать еженедельно рост и относительный размер колоний в пробирках, сравнивая рост на двух партиях среды (отмечать срок появления роста, количество и размер колоний).

Засевы разведений 5×10^4 и 5×10^3 должны дать рост 10-100 и 1-10 колоний соответственно. При таком росте на контролируемых средах, они считаются удовлетворительными.

Контроль ростовых свойств среды можно проводить с одновременно с посевом диагностического материала. В случае неудовлетворительного качества среды, полученные на ней отрицательные результаты посева считаются недостоверными. Остатки незасеянной среды должны быть уничтожены.

Регистрация результатов контроля качества среды.

Результаты контроля качества сред фиксируются в журнале приготовления сред. В журнале должны быть указаны дата приготовления

среды, объем приготовленной среды или количество разлитых пробирок, Ф.И.О. лаборанта, приготовившего среду, результаты теста на стерильность и на ростовые качества (время появления роста, количество колоний в различных разведениях, их размер и морфология), дата проведения контроля, Ф.И.О. лаборанта, проводившего контроль качества среды, заключение о годности среды. Новая среда пригодна к употреблению, если рост на ней эквивалентен или лучше, чем на предыдущей. Не используйте партию среды, если рост на ней хуже, чем на предыдущей.

Внутрилабораторный контроль качества деконтаминации.

Проводится ежедневно. Для контроля качества деконтаминации необходимо провести обработку штаммов МБ, согласно применяемой процедуре деконтаминации одновременно с клиническими образцами. В качестве тест-штамма использовать лабораторный (музейный) штамм *M. fortuitum*. Необходимо приготовить суспензию этой культуры, взяв ее бактериологической петлей с поверхности плотной среды, разлить суспензию контрольного штамма в две пробирки, одну из которых подвергнуть процедуре деконтаминации одновременно с клиническими образцами. Сделать из каждого из образцов несколько разведений следующим образом:

- Развести бактериальную суспензию по стандарту McFarland №1 оптической мутности (см. Определение лекарственной чувствительности, Приложение 16) – суспензия №1;
- Приготовить 7 серийных 10-кратных разведений каждой культуры из суспензии №1, чтобы получить 5×10^3 и 5×10^4 бактерий в 1 мл;
- Засеять по 0,2 мл суспензий 5×10^3 и 5×10^4 обработанной и необработанной суспензии на чашки Петри с кровяным агаром.

Инкубировать засеянные чашки при 37°C 24 часа. Засеянные разведения должны дать рост 1-10 и 10-100 колоний, соответственно.

Процедура деконтаминации считается удовлетворительной, если число колоний в контрольных пробах, подвергнутых деконтаминации, не более чем в 2 – 4 раза ниже, чем в соответствующих необработанных контрольных пробах. Результаты посева контрольных проб фиксируются в журнале регистрации посевов.

***Внутрилабораторный контроль качества определения вида
микобактерий.***

Для обеспечения качества исследований необходимо регулярно контролировать качество и годность реактивов и оборудования, правильность регистрации результатов. Для внутрилабораторного контроля качества проводимых процедур одновременно с диагностическими пробами необходимо тестировать контрольные культуры *M. tuberculosis H₃₇Rv*, *M. bovis* и *M. fortuitum* или *M. gordonae*. В связи с этим необходимо вести музей этих культур. Обратите внимание, что *M. fortuitum*, также как и *M. tuberculosis*, дает положительную нитратредуктазную реакцию.

***Контроль качества сред для определения лекарственной
чувствительности.***

Необходимо проверять качество каждой партии сред для определения лекарственной чувствительности. Для этого необходимо провести тест на чувствительность стандартного штамма *M. tuberculosis H₃₇Rv* ко всем исследуемым противотуберкулезным препаратам, одновременно с клиническими образцами. Подсчет колоний производить на 21-й день.

НОРМЫ
затрат времени на процедуры внутрилабораторного контроля
качества

<i>ВИД ИССЛЕДОВАНИЯ</i>	<i>ВРЕМЯ, мин</i>		
	<i>Лабор.</i>	<i>Врач</i>	<i>ВСЕГО</i>
<i>Внутрилабораторный контроль качества микроскопии по по Ziehl-Neelsen (1 отрицательный и 1 положительный мазок из мокроты)</i>			
Подготовка предметных стекол	0,5	0	0,5
Приготовление мазков из мокроты (2 мазка)	8,0	0	8,0
Окраска мазков по Ziehl-Neelsen	1,6	0	1,6
Микроскопия по Ziehl-Neelsen- 300 полей зрения	0	24,0	24,0
Ведение журнала контроля качества	0	3,0	3,0
Всего в день	10,1	27,0	37,1
Всего в год (250 рабочих дней)	2525,0	6750,0	9275,0
<i>Внутрилабораторный контроль качества микроскопии по по Ziehl-Neelsen (1 отрицательный и 1 положительный мазок из осадка)</i>			
Подготовка предметных стекол	0,5	0	0,5
Приготовление мазков из осадка (2 мазка)	4.4	0	4.4
Окраска мазков по Ziehl-Neelsen	1,6	0	1,6
Микроскопия по Ziehl-Neelsen- 300 полей зрения	0	24,0	24,0
Ведение журнала контроля качества	0	3,0	3,0

Всего в день	6,5	27,0	33,5
Всего в год (250 рабочих дней)	1625,0	6250,0	8375,0
<i>Внутрилабораторный контроль качества люминесцентной микроскопии</i> <i>(1 отрицательный и 1 положительный мазок из осадка)</i>			
Подготовка предметных стекол	0,5	0	0,5
Приготовление мазков из осадка (2 мазка)	4,4	0	4,4
Окраска мазков люминесцентная	3,8	0	3,8
Микроскопия люминесцентная	0	9,2	9,2
Ведение журнала контроля качества	0	3,0	3,0
Всего в день	8,7	12,2	20,9
Всего в год (250 рабочих дней)	2175,0	3125,0	5225,0
<i>Внутрилабораторный контроль качества сред</i>			
<i>Тест на стерильность</i> – просмотр ежедневно в течение 3 дней	1,0	0	1,0
Регистрация результатов теста на стерильность	3,0	0	3,0
ИТОГО:	4,0	0	4,0
<i>Тест на ростовые качества</i>			
Приготовление сред (4 пробирки: 2 для текущего контроля, 2 – для последующего сравнения)	10,4	0	10,4
Растирание культуры и приготовление суспензии в 6 серийных разведениях	0	19,6	19,6
Посев на 8 пробирок (2 разведения $5 \cdot 10^3$ и $5 \cdot 10^4$, по 2 пробирки с новой средой и 2 пробирки с предыдущей средой)	0	7,2	7,2
10-кратный просмотр посевов	3,3	0	3,3
Ведение журнала контроля качества	3,0	0	0

ИТОГО:	24,7	26,8	48,5
Всего в год (приготовление сред – 2 раза в месяц)	617,5	670	1212,5
<i>Внутрилабораторный контроль качества деконтаминации</i>			
Приготовление сред (2 чашки Петри с кровавым агаром)	10,0	0	10,0
Растирание суспензии и доведение до стандарта оптической плотности	0	10,0	10,0
Деконтаминация содержимого 1 пробирки	5,9	0	5,9
Приготовление 7 серийных разведений содержимого обеих пробирок	39,2	0	39,2
Посев на 2 чашки Петри, на каждую- по 2 разведения	3,6	0	3,6
Регистрация результатов	3,0	0	3,0
Всего в день	61,7	10,0	71,7
Всего в год	15425,0	2500	17925,0
<i>Внутрилабораторный контроль качества определения вида МБ</i>			
Ведение музея культур МБ (в год)	42,0	24,0	66,0
Растирание культур и приготовление суспензий из 3 музейных штаммов МБ: H ₃₇ Rv, M.bovis, M.fortuitum	0	14,7	14,7
Посев 3 культур на среды с ТСН, NaSal	0	7,95	7,95
Регистрация результатов	0	12,64	12,64
Всего в месяц	0	35,29	35,29
Всего в год (приготовление сред 2 раза в месяц)	42,0	906,25	948,25
<i>Внутрилабораторный контроль качества сред для исследования лекарственной чувствительности</i>			
Приготовление стерильной посуды	19	0	19
Приготовление среды с препаратами 1 ряда+ ТСН и NaSal	47,2	0	47,2
Подбор пробирок и надписи	4,3	0	4,3
Растирание культуры (1 чувствительная) и приготовление суспензии	0	4,9	4,9
Посев культуры	2,65	0	2,65
Регистрация результатов	0	23,0	23,0

Всего в месяц	73,15	27,9	101,05
Всего в год (приготовление сред 2 раза в месяц)	1828,8	697,5	2526,3

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

В настоящее время во фтизиатрии отсутствует отраслевой стандарт внутрилабораторного контроля качества культуральных исследований и определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза. Вместе с тем, регламентация проведения контроля качества в диагностике туберкулеза приобретает особую актуальность в связи с участием России в международных программах по борьбе с туберкулезом, в частности - с осуществлением мониторинга лекарственно устойчивых форм возбудителя. При проведении мониторинга вопрос сопоставимости данных различных лабораторий является первостепенным, что может быть достигнуто только применением стандартных методик с обязательным контролем качества их проведения.

Выполнение приведенных в настоящей работе процедур ежедневного контроля качества повседневных лабораторных манипуляций позволит выявить недопустимые случайные и систематические погрешности на всех этапах бактериологических лабораторных исследований. На основе этого возможна корректировка выполнения соответствующих методик.

Стандартизация материальной базы лабораторий и применяемых ими методик обеспечит рациональное использование имеющихся в

лаборатории ресурсов при увеличении достоверности и клинической значимости лабораторных диагностических исследований во фтизиатрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Приказ МЗ РФ №109 от 21.03.03. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации».
2. Внешняя оценка и внутрилабораторный контроль качества микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий в мокроте. Отраслевой стандарт./ Система стандартизации в здравоохранении российской Федерации. М., 2004.
3. Инструмент оценки лаборатории по туберкулезу. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 2003.
4. Лабораторная служба в программах по борьбе с туберкулезом. Всемирная организация здравоохранения, 1998.
5. Fadda G., Virgilio GD., Mantellini P., Piva P., Sertoli M. The organization of laboratory services for a tuberculosis control programme. JPMA, 1988, 38.-7.
6. Mitchison D.A., Keyes A.B., Edwards E.A. et al. Quality control in

tuberculosis bacteriology: The origin of isolated positive cultures from the sputum of patients in four studies of short course chemotherapy in Africa. *Tubercle* 1980;61.

7. Rieder H., Chonde T., Myking H. et al. The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. Minimum Requirements, Role and Operation in a Low-Income Country./ International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1998.