



انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی - ایران
برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (EQAP)
دوره ششم مولکولی / ژنومی
همزمان با دوره سی و ششم (یعنوان نوبت اول عمومی در سال ۱۳۹۹)



زمان پاسخدهی فقط از طریق سایت ۹۹/۰۶/۲۴ تا ۹۹/۰۷/۰۶

همکار گرامی؛ در این نوبت تعداد **۵ نمونه** برای انجام آزمایش مولکولی **HBV-DNA** به آزمایشگاه شما ارسال شده است.

تذکره ۱: در این دوره، آزمایشهای فوق برنامه (HCV-RNA و CMV-DNA و EBV-DNA) مورد ارزیابی قرار نمی گیرد.

تذکره ۲: در این دوره، ارزیابی **"کیفیت عملیات ذخیره سازی"** در آزمایشگاهها بر روی نمونه های فریز شده و نگهداری شده از دوره های قبل بعمل نمی آید. معذک لطفا ویالهای اصلی حاوی تئمه نمونه مجهول و ویالهای حاوی عصاره ژنومی (پس از استخراج اسید نوکلئیک) را در دمای مناسب منجمد کنید تا بتوان از آنها در نوبتهای بعدی برای بررسی های پیش بینی شده دیگر استفاده نمود.

تذکره ۳: نیازی به پست کردن اوراق این دستورالعمل نیست و میتوانید آنرا در مستندات کاری آزمایشگاه بایگانی نمائید.

چک لیست انجام آزمایش و ثبت نتایج بخش مولکولی هپاتیت B (HBV q-PCR)		
انجام شد	مراحل کاری	
☐	مطالعه کامل تمام بخش های دستورالعمل، به ویژه بخش انجام آزمایش (بخش ب) و بخش گزارش دهی (بخش ج)	۱
☐	تکمیل جدول HBV کمی (q-PCR) مندرج در صفحه ۳ این دستورالعمل	۲
☐	انجام آزمایش های لازم روی تمام ۵ نمونه (با هر شماره کدی)	۳
☐	ثبت نتایج حاصله در جداول پنجگانه (مندرج در صفحه ۵) با بذل توجه در وارد کردن دقیق کدها در چهارخانه های مربوطه	۴
☐	مراجعه به سایت برنامه و درج تمام موارد کتبی شده در نرم افزار آنلاین	۵
☐	چاپ گزارش نهایی هر ۵ نمونه (در سربرگ آزمایشگاه با مهر و امضاء) و ارسال پستی آن اوراق به دفتر برنامه ایکواپ	۶

آدرس دفتر: تهران-خیابان فاطمی- میدان گلها- خیابان هشت بهشت- کوچه اردشیر- پلاک ۲۹ کدپستی: ۱۴۱۴۷۳۴۷۱۱



انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی - ایران
برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (EQAP)
دوره ششم مولکولی / ژنومی
همزمان با دوره سی و ششم (بعنوان نوبت اول عمومی در سال ۱۳۹۹)



«دستورالعمل کار روی نمونه مجهول ارزیابی مولکولی (PCR) برای آزمایش HBV»

نمونه های ارسالی برای ارزیابی تستهای تکثیر اسید نوکلئیک (N.A.T) در لوله های استریل فاقد قطعات ژنومی ناخواسته و فاقد نوکلئاز (RNase-free, DNase-free) و در پوشش دولایه پلاستیکی پرس شده (double heat- sealed nylon foil) ارائه گردیده است. لطفاً از نظر نشتی احتمالی کنترل نمایید و در صورت هر گونه ایراد، به دفتر انجمن اطلاع دهید.
لطفاً نظرات مثبت و منفی خود را در مورد **ششمین** دوره ارزیابی آزمایشهای مولکولی با تکمیل فرم نظرسنجی یا از طریق سایت برنامه و یا شماره تماس (۸۸۹۷۰۷۰۰ داخلی ۱) در میان بگذارید.

روش کار:

الف) آماده سازی / نگهداری / پایداری:

- در این دوره محتویات یک بسته شامل ۵ ویال بصورت مایع آماده در حجم بین ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ میکرولیتر در اختیار شما قرار گرفته است و لذا نیازمند هیچگونه افزودنی و عملیات بازسازی (reconstitution) نمی باشد.
- **تذکره یک** - ماده مجهول ارسالی در برنامه های کیفیت سنجی این دوره، عموماً از نمونه بالینی پایدار شده (سرم یا پلاسما - بعضاً آغشته به عصاره لکوسیتی یا CSF یا مایع کشت ویروس) و تا حد امکان گندزدائی (Inactive) شده فراهم آمده است ولی علیرغم همه اقدامات بی خطر سازی، باید **با رعایت کلیه احتیاطات لازم (Universal Precautions)**، با آن همچون یک نمونه بیولوژیک بالقوه بیماریزا کار شود.
- **تذکره دو** - نمونه های این دوره قابل نگهداری در یخچال و دردمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد هستند و پس از باز شدن لوله ها و به شرط نگهداری دردمای مذکور، دست کم به مدت حدود ۲ هفته (حداقل ۱۵ روز با احتساب ۲ روز پس از بسته بندی) قابل استفاده است. قبل از آغاز به کار، محتویات ویال ها را به خوبی مخلوط کنید و سپس سانتریفیوژ نمایید (simple shake, pulse-spin). از انجماد و ذوب مکرر نمونه ها بپرهیزید و در صورت نیاز، مقسومی از هر نمونه (aliquote) تهیه نمایید و به فریزر با دمای مناسب منتقل کنید.
- در صورت بروز هر گونه علائم واضح دال بر خرابی احتمالی و آلودگی، نمونه ارسالی قابل استفاده نیست و لازم است مراتب به همراه مستندات مربوطه فوراً به «دفتر برنامه ارزیابی خارجی کیفیت» گزارش شود.

ب) انجام آزمایش:

- لازم است آزمایش HBV- DNA را در اسرع وقت با یک روش رایج در آزمایشگاه خود (و نه الزاماً طبق تمام روشهای موجود در جداول صفحات بعدی) از مرحله استخراج (Genomic Extraction) تا مرحله صدور پاسخ (Reporting) در یک محیط مناسب روش های مولکولی (PCR clean environment) و مطابق درخواست انجام دهید.
- برای پرهیز از دیگر تاثیرات محیطی، لطفاً ویال نمونه در معرض آفتاب یا نور UV بطور طولانی مدت قرار نگیرد. توجه داشته باشید که بعضی لامپهای مهتابی، کم مصرف یا جیوه ای موجود در آزمایشگاه - بویژه اگر خوب کار نکنند و خراب شده باشند - میتوانند از خود تابش فرابنفش ساطع کنند و اثر نامطلوبی - ولو اندک - علی الخصوص بر روی نمونه های حساس ایجاد نمایند.

باقیمانده ی نمونه ها را بلافاصله پس از اتمام کار، بمنظور بررسی های بعدی در فریزر نگهداری کنید (در دمای حداقل 20°- و کمتر؛ حتی ترجیحاً در 70°-) و تا روشن شدن نتایج نهایی و حتی حین دوره بعدی، حداقل تا یکسال در حالت یخ زده از آنها مراقبت نمایید. از این عملیات بمنظور «ارزیابی کیفیت ذخیره سازی» در آزمایشگاههای مولکولی شما استفاده می شود.

آدرس دفتر: تهران - خیابان فاطمی - میدان گلها - خیابان هشت بهشت - کوچه اردشیر - پلاک ۲۹ کدپستی: ۱۴۱۴۷۳۴۷۱۱

صفحه (۲ از ۵)

سایت انجمن: www.iaclld.com سایت برنامه: eqap.iaclld.com

تلفن: ۸۸۹۷۰۷۰۰ - ۸۸۹۷۹۲۶۳



انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی - ایران
برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (EQAP)
دوره ششم مولکولی / ژنومی
همزمان با دوره سی و ششم (یعنوان نوبت اول عمومی در سال ۱۳۹۹)



جدول ثبت اطلاعات پایه در مورد آزمایشهای مولکولی HBV q-PCR برای پنج (۵) نمونه مجهول ارسالی.

نام آزمایشگاه: _____ کد شناسائی آزمایشگاه: EQAP -

حجم نهایی ماده مستخرجه (output) بر حسب میکرولیتر: -----	حجم اولیه نمونه مجهول (input) بر حسب میکرولیتر: -----	☐ روش پیشنهادی در آزمایشگاه (Laboratory - developed) به کمک معرفهای داخل آزمایشگاهی (Home-brew) در صورت امکان پروتکل یا مرجع مربوطه را تعیین نمایید: -----					
		Lot No:		شرکت نمایندگی در ایران	شرکت سازنده کیت	نام کیت استخراج	☐ با استفاده از کیت تجاری
		سال خرید	سال ساخت	شرکت نمایندگی در ایران	شرکت سازنده ابزار	نام ابزار استخراج و مدل آن (یا شماره سریال)	☐ دستگاهی (روش اتوماتیک) ☐ کارتریجی ☐ تراشه ای
		☐ روش پیشنهادی آزمایشگاه (Laboratory - developed) ؛ در صورت امکان پروتکل یا مرجع مربوطه را تعیین نمایید: -----					
سال خرید دستگاه	سال تولید دستگاه	مدل یا مارک	نام دستگاه ترموسایکلر	نام کشور سازنده کیت به همراه شماره سریال:	نام روش یا نام کیت HBV	☐ با استفاده از کیت تکثیر ☐ با استفاده از کارتریج یا تراشه	(الف) شیوه استخراج (Extraction) و تاریخ انجام آن: ۱۳۹۹ / -- / --
							(ب) شیوه تکثیر و شمارش (Amplification & Quantitation) و تاریخ انجام آن: ۱۳۹۹ / -- / --

HBV-DNA به روش کمی (Quantitative)

آدرس دفتر: تهران-خیابان فاطمی- میدان گلها- خیابان هشت بهشت- کوچه اردشیر- پلاک ۲۹ کدپستی: ۱۴۱۴۷۳۴۷۱۱



انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی - ایران
برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (EQAP)
دوره ششم مولکولی / ژنومی
همزمان با دوره سی و ششم (بعنوان نوبت اول عمومی در سال ۱۳۹۹)



ج) گزارش دهی نتایج:

• در این دوره مجموعاً ۵ نتیجه آزمایش طی مهلت تعیین شده گزارش می شود به این صورت که:

لازم است برای تمامی ۵ ویال ارسال شده، بر طبق قالب کدهای مندرج در جداول پنجگانه صفحه ۵، آزمایش کمی (HBV q-PCR) انجام پذیرد.

• در پایان کار، لطفاً گزارش های بدست آمده را به ۲ صورت ذیل اعلام نمائید:

ج-۱) **نتیجه آزمایش ها** را در مکان های مناسب در جداول صفحه ۵ درج نمائید. جهت ثبت **اطلاعات پایه آزمایشها**، جدول صفحه ۳ را تکمیل نمائید. نهایتاً همه موارد را در سایت برنامه وارد کنید.

همچنین تاکید میگردد اگر چند روش آزمایشی مختلف را در آزمایشگاه خود انجام داده و مایلید به منظور مقایسه عملکرد آنها، نتیجه همه انواع را بصورت کتبی در جدول گزارش نمائید، ابتدا از جدول های مد نظر خود به تعداد مورد نیاز کپی تهیه کرده و مکان های مربوطه را پر کنید اما منحصرأ یکی از آن روشها را بعنوان روش ارجح خود (بمنظور آنالیز نهایی داده ها) انتخاب نموده و به ما اعلام نمائید. یادآور میشود که در پایان مرحله ی ثبت نتایج بر روی فرم های کاغذی، محتویات آنها را در نرم افزار مبتنی بر شبکه (با رجوع به نشانی تارنمای انجمن دکترای علوم آزمایشگاهی طبق آدرس ذیل ورقه) وارد نمائید و نیازی به ارسال پستی برگه های این کتابچه نمیباشد

ج-۲) همچنین الزاماً بایستی نتیجه آزمایشهای **HBV q-PCR** را به مثابه یک بیمار، در سیستم پذیرش و جوابدهی آزمایشگاه خود (یا آزمایشگاه ارجاع پذیر طرف قرارداد خود) وارد نمائید (با درج کد نمونه به عوض **نام بیمار** و با نوشتن "دوره ششم EQAP" بجای **نام پزشک**) و پس از چاپ و امضای برگه های آزمایش توسط مسئول فنی، آنها را به دفتر برنامه ارزیابی کیفیت خارجی پست نمائید.

اوراق این دستورالعمل را میتوانید نزد خود نگه دارید. در برنامه های مهارت سنجی همواره توصیه میشود یک نسخه اضافه از فرمهای تکمیل شده و جدولهای اصلی را جهت پیگیریهای بعدی کپی نموده و بایگانی فرمائید.

توجه :

دست کم یک ماه پس از اتمام دوره، فرمی برایتان ارسال خواهد شد که درباره روش مورد استفاده در آزمایشگاه شما سوالات کوتاه و ساده ای را مطرح میکند و بخشی از برنامه EQAP محسوب میشود. همچنین ممکن است این بخش از برنامه بطور تصادفی برای چند آزمایشگاه بصورت تلفنی انجام پذیرد. خواهشمند است به دقت به آنها پاسخ دهید. این پرسشها عموماً درباره حد حساسیت روش، محدوده خطی بودن؛ استفاده از انواع کنترل داخلی، مرحله افزودن کنترل به فرآیند آزمایش، نوع کنترل (تکثیری و غیرتکثیری)، نوع نمونه های شایع مورد آزمایش؛ انواع ژنوتیپهای قابل تشخیص با روش مورد استفاده؛ بیشترین و کمترین شماره چرخه ظهور (Ct) یا آستانه مثبت شدن، نیمرخ منحنی و سوالات معمولی دیگری می باشند که به سادگی می شود با استناد به SOP یا از بروشورهای مورد استفاده، یا از گزارش روزانه دستگاه ها و ... استخراج نمود.

آدرس دفتر: تهران-خیابان فاطمی- میدان گلها- خیابان هشت بهشت- کوچه اردشیر- پلاک ۲۹ کدپستی: ۱۴۱۴۷۳۴۷۱۱

صفحه (۴ از ۵)

سایت انجمن: www.iaclld.com سایت برنامه: eqap.iaclld.com

تلفن: ۸۸۹۷۹۲۶۳-۸۸۹۷۰۷۰۰



برگه ثبت نتایج HBV-DNA

انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی - ایران
برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (EQAP)
دوره ششم مولکولی / ژنومی
همزمان با دوره سی و ششم (بعنوان نوبت اول عمومی در سال ۱۳۹۹)



توجه: ثبت چند رقم باقیمانده از کد نمونه در کادرهای مربوطه، الزامی است.

نتیجه آزمایش های مولکولی HBV کمی	نتیجه آزمایش های مولکولی HBV کمی	نتیجه آزمایش های مولکولی HBV کمی	نتیجه آزمایش های مولکولی HBV کمی	نتیجه آزمایش های مولکولی HBV کمی
NAT.1- 09 9936- 	NAT.1- 09 9936- 	NAT.1- 09 9936- 	NAT.1- 09 9936- 	NAT.1- 69 9936-
تذکر: الزاما تمام نقطه چین ها تکمیل شود:	تذکر: الزاما تمام نقطه چین ها تکمیل شود:	تذکر: الزاما تمام نقطه چین ها تکمیل شود:	تذکر: الزاما تمام نقطه چین ها تکمیل شود:	تذکر: الزاما تمام نقطه چین ها تکمیل شود:
Ct:-----	Ct:-----	Ct:-----	Ct:-----	Ct:-----
Result (as Standard Viral load):	Result (as Standard Viral load):	Result (as Standard Viral load):	Result (as Standard Viral load):	Result (as Standard Viral load):
----- IU/ μ L	----- IU/ μ L	----- IU/ μ L	----- IU/ μ L	----- IU/ μ L
----- IU/mL	----- IU/mL	----- IU/mL	----- IU/mL	----- IU/mL
----- log ₁₀ IU/mL	----- log ₁₀ IU/mL	----- log ₁₀ IU/mL	----- log ₁₀ IU/mL	----- log ₁₀ IU/mL
Result (as Copy Number):	Result (as Copy Number):	Result (as Copy Number):	Result (as Copy Number):	Result (as Copy Number):
----- # / mL	----- # / mL	----- # / mL	----- # / mL	----- # / mL
----- log ₁₀ copies/mL	----- log ₁₀ copies/mL	----- log ₁₀ copies/mL	----- log ₁₀ copies/mL	----- log ₁₀ copies/mL

آدرس دفتر: تهران-خیابان فاطمی- میدان گلها- خیابان هشت بهشت- کوچه اردشیر- پلاک ۲۹ کدپستی: ۱۴۱۴۷۳۴۷۱۱