CORE CONCEPT

دورة إدارة مختبر التشخيص الجزيئي: تشغيل خطوط PCR وتسلسل NGS والتحقق من صحة الفحوص

دورة إدارة مختبر التشخيص الجزيئي: تشغيل خطوط PCR وتسلسل NGS والتحقق من صحة الفحوص

مقدمة:

دورة إدارة مختبر التشخيص الجزيئي دورة تمتد أسبوع لقيادات أقسام البيولوجيا الجزيئية في المختبرات السريرية ومختبرات الصحة العامة والمختبرات المرجعية، تتناول تشغيل خطوط تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR وتسلسل الجيل التالي NGS والتحقق من صحة الفحوص، وتنتهي بإعداد خطة تشغيل القسم الجزيئي لمختبر الحالة. فالأقسام تواجه نتائج إيجابية كاذبة بسبب انتقال النواتج المضخمة، وفحوصا تدخل الخدمة دون أدلة أداء موثقة، وجولات تسلسل تفشل في مرحلة متأخرة فيرتفع زمن الإنجاز وتكلفة الفحص الواحد. ويشرف المشاركون على منصات الاستخلاص أو PCR في الوقت الحقيقي أو التسلسل، ويتدربون عبر دراسة حالة على بيانات التخطيط والتحقق والتشغيل. وتقدم كور كونسبت هذه الدورة.

أهداف الدورة:

- رسم قائمة الفحوص الجزيئية ومسارات العينات ومزيج المنصات مقابل حجم الطلب وأهداف زمن الإنجاز
- تصميم مختبر جزيئي أحادي الاتجاه بقواعد للمناطق واستخدام إنزيم UNG وعينات الضبط ومسح الأسطح لمنع وصول النواتج المضخمة إلى النتائج
- تخطيط دراسات التحقق والمصادقة لفحوص qPCR وdPCR بما يغطي حد الكشف وتغطية السلالات المستهدفة والتفاعل المتصالب والدقة
- وضع معايير قبول مكتبات NGS وجولات التشغيل وخطوط المعلوماتية الحيوية مع سجلات تغيير خاضعة لضبط الإصدارات
- التحقيق في إخفاقات التقييم الخارجي للجودة واختبارات الكفاءة وحساب تكلفة الفحص الواحد في الخدمات الجزيئية
- إعداد خطة تشغيل القسم الجزيئي لمختبر الحالة

الفئة المستهدفة:

- العاملون في إدارة الأقسام الجزيئية المسؤولون عن تقديم خدمات PCR والتسلسل وتوزيع الكوادر وزمن الإنجاز
- العاملون في إدارة المختبرات المسؤولون عن إدخال فحوص ومجموعات كواشف ومنصات جزيئية جديدة
- العاملون في مختبرات الصحة العامة والمختبرات المرجعية المسؤولون عن موجات فحص الفاشيات وتسلسل الممرضات
- العاملون في إدارة الجودة المسؤولون عن ملفات التحقق الجزيئي وبرامج التقييم الخارجي ومتابعة حالات عدم المطابقة
- العلماء الأقدمون وفرق المعلوماتية الحيوية المسؤولون عن صيانة خطوط تحليل التسلسل السريري

محاور الدورة:

اليوم 1: نطاق القسم الجزيئي والطلب على الخدمة ومراجعة الوضع الراهن

- رسم قائمة الفحوص الجزيئية للأمراض المعدية والأورام واللوحات الوراثية
- أنواع العينات ووسط النقل وقواعد ثبات الأحماض النووية
- مقارنة منصات PCR وPCR في الوقت الحقيقي وPCR الرقمي وNGS
- مراجعة خط أساس عبء العمل ونمط تجميع العينات وزمن الإنجاز
- قائمة تقييم فجوات الوضع الراهن في القسم الجزيئي

اليوم 2: التخطيط أحادي الاتجاه وضبط تلوث النواتج المضخمة والاستخلاص

- تصميم مسار عمل أحادي الاتجاه لغرف الكواشف والتحضير والتضخيم
- قواعد تدفق الهواء والأجهزة المخصصة والملابس لكل منطقة جزيئية
- منع الانتقال بإنزيم UNG والأطراف المرشحة والحصص أحادية الاستخدام
- جدول عينات الضبط الخالية من القالب وفراغات الاستخلاص ومسح الأسطح
- اختيار الاستخلاص الآلي للأحماض النووية وفحص المردود والنقاوة

اليوم 3: التحقق من فحوص qPCR وdPCR والمصادقة عليها

- قائمة إرشادات MIQE لتوثيق تجارب PCR في الوقت الحقيقي
- تصميم دراسة حد الكشف باستخدام تحليل بروبيت
- لوحات تغطية السلالات المستهدفة واختبار التفاعل المتصالب
- خطة رصد الدقة وقابلية التكرار وانجراف قيم دورة العتبة
- بروتوكول التحقق من الفحوص المطورة مختبريا مقابل المجموعات التجارية

اليوم 4: ضبط جودة NGS وخطوط المعلوماتية الحيوية وأدلة الكفاءة

- ضبط جودة تحضير مكتبات NGS بحجم الشظايا والقياس الكمي
- مراجعة مؤشرات جولة التسلسل لكثافة العناقيد وعمق التغطية
- التحقق من خطوط المعلوماتية الحيوية وضبط الإصدارات وسجلات التغيير
- التحقيق في إخفاقات التقييم الخارجي للجودة واختبارات الكفاءة
- نموذج تكلفة الفحص الواحد بالكواشف واستغلال الجولة والعمالة

اليوم 5: دراسة حالة لبناء خطة تشغيل القسم الجزيئي

- مخطط مناطق مختبر الحالة وقواعد ضبط التلوث
- ملخص التحقق من فحوص الحالة مع جدول معايير القبول
- إجراء قبول جولات NGS وتغيير خطوط التحليل في الحالة
- أهداف تحسين زمن الإنجاز وتكلفة الفحص لمختبر الحالة
- استكمال خطة تشغيل القسم الجزيئي ومناقشتها بين المشاركين

المهارات التي ستكتسبها:

- تقسيم مناطق العمل الجزيئي
- رصد تلوث النواتج المضخمة
- تصميم دراسات حد الكشف
- التحقق من الفحوص الجزيئية
- مراجعة جودة جولات NGS
- ضبط تغييرات المعلوماتية الحيوية
- التحقيق في نتائج اختبارات الكفاءة
- تحليل تكلفة الفحص الجزيئي

لماذا تحضر هذه الدورة:

- تسليم خطة تشغيل القسم الجزيئي لمختبر الحالة إلى مدير المختبر ومسؤول الجودة
- الحكم على جاهزية فحص أو مجموعة كواشف أو لوحة تسلسل جديدة لإصدار نتائج المرضى استنادا إلى أدلة تحقق موثقة لا إلى ادعاءات الموردين
- تجنب النتائج الإيجابية الكاذبة الناتجة عن الانتقال وجولات التسلسل التي تفشل متأخرة وتكاليف إعادة الفحص
- نقل قواعد تقسيم المناطق ونماذج التحقق وقوائم قبول الجولات إلى فرق المنصات والجودة

الخاتمة:

بعد العودة إلى العمل يعرض المشارك خطة تشغيل القسم الجزيئي على مدير المختبر ومسؤول الجودة ومشرفي المنصات الجزيئية. ويعتمدون عليها في تحديد تقسيم الغرف وقواعد مسار العمل، والفحوص التي تحتاج إلى مزيد من التحقق قبل إصدار نتائج المرضى، وحدود قبول جولات NGS وخطوط التحليل. وبعد أول دراسة تحقق أو جولة اختبار كفاءة تنفذ في ظل الخطة، يقارن القسم نتائج رصد التلوث وزمن الإنجاز وتكلفة الفحص الواحد بأهداف الخطة، ويعدل الضوابط وقواعد التجميع ومعايير القبول حيث تظهر الأدلة فجوات.

الأسئلة الشائعة:

ما الذي يحتاجه المشارك قبل دورة إدارة مختبر التشخيص الجزيئي؟

يحتاج المشارك إلى خبرة في الإشراف على منصات الاستخلاص أو PCR في الوقت الحقيقي أو التسلسل أو العمل عليها، وإلى قدرة على قراءة تقارير التشغيل. ويساعده إحضار مخططات أو ملفات تحقق أو تقارير تقييم خارجي أو بيانات عبء عمل مجهلة من مختبره على ربط دراسة الحالة بواقعه.

بم تختلف دورة إدارة مختبر التشخيص الجزيئي عن دورة جودة المختبرات الطبية العامة؟

تركز هذه الدورة على فحوص الأحماض النووية تحديدا. فدورات جودة المختبرات العامة تتناول نظام الجودة كاملا وضبط الجودة الروتيني، أما هذه الدورة فتتناول تقسيم مناطق التضخيم ومنع الانتقال والتحقق من الفحوص الجزيئية وجودة جولات التسلسل وضبط تغييرات خطوط التحليل.

لماذا تعتمد إدارة مختبر التشخيص الجزيئي على مسار عمل أحادي الاتجاه؟

لأن تفاعل PCR ينتج أعدادا هائلة من نسخ الهدف، فقد تصل آثار النواتج المضخمة إلى تفاعلات جديدة وتسبب نتائج إيجابية كاذبة. وتحريك الأفراد والعينات والمواد من المناطق النظيفة نحو مناطق التضخيم فقط، مع التطهير قبل أي عودة، يبقي هذه النواتج خارج التفاعلات.

ماذا يعود به المشارك من دورة إدارة مختبر التشخيص الجزيئي؟

يعود المشارك بخطة تشغيل القسم الجزيئي لمختبر الحالة، تضم مخطط المناطق وقواعد ضبط التلوث وملخص التحقق من الفحوص وإجراءات قبول جولات NGS وتغيير خطوط التحليل، مع أهداف تخص زمن الإنجاز وتكلفة الفحص الواحد.