

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА “НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ФТИЗІАТРІЇ І ПУЛЬМОНОЛОГІЇ
ІМ. Ф. Г. ЯНОВСЬКОГО НАМН УКРАЇНИ”
(НІФП НАМН)

**СИСТЕМА ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ЛАБОРАТОРНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В
УСТАНОВАХ, ЩО ЗДІЙСНЮЮТЬ МІКРОБІОЛОГІЧНУ ДІАГНОСТИКУ
ДІАГНОСТИКУ ТУБЕРКУЛЬОЗУ НА РІЗНИХ РІВНЯХ НАДАННЯ МЕДИЧНОЇ
ДОПОМОГИ**

Навчальний посібник для фахівців бактеріологічних лабораторій
закладів протитуберкульозної служби України

Київ – 2013

Заклад-розробник:

Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ

Укладачі:

Журило Олександр Анатолійович – керівник лабораторії мікробіології туберкульозу НІФП НАМН, д-р мед. наук;

Барбова Анна Іванівна – керівник Центральної референс-лабораторії МОЗ України, канд. мед. наук, ст. наук. співроб. лабораторії мікробіології НІФП НАМН;

Глушкевич Тетяна Георгіївна – зав. бактеріологічною лабораторією Центральної СЕС, головний позаштатний бактеріолог МОЗ України;

Гончаренко Наталія Борисівна – зав. КДЛ міського центрального протитуберкульозного диспансеру м. Києва;

Жеребко Ніна Миколаївна – координатор програми «Зменшення тягара туберкульозу в Україні», РАТН;

Попова Катерина Євгеніївна – спеціаліст з лабораторної діагностики туберкульозу програми «Зупинимо туберкульоз в Україні», Благодійний фонд «Розвиток України»;

Павленко Олена Миколаївна – керівник групи впровадження проекту «Зниження захворюваності на туберкульоз в Україні за рахунок розширення та покращення доступу до високоякісних послуг з профілактики та лікування туберкульозу»;

Чайка Алевтина Олександрівна – зав. бактеріологічною лабораторією з діагностики туберкульозу КРУ «Протитуберкульозний диспансер № 1» (АР Крим).

Рецензенти:

Мельник В. М., зав. відділом організаційних та епідеміологічних проблем фтизіопульмонології НІФП НАМН, д-р мед. наук, професор

Поліщук О. І., зав. лабораторією медичної мікробіології з музеєм патогенних для людей мікроорганізмів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України», д-р мед. наук, професор

Голова профільної проблемної комісії МОЗ та НАМН України – академік НАМН України, д-р мед. наук, професор Ю. І. Фещенко

Голова експертної комісії – д-р мед. наук, професор В. М. Мельник

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ВКЯ	– внутрішній контроль якості;
ЗВТ	– засоби вимірювальної техніки;
ЗОЯ	– зовнішня оцінка якості;
КВ	– кураторські візити;
КДЛ	– клініко-діагностична лабораторія;
КСБ	– кислотостійкі бактерії;
МБТ	– мікобактерії туберкульозу;
НД	– нормативна документація;
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція;
ПН	– перевірка мазків «наосліп»;
ПТ	– «панельне» тестування;
ТМЧ	– тест медикаментозної чутливості;
СОП	– стандартна операційна процедура.

ЗМІСТ

	С.
Вступ.....	6
1 Основні вимоги до організації внутрішнього контролю якості бактеріологічних досліджень в закладах, що здійснюють діагностику туберкульозу на різних рівнях надання медичної допомоги.....	6
1.1 Кваліфікація персоналу лабораторії.....	7
1.2 Організація роботи лабораторії з забезпечення контролю якості бактеріологічних досліджень.....	9
1.2.1 Забезпечення якості бактеріологічних досліджень на преаналітичному етапі.....	9
1.2.2 Забезпечення якості бактеріологічних досліджень на аналітичному етапі.....	9
1.2.3 Забезпечення якості бактеріологічних досліджень на постаналітичному етапі.....	9
1.3 Контроль за умовами проведення бактеріологічних досліджень.....	10
1.3.1 Вимоги до лабораторних приміщень.....	10
1.3.2 Засоби виміральної техніки та лабораторне обладнання.....	11
1.3.3 Контроль температурних режимів інкубації та зберігання.....	12
1.3.4 Контроль режимів дезінфекції та стерилізації.....	12
1.3.5 Контроль повітря в виробничих приміщеннях лабораторії.....	13
1.3.6 Бактеріологічний контроль поверхонь та обладнання.....	13
1.3.7 Контроль ефективності ультрафіолетового бактерицидного випромінювання.....	13
1.3.8 Контроль якості води.....	14
1.3.9 Контроль витратних матеріалів.....	14
1.3.10 Тест-штами.....	15
1.4 Контроль якості на долабораторному етапі.....	16
1.4.1 Преаналітичний етап лабораторного дослідження.....	16
1.4.2 Оформлення супровідної та облікової документації.....	16
1.5 Контроль якості доставленого біологічного матеріалу.....	17
1.6 Внутрішній контроль якості бактеріоскопічних досліджень.....	18
1.6.1 Приготування барвників.....	18
1.6.2 Приготування мазків для бактеріоскопії, перегляд та зберігання.....	19
1.6.3 Реєстрація та видача результатів бактеріоскопічного дослідження.....	20
1.6.4 Аналіз результатів бактеріоскопічного дослідження.....	20
1.7 Внутрішній контроль якості бактеріологічних досліджень.....	21
1.7.1 Якість доставленого біологічного матеріалу.....	21

1.7.2	Якість живильних середовищ.....	22
1.7.3	Внутрішній контроль якості попередньої ідентифікації та визначення виду мікобактерій.....	25
1.7.4	Контроль якості реагентів для первинного посіву в системі MGIT.....	25
1.7.5	Контроль якості лабораторних процедур при дослідженні в системі VASTEC.....	27
1.7.6	Контроль якості ідентифікації виділених культур імунохроматографічними смужками.....	31
1.7.7	Контроль якості визначення медикаментозної чутливості.....	31
1.7.8	Облік та видача результатів бактеріологічного дослідження.....	32
1.7.9	Аналіз результатів бактеріологічного дослідження.....	33
1.8	Внутрішній контроль якості молекулярно-генетичних досліджень на туберкульоз..	34
1.8.1	Контроль якості досліджень при використанні картриджів Xpert MTB/RIF.....	35
1.8.2	Контроль якості досліджень при використанні ПЛР з детекцією методом гібридизації з типоспецифічними зондами (лінійний зонд-аналіз).....	35
2	Зовнішня оцінка якості досліджень.....	36
2.1	Зовнішня оцінка якості бактеріоскопічних досліджень.....	37
2.1.1	Кураторські візити.....	37
2.1.2	"Панельне" тестування бактеріоскопічних досліджень.....	38
2.1.3	Повторна перевірка мазків "наосліп".....	40
2.2	Зовнішня оцінка якості бактеріологічних досліджень.....	47
2.3	Зовнішній контроль якості молекулярно-генетичних досліджень.....	49
3	Удосконалення якості досліджень.....	50
Додаток А	Рекомендації до структури Настанови з якості.....	52
Додаток Б	Вимоги щодо обслуговування обладнання лабораторії.....	53
Додаток В	Мінімальний набір тест-штамів для контролю якості живильних середовищ та лабораторних процедур (в залежності від видів досліджень, на які атестована лабораторія).....	55
Додаток Г	Примірні питання для складання внутрішнього аналізу роботи мікробіологічної лабораторії II – III рівнів.....	56
Додаток Д	Протокол міжлабораторного контролю якості мікроскопії мазка мокротиння фарбованого за Цілем-Нільсеном.....	58
Додаток Е	Прості таблиці розмірів вибірки.....	59
	Резюме.....	64
	Рекомендована література.....	65

ВСТУП

Одним із першочергових завдань Загальнодержавної цільової соціальної програми протидії захворюванню на туберкульоз на 2012 – 2016 роки, що затверджена Законом України від 16 жовтня 2012 року № 5451-VI, є ефективне функціонування мережі лабораторій з бактеріологічної діагностики туберкульозу, що забезпечує своєчасне та якісне виявлення заразних випадків туберкульозу, моніторинг процесу лікування та документальне підтвердження виліковування хворого.

Для отримання якісних, достовірних результатів бактеріологічних досліджень у закладах, що здійснюють діагностику туберкульозу, має бути впроваджена система управління якістю бактеріологічної діагностики.

Поняття якості бактеріологічних досліджень включає в себе такі характеристики якості, як точність, правильність, специфічність, чутливість, відтворюваність, ефективність роботи лабораторії, безпечні умови проведення досліджень. У зв'язку з цим, заходи щодо забезпечення якості бактеріологічних досліджень повинні охоплювати всі аспекти належної роботи лабораторії.

Система забезпечення якості бактеріологічних досліджень в закладах, що здійснюють діагностику туберкульозу на різних рівнях надання медичної допомоги, повинна включати внутрішній та зовнішній контроль якості.

Методичні рекомендації, що викладені в навчальному посібнику встановлюють уніфіковані підходи до забезпечення якості бактеріологічних досліджень в мережі лабораторій, що здійснюють діагностику туберкульозу на різних рівнях надання медичної допомоги. .

1 ОСНОВНІ ВИМОГИ ДО ОРГАНІЗАЦІЇ ВНУТРІШНЬОГО КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ БАКТЕРІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В ЗАКЛАДАХ, ЩО ЗДІЙСНЮЮТЬ ДІАГНОСТИКУ ТУБЕРКУЛЬОЗУ НА РІЗНИХ РІВНЯХ НАДАННЯ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ

Внутрішній контроль якості бактеріологічної діагностики туберкульозу – це процес ефективного та систематичного внутрішнього спостереження за робочим процесом у лабораторії з метою належного дотримання вимог нормативно-правових актів, які регламентують аспекти діяльності мережі лабораторій з бактеріологічної діагностики туберкульозу. Внутрішній контроль якості бактеріологічних досліджень гарантує, що результати, отримані в даній лабораторії, є точними, достовірними та відтворюваними.

Заходи щодо внутрішнього контролю якості в лабораторії діагностики туберкульозу стосуються:

- кваліфікації персоналу;
- організації роботи лабораторії;
- умов проведення досліджень (приміщення, засоби вимірювальної техніки та лабораторне обладнання);
- якості зразків біологічного матеріалу, що доставляються на дослідження;
- оформлення супровідної та облікової документації;
- методик приготування барвників, реактивів, живильних середовищ, діагностичних тестів;
- методики приготування та фарбування мазків;
- техніки бактеріоскопії;
- передпосівної обробки біологічного матеріалу;
- дотримання методик виконання культуральних досліджень;
- дотримання методик постановки тесту медикаментозної чутливості (ТМЧ);
- реєстрації та видачі результатів досліджень;
- аналізу результатів досліджень та звітності.

1.1 Кваліфікація персоналу лабораторії

В лабораторіях I рівня діагностики туберкульозу роботу (пункти мікроскопії) роботу з бактеріоскопічної діагностики туберкульозу організують і проводять лікарі-лаборанти (біологи), лікарі-бактеріологи (бактеріологи) та фельдшери-лаборанти, які мають відповідну підготовку з бактеріоскопічної діагностики туберкульозу, що підтверджено сертифікатом.

В лабораторіях з бактеріологічної діагностики туберкульозу II–III рівня роботу організують і проводять спеціалісти з вищою спеціальною освітою, які мають сертифікат лікаря-спеціаліста за фахом "бактеріологія", та пройшли курси спеціалізації, стажування або інші види підготовки з бактеріологічної діагностики туберкульозу, мають необхідну за програмою теоретичну і практичну підготовку за своєю спеціальністю, відповідно до Положення про порядок проведення атестації лікарів, затвердженого наказом МОЗ України від 19.12.97 № 359, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 14.01.98 за № 14/2454.

Приймання матеріалу, ведення записів у журналах, виконання допоміжних маніпуляцій при проведенні досліджень та деяких етапів аналізу, дезінфекцію, знешкодження матеріалу, тощо – здійснюють лаборанти, які отримали свідоцтво про проходження підвищення кваліфікації та перепідготовки молодших медичних та фармацевтичних спеціалістів відповідно до Положення про Свідоцтво про проходження підвищення кваліфікації та перепідготовки молодших медичних та фармацевтичних спеціалістів затвердженого Наказом МОЗ України від 07.09.93 № 198, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 31.12.93 за № 208.

Кваліфікаційні вимоги до працівників лабораторій викладені у Довіднику кваліфікаційних характеристик професій працівників. Випуск 78. Охорона здоров'я, затвердженому Наказом МОЗ України від 29.03.2002 № 117.

Кожен працівник лабораторії повинен мати посадову інструкцію з функціональними обов'язками, затверджену керівником закладу.

Персонал лабораторії має систематично підвищувати свою професійну кваліфікацію на відповідних циклах у закладах післядипломної освіти (1 раз на 5 років), нарадах, семінарах, конференціях, тренінгах, робочих місцях тощо.

З метою підвищення відповідальності за ефективність і якість роботи, раціонального розподілу кадрового потенціалу з урахуванням їх професійної майстерності, досвіду та складності виконуваних робіт, фахівці лабораторії мають проходити атестацію в установленому порядку.

Працівники, які мають безпосереднє відношення до експлуатації автоклавів або балонів із стиснутим або скрапленим газами, повинні пройти підготовку і мати посвідчення про допуск їх до роботи з автоклавами (балонами).

Навчання та атестація персоналу, який обслуговує судини, що працюють під тиском, проводяться в учбово-курсних комбінатах або на спеціальних курсах, організованих за узгодженням з місцевими органами Держгірпромнагляду. Індивідуальна підготовка не допускається.

Персонал з відповідною професійною підготовкою допускається до роботи після проведення інструктажу щодо дотримання вимог біологічної безпеки та безпеки праці, про що повинна бути відмітка з підписом проінструктованого у "Журналі реєстрації інструктажів з питань охорони праці на робочому місці", форма якого визначена додатком 6 до Типового положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці, затвердженого Наказом Державного Комітету України з нагляду за охороною праці від 26.01.2005 № 15, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 15.02.2005 за № 231/10511. Повторні інструктажі з виконання вимог біологічної безпеки та охорони праці проводяться 1 раз на 6 місяців, а для робіт з підвищеною небезпекою (автоклави) – щокварталу. Інструктаж з питань пожежної безпеки проводять 1 раз на рік. Працівники, які суміщають професії, інтерни, курсанти проходять інструктажі на загальних підставах.

Відповідальність за забезпечення якості досліджень, дотримання вимог біологічної безпеки несе кожен співробітник лабораторії на своєму робочому місці.

1.2 Організація роботи лабораторії з забезпечення контролю якості бактеріологічних досліджень

Політика системи забезпечення якості бактеріологічних досліджень повинна бути чіткою і легкодоступною для персоналу. Рекомендації щодо основних розділів Настанови з якості надані в додатку А.

1.2.1 Забезпечення якості бактеріологічних досліджень на преаналітичному етапі

Задokumentовані процедури (інструкції, алгоритми) забору, зберігання та транспортування біологічного матеріалу, повинні бути затверджені головним лікарем закладу, де відбирається матеріал для дослідження і погоджені із завідувачем лабораторії, яка буде досліджувати зразки. Інструкції повинні знаходитись у всіх пунктах, де проводиться забір біологічного матеріалу, які доставлятимуть зразки у відповідну лабораторію.

1.2.2 Забезпечення якості бактеріологічних досліджень на аналітичному етапі

Завідуючий лабораторією і персонал за своїми функціональними обов'язками, має постійно відслідковувати калібрування та функціонування приладів відповідно до рекомендацій виробників.

На робочих місцях повинні знаходитися інструкції роботи на приладах і стандартні операційні процедури (далі – СОП).

У робочій інструкції до приладу повинна вказуватися послідовність підготовки приладу до роботи, калібрування, проведення вимірювань (досліджень) контрольного матеріалу та проб пацієнтів, оцінка прийнятності результатів отриманих вимірів.

СОПи встановлюють правила проведення конкретних досліджень в лабораторії і є основою для навчання нового персоналу. Мета СОПів – показати працівникам що, як і коли робити на певному робочому місці. Це дає можливість завідувачу мати всю інформацію про дії персоналу, перевіряти правильність і повноту виконання роботи, простежити причину появи будь-якої невідповідності одержаних результатів вимогам нормативно-правових актів. В зв'язку з цим, використання написаних СОПів вважається одним з найбільш важливих та ефективних управлінських механізмів контролю за правильним виконанням робіт у лабораторії.

При застосуванні нових методів, впроваджених в ініціативному порядку, повинні бути приведені дані про джерело методичної інформації, відомості про апробацію даного методу (дослідження контрольних проб і оцінка прийнятності результатів).

1.2.3 Забезпечення якості бактеріологічних досліджень на постаналітичному етапі

Терміни видачі результату дослідження мають відповідати вимогам нормативно-правових актів. В лабораторії має бути впроваджений порядок проведення постаналітичного контролю результатів лабораторних досліджень:

- перегляд результатів досліджень, оцінка їх достовірності, співставлення даного результату з результатами попередніх досліджень у того ж пацієнта;
- підтвердження результатів досліджень відповідальним за даний вид досліджень співробітником або завідувачем лабораторією.

Клінічний аудит лабораторної інформації повинен здійснюватися спільно клінічним і лабораторним персоналом на основі аналізу її використання при веденні пацієнтів і за результатами лікування.

1.3 Контроль за умовами проведення бактеріологічних досліджень

Дотримання вимог до умов проведення досліджень включає контроль: за відповідністю лабораторних приміщень, метрологічного забезпечення, правильності експлуатації обладнання, дотримання температурних параметрів інкубації та зберігання, режимів дезінфекції та стерилізації тощо.

1.3.1 Вимоги до лабораторних приміщень

Приміщення лабораторії для бактеріоскопічних, бактеріологічних та молекулярно-генетичних досліджень з діагностики і контролю хіміотерапії туберкульозу повинні відповідати вимогам Державних санітарних правил 9.9.5.-080-2002 "Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю" та ДСП 9.9.5-153-2008 "Організація роботи лабораторій при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I–IV груп патогенності молекулярно-генетичними методами".

Високий епідеміологічний ризик аерозольної передачі мікобактерій туберкульозу при маніпуляціях, що проводяться в лабораторії, вимагає чіткого виконання вимог цих нормативно-правових актів. Влаштування лабораторії, розташування і організація робочих місць повинні не тільки знижувати ризик контамінації на робочих місцях, але й забезпечувати необхідні умови безпеки при роботі персоналу зі збудником туберкульозу, запобігаючи внутрішньо-лабораторному інфікуванню.

Для бактеріологічних лабораторій з бактеріологічної діагностики туберкульозу II – IV рівнів слід передбачати окремі системи механічної припливно-витяжної вентиляції, які відповідають вимогам державних будівельних норм та інфекційного контролю.

Системи механічної припливно-витяжної вентиляції повинні бути паспортизовані. Експлуатація та сервісне обслуговування механічної припливно-витяжної вентиляції та кондиціонування здійснюються відповідальною особою закладу або іншою спеціалізованою організацією. Один раз на рік проводиться перевірка ефективності роботи, поточні ремонти (при необхідності), а також очищення та дезінфекція систем механічної припливно-витяжної вентиляції та кондиціонування.

При експлуатації систем вентиляції повинні бути забезпечені нормативні вимоги до кратності обміну повітря та рівнів шуму і вібрації.

Лабораторії з мікробіологічної діагностики туберкульозу II – IV рівнів мають бути розділені на інфіковану ("заразну") зону, де відбувається рух і обробка діагностичного (потенційно заразного) матеріалу, і неінфіковану ("чисту") зону, між "заразною" та "чистою" зонами повинен бути обладнаний санпропускник з душем.

У лабораторіях повинен бути створений епідеміологічно безпечний шлях руху досліджуваного матеріалу, тобто поточність руху матеріалу починаючи з прийому, первинної обробки, безпосередньо проведення дослідження і, насамкінець, знешкодження відпрацьованого матеріалу і видалення його за межі лабораторії.

Мікобактерії туберкульозу віднесені до III групи патогенності. Роботу з біологічними агентами III – IV групи патогенності можуть проводити тільки лабораторії з бактеріологічної діагностики туберкульозу II – IV рівнів, що мають дозвіл на роботу виданий відповідно до чинного законодавства.

Робочі приміщення лабораторії обладнують УФ-опромінювачами.

Усі лабораторії (I – IV рівні) мають бути атестовані в установленому законодавством порядку.

1.3.2 Засоби вимірювальної техніки та лабораторне обладнання

Лабораторія повинна мати обладнання та засоби вимірювальної техніки (далі – ЗВТ), що необхідні для проведення досліджень. Нормативи оснащення лабораторій з бактеріологічної діагностики туберкульозу I – IV рівнів затверджені відповідним Наказом МОЗ України від 16 липня 2008 року № 388 «Про затвердження Нормативів оснащення лабораторій з мікробіологічної діагностики туберкульозу 1 – 4 рівнів».

Лабораторне обладнання має відповідати характеристикам і специфікаціям, заявленим виробником, бути зареєстрованим і дозволеною до використання в Україні.

Прилади, що використовуються, повинні відповідати нормам безпеки і електромагнітної сумісності.

На кожен одиницю обладнання, що використовується, має бути паспорт підприємства-виробника або керівництво для користувача; розроблена, затверджена керівником установи та вивішена на робочому місці стисла інструкція з експлуатації, з урахуванням вимог біологічної безпеки та безпеки праці.

На обладнання, що потребує періодичного технічного (сервісного) обслуговування, повинні бути затверджені графіки технічного обслуговування та атестації, а для ЗВТ – графіки повірки.

Сервісне обслуговування обладнання слід регулярно проводити кваліфікованими спеціалістами, всі заходи щодо обслуговування повинні реєструватися у спеціальному журналі довільної форми, але відображати дату та перелік виконаних робіт. Для забезпечення систематичного проведення сервісного обслуговування та, у разі необхідності, ремонту лабораторного обладнання, необхідно у річному бюджеті закладу планувати кошти у розмірі 5,0 – 10,0 % від вартості лабораторного обладнання.

Вимоги щодо обслуговування та заходів контролю засобів виміральної техніки та основного обладнання наведені в додатку Б.

1.3.3 Контроль температурних режимів інкубації та зберігання

Для контролю температурного режиму в кожній холодильній установці (холодильнику) та термостаті (термальній кімнаті) повинен бути термометр або пристрій для автоматичного запису температурного режиму.

Контроль температури в термостатах та холодильниках проводять щоденно перед початком роботи та наприкінці робочого дня. Результати вимірів заносять у журнал або контрольний лист і завіряють підписом виконавця. У випадку перевищення припустимих відхилень температури, співробітник, що проводить реєстрацію, повинен повідомити про це керівникові підрозділу і провести регулювання температури для компенсації виявлених відхилень. Якщо врегулювати температуру не вдається, викликають сервісну службу, а вміст холодильника чи термостату переносять у технічно справне обладнання.

1.3.4 Контроль режимів дезінфекції та стерилізації

Для контролю режиму дезінфекції та стерилізації використовують три види контролю: термічний, хімічний та біологічний.

Термічний та хімічний контролю проводять при кожному завантаженні.

Для термічного контролю використовують повірений максимальний термометр із ціною поділки не більше 1⁰С і діапазоном вимірювань, що перевищує контрольовану температуру. Термометр розміщують у середині стерилізаційної камери. Облік температури здійснюють після закінчення циклу стерилізації і охолодження вмісту камери до кімнатної температури.

Для визначення точного значення максимальної температури циклу стерилізації до показів термометра додають відповідну поправку, зазначену в паспорті на даний термометр.

Для хімічного контролю використовують паперові індикатори стерилізації або тестові хімічні речовини, рекомендовані нормативно-правовими актами. Тести розташовують згідно схем, наведених в інструкції з використання індикаторів стерилізації. Після закінчення циклу стерилізації індикаторні смужки (ампули з хімічною тестовою речовиною) витягають із контрольних точок і порівнюють з еталоном.

Біологічний контроль здійснює лікар-бактеріолог лабораторії, що проводить дослідження.

Біологічний контроль здійснюють щомісяця. Для біологічного контролю використовують біотести (біоіндикатори), призначені для конкретного режиму парової або сухоповітряної стерилізації, зареєстровані та дозволені до застосування МОЗ України. Методика контролю викладена в інструкції про застосування конкретного біологічного індикатора.

Результати контролю реєструють у формі № 257/о "Журнал контролю роботи стерилізаторів повітряного, парового (автоклаву)", затвердженої Наказом МОЗ України № 1 від 04.01.04 «Про затвердження форм медичної облікової документації, що використовується в лабораторіях лікувально-профілактичних закладів».

Про незадовільні результати контролю стерилізації відповідальний виконавець інформує керівника підрозділу, а використання (або утилізація) всієї партії матеріалів забороняється, вона потребує повторної обробки. До з'ясування причин незадовільної роботи, стерилізатор не використовується. Причину незадовільної роботи стерилізатора встановлюють представники сервісних служб або технічної служби закладу.

1.3.5 Контроль повітря в виробничих приміщеннях лабораторії

Умови мікроклімату приміщень лабораторії повинні відповідати вимогам державних санітарних, будівельних норм, інфекційного контролю, а також параметрам експлуатації обладнання, зазначених в керівництві з експлуатації конкретного приладу.

Контроль бактеріального забруднення повітря виробничих приміщень здійснюється відповідно до чинного законодавства при підозрі виникнення контамінації у лабораторії або після аварійних ситуацій для контролю ефективності деконтамінаційних заходів.

1.3.6 Бактеріологічний контроль поверхонь та обладнання

Бактеріологічне дослідження поверхонь у приміщеннях і обладнання проводять з метою перевірки ефективності режиму дезінфекції. Дослідження проводять відповідно до нормативно-правових актів методом змивів за необхідності при підозрі виникнення контамінації у лабораторії або після аварійних ситуацій для контролю ефективності деконтамінаційних заходів.

При підозрі контамінації або виникненні аварійних ситуацій у приміщеннях лабораторії, де проводяться дослідження молекулярно-генетичними методами, контроль поверхонь здійснюють відповідно до чинних нормативно-правових актів з питань організації роботи у лабораторіях, що використовують молекулярно-генетичні методи для діагностики та ідентифікації збудників інфекційних захворювань.

1.3.7 Контроль ефективності ультрафіолетового бактерицидного випромінювання

Допускається використання тільки тих УФ-опромінювачів, ефективність яких підтверджена результатами вимірів УФ-радіометрами.

Для забезпечення якісної роботи УФ ламп необхідно: ретельно дотримуватися інструкції підприємства-виробника з експлуатації, реєструвати дату початку експлуатації, вести облік часу їх роботи, здійснювати заміну відповідно до відпрацьованого ресурсу лампи, не менше 1 разу на місяць протирати лампи марлевим тампоном, змоченим 96⁰ спиртом. Інструментальний контроль ефективності роботи лампи повинен бути при установці та не рідше 1 разу на 6 місяців при подальшій експлуатації.

Облік часу роботи бактерицидних ламп покладається на працівника, відповідального за знешкодження відпрацьованого біологічного матеріалу в лабораторії.

Контроль за ефективністю роботи іншого обладнання для дезинфекції повітря проводиться відповідно до інструкції щодо застосування приладу.

1.3.8 Контроль якості води

Водопровідна вода має відповідати вимогам Державних санітарних норм та правил ДСанПіН 2.2.4-400-10 "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною", затверджених Наказом МОЗ України від 12 травня 2010 року № 400, зареєстрованих у Міністерстві юстиції України 1 липня 2010 року за № 452/17747.

Якість дистильованої води, що застосовується, повинна відповідати вимогам ГОСТ 6709-72 "Вода дистильована. Технічні умови". рН води повинна бути нейтральною. Дистильовану воду зберігають у судинах, виготовлених з інертних матеріалів (наприклад з нейтрального скла, поліетилену тощо).

1.3.9 Контроль якості витратних матеріалів

Закупівля реактивів і витратних матеріалів повинна здійснюватися у відповідності до розрахунку прогнозованої потреби. Необхідно регулярно контролювати терміни придатності витратних матеріалів і в першу чергу використовувати витратні матеріали з термінами придатності, що скоро закінчуються.

Лабораторія має вести облік отриманих наборів реагентів, барвників, живильних середовищ та інших витратних матеріалів із зазначенням дати отримання, кількості, терміну придатності, дати відкриття упаковки.

Живильні середовища, діагностичні тести, витратні матеріали, які закупаються, повинні бути зареєстровані та дозволені до використання в Україні. На кожну серію має бути сертифікат (паспорт) якості із зазначенням результатів виробничого контролю, на кожне найменування – інструкція про застосування.

Реагенти, живильні середовища готують у відповідності до затверджених методик та інструкцій щодо їх застосування.

Приготовлені розчини реактивів зберігають у герметично закритих ємкостях з темного скла. На кожній ємкості повинен бути напис із зазначенням: назви розчину, дати його

приготування (стерилізації, якщо необхідно), терміну придатності і прізвища фахівця, який готував розчин.

Всі вихідні розчини зберігаються не більше терміну придатності та постійно поповнюються.

Всі контейнери (флакони, упаковки) з реактивами і барвниками комерційного виробництва повинні мати на етикетках інформацію про дату виготовлення, термін придатності та відмітку про дату отримання лабораторією і дату відкривання упаковки.

Будь-які неякісні матеріали або із вичерпаним терміном придатності не повинні використовуватись.

Дезінфікуючі засоби, що надходять до лабораторії, повинні бути дозволені до застосування в Україні в установленому порядку, супроводжуватися інструкцією про застосування. На кожен серію мають бути сертифікати (паспорти) якості виробника.

Реагенти та інші витратні матеріали для поточної роботи зберігають у лабораторіях у холодильниках або шафах з додержанням температури, що вказана в інструкції про застосування препарату.

Термін і умови зберігання готових живильних середовищ повинні відповідати вимогам нормативно-правових документів.

Забороняється зберігати в лабораторії:

- будь-які речовини без етикеток;
- вибухо- і вогнебезпечні реактиви разом із сильно отруйними;
- спільно або в безпосередній близькості речовини, що можуть впливати одна на одну і викликати, внаслідок хімічної взаємодії, пожежу або вибух;
- запаси отруйних, сильнодіючих вибухонебезпечних речовин і розчинів на робочих столах.

1.3.10 Тест-штами

Лабораторії з бактеріологічної діагностики туберкульозу II – IV рівнів діагностики туберкульозу мають бути забезпечені наборами тест-штамів для контролю якості живильних середовищ, окремих процедур та діагностичних тестів. Штами мають бути отримані з офіційного джерела.

Перелік мінімального набору тест-штамів для контролю живильних середовищ та лабораторних процедур наведений у додатку В.

При роботі з культурами мікроорганізмів, та в усіх інших випадках, пов'язаних з їх зберіганням і переміщенням в межах та поза межами лабораторії, працівники повинні керуватися відповідними чинними нормативно-правовими актами.

Правильність використання приміщень лабораторії, робочий стан вентиляції та інших інженерних систем, робота обладнання у відповідності з встановленими у паспортах параметрами, достатність запасу витратних матеріалів, посуду і реактивів повинні регулярно контролюватися інженерними службами, уповноваженими співробітниками лабораторії та керівником лабораторії.

1.4 Контроль якості на долабораторному етапі

1.4.1 Преаналітичний етап лабораторного дослідження – комплекс заходів, що виконується від моменту призначення лабораторного обстеження до початку проведення дослідження.

Контроль якості на цьому етапі включає наявність у закладах охорони здоров'я, де організований пункт збору мокротиння:

- наказу головного лікаря закладу про призначення відповідального за збирання мокротиння;

- відображення відповідних функцій в посадових інструкціях фахівців, відповідальних за збір мокротиння;

- на робочих місцях задокументованої процедури (СОП, інструкція, алгоритм, модуль), що визначає порядок підготовки пацієнта до процедури, збору, зберігання, транспортування зразків до відповідної лабораторії та оформлення супровідної документації;

- пам'яток для пацієнтів щодо правил збору мокротиння;

- одноразових контейнерів для збирання мокротиння та дотримання умов їх зберігання;

- транспортних контейнерів для транспортування проб до відповідної лабораторії;

- форм первинної облікової документації;

- умов для дотримання вимог біологічної безпеки, необхідної кількості дезінфекційних засобів та засобів індивідуального захисту;

- умов для дотримання вимог щодо зберігання (наявність холодильника в робочому стані) та своєчасного транспортування біологічного матеріалу до лабораторії.

1.4.2 Оформлення супровідної та облікової документації

На зразки, в залежності від мети дослідження, заповнюється направлення за формою № 200-1/о "Направлення на бактеріоскопічне дослідження ТБ 05" (далі – форма ТБ 05), або за формою № 200-2/о "Направлення на бактеріологічне дослідження ТБ 06" (далі – форма ТБ 06), затверджених Наказом МОЗ України від 02 вересня 2009 року № 657 «Про затвердження форм первинної облікової документації і форм звітності з туберкульозу та інструкцій щодо їх заповнення».

На кожний транспортний контейнер заповнюють форму № 240-1/о "Опис зразків мокротиння, які направляються в лабораторію ТБ 05а" (далі – форма ТБ 05а) у двох примірниках, затверджених Наказом МОЗ України від 02 вересня 2009 року № 657 «Про затвердження форм первинної облікової документації і форм звітності з туберкульозу та інструкцій щодо їх заповнення».

Один екземпляр форми ТБ 05а, після перевірки доставленого матеріалу лаборантом, залишається в лабораторії, другий – з підписом та зауваженнями співробітника лабораторії, який прийняв матеріал (якщо такі є), повертається до медичного закладу, з якого направлявся матеріал.

Зазначену супровідну документацію розміщують окремо від матеріалу (у файлі, конверті тощо), поза транспортним контейнером із зразками.

Перед відправкою зібраного матеріалу відповідальний медичний працівник повинен перевірити:

- відповідність кількості первинних контейнерів з мокротинням їх кількості, зазначеній у списку форми ТБ 05а;
- відповідність номеру кожного первинного контейнера номерам, вказаним у формі ТБ 05а;
- наявність у списку всіх необхідних даних про кожного пацієнта;
- наявність в супровідних документах даних про медичну установу, контактний телефон та дату відправлення матеріалу.

1.5 Контроль якості доставленого біологічного матеріалу

Лабораторний етап дослідження розпочинається з отримання, оцінки кількості та якості доставленого біологічного матеріалу та перевірки повноти оформлення супровідної документації.

Організацію прийому матеріалу вважають задовільною за наявності виконання наступних вимог.

У лабораторії повинні бути затверджені керівником закладу охорони здоров'я правила відбракування матеріалу, що включають у тому числі:

- відмову від прийому первинних проб без необхідної супровідної документації та маркування;
- дії персоналу відносно проб незадовільної якості;
- заходи при виявленні пошкоджених або не герметично закритих контейнерів.

Доставлений матеріал приймають у лабораторії на окремому, спеціально обладнаному столі. Розпаковування матеріалу, що надійшов для дослідження у лабораторію, здійснюють з дотриманням вимог біологічної безпеки у шафі біологічної безпеки або у витяжній шафі.

При цьому необхідно перевірити наступне:

- правильність пакування і стан супровідної документації (доставлені окремо від зразків мокротиння і не забруднені біологічним матеріалом);
- правильність та повнота заповнення супровідної документації відповідно до вимог нормативно-правових актів;
- відповідність даних, вказаних у супровідній документації, доставленим зразкам біологічного матеріалу (кількість зразків, наявність правильного маркування тощо);
- якість та кількість доставленого матеріалу.

Зауваження щодо кількості та якості мокротиння зазначають у формі ТБ 05а та повертають один екземпляр форми медичному працівнику, що доставив матеріал, для інформування лікаря, який направив матеріал на дослідження.

Придатним для дослідження вважають зразок мокротиння, у якому є слизисті або слизисто-гнійні грудочки, об'ємом 3,0 мл мокротиння для здійснення бактеріоскопічного дослідження і не менше 5,0 мл – для посіву та молекулярно-генетичного дослідження.

Біологічний матеріал, що надійшов на дослідження у лабораторію, реєструють у формі № 252-1/о "Лабораторний реєстраційний журнал (бактеріоскопічні дослідження) ТБ 04/1" (далі – форма ТБ 04/1) або № 252-1/о "Лабораторний реєстраційний журнал (бактеріологічні дослідження) ТБ 04/2" (далі – форма ТБ 04/2).

Якщо доставлено матеріал без направлення, без маркування на контейнері, у пошкоджених контейнерах (розбитих, з тріщинами, із слідами протікання тощо), його необхідно знешкодити автоклавуванням або одним із методів дезінфекції, сповістити про це в заклад охорони здоров'я, який направив матеріал та запросити нові зразки.

Бланки направлень, що були забруднені, дезінфікують за загальноприйнятими методиками.

1.6 Внутрішній контроль якості бактеріоскопічних досліджень

1.6.1 Приготування барвників

Для стандартизації та удосконалення якості роботи лабораторії доцільно використовувати готові (комерційного виготовлення) набори барвників, реактиви, які відповідають вимогам методики, зареєстровані в Україні та мають сертифікат якості.

Кожна партія приготовлених у лабораторії барвників, а також набори барвників комерційного виготовлення, підлягають контролю якості, який проводиться шляхом фарбування контрольних позитивних К (+) та негативних К (-) мазків.

Контрольні негативні мазки готують із мокротиння, в якому кислотостійкі бактерії не виявлені, їх маркують К (-).

Контрольні позитивні мазки готують із мокротиння, в якому кислотостійкі бактерії виявлені з високою градацією позитивного результату, їх маркують К (+).

Після висушування та фіксації, контрольні мазки зберігають в ємностях для зберігання стекол, відповідно промаркованих «Нефарбовані контрольні мазки (+)», «Нефарбовані контрольні мазки (-)».

Якщо в мазку К (+) знайдені кислотостійкі бактерії (КСБ), а в мазку К (-) не знайдені, партію барвників вважають придатною до застосування, про що роблять відмітку в Журналі приготування реагентів, який ведуть у довільній формі та має містити інформацію про дату приготування, об'єм, дату та результати контролю приготовленої партії реагенту.

1.6.2 Приготування мазків для бактеріоскопії, перегляд та зберігання

Послідовність приготування та фарбування мазків має бути задокументована і знаходитися на робочому місці.

Для щоденного внутрішнього контролю якості методу бактеріоскопії кожна лабораторія повинна мати і періодично поповнювати набір контрольних мазків.

Препарати для мікроскопії готують партіями не більше 12 мазків в одній партії.

При дослідженні неконцентрованих проб мокротиння препарат готують із щільних часточок, що знаходяться у мокротинні.

З кожною партією мазків, приготовлених з клінічного матеріалу пацієнтів, фарбують один контрольний позитивний та один контрольний негативний мазки.

Для дотримання методики фарбування, обов'язково використовують таймер.

На контрольних мазках, які фарбуються разом із мазками, приготовленими із біологічного матеріалу, ставиться дата проведення контролю. Результат дослідження пофарбованих контрольних мазків, в залежності від рівня лабораторії, реєструють у форми ТБ 04/1 або ТБ 04/2 (в графі "Примітки"). Позитивний контроль К (+) використовується для контролю якості барвників і дотримання методики фарбування. Негативний контроль К (-) підтверджує, що реагенти, розчини барвників, дистильована вода та імерсійна олія не контаміновані кислотостійкими мікроорганізмами чи артефактами.

Перед переглядом мазків, приготовлених з біологічного матеріалу, досліджують пофарбовані контрольні позитивні та негативні мазки.

Мазки, приготовлені з біологічного матеріалу, пофарбовані за Цилем-Нільсеном, не повинні досліджуватись у разі, якщо:

- у позитивному контрольному мазку К (+) не знайдені КСБ;
- у негативному контрольному мазку К (–) знайдені КСБ;
- недостатнє знебарвлення фону (рожевий мазок).

При виникненні вищевказаної ситуації, всі реагенти, барвники, дистильовану воду та імерсійну олію замінюють на щойно приготовлені (або новий комерційний набір барвників), ретельно обробляють об'єктиви мікроскопу, а партію мазків не досліджують, а готують нові препарати. Якщо біологічний матеріал не залишився, то повідомляють у клінічні відділення з метою доставки в лабораторію повторних зразків біологічного матеріалу від даних пацієнтів.

У лабораторії з діагностики туберкульозу I рівня усі переглянуті мазки, незалежно від результату, підлягають зберіганню. Для цього після закінчення дослідження видаляють залишки імерсійної олії з препарату та поміщають їх у спеціально призначені для цього коробки-контейнери для зберігання переглянутих препаратів у тому самому порядку, в якому їх зареєстровано в лабораторному журналі, та відповідно промарковано. Всі мазки зберігаються до проведення чергового заходу із зовнішньої оцінки якості (ЗОЯ) бактеріоскопічних досліджень.

Лабораторії II – III рівнів зберігають позитивні мазки впродовж шести місяців.

1.6.3 Реєстрація та видача результатів бактеріоскопічного дослідження

Результати бактеріоскопії відповідальний лікар клініко-діагностичної лабораторії (далі – КДЛ), бактеріологічного відділу (відділення) КДЛ або бактеріологічної лабораторії вносить у журнал ТБ 04/1 (ТБ 04/2) та форму ТБ 05 (ТБ 06).

З метою запобігання видачі хибнопозитивного результату, позитивні мазки, перед реєстрацією та видачею до закладу, що направив матеріал, мають бути переглянуті іншим, більш досвідченим спеціалістом лабораторії або завідувачем для колегіального рішення щодо позитивності даного мазка та визначення градації позитивного результату.

Інформацію про результат бактеріоскопічного дослідження направляють лікарю (у відділення) не пізніше 24 годин після отримання біологічного матеріалу. Необхідно мати на увазі, що зібране мокротиння може зберігатись у холодильнику на пункті збирання мокротиння до 5 діб, але повинне бути досліджене протягом доби після доставки його до лабораторії.

1.6.4 Аналіз результатів бактеріоскопічного дослідження

З метою удосконалення якості бактеріоскопічних досліджень, виявлення та усунення недоліків у роботі у конкретній лабораторії, необхідно систематично щоквартально проводити аналіз отриманих результатів, звертаючи увагу на частоту одержання позитивних результатів. Завідувач лабораторією здійснює аналіз результатів досліджень за квартал, вказуючи частку

доставлених неякісних проб мокротиння (слина), відсоток позитивних мазків, виявлених методом бактеріоскопії тощо. Зазначена інформація зберігається у лабораторії частку хворих, виявлених методом бактеріоскопії, кратність обстеження хворих, тощо. Така інформація зберігається у лабораторії для внутрішнього контролю якості бактеріоскопічних досліджень.

Аналізуючи частоту одержання позитивних результатів порівнюють загальну кількість досліджених проб від пацієнтів з підозрою на туберкульоз з кількістю позитивних результатів бактеріоскопії.

Причиною значних відхилень від попередніх показників роботи лабораторії (зменшення або збільшення кількості позитивних результатів) може бути як удосконалення роботи лікувального закладу в цілому щодо виявлення нових випадків туберкульозу, так і поява недоліків в роботі закладу: неправильний відбір пацієнтів на бактеріоскопічне обстеження, порушення правил збирання і транспортування клінічних зразків до лабораторії, неякісні барвники та реагенти, порушення лабораторних методик, високе навантаження персоналу лабораторії.

Особливу увагу слід звертати на випадки отримання позитивних результатів при дослідженні декількох послідовних мазків. Причиною може бути контамінація препаратів підчас їх приготування, фарбування або мікроскопії.

1.7 Внутрішній контроль якості бактеріологічних досліджень

Внутрішній контроль якості бактеріологічних досліджень (ВКЯ) – процес ефективного і систематичного внутрішнього моніторингу всіх маніпуляцій, що проводяться в лабораторії, яка здійснює бактеріологічну діагностику туберкульозу. Контроль якості повинен гарантувати, що результати досліджень в лабораторії є точними, належними і порівняними. Це досягається за допомогою оцінки якості зразків біологічного матеріалу, ретельності їх деконтамінації, правильності виділення і ідентифікації культур, якості реагентів і живильних середовищ та стану засобів вимірювальної техніки і обладнання, а також систематичного аналізу результатів бактеріологічних досліджень і документального підтвердження правильності використання методів.

1.7.1 Якість доставленого біологічного матеріалу

Вимоги до якості біологічного матеріалу описані у розділі 1.5 цього навчального посібника. З метою попередження високого рівня контамінації біологічний матеріал повинен якнайшвидше доставлятися до лабораторії. Якщо немає такої можливості, біологічний матеріал може зберігатися в умовах холодильника не більше 48 годин після збирання або при температурі $(-20)^{\circ}\text{C}$ з наступним однократним розморожуванням.

Оскільки мікобактерії можуть уражати практично всі органи і тканини людини, для дослідження в лабораторію, крім мокротиння, можуть надходити зразки різного біологічного матеріалу, які можна розділити на дві групи:

Матеріали із стерильних локусів: біологічні рідини (плевральна, спинномозкова тощо) та біоптати відбирають в стерильні контейнери з дотриманням правил асептики. Зібраний матеріал необхідно доставити до лабораторії якомога швидше. Такий матеріал не потребує перед посівом обробки деконтамінантом, не підлягає заморожуванню.

Матеріал із нестерильних локусів або зібраний без дотримання правил асептики доставляють до лабораторії, здійснюють передпосівну обробку деконтамінантом відповідно до затверджених методик.

1.7.2 Якість живильних середовищ

Для приготування яєчних живильних середовищ (Левенштейна-Єнсена, Фінна-П) використовують свіжі курячі яйця (не більше, ніж 7 днів), з цілою, незабрудненою шкаралупою.

Температура та час згортання яєчних середовищ підлягають обов'язковому контролю за допомогою повірених максимальних термометрів. Результати контролю вносять у журнал або лист контролю роботи згортувача, який ведуть у довільній формі, відображаючи інформацію про дату контролю, температуру та тривалість коагуляції за підписом відповідальної особи.

Готове яєчне середовище оцінюють візуально: колір, консистенція, наявність забруднення. Правильно приготовлене середовище повинне бути щільним і міцно прилипати до стінок пробірки. Вміст конденсату в пробірці з середовищем не повинен перевищувати 0,2 мл.

Знебарвлення середовища або поява поглиблень та/або бульбашок усередині середовища та на його поверхні свідчать про надмірну температуру згортання. Пробірки з середовищем, у яких візуально виявлено вказані недоліки, не можуть використовуватися для посіву і повинні бути знищені.

За відсутності візуально виявлених дефектів партію приготовлених яєчних середовищ перевіряють на стерильність та на ростові властивості.

Приготовлене яєчне середовище зберігають в холодильнику не більше 4 тижнів.

Для отримання якісного середовища і запобігання забруднення його сторонньою мікрофлорою рекомендується виконувати наступні основні правила:

- приміщення, де готують живильні середовища, утримують в максимальній чистоті;
- слід використовувати тільки стерильний посуд;
- використовувати точно зважені кількості реагентів;
- правильно проводити розведення розчинів: використовувати мірний посуд, доводити об'єм розчину по нижній межі меніска;

- постійно контролювати температуру в згортувачі;
- зберігати готові середовища в темному місці, в умовах холодильника;
- рекомендується розливати не менше, ніж по 5,0 см³ середовища;
- проводити контроль якості кожної партії приготовлених живильних середовищ.

Контроль стерильності живильних середовищ. Для контролю стерильності 10,0 % пробірок з приготовленої партії середовища поміщають в термостат при 37⁰С на 24 години та потім на 48 годин при кімнатній температурі.

Якщо проростає, принаймні, одна пробірка, то аналогічним чином повинні бути перевірені 10,0 % додаткових пробірок від партії. Якщо хоч би в одній з цих 10,0 % пробірок з'являється ріст сторонньої мікрофлори, аналогічним чином перевіряють усі пробірки даної партії. Всі пробірки з проростом знешкоджують автоклавуванням. Решта неконтамінованих пробірок може бути використана для дослідження біологічного матеріалу.

Контроль ростових властивостей живильного середовища для культивування мікобактерій.

Тестування ростових властивостей кожної партії середовища проводять за допомогою стандартного тест-штаму. Рекомендується використовувати музейний штам *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Для приготування суспензії культури необхідно зробити змив з 4-тижневого косяка щільного середовища з рясним суцільним ростом, гомогенізувати і приготувати декілька її розведень таким чином:

- довести бактеріальну суспензію за стандартом каламутності 1 McF (3·10⁸ КУО/мл) – суспензія № 1;
- приготувати серійні 10-кратні розведення з суспензії № 1, щоб одержати 3·10³ і 3·10⁴ бактерій в 1,0 мл;
- засіяти по 0,2 мл кожної із суспензій (3·10³ і 3·10⁴) на дві пробірки приготовленої партії середовища, розподілити інокулят по поверхні середовища в пробірках, інкубувати у звичайному режимі;
- переглядати засіяні пробірки щотижня наявність росту і зареєструвати термін появи росту і кількість колоній у формі № 256/о "Журнал приготування і контролю живильних середовищ".

Оцінка результатів: посів розведень 3·10³ і 3·10⁴ повинен дати ріст 1 – 10 і 10 – 100 колоній мікобактерій туберкульозу відповідно. При таких результатах, якість середовищ, що контролюються, вважають задовільною.

Контроль ростових властивостей середовища можна проводити одночасно з посівом біологічного матеріалу. У разі незадовільної якості живильного середовища негативні

результати посівів біологічного матеріалу вважають недостовірними. Залишки незасіяного середовища повинні бути знищені.

Можливі причини приготування неякісного живильного середовища:

- неякісні вихідні реагенти;
- невідповідний термін придатності реагентів;
- невідповідна якість яєць;
- недотримання температурного режиму згортання середовища;
- неякісна стерилізація посуду;
- якість кришок для пробірок (нещільне прилягання до пробірки);
- порушення температури культивування в термостаті.

Чутливість живильного середовища перевіряється аналізом співвідношень:

- позитивна мікроскопія від хворого супроводжується негативним результатом бактеріологічного дослідження (допускається до 2,0 %);
- позитивна мікроскопія (3+) супроводжується ростом поодиноких (10 – 20) колоній мікобактерій туберкульозу (допускається 1,0 – 2,0 %).

Контроль якості кров'яного агару.

У кожній новій серії приготовленого середовища 1,0 – 3,0 % чашок (в залежності від розміру партії) перевіряють на стерильність і ростові властивості. Для контролю ростових властивостей використовуються контрольні штами роду *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* (референс-штами)*.

Для перевірки ростових властивостей кров'яного агару необхідно виконати наступне:

- у стерильному ізотонічному розчині або стерильній дистильованій воді приготувати суспензію щільністю 0,5 McFarland з колоній *Escherichia coli*, що вирости на щільному середовищі;
- зробити 100-кратне розведення, додавши 10,0 мкл суспензії до 1,0 мл стерильного ізотонічного розчину або стерильної дистильованої води. Добре перемішати. Отримали розведення 10^{-2} ;
- зробити ще одне 100-кратне розведення, додавши 10,0 мкл із пробірки з розведенням 10^{-2} в 1,0 мл стерильного ізотонічного розчину або дистильованої води. Посіяти на чашку Петрі з кров'яним агаром 100 мкл отриманого розведення 10^{-4} і розподілити по поверхні кров'яного агару для отримання ізольованих колоній;

*Примітка: Для зберігання у замороженому стані контрольних штамів *E. coli* та *S. aureus* приготувати густу суспензію культури у триптиказо-соевому або живильному бульйоні з гліцерином (15,0 %) і розлитому по 1,5 мл у підписані кріопробірки. Заморозити і зберігати при $(-70) ^\circ\text{C}$.

- помістити в термостат на 48 годин при температурі 35 – 37⁰С.
- таку ж кількість незасіяних чашок Петрі з кров'яним агаром помістити в термостат на 48 годин при температурі 35 – 37⁰С для перевірки на стерильність.

Задовільними вважають такі результати:

- а) відсутність росту на незасіяних чашках;
- б) типовий ріст бактерій у чашках з посівами.

Результати контролю внести у Журнал контролю якості середовищ.

1.7.3 Внутрішній контроль якості попередньої ідентифікації та визначення виду мікобактерій

Для внутрішнього контролю якості процедур, що здійснюються у рутинній практиці, одночасно з діагностичними пробами необхідно тестувати контрольні штами. Мінімальний набір тест-штамів для контролю якості лабораторних процедур наведено у додатку В.

Результати внутрішнього контролю якості досліджень реєструють в журналі форма ТБ 04/2 у графі «Примітки», паралельно з результатами тестування культур, виділених з біологічного матеріалу.

1.7.4 Контроль якості реагентів для первинного посіву в системі MGIT

Кожну нову партію реагентів (бульйон Міддлбрука 7Н9, ростова добавка MGIT 960 Supplement) перевіряють на якість при отриманні (вхідний контроль) та періодично (при збільшенні кількості проростів) перед використанням. Контролюють термін придатності, проводять візуальний огляд пробірок на цілісність та наявність забруднень. Для роботи використовують лише цілі пробірки з прозорим бульйоном без сторонніх домішок з достатнім терміном придатності.

Для перевірки ростових властивостей рідкого середовища рекомендується використовувати контрольні штами: *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27294, *M. kansasii* ATCC 12478, *M. fortuitum* ATCC 6841.

Підготовка суспензії культури:

- використовують 10 – 15 добові культури вищевказаних штамів, які вирощені на середовищі Левенштейна-Єнсена;
- за допомогою стерильного аплікатора, зняти з поверхні середовища всі колонії;
- обережно перенести зняту культуру в пробірку з кришкою, що герметично загвинчується, яка містить 4,0 мл стерильного бульйону Міддлбрука 7Н9 (пробірка А);
- приготувати суспензію, ретельно струшуючи пробірку з культурою на вортексі протягом 1 – 2 хвилин (каламутність більше 1 McF);
- залишити суспензію на 20 хвилин для осадження великих часток;

- за допомогою стерильної одноразової піпетки перенести надосадову рідину в стерильну скляну пробірку з кришкою, що герметично загвинчується (пробірка В);
- залишити суспензію на 15 хвилин при кімнатній температурі;
- за допомогою стерильної одноразової піпетки перенести надосадову рідину в стерильну скляну пробірку з кришкою, що герметично загвинчується (пробірка С);
- довести мутність суспензії в пробірці С до 0,5 McF, додаючи бульйон Міддлбрука або ізотонічний розчин, добре перемішати. Це робоча суспензія для проведення контролю якості, яку можна розлити по 1,0 – 2,0 мл у кріопробірки та заморозити до (-70°C). Заморожена суспензія може використовуватись впродовж 6 місяців. Не допускати повторного заморожування робочої суспензії.

Якщо суспензія була заморожена, її розморожують та використовують для контролю якості. Розморожена суспензія повторному заморожуванню не підлягає. Невикористані залишки мають бути знешкоджені.

Приготування розведень*:

- розвести робочу суспензію (0,5 McF), щойно приготовлену або розморожену, у співвідношенні 1 : 5 (до 1,0 мл суспензії додати 4,0 мл стерильної дистильованої води), ретельно перемішати (пробірка 1);
- розвести ще два рази у співвідношенні 1:10, додаючи 0,5 мл суспензії із пробірки 1 в 4,5 мл стерильної дистильованої води (пробірка 2). Ретельно перемішати і знову додати 0,5 мл із пробірки 2 до 4,5 мл стерильної дистильованої води. Ретельно перемішати. Остаточне розведення 1:500 (пробірка 3). Це останнє розведення *M. tuberculosis*, яке використовується для проведення контролю якості.

Розведення для *M. fortuitum* та *M. kansasii* готують аналогічно, крім того для *M. fortuitum* необхідно додатково приготувати розведення із пробірки 3 у співвідношенні 1 : 10. Взяти 0,5 мл суспензії із пробірки 3 і додати 4,5 мл стерильної дистильованої води, ретельно перемішати. Остаточне розведення 1 : 5000 (пробірка 4). Для проведення контролю якості використовують вміст пробірки 4.

Для *M. kansasii* розвести вміст пробірки 4 ще раз у співвідношенні 1:10 додаючи 0,5 мл із пробірки 4 до 4,5 мл стерильної дистильованої води, ретельно перемішати. Остаточне розведення 1 : 50000 (пробірка 5). Для проведення контролю якості використовують вміст пробірки 5.

Посів та інкубація проводиться за наступною методикою:

* Примітка. Замість стерильної дистильованої води можна використовувати стерильний ізотонічний розчин.

– додати в шість пробірок MGIT ростову добавку Growth Supplement та суміш антибіотиків PANTA у відповідності до методики;

– засіяти у дві промарковані пробірки MGIT по 0,5 мл суспензії *M. tuberculosis* H₃₇Rv із пробірки 3. Таким же чином засіяти у дві пробірки по 0,5 мл суспензії *M. fortuitum* із пробірки 4 та у дві пробірки суспензії *M. kansasii* із пробірки 5. Ретельно перемішати;

– помістити засіяні пробірки в апарат ВАСТЕС 960. Після отримання позитивної індикації на апараті дістати пробірки. Оцінити дані після закінчення терміну, необхідного для отримання позитивного результату.

Очікувані результати:

M. tuberculosis – позитивна флуоресценція в пробірках через 6 – 10 днів;

M. fortuitum – позитивна флуоресценція в пробірках через 7 – 11 днів;

M. kansasii – позитивна флуоресценція в пробірках через 1 – 3 дні.

Якщо ріст в зазначені терміни не отриманий, дослідження з контролю якості повторюють. Якщо вдруге результати з контролю якості залишаються незадовільними, необхідно перевірити життєздатність суспензії, вік культури (якщо вона була заморожена) та інші процедури. Якщо всі параметри відповідають установленим специфікаціям, а результат тестування незадовільний, слід звернутися до сервісної служби компанії BD Diagnostic System.

Заходи безпеки:

– процедури здійснюють у шафах біологічної безпеки II класу;

– матеріали перед використанням повинні бути простерилізовані шляхом автоклавування;

– процедури виконують з дотриманням вимог безпеки праці та протиепідемічного режиму.

1.7.5 Контроль якості лабораторних процедур при дослідженні в системі ВАСТЕС

Якість усіх реагентів, які використовуються для роботи в системі ВАСТЕС 960, підлягає періодичному контролю, у тому числі NALC-NaOH та буфер. Для покращення контролю за контамінацією, дуже важливо включати негативний контроль до партії біологічних зразків. Цю процедуру необхідно проводити в залежності від обсягів роботи, але не рідше, ніж раз на тиждень. Періодично можна включати позитивний контроль для перевірки швидкості росту мікроорганізмів.

Позитивний та негативний контролю:

– для негативного контролю використовують 5,0 мл фосфатного буфера;

– для позитивного – 5,0 мл суспензії *M. tuberculosis* H₃₇Rv 0,5 McF, розведеної у співвідношенні 1 : 500 (див. п. 1.7.5).

Провести передпосівну обробку негативної та позитивної контрольних проб разом з біологічними зразками, використовуючи однаковий метод обробки. Засіяти осад, що отримані

після високошвидкісного центрифугування, в підготовлені пробірки MGIT та інкубувати так як і біологічні зразки.

Позитивний контроль повинен дати ріст, час детекції повинен бути в межах встановленого терміну для кожного тесту (ці параметри встановлюються після отримання декількох результатів тестування позитивного контролю).

Негативний контроль не повинен давати росту в межах повного періоду інкубації. Якщо негативний контроль дає флуоресценцію, треба перевірити його на наявність контамінації бактеріями. У разі підтвердження контамінації, перевіряють усі процедури та реагенти з метою виявити джерело забруднення.

З метою здійснення обліку необхідно виконати наступне:

- зареєструвати номери партій усіх витратних матеріалів до апарату BACTEC 960;
- проаналізувати дані за: часом появи флуоресценції, результатами бактеріоскопії культур, рівнем контамінації тощо;
- порівняти результати досліджень на MGIT з результатами, отриманими на щільних живильних середовищах.

А. Передпосівна обробка біологічного матеріалу

Більшість зразків біологічного матеріалу до початку дослідження, піддають спеціальній обробці, необхідній для розрідження проби та її деконтамінації з метою знищення небажаної мікрофлори.

Процес гомогенізації і деконтамінації повинен чітко контролюватися. У випадку неправильного його виконання, більшість мікобактерій загинуть або, навпаки, буде занадто багато проростів іншими бактеріями. Тому лабораторії повинні відслідковувати результати процедури за допомогою ведення обліку рівня контамінації посівів. Як правило, частота контамінації (кількість проростів) в лабораторіях, що проводять мікробіологічні дослідження проб, при культивуванні мокротиння на щільних яєчних середовищах, становить до 3,0 %, на рідких середовищах – до 8 %.

Б. Внутрішній контроль якості розчинів для деконтамінації

Для контролю якості розчинів деконтамінантів та дотримання процедури передпосівної обробки паралельно з обробкою зразків біологічного матеріалу пацієнтів застосовують одну з наступних методик.

Посів мокротиння, обробленого щойно приготовленим розчином для деконтамінації, на кров'яний агар та середовище Левенштейна-Єнсена проводиться відповідно до методики:

- стандартний зразок мокротиння ділять на дві порції, одна з яких не обробляється, а інша проходить передпосівну обробку одним із щойно приготовлених розчинів деконтамінанту, який застосовується в лабораторії;

- на одну чашку Петрі з кров'яним агаром засівають 2 – 4 краплі необробленого деконтамінантом мокротиння, на другу – 2 – 4 краплі мокротиння після деконтамінації;
- на дві пробірки з середовищем Левенштейна-Єнсена засівають по 0,2 мл обробленого і необробленого деконтамінантом мокротиння;
- інкубують в термостаті при температурі 37⁰С.

Оцінка результатів (оцінюють комплексно за ростом на обох середовищах):

- ріст на кров'яному агарі оцінюють через 24 години – наявність рясного росту на чашці з посівом мокротиння, яке не оброблялось деконтамінантом та відсутність росту після обробки;
- на середовищі Левенштейна-Єнсена – відсутність росту неспецифічної мікрофлори в пробірці зі зразком, який не проходив передпосівну обробку.

Якщо результати відповідають вказаним, то вважають, що деконтамінація проведена якісно і дані розчини для деконтамінації є якісними.

Посів суспензії культури *M. fortuitum* 1 McF на кров'яний агар після обробки щойно приготовленим розчином для деконтамінації проводиться відповідно до методики:

- приготувати суспензію культури *M. fortuitum*, довести мутність до 1 McF;
- 3,0 мл суспензії обробити щойно приготовленим розчином одного із деконтамінантів відповідно до методики його застосування, затвердженої наказом МОЗ України від 06 лютого 2002 року № 45 «Про затвердження Інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції»;

– на одну чашку Петрі з кров'яним агаром засіяти 2 – 4 краплі суспензії *M. fortuitum* 1 McF, необробленої деконтамінантом, на другу – 2 – 4 краплі суспензії *M. fortuitum* 1 McF після деконтамінації;

- інкубувати в термостаті при температурі 37⁰С протягом доби.

Оцінка результатів проводиться через 24 години – на чашці Петрі з кров'яним агаром де засіяна суспензія *M. fortuitum* 1 McF після обробки деконтамінантом, відмічається ріст чистої культури (мономорфний ріст) *M. fortuitum* не менше 70,0 – 80,0 % від росту без обробки.

Посів штаму *M. tuberculosis* H₃₇Rv на середовище Левенштейна-Єнсена проводиться згідно наступної методики:

- приготувати бактеріальну суспензію з каламутністю 1 McF штаму *M. tuberculosis* H₃₇Rv;
- одну частину суспензії по 0,2 мл засіяти на 3 паралельних пробірки з щойно приготовленим середовищем Левенштейна-Єнсена, решту – обробити розчином для деконтамінації, відцентрифугувати та по 0,2 мл засіяти на інші 3 пробірки с середовищем Левенштейна-Єнсена;

- інкубувати в термостаті при температурі 37⁰С.

Оцінка результатів: порівняти інтенсивність росту. Ріст на середовищі Левенштейна-Єнсена штаму *M. tuberculosis* H₃₇Rv після обробки деконтамінантом не менше 70,0 – 80,0 % від росту без обробки.

Результати проведених тестів заносяться до Журналу контролю якості розчинів для деконтамінації, який ведеться у довільній формі:

- назва деконтамінанту (вказати %);
- дата приготування розчину;
- кількість (л) приготовленого розчину;
- матеріал, який береться для контролю (мокротиння, *M. fortuitum*, *M. tuberculosis* H₃₇Rv);
- об'єкт, що контролюється (чашки з кров'яним агаром, пробірки з середовищем Левенштейна-Єнсена);
- результат контролю якості деконтамінанту: придатний чи не придатний.

Контроль якості розчинів деконтамінантів та дотримання процедури передпосівної обробки біологічного матеріалу необхідно проводити з кожною новою партією приготовленого розчину для деконтамінації, але не рідше, ніж 1 раз на тиждень.

Для попередження проростів розчини деконтамінантів слід розливати по 10 мл та додавати окремо до кожної проби біологічного матеріалу.

В. Аналіз проростів

З метою контролю якості розчинів для деконтамінації та дотримання методики передпосівної обробки біологічного матеріалу аналіз проростів проводиться щомісячно у звіті про роботу лабораторії.

Відсоток проростів розраховується як відношення числа пробірок, що заросли неспецифічною мікрофлорою, до усіх засіяних пробірок. Для щільного живильного середовища цей показник повинен бути у межах 3,0 %, для рідкого живильного середовища – він повинен бути в межах 8,0 %. Показник проростів повинен систематично аналізуватись (щомісячно, поквартально, за рік) з метою коригування процесу приготування деконтамінантів та процедури передпосівної обробки.

Показник нижче 3,0 % вказує на:

- високу концентрацію розчину деконтамінанту;
- занадто тривалу експозицію з деконтамінантом;
- занадто високу концентрацію малахітового зеленого в яєчному середовищі (високий % малахітового зеленого затримує ріст мікобактерій).

Показник вище 3,0 % вказує на:

- незадовільні умови транспортування та зберігання біологічного матеріалу;
- занадто тривалий період від збирання біологічного матеріалу до посіву;

- занадто низьку концентрацію розчину деконтамінанту;
- короткий час контакту матеріалу з деконтамінантом;
- проблеми при приготуванні середовища – нестерильні розчини, порушення режиму автоклавування та ін.;

- наявність забруднення у лабораторії.

У разі виявлення проростів, обумовлених нижчими грибами, необхідно перевірити температуру культивування мікроорганізмів.

Результати оцінки частки проростів – менш трудомісткий процес, ніж щоденний контроль якості з використанням контрольних штамів, проте він не дозволяє проводити оперативний контроль і виправлення недоліків деконтамінації відразу після їх виявлення, оскільки проводиться раз на місяць. При цьому результати значної кількості зразків від пацієнтів можуть виявитися помилковими (хибнонегативними).

1.7.6 Контроль якості ідентифікації виділених культур імунохроматографічними смужками

При кожній новій поставці наборів імунохроматографічних смужок здійснюють вхідний контроль з використанням тест-штамів позитивного та негативного контролю.

Кожну партію досліджень культур, виділених з біологічного матеріалу також супроводжують контролем.

У якості позитивного контролю використовують культуру *M. tuberculosis* H₃₇Rv, вирощену на рідкому середовищі, у якості негативного контролю може бути використана культура мікобактерії нетуберкульозного комплексу, вирощена на рідкому середовищі, або незасіяне рідке середовище.

Якість набору імунохроматографічних смужок або тестування досліджуваних культур вважають якісним, якщо отримані наступні результати:

- відслідковується чітка лінія контролю;
- позитивний контроль (*M. tuberculosis* H₃₇Rv) повинен показати позитивний результат;
- негативний контроль (мікобактерія нетуберкульозного комплексу або незасіяний бульйон) повинен показати негативний результат.

Якщо якийсь контрольний результат неприйнятний, то результати тестування не видаються. Необхідно провести повторні дослідження з новим (субкультивованим на рідкому середовищі) контрольним штамом. Якщо результати контролю будуть очікуваними, слід повторити тестування виділених культур.

Результати контролю якості внести до журналу ТБ 04/2 у графу «Примітки».

1.7.7 Контроль якості визначення медикаментозної чутливості

Контроль якості ТМЧ має проводитись систематично.

Мінімальні вимоги: перевіряти кожен нову партію реагентів та кожен партію приготовленого середовища з протитуберкульозними препаратами, використовувати лише чисті субстанції протитуберкульозних препаратів. Кожна партія приготовленого щільного живильного середовища повинна бути перевірена на стерильність (інкубація у термостаті). Для кожної партії середовища при тестуванні на чутливість біологічних зразків необхідно одночасно провести тест на чутливість контрольного штаму *M. tuberculosis* H₃₇Rv, і штаму мікобактерії туберкульозу стійкого до препаратів I ряду.

Якщо середовище з препаратами приготоване правильно, то стійкість контрольних культур (чутливого та стійкого) буде незмінною.

Якщо результати контролю якості партії реагентів та живильних середовищ незадовільні, всі результати, отримані під час роботи з цією партією необхідно повністю переглянути, а дослідження повторити.

Результати контролю якості кожної партії середовищ реєструють у формі №256/о «Журнал приготування і контролю живильних середовищ».

1.7.8 Облік та видача результатів бактеріологічного дослідження

Перший раз посіви переглядають через 24 години, коли щільно закручують кришки для попередження висихання живильного середовища. Через 48 годин посіви переглядають для контролю відсутності росту супутньої мікрофлори. Надалі посіви переглядають кожного тижня.

Якщо під час щотижневого перегляду посівів виявлено ріст контамінантів по всій поверхні живильного середовища або відбулося розрідження чи знебарвлення живильного середовища, такі пробірки видаляють з термостата та знешкоджують автоклавуванням. Деякі контамінанти із речовин, які входять до складу живильного середовища, здатні в результаті метаболізму утворювати кислоти, яка знижує рівень рН середовища та звільняє частину зв'язаного яєчним білком барвника (на це вказує поява темно-зеленого кольору середовища). Посіви з частково контамінованою поверхнею живильного середовища необхідно продовжувати інкубувати. Якщо проріст середовища з'явився пізно, не виключається можливість наявності там росту мікобактерій туберкульозу. В таких випадках рекомендується приготувати мазки з поверхні середовища для дослідження на КСБ. Якщо при бактеріоскопії виявлені КСБ, необхідно провести повторну деконтамінацію матеріалу із такої пробірки та провести повторний посів.

Результат «Проріст» видається у випадку, коли заросли всі паралельно засіяні пробірки з даного зразка біологічного матеріалу. У разі, коли є хоча б одна пробірка з посівом, на якій можна врахувати результат, відповідь «Проріст» не видається.

Ріст *M. tuberculosis* на щільному середовищі з'являється в середньому на 3 – 6 тижнів. Якщо отримано ріст культури, то, після попередньої ідентифікації (швидкість та температура росту, пігментоутворення, морфологія колоній, бактеріоскопія на КСБ та ін.), результати

заносять до форми ТБ Оба та направляють лікарю-фтизіатру як попереднє повідомлення про отримання росту культури, яка за морфологічними ознаками схожа на мікобактерії, але остаточний результат може бути наданий після проведення повної ідентифікації та визначення чутливості до протитуберкульозних препаратів.

Результат посіву на щільне середовище повинен відображати не тільки якісну характеристику (позитивний чи негативний), але і кількісну оцінку (число колоній), відповідно до вимог чинних нормативно-правових актів.

Більшість посівів дає ріст *M. tuberculosis* на щільному середовищі впродовж двох місяців. Тому інкубують посіви до двох з половиною місяців. При відсутності росту впродовж 10 тижнів посів вважають негативним, пробірки видаляють і знешкоджують шляхом автоклавування.

1.7.9 Аналіз результатів бактеріологічного дослідження

З метою підвищення якості бактеріологічного дослідження, виявлення та усунення недоліків у роботі, необхідно систематично 1 раз на квартал аналізувати отримані результати, щоб мати уяву про частоту одержання позитивних результатів, співвідношення результатів бактеріоскопічного та культурального досліджень, додатковий внесок культурального дослідження до бактеріоскопічного. Якщо при цьому будуть виявлені значні відхилення від середнього показника, необхідно визначити причину цього.

Щоквартально результати досліджень матеріалу від хворих на легеневий туберкульоз аналізують за наступними показниками, які розраховують від усіх досліджених проб:

1	К+	% від усіх досліджених. Із них:
2	М+К+	Складають більшість
3	М–К+	20,0 – 40,0 %
4	М+К–	До 1,0 % при легеневому туберкульозі у хворих, які не отримували протитуберкульозні препарати.
5	М+К проріст	3,0 %
6	М–К–	Відсутні

При наявності значних відхилень від стандартного співвідношення, вказаного в таблиці, необхідно з'ясувати причину, яка може залежати від правильності організації роботи в лабораторії та від недоліків на долабораторному етапі.

Необхідно враховувати, що в різних населених пунктах та в різних закладах охорони здоров'я це співвідношення може значно відрізнятись, тому необхідно, в кожному конкретному випадку, визначити середнє співвідношення для певної лабораторії та аналізувати причини будь-якого відхилення від нього.

Примірні показники для складання щомісячного внутрішнього аналізу роботи мікробіологічної лабораторії II – III рівнів наведено у додатку Г.

1.8 Внутрішній контроль якості молекулярно-генетичних досліджень на туберкульоз

При здійсненні внутрішнього контролю молекулярно-генетичних досліджень важливо дотримуватись вимог до кожного етапу організації таких досліджень.

Планувальні рішення та оздоблення приміщення лабораторії (відділу) ПЛР-досліджень мають відповідати вимогам чинних нормативно-правових актів. Особливо це важливо для лабораторій, які використовують метод гібридизації з типоспецифічними зондами. Невиконання вимог до організації ПЛР-лабораторії може призводити до отримання хибних результатів.

Обладнання для молекулярно-генетичних досліджень також має бути зареєстроване та дозволене до використання в Україні в установленому порядку. Воно вимагає сервісного обслуговування, а окремі прилади калібрування та метрологічної повірки або атестації (додаток Б).

Витратні пластикові матеріали повинні використовуватися тільки з маркуванням "вільні від РНК-аз та ДНК-аз", наконечники до дозаторів – тільки з аерозольним фільтром.

Переносити будь-яке обладнання та витратні матеріали із одного робочого приміщення в інше категорично заборонено!

Забезпечення кожного приміщення окремим набором обладнання та витратних матеріалів значно знижує ризик переносу контамінантів. Робочі приміщення, обладнання та всі предмети, котрих зазвичай торкаються руками (у тому числі дверні ручки, телефони, ручки холодильників та морозильних камер тощо) повинні регулярно очищатись з використанням відповідних миючих засобів та методів.

Ризик зараження суттєво можна знизити шляхом ретельної утилізації відходів.

Вимоги щодо сервісного обслуговування та метрологічної повірки (атестації) викладені у додатку Б.

Для контролю лабораторних процедур необхідно ретельно аналізувати отримані результати – експоненціальний ріст накопичення флуоресцентного сигналу, отримання профілів при гібридизації, якість проходження контрольних зразків (позитивного, негативного, внутрішніх). Усі протоколи дослідження мають бути роздрукованими і зберігатись так, як інші робочі журнали у лабораторії. Крім паперових носіїв, копії протоколів виконаних досліджень накопичуються і архівуються в електронному вигляді.

При виникненні підозри на контамінацію у лабораторії використовувати референс-зразки та перевірені негативні зразки.

Для своєчасного виявлення контамінації у лабораторії необхідно систематично контролювати стан поверхонь та обладнання відповідно до чинних нормативно-правових актів. У разі виявлення контамінації слід негайно припинити дослідження та вжити заходів з ліквідації такого становища. До роботи можна стати тільки після отримання відповідних результатів контрольних тестів якості здійсненої деконтамінації. Результати таких досліджень заносять до Журналу реєстрації контамінації нуклеїновими кислотами, який ведуть у довільній формі.

1.8.1 Контроль якості досліджень при використанні картриджів Xpert MTB/RIF

Технологія з використанням картриджів Xpert MTB/RIF передбачає проведення двох видів внутрішнього контролю якості молекулярно-генетичного дослідження:

- контроль екстракції та ампліфікації ДНК проби, а також можливого пригнічення ПЛР;
- контроль якості зондів. Цей контроль здійснюється автоматично до початку ПЛР і дозволяє оцінити регідrataцію реагентів, наповнення ПЛР пробірки і її цілісність, стабільність барвника та гасителя.

Контроль екстракції на ампліфікації необхідний для гарантії правильності проведення тесту, містить висушені спори *B.glabrigii* і включений до кожного картриджу, що забезпечує верифікацію адекватності аналізу матеріалу на *M. tuberculosis*. Даний тест може підтвердити, що відбувся лізис *M. tuberculosis* (при їх наявності), і що аналіз проведений адекватно. Крім того, цей контроль виявляє інгібіцію ПЛР у реальному часі. Результат аналізу цього контролю повинен бути позитивним при отриманому негативному результаті дослідження матеріалу і може бути негативним або позитивним при позитивному результаті тестування біологічного матеріалу. Тест вважається пройденим, якщо результат задовольняє вказані валідовані критерії. Негативний результат дослідження не можна вважати достовірним при негативному результаті тестування цього контролю.

Контроль якості зондів. Перед початком ПЛР прилад GeneXpert Dx вимірює інтенсивність вихідного рівня флуоресценції проби для оцінки регідrataції реагентів, наповнення пробірки, чистоти проби і стабільності барвника. Цей тест вважається пройденим, якщо результат задовольняє валідовані критерії.

Програмне забезпечення приладу дозволяє здійснювати моніторинг за результатами проходження названих внутрішніх контролів. Крім того, прилад дає змогу визначати інші помилки, що виникають у ході виконання дослідження і про усі помилки прилад сповіщає оператора. Всю цю інформацію, слід аналізувати та вживати заходів для зменшення кількості помилок.

1.8.2 Контроль якості досліджень при використанні ПЛР з детекцією методом гібридизації з типоспецифічними зондами (лінійний зонд-аналіз)

Для отримання достовірних результатів дослідження необхідно використовувати тільки зареєстровані та допущені до використання в Україні в установленому порядку обладнання, набори реагентів та витратні матеріали.

ПЛР з детекцією методом гібридизації з типоспецифічними зондами має високі ризики щодо контамінації реагентів, проб, витратних матеріалів, тому необхідно суворо дотримуватись вимог щодо організації роботи молекулярно-генетичними методами, викладених у чинних нормативно-правових актах, а також інструкцій виробника наборів реагентів.

Крім того, використання позитивних та негативних контролів для кожної постановки, внутрішніх контролів для кожної проби та ретельний аналіз отриманих результатів дозволить уникнути хибних результатів та своєчасно виявити і ліквідувати проблеми у лабораторії. Гарантією достовірних результатів дослідження є отримання передбачуваного очікуваного результату тестування контролів.

Якщо дослідження контрольних мішеней дали несподівані результати, видати валідний результат про дослідження клінічного матеріалу неможливо, необхідно повторити дослідження.

2 ЗОВНІШНЯ ОЦІНКА ЯКОСТІ ДОСЛІДЖЕНЬ

Зовнішня оцінка якості (далі – ЗОЯ) досліджень – система об'єктивного оцінювання організації та результатів роботи лабораторної мережі.

Головна мета ЗОЯ – підтвердити точність, достовірність та відтворюваність результатів роботи різних лабораторій, які функціонують відповідно до діючих стандартів, виявити проблеми, які впливають на якість роботи, надати організаційно-методичну і консультативну допомогу, розробити адекватні рекомендації щодо вирішення проблем, що існують і удосконалення методик.

ЗОЯ досліджень в системі лабораторій з бактеріологічної діагностики туберкульозу всіх рівнів включає наступні форми:

- кураторські візити (далі – КВ) – оцінка роботи лабораторії на місці;
- повторна перевірка мазків "наосліп";
- "панельне" тестування (бактеріоскопія, бактеріологічні дослідження, у тому числі ТМЧ, молекулярно-генетичні методи).

Поряд з постійним моніторингом організації роботи лабораторії та лабораторних процедур обов'язковою умовою проведення ЗОЯ є постійний аналіз її результатів, розробка коригуючих заходів та впровадження їх в роботу лабораторій. Такий аналіз, за результатами проведених заходів ЗОЯ, проводять всі лабораторії-куратори, узагальнюють результати, складають щорічні звіти та надають їх до лабораторії вищого рівня.

2.1 Зовнішня оцінка якості бактеріоскопічних досліджень

З метою проведення ЗОЯ бактеріоскопічних досліджень можуть використовуватись будь-який з трьох методологічних підходів в залежності від матеріального та ресурсного (кадрового) забезпечення лабораторій, що організують контроль якості: кураторські візити, панельне тестування і повторна перевірка мазків "наосліп".

2.1.1 Кураторські візити

КВ – відвідування лабораторії нижчого рівня фахівцями лабораторії вищого рівня має велике значення для удосконалення якості та дотримання високих стандартів роботи. КВ здійснюються відповідно до затвердженого графіку (або за необхідністю) 1 – 2 рази на рік. Необхідна кратність КВ визначається показниками якості роботи конкретної лабораторії.

КВ – ефективний метод оцінки якості бактеріоскопічного дослідження в конкретній лабораторії за допомогою оцінювальних листів (анкет), що дає змогу безпосередньо спостерігати та аналізувати роботу персоналу лабораторії в реальних умовах на час візиту. Оцінити щоденну рутинну роботу лабораторії під час КВ неможливо. В ході КВ оцінюються:

- умови праці;
- безпека роботи персоналу лабораторій;
- підготовка персоналу;
- обладнання, його розміщення, робочий стан, адекватність оснащення;
- якість витратних матеріалів, умови зберігання, маркування, термін придатності;
- робочі місця лаборанта;
- робота із зразками біологічного матеріалу (отримання, приготування препаратів, фарбування, мікроскопія);
- функціонування системи внутрішнього контролю якості;
- ведення первинної облікової та звітної документації;
- наявність нормативних документів;
- аналіз результатів роботи з розділу бактеріоскопічних досліджень.

Підчас КВ можна переглянути пофарбовані мазки на предмет виявлення недоліків при приготуванні, фарбуванні та читанні мазків, а також перевірити функціонування мікроскопа. Куратор може зібрати мазки для повторної перевірки, передати набори для панельного тестування або повідомити про результати "панельного" тестування і повторної перевірки. Головною перевагою оцінки на місцях, проведеної добре підготовленим фахівцем, є можливість визначити джерела помилок, виявлених "панельним" тестуванням або перевіркою мазків «наосліп», і вжити відповідних заходів для вирішення проблем.

2.1.2 «Панельне» тестування бактеріоскопічних досліджень

«Панельне» тестування бактеріоскопічних досліджень (далі – ПТ) – оцінка професійного рівня лабораторії за допомогою набору контрольних мазків. Методом ПТ не можна оцінити повсякденну рутинну роботу лабораторії, а лише індивідуальну діяльність – моніторинг роботи окремих фахівців, які готували барвники, фарбували та досліджували мазки. ПТ проводиться з використанням контрольної панелі із 10 мазків, яка включає нефарбовані мазки – позитивні та негативні. Результати, отримані при використанні такого типу панелей, допоможуть визначити, чим зумовлені незадовільні результати роботи фахівця: якістю барвників, технікою фарбування чи неадекватним читанням мазків.

Лабораторія, що організує ПТ:

- визначає кількість лабораторій, які будуть брати участь у раунді ПТ;
- готує мазки, формує необхідну кількість контрольних панелей та розсилає їх до лабораторій відповідного рівня;
- проводить передтестову та післятестову валідацію (підтвердження) контрольних мазків;
- аналізує та надсилає результати ПТ до лабораторій-учасниць (зворотній зв'язок);
- у разі виявлення помилок, проводить кураторські візити з метою виявлення причин неправильного прочитування панелі та надає рекомендації.

Лабораторії-учасники ПТ:

- досліджують контрольні мазки в робочому режимі (так як і мазки з клінічного матеріалу) без зовнішніх консультацій в установлені терміни;
- заповнюють Протокол «панельного» тестування та направляють його до лабораторії-організатора ПТ для аналізу результатів;
- у разі виявлення помилок, встановлюють причини, розробляють заходи щодо усунення причин помилок та виконують коригуючі дії.

Приготування панелей контрольних препаратів (мазків) для ПТ.

Процес підготовки панелей контрольних мазків потребує достатньої кількості висококваліфікованого персоналу та сучасної лабораторної бази з необхідним лабораторним обладнанням, включаючи шафи біологічної безпеки 2 класу.

Перш ніж приступити до приготування мазків, необхідно визначитись, які мазки включити до контрольної панелі та скільки лабораторій планується протестувати. Якщо програма ЗОЯ лише впроваджується в регіоні, можна розпочати з більш легкої для дослідження панелі, яка включає негативні мазки та позитивні в високому позитивним результатом (наприклад,

контрольна панель № 1). З часом, набір мазків можна ускладнити (наприклад, контрольна панель № 2).

Представлені приклади панелей включають 5 негативних мазків і 5 позитивних з різною градацією позитивних результатів.

	Контрольна панель № 1		Контрольна панель № 2
1	КСБ (-)	1	КСБ (-)
2	КСБ 3 (+)	2	КСБ 1 (+)
3	КСБ (-)	3	КСБ (-)
4	КСБ 2 (+)	4	КСБ 1 (+)
5	КСБ (-)	5	КСБ (-)
6	4–9 КСБ на 10 п/з	6	4 – 9 КСБ на 10 п/з
7	КСБ (-)	7	4 – 9 КСБ на 100 п/з
8	КСБ 1 (+)	8	4 – 9 КСБ на 100 п/з
9	КСБ 1 (+)	9	КСБ (-)
10	КСБ (-)	10	КСБ (-)

Панелі контрольних мазків для ПТ можуть готуватися як з використанням нативного мокротиння, так і в вигляді імітованих проб з використанням культур мікобактерій.

Розповсюдження контрольних панелей. Набори контрольних панелей разом з двома екземплярами "Протоколу панельного тестування бактеріоскопічних досліджень" можуть направлятися до лабораторій-учасниць різним шляхом: поштою, через кур'єра, розповсюджуватися під час зустрічі на тренінгах, семінарах, конференціях, кураторських візитах тощо. Важливо пам'ятати, що мазки повинні транспортуватися у спеціальних контейнерах для скелець для попередження їх пошкодження.

Час, який відводиться для дослідження контрольних панелей, залежить від системи доставки, наявності кадрів, робочого навантаження в лабораторії і становить від одного тижня до одного місяця. Конкретний термін зазначається в супровідній документації.

Аналіз результатів тестування (післятестова валідація мазків). Після закінчення дослідження контрольних панелей лабораторія-учасниця ПТ вносить результати в два екземпляри "Протоколу панельного тестування (мазок)" (додаток Д), які, разом із набором контрольних мазків, повертаються до лабораторії, яка проводить тестування, для аналізу результатів та післятестової валідації.

Результати отримані лабораторіями, порівнюються з очікуваними результатами.

Якщо перевіряється невелика кількість лабораторій (5 – 10), то мазки, в яких виявлена розбіжність з очікуваними результатами, просто повторно перевіряються як мінімум двома спеціалістами з лабораторії-куратора для підтвердження або спростування помилки.

Якщо тестується велика кількість лабораторій і немає можливості переглядати мазки, в яких виявлені розбіжності, проводиться аналіз цих мазків за номерами партій. Якщо помилки, виявлені в лабораторіях-учасниках, рівномірно розподіляються по мазках із різних партій, то джерелом помилки безумовно є неналежна робота цих лабораторій. Якщо ж помилки виявляються в мазках переважно з однієї партії, причина може бути в неякісному приготуванні контрольних мазків. Такі помилки з аналізу вилучаються. Якщо така практика спостерігається неодноразово, ставиться під сумнів здатність такої лабораторії проводити зовнішнє тестування лабораторій нижчого рівня.

Після перевірки та валідації отриманих результатів лабораторія-куратор вносить у надані 2 екземпляри протоколів очікувані дані про зашифровані у панелі проби та з висновками і рекомендаціями повертає 1 екземпляр лабораторії-учасниці.

2.1.3 Повторна перевірка мазків "наосліп"

Повторна перевірка мазків "наосліп" (далі – ПН), чи повторне дослідження вибірки мазків, приготовлених з біологічних зразків хворих, вважається найкращим методом оцінки повсякденної рутинної роботи лабораторії в цілому. Застосування цього методу – найбільш ресурсномісткого і дорогого – економічно ефективно і доцільне в лабораторіях зі значним обсягом роботи, а в лабораторіях із низьким обсягом бактеріоскопічних досліджень може виявитись неможливим, оскільки не дає змоги досягти статистично достовірних результатів.

ПН покликана давати загальну оцінку якості бактеріоскопічних досліджень конкретної лабораторії, а не підтверджувати діагноз окремих пацієнтів. Тому, замість повторної перевірки кожного позитивного мазка, використовується метод, заснований на репрезентативній вибірці всіх мазків – як позитивних, так і негативних.

Лабораторії що проводять ПН:

- складають план річної та квартальної вибірки за спеціальними таблицями (додаток Е);
- проводять відбір мазків для ПН;
- оформляють та надсилають результати ПН до лабораторій-учасниць (зворотній зв'язок);
- аналізують та обговорюють результати ПН на нарадах, конференціях;
- у разі виявлення випадкових чи систематичних помилок, надають рекомендації щодо їх усунення та недопущення у майбутньому.

Лабораторії 1-го та 2-го рівнів:

- зберігають усі мазки для ПН;
- у разі необхідності, розробляють та застосовують коригуючі дії.

А. Планування розміру вибірки мазків

Лабораторія-куратор, за результатами попереднього року (кількість негативних мазків, досліджених у кожній лабораторії 1-го рівня за минулий рік та відсоток позитивних результатів) та, користуючись спеціальними таблицями розмірів вибірки, складає план річної та квартальної вибірки мазків у лабораторіях для ПН на поточний рік.

Рівень вибірки залежить від можливостей лабораторії-куратора (кадрового та технічного забезпечення).

Чим більша чутливість та допустиме число d , зазначені у таблицях, тим більший розмір вибірки. Тому розпочинати планування можна з таблиці з такими параметрами:

- чутливість = 85,0 %;
- специфічність = 100 %;
- допустиме число $d = 0$.

Наприклад, у певній лабораторії 1-го рівня у минулому році досліджено 500 негативних мазків, відсоток позитивних результатів склав 10,0 %. Користуючись таблицею, знаходимо величину річної вибірки (кількість мазків, які необхідно вибрати у лабораторії для ПН), яка становить 117 мазків. Для визначення розміру квартальної вибірки розмір річної вибірки треба розділити на 4 ($117:4=29$), тобто розмір квартальної вибірки складає 29 мазків.

Якщо в таблиці немає показника, який би відповідав даним конкретної лабораторії (наприклад, кількість негативних мазків у лабораторії 579), необхідно використовувати метод інтерполяції (розраховувати середнє значення між двома близькими показниками, наприклад, $117+131:2=124$).

Таблиця – Планування вибірки мазків

Кількість негативних мазків/рік	Рівень позитивності мазків, %					
	5	10	15	20	25	30
200	126	89	71	58	53	41
500	197	117	86	66	56	44
1000	242	131	93	70	57	46
5000	297	144	99	74	59	47
50000	313	148	100	74	53	47

Такі розрахунки необхідно провести по кожній лабораторії та скласти План вибірки мазків для перевірки "наосліп" по конкретній території. Приклад складання Плану наведений нижче.

План вибірки мазків для перевірки "наосліп"
по (вказати регіон) _____
на 20__ рік

№ п/п	Район, ЛПЗ	Річний обсяг негативних мазків за 2011 рік	Рівень позитивності у 2011 році	Розмір річної вибірки мазків у 2012 році	Розмір квартальної вибірки мазків у 2012 році
1	Поліклініка №1	289	3,48	126	31
2	Поліклініка №2	227	2,3	126	31
3	Поліклініка №3	368	10,5	161	40
4	Поліклініка №4	310	2,61	161	40
5	Поліклініка №5	151	3,23	90	22
	Всього по району:	1345	4,42	664	164

Б. Зберігання мазків.

Для ЗОЯ у лабораторіях 1-го рівня з діагностики туберкульозу зберігають усі досліджені мазки пофарбовані за Цилем- Нільсеном (позитивні та негативні).

В. Процедура вибірки мазків.

Під час кураторського візиту, спеціаліст із лабораторії-куратора, відповідно до Плану вибірки, відбирає необхідну кількість мазків на перегляд та заповнює "Протокол вибірки мазків" у двох екземплярах (один залишається в лабораторії для документального підтвердження причини відсутності мазків, другий – разом з мазками доставляється в лабораторію-куратор для перевірки).

Наприклад, в певній лабораторії необхідно відібрати за попередній квартал 31 мазок, всього в лабораторії було переглянуто за квартал 125 мазків. Для того, щоб вибірка була репрезентативною необхідно відібрати кожен 4-й мазок ($125 : 31 = 4$) незалежно від того, чи є мазок позитивним, чи негативним. Відбираються мазки спочатку документально із лабораторного журналу – кожен 4-й номер із лабораторного журналу записується в "Протокол вибірки мазків" поки не набереться необхідна кількість, в даному випадку 31 мазок. Проти кожного відібраного номера, проставляються результати дослідження на КСБ, отримані у даній лабораторії.

На наступному етапі, представники лабораторії-учасниці ПН повинні надати спеціалісту із лабораторії-куратора всі мазки, які були внесені в Протокол вибірки. Якщо деякі мазки відсутні і такі випадки повторюються, це може свідчити про існування проблем в даній лабораторії,

включаючи знищення неякісних мазків. Куратор повинен аналізувати такі ситуації з метою усунення подібних проблем надалі.

Г. Процес повторної перевірки

Процес ПН трудомісткий. Для того, щоб перевірка не була формальною, у цьому процесі мають бути задіяні, як мінімум, три спеціаліста з лабораторії-куратора. Перший – той, хто відбирає мазки і знає результати дослідження, другий і третій – спеціалісти лабораторії-куратора, які результатів не знають і будуть "наосліп" переглядати мазки незалежно один від одного та надавати першому спеціалісту свої результати. Перший спеціаліст, у разі розбіжностей, переглядає мазки втретє і робить висновки щодо результатів ЗОЯ в даній лабораторії, заповнює свою частину протоколу, оцінюючи крім правильності мікроскопічного дослідження, дотримання вимог щодо маркування, товщини, розміру мазків та якості фарбування. Під час наступного кураторського візиту, дані ЗОЯ заносять до Протоколу вибірки мазків, який залишився в лабораторії-учасниці.

У Протоколі зазначаються помилки та зауваження до виконання методики приготування та фарбування мазків і надаються рекомендації щодо усунення недоліків та терміни їх виконання.

Приклад заповнення Протоколу вибірки мазків:

№ п/п	Дані лабораторії		Результати перевірки "наосліп"									
	№ мазка	Результат	Негативний	4 – 9 КСБ	1 +	2 +	3 +	Вид помилки	Маркування	Розмір	Товщина	Якість фарбування
1	35/2	негатив	негатив									
2	42/1	КСБ 1+	негатив					ВХП		невідпов.		незадов.
3	53/3	негатив	5 КСБ/100					НХН				

Класифікація помилок, їх причини та наслідки:

Результат лабораторії	Результат контролю				
	Негативний	4 – 9 КСБ/100	КСБ 1+	КСБ 2+	КСБ 3+
Негативний	Правильний	НХН	ВХН	ВХН	ВХН
4 – 9 КСБ/100	НХП	Правильний	Правильний	ПП	ПП
КСБ 1+	ВХП	Правильний	Правильний	Правильний	ПП
КСБ 2+	ВХП	ПП	Правильний	Правильний	Правильний
КСБ 3+	ВХП	ПП	ПП	Правильний	Правильний

Правильний – помилок немає чи знайдена різниця на одну градацію позитивного результату, наприклад, КСБ 1 (+) та КСБ 2 (+).

Незначні помилки:

ПП – помилка при підрахунку (результати контролю відрізняються на дві градації, наприклад, КСБ 1 (+) і КСБ 3 (+).

НХП – низькохибнопозитивний (при перегляді мазка з результатом лабораторії 4 – 9 КСБ в 100 п/з. КСБ лабораторією-куратором не знайдені).

НХН – низькохибнонегативний (при перегляді мазка з результатом лабораторії КСБ (–) лабораторією-куратором знайдені 4 – 9 КСБ в 100 п/з).

Значні помилки:

ВХП – високохибнопозитивний (при перегляді мазка з результатом лабораторії КСБ 1 (+), 2 (+) чи 3 (+) лабораторією-куратором КСБ не знайдені).

ВХН – високохибнонегативний (при перегляді мазка з результатом лабораторії КСБ (–) лабораторією-куратором знайдені КСБ 1 (+), 2 (+) чи 3 (+).

Причини помилок при проведенні бактеріоскопічного дослідження.

Помилки, пов'язані з досліджуванним матеріалом:

- незадовільна якість і/або недостатня кількість біологічного матеріалу;
- неякісна обробка багаторазових контейнерів для мокротиння, в наслідок чого в них можуть залишатися мікобактерії, що буде причиною хибнопозитивних результатів;
- неправильне маркування контейнерів. Маркування варто наносити на сам контейнер, а не на кришку.

Помилки, пов'язані з приготуванням препарату:

- недостатнє освітлення робочого столу;
- плутанина з предметними скельцями;
- готування одночасно занадто великої кількості препаратів. Рекомендується робити не більше 12 за один раз;
- повторне використання предметних скелець. Їх необхідно утилізувати після необхідного терміну зберігання (через 3 – 6 місяців відповідно);
- забруднення досліджуваного матеріалу при використанні контамінованих піпеток або дерев'яних аплікаторів.

Помилки, пов'язані з процесом фарбування:

- використання предметних скелець з подряпинами може привести до появи при фарбуванні артефактів, які можуть бути помилково прийняті за мікобактерії;

– використання не профільтованого розчину фуксину, що містить кристали. Як наслідок – виявлення артефактів, які помилково кваліфіковані як мікобактерії;

– неакуратне підігрівання розчину фуксину; випаровуючись, фуксин може кристалізуватися на склі (артефакти);

– недостатнє знебарвлення препарату може призвести до збереження на деяких сапрофітних бактеріях червоної фарби, у результаті чого вони можуть бути помилково прийняті за кислотостійкі палички.

Помилки, пов'язані з методикою бактеріоскопії:

– відсутність номера на препараті;

– не проводилося очищення імерсійних лінз після мікроскопії кожного препарату, особливо після позитивних препаратів;

– бактеріальне забруднення імерсійної олії (може бути пов'язане з торканням препаратів до флаконів з олією). Необхідно використовувати краплинний дозатор або одноразову піпетку Пастера, наносити не торкаючись препарату;

– неправильна реєстрація результатів.

Помилки при проведенні мікроскопії:

Проблема	Вірогідна причина	Рішення проблеми
Нечітке поле зору	Занадто низьке положення конденсора Діафрагма конденсора закрита	Підняти конденсор Відкрити діафрагму
Темні об'єкти в полі зору, що зміщуються при повороті окуляра	Забруднення окуляра Об'єktiv чи окуляр контаміновані грибами Подряпини на лінзах окуляра	Почистити окуляр Відремонтувати окуляр Замініть окуляр
Недостатньо чітке зображення	Можливо препарат встановлено неправильно В імерсійній олії знаходяться пухирці повітря Неякісна імерсійна олія Лінзи можуть бути забруднені	Перевернути предметне скло Відвести імерсійний об'єktiv у бік і повторити процедуру Замінити на якісну імерсійну олію Почистити лінзи
Зображення нечітке при малому збільшенні	Поверхня лінзи об'єktivу може бути забруднена імерсійною олією Поверхня лінзи окуляру може бути забруднена Пошкоджені лінзи	Почистити лінзи Почистити лінзи Встановити нові лінзи

Зворотній зв'язок. Незалежно від обраної методики проведення ЗОЯ, найбільш важливим моментом цієї роботи є забезпечення зворотного зв'язку та здійснення, у разі необхідності, заходів щодо усунення виявлених недоліків у роботі лабораторії та удосконалення якості бактеріоскопічної діагностики туберкульозу.

Результати всіх проведених заходів ЗОЯ повинні направлятись до лабораторії, як результати кожної конкретної лабораторії, так і узагальнені результати по району, місту, області, але з кодуванням лабораторій. Лабораторіям важливо бачити свої результати та порівнювати їх з результатами інших лабораторій, що має стимулювати персонал до удосконалення своєї роботи. В кожній лабораторії повинна вестися папка, де зберігається вся документація що стосується участі лабораторії у заходах ЗОЯ (анкети, протоколи панельного тестування, протоколи вибірок на повторну перевірку «наосліп», узагальнені результати по регіону).

Всі помилки, виявлені під час ЗОЯ, повинні ретельно аналізуватись з метою виявлення їх джерел. Кураторські візити є найкращою можливістю для виявлення та вирішення лабораторних проблем в окремих лабораторіях за результатами ПТ та ПН.

Удосконалення якості бактеріоскопії. При будь-якій формі ЗОЯ необхідно враховувати, що в мікроскопії мазка на наявність КСБ досягти абсолютної точності неможливо у зв'язку з відсутністю надійного "золотого" стандарту.

Стандартний мазок розміром 2,0 x 1,0 см, у 2,0 см містить близько 100 полів зору, а в 1,0 см – 50 полів зору (за умови дослідження мазка з використанням мікрогвинта та препаратотримача і переміщення його на одне поле зору). Тобто, мазок 2,0 x 1,0 см складається із (100 x 50) 5000 полів зору. При перегляді 100 полів зору, досліджується лише 2,0 % поверхні мазка, при перегляді 300 полів зору – 6,0 %. Якщо мазки готуються із нативного мокротиння чи іншого не гомогенізованого матеріалу, завжди є вірогідність нерівномірного розподілу КСБ по площині мазка та різних результатів перегляду різних полів зору співробітниками лабораторії та представниками керуючої лабораторії під час проведення ЗОЯ. Тому такі незначні помилки, як ПП, НХН та НХП будуть завжди виявлятись під час ЗОЯ. Їх неможливо уникнути, навіть якщо мікроскопію виконуватимуть найдосвідченіші і найбільш зацікавлені лаборанти, а контролер матиме кваліфікацію вищу, ніж лаборант на периферійному рівні.

З метою підвищення якості бактеріоскопічного дослідження, необхідно всі виявлені помилки аналізувати та планувати їх зменшення або поквартально або за рік. Наприклад, в регіоні вперше проведена ЗОЯ бактеріоскопії методами ПТ та ПН і в результаті виявлено низку помилок:

1) ПТ – 10,0 % за рахунок значних помилок (ВХН та ВХПВ) та 25,0 % за рахунок незначних помилок (ПП та НХН). НХП – помилка, яка при "панельному" тестуванні

кваліфікується як значна, оскільки для контрольної панелі мазки готуються спеціально і виправдати наявність КСБ у негативному мазку неможливо переглядом різних полів зору чи іншими причинами.

За результатами ЗОЯ перш за все необхідно з'ясувати причини помилок під час оцінки роботи лабораторії на місці, розробити заходи щодо їх усунення з визначенням термінів та відповідальних, провести заняття на робочому місці, засідання круглого столу тощо. Наступний крок – запланувати зменшення помилок, наприклад, значні помилки зменшити у наступному кварталі (році) з 20,0 % до 10,0 %, а в подальшому не допускати їх взагалі, а незначні помилки зменшити з 25,0 % до 15,0 % і, в подальшому, вийти на постійний мінімальний рівень помилок.

2) ПН – проводяться такі ж заходи, як і при ПТ, за виключенням того, що помилка НХП при ПН відноситься до незначних помилок.

2.2 Зовнішня оцінка якості бактеріологічних досліджень

Основна мета ЗОЯ бактеріологічних досліджень – забезпечення високого рівня якості досліджень у лабораторіях, досягнення чутливості та специфічності бактеріологічних методів діагностики туберкульозу, що закладені у характеристиках цих методів. Досягнення таких показників можливе шляхом підтвердження одноманітності та порівнянності результатів роботи різних лабораторій, що працюють у повній відповідності до затверджених стандартів, шляхом оцінювання надійності та відтворюваності результатів, виявлення помилок у роботі та усунення їх причин.

Форми здійснення ЗОЯ бактеріологічних досліджень аналогічні наданим в розділі 3 (кураторські візити, підтвердження правильності ідентифікації виділених культур у лабораторії вищого рівня, панельне тестування).

З метою підтвердження правильності ідентифікації культур виділених у лабораторіях II рівня, лабораторії III рівня можуть перевіряти до 2,0 % позитивних знахідок. Якщо культура, надана лабораторією II рівня як мікобактерія туберкульозного комплексу, не підтверджена у лабораторії вищого рівня, листом повідомляють у лабораторію, яка надіслала культуру, про те, що мікроорганізми комплексу *M. tuberculosis* не виявлені. Такі ситуації підлягають ретельному аналізу з метою виявлення та своєчасного усунення причин помилок.

Центральна референс-лабораторія з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України, при необхідності, може перевіряти достовірність отриманих результатів у лабораторіях III рівня шляхом підтвердження окремих досліджених ними культур (до 2,0 % культур). Кількість та перелік культур, які підлягають підтвердженню на центральному рівні, визначаються Центральною референс-лабораторією з мікробіологічної діагностики

туберкульозу МОЗ України по кожному регіону на підставі результатів ЗОЯ бактеріологічних досліджень за 2 останніх роки та результатів моніторингових і кураторських візитів.

"Панельне" тестування в системі зовнішньої оцінки якості бактеріологічних досліджень може проводитися в різних напрямках, наприклад з метою контролю якості виділення та ідентифікації культур, або з метою контролю якості тесту медикаментозної чутливості. В оптимальному варіанті панель може бути підготовлена і скомпонована таким чином, що одночасно можна отримати результати по всіх напрямках.

ЗОЯ виділення і ідентифікації культур та якості ТМЧ до протитуберкульозних препаратів 1-го і 2-го ряду спрямована на отримання достовірних результатів досліджень лабораторій. При здійсненні ЗОЯ бактеріологічних досліджень кожна лабораторія повинна підтвердити свою компетентність та високу професійність.

Інфекційна панель для ЗОЯ ТМЧ містить певну кількість культур мікобактерій туберкульозу з різним профілем стійкості до протитуберкульозних препаратів 1-го та 2-го ряду. Культури мікобактерій, які вирости впродовж 3–4 тижнів на щільному живильному середовищі Левенштейна-Єнсена, містяться в скляних пробірках з пробками, що загвинчуються.

"Панельне" тестування ідентифікації культур з постановкою ТМЧ збудника туберкульозу організовує і проводить Центральна референс-лабораторія з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України один раз на рік для лабораторій III рівня діагностики туберкульозу протитуберкульозних закладів України, які проводять дослідження щодо визначення чутливості мікобактерій туберкульозу до протитуберкульозних препаратів I та II ряду. Лабораторія III рівня зберігає культури, що входили до контрольної панелі, яку вона отримала від Центральної референс-лабораторії, і після отримання розшифровки панелі і сертифікату про успішну участь у даному раунді панельного тестування, готує панель із цих же культур для лабораторії II рівня (при необхідності).

Транспортування інфекційних панелей.

Панелі доставляються до лабораторій-учасників у транспортних контейнерах за допомогою кур'єрської служби, що здійснює транспортування біологічно-небезпечного матеріалу, з дотриманням усіх вимог інфекційного контролю.

Порядок проведення досліджень із зовнішньої оцінки якості ТМЧ.

Порядок проведення досліджень із ЗОЯ виділення та ідентифікації культур, а також ТМЧ залежить від формату, в якому зроблена інфекційна панель (культури на щільному середовищі, імітовані проби), задач, які мають бути вирішені під час участі в раунді "панельного" тестування і визначається в супровідній документації на інфекційні панелі.

Терміни виконання дослідження. Терміни виконання дослідження із ЗОЯ виділення та ідентифікації культур, а також ТМЧ до протитуберкульозних препаратів 1-го і 2-го ряду

складають два календарні місяці з моменту отримання лабораторією інфекційної панелі. У зазначений термін необхідно подати до Центральної референс-лабораторії з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України результати досліджень. Якщо лабораторії не повідомлять у зазначений термін про результати тестування, дані відповідної лабораторії не будуть враховані.

Облік результатів тестування. Облік результатів тестування здійснюється відповідно до форм, що містяться у супровідній документації.

Заповнені форми надсилаються до Центральної референс-лабораторії з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України, де проводиться їх аналіз впродовж 2-х тижнів. Лабораторії II рівня, які були допущені до "панельного" тестування на ТМЧ, заповнені форми мають надсилати до лабораторії вищого рівня, яка надала панель.

Аналіз результатів зовнішньої оцінки якості ТМЧ. Аналіз результатів ЗОЯ ТМЧ здійснюється для кожного препарату окремо, а потім визначається кінцевий показник. Якість роботи лабораторії вважається задовільною, якщо результативність тестування коливається від 85,0 % до 100%. При цьому збіг отриманих даних для препаратів «Ізоніазид» та «Рифампіцин» повинен бути не нижчим 95,0 %.

Якщо лабораторія за результатами ЗОЯ ТМЧ набрала менше, ніж 85,0 %, необхідно виявити причини незадовільних результатів, провести навчання та повторити зовнішнє тестування.

Центральна референс-лабораторія з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України інформує Державну службу з питань протидії ВІЛ-інфекції СНІДу та інших соціально небезпечних захворювань, головного позаштатного спеціаліста МОЗ України зі спеціальності "Пульмонологія та фтизіатрія", Міністерство охорони здоров'я АР Крим, управління (головні управління) охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських державних адміністрацій про результати ЗОЯ ТМЧ до протитуберкульозних препаратів 1-го та 2-го ряду при проведенні бактеріологічних досліджень на туберкульоз у мікробіологічних лабораторіях з діагностики туберкульозу протитуберкульозних закладів України (3 рівень діагностики туберкульозу) та готує план заходів щодо покращення якості діагностичних досліджень на туберкульоз.

2.3 Зовнішній контроль якості молекулярно-генетичних досліджень

На даний час відсутні програми стандартизованого зовнішнього контролю якості молекулярно-генетичних досліджень.

Загальні підходи до організації оцінки якості молекулярно-генетичних досліджень такі ж самі, що описані в розділі 2. Останній повинен включати «сліпі» повторні перевірки частини

тестованих зразків, перевірку кваліфікації і професіоналізму співробітників лабораторії, а також "панельне" тестування шляхом дослідження панелей, які містять культури, або імітовані проби.

Організовує і проводить ЗОЯ молекулярно-генетичних досліджень лабораторія 4-го рівня діагностики туберкульозу – Центральна референс-лабораторія з мікробіологічної діагностики туберкульозу МОЗ України.

3 УДОСКОНАЛЕННЯ ЯКОСТІ ДОСЛІДЖЕНЬ

Удосконалення якості – це процес, за допомогою якого різні аспекти роботи лабораторії піддаються постійному аналізу для покращення якості, достовірності та відтворюваності лабораторних даних. Найбільш значимого та тривалого удосконалення можливо досягти якщо прогнозувати та попереджувати можливі проблеми, а не чекати їх виникнення та подальшого вирішення.

Заходи з удосконалення якості досліджень є обов'язковими в рамках програми по забезпеченню якості досліджень в лабораторії.

Заходи щодо поліпшення якості можна розділити на адміністративні, спрямовані на вдосконалення методичної бази, поліпшення якості реактивів, витратних матеріалів, обладнання та його обслуговування, на підтримання та підвищення кваліфікації персоналу.

Адміністративні заходи щодо поліпшення якості спрямовані на більш раціональний розподіл обов'язків та організацію виконання досліджень. Керівництво лабораторії має проводити регулярний перегляд методик, що застосовуються, з урахуванням підвищення їх ефективності, відповідності чинним нормативним документам та вимогам лікувального закладу і рівня фінансування лабораторії.

Якість, стан і достатня кількість лабораторного обладнання, якість і кількість необхідних реактивів і витратних матеріалів, а також умови їх поставки є обов'язковою умовою отримання достовірних результатів дослідження.

В рамках поліпшення якості досліджень, необхідно аналізувати стан та якість обладнання, реактивів і витратних матеріалів, умови їх поставки. Керівництво лабораторії спільно з адміністрацією медичного закладу, до якого вона належить, повинна формувати вимоги до обладнання, витратних матеріалів і реактивів, необхідних для проведення досліджень, до умов їх поставки, а також вимоги до організацій, що проводять установку і технічне обслуговування обладнання.

Для підвищення кваліфікації персоналу необхідно проведення навчання стандартизованими методами дослідження, плануванню та організації роботи лабораторії, безпеки праці та режиму біологічної безпеки при роботі з інфекційним матеріалом. Крім того, необхідно проведення

повторних курсів, що дозволяють поновити знання персоналу, обмінятися досвідом і обговорити проблеми, що виникають.

Елементом удосконалення якості є також проведення нарад, семінарів, конференцій, круглих столів (бажано з представниками лікувальних підрозділів), на яких піднімаються та обговорюються існуючі проблеми і плануються шляхи їх вирішення спільними зусиллями.

Доцільно вирішувати проблеми на рівні лабораторій під час кураторських візитів, пам'ятаючи що основна причина проблем у лабораторії це «людський» фактор і особисте спілкування куратора з персоналом лабораторії має велике значення для удосконалення роботи.

Ефективність заходів щодо поліпшення якості роботи повинна відслідковуватися з допомогою ВЛК і ЗОЯ досліджень.

Порядок проведення ВЛК досліджень, внутрішні аудити, форми реєстрації їх результатів і ЗОЯ досліджень, реєстрація заходів з поліпшення якості та їх ефективність, правила закупівлі, зберігання, використання та списання обладнання, реактивів і витратних матеріалів повинні бути представлені у Настанові з якості. Рішення про перегляд критеріїв якості на підставі вищезгаданих заходів повинні документуватися і фіксуватися в Настанові з якості. В цьому випадку повинна бути оформлена нова версія цього документу.

Співробітники лабораторії і клінічних підрозділів, дії яких безпосередньо впливають на якість лабораторних досліджень, мають бути проінструктовані щодо використання "Настанови з якості" і застосування всіх включених до неї положень, в частині, що їх стосується. "Настанова з якості" повинна періодично переглядатися і доповнюватися відповідно до змін в структурі лабораторії, методах діагностики, нормативних документах тощо.

Рекомендації до структури Настанови з якості

Настанова з якості, повинна містити комплексний опис лабораторії та установи, до складу якої вона входить, порядку виконання досліджень (вимірювань). При розробці Настанови з якості слід керуватись ДСТУ ISO/TR 10013:2003 "Настанови з розроблення документації систем управління якістю". Рекомендується включати до Настанови з якості такі розділи:

- Призначення та галузь застосування;
- Політика в галузі якості
- Загальні відомості про лабораторію, її правове положення, ресурси, основні функції.
- Персонал лабораторії. Вимоги до освіти, кваліфікаційні вимоги, система підвищення кваліфікації. Атестація.
- Менеджмент якості
- Управління документацією
- Умови проведення досліджень та метрологічних робіт
- Засоби вимірювальної техніки, допоміжне обладнання, витратні матеріали, тест-штами, деззасоби
- Процедури та методики проведення досліджень
- Оцінка та підтвердження результатів,
- Оформлення матеріалів за результатами досліджень, зберігання цих матеріалів.
- Звітність про обсяги досліджень та результати.
- Лабораторна інформаційна система.
- Безпека праці. Біологічна безпека.
- Видалення лабораторних відходів.
- Контроль якості досліджень, включаючи зовнішню оцінку якості та коригувальні дії.
- Зв'язок з пацієнтами, медичними працівниками, іншими лабораторіями, поставщиками.
- Внутрішній аудит.
- Етика.

Вимоги щодо обслуговування обладнання лабораторії

Тип обладнання	Вимога (якщо інше не передбачено виробником)	Передбачувана частота (якщо інше не передбачено виробником)
GeneXpertSystem	Калібрування модулів приладу	Після виконання 2000 тестів, але не рідше 1 разу на рік
Обладнання для проведення ПЛР з детекцією ГіФА:		
прилад для гібридизації	Калібрування	При введенні в експлуатацію та при зміні місця розташування
ампліфікатор	Атестація	1 раз на рік
дозатори	Метрологічна повірка	1 раз на рік
Автоматизована система ВАСТЕС 960	Сервісне обслуговування	При введенні в експлуатацію та щороку
	Перевірка роботи індикаторних ламп, наявність паперу в принтері, перевірка температури інкубаторів, запис даних на дискету.	Щоденно
	Очистка повітряних фільтрів.	Щомісяця
	Заміна калібрувальних пробірок із закінченим терміном придатності.	за необхідності
Термостати	Установка стабільності й рівномірності температури	При введенні в експлуатацію та після ремонту
	Атестація	кожні 2 роки
	моніторинг температури	Щодня
	Чищення й дезінфекція внутрішніх поверхонь	Щомісяця
Холодильники	Установка стабільності й рівномірності температури	При введенні в експлуатацію та після ремонту
	моніторинг температури	Щодня
	Чищення й дезінфекція внутрішніх поверхонь	Щомісяця
Морозильники	Установка стабільності й рівномірності температури	При введенні в експлуатацію та після ремонту
	моніторинг температури	Щодня
	Чищення й дезінфекція внутрішніх поверхонь	За необхідністю та не рідше, ніж кожні 3 місяці
Стерилізатори сухоповітряні	Установка стабільності й рівномірності температури	При введенні в експлуатацію та після ремонту
	Атестація	кожні 2 роки
	Хімічний/термічний контроль	При кожному використанні
	Біологічний контроль	Щомісяця
Термометри	Метрологічна повірка	Щомісяця
	Чищення й дезінфекція внутрішніх поверхонь	Щомісяця
Термометри	Метрологічна повірка	При введенні в експлуатацію, далі – 1 раз на рік
Максимальні термометри	Метрологічна повірка	При введенні в експлуатацію, далі – 1 раз на рік

Водяні бані	Спорожнювання, чищення, дезінфекція й заповнення	Щомісяця
Автоклави	Встановлення характеристик	При введенні в експлуатацію та після ремонту
	Метрологічна повірка манометрів	Щороку
	Моніторинг температури/часу/тиску	При кожному використанні
	Хімічний/термічний контроль	При кожному використанні
	Біологічний контроль	Щомісяця
	Гідравлічні іспити	Щороку
	Повне технічне обслуговування	Щороку або відповідно до рекомендацій виробника
Шафи біологічної безпеки	Візуальна перевірка ущільнювачів, чищення/дренаж камери	Регулярно, відповідно до рекомендацій виробника
	Установка працездатності	При введенні в експлуатацію та після ремонту
	Перевірка швидкості руху повітря, бажано за допомогою спеціального обладнання	Щороку та після ремонтних робіт – додатково
Витяжна шафа	Повне технічне обслуговування та механічні перевірки	Щороку або згідно рекомендацій виробника
	Перевірка швидкості руху повітря, бажано за допомогою спеціального обладнання	При введенні в експлуатацію, далі – щороку.
Секундоміри	Метрологічна повірка	Щороку
Гігрометри/психрометри	Метрологічна повірка	Щороку
Мікроскопи	Повне технічне обслуговування	Щороку
рН-метри	Повірка точності	Щороку
	Налаштування з використанням щонайменше двох буферних розчинів.	При кожному використанні
	Чищення електродів	При кожному використанні
Ваги	Перевірка нуля та при масі перевірконого важка (механічні)	При кожному використанні
	Повірка точності	Щороку
	Чищення	При кожному використанні
Дистилятор	Чищення й видалення накипу	За необхідністю, але не рідше, ніж кожні 3 місяці
Центрифуги	Метрологічна повірка тахометрів	Щороку
	Чищення та дезінфекція	При кожному використанні. Після закінчення центрифугування поверхні центрифуги, ротор, центрифужні стакани та адаптери мають бути оброблені 70,0 % спиртом

Мінімальний набір тест-штамів для контролю якості
живильних середовищ та лабораторних процедур
(в залежності від видів досліджень, на які атестована лабораторія)

Назва тест-штаму	Призначення	Примітки
M. tuberculosis H ₃₇ Rv ATCC 27294	Для контролю: <ul style="list-style-type: none"> ростових властивостей середовища Левенштейна-Єнсена (далі – Л-Є), бульйону Міддлбрука 7Н9, якості деконтамінації культуральних та біохімічних тестів ідентифікації 	Позитивний контроль
	<ul style="list-style-type: none"> ростових властивостей Л-Є з саліцилово-кислим натрієм або ПНБК 	Негативний контроль
M. kansasii ATCC 12478	Для контролю ростових властивостей бульйону Міддлбрука 7Н9	Позитивний контроль
M. fortuitum ATCC 6841	Для контролю ростових властивостей бульйону Міддлбрука 7Н9, якості деконтамінації	Позитивний контроль
S. aureus ATCC 25923	Для контролю ростових властивостей кров'яного агару	Позитивний контроль
E. coli ATCC 25922	Для контролю ростових властивостей кров'яного агару	Негативний контроль

Приблизні питання для складання внутрішнього аналізу
роботи мікробіологічної лабораторії II – III рівнів

Місяць:		Рік:	
Мікроскопія мазка: *			
Загальна кількість мазків:			
Загальна кількість позитивних мазків:		Загальна кількість негативних мазків:	
Відсоток позитивних мазків:		Відсоток негативних мазків:	
* Примітка: Розраховуйте кількість отриманих зразків на місяць; дані можуть не відповідати результатам культуральних досліджень, представленим за місяць			
Рідка культура: **			
Загальна кількість отриманих рідких культур:			
Позитивні культури		Відсотки	
Загальна кількість позитивних культур:		Позитивних культур:	
Кількість позитивних культур/з позитивним мазком:		Позитивних культур/з позитивним мазком:	
Кількість позитивних культур/з негативним мазком:		Позитивних культур/з негативним мазком:	
Негативні культури		Відсотки	
Загальна кількість негативних культур:		Негативних культур:	
Кількість негативних культур/з позитивним мазком:		Негативних культур/з позитивним мазком:	
Кількість негативних культур/з негативним мазком:		Негативних культур/з негативним мазком:	
Середній час до виявлення (дні)			
Середній час до виявлення позитивної культури/з позитивним мазком:			
Середній час до виявлення позитивної культури/з негативним мазком:			

Прорости			
Кількість проростів на рідких культурах:		Відсоток проростів на рідких культурах:	
Середньорічний відсоток проростів на рідких культурах:		(Розрахунок на основі даних попереднього року)	
Щільні культури:			
Загальна кількість щільних культур:			
Позитивні культури		Відсотки	
Загальна кількість позитивних культур:		Позитивних культур:	
Кількість позитивних культур/з позитивним мазком:		Позитивних культур/з позитивним мазком:	
Кількість позитивних культур/з негативним мазком:	0	Позитивних культур/з негативним мазком:	
Негативні культури		Відсотки	
Загальна кількість негативних культур:	0	Негативних культур:	
Кількість негативних культур/з позитивним мазком:		Негативних культур/з позитивним мазком:	
Кількість негативних культур/з негативним мазком:	0	Негативних культур/з негативним мазком:	
Прорости			
Кількість проростів на щільних культурах:		Відсоток проростів на твердих культурах:	
Середньорічний відсоток проростів на щільних культурах:		(Розрахунок на основі даних попереднього року)	
Виділення Комплексу мікобактерій туберкульозу			
Відсоток зразків, з яких отримано МБТ комплекс на рідких середовищах:		Середньорічний відсоток зразків, з яких отримано МБТ комплекс на рідких середовищах:	
Відсоток зразків, з яких отримано МБТ комплекс на щільних середовищах: : **		Середньорічний відсоток зразків, з яких отримано МБТ комплекс на щільних середовищах: :	

ПРОТОКОЛ № _____
міжлабораторного контролю якості мікроскопії мазка мокротиння
фарбованого за Цілем-Нільсеном

Тільки для заповнення лабораторією-куратором:

Периферійна лабораторія (КОД) _____

Набір мазків для тестування № _____

Дата відправлення панелі із лабораторії-куратора _____

Дата одержання результатів із периферійної лабораторії _____

Для заповнення периферійною лабораторією:

Назва ЛПЗ, адреса, телефони, ПІБ зав. лаб. _____

Дата одержання панелі лабораторією _____

Дата повернення результатів у лабораторію-куратор _____

П.І.Б. лаборанта, який виконував тестування _____

Зав. лабораторією _____

№ п\п	Заповнює лабораторія-учасниця		Заповнює лабораторія-куратор		
	Номер мазка	Результат, одержаний в лабораторії-учасниці	Очікуваний результат	Тип помилки	Бали
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Зворотній зв'язок:

Прохідний бал –

Разом балів –

Пройшов / не пройшов:

Помилки: ВХП ___ ВХН ___ НХП ___ НХН ___ ПП ___

Рекомендовані дії (заходи)

Підписи кураторів:

З протоколом ознайомлені:

Зав. лабораторією _____

Головний лікар _____

Прості таблиці розмірів вибірки

LQAS Таблиця розміру вибірки (спрощена)
 Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 65%
 Специфічність = 100% Припустиме число $d = 0$

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	68	40	27	21	16	13
500	84	44	29	21	17	13
1000	91	46	31	23	17	13
5000	98	48	31	23	17	13
50000	99	48	31	23	17	14

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 65%
 Специфічність = 100% Припустиме число $d = 1$

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	111	66	47	35	28	23
500	139	73	51	38	29	24
1000	152	77	52	38	29	24
5000	163	80	53	39	29	24
50000	165	80	53	39	31	24

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 70%
 Специфічність = 100% Припустиме число $d = 0$

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	78	48	34	26	21	17
500	99	54	36	28	21	17
1000	109	57	38	29	21	17
5000	119	60	39	29	23	17
50000	121	60	39	29	23	17

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 70%
 Специфічність = 100% Припустиме число $d = 1$

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	125	79	56	44	36	30
500	163	91	62	48	37	30
1000	181	96	65	49	39	31
5000	198	100	66	49	39	31
50000	202	101	67	50	39	31

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 75%
 Специфічність = 100% Припустиме число d = 0

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	91	59	42	34	27	23
500	121	69	47	36	28	23
1000	136	73	49	38	29	23
5000	152	78	51	38	29	24
50000	156	79	52	38	29	24

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 75%
 Специфічність = 100% Припустиме число d = 1

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	143	96	71	56	45	39
500	198	114	80	61	48	40
1000	224	123	82	63	49	41
5000	252	130	86	64	51	41
50000	259	132	87	65	51	41

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 80%
 Специфічність = 100% Припустиме число d = 0

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	107	72	54	43	36	30
500	154	89	62	48	39	31
1000	180	96	66	49	40	33
5000	208	103	69	50	40	33
50000	216	104	69	51	40	33

Чутливість (у порівнянні з контролерами) = 80%
 Специфічність = 100% Припустиме число d = 1

Число негативних мазків/ рік	Рівень позитивності мазків					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	167	117	89	71	60	50
500	251	147	105	79	65	54
1000	296	160	111	83	67	56
5000	345	172	115	85	68	56
50000	359	174	116	86	69	57

Чутливість у порівнянні з контролерами 80 %

Рівень позитивності

Негативні мазки, досліджувані щорічно	Припустиме число	Загальне число необхідних мазків						
		2.5 %	5.0 %	7.5 %	10.0 %	13.0 %	15.0 %	18.0 %
100	d=0	84	72	63	54	48	45	39
200	d=0	143	107	86	72	61	54	46
300	d=0	185	129	101	80	67	59	50
400	d=0	217	143	108	86	70	61	51
500	d=0	243	154	114	89	71	62	52
700	d=0	281	167	121	92	75	65	54
1000	d=0	318	180	128	96	76	66	55
2000	d=0	376	197	135	100	79	68	56
5000	d=0	423	208	141	103	80	69	57
10000	d=0	441	213	142	104	80	69	57
20000	d=0	450	215	143	104	82	69	57
50000	d=0	456	216	144	104	82	69	57
100	d=1	103	103	95	86	77	72	65
200	d=1	203	167	139	117	99	89	78
300	d=1	280	206	162	131	109	98	83
400	d=1	337	232	177	140	115	101	87
500	d=1	387	251	187	147	118	105	88
700	d=1	449	275	200	153	123	107	90
1000	d=1	515	296	211	160	128	111	91
2000	d=1	616	325	224	167	132	114	94
5000	d=1	697	345	234	172	134	115	95
10000	d=1	729	353	237	173	136	116	96
20000	d=1	747	357	238	174	136	116	96
50000	d=1	757	359	239	174	137	116	96
100	d=2	103	105	109	106	98	92	84
200	d=2	205	203	177	151	131	118	104
300	d=2	308	261	212	173	145	129	111
400	d=2	403	300	232	187	154	135	116
500	d=2	473	326	248	194	160	140	118
700	d=2	573	362	266	206	166	145	122
1000	d=2	670	34	281	214	171	148	124
2000	d=2	817	436	302	226	178	154	128
5000	d=2	935	465	315	232	182	156	129
10000	d=2	981	476	319	234	184	158	130
20000	d=2	1005	481	321	236	184	158	130
50000	d=2	1021	484	323	237	185	159	130
100	d=3	103	105	108	111	111	107	100
200	d=3	205	211	204	180	157	144	126
300	d=3	308	300	253	210	177	159	137
400	d=3	410	354	281	228	189	167	143
500	d=3	513	392	302	239	197	173	146
700	d=3	665	439	325	253	205	179	151
1000	d=3	799	481	346	264	211	185	155

Негативні мазки, досліджувані щорічно	Припустиме число	2.5 %	5.0 %	7.5 %	10.0 %	13.0 %	15.0 %	18.0 %
		Загальне число необхідних мазків						
2000	d=3	999	538	373	279	221	191	159
5000	d=3	1155	577	390	289	226	195	161
10000	d=3	1215	591	397	291	228	196	162
20000	d=3	1247	598	400	293	229	196	162
50000	d=3	1267	602	401	294	230	198	163
100	d=4	103	105	108	111	115	116	112
200	d=4	205	211	216	203	180	166	148
300	d=4	308	316	286	242	207	186	161
400	d=4	410	396	324	266	222	196	168
500	d=4	513	446	350	280	231	204	173
700	d=4	716	509	382	298	241	212	179
1000	d=4	906	562	408	312	251	219	183
2000	d=4	1165	634	441	331	262	226	189
5000	d=4	1362	683	463	342	269	232	191
10000	d=4	1438	700	470	347	271	233	193
20000	d=4	1478	709	475	348	272	234	194
50000	d=4	1504	715	477	350	272	234	194

Чутливість у порівнянні з контролерами 80%

Рівень позитивності

Негативні мазки, досліджувані щорічно	Припустиме число	20.0 %	23.0 %	25.0 %	28.0 %	30.0 %	33.0 %	35.0 %
		Загальне число необхідних мазків						
100	d=0	36	34	32	29	27	25	23
200	d=0	43	38	36	32	30	27	26
300	d=0	45	40	37	33	31	28	26
400	d=0	46	40	37	33	31	28	26
500	d=0	48	42	39	35	31	28	26
700	d=0	49	42	39	35	31	28	26
1000	d=0	49	43	40	35	33	28	28
2000	d=0	50	43	40	35	33	30	28
5000	d=0	50	44	40	36	33	30	28
10000	d=0	51	44	40	36	33	30	28
20000	d=0	51	44	40	36	33	30	28
50000	d=0	51	44	40	36	33	30	28
100	d=1	60	55	52	49	46	42	40
200	d=1	71	64	60	54	50	46	43
300	d=1	75	66	63	56	53	48	45
400	d=1	78	69	64	57	53	48	46
500	d=1	79	70	65	58	54	49	46
700	d=1	81	71	65	58	54	49	46
1000	d=1	83	71	67	60	56	49	46
2000	d=1	84	73	68	60	56	51	48
5000	d=1	85	74	68	61	56	51	48
10000	d=1	86	74	68	61	56	51	48
20000	d=1	86	74	69	61	56	51	48

Негативні мазки, досліджувані щорічно	Припустиме число	20.0 %	23.0 %	25.0 %	28.0 %	30.0 %	33.0 %	35.0 %
		Загальне число необхідних мазків						
50000	d=1	86	74	69	61	57	51	48
100	d=2	79	73	69	64	61	57	54
200	d=2	95	86	80	72	69	63	58
300	d=2	101	90	84	76	71	64	62
400	d=2	105	92	87	78	73	66	62
500	d=2	108	95	88	79	73	67	63
700	d=2	110	96	89	79	74	67	63
1000	d=2	111	97	91	81	76	69	63
2000	d=2	114	100	92	82	76	69	65
5000	d=2	116	100	93	82	77	69	65
10000	d=2	116	101	93	83	77	69	65
20000	d=2	116	101	93	83	77	70	65
50000	d=2	116	101	93	83	77	70	65
100	d=3	95	88	84	78	74	70	66
200	d=3	116	105	99	90	84	78	74
300	d=3	125	112	104	94	89	81	75
400	d=3	130	114	107	96	90	82	77
500	d=3	133	117	109	97	91	84	78
700	d=3	136	119	111	100	93	84	78
1000	d=3	139	122	113	100	94	85	80
2000	d=3	143	123	115	103	96	87	80
5000	d=3	144	126	116	103	96	87	82
10000	d=3	145	126	116	103	96	87	82
20000	d=3	145	126	117	104	96	87	82
50000	d=3	145	126	117	104	96	87	82
100	d=4	108	101	97	92	87	82	78
200	d=4	136	123	116	106	100	93	88
300	d=4	148	131	123	111	104	96	91
400	d=4	153	136	127	114	107	97	92
500	d=4	156	139	129	117	109	99	92
700	d=4	161	142	132	118	110	100	94
1000	d=4	165	144	135	119	111	101	95
2000	d=4	169	147	136	122	113	103	95
5000	d=4	171	149	139	122	114	103	97
10000	d=4	173	149	139	124	114	103	97
20000	d=4	173	151	139	124	114	103	97
50000	d=4	173	151	139	124	114	103	97

РЕЗЮМЕ

Надзвичайна епідемічна ситуація з туберкульозу в країні потребує постійного удосконалення методів профілактики, виявлення та діагностики захворювань на туберкульоз серед населення з метою зниження інфікованості, захворюваності та зменшення резервуару туберкульозної інфекції.

Етіологічне підтвердження діагнозу туберкульозу за допомогою бактеріологічних досліджень гарантованої якості, зміцнення ТБ лабораторій, епіднагляд за медикаментозною стійкістю є основою сучасної клінічної фтизіатрії.

На бактеріологічні лабораторії покладається особлива функція у питаннях діагностики заразних випадків захворювання на туберкульоз та моніторингу ефективності процесу лікування. Саме тому, важливим напрямком удосконалення та оптимізації роботи лабораторій протитуберкульозної служби є обов'язкова стандартизація основних бактеріологічних методів. Впровадження їх в роботу дозволить отримати результати, які можуть бути порівняні з результатами досліджень інших лабораторій, що дасть можливість, своєчасно виявляти та реагувати на помилки в діагностиці, проводити оптимальне специфічне лікування хворих, оптимізувати та полегшити навчання фахівців, оцінити якість роботи лабораторій, окремих фахівців та проводити відповідний контроль ефективності лабораторних досліджень.

Для реалізації цього напрямку в країні підготовлена низка організаційно-розпорядчих, нормативних та учбових матеріалів з питань структури лабораторної мережі, організації роботи та удосконалення лабораторної діагностики туберкульозу.

При складанні цього Навчального посібника по проведенню курсу навчання фахівців бактеріологічних лабораторій закладів протитуберкульозної служби врахована інформація про останні досягнення в галузі організації роботи та бактеріологічної діагностики туберкульозу, які доповнюють діючу Інструкцію з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції, затвердженої наказом МОЗ України від 06.02.2002 року № 45.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Алгоритм діагностики хіміорезистентного туберкульозу з комплексним використанням гено- та фенотипічних методів в бактеріологічних лабораторіях протитуберкульозних закладів України [Текст] : методичні рекомендації / О. А. Журило [та ін.] ; Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України. – К. : НІФП НАМНУ, 2013. – 24 с.
2. Журило, О. А. Стандарти бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України [Текст] / О. А. Журило і співавт. – Кіровоград : Поліум, 2012. – 190 с.
3. Оптимизация лабораторной диагностики туберкулёза с использованием современных бактериологических и молекулярно-генетических методов [Текст] / И. М. Федорин [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 2. – С. 36–43.
4. Туберкулез. Патогенез, защита, контроль : Пер. с англ. / Под. ред. Барри Р. Блума. – М. : Медицина, 2002. – 696 с.
5. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью : Пер. с англ. / Под ред. И. Бастиана, Ф. Порталс. – М. : Медицина и жизнь, 2003. – 368 с.
6. WHO Tuberculosis programme : Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis [Text] / WHO / HTM / TB. – Geneva, 2009. – 83 p.