



زمان پاسخ‌دهی فقط از طریق اینترنت ۱۴۰۰/۱۲/۲۸ تا ۱۴۰۰/۱۲/۱۷

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

**تذکر<sup>۱</sup>:** در این دوره نیز، آزمایش‌های فوق برنامه (نظیر **CMV-DNA** و **HCV-RNA** و **EBV-DNA**) مورد ارزیابی قرار نمی‌گیرد.

**تذکر<sup>۲</sup>:** همچنین در این دوره، ارزیابی **"کیفیت عملیات ذخیره سازی"** در آزمایشگاهها بر روی نمونه‌های فریزشده و نگهداری شده از دوره‌های قبل بعمل نمی‌آید. معذلک لطفاً ویلهای اصلی حاوی نمونه مجھول و ویلهای حاوی عصاره ژنومی (پس از استخراج اسیدنوکلئیک) را در دمای مناسب منجمد کنید تا بتوان از آنها در نوبتها بعدی برای بررسی‌های پیش‌بینی شده دیگر استفاده نمود.

**تذکر<sup>۳</sup>:** 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 ب (HBV q-PCR)

انجام شد	مراحل کاری
<input type="checkbox"/>	۱ مطالعه کامل تمام بخش‌های دستورالعمل، به ویژه بخش <b>انجام آزمایش</b> (بخش ب در صفحه ۲) و بخش <b>گزارش دهی</b> (بخش ج در صفحه ۴)
<input type="checkbox"/>	۲ تکمیل جدول ثبت اطلاعات پایه مربوط به آزمایش HBV کمی (q-PCR) مندرج در صفحه ۳ این دستورالعمل
<input type="checkbox"/>	۳ انجام آزمایش‌های لازم روی تمام ۵ نمونه (با هر شماره کدی)
<input type="checkbox"/>	۴ ثبت نتایج حاصله در جداول پنجه‌گانه (مندرج در صفحه ۵) با بذل توجه در وارد کردن دقیق بخش باقیمانده از کدها در خانه‌های مربوطه
<input type="checkbox"/>	۵ مراجعه به سایت برنامه و درج و انتقال تمام موارد کتبی شده از روی این مجموعه به نرم افزار آنلاین
<input type="checkbox"/>	۶ چاپ گزارش نهایی هر هفت نمونه (در سربرگ آزمایشگاه با مهر و امضاء مسئول فنی) و ارسال پستی آن اوراق به دفتر برنامه ایکوپ
<input type="checkbox"/>	۷ بایگانی این دستورالعمل هفت صفحه‌ای در مجموعه مستندات آزمایشگاه



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

نمونه های ارسالی برای ارزیابی تستهای تکثیری 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 نمائید و در صورت هر گونه ایجاد، بلافضله به دفتر انجمن اطلاع دهید.  
لطفاً نظرات مثبت و منفی خود را در مورد نهمین دوره ارزیابی آزمایشگاهی 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 محتويات یک بسته شامل ۵ ویال بصورت مایع آماده در حجم تقریبی بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ میکرولیتر در اختیار شما قرار گرفته است ولذا نیازمند هیچگونه افزودنی و عملیات بازسازی (reconstitution) نمی باشد. توجه داشته باشید که به منظور بازداشت برخی از آزمایشگاهها از تکرار بی مورد آزمایش روی نمونه های مجھول (و شبیه تر کردن هر چه بیشتر عملیات مهارت سنجی حاضر با عملیات واقعی در آزمایشگاهها)، حجم نمونه های ارسالی در این دوره به حداقل ممکن کاهش یافته است. بعلاوه از طریق این چالش قصد داریم ترفندهای معمولی در هنگام قلت حجم را نیز توسط همکاران آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار دهیم.

- تذکریک**- ماده مجھول ارسالی در برنامه های کیفیت سنجی این دوره، عموماً از نمونه بالینی پایدارشده (از سرم یا پلاسمـا - بعضـاً آغـشـتـهـ بـهـ عـصـارـهـیـ لـکـوـسـیـتـیـ یـاـ اـزـ مـایـعـ کـشـتـ وـیـرـوـسـ) و تـاـ حـدـامـکـانـ گـنـدـزـدـائـیـ شـدـهـ فـراـهـ آـمـدـهـ استـ وـلـیـ عـلـیـغـمـ هـمـهـ اـقـدـامـاتـ بـیـ خـطـرـسـازـیـ،ـ بـایـدـ باـ رـاعـیـتـ کـلـیـهـ اـحـتـیـاطـاتـ لـازـمـ (Universal Precautions) (Inactive).
- تذکردو-** نمونه های این دوره قابل نگهداری در بیخچال 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 حداقل ۲ هفته (حدود ۱۵ روز با احتساب ۲ روز اضافه پس از بسته بندی اولیه) قابل استفاده است. قبل از آغاز به کار، محتويات ویال ها را به خوبی مخلوط کنید و سپس سانتریفیوژ نمائید (simple shake, pulse-spin). از انجماد و ذوب مکرر نمونه ها بپرهیزید و درصورت نیاز، مقوسومی از هر نمونه (aliquote) تمیه نمایید و به فریزر با دمای مناسب منتقل کنید.
- درصورت بروز هر گونه علائم واضح دال برخوابی 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 دهیم.

- 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 بتویزه 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.

با قیماندهی نمونه ها را بلافضله پس از اتمام کار، بمنظور بررسی های بعدی در فریزر نگهداری کنید (در دمای حداقل ۲۰- و کمتر؛ حتی ترجیحاً در ۷۰- و تا روشن شدن نتایج نهایی و حتی حین دوره های بعدی، حداقل تا یکسال در حالت یخ زده از آنها مراقبت نمائید. از این عملیات بمنظور «ارزیابی کیفیت ذخیره سازی» در آزمایشگاههای مولکولی شما استفاده می شود.



## جدول ثبت اطلاعات پایه در مورد آزمایش‌های مولکولی HBV برای پنج (۵) نمونه مجھول ارسالی.

EQAP -

□	□	□	□	□
---	---	---	---	---

کد شناسائی آزمایشگاه:

نام آزمایشگاه:

نام آزمایشگاه نام اولیه نمونه مجھول (input) بر حسب میکروپرینتر:	<input type="checkbox"/> روش پیشنهادی در آزمایشگاه (Laboratory - developed) به کمک معرفهای داخل آزمایشگاهی (Home-brew) در صورت امکان پروتکل یا مرجع مربوطه را تعیین نمائید:					الف) شیوه استخراج (Extraction) و تاریخ انجام آن: ۱۴۰۰ / - - / - -
	Lot No:	شرکت نمایندگی در ایران	شرکت سازنده کیت	نام کیت استخراج	با استفاده از کیت تجاری	
سال خرید دستگاه	سال ساخت دستگاه	شرکت نمایندگی در ایران	شرکت سازنده ابزار	نام ابزار استخراج و مدل آن (یا شماره سریال):	دستگاهی (روش اتوماتیک) <input type="checkbox"/> کارتريجي <input type="checkbox"/> تراشه اي	
<input type="checkbox"/> روش پیشنهادی آزمایشگاه (Laboratory - developed) ؛ در صورت امکان پروتکل یا مرجع مربوطه را تعیین نمائید:					ب) شیوه تکثیر و شمارش (Amplification & Quantitation) و تاریخ انجام آن: ۱۴۰۰ / - - / - -	
سال خرید دستگاه	سال تولید دستگاه	مدل يا مارک	نام دستگاه ترموسایکلر	نام کشور سازنده کیت به همراه شماره سریال:	نام روش يا نام کیت HBV <input type="checkbox"/> با استفاده از کیت تکثیر <input type="checkbox"/> با استفاده از کارتريجي يا تراشه	



#### ج) گزارش دهی نتایج:

- در این دوره **مجموعاً ۵ نتیجه آزمایش طی مهلت تعیین شده گزارش می‌شود** به این صورت که:

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

- در پایان کار، لطفاً گزارش‌های بدست آمده را به ۲ صورت ذیل اعلام نمایید:

ج-۱) **نتیجه آزمایش‌ها را در مکان‌های مناسب در جداول صفحه ۵ درج نمایید.** جهت ثبت **اطلاعات پایه آزمایشها**، جدول صفحه ۳ را تکمیل نمایید. 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، نتیجه‌ی همه انواع را بصورت کتبی در جدول گزارش نمایید، ابتدا از جدولهای مد نظر خود به تعداد مورد نیاز کپی تهیه کرده و مکان‌های مربوطه را پر کنید اما منحصراً یکی از آن روشها را عنوان روش ارجح خود (بمنظور آنالیز نهایی داده‌ها) انتخاب نموده و به ما اعلام نمایید. تاکید می‌شود که در پایان مرحله‌ی ثبت نتایج بر روی فرم‌های کاغذی، لازم است محتویات آنها را در نرم افزار مبتنی بر شبکه (با رجوع به نشانی تارنمای انجمن دکترای علوم آزمایشگاهی طبق آدرس ذیل همین ورقه) وارد نمایید و **نیازی به ارسال پستی برگه‌های 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 نمایید (با درج کد نمونه به عوض **نام بیمار** و با نوشتن "دوره نهم EQAP" بجای **نام پزشک**) و پس از چاپ و امضای برگه‌های آزمایش توسط مسئول فنی، آنها را به دفتر برنامه ارزیابی کیفیت خارجی پست نمایید.

اوراق این دستورالعمل را میتوانید نزد خود نگه دارید. در برنامه‌های مهارت سنجی همواره توصیه می‌شود یک نسخه اضافه از فرم‌های تکمیل شده و جدولهای اصلی را جهت قیاس نتایج و پیغیریهای بعدی کپی نموده و باگانی فرمائید.

#### توجه:

ممکن است دست کم یک ماه پس از اتمام دوره، فرمی برایتان ارسال شود که درباره روش مورد استفاده در آزمایشگاه شما سوالات کوتاه و ساده‌ای را مطرح می‌کند و بخشی از برنامه EQAP محسوب می‌گردد. همچنین امکان دارد این بخش از برنامه بطور تصادفی برای چند آزمایشگاه به شکل تلفنی انجام پذیرد. خواهشمند است به دقت به آنها پاسخ دهید. این پرسش‌ها عموماً درباره: حد حساسیت روش؛ محدوده خطی بودن آن؛ استفاده از انواع کنترل داخلی؛ مرحله افزودن کنترل به فرآیند آزمایش؛ نوع کنترل مصرفی (تکثیری و غیرتکثیری)؛ نوع نمونه‌های 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 می‌باشند و البته به سادگی می‌شود پاسخ انها را با استناد به SOP یا از بروشورهای مورد استفاده، یا از گزارش روزانه دستگاه‌ها و ... استخراج نمود.



برگه ثبت نتایج HBV-DNA

انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی - ایران  
 برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (EQAP)  
 دوره نهم مولکولی / زنومی  
 همزمان با دوره چهل و پنجم (یعنیان نوبت سوم عمومی در سال ۱۴۰۰)



**توجه:** کدهای مربوط به برچسب نمونه ها، نیمه تکمیل هستند. ثبت چند رقم باقیمانده در کادرهای مربوطه، الزامی است.

| نتیجه آزمایش های مولکولی<br>كمی HBV  |
|--|--|--|--|--|
| NAT.1-09 0041-<br><br><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | NAT.1-09 0041-<br><br><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | NAT.1-09 0041-<br><br><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | NAT.1-09 0041-<br><br><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> | NAT.1-09 0041-<br><br><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> |
| تذکر: الزاما تمام نقطه چین ها<br>تکمیل شود:<br>Ct:-----  |
| <b>Result<br/>(as Standard Viral load):</b><br><br>----- IU/ $\mu$ L<br><br>----- IU/mL<br><br>----- $\log_{10}$ IU/mL         | <b>Result<br/>(as Standard Viral load):</b><br><br>----- IU/ $\mu$ L<br><br>----- IU/mL<br><br>----- $\log_{10}$ IU/mL         | <b>Result<br/>(as Standard Viral load):</b><br><br>----- IU/ $\mu$ L<br><br>----- IU/mL<br><br>----- $\log_{10}$ IU/mL         | <b>Result<br/>(as Standard Viral load):</b><br><br>----- IU/ $\mu$ L<br><br>----- IU/mL<br><br>----- $\log_{10}$ IU/mL         | <b>Result<br/>(as Standard Viral load):</b><br><br>----- IU/ $\mu$ L<br><br>----- IU/mL<br><br>----- $\log_{10}$ IU/mL         |
| <b>Result<br/>(as Copy Number):</b><br><br>----- # / mL<br><br>----- $\log_{10}$ copies/mL                                     | <b>Result<br/>(as Copy Number):</b><br><br>----- # / mL<br><br>----- $\log_{10}$ copies/mL                                     | <b>Result<br/>(as Copy Number):</b><br><br>----- # / mL<br><br>----- $\log_{10}$ copies/mL                                     | <b>Result<br/>(as Copy Number):</b><br><br>----- # / mL<br><br>----- $\log_{10}$ copies/mL                                     | <b>Result<br/>(as Copy Number):</b><br><br>----- # / mL<br><br>----- $\log_{10}$ copies/mL                                     |

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

صفحه ۵ از ۷

تلفن: ۸۸۹۷۰۷۰۰-۸۸۹۷۹۲۶۳ سایت انجمن: [www.iacld.com](http://www.iacld.com) سایت برنامه: [eqap.iacld.com](http://eqap.iacld.com)



## پرسشنامه اختصاصی نمونه های مولکولی:

انتقادات و پیشنهادها و شکایات خود را درباره برنامه فعلی (نوبت نهم) EQuAP مولکولی (اعم از اظهارنظر در مورد کیفیت نمونه ها، فرمهای جوابدهی، شیوه آنالیز و غیره) ذیلأً بطور کوتاه اعلام بفرمائید:

- ۱- آیا آزمایشگاه شما میتواند بمنظور انجام بهتر موازین کنترل کیفیت در سطح کشور و توسعه ارزیابی های کیفیتی، به برنامه EQAP مولکولی باری رساند؟  بلی  خیر
- اگر بلی در چه زمینه هایی مایل به همکاری هستید؟  در این زمینه میتوانید مستقیماً با آقای دکتر محمد مهدی محمدی مدیر بخش تستهای مولکولی **برنامه ارزیابی خارجی کیفیت نیز تماس بگیرید.**
- ۲- آیا در حال حاضر تستهای مولکولی دیگری مرتبط با HBV انجام میدهید؟  بلی  خیر  اگر بلی؛ نام ببرید.
- ۳- آیا در آزمایشگاه شما انواع تست های مرتبط با HCV-PCR انجام می شود؟  اگر بلی؛ لطفاً نام ببرید.
- ۴- به غیر از برنامه فعلی EQAP که بصورت HBV-PCR (کمی و گاهی کیفی) و HCV-PCR (کمی و گاهی کیفی و ژنتیک) و TB (کیفی و نیمه کمی) ارائه شده است، انجام چه تستهایی را دربخش مولکولی برحسب تنوع نیازهای پزشکان و آمار درخواستها (یا بدلیل خلاهای نظارتی و حتی بمنظور بهبود کیفیت کار آزمایشگاهها و رفع نارضایتی بیماران و پزشکان) در برنامه های آتی ما مناسب یا ضروری میدانید؟
- ۵- آیا در سایر برنامه های ارزیابی کیفیت مولکولی برای هپاتیت ب و ث (مثلاً برنامه های خارج از کشور) عضویت دارد؟  بلی  خیر  اگر بلی؛ نام ببرید.
- ۶- آیا در آزمایشگاه شما - چنانچه ضرورت ایجاب نماید - برای حصول اطمینان از همخوانی جواب آزمایش های زنومی بیمار، تست های ایمونوسرولوژی مرتبط (همچون anti-HCV و HIV و غیره) عنوان آزمایش پشتیبان (Supportive Test) مورد استفاده است؟  بلی  خیر  لطفاً بطور خلاصه توضیح دهید:
- ۷- در آزمایشگاه شما چند نفر از پرسنل به کار انجام آزمایشگاهی مولکولی عفونی مرتبط با HBV-DNA و HCV-RNA و EBV-DNA و CMV-DNA مشغول هستند؟ ..... نفر
- ۸- آیا پرسنل انجام دهنده این آزمایش، دارای تست منفی الایزا (برای HBV-DNA و یا HCV-RNA) هستند؟! یا اساساً برای این منظور بررسی بعمل نیامده است؟  بلی  خیر
- ۹- آیا پرسنل انجام دهنده این آزمایش، دارای تست منفی PCR (برای HBV-DNA و یا HCV-RNA) هستند؟! یا اساساً برای این منظور بررسی بعمل نیامده است؟  بلی  خیر
- ۱۰- به نظر شما انجام تستهای الایزا (موضوع بند شماره ۷) و تستهای PCR (موضوع بند شماره ۸) بطور دوره ای برای پرسنل بخش مولکولی و ثبت آنها در پرونده شغلی ضروری دارد؟
- ۱۱- آیا در آزمایشگاه شما از digital PCR استفاده میشود؟  بلی  خیر  اگر بلی؛ لطفاً در مورد مارک مورد استفاده و مزایای آن توضیح کوتاهی ارائه دهید:



- ۱۲- آیا فریزرهای موجود در بخش مولکولی آزمایشگاه شما مختص همان بخش هستند یا به طور مشترک با دیگر بخش‌ها مورد استفاده می‌باشند؟  بله  خیر
- ثانیاً نحوه کنترل کیفیت دمای آنها در چه فاصله زمانی انجام می‌شود و به چه وسیله‌ای؟ \_\_\_\_\_
- ثالثاً آیا این فریزرهای از نوع بدون برداشت (No Frost) می‌باشند؟ \_\_\_\_\_ چرا؟ \_\_\_\_\_

**سوال علمی دوره نهم:**

طبق دستورالعمل‌های موجود (و یا طبق منابع معتبر و استانداردهای رایج)، لطفاً بنویسید:

- (الف) نمونه مولکولی (مثل سرم، پلاسمایا خون تام برای آزمایش PCR) را چه مدت پس از انجام تست و تحويل جواب باید در آزمایشگاه نگهداری کرد؟ \_\_\_\_\_
- (ب) شرایط فیزیکی نگهداری آن نمونه چگونه است؟ \_\_\_\_\_
- (ج) جواب حاصل از آن آزمایش را تا چه مدت باید در سوابق نگهداری کرد؟ \_\_\_\_\_
- (د) از چه مرجع و منبعی برای پاسخ به سوالات فوق بهره برده اید؟ \_\_\_\_\_

**تذکر:** اگر در دوره‌های قبل به سوالهای مطرحه پاسخ نداده اید یا احتمال میدهید که بتوانید پاسخ‌های بهتری ارائه دهید، میتوانید ذیلاً به آن سوالات نیز جواب دهید:

.....

.....

(در صورتیکه به صورت مستله دوره‌های قبل دسترسی ندارید، با دفتر برنامه ایکوآپ تماس بگیرید).

**همکار گرامی:**

چنانچه آزمایشگاه شما بدليل کمبود کیت یا دیگر محدودیتها، به روشهای ساده‌تر یا غیر خودکار روی آورده است، لطفاً از همانها استفاده کنید و نتایج حاصله را گزارش نمایید تا بتوانیم ارزیابی بهتری از وضع موجود در آزمایشگاه‌های کشور بدست آوریم. متاسفانه اینگونه رایج است که برخی از آزمایشگاهها صرفاً برای انجام نمونه‌های ایکوآپ (چه در حوزه مولکولی یا غیر آن)، سنگ تمام میگذارند و انحصاراً از پیشرفت‌های ترین شیوه‌های موجود در آزمایشگاه و یا از سیستمهای بسته برای این منظور کمک می‌گیرند (و نه بطور روشن برای نمونه‌های بیمارانشان) که متاسفانه ارزشیابی درستی از وضعیت واقعی کار آزمایشگاهها بدست نمیدهد. متنمی است برای سنجش و پایش هرچه بهتر نتایج و وضعیت گزارش دهی این تستها در کشور، به دفتر برنامه ایکوآپ یاری رسانید.