



آزمایشگاه مرجع کشوری طاعون، تولارمی، تب کیو

عنوان سند:

دستورالعمل نگهداری نمونه ها در آزمایشگاه

شماره سند:

21-LA-WI-025-00

تاریخ	شماره بازنگری	شرح اقدام	تهیه کننده	تایید کننده	تصویب کننده
۹۳/۱/۲۶	۰۰	تدوین کلی دستورالعمل	نام و سمت دکتر صابر اسمعیلی کارشناس آزمایشگاه	نام و سمت دکتر صابر اسمعیلی مسئول کنترل کیفی آزمایشگاه	نام و سمت دکتر عبدالرزاق هاشمی شهرکی رئیس آزمایشگاه
			امضا	امضا	امضا
			نام و سمت	نام و سمت	نام و سمت
			امضا	امضا	امضا
			نام و سمت	نام و سمت	نام و سمت
			امضا	امضا	امضا
			نام و سمت	نام و سمت	نام و سمت
			امضا	امضا	امضا



(۱) هدف از ایجاد: هدف از تدوین این دستورالعمل، حصول اطمینان از نگهداری صحیح نمونه های ارجاعی و موجود در آزمایشگاه مرجع کشوری طاعون، تولارمی و تب کیو می باشد.

(۱-۱) بازنگری این سند بنا به پیشنهاد هر یک از کارکنان ذیصلاح و با تأیید رئیس آزمایشگاه امکان پذیر می باشد.

(۲) دامنه کاربرد: تمامی نمونه های ارجاعی به آزمایشگاه و نمونه های تست شده بر طبق این دستورالعمل ذخیره و نگهداری می شوند.

(۳) منابع:

3-1) <http://www.cidrap.umn.edu/infectious-disease-topics>.

(۴) تعاریف:-

(۵) شرح اقدام:

(۱-۵) توجهات ابتدایی: تمام اطلاعات نگهداری و دستکاری نمونه ها باید در فرم موجودی نمونه های آزمایشگاه مرجع کشوری طاعون، تولارمی و تب کیو به شماره 21-LA-FO-003 ثبت گردد.

(۲-۵) نمونه های بالینی بیمار:

(۱-۲-۵) خون: برای انجام آزمایش های تشخیصی فنوتیپی، بیوشیمیایی و مولکولی نمونه خون را در لوله های جداگانه الیکوت نموده و روی هر یک از نمونه ها کد گذاری های لازم را انجام دهید.

(۱-۲-۵) آزمایش سریع: نمونه خون را برای انجام کشت یرسینیا پستیس و فرانسیسلا تولارنسیس تا زمان انکوباسیون با هدف کشت، در دمای اتاق نگهداری کنید. نمونه خون را باید قبل از ۲ ساعت کشت دهید. در صورتیکه نمونه بیش از این مدت باقی بماند برای کشت مناسب نیست و باید اوت شود.

(۲-۱-۲-۵) آزمایش با تاخیر: برای استخراج DNA می توانید از نمونه خونی که تا ۴۸ ساعت در یخچال با دمای 4 ± 1 درجه سانتیگراد نگهداری شده باشد استفاده نمایید. نمونه هایی که بیش از این مدت مانده اند یا در این دما نگهداری نشده اند برای عمل استخراج مناسب نیستند و باید اوت شوند.

(۲-۲-۵) سرم: نمونه سرم را پس از جدا کردن از خون فرد مشکوک در لوله های جداگانه الیکوت نموده و کدگذاری های لازم را انجام دهید. هر یک از الیکوت ها را در دماهای ۴ درجه، ۲۰- درجه و ۷۰- درجه سانتی گراد قرار دهید.

(۱-۲-۲-۵) آزمایش سریع: سرم بیمار تا یک هفته در یخچال با دمای 4 ± 1 درجه سانتیگراد قابل نگهداری است.

(۲-۲-۲-۵) آزمایش با تاخیر: در صورتیکه آزمایشات تشخیصی بیش از یک هفته به تاخیر می افتد، سرم بیمار را در فریزر با دمای 20 ± 1 - درجه سانتی گراد نگهداری نمایید. نمونه سرم در این دما به مدت یک ماه قابل نگهداری است.

(۳-۲-۲-۵) سرم بیمارانی که نتیجه آزمایشات تشخیصی آنها منفی بوده است تا یک سال در فریزر با دمای 20 ± 1 - درجه سانتی گراد نگهداری نمایید



۴-۲-۲-۵) نمونه های سرم بیماران تایید شده را برای انجام آزمایشات و بررسی های تحقیقاتی بیشتر در فریزر با دمای 1 ± -70 سانتیگراد نگهداری نمایید. حداکثر مدت نگهداری نمونه سرم های مثبت تا دو سال در فریزر با دمای 1 ± -70 سانتیگراد می باشد.

۳-۲-۵) بافت: نمونه بیوپسی بافت بیمار مشکوک به طاعون، تولارمی و تب کیو را در چند برش جداگانه نگهداری نمایید و آنها را در ظرف های مخصوص در بسته به صورتی که روی آنها چند قطره نرمال سالین ریخته، کد گذاری های مربوطه را انجام و در دماهای ۴ درجه، ۲۰- درجه و ۷۰- درجه سانتی گراد قرار دهید.

۱-۳-۲-۵) آزمایش سریع: در صورتی که نمونه بافت در کمتر از ۲ ساعت بررسی می شود نمونه در دمای محیط قابل نگهداری است.

۲-۳-۲-۵) آزمایش با تاخیر: در صورتی که بررسی نمونه تا ۴۸ ساعت با تاخیر همراه است نمونه را در دمای یخچال نگهداری کنید و اگر زمان آزمایش روی بافت تاخیر بیشتری دارد، برای مدت یک هفته نمونه در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و برای زمان طولانی تر در فریزر ۷۰- نگهداری نمایید.

۳-۵) کشت مثبت:

۱-۳-۵) آزمایش سریع: کشت یرسینیا پستیس و فرانسیسلا تولارنسیس را در زیر هود کلاس ۲ کشت داده و اطراف ظرف را به طور کامل با پارافیلیم ببوشانید. این کشت به مدت ۳ روز در دمای ۴ درجه سانتی گراد قابل نگهداری است.

۲-۳-۵) ذخیره سازی طولانی مدت

۱-۲-۳-۵) در میکروتیوب های در پیچ دار ۱/۵ میلی لیتری ۵۰۰ میکرولیتر از محیط کشت تریپتی کیز سوی برات حاوی ۱۵ درصد گلیسرول بریزید و استریل نمایید. پس از استریل شدن صبر کنید تا دمای محیط کشت به دمای محیط برسد.

۲-۲-۳-۵) در زیر هود کلاس ۲ از کشت جوان یرسینیا پستیس و فرانسیسلا تولارنسیس دو تا سه لوپ پر برداشته و در این محیط حل نمایید.

۳-۲-۳-۵) درب میکروتیوب را بسته و کدگذاری های لازم را انجام دهید.

۴-۲-۳-۵) در و بدنه میکروتیوب را به طور کامل با پارافیلیم ببوشانید و نمونه را در فریزر ۷۰- در طبقه خاص قرار دهید.

۴-۵) نمونه DNA:

۱-۴-۵) آزمایش سریع: پس از استخراج DNA و کدگذاری نمونه در صورتیکه آزمایش Real Time PCR یا Conventional PCR را ۴۸ ساعت بعد از استخراج انجام می دهید نمونه را در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری نمایید.

۲-۴-۵) ذخیره سازی طولانی مدت: در صورتیکه انجام آزمایشات مولکولی با تاخیر بیشتری همراه است DNA استخراج شده را در فریزر ۷۰- نگهداری نمایید.

۶) مستندات:

۱-۶) فرم موجودی نمونه های آزمایشگاه کشوری مرجع طاعون، تولارمی و تب کیو به شماره 21-LA-FO-003.