

بسمه تعالی

اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت

چک لیست آزمایشگاه های دارای بخش تشخیص مولکولی

نام آزمایشگاه:

تخصص آزمایشگاه بر مبنای پروانه تاسیس:

نشانی پستی:

استان: شهر/شهرستان:

خیابان: کوچه:

پلاک: کدپستی:

شماره تلفن (شامل پیش شماره):

شماره نمابر (شامل پیش شماره):

نشانی پست الکترونیک:

نام مسئول فنی:

تخصص مسئول فنی:

امضاء

تاریخ

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

۱- اصول کلی و مقررات ایمنی زیستی		بله	خیر	توضیحات
۱-۱	آیا دو فضای مجزا برای Pre-PCR و Post PCR وجود دارد؟			در عمل حداقل می باید دو فضا با نامهای Pre-PCR و Post-PCR برای کار اختصاص داده شود. در فضای Pre-PCR نگهداری و تخلیص نمونه و نیز نگهداری و تهیه مواد و معرفهای واکنش انجام می گیرد. معمولاً فضا یا اتاق Post-PCR صرفاً به مراحل تکثیر و پس از آن نظیر الکتروفورز و آشکارسازی اختصاص دارد
۱-۲	آیا گردش کار یک سویه رعایت می گردد؟			اجتناب از تردهای بی مورد در بین دو اتاق و رعایت گردش کار یک سویه از اتاق فرایند های مربوط به قبل از PCR به اتاق فرایند های پس از PCR نقش اساسی در کاهش آلودگی خواهد داشت.
۱-۳	آیا تمهیدات پیشگیرانه لازم جهت جلوگیری از انتقال آلودگی از فضای Pre-PCR به سایر فضاها در نظر گرفته شده است؟			جهت جلوگیری از انتقال آلودگی، باید تدابیر پیشگیرانه متعددی در نظر گرفته شود. علاوه بر رعایت گردش کار یک سویه، 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.
۱-۴	آیا سطح میز کار پس از اتمام هر مرحله از کار در فضای مورد نظر به روش مناسب آلودگی زدایی می گردد؟			برای آلودگی زدایی سطوح در فضاهای اختصاص داده شده می توان از محلول رقیق هیپوکلریت سدیم کمک گرفت. این روشها در عین ارزان بودن در صورت استفاده بجا و رعایت اصول ایمنی به اندازه کافی کارایی دارند.
۱-۵	آیا جهت آلودگی زدایی لامپ UV به تعداد مناسب وجود دارد؟			دستگاه تولید کننده اشعه ماورای بنفش در مراحل مختلف آزمایش مورد استفاده قرار میگیرد. لذا ضروریست زمان مورد استفاده و 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.
۱-۶	آیا لامپ UV به نحو صحیح نگهداری و کنترل میگردد؟			لامپ UV باید در فواصل زمانی منظم تمیز شده تا گرد و غبار موجود بر سطح، مشکلی بر اثر بخشی آن نداشته باشد.
۱-۷	آیا نحوه دفع پسماند ها منطبق با مندرجات موجود در دستورالعمل مدیریت پسماند است؟			امکانات و تدابیر دفع پسماندها و مواد مصرف شده در هر دو فضا باید به نحوی پیش بینی شود که احتمال انتشار عوامل بیماریزای موجود در نمونه بیمار به حداقل برسد.

۲- فرایند قبل از انجام آزمایش PCR		
۲-۱	آیا اتاق مستقل برای آماده سازی نمونه و تخلیص مواد ژنتیکی جهت آزمایشات ملکولی وجود دارد؟	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، جدا از محل انجام آزمایشهای بعد از تکثیر اسید نوکلئیک است.
۲-۲	آیا در اتاق اختصاص داده شده برای آماده سازی و تخلیص مواد ژنومیک در مرحله قبل از PCR، الزامات مربوط به جدا سازی فضای کاری در بخش های مختلف فرایند رعایت شده است؟	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.
۲-۳	آیا تجهیزات مستقل و مستقل با نحوه فعالیت در فضای فوق قرار دارد؟	از آنجا که برای انجام استخراج نیاز به میکروسانتریفوژ، هیتینگ بلوک و ورتکس میباشد، همچنین معرف ها و آنزیم های واکنش و نمونه های بیماران و مواد تخلیص شده باید در این محیط نگهداری شود، توصیه می شود کلیه این تجهیزات در این مکان موجود باشند تا از تردد غیر ضروری اجتناب شده و گردش کار یک سویه حفظ شود.
۲-۴	آیا چیدمان تجهیزات به نحو صحیح انجام گرفته است؟	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 باید در نظر گرفته شود. فضای مناسب برای نگهداری و انبار کردن برخی لوازم مصرفی باید پیش بینی گردد.
۲-۵	آیا هود بیولوژیک متناسب با سطح ایمنی زیستی عوامل پاتوژن مورد آزمایش وجود دارد؟	فضاها و امکانات اختصاص یافته برای فرایند تشخیص مولکولی باید با سطح ایمنی زیستی (Biosafety Level) مورد نیاز برای میکروارگانیسم های مورد جستجو تناسب داشته باشد.
۲-۶	آیا در هنگام انجام کار دستکش لاتکس فاقد پودر استفاده می شود؟	پودر دستکش های یکبار مصرف مهار کننده قوی آزمایشات PCR است.

۳- فرایند پس از انجام آزمایش PCR			
توضیحات	خیر	بلی	
			<p>۳-۱ آیا اتاق مستقل برای بخش فرایند پس از PCR وجود دارد؟</p> <p>با توجه به در این اتاق و احتمال انتشار آلودگی، در نظر گرفتن اتاقی مستقل برای این فرایندها پس از واکنش PCR ضروری است.</p>
			<p>۳-۲ آیا بخش مذکور کاملاً از بخش فرایند قبل از PCR مستقل می باشد؟</p> <p>تفکیک کامل این دو بخش اعم از قطع هرگونه ارتباط از طریق کانال های تهویه، و یا ارتباط از طریق انتقال وسایل و روپوش نقش اساسی در کاهش آلودگی خواهد داشت.</p>
			<p>۳-۳ آیا 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.</p>
			<p>۳-۴ آیا در صورت استفاده از ترانس ایلومیناتور، تجهیزات حفاظتی مناسب در دسترس می باشد؟</p> <p>توصیه می شود از وسایل مجهز به فیلترهای 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. 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 محافظ استفاده نماید. اطمینان از اثر حفاظتی این قبیل پوششها ضروری است. محافظ های UV همیشه برچسبهای مخصوص 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>
۴- نگهداری نمونه ها و آنزیم ها			
			<p>۴-۱ آیا حجم اختصاص داده شده متناسب با تعداد نمونه های اصلی و تخلیص شده می باشد؟</p> <p>برای نگهداری نمونه ها قبل و بعد از تخلیص، حداقل به یک فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نیاز است. تعداد و حجم فریزر باید متناسب با حجم کار و طراحی فضای آزمایشگاه تشخیص مولکولی باشد. استفاده از قسمت یخچال به عنوان فریزر برای نگهداری غالب مواد و معرفها به هیچ عنوان مناسب نیست.</p>
			<p>۴-۲ آیا نمونه ها و مواد تخلیص شده در فریزر مناسب بطور جداگانه نگهداری میگردد؟</p> <p>با توجه به آنکه نمونه اصلی بیمار 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، لذا توصیه اکید میگردد نمونه های بالینی از مواد تخلیص شده، در طبقات جداگانه نگهداری شود.</p>

۴-۳	آیا آنزیم ها و فراورده های ملکولی مورد نیاز برای انجام آزمایش PCR در فریزر بطور جدا گانه نگهداری می گردد؟	کلیه مواد مورد نیاز برای انجام آزمایش PCR و تهیه مخلوط واکنشی باید بطور کاملا جداگانه از نمونه بیماران و مواد تخلیص شده نگهداری گردد.
۴-۴	آیا برودت فریزر بصورت مستمر چک می گردد؟	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. برودت فریزر باید بطور روزانه چک شده و در چارت مخصوص ثبت گردد.
۴-۵	آیا نحوه نگهداری نمونه ها و مواد استخراج شده به گونه ای می باشد که بتوان به راحتی در موارد مورد لزوم بدان دسترسی یافت؟	استفاده از جعبه های مخصوص ذخیره میکروتیوب که دسترسی به میکروتیوبها را تسهیل کند قویا توصیه می شود.
۴-۶	آیا فریزرها در بخش Pre-PCR قرار دارند؟	فریزر مواد و نمونه ها ترجیحا 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.

۵- مستندات		
		مسئول فنی باید روش پذیرش، نحوه آماده سازی بیمار و نمونه گیری را به صورت دستورالعمل مکتوب و مدون تهیه و در آزمایشگاه نگهداری نماید. در این دستورالعمل باید سیاست آزمایشگاه در عدم پذیرش نمونه های نامناسب و نحوه مطلع کردن پزشک یا درخواست کننده آزمایش از نامناسب بودن نمونه به روشنی قید شده باشد. در دستورالعمل باید روش مناسب نمونه گیری، ثبت مشخصات نمونه، بسته بندی، حمل نمونه، استفاده از نگهدارنده و آماده سازی قید شده باشد. در صورتیکه امکان پذیرش نمونه از مراکز دیگر وجود داشته باشد (مثلا در قالب قرارداد) آزمایشگاه ارائه دهنده موظف است به روشنی روش تهیه و ارسال نمونه و رعایت شرایط لازم نظیر زنجیره سرد را اعلام نماید.
۵-۱	آیا دستورالعمل نحوه آماده سازی بیمار و نمونه گیری بصورت مکتوب وجود دارد؟	همچنین می باید کلیه پروتکل های کاری اعم از فرایندهای قبل از PCR و یا پس از آن به همراه کلیه مستندات مربوط به نتایج هر نمونه در دسترس باشد.
۵-۲	آیا معیار های عدم پذیرش نمونه مشخص می باشد؟	
۵-۳	آیا در صورت پذیرش نمونه از آزمایشگاههای دیگر روش ارسال بصورت مکتوب وجود دارد؟	
۵-۴	آیا اطلاعات مربوط به نمونه اعم از تاریخ و زمان دریافت و مشخصات بیمار در هنگام پذیرش ثبت میگردد؟	

۵-۵			آیا پروتکل آماده سازی نمونه، تخلیص مواد ژنومیک و انجام PCR بصورت مکتوب وجود دارد؟
۵-۶			آیا نحوه آلودگی زدایی، امحاء و دفع نمونه ها بصورت مکتوب وجود دارد؟
۵-۷			آیا نتایج هر آزمایش بصورت مکتوب نگهداری میگردد؟
۵-۸			آیا دستورالعمل مربوط به نتایج کلیه آزمایشات (اعم از روش های مبتنی بر الکتروفورز و یا غیر الکتروفورزی دو سال قبل وجود دارد ؟
۶- کنترل کیفی آزمایشات			
	توضیحات	بلی	خیر
۶-۱			<p>آیا روشهای صحه گذاری برای پروتکل های تخلیص مواد ژنومیک و انجام PCR اعم از کیت های آماده تجاری و یا خانگی وجود دارد؟</p> <p>آزمایشگاه موظف است اعتبار تمام روشهای مورد استفاده را چه مبتنی بر استفاده از کیتهای آماده تجاری بوده یا به اصطلاح خانگی (Home brew) باشند تعیین نماید. اعتبار بخشی باید مستند بوده و اسناد آن در صورت لزوم بطور کامل در دسترس باشد. اعتبار بخشی بطور معمول شامل مراحل اعتبار بخشی آنالیتیکال و اعتبار بخشی بالینی است. ویژگیهای علمی هر روش تشخیصی مولکولی نظیر حساسیت، ویژگی، دقت و صحت باید بطور مستند تعیین شده و در دسترس باشد. هرگونه تغییر در نحوه استاندارد انجام آزمایش که به منظور سهولت یا بهبود روش، اعمال می شود باید مستند بوده و ثبت گردد.</p>
۶-۲			<p>آیا مستندات مربوط به پروتکل های اجرایی وجود دارد؟</p> <p>ضرورت دستورالعمل اجرایی هر پروتکل کاری اعم از فرایندهای قبل از PCR و یا پس از آن باید بصورت کامل در آزمایشگاه موجود باشد.</p>
۶-۳			<p>آیا مستندات بهینه سازی صورت گرفته بصورت مکتوب وجود دارد؟</p> <p>از آنجا که هر پروتکل ممکن است جهت برخورداری از بهترین راندمان در شرایط آزمایشگاه نیازمند بهینه سازی باشد، ضروریست کلیه تغییرات انجام شده در پروتکل کاری به همراه کلیه مستندات در دسترس باشد.</p>
۶-۴			<p>آیا جهت اطمینان نسبت به صحت نتایج در هر نوبت آزمایش از کنترل مثبت، کنترل منفی و کنترل داخلی استفاده میشود؟</p> <p>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.</p> <p>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.</p>

۶-۵	آیا سوابق مربوط به کنترل و نگهداری تجهیزات حفظ میشود؟ دستور العمل نحوه کنترل کیفی کلیه تجیزات باید در آزمایشگاه موجود باشد.		
۶-۶	آیا صحت نتایج نمونه های آزمایش شده بصورت دوره ای، با روشهای دیگر مورد ارزیابی و تایید قرار میگیرد؟ یکی از اقدامات کنترل کیفی هر آزمایشگاه می تواند آزمایش دوره ای برخی از نمونه ها با سایر پروتکل های قابل جایگزین اجرایی دیگر باشد.		
۶-۷	آیا از روش مناسبی جهت تایید صحت تکرار پذیری نتایج استفاده می شود؟ انجام آزمایش همزمان برخی از نمونه ها می تواند مؤید صحت تکرار پذیری پروتکل اجرایی آزمایش باشد.		
۶-۸	آیا نمونه بصورت دوره ای جهت بررسی به آزمایشگاه همکار ارسال می گردد؟ یکی از اقداماتی که انتظار می رود آزمایشگاهها بدان توجه داشته باشند، تقسیم نمونه و ارسال آن به آزمایشگاه همکار جهت کنترل کیفی نتایج حاصله در آزمایشگاه می باشد.		

۷- کارکنان			
۷-۱	آیا پرسنل انجام دهنده آزمایشات حداقل دارای مدرک کاردانی در رشته مرتبط می باشند؟ 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.		
۷-۲	آیا مسئول فنی دارای صلاحیت لازم برای انجام کار در حیطه آزمایشات مولکولی می باشد؟ 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.		
۷-۳	آیا آزمایشگاه از مشاوران فنی استفاده می نماید؟ 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 تغییری در مسئولیتهای شخص مسئول فنی آزمایشگاه نسبت به گزارشها و نتایج بخش تشخیص مولکولی ایجاد نمی کند تغییری نمی دهد.		