



## کنترل کیفیت دیسک های آنتی بیوتیک جهت انجام آزمایش تعیین حساسیت میکروبی به روش *disk diffusion agar*

### هدف

هدف از برنامه کنترل کیفی پایش و ارزیابی موارد زیر می باشد :

- صحت و دقت روش انجام آزمایش تعیین حساسیت
  - مواد و وسایل به کار برده شده در این آزمایش
  - عملکرد افرادی که آزمایش را انجام داده و نتایج بدست آمده را قرائت می نمایند.
- به منظور دست یابی بهینه به این اهداف در دسترس داشتن سویه های کنترل کیفی تهیه شده از مراکز معتبر ضروری است .
- سویه های کنترل کیفی پیشنهادی توسط CLSI عبارتند از:

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212

*Escherichia coli* ATCC 25922

*Escherichia coli* ATCC 35218

*Haemophilus influenzae* ATCC 49247

*Haemophilus influenzae* ATCC 49766

*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

*Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

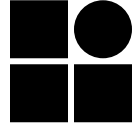
*Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

*E.coli* ATCC 35218 فقط به عنوان یک میکروارگانیسم کنترلی برای ترکیبات ممانعت کننده بتالاکتاماز،

مثل ترکیبات حاوی کلولانیک اسید، سولباکتام یا تازوباکتام پیشنهاد می شود .

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ( یا *E.faecalis* ATCC 33186 ) برای ارزیابی محیط مولر

هینتون آگار با دیسک تری متوپریم / سولفامتوکسازول استفاده می شود. در محیط کشت قابل قبول ، هاله عدم رشد



واضحی به قطر  $20\text{ mm}$  یا بزرگتر ایجاد می شود در حالیکه در محیطهای کشت غیر قابل قبول ، هاله عدم رشد ایجاد نمی شود یا در داخل هاله ، رشد کم مشاهده می شود و یا هاله ای با قطر کمتر از  $20\text{ mm}$  ایجاد میگردد. این کار به منظور بررسی مقادیر غیر قابل قبول تیمیدین در محیط کشت مزبور است .

*Enterococcus faecalis ATCC 29212* همچنین برای کنترل دیسکهای آمینو گلیکوزید با دوز بالا به

کار می رود.

*Klebsiella pneumoniae ATCC 700603* به عنوان یک سویه کنترلی برای آزمایشات *ESBL* به کار

برده می شود .

### کنترل کیفیت قطر هاله عدم رشد سویه کنترلی / دیسک آنتی بیوتیکی

سویه های کنترل کیفی را باید به روش استاندارد آزمایش *disk diffusion* و با استفاده از همان مواد و روشی که برای سویه های جدا شده از نمونه های کلینیکی استفاده می شود آزمایش و نتایج را با جداول ۳ و ۳A CLSI (ضمیمه ۳) مقایسه و بررسی نمود . محدوده قطر هاله عدم رشد قابل قبول برای هر سویه کنترلی نسبت به یک دیسک آنتی بیوتیکی در جداول فوق فهرست شده است .

چنانچه تغییر در میانگین قطر هاله عدم رشد ناشی از خطا در روش انجام آزمایش نباشد ، احتمالاً ناشی از تغییر در حساسیت ذاتی باکتری نسبت به آن آنتی بیوتیک می باشد. در این صورت لازم است کشت تازه از سوش کنترل تهیه شود .

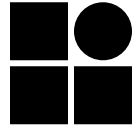
### آزمایش کنترل کیفیت را باید در چه فواصل زمانی انجام داد ؟

الف \_ انجام آزمایش روزانه

برای هر سویه کنترلی با یک دیسک آنتی بیوتیکی باید ۲۰ روز متوالی آزمایش تعیین حساسیت انجام و نتایج با مقادیر قابل قبول اشاره شده در جداول فوق مقایسه گردد . بر اساس ضریب اطمینان ۹۵٪ تنها یک مورد از ۲۰ نتیجه قرائت شده می تواند خارج از محدوده کنترل باشد ( به ضمیمه ۲ مراجعه کنید) . چنانچه بیشتر از یک مورد خارج از محدوده کنترل باشد نیاز به اقدامات اصلاحی خواهد بود ، که در ادامه توضیح داده می شود.

ب \_ انجام آزمایش هفتگی

- در صورتیکه تنها یک مورد از ۲۰ نتیجه قطر هاله عدم رشد برای هر سویه کنترلی / دیسک آنتی بیوتیکی خارج از محدوده قابل قبول مندرج در جداول ۳ و ۳A (ضمیمه ۳) قرار گیرد ، کنترل کیفی روزانه را به هفتگی تغییر دهید( به ضمیمه ۲ مراجعه کنید) .



- آزمایش کنترل کیفی هفتگی را یکبار در هفته و هم چنین زمانیکه یکی از عوامل آزمایش (مانند سری ساخت آگار یا دیسکهای تهیه شده از یک سازنده) تغییر کند، انجام دهید .  
اگر هر یک از نتایج کنترل کیفی هفتگی خارج از محدوده قابل قبول باشد ، انجام اقدامات اصلاحی مورد نیاز است .

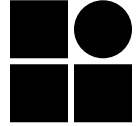
### اقدامات اصلاحی ( Corrective actions )

الف \_ نتایج خارج از محدوده قابل قبول به دلیل خطاهای مشهود و واضح شامل:

- استفاده از دیسک اشتباه
  - استفاده از سویه کنترلی اشتباه
  - آلودگی واضح سویه
  - استفاده غیر عمدی از دما و شرایط اشتباه انکوباسیون
- وجود آمده است . در این حال باید دلیل ایجاد خطا مکتوب و پس از اصلاح آزمایش دوباره تکرار شود .  
اگر نتایج گزارش شده در محدوده مورد نظر قرار گرفت ، عملیات اصلاحی بیشتری مورد نیاز نمی باشد .
- ب \_ عامل ایجاد نتایج خارج از محدوده کنترل نامشخص است. در این حال باید اقدامات اصلاحی فوری بشرح زیر انجام شود.
- آزمایش را جهت یک سویه کنترلی / دیسک آنتی بیوتیکی برای ۵ روز متوالی تکرار و همه نتایج را ثبت کنید .
  - اگر اندازه هر ۵ قطر هاله مطابق جداول ۳ و ۳A (ضمیمه ۳) و در محدوده قابل قبول باشد ، عملیات اصلاحی بیشتری مورد نیاز نمی باشد .
  - اگر اندازه هر یک از ۵ قطر هاله عدم رشد خارج از محدوده قابل قبول باشد ، به عملیات اصلاحی اضافی نیاز است .
  - آزمایشهای کنترلی روزانه باید ادامه داده شود تا به دلیل نهایی مشکل پی برده شود .

### عملیات اصلاحی اضافی :

- وقتی عملیات اصلاحی فوری مشکل را حل نکرد ، احتمالاً خطای مشاهده شده بعلت بروز یک اشکال کلی در سیستم و نه یک خطای تصادفی ایجاد شده است . در این حالت باید موارد بیشتری بررسی شوند.مانند:
- اندازه گیری و ثبت صحیح قطر هاله های عدم رشد



- رعایت تاریخ انقضا و شرایط نگهداری دیسکها و مواد مورد استفاده ( دور از رطوبت و در دمای مناسب)
- مناسب بودن دما و اتمسفر انکوباتور
- تغییر نیافتن یا آلوده نبودن سویه های کنترل
- مطابقت صحیح سوسپانسیون تلقیح با استاندارد نیم مک فارلند
- استفاده از پلیت کشت تازه برای تلقیح ( پلیت کشت باید تازه بوده و مدت زمان انکوباسیون آن بیشتر از ۲۴ ساعت ، نباشد.)

وقتی مشکل بر طرف شد ، می توان کنترل کیفی هفتگی را برقرار کرد.

### نگهداری دیسکهای آنتی بیوتیکی

- دیسکها باید در یخچال  $8^{\circ}\text{C}$  و پایین تر ، یا در فریزر  $14^{\circ}\text{C}$ - و پایین تر تا زمان مصرف نگهداری شوند.
- تمامی دیسکهای گروه بتالاکتام مانند پنی سیلین ، آمپی سیلین ، کربنی سیلین ، تیکارسیلین ، اگزاسیلین و نسل اول ، دوم و سوم سفالوسپورین ها و ... باید در فریزر نگهداری شوند ، و فقط می توان مقداری از آن را بر اساس کار روزانه آزمایشگاه حداکثر به مدت یک هفته در یخچال نگهداری نمود .
- بعضی آنتی بیوتیکهای حساس مثل ایمپینم ، سفاکلر و ترکیبات کلانولانیک اسید یا سولباکتام اگر تا هنگام مصرف در فریزر نگهداری شوند ، پایداری بیشتری خواهند داشت .
- دیسکها باید در ظروف دارای درپوش محکم و حاوی مواد جاذب رطوبت نگهداری شوند .
- دیسکهای آنتی بیوتیکی باید یک تا دو ساعت قبل از استفاده از یخچال یا فریزر خارج شوند تا به درجه حرارت اتاق برسند .