

Mikobakteriyolojide Kültür Yöntemleri



Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanlığı



Prof. Dr. Ali ALBAY
GATA Tıbbi Mikrobiyoloji AD
Ankara

TB Laboratuvar Tanısında Kullanılan Geleneksel Yaklaşımlar

- * Aside dirençli boyama
- * Mikroskopi
- * Kültür (Kati-Sıvı)

- * Seroloji??
 - * Moleküler yöntemler

KÜLTÜR YÖNTEMLERİ

- **Geç sonuç alınması**
- **Altın standart**
- **Mikroskopik incelemeden daha duyarlı olmaları**
- **İzolatların elde edilebilmesini ve saklanabilmesini sağlamaları**
- **Bakterilerin canlılıklarını göstermeleri**
- **İdentifikasyon ve ilaç duyarlılık testlerinin yapılmasını sağlamaları**



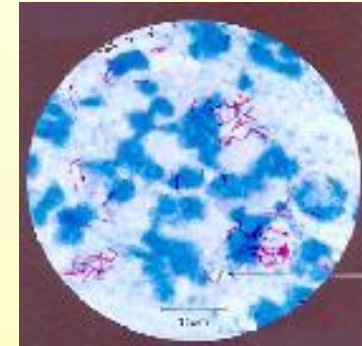
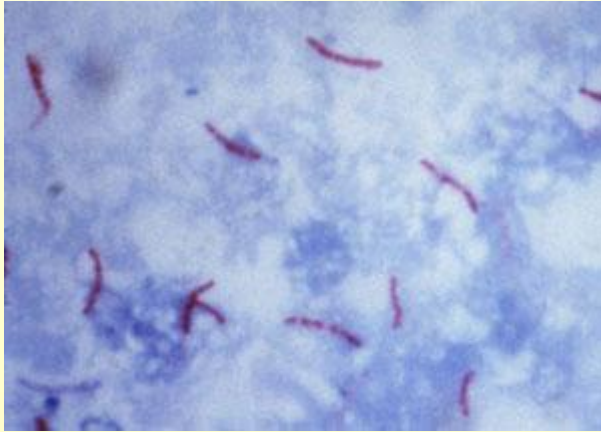
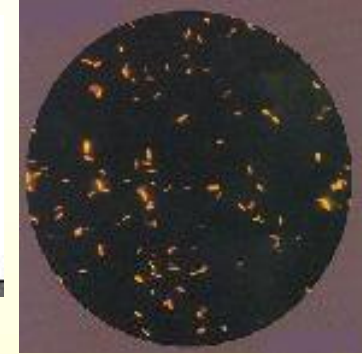
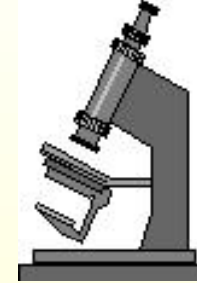
Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Diseases and Control)

- Mikobakterilerin primer izolasyonunda katı ve sıvı besiyerlerinin birlikte kullanılmasını
- *M. tuberculosis* kompleks identifikasyonunun 21 gün içinde sonuçlandırılmasını
- Tüm kültür işlemlerinin, uygun havalandırma sistemi bulunan odalarda ve güvenlik düzeyi II olan biyolojik güvenlik kabinlerinde yapılmasını



BOYALI YAYMA PREPARAT

Boyalı yayma preparatlarda
ARB'lerin görülebilmesi için
hasta örneklerinin ml.sinde en
az 5.000-10.000 basil olması
gerekli



KÜLTÜR

- **Kültürde mikobakterilerin üretilebilmesi için hasta örneklerinin ml.sinde 10-100 canlı basilin bulunması yeterli**
- **Kültürün duyarlılığı %80-85, özgüllüğü yaklaşık %98**



Kültür Yöntemleri

- **Klasik kültür yöntemleri**
 - Yumurta bazlı besiyerleri
 - Agar bazlı besiyerleri
- **Hızlı kültür sistemleri**
 - Tam otomatize
 - Yarı otomatize
 - Manuel



Üreme Ortamları

Yumurta Bazlı Besiyerleri

- Löwenstein- Jensen
- Petragnani
- American Thoracic Society (ATS)



Agar Bazlı Besiyerleri

- Middlebrook 7H10, 7H11



Sıvı Besiyerleri

- Middlebrook 7H9
- Dubos Tween Albumin Broth



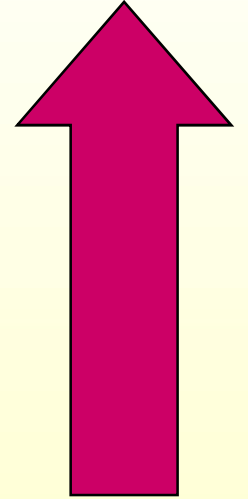
Yumurta Bazlı Besiyerleri

-
- **Löwenstein Jensen (0.025 g/100ml malaşit yeşili):**
M.tuberculosis'i diğer türlere göre daha iyi üretmekte
 - **Petragnani besiyeri (0.052 g/100ml malaşit yeşili):**
L-J besiyerinden iki kat fazla malaşit yeşili içermekte
 - **American Thoracic Society besiyeri (0.02 g/100ml malaşit yeşili)**
 - **Ogawa, Ogawa K, Coletsos, Vite, Stonebrink vb.**
-

Yumurta Bazlı Besiyerleri

AVANTAJLARI

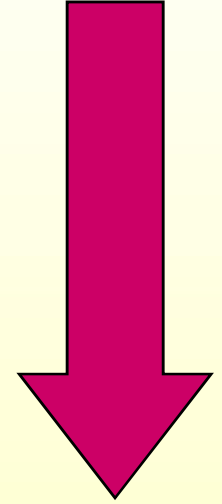
- Birçok mikobakteri türünü etkin şekilde üretmesi ve mikobakterilerin bu besiyerlerde tipik koloni morfolojisi oluşturmaları
- Malaşit yeşili sayesinde kontaminant bakterilerin üremelerinin engellenmesi
- İçerdiği fosfolipidler sayesinde mikobakterilere toksik olan maddelerin nötralize edilmesi
- Uzun raf ömrüne sahip olmaları
- Ucuz ve güvenilir olmaları



Yumurta Bazlı Besiyerleri

DEZAVANTAJLARI

- Besiyerlerin opak görünümde (patates unu, gliserol, tuz, tam yumurta veya yumurta sarısı içermekteler) olmasından dolayı kolonilerin ancak 18-24. günlerde görülebilmesi
- Besiyerinin kalitesinin kullanılan yumurtalara bağlı olması
- Duyarlılık testinde antibiyotiklerin besiyeri içinde homojen dağılamaması



Löwenstein-Jensen (LJ)



- ✓ En çok kullanılan
- ✓ Mükemmel izolasyon



Agar Bazlı Besiyerleri

- **Middlebrook 7H10 agar**
- **Middlebrook 7H11 agar**
- **Kanlı agar !!!**



Agar Bazlı Besiyerleri

Avantajları / Dezavantajları

- Ekim yapıldıktan 10-12 gün sonra mikrokolonilerin görülebilmesi
- Duyarlılık testlerinde kullanılabilmeleri
- Pahalı ve raf ömürlerinin nispeten kısa olması
- Besiyerlerin depolanması, hazırlanmasında itina gerekmesi
- Aşırı sıcak veya ışık ile temasın, mikobakterilere toksik etkili olması ve formaldehitin açığa çıkmasına neden olması





A



B



Selektif Besiyerleri

- Kontaminasyonun baskılanması için katı besiyerlerine antimikrobiyallerin ilave edilmesi
- **L-J Gruft:** penisilin ve nalidiksik asit
- **Mycobactosel L-J:** sikloheksimid, linkomisin, nalidiksik asit
- **Mitchison selektif 7H11 (7H11S):** polimiksin B, trimetoprim, amfoterisin B, karbenisilin
- Selektif besiyerleri, belli bir örnek için tek başına kullanılmamalı, beraberinde non-selektif agar ya da yumurta bazlı besiyeri kullanılmalı

M. tuberculosis ve Diğer Mikobakterilerin Tanımlanması

FENOTİPİK TESTLER

- 1- MİKROSKOBİK GÖRÜNÜM
- 2- ÜREME SÜRESİ
- 3- ÜREME İSİSİ
- 4- PİGMENT YAPIMI
- 5- KOLONİ MORFOLOJİSİ
- 6- NİTRAT REDÜKSİYONU
- 7- KATALAZ AKTİVİTESİ
- 8- T2H İLE ÜREME İNHİBİSYONU
- 9- NİASİN SALINIMI
- 10- MAC-CONKEY AGARDA ÜREME
- 11- PİRAZİNAMİDAZ AKTİVİTESİ
- 12- NaCl'de ÜREME ÖZELLİĞİ
- 13- TELLÜRİT REDÜKSİYONU
- 14- TWEEN-80 HİDROLİZİ
- 15- ÜREAZ AKTİVİTESİ
- 16- ARYLSÜLFATAZ AKTİVİTESİ
- 17- DEMİR UP-TAKE ÖZELLİĞİ



Fenotipik Testler



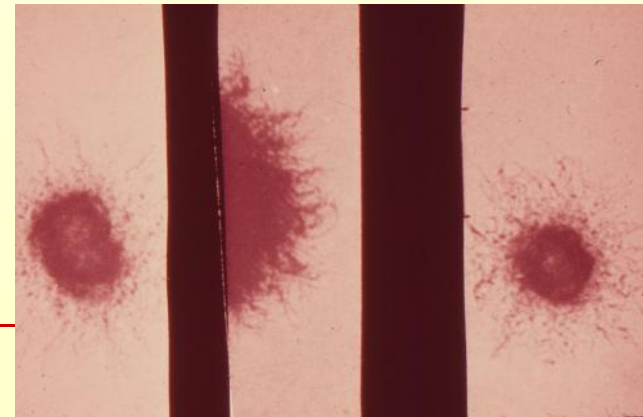
- Pratik olmamaları
- Uzun zaman gerektirmeleri (3 hafta – 3 ay)
- Kısa miyadlı onlarca ayıraç gerektirmeleri
- Tecrübeli personel
- Tür içi farklılıklar
 - *M. gordonae* %30-49 üreaz (+)
 - *M. tuberculosis* %2'si tellürit reduktaz (+)
 - *M. tuberculosis* %2'si niasin (-)



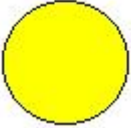
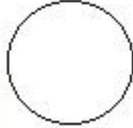
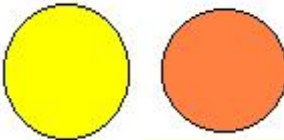
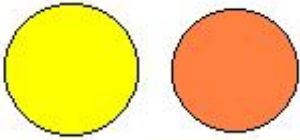
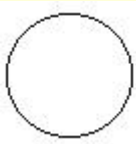
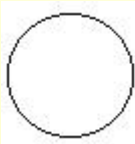
Tüm türlerin tiplendirilmesi olanaksız
rutin kullanım için uygun değil

“Günümüzde klinik örneklerde saptanan mikobakterilerin tür düzeyinde tiplendirilmesi amacıyla biyokimyasal testler yerine moleküler yöntemler tercih edilmektedir”

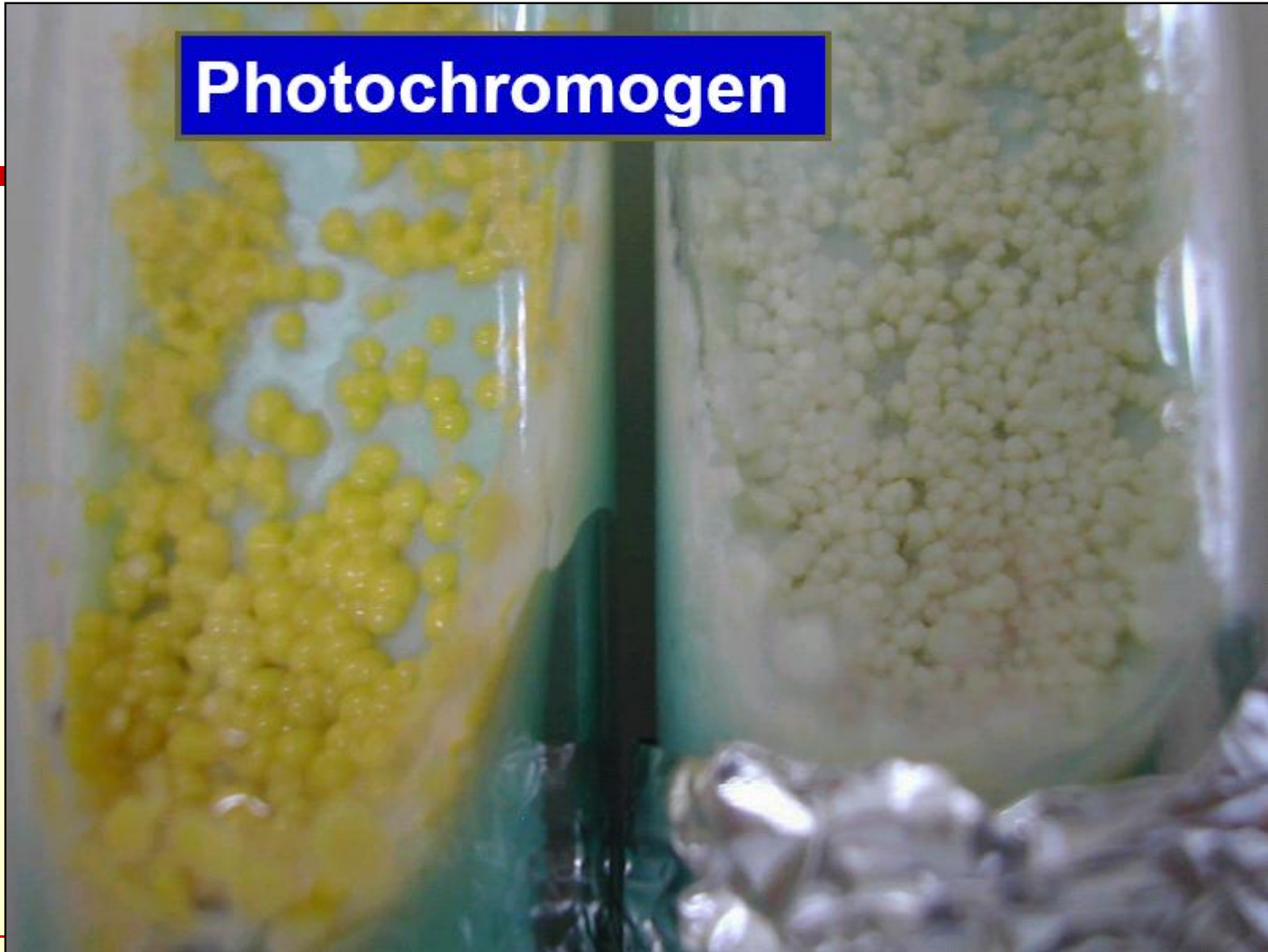
KOLONİ MORFOLOJİSİ

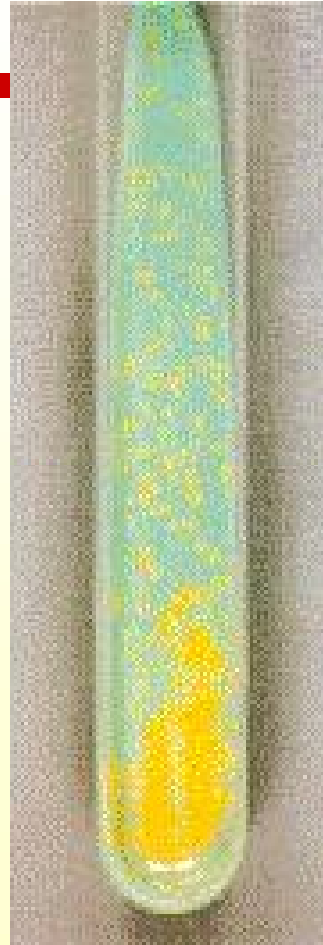
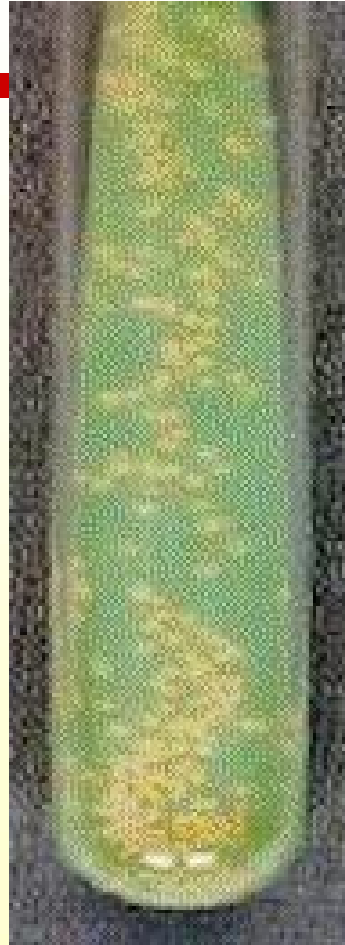
- *M.tuberculosis* deve tüyü renginde, yüzeyi pürüzlü, pigmentsiz koloniler oluşturur
- Fotokromojen mikobakteriler genelde sarı renkte koloniler oluştururlar
- Koloni etrafından çevreye doğru yayılan dallanmalar *M. xenopi* için önemli bir özelliktir ve kolonileri mikroskopta kuş yuvasına benzer



<div data-bbox="277 172 622 347" style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;"> PIGMENT YAPIMI </div>			
<div data-bbox="210 443 656 539" style="background-color: black; color: pink; padding: 5px; text-align: center;"> Fotokromojen </div>			<i>M. kansasii</i> <i>M. marinum</i> <i>M. simiae</i>
<div data-bbox="210 719 687 810" style="background-color: black; color: pink; padding: 5px; text-align: center;"> Skotokromojen </div>			<i>M. scrofulaceum</i> <i>M. szulgai</i> <i>M. gordonae</i> <i>M. flavescens</i>
<div data-bbox="165 1086 725 1182" style="background-color: black; color: pink; padding: 5px; text-align: center;"> Nonfotokromojen </div>			<i>M. tuberculosis complex</i> <i>M. avium-intracellulare</i> <i>M. ulcerans, M. terrae</i> <i>M. malmoensa</i> <i>M. xenopi, M. gastri</i> <i>M. haemophilum</i> <i>M. fortuitum complex</i> <i>M. thermoresistibile</i> <i>M. smegmatis</i>

Photochromogen





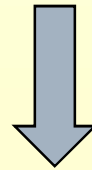
M. tuberculosis

M. kansasii

MAC

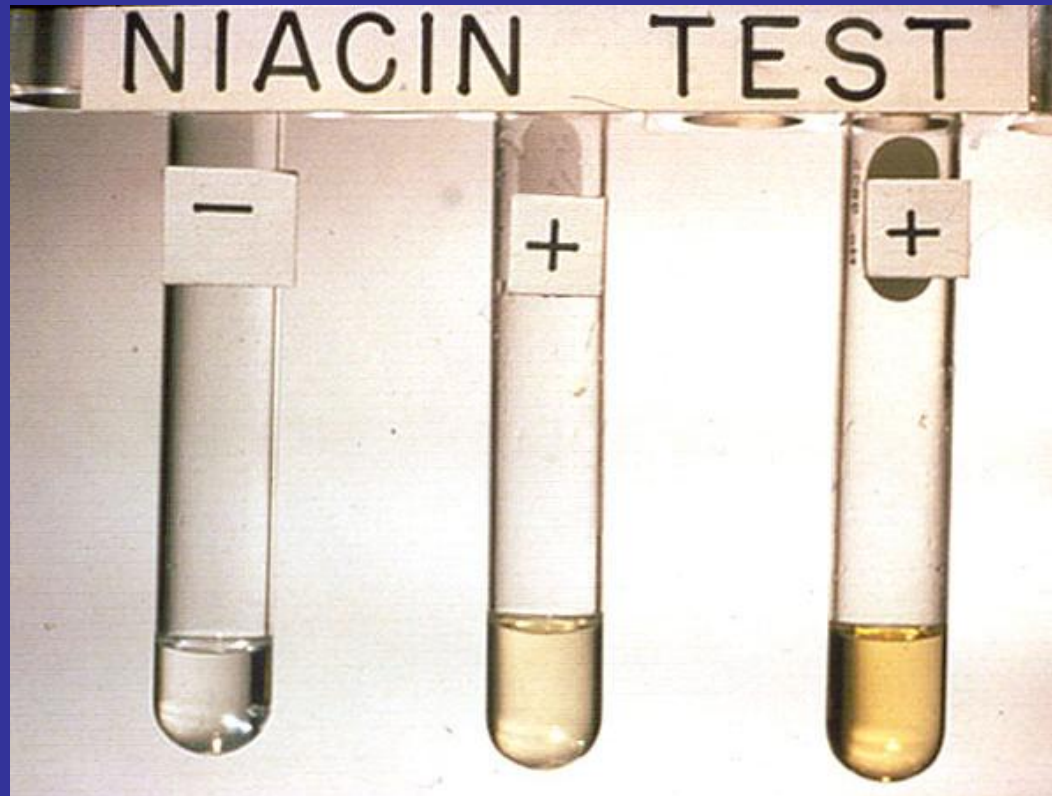
NİASİN SALINIMI

- Bütün mikobakteri türleri niasin üretmekle birlikte büyük çoğunluğu bu niasini NAD'a (nikotinamid adenin dinükleotid) çevirirler ve üreme ortamına salmazlar
- Sadece *M. tuberculosis* ve *M. simiae* ürettikleri niasini NAD'a çevirecek enzimlere sahip olmadıklarından bunu besiyeri ortamına salarlar



Niasin testi





NİTRAT REDÜKSİYONU

M.tuberculosis nitrat redüktaz aktivitesine sahip

M.bovis

M.bovis BCG'de nitrat redüktaz aktivitesi yok

Nitrat redüktaz enzimine sahip diğer mikobakteriler

M.kansasii

M.szulgai

M.thermoresis

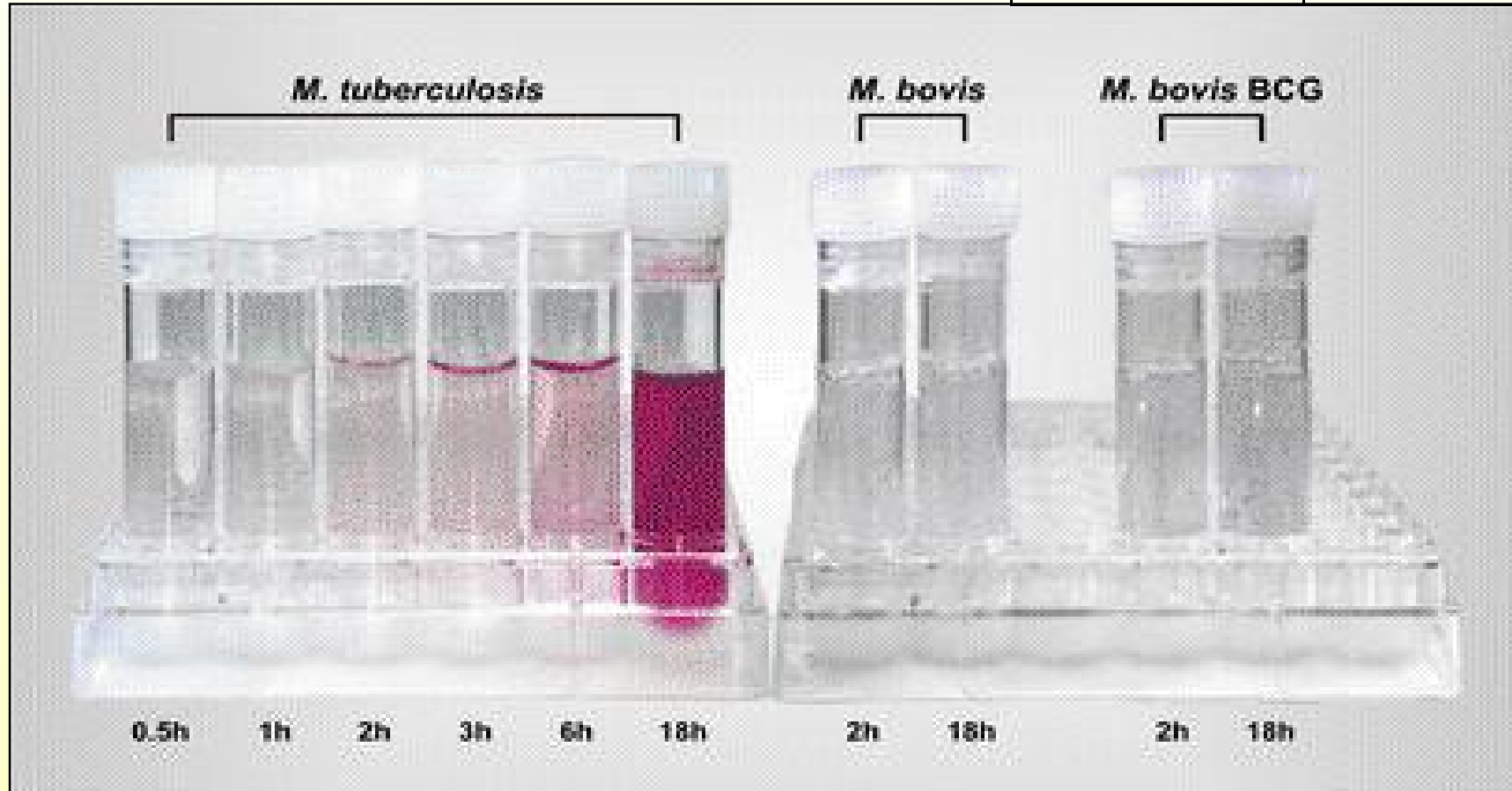
tible

M.flavescens

M.fortitum

M.trivale

M.smegmatis



KATALAZ AKTİVİTESİ

- Katalaz intrasellüler solübl bir enzim
- Hidrojen peroksid \longrightarrow Su + Oksijen
- Katalaz aktivitesi

— Oda ısısında **semikantitatif katalaz testi**

— 68C'de ısıtılmış bakteri ile yapılan **ısıya dirençli katalaz testi**

M.tuberculosis, M.bovis, M.gastri, M.marinum, MAC oda sıcaklığında katalaz aktivitesine sahipken **68°C'de bu aktivitesini kaybeder**

Semikantitatif katalaz testi

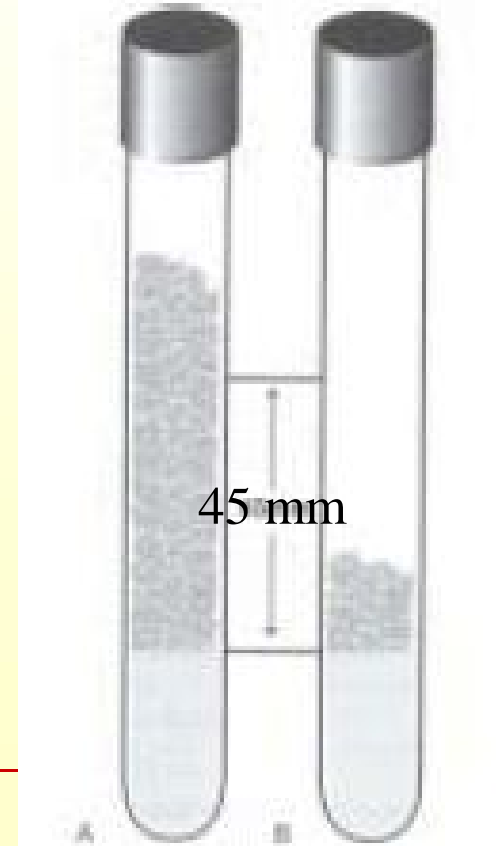
Düşük seviyede katalaz üretenler
(45 mm'den küçük)

Yüksek miktarda katalaz
üretenler (45 mm'den büyük)

LJ besiyerine test edilecek saf kolonilerden
0.2 ml inoküle edilir ve 2 hafta süreyle
35°C'de inkübe edilir

Gelişen kolonilerin üzerine %10 Tween-80
ve %30 hidrojen peroksit karışımından
1 ml damlatılır ve oda ısısında 5 dakika

Tüp yüzeyine doğru oluşan
hava kabarcıklarının boyu ölçülür




Catalase test



PYRAZİNAMİDAZ AKTİVİTESİ



Bu enzim *M.tuberculosis*, *M.kansasii*, *M.marinum* ve *M.avium complex*'de bulunmaktır

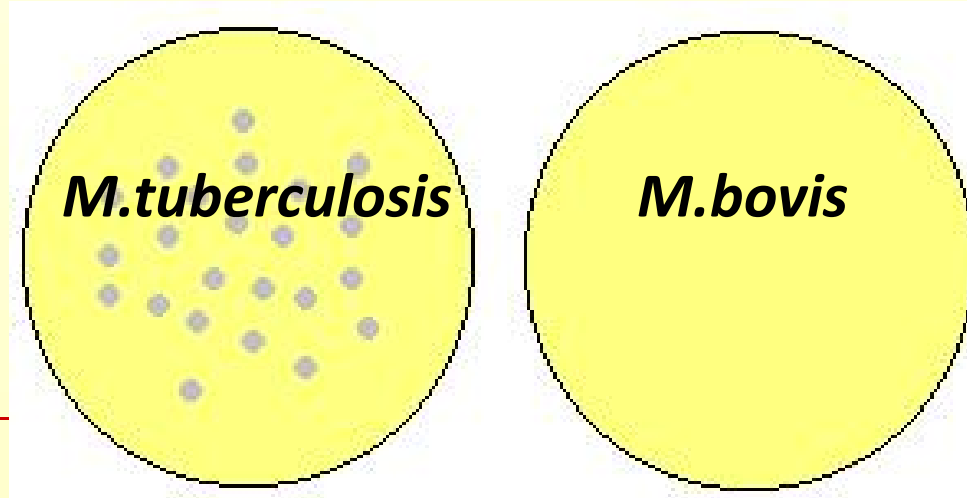
Pyrazinamidaz  \longrightarrow Pyrazinamide DİRENCİ

Aktif metabolit \longrightarrow


Pyrazinoik asid

T2H İLE ÜREME İNHİBİSYONU

- Mikobakterilerden sadece *M.bovis* içinde T2H (Thiophene-2-Karboksilik Asid Hidrazid) bulunan besiyerinde üremez
- Diğer mikobakteriler T2H'a dirençlidirler. Bundan özellikle *M.tuberculosis* ile *M.bovis* 'in birbirlerinden ayırt edilmesinde faydalanılır



M. tuberculosis İdentifikasyonu

- Löwenstein-Jensen ve Middlebrook besiyerinde 37 °C'de 14-28 günlük inkübasyondan sonra pigmentsiz, kaba ve kahverengimsi sarı renkte kolonilerin oluşması.
- Middlebrook 7H10 veya 7H11 agarda 5-10 günlük inkübasyondan sonra mikrokolonilerin ve cording factor'ün üretimine bağlı olarak yılanı kıvrımların (serpentine cords) oluşması.
- Niacin birikimi (diğer mikobakteri türleri de oluşturabildiğinden mutlak bir özellik olarak düşünülmemeli).
- Nitratların nitritlere redüksiyonu.
- ~~Katalaz aktivitesinin olmaması.~~

HIZLI KÜLTÜR SİSTEMLERİ

➤ Cihaz ve bilgisayar ile değerlendirilip değerlendirilmemesine göre:

- **Tam Otomatize Sistemler** (BACTEC 9000 MB, BACTEC MGIT 960, VersaTREK(Myco-ESP II), BacT/ALERT 3D, TK Kültür Sistemi)
- **Yarı Otomatize Sistem** (BACTEC 460TB)
- **Manuel Sistemler** (MGIT, MB redoks, Septi-Chek AFB)

➤ Kullanılan üreme indikatörlerine göre:

- **Radyometrik Sistemler** (BACTEC 460TB)
- **Florometrik Sistemler** (BACTEC MGIT 960, BACTEC 9000 MB)
- **Kolorimetrik Sistemler** (BacT/ALERT 3D, TK)

MGIT (Mycobacterium Growth Indicator Tube) 960 Sistemi (BD)

- Modifiye Middlebrook 7H9 tüpleri
- Oleik asid-albümin-dekstroz-katalaz (OADC) ve polimiksin B, azlosilin, nalidiksik asit, trimetoprim ve amfoterisin B (PANTA)
- Kan dışındaki tüm klinik örnekler için uygun
- Her biri 320 adet tüp alabilen üç çekmecesi var



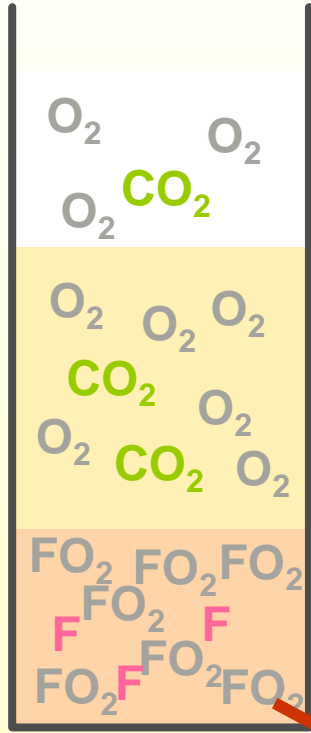
MGIT 960 Sistemi (BD)

- Tüpün dibinde silikona gömülü O_2 ile bileşik halde bulunan **fenatrolin rutenyum klorid pentahidrat** adında floresans veren bir indikatör bulunmakta
- Mikobakteriler tüpteki O_2 'ni tüketmekte
- İndikatör serbest kalarak floresans açığa çıkmakta
- Floresans miktarı, üreme indeksi olarak değerlendirilmekte



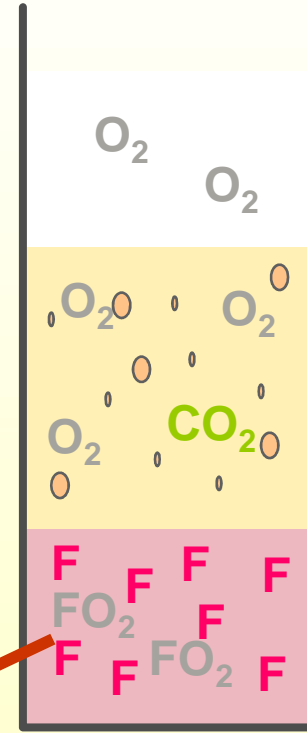
MGIT 960 Sistemi (BD)

Negatif Kültür



Floresan çok az veya yok

Pozitif Kültür



Kuvvetli Floresan

Üst kısım

Sıvı

Sensör

fenatrolin
rutenyum
klorid
pentahidrat

PNB testi (para-nitro-benzoik asit)



- ***M. tuberculosis complex* 'in NTM'den ayırt edilmesinde kullanılan bir test**
- **Kompleks grubu, içinde PNB diski içeren 12B şişesinde üreme göstermezken NTM'ler bunda üreyebilirler**

BD BACTEC™ MGIT™ and BD MGIT™ TBc Identification Test*

The perfect combination for safe, fast and accurate identification of *M. tuberculosis* complex (Mtb) infections!

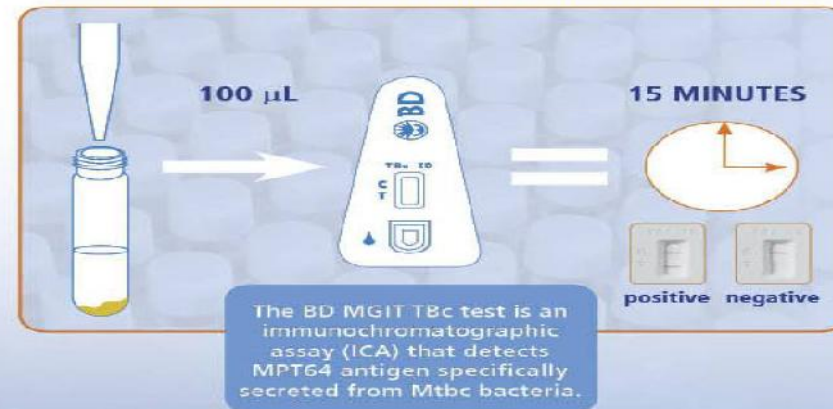
The World Health Organization recommends the use of liquid cultures and rapid species identification using immunochromatographic assay (ICA) to address the needs for culture and drug susceptibility testing.¹

*"It is imperative that all mycobacterial isolates be speciated at least to the level of M. tuberculosis complex vs. non-tuberculous mycobacterium (NTM) and that a rapid, affordable method of species identification be used."*¹

A rapid method to differentiate *M. tuberculosis* complex from other mycobacterial species is essential.¹ Timely identification of Mtb will accurately guide initial therapy and lead to better patient outcomes.

- **FAST:** results in only 15 minutes
- **SIMPLE:** just add 100 µL of a positive BD MGIT liquid culture to the lateral flow device
- **AFFORDABLE:** More cost effective and time efficient than molecular methods
- **VERSATILE:** No need for additional equipment or skilled technicians

BD BACTEC MGIT and BD MGIT TBc Identification Test



Description	Qty/Pkg
BD MGIT™ TBc Identification Test	25 tests / kit



BD Diagnostics
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152-0999
800.638.8663
www.bd.com/ds

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. ©2009 BD

11 rue Aristide Berges
38800 Le Pont de Claix, France
Tel: 33 4 7668 3636

30 Tuas Avenue 2
Singapore 639461
Tel: 65.6861.0633

Monte Pelvoux 111, 9th Floor
Col. Lomas de Chapultepec
11000 Mexico D.F.
Tel: 52.55.59.99.82.00

Rua Alexandre Dumas 1976
04717-004 São Paulo, S.P. Brazil
Tel: 55 11.5185.9833

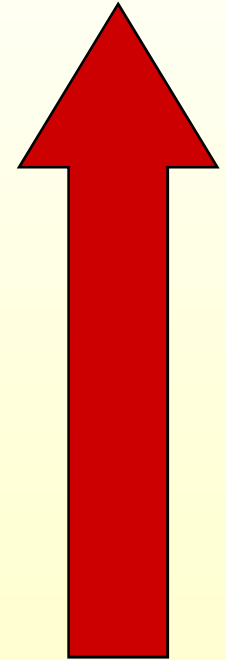
1: World Health Organization
The use of liquid medium for culture and DST. WHO <<http://www.who.int/tb/dots/laboratory/policy/en/index3.html>>

*Product Under Development

MGIT 960 Sistemi (BD)

AVANTAJLARI

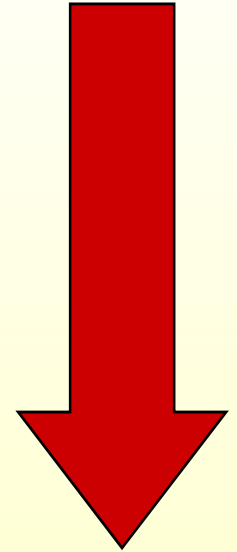
- İş yükünün az olması
- İğne veya benzeri gereçlere gereksinim duyulmaması
- Radyoaktif madde kullanılmaması
- Para-nitro-benzoik asit (PNB) prosedürü, immünokromatografik, DNA prob veya PCR-RFLP gibi yöntemlerle tür identifikasyonunun yapılabilmesi
- Antimikrobiyal duyarlılık testlerinin yapılabilmesi



MGIT 960 Sistemi (BD)

DEZAVANTAJLARI

- Kan veya aşırı kanlı örneklerin floresansı maskeleymesi
- Setilpiridinyum klorid (CPC) ve zefiran-trisodyum fosfat gibi bazı dekontaminasyon ve homojenizasyon yöntemlerinin tercih edilmemesi



BacT/ALERT 3D (BioMérieux)

➤ Birbirinden bağımsız çekmecelerde hem kan ve vücut sıvılarının rutin bakteriyolojik kültürü, hem de kan, vücut sıvıları ve homojenize-dekontamine edilmiş hasta örneklerinin mikobakteri kültürü ve ilaç duyarlılık testleri birlikte çalışılabilmekte



BacT/ALERT 3D - (240'lık)

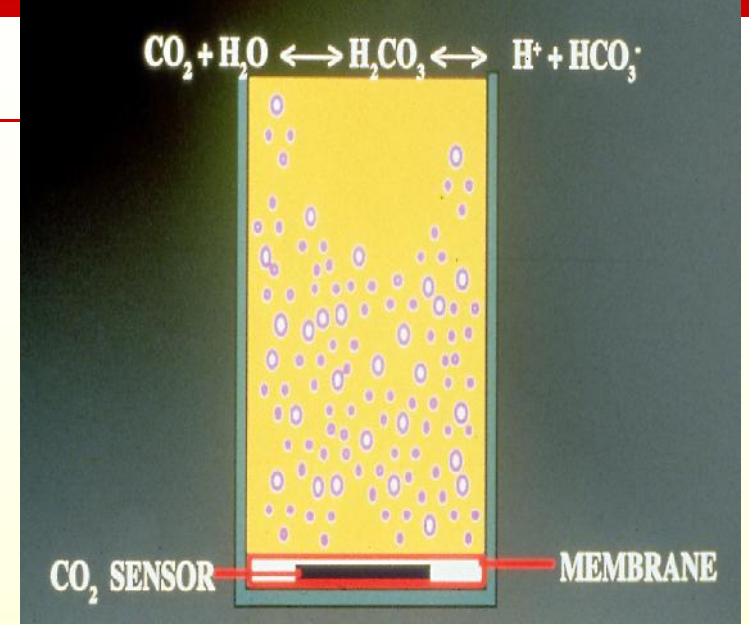
BacT/ALERT 3D (BioMérieux)

- Modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren şişeler
- Kolorimetrik, bilgisayar destekli kapalı sistem
- İzolatların identifikasyonları, konvansiyonel biyokimyasal teknikler veya gen proplar ile



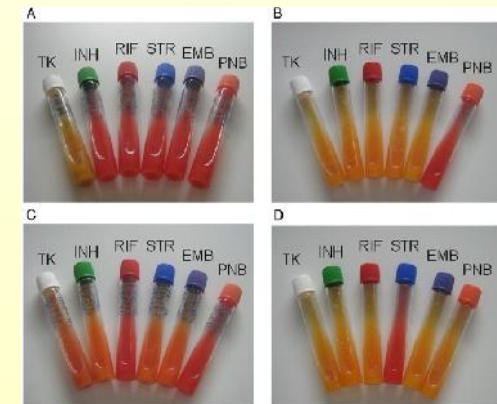
BacT/ALERT 3D (BioMérieux)

- Her şişenin tabanında silikona gömülü kolorimetrik sensör bulunmakta,
- Sensör, mikobakterilerin oluşturduğu çözünmüş CO₂ değişimine ve bunun sonucunda değişen pH'ya duyarlı → renk değişikliği
- Pozitiflik durumunda sensörün rengi koyu yeşilden sarıya dönmekte



TK Kültür Sistemi (Salubris)

- **İzolasyon:** TK bifazik Medium (yumurta ve ek olarak demir ve glutamik asit gibi besleyiciler)
- TK SLC (selektif, PolyPANT: polimiksin B, piperasilin, amfoterisin B, nalidiksik asit, trimetoprim)
- TK SLC-L
- **Tür ayrımı:** TK PNB kit ile (*p*-nitro-benzoik asit) yapılabilir
- **Anti-TB ilaçlara duyarlılık:** TK Anti Tb kiti ile INH, RIF, STR ve EMB için yapılabilir



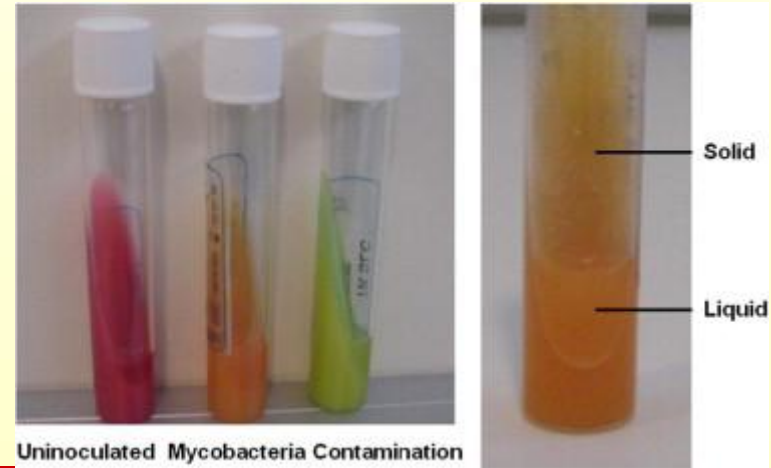
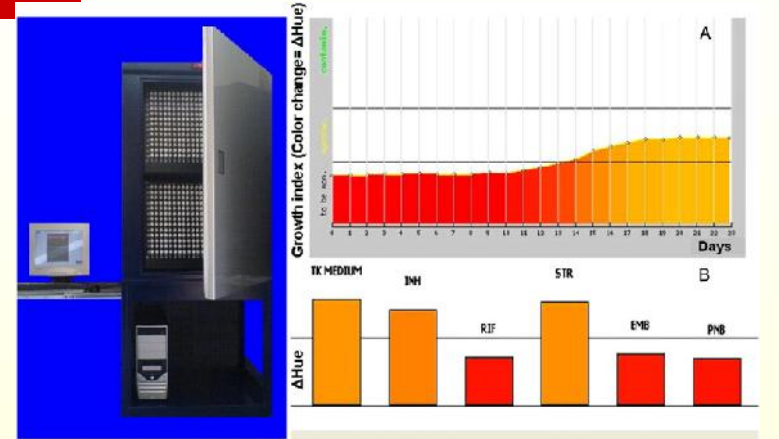
TK Kùltür Sistemi (Salubris)

- TK Medium, çoklu renk indikatörleri kimyasından yararlanılarak hazırlanmış
- Mikobakterilerin ürettiği metabolitlere ve enzimlere bağlı olarak TK Medium besiyerinin orijinal **KIRMIZI** renkten **SARI**ya
- Diğer bakteri veya fungal türlerin varlığında ise **KIRMIZI** renk **YEŞİLE** dönmekte



TK Kùltür Sistemi (Salubris)

Renk deęiřimi hem gözle,
hem de otomatik kùltür
sistemi **MYCOLOR TK** ile
izlenebilmekte



TAM OTOMATİZE SİSTEMLER

VersaTREK (Extra Sensing Power II kültür sistemi, Trek Diagnostics)

- Middlebrook 7H9 besiyeri ve selüloz sünger
- Devamlı moniterize, tam otomatize, radyoaktif olmayan bir sistem
- Mikobakterilerin O₂ tüketimine bağlı oluşan gaz basınç değişikliklerinin devamlı takip edilmesi ve bilgisayarda grafiksel olarak görüntülenmesi
- OADC ve antibiyotik karışımı
- Tüm klinik örnekler için uygun



YARI OTOMATİZE SİSTEM

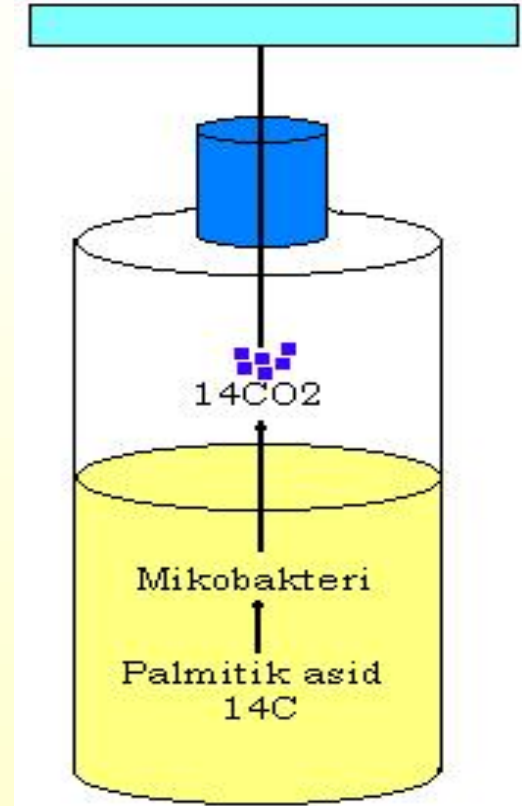
BACTEC 460TB Sistemi (BD)

- Oda ısısında saklanabilen Middlebrook 7H9 (BACTEC 12B) veya Middlebrook 7H13 (BACTEC 13A) sıvı besiyerleri ile ^{14}C işaretli palmitik asit
- Radyometrik yarı otomatize sistem
- Mikobakterilerin primer izolasyonu
- NAP ile MTK ile NTM'lerin ayrımı (identifikasyon)
- *M. tuberculosis* kompleksin anti-TB ilaçlara duyarlılığı
- Altın standart



BACTEC 460TB Sistemi (BD)

- BACTEC 12B şişeleri, altı hafta süresince 35-37°C'de ve %5-10 CO₂'li ortamda inkübasyon
- Mikobakteriler, palmitik asiti kullanarak ¹⁴CO₂ oluşturmakta
- Oluşan ¹⁴CO₂ miktarı besiyerindeki üreme oranıyla ilişkili
- Cihaz, ¹⁴CO₂ gazını şişeden aspire ederek 0-999 arasında sayısal indeks (üreme indeksi: GI) vermekte
- BACTEC 13A, kemik iliği aspiratı ve kan örnekleri için



NAP testi

(p-nitro-r-acetylamino-S-hydroxypropiophenone)



- *M.tuberculosis complex* 'in NTM'den ayırt edilmesinde kullanılan bir test
 - Kompleks grubu, içinde 5 µgr NAP diski içeren 12B şişesinde üreme göstermezken NTM'ler bunda üreyebilirler
-

İNKÜBASYON

SICAKLIK

- Optimum inkübasyon sıcaklığı 35-37°C
- *M.marinum*, *M.ulcerans*, *M.chelonae* veya *M.haemophilum* türleri (deri ve yumuşak doku): 25-33°C; *M.xenopi* için 42°C

ATMOSFER

- Yumurta bazlı katı besiyerleri: İnokülasyondan sonra sadece ilk 7-10 gün için %5-10 CO₂'li ortam
- Middlebrook agar: Sürekli CO₂'li ortam
- Sıvı kültür sistemleri: İnkübasyonda genellikle yüksek CO₂ gerektirmemekte

İNKÜBASYON

SÜRE

- İkiye bölünme zamanı 16-18 saat, kültürlerin inkübasyon süresi 6-8 hafta
- Klinik örneğin direkt yayma preparatında ARB'lerin bulunmasına, nükleik asit temeline dayalı amplifikasyon testi pozitif sonuçlanmasına veya klinik yönden hastada kuvvetli şüphe olmasına rağmen 8 hafta sonunda kültürde üreme yoksa besiyeri 4-8 hafta daha inkübe edilmeli

-
- **Burgulu kapaklı tüpler, inokülüm besiyeri tarafından tam absorbe edilinceye kadar en azından bir hafta süresince kapakları gevşek olarak ve yatık bir pozisyonda, daha sonra besiyerinin kurummasını engellemek için kapakları sıkılaştırılmış ve dik vaziyette inkübe edilmeli**
 - **Besiyerlerinin kontaminasyon takibi ekimden 3-5 gün sonra yapılır ve sonrasında üremeler açısından haftada bir kontrol edilir**
-

YALANCI POZİTİF SONUÇ ŞÜPHESİ

- (1) Kültür sonucu, klinik tablo ile örtüşmüyorsa**
- (2) Sıvı bir sistemin mikobakteri saptamasında belirgin bir gecikme varsa veya katı besiyerinde geç dönemde oldukça az (<10) koloni kümesi görülüyorsa**
- (3) Normalde çevresel bir kontaminant olarak ele alınan bir mikroorganizmanın veya laboratuvarında genellikle seyrek olan belli bir türün yoğun üremesi durumunda**
- (4) Tek bir hastadan alınmış birçok örnekten sadece birisinin kültüründe pozitiflik saptanmışsa**

ÇAPRAZ KONTAMİNASYON NEDENLERİ

- ✓ Örnek alınmasında veya laboratuvar işlemlerinde kontamine suyun kullanılması
- ✓ Kontamine malzemelerin ortak kullanılması
- ✓ Direkt temas aracılığıyla bir örnekten diğerine bakterilerin taşınması
- ✓ Örnek kaplarının kapaklarının veya test örneklerinin karışması
- ✓ Teknisyen hataları
- ✓ Aerosol oluşumunun önlenmesine yönelik önlemlerin yetersizliği
- ✓ Bazı cihazların laboratuvar prosedürleri
- ✓ Sterilizasyonu yetersiz yapılan kontamine bronkoskopi gibi alet ve cihazların kullanılması
- ✓ Güvenlik kabinlerinin rutin sanitizasyon işlemlerinin yapılmaması ve kabin içinde aşırı biriken malzemelerin UV etkisini azaltması

Kültür Yöntemleri Kalite Kontrol

- Uygun olmayan dekontaminasyon
 - Üreme ortamı uygun değil ve yetersiz (etüv, besiyeri, ısı, havalandırma)
- } yalancı negatiflik
- Çapraz kontaminasyonlar → yalancı pozitiflik
- Direkt Bakı(+), Kültür(-) örnek sayısı
 - Besiyerleri kontaminasyon oranı
- } hatalara karşı uyarıcı, kalite göstergeleri

Kültür Yöntemleri Kalite Kontrol

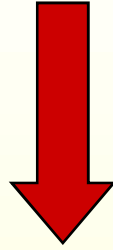
- **Direkt Bakı(+), Kültür(-) örnek sayısı fazla**
Kontaminasyon oranı düşük ↓
Dekontaminasyon yöntemi aşırı
- **Yüksek kontaminasyon oranları (%5-8'in üzerinde)** ↓
Yetersiz dekontaminasyon
- **Artmış direkt bakı pozitifliğinde** ↓
Dış kaynaktan bulaş (Kullanılan reaktifler, solüsyonlar, cam, plastik malzeme)

İç Kalite Kontrol

- Rastgele 10 adet besiyeri
- Besiyelerinin makroskopik kontrolü
- Rengi, hava kabarcıkları
- Sterilite kontrolü
- Üretebilme özelliği
- Koloni özellikleri
- Üretebilme süresi ve hızı



Besiyerlerinin üretebilme özelliği, üretebilme süresi ve hızının test edilmesi



- *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*
 - *Mycobacterium fortuitum*
-

Cihazların ve kültür ortamının kontrolü

- Besiyerlerinin ya da diğer malzemelerin, solüsyonların ve reaktiflerin saklandığı buzdolaplarının ısılarının takibi
- Etüvlerin ısılarının kontrol edilmesi ve takibi
- Kullanılan cihazların kontrolü ve kalibrasyonlarının yapılması



Dış Kalite Kontrol

- Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı (UTRL) yayma, kültür, tiplendirme ve antibiyogram için örnekler gönderiyor
- TB testleri için laboratuvarlar arası karşılaştırma (LAK) ölçümleri
- “UK National Quality Assessment Scheme” (NEQAS) örnekleri
- Laboratuvara yılda üç kez, dört balgam örneği gönderilmekte
- İzolasyon, identifikasyon sonuçları ve üretme süreleri istenmekte





Ali Albay