

	ERCİYES ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ	DOKÜMAN KODU:	
	TIBBİ MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI İŞLEYİŞ PROSEDÜRÜ	YAYIN TARİHİ:	AĞUSTOS 2023
		REVİZYON NO:	00
		REVİZYON TARİHİ:	00
		SAYFA NO:	1 / 3

1. AMAÇ: Erciyes Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında; uygun numuneden doğru ve güvenilir sonuç elde edilmesine yönelik gerekli koşulların oluşturulmasını ve preanalitik, analitik ve postanalitik süreçlerin kontrol altına alınmasını sağlamaktır.

2. KAPSAM: Bu prosedür Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarını kapsar.

3. KISALTMALAR: **ADT :** Antibiyotik Duyarlılık Testleri
BOS: Beyin Omurilik Sıvısı
EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
HBYS: Hastane Bilgi Yönetim Sistemi
LBYS: Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi
MALDI-TOF MS: Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspectrometry

4. TANIMLAR:

5. SORUMLULAR: Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Çalışanları.

6. FAALİYET AKIŞI:

Not:Faaliyet akışı tablo 1 de şematik olarak gösterilmiştir

6.1. Preanalitik Evre:

6.1.1. Preanalitik evre; test istemiyle başlar ve numunenin analiz öncesi süreci kapsar.

6.1.2. Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışılan testlerin listesi Hastane Bilgi Yönetim Sisteminde tanımlanmıştır. Hekim hasta muayenesi sonrasında; ön tanıyı doğrulama, tedavi ve takibi değerlendirmede laboratuvar testlerine ihtiyaç duyar ise istediği testleri Hastane Bilgi Yönetim Sisteminden hastanın adına kaydeder.

6.1.3. Hastanın klinik sürecinden sorumlu hekim, istem sırasında hastayla ilgili istenen bilgileri eksiksiz doldurmalıdır. Gerekli durumlarda, klinik yorumu etkileyecek hastaya özel bilgileri de sağlamalıdır.

6.1.4. Test isteminin yapılması, numunenin alınması, numunenin laboratuvara kabulü veya reddi HBYS üzerinde kayıt altına alınır ve yetkili kullanıcılar tarafından görülebilir.

6.1.5. İstenen testlerin girişi yapıldıktan sonra poliklinik hastaları numune vermek üzere “Örnek Alma Birimlerine” yönlendirilir. İstenen testlere uygun numune tüp ve kaplarına barkod yapıştırılarak hastaya verilir ve numune alımı sağlanır (**Örnek alma birimi işleyiş talimatı**).

6.1.6. Hastanın kendi numunesini alması gereken durumlarda hastaya doğru numune alımı ile ilgili yeterli bilgilendirme yapılır. Hastaya doğru numune alımı ile ilgili bilgilendirme, örnek alma birimi sekreterince anlatılır ve ilgili kuralları içeren formlar, örnek alma birimlerinde, hastaların görebileceği alanlara asılır.

6.1.7. Hastadan alınan numuneler “**Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı numune transfer talimatı**”na uygun olarak laboratuvar kabul birimine gönderilir.

6.1.8. Numune kabul birimine gelen numuneler (Pnömatik sistemle veya taşıma çantaları ile personeller tarafından getirilen numuneler), mikrobiyoloj laboratuvarı alt birimlerine göre (Bakteriyoloji, Seroloji 1 ve Seroloji 2) tasniflenir (**Merkezi laboratuvar numune kabul birimi pre-analitik tüp sorter cihazı talimatı**) ve **mikrobiyoloji laboratuvarı numune kabul birimi numune kabul prosedürüne** göre, numuneler kabul edilir.

6.1.9. Numune kabul sekreterinin kabul ettiği (Anlaşmalı laboratuvarlardan sevkle gelen ve pnömatik sistemle gönderilmesi uygun olmayan numuneler) ve pre-analitik tüp sorter cihazının kabul ettiği numuneler, numune transfer personeli (laboratuvar hizmetlisi) tarafından merkezi laboratuvar birimlerine transferi sağlanır.

6.1.10. Merkezi laboratuvar, bakteriyoloji ve seroloji birimlerinde görevli personel aracılığı ile laboratuvarlara gelen örneklerin Mikrobiyoloji Laboratuvarı Numune Kabul ve Red Kriterleri Talimatına ve Test rehberinde belirtilen kurallara uygun olarak LBYS üzerinden kabulleri yapılır.

6.1.11. Seroloji laboratuvarında çalışılacak testlerin türüne uygun olarak laboratuvarda bulunan santrifüjlere dengeli şekilde yerleştirilerek uygun 4000 rpm’de 10 dk süre santrifüjlenmeleri sağlanır.

6.1.12. Numuneler santrifüj cihazından çıktıktan sonra, serum/plazması görsel olarak aşırı hemolizli olan örnekler red edilir. Hemoliz ikter lipemi (HIL) indeksi ölçüldükten sonra da numuneler, araştırma

görevlileri/uzmanlar/laboratuvar teknisyenleri tarafından tekrardan değerlendirilir ve hemoliz derecesi ve hemoliz derecesinin o test bazında etkisine göre, ilgili test ya da numune red edilir. Diğer numune kabul-red kriterleri de, mikrobiyoloji laboratuvarı numune kabul ve red kriterleri talimatına göre değerlendirilir.

6.1.13. Laboratuvar teknisyenleri tarafından, LBYS'de bekleyenler sekmesi üzerinden, cihaza analiz edilmek üzere verilmemiş numuneler (kırmızı renk ile belirtilen) kontrol edilir. Pnömatik sistem, tüp sorter cihazı, santrifüjler ve laboratuvar içi detaylı bir şekilde araştırılır. Daha sonra, merkezi laboratuvar diğer alt birimleriyle iletişime geçilerek numunelerin nerede olduğu araştırılır. Araştırma sonucu bulunamayan numuneler kaybolan numune olarak kabul edilir ve LBYS üzerinden kayıt altına alınır. Numunenin geldiği bölüm/örnek alma birimleri ile iletişime geçilerek hastadan tekrar numune istenir.

6.2. Analitik Evre:

6.2.1. Seroloji Laboratuvarları Analitik evre; numunelerin cihazlara verilmesi ve analiz sürecini kapsar.

6.2.1.1. Rutin çalışmaya başlamadan önce cihazların temizliği, günlük bakımı yapılır.

6.2.1.2. Kullanılacak kit ve malzemelerin, hazırlığı, kit insertlerine göre yapılmalıdır. Saklama koşulları, miad ve uygunluk kontrolü, lot değişiklikleri, güvenli kullanım kuralları, cihaz üzerindeki stabilite süreleri çok dikkatli bir şekilde kontrol edilir.

6.2.1.3. Cihazların ölçüm performansının değerlendirilmesi amacıyla **iç kalite kontrol** çalışması yapılır (Mikrobiyoloji laboratuvarı iç ve dış kalite kontrol talimatına göre).

6.2.1.4. İç kalite kontrol çalışması aşağıda tanımlanan prosedüre göre gerçekleştirilir.

- Bu çalışma her gün, numuneler cihaza verilmeden önce iki seviye kontrolle yapılır.
- Elde edilen sonuçlar kabul edilebilir aralıkta değil ise sebebi araştırılır.

Kontrol Materyali:

- Aynı kontrolle ölçülen diğer testlerin sonuçlarında uygunsuzluk var mı?
- Kontroller sulandırıldıktan sonra uygun sürede analiz edildi mi?
- Kontrolde lot değişikliği var mı?

Kalibratör:

- Uygun şekilde sulandırıldı mı? (Liyofilize ise)
- Lot değişikliği var mı?

Kit:

- Cihaz üzerindeki stabilitesi geçmiş mi?
- Saklama koşulları uygun mu?

Cihaz:

- Günlük ve haftalık bakımları yapılıyor mu?
- Cihazda herhangi bir uyarı mesajı var mı?
- Prob tıkanıklığı var mı?
- Diğer

6.2.1.5. Kontrol materyali ile elde edilen test/testlere ait sonuçlar, olası nedenler gözden geçirilerek gereken müdahaleler yapılmasına rağmen kabul edilebilir değer aralığına gelmedi ise firma ile iletişime geçilerek teknik destek istenir.

- Kontrol sonuçları kabul edilebilir aralıkta ise rutin çalışmaya geçilir. Raklara yerleştirilen numuneler cihaza yüklenerek analiz gerçekleştirilir.

6.2.1.6. Cihazların bakımları, cihazdan sorumlu laboratuvar teknisyenleri ve gerekli durumlarda firma teknik bakım elemanı tarafından yapılır ve cihaz dosyasında kayıt altına alınır.

6.2.1.7. Laboratuvar testlerinin dış kalite değerlendirme süreçleri, Mikrobiyoloji laboratuvarı iç ve dış kalite kontrol talimatına göre yapılır.

6.2.1.8. Laboratuvarımızda bulunan her test cihazı için cihaz yönetim dosyası bulunur. Bu dosyadaki dökümanlar, düzenli olarak en az yılda bir kez gözden geçirilir.

6.2.1.9. Etüv, derin dondurucu, buzdolabı gibi cihazlara yönelik sıcaklık takibi düzenli yapılır ve kayıt altına alınır.

6.2.2. Bakteriyoloji Laboratuvarları Analitik evre; numunelerin kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin analiz sürecini kapsar.

6.2.2.1. Numune kabulleri yapılmış örneklerin kültür işlemleri, kültür türüne göre örneklerin farklı besiyerlerine ekim işlemi ile başlar. (numune türüne göre seçilecek besiyerleri ve ekim tekniği için **Mikrobiyoloji test rehberine** bakınız.) Ekim işlemleri yapılmadan besiyerleri oda sıcaklığına getirilmeli ve miad kontrolü yapılmalıdır. Kontamine olmuş, ambalajları zarar görmüş, ıslanmış veya miadi geçmiş besiyerleri ekim işlemlerinde kullanılmamalıdır. Ekim işlemi tamamlanan kültürler, süreleri kültür türüne göre değişmek üzere uygun ısı koşulları sağlanan etüvlerde inkübasyona bırakılır.

6.2.2.2. Direkt mikroskopik veya Gram boyalı mikroskopik inceleme için örnekler lamlara yayılır. Gram boyama işlemleri otomatik Gram boyama cihazlarında yapıldıktan sonra mikroskop altında 10 x, 40x ve 100x objektifler kullanılarak incelemeleri yapılır.

6.2.2.3. Kan kültür şişeleri içinde laboratuvara ulaşan numuneler (Kan, Periton,Plevra,BOS vb steril vücut sıvıları) otomatize kan kültür sistemine görevli teknisyen tarafından tanıtılarak (Cihaz 2 yönlü olarak LBYS sistemine bağlıdır) yerleştirilir. Rutin olarak kan kültürleri 5 gün boyunca bu sistem tarafından inkübe edilir (*Brucella spp.*,

Nocardia spp. vb zor üreyen özellikli mikroorganizmalar için inkübasyon süresi 14 güne kadar kullanıcı tarafından uzatılabilir). Cihaz 15 dk'lık periyotlar ile şişeleri okur ve üreme saptadığı şişeleri sesli ve görsel olarak kullanıcıya bildirir. Üreme saptanan şişeler teknisyen tarafından alınır ve uygun besiyerlerine ekim yapılarak uygun atmosferik koşullar ve ısı altında inkübasyona bırakılır. Aynı süreçte ilgili şişedeki örnekten Gram boyama yapılır ve saptanan mikroorganizmanın Gram boyama morfolojisi Panik Değer olarak LBYS sistemi üzerinden ilgili doktora bildirim yapılır (**bakınız Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Panik değer bildirim Talimatı**). Beş günlük inkübasyon sonucunda üreme saptanmayan şişeler cihaz tarafından şişeleri sesli ve görsel olarak kullanıcıya bildirilir.

6.2.2.4. Kültür türüne göre değişmekle birlikte (örn. Anerop kültürde en az 48 saat inkübasyon yapılır.) genellikle bir gecelik inkübasyon sonunda besiyerleri etüvlerden çıkarılır. Bakterioloji laboratuvarında görevli öğretim üyeleri, araştırma görevlileri, biyologlar ve teknisyenler tarafından bakteri üremeleri yönünde ulusal ve uluslararası rehberlerin standartlarına göre değerlendirilir.

6.2.2.5. Değerlendirme sonucunda anlamlı üreme saptanan örneklerin tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testlerinin (ADT) yapılması işlemine geçilir.

6.2.2.6. Bakterilerin tanımlama işlemlerinde bakteri türüne göre değişmekle birlikte MALDI-TOF MS, Yarı otomatize tanımlama sistemleri ve konvansiyonel yöntemlerden yararlanır.

6.2.2.7. Bakterilerin ADT işlemlerinin yapılmasında EUCAST standartları kullanılarak bakteri ve test edilecek antibiyotik türüne göre değişmekle birlikte yarı otomatize sistemler yada disk diffüzyon, sıvı veya agar dilüsyon , gradient strip test gibi manuel ADT yöntemlerinden yararlanır.

6.2.2.8. Laboratuvar testlerinin dış kalite değerlendirme süreçleri, Mikrobiyoloji laboratuvarı iç ve dış kalite kontrol talimatına göre yapılır.

6.2.2.9. Laboratuvarımızda bulunan her test cihazı için cihaz yönetim dosyası bulunur. Bu dosyadaki dökümanlar, düzenli olarak en az yılda birkez gözden geçirilir.

6.2.2.10. Etüv, derin dondurucu, buzdolabı gibi cihazlara yönelik sıcaklık takibi düzenli yapılır ve kayıt altına alınır.

6.3. Postanalitik Evre:

6.3.1. Postanalitik evre; analiz sonrası test sonuçlarının kontrolü, onaylama ve raporlanması sürecini kapsar.

6.3.2. Cihazlardan Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemine aktarılan sonuçlar; hastanın tanısı, varsa önceki sonuçları ve preanalitik faktörler dikkate alınarak değerlendirilir.

6.3.2.1. Bakterioloji laboratuvarında çalışılan ADT'lerin raporlanması sürecinde EUCAST standartlarından yararlanır.

6.3.2.2. ADT sonuçları klinisyenlere Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (TMC) Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) çalışma grubu tarafından yayımlanan kısıtlı bildirim tabloları ve EUCAST standartları kullanılarak Kısıtlı ve yorumlu olarak bildirilir.

6.3.3. Yaşamla bağdaşmayan ve uygun olmadığı düşünülen sonuçlarla karşılaşıldığında gerekirse test tekrarı yapılır, ilgili hekimle görüşülür ya da numune tekrarı istenir.

6.3.4. Panik değer bildirimleri, "**Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Panik değer bildirim Talimatı**" dikkate alınarak yapılır.

6.3.5. Test sonuç verme süreleri test rehberinde belirtilmiştir. Örnek alma birimi sekreterleri test sonuç verme süreleri ile ilgili gerekli bilgileri hastalara, yazılı ve sözlü olarak verir. Cihaz arızası ve otomasyon sorunları gibi nedenlerle test sonuç verme süresinin gecikeceği durumlarda, örnek alma birim sekreterliği, klinik ve poliklinik sekreterliği HBYS üzerinden bilgilendirilir.

6.4. Cihaz Arızaları:

6.4.1. Hastane demirbaşına kayıtlı cihaz arızaları için, laboratuvar sorumlu teknik personeli tarafından arıza sekretere bildirilir.

6.4.2. Hastane Bilgi Yönetim Sisteminde "İş İstek Formu" doldurularak cihazın özelliğine göre "Teknik Bakım ve Onarım Birimine" veya "Erciyes Üniversitesi Klinik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezine" (ERKAM) otomasyon üzerinden müracaatta bulunulur. İlgili birim ya da ilgili firma tarafından arızanın giderilmesi sağlanır.

6.4.3. Hastane demirbaşına kayıtlı olmayan, firmaya ait cihazların arızası durumunda, cihaz arıza bildirim formu düzenlenir.

6.5. Laboratuvar Güvenliği:

6.5.1. Laboratuvar işleyiş sürecinde gerekli güvenlik tedbirleri için "**Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Güvenlik Rehberine**" ve merkezi laboratuvar kazalarında (dökülme ve sıçramalarda) izlenecek yol talimatına göre hareket edilir. Laboratuvar süreçlerinde gerçekleşen hatalar ve ramak kala olaylar izlenir, analiz edilir, gerekli iyileştirmeler yapılır ve kayıt altına alınır.

6.6. Atık Yönetimi ve Laboratuvarın Temizliği:

6.6.1. Tüm materyaller ve kullanılan ek malzemeleri "Atık Yönetim Talimatına" göre imha edilir.

6.6.2. Laboratuvarın temizliği “Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Güvenlik Rehberine” göre yapılır.

6.7. Laboratuvarda Kullanılan Malzemelerin Muhafazası:

6.7.1. Laboratuvarda kit, kontrol, kalibratör, besiyeri ve numunelerin uygun sıcaklıkta muhafaza edilmesi için kalibre edilmiş termometreler ile buzdolabı ve ortam sıcaklığı kontrol edilir ve bunlar “Buzdolabı Sıcaklık Takip Formu”, “Oda Isı ve Nem Takip Formu” ve “Derin Dondurucu Sıcaklık Takip Formu” ile kayıt altına alınır.

6.8. Numunelerin Saklanması:

6.8.1. Seroloji laboratuvarında çalışılan (gaita hariç) serum numuneleri 24 saat saklanmaktadır (**Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı numune saklama koşulları talimatı**)

6.8.2. Seroloji laboratuvarında çalışılan mikro ELİZA testlerinden haftalık çalışılan (TORCH, Kızamık gibi) testler ve IFA testleri için gelen kan numunelerinin serum kısmı test çalışılıncaya kadar -20 derecede saklanmaktadır.

6.8.3. Bakteriyoloji Laboratuvarına gönderilen BOS, Plevra, Periton vb kıymetli steril vücut sıvıları ve doku örnekleri +4 derecede kültür sonucu çıkıncaya kadar saklanmaktadır.

6.8.4. Kan kültür sistemince pozitif sonuç saptanan kültür şişeleri 1 hafta boyunca oda sıcaklığında saklanmaktadır.

6.9 Uygunsuzlukların Tespiti ve Düzeltici / Önleyici Faaliyetlerin Planlanması:

6.9.1. Laboratuvar işleyişinde; preanalitik, analitik ve postanalitik evrede karşılaşılan uygunsuzluklarda “Düzeltici / Önleyici Faaliyet Formu” düzenlenir.

6.10. Eğitim Planı:

6.10.1. Tıpta uzmanlık sınavından gelen Araştırma görevlileri eğitim yılı boyunca verilen makale/seminer eğitimlerini hazırlarlar. Bu eğitimler Laboratuvar eğitim salonunda yapılır.

6.10.2. Teknisyen Eğitimi: Teknisyen eğitimi laboratuvarda bire bir veya grup olarak yapılır. Sorumlu öğretim üyesinin uygun göreceği süre ve sıklıktadır.

6.10.3. Yeni başlayan personel oryantasyon programına tabi tutulur.

7. İLGİLİ DÖKÜMANLAR:

7.1. İş İstek Formu

7.2. Buzdolabı Sıcaklık Takip Formu

7.3. Oda Isı ve Nem Takip Formu

7.4. Derin Dondurucu Sıcaklık Takip Formu

7.5. Düzeltici / Önleyici Faaliyet Formu

7.6. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Test Rehberi

7.7. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Güvenlik Rehberi

7.8. Yataklı Tedavi Kurumları İşletme Yönetmeliđi

7.9. Sağlıkta Kalite Standartları

7.10. Sağlıkta Kalitenin Geliştirilmesi ve Deđerlendirilmesine Dair Yönetmelik

7.11. Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı numune saklama koşulları talimatı

7.12. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Panik değer bildirim Talimatı

7.13. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı numune transfer talimatı

Tablo-1: Faaliyet akış şeması

