



مجموعه استانداردهای طراحی و تاسیس آزمایشگاه تشخیص مولکولی

(با رویکرد انجام کوید ۱۹)

آزمایشگاه تشخیص مولکولی

دانش تشخیص مولکولی با آنالیز ویژگی های بیولوژیکی در ژن ها و پروتئین ها ی مربوطه در جهت تشخیص و بررسی بیماری ها به کار گرفته می شود یکی از این روش ها (PCR) polymerized Chain Reaction است آزمایشگاه تشخیص مولکولی به ویژه آزمایشگاه هایی که در آنها PCR انجام می شود به دلیل حساسیت ذاتی این قبیل فناوری ها نیاز به فضا سازی و تدابیر ویژه ای برای جلوگیری از خطاهای احتمالی ناشی از وقوع انواع آلودگی ها دارند. مهمترین اقدام در زمینه فضا سازی، جدا کردن محل انجام مراحل تخلیص اسیدهای نوکلئیک و تهیه معرف های واکنش (Pre PCR) از محل انجام تکثیر و آزمایش های بعد از تکثیر اسید نوکلئیک (Post PCR) است. در طرح ایده آل ۳ فضای اصلی به ترتیب زیر برای مراحل مختلف توصیه شده است:

- ۱- فضای نگهداری نمونه ها و تخلیص اسید نوکلئیک
 - ۲- فضای نگهداری و تهیه مواد و معرف های واکنش و افزودن اسید نوکلئیک به معرف های واکنش
 - ۳- فضای تکثیر، مراحل پس از تکثیر مثل الکتروفورز، آشکار سازی و مستند سازی
- در عمل غالباً به دلیل کمبود فضا و به دلیل اجتناب از هزینه برای تجهیز اتاق ها به بعضی از امکانات و وسائل ضروری نظیر PCR Work Station، میکروسانتریفیوژ و ... حداقل دو فضا با نام های Pre PCR و Post PCR برای کار اختصاص داده می شود. در فضای Pre PCR نگهداری و تخلیص نمونه و نیز نگهداری و تهیه مواد و معرف های واکنش انجام می گیرد. در فضای Post PCR فضای تکثیر و مراحل پس از تکثیر مثل الکتروفورز آشکار سازی و مستند سازی انجام می گیرد.

• اکیداً توصیه می شود نه تنها فضای Pre PCR و Post PCR تا حد امکان دور از یکدیگر قرار گیرند، بلکه به لحاظ ارتباط از راه کانال های هواساز و فاضلاب کاملاً از یکدیگر مستقل باشند.

• لازم است از فضاهای Pre PCR و Post PCR فقط برای کارهای مربوط به این دو فضا استفاده شود و به هیچ عنوان در آنها اقدامی که با فرایند ها و الزامات پیشگیرانه تداخل دارد انجام نشود.

• توصیه می شود هر یک از فضاها مجهز به سینک و فاضلاب مستقل باشد.

سطح زیستی آزمایشگاه های مرجع تشخیص قطعی کرونا ویروس جدید در حال حاضر ترجیحاً سطح ایمنی زیستی ۲+ است و تاکید بر استفاده از پوشش ها و وسائل حفاظت فردی متناسب مد نظر قرار گیرد.

جهت جلوگیری از آلودگی در آزمایشگاه تشخیص مولکولی و تاثیر آن بر روی نتایج مثبت کاذب، می بایست تدابیر پیشگیرانه شامل گردش کار یک سویه، عدم انتقال مواد و تجهیزات از اتاق Post PCR به اتاق Pre PCR، عدم استفاده مشترک از ابزارها، اجتناب از جا به جایی و رفت و آمد غیرضروری و مکرر بین اتاق ها و تامین روپوش مخصوص برای هر اتاق ضروری است. تامین فشار مثبت برای Pre PCR (ایجاد جریان هوای جهت دار به سمت داخل با توجه به پیش نویس ایمنی و امنیت زیستی آزمایشگاهی و بیماران مشکوک به کرونا ویروس جدید آزمایشگاه مرجع در آزمایشگاههای تشخیص مولکولی کوید ۱۹، انجام شود) و فشار منفی برای Post PCR، استفاده از Air Lock Door، استفاده از پاپوش و سرپوش و حتی تقسیم کار بین تکنولوژیست های مختلف

توفیق آزمایشگاه را در پیشگیری از انتشار آلودگی افزایش می دهد. در فضای قبل از ورود به این دو اتاق یک فضای مشترک (پیش ورودی) باید در نظر گرفته شود در این فضا باید روشویی و امکان تعویض لباس و روکفشی یا دمپایی در نظر گرفته شود.

اتاق نمونه گیری

پس از پذیرش مراجعه کنندگان برای آزمایش مولکولی کوید ۱۹ فرایند نمونه گیری صورت می گیرد که بیماران به فضاهایی که به این منظور در آزمایشگاه در نظر گرفته شده است. هدایت می شوند اهم فرایندهایی که در این اتاق صورت می گیرد شامل موارد زیر است :

- ارائه آموزش های اولیه و راهنمایی بیمار
- نمونه گیری
- دفع وسایل استفاده شده برای نمونه گیری
- برچسب گذاری نمونه
- فرستادن نمونه به قسمت دریافت کننده نمونه

اتاق نمونه گیری باید در مجاورت اتاق جمع آوری، آماده سازی و توزیع نمونه ها قرار داشته باشد. این فضا باید در مجاورت فضای انتظار و با امکان دسترسی آسان برای بیماران در نظر گرفته شود.

| الزامات فضای بخش نمونه گیری | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------|
| نوع نیازمندی | موارد مورد نیاز بخش | |
| الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | کف |
| الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | |
| الزامی | تعبیه کف شوی | |
| الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | سقف |
| الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | دیوار |
| الزامی | مقاوم در برابر خش و سایش | |
| الزامی | مقاوم در برابر آتش سوزی | |

| الزامات تجهیزات و اقلام مصرفی بخش نمونه گیری | | |
|--|---|---|
| ردیف | وسیله / دستگاه | توضیحات |
| ۱ | صندلی نمونه گیری | |
| ۲ | آویز لباس | |
| ۳ | سطل زباله عفونی | سایز متوسط درب دار ، پدالی ، مقاوم به رطوبت |
| ۴ | روشویی | دارای شیر مخلوط و آب سرد و گرم |
| ۵ | ظرف صابون مایع و محلول ضد عفونی کننده | |
| ۶ | یخچال نگهداری محیط کشت انتقال دهنده ویروس | |
| ۷ | تابوره نمونه گیری | |
| ۸ | قمسه نگهداری ظروف و لوازم نمونه گیری | |
| ۹ | هواکش مناسب با تخلیه ۱۰ بار هوا در ساعت | |
| ۱۰ | لامپ VU نوع C | |
| ۱۱ | ملزومات ایمنی | گان ، دستکش ، ماسک معمولی و ۵۹N |
| ۱۲ | اقلام مصرفی مورد نیاز | سواپ داکرون ، محیط انتقال نمونه (MTV) ، ظرف مخصوص انتقال نمونه همراه kcap ecl |

اتاق پیش ورودی

| الزامات فضای بخش پیش ورودی | | |
|----------------------------|---|-------|
| نوع نیازمندی | موارد مورد نیاز بخش | |
| الزامی | مقاوم در برابر آب | کف |
| الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | |
| الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | |
| الزامی | تعبيه کف شوی | |
| الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | سقف |
| الزامی | مقاومت در برابر اسید و باز و مواد شیمیایی | دیوار |
| الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | |
| الزامی | مقاوم در برابر خش و سایش | |
| الزامی | مقاوم در برابر آب | |
| الزامی | مقاوم در برابر آتش سوزی | |
| الزامی | دارای حداقل درز در بین قطعات | |
| الزامی | قابل شستشو و تمیز کردن | |
| الزامی | عدم ایجاد سطح افقی وسیع | |
| الزامی | حداقل جذب گرد و غبار و سهولت در شستشو | |

| الزامات تجهیزات بخش پیش ورودی | | |
|-------------------------------|---------------------------------|---|
| ردیف | وسیله / دستگاه | توضیحات |
| ۱ | کف شوی | |
| ۲ | سینک سرامیکی آزمایشگاهی | دارای شیر مخلوط و آب سرد و گرم |
| ۳ | ظرف مایع ضد عفونی کننده | |
| ۴ | ظرف مایع صابون | |
| ۵ | سطح بزرگ عفونی | سایز متوسط درب دار، پدالی، مقاوم به رطوبت |
| ۶ | تrolley درب دار زباله غیر عفونی | |
| ۷ | قفسه نگهداری ملزومات ایمنی | دستکش فاقد پودر، گان سرتاسری، عینک یا محافظ صورت، پاپوش و ماسک معمولی و N95 |

اتاق استخراج اسید نوکلئیک

| الزامات فضای بخش استخراج اسید نوکلئیک (Pre PCR) | | | |
|---|---------------------|--|--|
| نوع نیازمندی | موارد مورد نیاز بخش | | |
| درب | الزامی | مقاومت در برابر اسید و باز و مواد شیمیایی | |
| | الزامی | صاف و فاقد برآمدگی و فرورفتگی باشد | |
| | الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | |
| | الزامی | مقاوم در برابر خش و سایش | |
| | الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | |
| | الزامی | دارای حداقل درز در بین قطعات | |
| | الزامی | خود بسته شونده باشد | |
| | الزامی | باز شو به سمت داخل و یا کشویی باشد | |
| | الزامی | فاقد دستگیره و Air Lock دار باشد | |
| | الزامی | درزبندی شده باشد | |
| پنجره | الزامی | ثابت باشد | |
| | الزامی | قابل ضد عفونی کردن باشد | |
| | الزامی | مقاومت در برابر اسید و باز و مواد شیمیایی | |
| کف | الزامی | غیر لغزنده باشد | |
| | الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | |
| | الزامی | مقاوم در برابر خش و سایش | |
| | الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | |
| | الزامی | دارای حداقل درز در بین قطعات | |
| | الزامی | مقاوم در برابر آتش (جداره خارجی) | |
| سقف | الزامی | تعبیه لامپ UV متناسب با ابعاد بخش | |
| | الزامی | مقاومت در برابر اسید و باز و مواد شیمیایی | |
| دیوار | الزامی | مقاومت در برابر رطوبت و مواد شوینده | |
| | الزامی | مقاوم در برابر خش و سایش | |
| | الزامی | مقاوم در برابر آتش سوزی | |
| | الزامی | دارای حداقل درز در بین قطعات | |
| | الزامی | قابل شستشو و تمیز کردن | |
| | الزامی | عدم ایجاد سطوح افقی وسیع | |
| | الزامی | حداقل جذب گرد و غبار و سهولت در شستشو | |
| | الزامی | میزهای ثابت با ساختار فولادی، چوبی، پلاستیکی لمینت شده | |
| | میزبندی | الزامی | داشتن خاصیت تحمل بار و ضربه، مقاومت در برابر گرما، اسید و قلیا، حلال های آلی و رنگ آمیزی |
| | | الزامی | |

| الزامات تجهیزات و اقلام مصرفی بخش استخراج اسید نوکلئیک (Pre PCR) | | |
|---|--|----|
| توضیحات | وسیله / دستگاه | |
| | میزبندی زمینی و دیواری | ۱ |
| | فریزر ۸۰-درجه آزمایشگاهی یا فریزر ۲۰-درجه | ۲ |
| | یخچال آزمایشگاهی | ۳ |
| هود کلاس ۲ | هود لامینار | ۴ |
| اختیاری می باشد | دستگاه استخراج اتوماتیک اسید نوکلئیک | ۵ |
| | میکروسانتریفیوژ | ۶ |
| | Micro spin & Vortex | ۷ |
| | هیتر بلاک | ۸ |
| | سمپلرهای با حجم قابل تنظیم و ترجیحا قابل اتوکلاو | ۹ |
| | تابوره | ۱۰ |
| | کابینت مخصوص پردازش اولیه نمونه ها (قبل از غیر فعال سازی) | ۱۱ |
| تامین فشار منفی (جریان هوای یک طرفه به داخل آزمایشگاه) | هواکش مناسب با تخلیه ۶ بار هوا در ساعت | ۱۲ |
| | تامین فیلتر HEPA برای هوای خروجی بخش | ۱۳ |
| | لامپ UV نوع C | ۱۴ |
| | Safety box | ۱۵ |
| سایز متوسط درب دار، پدالی، مقاوم به رطوبت | سطل دفع پسماند عفونی | ۱۶ |
| | کیت استخراج اسید نوکلئیک | ۱۷ |
| | سر سمپلر فیلتر دار DNase , RNase Free | ۱۸ |
| | میکروتیوب های DNase , RNase Free | ۱۹ |
| | رک نگهداری نمونه و DNA یا RNA استخراج شده | ۲۰ |
| | الکل مطلق | ۲۱ |
| دستکش لاتکس فاقد پودر، عینک یا محافظ صورت، پاپوش، ماسک معمولی و N95 | ملزومات ایمنی بخش | ۲۲ |
| | گاز غیر استریل | ۲۳ |
| | ظرف مایع ضد عفونی کننده | ۲۴ |
| | تی نظافت مخصوص بخش | ۲۵ |

اتاق تکثیر و آشکار سازی PCR

گفتنی است الزامات فضای بخش تکثیر و آشکار سازی (PCR)، دقیقاً مطابق جدول مربوط به الزامات فضای بخش استخراج اسید نوکلئیک (Pre PCR) است.

| الزامات تجهیزات و اقلام مصرفی بخش استخراج اسید نوکلئیک (Pre PCR) | | |
|--|---|----|
| توضیحات | وسیله / دستگاه | |
| | میزبندی زمینی و دیواری | ۱ |
| | فریزر منهای ۲۰ درجه | ۲ |
| | یخچال آزمایشگاهی | ۳ |
| هود کلاس ۲ | هود لامینار یا PCR Work Station With UV-C Lamp | ۴ |
| | دستگاه Real Time PCR | ۵ |
| | Micro spin & Vortex | ۶ |
| | سمپلرهای با حجم قابل تنظیم و ترجیحاً قابل اتوکلاو | ۷ |
| | تابوره | ۸ |
| تامین فشار منفی (جریان هوای یک طرفه به داخل آزمایشگاه) | هواکش مناسب با تخلیه ۶ بار هوا در ساعت | ۹ |
| | الکتروفورز دستی | ۱۰ |
| | بن ماری ۳۷ درجه | ۱۱ |
| | Transilluminator | ۱۲ |
| | ژل داکت | ۱۳ |
| | ترموسایکلر | ۱۴ |
| | سر سمپلر فیلتر دار DNase , RNase Free | ۱۵ |
| | میکروتیوب های DNase , RNase Free | ۱۶ |
| | رک نگهداری نمونه DNA یا RNA استخراج شده | ۱۷ |
| | Safety box | ۱۸ |
| سایز متوسط درب دار، پدالی، مقاوم به رطوبت | سطل دفع پسماند عفونی | ۱۹ |
| | لامپ UV نوع C | ۲۰ |
| دستکش لاتکس فاقد پودر، عینک یا محافظ صورت و ماسک معمولی | ملزومات ایمنی بخش | ۲۱ |
| | گاز غیر استریل | ۲۲ |
| | ظرف مایع ضد عفونی کننده | ۲۳ |
| | تی نظافت مخصوص بخش | ۲۴ |
| | نانو دراپ | ۲۵ |

| عنوان و سطح تخصص های مورد نیاز (استاندارد) برای سایر اعضای تیم ارائه کننده خدمت | | | | |
|---|---|--|--|--|
| نقش در ارائه خدمت | عنوان تخصصی | تعداد مورد نیاز به ازای ارائه هر خدمت | میزان تحصیلات مورد نیاز | سابقه کار و یا دوره آموزشی مصوب در صورت لزوم |
| نمونه گیری / بسته بندی و ارجاع نمونه | پزشک، پرستار، کارشناس آزمایشگاه و سایر کارکنان که برای اینکار آموزش دیده و تجربه کافی دارند | ۱ نفر (با توجه به حجم کاری می تواند متفاوت باشد) | کاردان یا بالاتر | پس از گذراندن آموزش عملی تحت نظارت مسئول فنی |
| استخراج RT و RNA PCR | پرسنل آزمایشگاه | ۲ نفر | کارشناس آزمایشگاه، کارشناس های ژنتیک، میکروب شناسی، زیست شناسی سلولی و مولکولی، کارشناس ارشد و PhD رشته های تک رشته ای، دکتری علوم آزمایشگاهی، متخصص آسیب شناسی، متخصص علوم آزمایشگاهی بالینی | پس از گذراندن آموزش تئوری و عملی و تأیید مسئول فنی |
| مسئولیت فنی | مسئول فنی | ۱ نفر | دکتری علوم آزمایشگاهی، متخصص آسیب شناسی، متخصص علوم آزمایشگاهی بالینی، دکتری علوم آزمایشگاهی بالینی، دکتری تخصصی تک رشته ای شامل رشته های میکروب شناسی، ویروس شناسی، باکتری شناسی، خون شناسی، قارچ شناسی، انگل شناسی، بیوشیمی، ایمنی شناسی و ژنتیک پزشکی | مطابق بخشنامه و ضوابط ابلاغی وزارت بهداشت |

منابع:

- ۱- دستورالعمل عملکرد مطلوب آزمایشگاهی (GLP) در آزمایشگاه تشخیص مولکولی
- ۲- استاندارد برنامه ریزی و طراحی آزمایشگاه های پزشکی - جلد دوازدهم
- ۳- شناسنامه و استاندارد خدمت آزمایش گلوبال تشخیص آزمایشگاهی Covid - 19 - پائیز 1400
- ۴- پیش نویس ایمنی و امنیت زیستی آزمایشگاهی و بیماران مشکوک به کرونا ویروس جدید - وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی (آزمایشگاه مرجع سلامت) بهمن ماه 1398