

بنام خدا

## چک لیست مربوط به دستورالعمل عملکرد مطلوب آزمایشگاهی در آزمایشگاه تشخیص ملکولی

| توضیحات | خیر | بله | 1- فرایند قبل از انجام آزمایش PCR   |
|---------|-----|-----|---|
|         |     |     | <p>1-1 اتاق مستقل برای آماده سازی نمونه و تخلیص مواد ژنتیکی جهت آزمایشات ملکولی وجود دارد</p> <p>آزمایشگاه تشخیص مولکولی، خصوصاً آزمایشگاههایی که در آنها PCR انجام می شود، به دلیل حساسیت ذاتی این قبیل فناوریها به فضا سازی و تدابیر ویژه برای جلوگیری از خطاهای احتمالی ناشی از وقوع انواع آلودگی ها نیاز دارند. مهمترین اقدام در زمینه فضا سازی اختصاص دادن اتاقی جداگانه برای آماده سازی نمونه ها قبل از استخراج اسید های نوکلئیک و انجام مراحل تخلیص و تهیه معرفهای واکنش از محل انجام آزمایشهای بعد از تکثیر اسید نوکلئیک است.</p> |
|         |     |     | <p>1-2 در داخل اتاق فضاء و وسایل اختصاصی مستقل برای آماده سازی و تخلیص مواد ژنومیک در مرحله قبل از PCR وجود دارد.</p> <p>از آنجا که از ابتدا دریافت نمونه، آماده سازی اولیه، استخراج اسید نوکلئیک، تهیه مخلوط واکنشی و افزودن مواد ژنتیکی حاصل از تخلیص به لوله آزمایش نیازمند مراحل گوناگونی میباشد توصیه میشود برای هر یک از مراحل ست کاری مستقل شامل اتاق کاری (WORK STATION) ، سمپلر های متغیر، سر سمپلر، لوله های آزمایش، دستکش های یکبار مصرف لاتکس فاقد پودر و لوله های آزمایش مناسب اختصاص داده شود.</p>                          |
|         |     |     | <p>1-3 اتاق فرایند های قبل از PCR مستقلاً واجد وسایل و تجهیزات ضروری می باشد.</p> <p>از آنجا که برای انجام استخراج نیاز به سمیکروسانتریفوژ، هیتینگ بلوک و ورتکس میباشد همچنین معرف ها و آنزیم های واکنش و نمونه های بیماران و مواد تخلیص شده در این محیط میباشد نگهداری شود، توصیه میشود کلیه این تجهیزات در این مکان موجود باشند تا از تردد های غیر ضروری اجتناب شده و گردش یکسویه کار حفظ شود.</p>  |
|         |     |     | <p>1-4 روپوش مستقل برای اتاق فرایند های قبل از PCR وجود دارد.</p> <p>جهت جلوگیری از انتقال آلودگی ، تدابیر پیشگیرانه متعددی می باید در نظر گرفته شود. علاوه بر رعایت گردش کاریک سوپه ، عدم انتقال مواد و تجهیزات از اتاق های دیگر ، عدم استفاده مشترک از ابزارها، اجتناب از رفت و آمد غیر ضروری و مکرر بین اتاقها ضروریست روپوش مخصوص برای هر اتاق تامین گردد و قبل از خروج تعویض گردد.</p>   |
|         |     |     | <p>1-5 فضای لازم برای چیدمان وسایل و تجهیزات وجود دارد.</p> <p>آرایش و ابعاد فضاهای اختصاص داده شده در هر دو شکل " ایده آل " و " حداقل " باید به لحاظ ارگونومیک، نور، دما و صدا شرایط مطلوب کار تکنولوژیست را فراهم نماید. فضای مناسب برای چیدن وسایل و تجهیزات می بایست در نظر گرفته شود. فضای مناسب برای نگهداری و انبار کردن برخی لوازم مصرفی باید پیش بینی گردد.</p>  |
|         |     |     | <p>1-6 سینک شستشو وجود دارد.</p> <p>توصیه می شود هر يك از فضا ها مجهز به سینک شستشو واجد فاضلاب مستقل باشد.</p>   |
|         |     |     | <p>1-7 دفع پسماند بر اساس دستورالعمل ایمنی صورت میگردد.</p> <p>امکانات و تدابیر دفع پسماندها و مواد مصرف شده در هر دو فضا باید به نحوی پیش بینی شود که احتمال انتشار عوامل بیماریزا موجود در نمونه بیمار به حداقل برسد.</p>   |

|      | بلي | خير | توضیحات  |
|------|-----|-----|--|
| 1-8  |     |     | <b>هود کلاس دو بیولوژیک وجود دارد</b><br>فضاها و امکانات اختصاص داده شده برای فرآیند تشخیص مولکولی باید با سطح ایمنی زیستی یا Biosafety Level مورد نیاز برای میکروارگانیسم های مورد جستجو تناسب داشته باشد.  |
| 1-9  |     |     | <b>سطح میز کار پس از اتمام هر مرحله از کار در فضاء در نظر گرفته شده آلودگی زدایی میگردد.</b><br>برای آلودگی زدایی سطوح در فضاهای اختصاص داده شده میتوان از محلول رقیق هیپوکلریت سدیم کمک گرفت. این روشها درعین ارزان بودن در صورت استفاده بجا و رعایت اصول ایمنی به اندازه کافی کارایی دارند.  |
| 1-10 |     |     | <b>لامپ UV به تعداد مناسب برای ازبین بردن آلودگی های احتمالی وجود دارد.</b><br>دستگاه تولید کننده اشعه ماورای بنفش در مراحل مختلف آزمایش مورد استفاده قرار میگیرد. لذا ضروریست زمان لازم استفاده شده، فاصله تنظیم شده مناسب باشد، و لامپ با طول موج مفید مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اطلاعات لازم برای ایمنی پرسنل و اجتناب از تاثیرات مخرب آن بر واکنش در دسترس باشد. لامپ UV میباید در فواصل زمانی منظم تمیز شده تا گرد و غبار های موجود بر سطح مشکلی برای اثر بخشی آن نداشته باشد. |
| 1-11 |     |     | <b>دستکش لاتکس فاقد پودر استفاده میشود.</b><br>پودر دستکشهای یکبار مصرف مهار کننده قوی آزمایشات PCR است.   |

| <b>2- فرایند پس از انجام آزمایش PCR</b> |     |     |   |
|---|-----|-----|---|
|   | بلي | خير | توضیحات   |
| 2-1                                     |     |     | <b>اتاق مستقل برای بخش فرایند پس از PCR وجود دارد.</b><br>با توجه به آزمایش محصول واکنش در این اتاق و احتمال انتشار آلودگی در نظر گرفتن اتاقی مستقل برای این فرایندها پس از واکنش PCR ضروری است   |
| 2-2                                     |     |     | <b>بخش مذکور کاملا از بخش فرایند قبل از PCR مستقل می باشد.</b><br>تفکیک کامل این دو بخش اعم از ارتباط از طریق کانال های تهویه، و یا ارتباط از طریق انتقال وسایل و روپوش نقش اساسی در کاهش آلودگی خواهد داشت.  |
| 2-3                                     |     |     | <b>فضای لازم برای چیدمان وسایل و تجهیزات وجود دارد.</b><br>آرایش و ابعاد فضاهای اختصاص داده شده در هر دو شکل "ایده آل" و " حداقل " باید به لحاظ ارگونومیک، نور، دما و صدا شرایط مطلوب کار تکنولوژیست را فراهم نماید. فضای مناسب برای چیدن وسایل و تجهیزات می بایست در نظر گرفته شود.  |
| 2-4                                     |     |     | <b>سینک شستشو وجود دارد.</b><br>توصیه می شود هر يك از فضا ها مجهز به سینک شستشو و اجد فاضلاب مستقل باشد   |
| 2-5                                     |     |     | <b>گردش یک سویه کار رعایت میگردد.</b><br>اجتناب از تردد های بی مورد در بین دو اتاق و رعایت گردش یکسویه از اتاق فرایند های مربوط به قبل از PCR به اتاق فرایند های پس از PCR نقش اساسی در کاهش آلودگی خواهد داشت.   |
| 2-6                                     |     |     | <b>لامپ UV به تعداد مناسب برای ازبین بردن آلودگی های احتمالی وجود دارد.</b><br>دستگاه تولید کننده اشعه ماورای بنفش در مراحل مختلف آزمایش مورد استفاده قرار میگیرد. لذا ضروریست زمان لازم استفاده شده، فاصله تنظیم شده مناسب باشد، و لامپ با طول موج مفید مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اطلاعات لازم برای ایمنی پرسنل و اجتناب از |

|                                       |  |   |
|---------------------------------------|--|---|
|                                       |  | تأثیرات مخرب آن بر واکنش در دسترس باشد. لامپ UV میباید در فواصل زمانی منظم تمیز شده تا گرد و غبار های موجود بر سطح مشکلی برای اثر بخشی آن نداشته باشد.  |
| 2-7                                   |  | <p><b>در صورت استفاده از ترانس ایلومیناتور تجهیزات حفاظتی مناسب در دسترس میباشد.</b></p> <p>توصیه می شود از وسایل مجهز به فیلتر های UV-B با محدوده ۳۰۰ تا ۳۱۲ نانومتر استفاده شود. استفاده از این وسیله در مواردی که از ژل الکتروفورز و رنگ آمیزی با رنگهای فلورسانس نظیر اتیدیوم بروماید برای UV transilluminator استفاده می شود، الزامی است.</p> <p>تجهیز آزمایشگاه به وسایل حفاظت در برابر اشعه UV در هر مکانی که از این اشعه استفاده می شود، خصوصاً به هنگام مشاهده نتایج بر روی UV transilluminator، الزامی است. تکنولوژیست می تواند از محافظ صورت یا عینک حفاظتی استفاده نماید. اطمینان از اثر حفاظتی این قبیل پوششها ضروری است. محافظهای UV همیشه بر چسبهای مخصوص را بر روی خود دارند. توصیه می شود این محافظ ها از منابع مطمئن تهیه شوند و اطلاع لازم در اختیار مصرف کننده قرار گیرد.</p> |
| <b>3- نگهداری نمونه ها و آنزیم ها</b> |  |   |
| 3-1                                   |  | <p><b>نمونه های اصلی و تخلیص شده در فریزر مناسب بطور جدا گانه نگهداری میگردد.</b></p> <p>برای نگهداری نمونه ها قبل و بعد از تخلیص، حداقل به یک فریزر 20- درجه سانتیگراد نیاز است. تعداد و حجم فریزر باید متناسب با حجم کار و طراحی فضای آزمایشگاه تشخیص مولکولی باشد.</p> <p>استفاده از قسمت یخدان یخچال به عنوان فریزر برای نگهداری غالب مواد و معرفها به هیچ عنوان مناسب نیست.</p> <p>با توجه به آنکه نمونه اصلی بیمار می باید برای آزمایش مورد نیاز در شرایط مناسب نگهداری شود و با در نظر گرفتن اینکه نگهداری مواد تخلیص شده در کنار نمونه های بیماران ممکن است سبب آلودگی این نمونه ها گردد اکیدا توصیه میگردد نمونه های بالینی از مواد تخلیص شده در طبقات جداگانه نگهداری شود.</p>  |
| 3-2                                   |  | <p><b>آنزیم ها و فرآورده های ملکولی مورد نیاز برای انجام آزمایش PCR در فریزر مناسب بطور جدا گانه نگهداری میگردد.</b></p> <p>کلیه مواد مورد نیاز برای انجام آزمایش PCR و تهیه مخلوط واکنشی می باید کاملاً جدا گانه از نمونه بیماران و مواد تخلیص شده نگهداری گردد.</p>   |
| 3-3                                   |  | <p><b>برودت فریزر بصورت مستمر چک میگردد.</b></p> <p>برای اجتناب از نوسانات دما ناشی از مراجعات مکرر به فریزر، فضای داخل آن برای نگهداری نمونه ها، مواد و معرفها بطور مجزا طبقه بندی شود.</p> <p>برودت فریزر می باید روزانه چک شده و در چارت مخصوص ثبت گردد.</p> <p>برای نگهداری RNA به مدت طولانی استفاده از فریزر 70- درجه سانتیگراد توصیه می شود. فریزر ضد برفک یا No frost برای نگهداری نمونه ها و معرف ها مناسب نیست.</p>   |
| 3-4                                   |  | <p><b>نمونه ها بصورت مناسب در فریزر با کد گذاری مطلوب قرار داده شده اند.</b></p> <p>استفاده از جعبه های مخصوص ذخیره میکروتیوب که یافتن و دسترسی به میکروتیوبها را تسهیل کند قویاً توصیه می شود.</p>   |
| 3-5                                   |  | <p><b>فریزر ها در خارج از بخش فرایند پس از PCR قرار دارند.</b></p> <p>فریزر مواد و نمونه ها ترجیحاً باید در فضای Pre-PCR باشد. در صورتیکه از فریزری در فضای دیگر نظیر فضای عمومی استفاده می شود باید برای اجتناب از آلودگی های احتمالی اصول مربوط به جداسازی و اقدامات پیشگیرانه رعایت گردد. از فریزر فضای Post-PCR به هیچ عنوان نباید برای نگهداری نمونه ها و مواد مربوط به فضای Pre-PCR استفاده نمود.</p>   |

| <b>4- مستندات</b>             |         |     |  |
|-------------------------------|---------|-----|--|
|                               |         |     | <p>مسئول فني بايد روش پذيرش، نحوه آماده سازي بيمار و نمونه گيري را به صورت دستورالعمل مکتوب و مدون تهيه و در آزمایشگاه نگهداري نمايد. در اين دستورالعمل بايد سياست آزمایشگاه در عدم پذيرش نمونه هاي نامناسب و نحوه مطلع کردن پزشک يا درخواست کننده آزمایش از نامناسب بودن نمونه به روشني قيد شده باشد. در دستورالعمل بايد روش مناسب نمونه گيري، ثبت مشخصات نمونه، بسته بندي، حمل نمونه، استفاده از نگهدارنده و آماده سازي قيد شده باشد. در صورتيکه امکان پذيرش نمونه از مراکز ديگر وجود داشته باشد (مثلاً در قالب قرارداد) آزمایشگاه ارائه دهنده موظف است به روشني روش تهيه و ارسال نمونه و رعايت شرايط لازم نظير زنجيره سرد را اعلام نمايد.</p> <p>همچنين مي بايد کليه پروتکل هاي کاري اعم از فرآيندهاي قبل از PCR و يا پس از آن به همراه کليه مستندات مربوط به نتايج هر نمونه در دسترس باشد.</p> |
| 4-1                           |         |     | دستورالعمل نحوه آماده سازي بيمار و نمونه گيري بصورت مکتوب وجود دارد.   |
| 4-2                           |         |     | معيار هاي عدم پذيرش نمونه مشخص مي باشد.  |
| 4-3                           |         |     | در صورت پذيرش نمونه از آزمایشگاههاي ديگر روش ارسال بصورت مکتوب وجود دارد.  |
| 4-4                           |         |     | اطلاعات مربوط به نمونه اعم از تاريخ و زمان دريافت و مشخصات بيمار وجود دارد   |
| 4-5                           |         |     | پروتکل آماده سازي نمونه ، تخليص مواد ژنوميک و انجام PCR بصورت مکتوب وجود دارد.   |
| 4-6                           |         |     | نحوه آلودگي زدائي ، امحاء و دفع نمونه ها بصورت مکتوب وجود دارد.  |
| 4-7                           |         |     | نتايج هر آزمایش بصورت مکتوب نگهداري ميگردد.  |
| 4-8                           |         |     | مستندات مربوط به کليه آزمایشات تا دو سال قبل وجود دارد.  |
| <b>5- کنترل کيفي آزمایشات</b> |         |     |  |
|                               | توضيحات | خبر | بلي  |
| 5-1                           |         |     | <p>روشهاي صحه گذاري براي پروتکل هاي تخليص مواد ژنوميک و انجام PCR اعم از کيت هاي آماده تجاري و يا خانگي وجود دارد.</p> <p>آزمایشگاه موظف است اعتبار تمام روشهاي مورد استفاده را چه مبتني بر استفاده از کيتهاي آماده تجاري بوده يا به اصطلاح خانگي (Home brew) باشند تعيين نمايد. اعتبار بخشي بايد مستند بوده و اسناد آن در صورت لزوم بطور کامل در دسترس باشد. اعتبار بخشي بطور معمول شامل مراحل اعتبار بخشي آناليتيکال و اعتبار بخشي باليني است. ويژگيهاي علمي هر روش تشخيصي مولکولي نظير حساسيت، ويژگي، دقت و صحت بايد بطور مستند تعيين شده و در دسترس باشد. هرگونه تغيير در نحوه استاندارد انجام آزمایش که به منظور سهولت يا بهبود روش اعمال مي شود بايد مستند بوده و ثبت گردد.</p>  |

|     |   |  |  |
|-----|---|--|--|
| 5-2 | مستندات مربوط به پروتکل های اجرایی وجود دارد.<br>ضرورت دستورالعمل اجرایی هر پروتکل کاری اعم از فرایندهای قبل از PCR و یا پس از آن بصورت کامل در آزمایشگاه موجود باشد.   |  |  |
| 5-3 | مستندات بهینه سازی های صورت گرفته بصورت مکتوب وجود دارد.<br>از آنجا که هر پروتکل ممکن است جهت برخورداری از بهترین راندمان در شرایط آزمایشگاه نیازمند بهینه سازی باشد ضروریست کلیه تغییرات داده شده در پروتکل کاری به همراه کلیه مستندات در دسترس باشد.  |  |  |
| 5-4 | کنترل کیفی در کلیه آزمایشات اعم از کنترل مثبت، کنترل منفی و کنترل داخلی وجود دارد.<br>سیاست، روشها و اقدامات کنترل کیفی آزمایشگاه باید بصورت مکتوب موجود باشد. به منظور کنترل کیفی باید در کلیه آزمایشها به همراه نمونه های بیماران از کنترلهای مناسب مثبت، منفی، کنترل حساسیت و کنترل مهار کننده و یا کنترل داخلی استفاده نمود. این کنترلها باید قابلیت و امکان کشف خطا در هر یک از مراحل متعدد آزمایش تشخیص مولکولی نظیر تخلیص اسیدهای نوکلئیک، PCR، یا آشکارسازی را فراهم سازد.<br>نتایج کنترل کیفی هر سری آزمایش که برای تشخیص بیماران انجام می شود باید در تفسیر نتایج همان آزمایش بکاربرده شود. در صورت مشاهده هر گونه خطا در آزمایش که به واسطه استفاده از کنترلهای مناسب آشکار می شود، نوع خطا و اقدام اصلاحی مربوطه به همراه نتیجه آن باید ثبت و گزارش شده و اسناد مربوطه برای مدت مشخصی در آزمایشگاه نگهداری شود. |  |  |
| 5-5 | کلیه دستگاهها بصورت مرتب مورد بررسی شده و مستندات مربوط به کنترل کیفی آنها وجود دارد.<br>دستورالعمل نحوه کنترل کیفی کلیه تجهیزات می باید در آزمایشگاه موجود باشد.   |  |  |
| 5-6 | کنترل کالیبراسیون ترموسایکلر وجود دارد.<br>نظر به اهمیت کنترل عملکرد دستگاه خصوصاً به لحاظ حرارتی باید تجهیزات و امکانات کنترل و کالیبراسیون ترموسایکلر در آزمایشگاه، شرکت تولید کننده یا وارد کننده و یا شرکت ارائه دهنده خدمات فنی پس از فروش موجود باشد. توجه به کنترل صحت و دقت تنظیم دما و یکنواختی آن در سرتاسر بلوک توصیه اکید می شود. گزارشهای مربوط به کنترل کالیبراسیون دوره ای الزامی است. بدیهی است که ترموسایکلر به لحاظ سخت افزاری و نرم افزاری باید قابلیت انجام پروتکل های مورد استفاده در آزمایشگاه را داشته باشد.   |  |  |
| 5-7 | دما و نوسانات هیتینگ بلوک توسط دما سنج خارجی کنترل میشود.<br>استفاده از این وسیله به جای حمام آب گرم توصیه می شود. نظر به حرارتی بودن وسیله به توصیه های مربوط به ترموسایکلر توجه شود. حتی در صورت مجهز بودن دستگاه به دماسنج، کنترل دما و نوسانات آن بوسیله یک دماسنج خارجی، مستقل و کالیبر شده توصیه می شود.  |  |  |
| 5-8 | صحت نتایج نمونه های آزمایش شده بصورت دوره ای با پروتکل دیگر مورد آزمایش قرار میگیرد.<br>یکی از اقدامات کنترل کیفی هر آزمایشگاه میتواند آزمایش دوره ای برخی از نمونه ها با سایر پروتکل های جقالب جایگزین اجرایی دیگر باشد.   |  |  |
| 42  | تکرار همزمان آزمایش یک نمونه می تواند موید صحت تکرار پذیری نتایج باشد.<br>انجام آزمایش همزمان برخی از نمونه میتواند موید صحت تکرار پذیری پروتکل اجرایی آزمایشگاه باشد.  |  |  |
| 43  | بصورت دوره ای برخی از نمونه ها جهت بررسی به آزمایشگاه همکار ارسال میگردد.<br>یکی از اقداماتی که انتظار میرود آزمایشگاهها بدان توجه داشته باشند تقسیم نمونه و ارسال آن به آزمایشگاه همکار جهت کنترل کیفی نتایج حاصله در آزمایشگاه باشد.  |  |  |

| <b>6- کارکنان</b> |   |  |  |
|-------------------|---|--|--|
| 6-1               | <p><b>پرسنل انجام دهنده آزمایشات دارای مدرک حداقل کاردانی در رشته مرتبط می باشند.</b></p> <p>کارکنان فنی شاغل در این بخش باید حداقل دارای مدرک کاردانی علوم آزمایشگاهی یا کارشناسی رشته های مرتبط بوده و موظف به فعالیت زیر نظر مسئول فنی آزمایشگاه می باشند.</p>   |  |  |
| 6-2               | <p><b>مسئول فنی دارای صلاحیت لازم برای انجام کار در حیطه آزمایشات مولکولی را دارا می باشد.</b></p> <p>از آنجا که روشهای مولکولی جزء فناوری های نوین است، مسئول فنی آزمایشگاه باید آگاهی کافی از اساس روشهای مولکولی، بهینه سازی، عیب یابی و رفع اشکال، نحوه اعتبار بخشی، اصول و روشهای کنترل کیفی مواد و ابزارها و استفاده از کنترلهای الزامی و تفسیر نتایج، اصول جداسازی فیزیکی، رفتار استاندارد و ایمنی در بخش تشخیص مولکولی را داشته باشد.</p> <p>آزمایشگاه می تواند برای افزایش بهره وری، توسعه و حل مشکلات فنی خود از وجود مشاوران فنی و بالینی در هر مرحله از کار استفاده نماید. استفاده از مشاورین در مسئولیتهای شخص مسئول فنی آزمایشگاه نسبت به گزارشها و نتایج بخش تشخیص مولکولی تغییری نمی دهد.</p> |  |  |