دستورالعمل کشوری

تشخیص ناقلین و قبل از

تولد بیماریهای ژنتیکی

رعایت کلیه موارد ذکر شده دراین برنامه راهبردی برای کلیه آزمایشگاههای عضو شبکه الزامی است و در بازدید های ادواری رعایت موارد زیر بر اساس چک لیست ها مورد و بازدید قرار خواهند گرفت. رعایت موارد مزبور برای قصد عضویت در شبکه را دارند و یا درزمینه های ذکر شده فعالیت می کنند اکیدا توصیه می شود و هنگام بررسی تقاضا و بازدیدها بعنوان امتیاز تلقی خواهد گردید.

دستورالعمل کشوری تشخیص ناقلین و قبل از تولد تالاسمی:

مرحله اول:

پذیرش عمومي:

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاوره ژنتیک از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک همراه فرم ارجاع (فرم شماره ۳) صورت می گیرد. براي شروع آزمایشات مرحله اول تشخیص قبل از تولد لازم است نتایج کلیه آزمایشات خون شناسي (CBC و مقدار A۲ و F) به همراه خانواده ارسال شود. **(بهتر است کلیه آزمایشگاهها براي پذیرش خانواده ها مواردی که مورد نیاز است را به طرق مقتضی به اطلاع خانواده ها برسانند)**

تبصره: چنانچه پذیرش بیمار از طریق معرفی پزشک متخصص صورت گیرد. باید فرم ارجاع (فرم شماره ۳) از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک توسط خانواده دریافت و به آزمایشگاه تحویل داده شود.

در مرحله اول، آزمایشات CBC و الکتروفورز هموگلوبین دقیقاً بررسي می شود وچنانچه در تفسیر آزمایشات ابهامي وجود داشته باشد پزشك در آزمایشگاه ژنتیك مي تواند تصمیم به تکرار آزمایش بگیرد. لازم است علاوه بر میزان هموگلوبین HbA۲ ، HbF و واریانتها (در صورت وجود) نیز مورد بررسي دقیق قرار گیرد.

تبصره- پس از بررسي دقیق نتایج آزمایشات خون شناسي و نسبتهای A, A۲, F و دیگر هموگلوبینها از طریق الکتروفورز یا ستونی، نوع آزمایشات مولکولي مشخص مي شود.

۱. آزمایش براي بتا –تالاسمي و انواع ترکیبات آن (مانند سیکل- تال یا بتا-دلتا و ...)

۲. تشخيص پيش از تولد مرحله اول براي زوجهاي مشكوک به ناقل تالاسمی بتا و آلفا تالاسمی (که یکی یا هر دو داراي MCV<۸۰, MCH<۲۷ و A۲< ۳.۵ باشند).

۱. آزمايش براي بتا – تالاسمي و انواع هموگلوبينوپاتيها (مانند سيكل- تال يا بتا-دلتا و ...)

۱۱ تشخيص قبل از تولدتالاسمي ـ مرحله اول

پذيرش عمومی:

الف: پذيرش بيمار با معرفی پزشک مشاور ژنتيک از مرکز بهداشتی و درمانی ويژه مشاوره ژنتيک به همراه فرم شماره شبکه خدمات آزمايشگاهي ژنتيك و تشخيص قبل از تولد صورت می گيرد.

تبصره۱. در صورتي كه پذيرش بيمار با معرفی پزشک متخصص مشاور دانشگاهي صورت گرفت بايد فرم شماره از مرکز بهداشتی و درمانی ويژه مشاوره ژنتيک توسط خانواده دريافت و به آزمايشگاه تحويل داده شود.

ب: در هنگام پذيرش خانواده مي بايستي هر دو نفر زوجين قطعا ناقل تالاسمي بتا باشند (MCV<۸۰ fl, MCH<۲۷ pg, HbA۲≥**۳.۵**)، و يا يکی ناقل بتا تالاسمی و ديگری ناقل سيکل سل و يا لپور و يا امثال آن باشد.

تبصره۱: چنانچه در تفسير آزمايشات ابهامي وجود داشت پزشك و يا مسئول فنی آزمايشگاه (در آزمايشگاه ژنتيك) مي تواند تصميم به تکرار آزمايش بگيرد.

تبصره۲: براي آزمايشات مرحله اول تشخيص قبل از تولد در صورتي كه خانواده داراي فرزند مبتلا نباشد نمونه خون و آزمايشات خون شناسي والدين آنها و يا فرد يا افراد ديگری از خانواده براي انجام آزمايشات به روش غير مستقيم مورد نياز است و مي بايستي توسط

آزمایشگاه اخذ شوند. چنانچه خانواده داراي فرزند مبتلا باشد نمونه خون فرزند مبتلا و والدین وی برای انجام کافي است.

ج: براي تشخيص قبل از تولد انجام توام آزمایشهای تعیین موتاسیون (روش مستقیم) و مطالعه پیوستگي ژني (نظیر RFLP ، SNP، ...) (روش غیر مستقیم) ضروریست.

تبصره: تشخیص قبل از تولد برای زوجینی که هر دو ناقل سیکل سل و یا دلتا – بتا تالاسمی و امثال باشند مانند تالاسمی می باشند ولی با ملاحظات تشخیصی خاص هر مورد.

د: برای انجام هر PND (مرحله اول، مرحله اول و دوم) می بایست کلیه مستندات آزمایشگاهی شامل فرم پذیرش ،کاربرگ آزمایشگاهی (Worksheet) ، دفتر آزمایشات (Workbook)، پرونده خانواده به همراه رضایت نامه (Consent form ضمیمه۲) و بقیه موارد که بوسیله آنها می توان آزمایشات خانواده را پیگیری کرد وجود داشته باشد. توصیه می شود که در پرونده آزمایشگاهی هر خانواده روند کار بصورت روزشمار آورده شود مانند روز و یا روزهای مراجعه، دریافت نمونه خون ، دریافت نمونه جنیني، دریافت آزمایشات خون شناسي، شروع کار آزمایشگاهي و ... مشخص شود.

۱.۱.۱.روش مستقیم:

براي تعیین موتاسیون در ژن بتا گلوبین حداقل مي بایست ۲۰ جهش شایع کشور که توسط محققین تعیین شده اند (جدول ۱) براي زوجین یا فرزند مبتلاي آنها به روش ARMS-PCR و یا PCR-RDB مورد بررسي قرار گیرد (چنانچه موتاسیون از طریق فرزند بیمار خانواده مشخص شده باشد جهت تایید موتاسیون یافت شده، والدین بیمار باید مورد بررسی قرار گیرند). استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است. هر آزمایشگاهی می تواند موتاسیونهای شایع استان مربوطه را انتخاب و بررسی کند.

جدول ۱: جدول پیشنهادی موتاسیونهای ژن بتا-گلوبین جهت بررسی:

IVSII-۱ (G to A)	Fr۸-۹ (+G)	IVSI-۱۱۰ (G to A)	IVSI-۵ (G to C)	CD۳۶-۳۷ (-T)	IVSI-۱ (G to A)	CD۳۰ (G to C)	CD۳۹ (C to T)	CD٤٤ (+T)	CD۵ (-CT)
IVSInt٦ (T to C)	IVSI -۲۵del	C۸۲-۸۳ (-G)	IVSII-۷٤۵ (C to G)	CD۱۵ (G to A)	CD ۲۲/۲٤(۷ bp del)	IVSI-۱۲۸ (T to G)	CD ۸ (-AA)	CD۳۷ (G to A)	-۸۸ (C to T)

چنانچه با انجام مراحل فوق موتاسیون مشخص نشد تعیین موتاسیون با کمک روشهای مستقیم مانند DGGE ، SSCP ، ... و بعد Sequencing و یا مستقیماً Sequencing ژن بتا گلوبین انجام شود.

تبصره: با توجه به ضرورت به حداقل رسانیدن خطای تشخیص، در صورتیکه تشخیص با یک روش (مثلا روش مستقیم) انجام گرفته است روش دیگر نیز می بایست انجام شود (به شرح زیر).

۱.۱.۲. روش غیر مستقیم:

مطالعه پیوستگي ژني (بررسیRFLP ، SNP و ...) براي زوجین و فرزند مبتلاي آنها و در صورت نداشتن فرزند مبتلا برای خانواده آنها انجام می شود.

۱.۱.۲.۱. آزمایشگاه می بایست به حداقل یک محل گویا که بدون هیچ ابهامی قابل تفسیر باشد دست یابد. در روش غیر مستقیم مشروط براینکه موتاسیون هر دو (زوجین) مشخص باشد حداقل یک محل گویا کافی می باشد. برای یافتن محل گویا می بایست حداقل ۵ محل از محلهای زیر مورد بررسي قرار گیرند (بهتر است بررسي با مارکرهاي داخل ژن بتا آغاز گردد (جدول شماره ۲). استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است.

جدول شماره ۲: **جدول پیشنهادی چند حالتیهای خوشه ژنی بتا گلوبین جهت بررسی:**

HincII-۵'ψβ	HindIII-γ^A	HindIII-γ^G	XmnI-γ^G	HincII-ε
دیگر SNPها یا STRها	HinfI-β	AvaII-β	RsaI-β	HincII-۳'ψβ

۱.۲. تشخیص موارد خاص پیش از تولد تالاسمی و هموگلوبینوپاتیها به قرار زیر است:

۱.۲.۱. چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگري ناقل HbS باشد نیاز به PND می باشد (مانند تالاسمی بتا عمل شود).

۱.۲.۲. چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگري ناقل HbC باشد نیاز به PND **نمی باشد** (به سایت ApoGI مراجعه شود).

۱.۲.۳. چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگري ناقل HbE باشد نیاز به PND می باشد (مانند تالاسمی بتا عمل شود).

۱.۲.٤. چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگری ناقل دلتا-بتا تالاسمی ویا لپور (Lepore) باشد نیاز به PND می باشد (مانند تالاسمی بتا عمل شود).

۱.۲.٥. چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگر ناقل HbD باشد نیاز به PND ندارد. (HbD فقط با HbS نیاز به PND دارد).

۱.۲.٦. چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگر ناقل Alpha triplication باشد نیاز به PND می باشد (در صورت نیاز با آزمایشگاه مرجع مشاوره شود).

۱.۲.۷. بیماری داسی شکل (Sickle cell disorder) با حالتهای مختلف زیر نیاز به PND دارد:

Hb SC disorder
Hb S/ß-thalassaemia
Hb S/DPunjab
Hb S/OArab
Hb S/HPFH

۱.۲.۸. هموگلوبینوپاتیهای بی خطر (بدون نیاز به PND):

Hb C/ß-thalassaemia
Hb D/ß-thalassaemia
Hb DD
Hb CC
Hb CD
Hb CE
Hb DE
Hb EE

۱.۲.۸. در مورد سایر هموگلوبینوپاتیها از منابع ذیل استفاده و تصمیم گیری شود:

۱. A database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemias:
http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html

۲. http://www.chime.ucl.ac.uk/APoGI
۳. www.screening.nhs.uk/sickleandthal
٤. http://www.sickleandthal.org.uk/Documents/LabHandbook۲۰۰٦.pdf

تبصره: تصمیم به انجام یا عدم انجام مرحله اول و یا دوم PND برای دیگر حالتهای هموگلوبینوپاتیها بر اساس منطق علمی و ادله کافی و یا براساس نظر کتبی آزمایشگاه مرجع صورت پذیرد.

توضیحات:

۱. در صورت نیاز به توالی پرایمرها از منبع شماره ۱ و ۲ استفاده کنید و یا از آزمایشگاه مرجع کمک گرفته شود.
۲. در صورتیکه آزمایشگاه بعد از انجام مراحل فوق (مستقیم یا غیرمستقیم و یا هردو) نتوانست به نتیجه برسد لازم است آزمایشگاه مرجع را به صورت کتبی مورد مشاوره قرار دهد و آزمایشگاه مرجع می بایست ظرف یک هفته بعد از دریافت درخواست نظر خود را کتباً اعلام نماید. چنانچه آزمایشگاه مرجع نیاز به نتایج بررسی و یا نمونه خانواده داشته باشد آزمایشگاه محیطی می بایست همکاری لازم را به عمل آورد.
۳. در صورتیکه نتیجه روش غیرمستقیم مبنای تصمیم گیری باشد، ناقل بتا تالاسمی بودن فرد باید محرز شود (مثلاً تکرار آزمایشات خون شناسي، داشتن فرزند مبتلا و...).
٤. در صورتیکه بعد از بررسی های فوق آزمایشگاه نتیجه بگیرد که نیازي به PND مرحله دوم تالاسمي نمی باشد ، در صورت صلاحدید، می تواند آزمایشگاه مرجع را مورد مشاوره کتبي قرار دهد و آزمایشگاه مرجع وظیفه دارد حداکثر ظرف یک هفته بعد از دریافت درخواست، نظر خود را به صورت کتبي اعلام نماید.
٥. روش غیرمستقیم فقط در صورت عدم همکاری خانواده (بر اساس مستندات موجود در پرونده مربوطه) قابل حذف میباشد.

۱.۱.۳. نحوه گزارش دهي مرحله اول بتا تالاسمی:

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه مي بایست گزارش کتبي تهیه کرده و به خانواده، پزشک، مرکز بهداشتي و درماني ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

۱.۱.۳.۱. گزارش مرحله اول باید شامل حداقل موارد زیر باشد:

۱. نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲. شماره پرونده
۳. نحوه معرفي خانواده به آزمایشگاه (پزشک معرفی کننده خانواده)
٤. آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش مي بایستي در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)
٥. تاریخ اولین مراجعه خانواده (تاریخ دریافت نمونه خون)
٦. محل نمونه گیري یا ارسال نمونه
۷. تاریخ گزارش نهایي
۸. روش یا روشهاي تشخیص مولکولي (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیرمستقیم مشخص باشد).
۹. نتیجه بررسي روشهاي مولکولي (مثلاً IVSII-nt۱ به روش sequencing، و یا به روش ARMS-PCR وPCR-RFLP ...)

تبصره: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم (فقط محلهای گویا) ذکر شود.

۱۰. در متن فارسي امکان یا عدم امکان و یا نیاز و یا عدم نیاز به تشخیص قبل از تولد و زمان مراجعه در صورت نیاز به تشخیص قبل از تولد باید ذکر شود
۱۱. هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه).
۱۲. نام، نام خانوادگي، امضاء و مهر مسئول فني

۱.۳. تشخیص قبل از تولد بتا تالاسمی ـ مرحله دوم

مرحله دوم تشخیص قبل از تولد تالاسمی بتا براي کساني صورت می پذیرد که مرحله اول را قبل از بارداري و یا درهفته های اولیه بارداري انجام داده اند و وضعیت مولکولی آنها مشخص شده است.

۱.۳.۱. اعزام خانواده برای گرفتن نمونه جنینی می بایست فقط توسط آزمایشگاه ژنتیک پزشکی صورت گیرد وبراي اعزام خانواده جهت نمونه گیري از جنین (مثلا CVS) لازم است سن بارداري بعد از هفته دهم بارداری باشد (تایید شده از طریق سونوگرافی). هم چنین گروه خوني مادر مشخص شود. چنانچه خانواده به موقع مراجعه کرده باشد تاخیر بعد از هفته دهم جایز نیست مگر با دلیل قابل قبول.

۱.۳.۲. نمونه CVS حتماً باید توسط فرد آموزش دیده زیر میکروسکوپ Invert یا استریوسکوپ تمیز شود.

۱.۳.۳. نمونه جنیني مي بایست به همراه DNA والدین براي تعیین موتاسیون و روش غیرمستقیم (به شرحي که در مرحله اول PND ذکر شده) مورد آزمایش قرار گیرد. نمونه جنیني براي موتاسیون والدین مي بایست حداقل ۲ بار مورد آزمایش قرار گیرد. استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است.

۱.۳.٤. چنانچه در زمان نمونه گیري از جنین سن جنین بیش از ١٤ هفته باشد توصیه مي شود که نمونه جنیني جهت تعیین موتاسیون مورد بررسي قرار گیرد. در صورتی که تعیین وضعیت جنین تنها با یک روش (مستقیم یا غیرمستقیم، به دلیل کمبود وقت یا مشخص نبودن جهش یا نداشتن جایگاه گویا در خانواده) انجام می گیرد، آزمایشات لازم بر روی نمونه جنینی می بایست حداقل ۲ بار تکرار شوند. توصیه می شود آزمایشگاه بررسی های خود را جهت تکمیل ژنوتیپ یا هاپلوتیپ، برای بارداریهای احتمالی بعدی انجام دهد.

تبصره۱: چنانچه در بررسي مرحله دوم یا اول و دوم موتاسیون در یکي یا هر دو والد مشخص نباشد و فرصت بررسي دقیق مانند تعیین توالی وجود نداشته باشد و یا به نتیجه نرسیده باشد، استفاده از روش غیرمستقیم مجاز مي باشد و بالعکس (چند حالتی ها گویا نباشند ولی موتاسیون مشخص شده باشد.

تبصره ۲: چنانچه آزمایشگاه محیطي در مرحله اول و دوم و یا دوم ظرف دو هفته نتوانست به نتیجه برسد ضمن ادامه آزمایشات مي بایست نمونه والدین، جنیني و سایر نمونه ها و مدارك لازم را طي نامه رسمي به همراه نتایج خونشناسی و نتایج بررسیهاي مولکولي به عمل آمده

به آزمایشگاه مرجع ارسال دارد. آزمایشگاه مرجع ظرف حداکثر دو هفته و یا قبل از هفته ١٦ بارداری مي بایست امکان یا عدم امکان تشخیص را کتباً به آزمایشگاه محیطي اعلام نماید.
تبصره ٣ چنانچه با فرض تبصره ٢(بالا) آزمایشگاه نتواند به موقع وضعیت جنین را مشخص کند گزارش به همراه دلیل عدم تشخیص قطعي و احتمال خطر ظرف چهار هفته بعداز نمونه گیری جنین و یا قبل ازهفته ١٧ بارداری به مرکز بهداشت ارجاع دهنده بیمار(و یا مشاورژنتیک مرکز بهداشتي) وخانواده داده شود.

١.٣.٥. در صورتیکه جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادر باشد تعیین هویت جنین ضروري است

١.٣.٦. چنانچه نمونه جنیني مایع آمنیون باشد غیر از بررسي مولکولي از جمله تعیین موتاسیون و روش غیر مستقیم (ذکر شده در مرحله اول) کشت آن انجام شود و بررسی بر روی سلولهای کشت داده شده باید انجام گیرد. در صورت کمی وقت آزمایشگاه می تواند از مایع آمنیون مستقیما استفاده کند ولی اگر جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادر باشد کشت سلولهای آمنیون و یا تعیین هویت جنین ضروري است. در صورت نیاز به بررسي کروموزومي با استفاده از CVS مانند مایع آمنیون عمل شود .

١.٣.٧. براي خانمهاییکه در زمان نمونه گیری جنین حداقل ٣٥ سال سن دارند توصیه به انجام مشاوره ژنتیك و بنا به تقاضاي مشاور ژنتیك یا پزشك معالج (در صورت توافق خانواده) اختلالات کروموزومي نیز بررسي شود.

تبصره ١: براي خانمهایکه زیر٣٥ سال سن دارند مشاوره زنتیك توصیه شود و بر اساس آن بررسي کروموزومي پیشنهاد شود (عدم پوشش بیمه به خانواده یادآوری شود)، ولی برای خانمهای بالای ٣٥ سال اکیدا توصیه شود .

تبصره ٢: در صورتیکه نمونه براي اختلال کروموزومي بررسي مي شود کشت نمونه باید انجام و در صورت ابتلا جنین به تالاسمي بررسي کروموزومي متوقف شود. در صورت درخواست خانواده مبني بر عدم سقط جنین مبتلا به تالاسمي بررسي کروموزومي مي تواند ادامه یابد.

١.٣.٨. مرحله دوم بتا ـ تالاسمی

بعد از انجام آزمایشهای ذکر شده (بر اساس پروتکل تدوین شده) آزمایشگاه مي بایست گزارش کتبي تهیه کرده و به خانواده، پزشک مرکز بهداشتي، درماني ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

۱.۳.۸.۱. گزارش مي بایست شامل موارد زیر باشد

۱- نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)

۲- شماره پرونده

۳- نحوه معرفي خانواده به آزمایشگاه (پزشک معرفی کننده خانواده)

٤- تاریخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و یا اول و دوم)

٥- محل نمونه گیري از والدین و یا ارسال نمونه

٦- نوع نمونه جنیني و پزشک نمونه گیر

۷- آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)

۸- تاریخ و سن جنین و مادر در هنگام نمونه برداری

۹- تاریخ صدور گزارش

۱۰- نتیجه موتاسیون والدین (فرزند مبتلا یا ناقل) و جنین

۱۱- نتیجه روش غیرمستقیم والدین (فرزند مبتلا یا ناقل) و جنین

۱۲- نتیجه نهایي وضعیت جنین و توضیح اینکه جنین سالم، مبتلا یا ناقل است

۱۳- هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه).

۱٤- نام، نام خانوادگی، امضاء و مهر مسئول فنی

تبصره: در صورتیکه جنین مبتلا باشد آزمایشگاه می بایست نامه ای جداگانه برای سازمان پزشکی قانونی تهیه کرده و گواهی نماید که جنین مبتلا می باشد. لازم است عکس زوجین به گواهی مربوطه الصاق و ممهور به مهر آزمایشگاه شود.

۱.٤. تشخیص قبل از تولد مرحله اول و دوم بتا ـ تالاسمی

چنانچه در هنگام اولین مراجعه خانواده به مرکز PND خانم باردار باشد (هفت هفته یا بیشتر از طریق سونوگرافی) مرحله اول و دوم تواماً بر اساس پروتکلهای تدوین شده فوق انجام شود.

۱.٤.۱. گزارش همرمان مراحل اول و دوم بتا ـ تالاسمی

بعد از انجام آزمایشهای ذکر شده (بر اساس پروتکل تدوین شده) آزمایشگاه مي بایست گزارش کتبي تهیه کرده و به خانواده، پزشک مرکز بهداشتي، درماني ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

۱. نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲. شماره پرونده
۳. نحوه معرفي خانواده به آزمایشگاه (پزشک معرفی کننده خانواده)
٤. تاریخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و یا اول و دوم)
٥. محل نمونه گیري از والدین و یا ارسال نمونه
٦. نوع نمونه جنیني و پزشک نمونه گیر
۷. آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)
۸. تاریخ و سن جنین و مادر در هنگام نمونه برداری
۹. تاریخ صدور گزارش
۱۰. نتیجه موتاسیون والدین (فرزند مبتلا یا ناقل) و جنین.
۱۱. نتیجه روش غیرمستقیم والدین (فرزند مبتلا یا ناقل) و جنین
۱۲. نتیجه نهایي وضعیت جنین و توضیح اینکه جنین سالم، مبتلا یا ناقل است
۱۳. هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه).
۱٤. نام، نام خانوادگی، امضاء و مهر مسئول فنی

تبصره: در صورتیکه جنین مبتلا باشد آزمایشگاه می بایست نامه ای جداگانه برای سازمان پزشکی قانونی تهیه کرده و گواهی نماید که جنین مبتلا می باشد. لازم است عکس زوجین به گواهی مربوطه الصاق و ممهور به مهر آزمایشگاه شود.

الگوی پیشنهادی ذکر احتمال خطا (Disclaimer) که مبایست در تمامی گزارشات آورده شود

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be aware of the **risk of errors** in DNA analysis. Incorrect diagnosis may result from (۱) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (۲) Incomplete family studies and history (۳) Mix-up of

DNA or blood samples both in transportation or in the lab (٤) Paternity problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare molecular events (٧) New or spontaneous mutations (٨) Technical errors. The risk of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately ٠.٣%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ٠.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ٠.٥%.The methods applied for diagnosis of this desease were in accordance with national guidelines and latest technologies available to be utilized in this lab.

٢. تشخيص پيش از تولد مرحله اول براي زوجهاي مشكوک به ناقل تالاسمی بتا و آلفا تالاسمی (که یکی یا هر دو داراي MCV<٨٠ fl, MCH<٢٧ pg, HbA٢<٣.٥ باشند)

پذیرش عمومی:

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاوره ژنتیک از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک همراه فرم ارجاع (فرم شماره ٣) صورت می گیرد. براي شروع آزمایشات مرحله اول تشخیص قبل از تولد لازم است خانواده به همراه نتایج کلیه آزمایشات انجام گرفته (آزمایشات خون شناسي ، CBC و مقدار هموگلوبین A٢ و F) به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی اعزام شوند.

تبصره: چنانچه پذیرش بیمار از طریق معرفی پزشک متخصص صورت گیرد، باید فرم ارجاع (فرم شماره ٣) از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک توسط خانواده دریافت و به آزمایشگاه تحویل داده شود.

قبل از ورود به بحث **تشخيص قبل از تولد آلفا- تالاسمي مرحله اول،** باید ذکر شود که در مورد تشخیص قبل از تولد مرحله اول براي خانواده هایي که یکي ناقل بتا- تالاسمي و دیگري حالت دیگري مانند S, D, G, E, C، مشکوك به آلفا، بتاي خفیف و موارد مشابه می باشد، توصیه هاي عمومي براي PND بتا-تالاسمي و آلفا-تالاسمي رعایت شود. برای اطلاعات و

وجود ضرورت یا عدم ضرورت انجام تشخیص قبل از تولد می توان به سایتهای مربوطه مانند سایتهای موسوم به globin gene server و APoGI مراجعه شود:

http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html
http://www.chime.ucl.ac.uk/APoGI

برای توضیح بیشتر به مثال زیر توجه شود:

تصور کنید که خانواده ای با وضعیت زیر به شما مراجعه کرده باشد:

يكي از والدين ناقل قطعي بتا و ديگري مشكوك به آلفا تالاسمي است. در اين حالت براي فرد ناقل قطعی بتا مرحله اول بتا تالاسمي انجام و براي فرد مشكوك بررسي آلفا و بتا صورت گيرد. تشخيص اينكه كدام مورد اول صورت گيرد بعهده آزمايشگاه مي باشد. در صورتيكه زوجين ناقل بتا باشند تشخيص مانند بتا تالاسمي ادامه پيدا خواهد كرد. چنانچه آزمايشگاه موتاسيون آلفا را در فرد مشكوك مشخص كرد در صورت ضرورت می تواند وضعيت آلفا را در طرف ديگر كه قطعاً ناقل بتا نيز مي باشد مشخص كند . در چنين صورتي ضرورت مراحل PND مرحله دوم آلفا تالاسمي مانند PND آلفا تالاسمي مي باشد. چنانچه يكي قطعاً بتا و ديگر فقط آلفا (ازهرنوع) باشد نياز به PND مرحله دوم نيست.

تبصره: از آنجائيكه يكی از زوجين مي تواند هم ناقل بتا تالاسمي و هم ناقل هموگلوبين D باشد و زوج ديگر ناقل بتا تالاسمي و يا حالتهاي غير شايع ديگر باشد و نياز به PND داشته باشند. لذا تصميم به انجام يا عدم انجام مرحله اول و يا دوم PND براي حالتهاي ديگر هموگلوبينوپاتيتها بر اساس منطق علمی و ادله كافی مبتنی بر مراجع علمی معتبر، نظر هماتولوژيست مشاور و يا براساس نظر كتبی آزمايشگاه مرجع صورت پذيرد

۲.۱. تشخيص قبل از تولد مرحله اول آلفا ـ تالاسمی

۲.۱.۱. براي تشخيص قبل از تولد آلفا تالاسمي مرحله اول حتماً بايد آزمايشات تعيين حذف و يا موتاسيون نقطه اي صورت گيرد.

براي بررسي آلفا تالاسمي مي بايست حداقل (مجموعاً) ده موتاسيون نقطه اي و حذف بررسي شود. ابتدا جهشهاي حذفي شايع مورد بررسي قرار گرفته و در صورت نياز بعد از آن موتاسيونهاي نقطه اي بررسي گردند. ترتيب بررسي جهش هاي نقطه اي ژنهاي آلفا به عهده

آزمایشگاه است (می توانید حذفها و یا موتاسیونهای شایع زیر را بررسی کنید (جدول ۳) (منبع و پیوست). Elucidating the Spectrum of Alpha-Thalassemia Mutations in Iran", Hadavi V,…, Najmabadi H. Haematologica ۲۰۰۷; ۹۲(۰۷): ۹۹۲-۳.

.۲.۱.۲

حذفها:	۳.۷ kb del	٤.۲ kb del	۲۰.٥ kb del	Med					
جهشهای نقطه ای:	٥ nt del	CS TAA>AAA	CD۱۹ -G	Cd ٥۹ GGC>CGC	Poly A٦ A to G	Poly A٤ A to G			

۲.۱.۳. چنانچه براساس بررسيهاي فوق الذكر موتاسيون مشخص نگرديد بايد بررسي سنتز زنجيره ها ي گلوبين، بررسی با روشMLPA و /یا Real time PCR و یا تعیین توالي ژنهاي α (با تشخيص آزمايشگاه) انجام شود. چنانچه پس از آزمایش های فوق الذكر موتاسيونی در ژنهاي آلفا يافت نگرديد و دليلي براي حذف هم مشخص نگرديد، متخصص ژنتيك براساس نتايج سنتز زنجيره ها و روشMLPA و /یا Real time PCR و تفسير آزمايشات مي تواند بررسي لازم برروی ژن بتا را انجام دهد.

۲.۱.٤. چنانچه هردو زوج ناقل آلفا تالاسمي باشند براساس نوع حذف و یا موتاسیون نقطه اي، نیاز یا عدم نیاز به تشخیص قبل از تولد مرحله دوم به خانواده اعلام می شود.

تبصره۱ : چنانچه موتاسيون در هر دو والد مشخص شود و لزوم انجام PND وجود داشته باشد نمونه گيري از جنين بر اساس روش ذكر شده در مرحله دوم انجام و بررسي های لازم بر روي نمونه جنين صورت خواهد گرفت. چنانچه موتاسيون فقط در يكي از والدين مشخص شود ممكن است متخصص ژنتيك بر اساس نتايج آزمايشات هماتولوژي و سنتز زنجيره ها و یا MLPA یا Real time PCR به اين نتيجه برسد كه انجام آزمايش تشخيص قبل از تولد مورد نياز است. در اين حالت نمونه گيري از جنين صورت مي گيرد و جنين براي موتاسيون شناخته شده مورد بررسي قرار مي گيرد. اگر جنين فاقد موتاسيون شناخته شده باشد به خانواده اطلاع داده خواهد شد و اقدام

دیگري مورد نیاز نیست ولی در صورتیکه موتاسیون مشخص نگردید باید وضعیت موجود کاملا به اطلاع خانواده برسد. در چنین شرایطی آزمایشگاه باید از طریق مشاوره کتبی و ارائه خلاصه ِپرونده نظر آزمایشگاه مرجع را کسب نماید . آزمایشگاه مرجع موظف است حداکثر ظرف یک هفته نتیجه را به آزمایشگاه محیطی اعلام نماید.

تبصره ۲: توصیه برای تشخیص قبل ازتولد مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به هیدروپس وجود داشته باشد مرحله دوم اکیداً توصیه میشود ولی چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به بیماری هموگلوبین H (H Hb disease) وجود داشته باشد توصیه انجام مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد . در این زمینه لازم است بر اساس شواهد علمی حاصل از اجرای برنامه، تصمیم گیری توسط کمیته فنی تشخیص پیش از تولد صورت گیرد. متخصص ژنتیک می بایست کتباً در این موارد با آزمایشگاه مرجع مشورت نماید و آزمایشگاه مرجع موظف است ظرف یک هفته پاسخ را کتبا اعلام نماید.

تبصره٤: براي هر PND مرحله اول و یا دوم مي بایست کلیه مستندات آزمایشگاهي شامل کاربرگ آزمایشگاهي (work sheet)، دفتر آزمایشات (Workbook)، پرونده خانواده و بقیه اسنادی که براساس آن می توان آزمایشات خانواده را پیگیري کرد وجود داشته باشد. توصیه مي شود که در پرونده آزمایشگاهي هر خانواده روند کار بصورت روز شمار آورده شود.

۲.۱.۵.نحوه گزارش دهی مرحله اول آلفا-تالاسمی:

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه مي بایست گزارش کتبي تهیه نماید و به خانواده، پزشک، مرکز بهداشتي و درماني ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

گزارش باید شامل حداقل موارد زیر باشد:

۱) نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲) شماره پرونده
۳) نحوه معرفي خانواده به آزمایشگاه (پزشک معرفی کننده خانواده)
٤) آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش مي بایستي در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)

۵) تاریخ اولین مراجعه خانواده و تاریخ دریافت نمونه خون
٦) محل نمونه گیري یا ارسال نمونه
۷) تاریخ گزارش نهایي
۸) روش یا روشهاي تشخیص مولکولي
۹) نتیجه بررسي روشهاي مولکولي مثلاً حذف ۳.۷α- و یا جهش نقطه ای Poly A
۱۰)توصیه مربوط به ضرورت و یا عدم ضرورت به انجام PND مرحله دوم
۱۱) هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد.
۱۲) نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني

۲.۲. تشخیص قبل از تولد مرحله دوم آلفا ـ تالاسمی

ضرورت تشخیص قبل ازتولد مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به هیدروپس وجود داشته باشد مرحله دوم به طور حتم توصیه میشود ولی چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به بیماری هموگلوبین H (Hb H disease) وجود داشته باشد توصیه انجام مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. در هر صورت تصمیم به انجام آزمایشات به نظر متخصص ژنتیک بستگی دارد ولی آزمایشگاه می بایست کتباً با آزمایشگاه مرجع مشورت نماید و آزمایشگاه مرجع موظف است ظرف یک هفته پاسخ را کتبا اعلام نماید. در این زمینه لازم است تصمیم گیری توسط کمیته فنی تشخیص پیش از تولد بر اساس شواهد علمی حاصل از اجرای برنامه صورت گیرد.

۲.۲.۱. اعزام خانواده برای گرفتن نمونه جنینی می بایست فقط توسط آزمایشگاه ژنتیک پزشکی صورت گیرد وبراي اعزام خانواده جهت نمونه گیري از جنین (مثلا CVS) لازم است سن بارداري بعد از هفته دهم بارداری باشد (تایید شده از طریق سونوگرافی). هم چنین گروه خوني مادر مشخص شود. چنانچه خانواده به موقع مراجعه کرده باشد تاخیر بعد از هفته دهم جایز نیست مگر با دلیل قابل قبول.

۲.۲.۲. نمونه CVS حتماً باید توسط فرد آموزش دیده زیر میکروسکوپ Invert یا استریوسکوپ تمیز شود.

۲.۲.۳. نمونه جنیني مي بایست به همراه DNA والدین براي تعیین موتاسیون و روش غیرمستقیم (به شرحي که در مرحله اول PND ذکر شده) مورد آزمایش قرار گیرد. نمونه جنیني براي موتاسیون والدین مي بایست حداقل ۲ بار مورد آزمایش قرار گیرد. استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است.

۲.۲.٤. چنانچه در زمان نمونه گیري از جنین سن جنین بیش از ١٤ هفته باشد توصیه مي شود که نمونه جنیني جهت تعیین موتاسیون مورد بررسي قرار گیرد. در صورتی که تعیین

وضعیت جنین تنها با یک روش (مستقیم یا غیرمستقیم، به دلیل کمبود وقت یا مشخص نبودن جهش یا نداشتن جایگاه گویا در خانواده) انجام می گیرد و ضرورت PND قبلا محرز شناخته شده است، می بایست آزمایشات لازم بر روی نمونه جنینی حداقل ۲ بار تکرار شوند.

تبصره ۱: چنانچه مراجعه برای مرحله دوم در ادامه مرحله اول صورت گرفته و بارداری به سن نمونه گیری از جنین برسد و فرصت کافی وجود نداشته باشد، انجام MLPA و/ یا Real time PCR و یا تقاضای سنتز زنجیره ها صورت گرفته ولی آزمایشات مولکولی همزمان شروع می شود.

تبصره ۲: چنانچه آزمایشگاه محیطي در مرحله اول و دوم و یا دوم ظرف دو هفته نتوانست به نتیجه برسد ضمن ادامه آزمایشات مي بایست نمونه خون والدین و نمونه جنین و سایر نمونه ها و مدارك لازم را طي نامه رسمي به همراه نتایج خونشناسی و نتایج بررسیهاي مولکولي به عمل آمده را به آزمایشگاه مرجع ارسال دارد. آزمایشگاه مرجع ظرف حداکثر یک هفته مي بایست امکان یا عدم امکان تشخیص را کتباً به آزمایشگاه محیطي اعلام نماید.

در صورتیکه جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادر باشد تعیین هویت جنین ضروري است (تعیین هویت مولکولي بطور کلي براي کلیه نمونه هاي جنیني توصیه مي شود).

چنانچه نمونه جنیني مایع آمنیون باشد غیراز بررسي مولکولي از جمله تعیین حذف ژنی و یا موتاسیون نقطه ای (ذکر شده در مرحله اول) کشت آن انجام شود و بررسی بر روی سلولهای کشت داده شده باید انجام گیرد. در صورت کمی وقت آزمایشگاه می تواند ازمایع آمنیون مستقیما استفاده کند ولی اگر جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادرباشد کشت سلولهای آمنیون و یا تعیین هویت جنین ضروري است. در صورت نیاز به بررسي کروموزومي با استفاده از CVS مانند مایع آمنیون عمل شود.

۲.۲.۵. براي خانمهاییکه در زمان نمونه گیری جنین حداقل ۳۵ سال سن دارند توصیه به انجام مشاوره ژنتیك و بنا به تقاضاي مشاور ژنتیك یا پزشك معالج (در صورت توافق خانواده) اختلالات کروموزومي نیز بررسي شود.

تبصره ۱: براي خانمهايكه زير ۳۵ سال سن دارند مشاوره زنتيك توصيه شود و بر اساس آن بررسي كروموزومي پيشنهاد شود (عدم پوشش بيمه به خانواده يادآوری شود)، ولی برای خانمهای بالای ۳۵ سال اکیدا توصیه شود .

تبصره ۲- در صورتيكه نمونه براي اختلال كروموزومي بررسي مي شود كشت نمونه بايد انجام و در صورت ابتلا جنين به تالاسمي بررسي كروموزومي متوقف شود. در صورت درخواست خانواده مبني بر عدم سقط جنين مبتلا به تالاسمي بررسي كروموزومي مي تواند ادامه يابد.

۲.۲.۷. نحوه گزارش دهی مرحله دوم تشخيص قبل از تولد آلفا-تالاسمی :

بعد از انجام آزمايشات فوق آزمايشگاه مي بايست گزارش كتبي تهيه نمايد و به خانواده، پزشک، مركز بهداشتي و درماني ويژه مشاوره ژنتيک و يا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذيصلاح ارائه دهد.

گزارش مي بايست شامل موارد زير باشد

۱) نام و نام خانوادگی زوجين (و فرزند)
۲) شماره پرونده
۳) نحوه معرفي به آزمايشگاه (مرجع معرفی خانواده)
٤) تاريخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و يا اول و دوم)
٥) محل نمونه گيري از والدين و يا ارسال نمونه
٦) نوع نمونه جنيني و پزشک نمونه گير
۷) آدرس و مشخصات آزمايشگاه (گزارش در سربرگ آزمايشگاه نوشته شود)
۸) تاريخ و سن جنين در هنگام نمونه برداري
۹) سن مادر (درهنگام نمونه گيری جنينی)
۱۰) تاريخ صدور گزارش
۱۱) روش آزمايش (مستقيم، مولكولی) و نتيجه موتاسيون والدين، فرزند مبتلا يا ناقل و جنين.
۱۲) نتيجه گيری نهايی وضعيت جنين و توضيح اينكه سالم يا ناقل و يا مبتلا به بيماری هموگلوبين H يا هيدرپس (HbH or Hydrops Fetalis) است
۱۳) هر گزارش بايد جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد.

۱٤) نام، نام خانوادگی، امضاء و مهر مسئول فنی

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be aware of the **risk of errors** in DNA analysis. Incorrect diagnosis may result from (۱) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (۲) Incomplete family studies and history (۳) Mix-up of DNA or blood samples both in transportation or in the lab (٤)Paternity problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare molecular events (۷) New or spontaneous mutations (۸) Technical errors. The risk of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately ۰.۳%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ۰.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ۰.٥%. The methods applied for diagnosis of this desease were in accordance with national guidelines and latest technologies available to be utilized in this lab.

۲.۳. تشخيص قبل از تولد آلفا-تالاسمي مرحله اول و دوم.

در خصوص خانواده هایکه در حین بارداری برای تشخیص قبل از تولد آلفا تالاسمي مراجعه می کنند لازم است مرحله اول به سرعت انجام و در صورت نیاز مرحله دوم انجام شود. نحوه انجام و ارائه گزارش مانند مرحله اول و دوم است.

۲.۲.٦. گزارش همزمان مراحل اول و دوم آلفا- تالاسمی

بعد از انجام آزمایشهای ذکر شده (بر اساس پروتکل تدوین شده) آزمایشگاه مي بایست گزارش کتبي تهیه کرده و به خانواده، پزشک مرکز بهداشتي، درماني ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

گزارش باید حداقل شامل موارد زیر باشد:

۱) نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲) شماره پرونده
۳) نحوه معرفي به آزمایشگاه (مرجع معرفی خانواده)
٤) تاریخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و یا اول و دوم)
٥) محل نمونه گیري از والدین و یا ارسال نمونه
٦) نوع نمونه جنیني و پزشک نمونه گیر

۷) آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)

۸) تاریخ و سن جنین در هنگام نمونه برداري

۹) سن مادر (درهنگام نمونه گیری جنینی)

۱۰) تاریخ صدور گزارش

۱۱) روش آزمایش (مستقیم، مولکولی) و نتیجه موتاسیون والدین، فرزند مبتلا یا ناقل و جنین.

۱۲) نتیجه گیری نهایی وضعیت جنین و توضیح اینکه سالم یا ناقل و یا مبتلا به بیماری هموگلوبین H یا هیدرپس (HbH or Hydrops Fetalis) است

۱۳) هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد.

۱٤) نام، نام خانوادگی، امضاء و مهر مسئول فنی

تبصره: در صورتیکه جنین مبتلا باشد آزمایشگاه می بایست نامه ای جداگانه برای سازمان پزشکی قانونی تهیه کرده و گواهی نماید که جنین مبتلا می باشد. لازم است عکس زوجین به گواهی مربوطه الصاق و ممهور به مهر آزمایشگاه شود.

دستورالعمل کشوری

تشخیص ناقلین و قبل از

تولد هموفیلی A

برنامه جامع کنترل بیماریهای ژنتیک (بیماری اختصاصی، .....)، فرم شماره (3) ، PND / بررسی ژنتیک

دانشگاه علوم پزشکی: .....

مرکز بهداشتی درمانی ویژه مشاوره ژنتیک: ..... تلفن: ..... نمابر: .....

آدرس: استان: ..... شهر: ..... خیابان: ..... / ..... کوچه: ...../..... پلاک:.....

۱. پذیرش عمومی

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاور ژنتیک از مراکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک صورت می گیرد. در صورتی که پذیرش بیمار با معرفی پزشک متخصص صورت گرفت باید فرم ارجاع از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک تکمیل و توسط خانواده به آزمایشگاه تحویل داده شود. در هنگام پذیرش بیمار مخصوصاً زمانیکه از روشهای غیرمستقیم استفاده می شود هموفیلی A بودن فرد مبتلا باید بدون ابهام محرز شود.

۱.۱. چنانچه بیش از یک فرد مبتلا در خانواده وجود داشته باشد موارد زیر رعایت شود:

۱.۱.۱. حداقل نمونه خون مادر و فرزند مبتلا اخذ شود و بهتر است خون پدر هم اخذ شود. چنانچه افراد دیگری در خانواده نیاز به آزمایش داشته باشند آزمایشگاه از آنها هم خون دریافت کند.

۱.۱.۲. جهت تشخیص مرحله اول تعیین موتاسیون (روش مستقیم) و مطالعه پیوستگی ژنی از جمله STR، VNTR ، RFLP ، SNP (روش غیرمستقیم) ضروریست.

تبصره ۱ : در روش مستقیم برای نوع شدید (درصد فعالیت فاکتور ۸ کمتر از ۱%) اول وارونگی ژنی (Inversion) اینترون هاي ۲۲ و ۱ بررسی شوند و در صورت نیاز موتاسیون فرد مبتلا با روشهای مختلف مانند ARMS و یا SSCP ، DGGE ،CSGE و. .. تعیین توالی و یا مستقیما تعیین توالی صورت گیرد ولی در انواع دیگر (خفیف و متوسط) تعیین موتاسیون صورت گیرد و افراد نامعلوم برای موتاسیون شناخته شده مورد آزمایش قرار گیرند.

تبصره ۲ : در روش غیرمستقیم از محلهاي چند حالتی یا پلي مرفيك AlwnI, BclI, HindIII, XbaI, MspI و ... وSTR هاي اینترونهاي ۱۳ و ۲۲ و یا STR های جدید در داخل یا خارج ژن فاکتور هشت انعقادي و یا VNTR حداقل یک محل گویا باشد (لازم است وجود .

تبصره ۳: چنانچه موتاسیون عامل بیماری و یا وارونگی ژنی مشخص نشد از پیوستگی ژنی استفاده شود.

تبصره ٤: چنانچه هیچ محل گویا پیدا نشود بیمار خانواده براي وارونگي (Inversion) اینترون هاي ۲۲ و ۱ مورد بررسي قرار گیرد.

تبصره ٥ : در صورتي که فرد مبتلا براي وارونگي اینترون هاي ۲۲ و ۱ نرمال بود، کل ژن (اگزونها و اطراف آنها و نواحی تنظیمی ابتدا و انتهای ژن فاکتور هشت انعقادی) برای تعیین موتاسیون باید مورد بررسی قرار گیرد (مثلاً با روشهای مقدماتی مثل SSCP ، DGGE و تعیین توالی و یا با روش تعیین توالی مستقیم).

تبصره ٦ : چنانچه مهلت کافی برای بررسی موتاسیون (با روش مستقیم) وجود نداشت آزمایشگاه می تواند به روش غیرمستقیم اکتفا نماید ولی باید مسیر تعیین موتاسیون را ادامه دهد (برای بارداری بعدی).

۱.۱.۳. در بررسی غیرمستقیم باید مادر و فرزند بیمار در درجه اول مورد بررسی قرار گیرند. آزمایشگاه مجاز است افراد دیگری از خانواده را مورد بررسی قرار دهد (مثلاً فرزند سالم خانواده، افراد بیمار دیگر در خانواده و ....)

۱.۲. **چنانچه فقط یک فرزند مبتلا در خانواده وجود داشته باشد موارد زیر باید رعایت شود.**

۱.۲.۱. حداقل خون مادر (یا خانمي که نیاز به تشخیص وضعیت دارد) و فرد مبتلا مورد نیاز است. در صورتیکه آزمایشگاه صلاح بداند می تواند از سایر افراد خانواده خون اخذ کند.

۱.۲.۲. برای تعیین وضعیت باید تعیین موتاسیون با روشهای مختلف مانند ARMS ، SSCP ، CSGE و DGGE وتعیین توالی صورت گیرد و یا وارونگی ژنی (Inversion) اینترون هاي ۲۲ و ۱ مشخص می شود و افراد نامعلوم برای موتاسیون شناخته شده مورد بررسی قرار گیرند.

تبصره ۱: در صورتي که فرد مبتلا براي وارونگي اینترون هاي ۲۲ و ۱ نرمال بود، کل ژن (اگزونها و اطراف آنها و نواحی تنظیمی ابتدا و انتهای ژن فاکتور هشت انعقادی) برای تعیین موتاسیون باید مورد بررسی قرار گیرد (مثلاً با روشهای مقدماتی مثل SSCP ، DGGE و تعیین توالی و یا با روش تعیین توالی مستقیم).

تبصره ۲: در صورت پیدا کردن موتاسیون (تغییر توالی) آزمایشگاه باید ادله کافی برای بیماریزا بودن تغییر مربوطه را ارائه نماید مثلاً از طریق بررسی مقالات ، بررسی بانک اطلاعاتی موتاسیونهای ژن فاکتور هشت انعقادی ()و یا سایر ادله علمی. در صورت نیاز منابع مورد استفاده ذکر شوند.

۱.۲.۳. بعد از مشخص شدن موتاسیون در مادر فرد مبتلا، تشخیص باید مانند حالت الف (مادر قطعاً ناقل است) ادامه پیدا کند.

۱.۳.چنانچه پدر خانواده مبتلا است

۱.۳.۱. در صورتیکه پدر زنده باشد تعیین موتاسیون و روش غیرمستقیم به شرحی که در بند الف ذکر شد انجام شود.

۱.۳.۲. چنانچه پدر فوت کرده باشد روش مستقیم و غیرمستقیم (در صورت امکان) مانند بند الف یا ب قابل انجام است.

تبصره: در صورتیکه دیگر افراد خانواده مبتلا باشند بر اساس نیاز و ضرورت افراد خانواده مورد بررسی مولکولی قرار می گیرند.چنانچه توارث بیماری بصورت فامیلی باشد بررسی

روش مستقیم و غیرمستقیم و اگر تک موردی باشد روش مستقیم انجام خواهد شد. با توجه به تجربه آزمایشگاه انجام دهنده آزمایشات افراد دیگری از خانواده را ممکن است مورد آزمایش قرار دهد.

۱.٤. نحوه گزارش دهی مرحله اول:

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه و به خانواده، پزشک مراکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره، بیمه و یا هر مرجع ذیصلاح دیگری ارائه دهد. در گزارش حداقل موارد زیر باید رعایت شود.

۱-

۲- شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه

۳- نحوه معرفي به آزمایشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است).

نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی وی (مستقیم و یا غیرمستقیم) مشخص شود.

٤- تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه یعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گیري)

٥- محل نمونه گیري یا ارسال نمونه (اختیاری)

٦- تاریخ گزارش نهایي به خانواده، پزشک و .....

۷- روش آزمایش بکار رفته برای تشخیص (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیر مستقیم مشخص باشد)

تبصره۱: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم (اگر انجام شده باشد) ذکر شود.

۸- نام و نام خانوادگي زوجین (و فرزند مبتلا یا سالم)

۹- در متن فارسي باید به پزشک یا خانواده و ..... اطلاع داده شود که چکار باید بکنند.

۱۰- هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه)

۱۱- آدرس و مشخصات آزمایشگاه

۱۲- نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد.

۲. مرحله دوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی A (تعیین جنسیت جنین)

بعد از انجام مرحله اول قبل از بارداری و یا هنگام بارداری مراحل زیر به ترتیب و در صورت نیاز (مرحله سوم) باید انجام شوند.

۲.۱. برای تعیین جنسیت جنین باید کنترلهای لازم نمونه مرد و زن همراه نمونه جنینی مورد تعیین جنسیت قرار گیرند و آزمایش تعیین جنسیت حداقل ۲ بار تکرار شود (همزمان یا در دو نوبت).

۲.۲. چنانچه جنین دختر باشد و در صورتیکه نتیجه روش غیرمستقیم جنیني و مادر یکسان باشد تعیین هویت انجام گیرد.

تبصره: تعیین هویت مولکولي بطور کلي براي کلیه نمونه هاي جنیني توصیه مي شود.

۲.۳. بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه و به خانواده، پزشک مراکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره، بیمه و یا هر مرجع دیگری ارائه دهد.

۲.٤. در گزارش موارد زیر باید آورده شود.

۱. شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه
۲. نحوه معرفي به آزمایشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است).
۳. نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی (مستقیم و یا غیرمستقیم) وی مشخص شود.
٤. تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه یعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گیري)
٥. محل نمونه گیري یا ارسال نمونه (اختیاری)

٦. تاريخ گزارش نهايي به خانواده، پزشک و .....
٧. وضعيت جنين و در صورتيکه تعيين هويت صورت گرفته شده باشد ذکر شود.
٨. روش آزمايش بکار رفته براى تشخيص (تعيين جنسيت با استفاده از ژن Amelogenin صورت مى گيرد).
٩. نام و نام خانوادگي زوجين (و فرزند مبتلا يا سالم)
١٠. هر گزارش بايد جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضميمه)
١١. آدرس و مشخصات آزمايشگاه
١٢. نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد

٣. مرحله سوم تشخيص قبل از تولد هموفيلى A:

چنانچه فردى قطعاً ناقل هموفيلى A تشخيص داده شده باشد و تشخيص مرحله دوم انجام گرفته شده باشد و جنين پسر باشد تشخيص قبل از تولد مرحله سوم انجام مى شود.

٣.١.تشخيص بر روى نمونه جنين همراه كنترلها و نمونه فرد مبتلا و مادر وى و هر فرد ديگرى كه به نتيجه گيرى كمک مى كند بايد انجام شود.

٣.٢.جنين براى موتاسيون شناخته شده بررسى مى شود.

٣.٣.جنين براى چندحالتى گويا همراه افراد ديگر (بند ١) مورد ارزيابى قرار مى گيرد.

٣.٤.نحوه گزارش دهى مرحله سوم

در گزارش موارد زير بايد آورده شود

١. شماره پرونده خانواده در آزمايشگاه
٢. نحوه معرفي به آزمايشگاه (چه كسي خانواده را معرفي كرده است)
٣. نام و نام خانوادگى فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاييكه مورد آزمايش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدين فرد مبتلا و ساير افراد مورد آزمايش به صلاحديد آزمايشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردى آورده مى شود مى بايست وضعيت مولكولى (مستقيم و يا غيرمستقيم) مشخص شود.

٤. باید در گزارش زمان مراجعه، سن بارداری زمان مراجعه، زمان نمونه گیری از جنین، زمان اعلام نتیجه نهايي در گزارش آورده شود
٥. تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه يعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گيري)
٦. محل نمونه گيري یا ارسال نمونه (اختیاری)
٧. تاریخ گزارش نهايي به خانواده، پزشک و ....
٨. روش آزمایش بکار رفته برای تشخیص (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیر مستقیم مشخص باشد)
٩. روش یا روشهاي تشخیص مولکولي (مثلاً مستقیم، غیرمستقیم یا هر دو)
١٠. نام و نام خانوادگي زوجین (و فرزند)
١١. تبصره: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم (اگر انجام شده باشد) ذکر شود.
١٢. در متن فارسي باید به پزشک یا خانواده و ..... اطلاع داده شود که چکار باید بکنند.
١٣. هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه)
١٤. آدرس و مشخصات آزمایشگاه
١٥. نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد.

٤. مرحله اول و دوم و سوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی A (مواردیکه بیش از یک فرد مبتلا در خانواده وجود دارد یا پدر مبتلا است).

هرگاه خانمی که قطعاً ناقل است و برای مرحله اول تا سوم هموفیلی A مراجعه کرده است موارد زیر باید رعایت شود.

٤.١. در صورت وجود وقت کافی تعیین موتاسیون به شرطی که در مرحله اول گفته شد انجام می گیرد.

٤.٢.تشخیص به روش غیرمستقیم در هر صورت باید انجام شود و اگر گویا نباشد اول تعیین جنسیت و اگر جنین پسر بود روش مستقیم انجام شود. (در صورتیکه در زمان مراجعه جنین ١٠ هفته یا بیشتر سن داشته باشد) تعیین جنسیت در اولویت است ولی

روشهای دیگر باید ادامه پیدا کند (برای مرحله احتمالی سوم یا بارداریهای بعدی).
در صورتیکه جنین دختر بود مانند مرحله دوم عمل شود.

٤.٣.در صورتیکه پسر بود مانند مرحله سوم عمل شود.

٤.٤.نحوه گزارش اول و دوم و یا اول تا سوم

١. شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه
٢. نحوه معرفي به آزمایشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است)
٣. نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی (مستقیم و یا غیرمستقیم) وی مشخص شود.
٤. تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه یعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گیري)
٥. محل نمونه گیري یا ارسال نمونه (اختیاری)
٦. تاریخ گزارش نهایي به خانواده، پزشک و .....
٧. روش آزمایش بکار رفته برای تشخیص (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیر مستقیم مشخص باشد .
٨. چنانچه جنین دختر بود مانند مرحله دوم ذکر شود و اگر پسر بود وضعیت وی مشخص شود.
٩. نام و نام خانوادگي زوجین (و فرزند)
١٠. تبصره: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم اگر انجام شده باشد ذکر شود.
١١. در متن فارسي باید به پزشک یا خانواده و ..... اطلاع داده شود که چکار باید بکنند.
١٢. هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه)
١٣. آدرس و مشخصات آزمایشگاه
١٤. نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد.

٥. در مواردیکه خانم برای مرحله اول تا سوم مراجعه کرده و فقط یک فرد مبتلا در خانواده وجود دارد و ناقل بودن وی هنوز مشخص نیست (مانند مادر در یک فرد مبتلا یا خواهر یک فرد مبتلا).

۵.۱. اول جنین به شرحی که در مرحله دوم PND ذکر شد تعیین جنسیت می شود.

۵.۲.اگر جنین پسر باشد باید تعیین موتاسیون صورت گیرد یا تعیین بیمار یا سالم بودن وی مشخص شود.

۵.۳.نحوه گزارش مانند مرحله اول و دوم و سوم توام خواهد بود. باید سن بارداری در زمان مراجعه و زما ن نمونه گیری و زمان نمونه گیری و زمان اعلام گزارش (نتیجه کار) در گزارش نهايي آورده شود.

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be in DNA analysis. Incorrect diagnosis may **risk of errors** aware of the result from (۱) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (۲) Incomplete family studies and history (۳) Mix-up of (٤)Paternity DNA or blood samples both in transportation or in the lab problems, adoptions, IVF (۵) Maternal contamination of CVS (٦) Rare .molecular events (۷) New or spontaneous mutations (۸) Technical errors of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately ۰.۳%. The risk of error from various reasons mentioned above and several other factors is approximately ۰.۵% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ۰.۵%. However, if indirect methods are used the risk of errors may raise up to ۵% due to crossing over.

We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

دستورالعمل کشوری

تشخیص ناقلین و قبل از

تولد هموفیلی B

رعایت کلیه موارد ذکر شده دراین برنامه راهبردی برای کلیه آزمایشگاههای عضو شبکه الزامی است و در بازدید های ادواری رعایت موارد زیر بر اساس چک لیست ها مورد ارزیابی و بازدید قرار خواهد گرفت. برای آزمایشگاههایئکه قصد دارند تقاضای عضویت کنند و یا در زمینه های ذکر شده فعالیت می کنند اکیداًرعایت موارد مزبور توصیه می شود و هنگام بررسی تقاضا و بازدیدها بعنوان امتیاز تلقی خواهد گردید.

۱. تشخیص ناقلین و قبل از تولد هموفیلی B مرحله اول

پذیرش عمومی

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاور ژنتیک از مراکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک صورت می گیرد. در صورتی که پذیرش بیمار با معرفی پزشک متخصص صورت گرفته باشد باید فرم ارجاع از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک تکمیل و توسط خانواده به آزمایشگاه تحویل داده شود.

در هنگام پذیرش بیمار مخصوصاً زمانیکه از روشهای غیرمستقیم استفاده می شود بیمار هموفیلی B بودن فرد مبتلا باید بدون ابهام محرز شود.

۱.۱. چنانچه بیش از یک فرد مبتلا در خانواده وجود داشته باشد موارد زیر رعایت شود:

۱.۱.۱ حداقل نمونه خون مادرو فرزند مبتلا اخذ شود و بهتر است خون پدر هم اخذ شود. چنانچه افراد دیگری در خانواده نیاز به آزمایش داشته باشند آزمایشگاه از آنها هم خون دریافت کند.

۱.۱.۲. جهت تشخیص مرحله اول آزمایشگاه می تواند از روش تعیین موتاسیون (روش مستقیم) یا مطالعه پیوستگی ژنی از جمله VNTR، SNP ، RFLP و SNP (روش غیرمستقیم) و یا هر دو استفاده کند. البته توصیه میشود هر دو روش به کار گرفته شود.

تبصره ۱ : در روش مستقیم اول موتاسیون فرد مبتلا با روشهای مختلف مانند ARMS و یا SSCP ، DGGE و ... و تعیین توالی و یا مستقیما تعیین توالی صورت می گیرد و افراد نامعلوم برای موتاسیون شناخته شده مورد آزمایش قرار گیرند.

تبصره۲: پس از تعیین موتاسیون شماره گذاری بازها و تغییر اسید آمینه ای مربوط به آن بایستی بر اساس رفرانس زیر گزارش شود:

Yoshitake S, Shach BG, Foster DC, Davie EW and Kurachi K. Nucleotide sequence of the gene for human factor IX (antihemophilic factor B). Biochemistry ۱۹۸۵; ۲٤: ۳۷۳٦-۵۰.

تبصره ۲: در صورت پیدا کردن موتاسیون (تغییر توالی) آزمایشگاه باید ادله کافی برای بیماریزا بودن تغییر مربوطه ارائه نماید مثلاً از طریق بررسی مقالات ، بررسی بانک اطلاعاتی موتاسیونهای ژن فاکتور نه انعقادی (www.kcl.ac.uk/ip/petegreen/haemBdatabase.html)و یا سایر ادله علمی. در صورت نیاز منابع مورد استفاده ذکر شوند.

تبصره ۳ : در روش غیرمستقیم از VNTR محل DdeI و RFLPهاي Taq I ، HhaI، Mn۱I و... استفاده و حداقل یک محل گویا باشد.

تبصره ٤: در بررسی غیرمستقیم باید مادرو فرزند بیمار در درجه اول مورد بررسی قرار گیرند. آزمایشگاه مجاز است افراد دیگری از خانواده را مورد بررسی قرار دهد (مثلاً فرزند سالم خانواده، افراد بیمار دیگر در خانواده و ....).

۱.۲. چنانچه فقط یک فرد مبتلا در خانواده وجود داشته باشد موارد زیر باید رعایت شود.

۱.۲.۱. حداقل خون مادر (یا خانمي که نیاز به تشخیص وضعیت دارد) و فرد مبتلا مورد نیاز است. در صورتیکه آزمایشگاه صلاح بداند می تواند از سایر افراد خانواده خون اخذ کند.

۱.۲.۲. برای تعیین وضعیت باید تعیین موتاسیون با روشهای مختلف مانند ARMS ، SSCP ، DGGE و تعیین توالی و یا مستقیما تعیین توالی صورت گیرد و افراد نامعلوم برای موتاسیون شناخته شده مورد بررسی قرار گیرند.

۱.۲.۳. بعد از مشخص شدن موتاسیون در مادر فرد مبتلا، تشخیص باید مانند حالت الف (مادر قطعاً ناقل است) ادامه پیدا کند.

۱.۳. چنانچه پدر خانواده مبتلا است

۱.۳.۱. در صورتیکه پدر زنده باشد تعیین موتاسیون و روش غیرمستقیم به شرحی که در بند الف ذکر شد انجام شود.

۱.۳.۲. چنانچه پدر فوت کرده باشد روش مستقیم و غیرمستقیم (در صورت امکان) مانند بند الف یا ب قابل انجام است.

تبصره: در صورتیکه دیگر افراد خانواده مبتلا باشند بر اساس نیاز و ضرورت افراد خانواده مورد بررسی مولکولی قرار می گیرند. چنانچه توارث بیماری بصورت فامیلی باشد بررسی روش مستقیم و غیرمستقیم و اگر تک موردی باشد روش مستقیم انجام خواهد.

۱.٤. نحوه گزارش دهی مرحله اول:

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه و به خانواده، پزشک مراکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره، بیمه و یا هر مرجع دیگری ارائه دهد. در گزارش حداقل موارد زیر باید رعایت شود.

۱. شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه
۲. نحوه معرفي به آزمایشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است).
۳. نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه)

آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی (مستقیم و یا غیرمستقیم) وی مشخص شود.

٤. تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه یعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گیري)

٥. محل نمونه گیري یا ارسال نمونه (اختیاری)

٦. تاریخ گزارش نهایي به خانواده، پزشک و .....

٧. روش یا روشهاي تشخیص مولکولي (مثلاً مستقیم یا غیرمستقیم و یا هر دو).

تبصره: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم (اگر انجام شده باشد) ذکر شود.

٨. نام و نام خانوادگي زوجین (و فرزند مبتلا یا سالم)

٩. در گزارش باید به پزشک ارجاع کننده مشورت لازم داده شود.

١٠. آدرس و مشخصات آزمایشگاه

١١. نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد.

١٢. هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه)

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be in DNA analysis. Incorrect diagnosis may **risk of errors** aware of the result from (١) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (٢) Incomplete family studies and history (٣) Mix-up of (٤)Paternity DNA or blood samples both in transportation or in the lab problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare .molecular events (٧) New or spontaneous mutations (٨) Technical errors of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism The risk is approximately ٠.٣%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ٠.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ٠.٥%.

We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

۲. مرحله دوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی B (تعیین جنسیت جنین)

بعد از انجام مرحله اول قبل از بارداری و یا هنگام بارداری مراحل زیر به ترتیب و در صورت نیاز (مرحله سوم) باید انجام شوند. از آنجا که انجام آزمایش ناقلین برای جنینهای دختر ضرورتی ندارد لذا مرحله سوم فقط برای جنینهای پسر باید صورت گیرد.

۲.۱. برای تعیین جنسیت جنین باید کنترلهای لازم نمونه مذکر و مؤنث همراه نمونه جنینی مورد تعیین جنسیت قرار گیرند و آزمایش تعیین جنسیت حداقل ۲ بار تکرار شود (همزمان یا در دو نوبت).

۲.۲. چنانچه جنین دختر باشد تعیین هویت انجام گیرد (برای رد احتمال آلودگی با نمونه مادری).

تبصره: تعیین هویت مولکولي بطور کلي براي کليه نمونه هاي جنيني توصيه مي شود.

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه و به خانواده، پزشک مراکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره، بیمه و یا هر مرجع دیگری ارائه دهد.

۲.۳. نحوه گزارش دهی مرحله دوم

در گزارش موارد زیر باید آورده شود.

۱- شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه

۲- نحوه معرفي به آزمايشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است).

۳- نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی (مستقیم و یا غیرمستقیم) وی مشخص شود.

٤-تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه يعني تاريخ دريافت نمونه يا نمونه گيري)

٥- محل نمونه گيري يا ارسال نمونه (اختیاری)

٦- تاريخ گزارش نهايي به خانواده، پزشک و .....

۷- روش آزمایش بکار رفته برای تشخیص (تعیین جنسیت با استفاده از ژن Amelogenin صورت می گیرد).

۸- وضعیت جنین و در صورتیکه تعیین هویت صورت گرفته شده باشد ذکر شود.

۹- در گزارش باید به پزشک ارجاع کننده مشورت لازم داده شود.

۱۰- نام و نام خانوادگي زوجين (و فرزند مبتلا يا سالم)

۱۱- آدرس و مشخصات آزمايشگاه

۱۲- نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد

۱۳- هر گزارش بايد جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضميمه)

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be aware of the **risk of errors** in DNA analysis. Incorrect diagnosis may result from (۱) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (۲) Incomplete family studies and history (۳) Mix-up of DNA or blood samples both in transportation or in the lab (٤)Paternity problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare molecular events (۷) New or spontaneous mutations (۸) Technical errors. The risk of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately ۰.۳%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ۰.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ۰.٥%.
We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

۳. مرحله سوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی B

چنانچه فردی قطعاً ناقل هموفیلی تشخیص داده شده باشد و تشخیص مرحله دوم انجام گرفته شده باشد و جنین پسر باشد تشخیص قبل از تولد مرحله سوم انجام می شود.

۳.۱. تشخیص بر روی نمونه جنینی همراه کنترلها و نمونه فرد مبتلا و مادر وی و هر فرد دیگری که به نتیجه گیری کمک می کند باید انجام شود.

۳.۲. جنین برای موتاسیون شناخته شده بررسی شود.

۳.۳. جنین برای چند حالتی گویا همراه افراد دیگر (بند ۱) مورد ارزیابی قرار گیرد.

۳.٤. نحوه گزارش دهی مرحله سوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی B

در گزارش موارد زیر باید آورده شود.

۱- شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه

۲- نحوه معرفي به آزمایشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است)

۳- نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی (مستقیم و یا غیرمستقیم) مشخص شود.

٤- تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه یعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گیري)

٥- محل نمونه گیري یا ارسال نمونه (اختیاری)

٦- تاریخ گزارش نهایي به خانواده، پزشک و ....

باید در گزارش زمان مراجعه، سن بارداری زمان مراجعه، زمان نمونه گیری از جنین، زمان اعلام نتیجه نهایي در گزارش آورده شود.

۷- روش آزمایش بکار رفته برای تشخیص (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیر مستقیم مشخص باشد)

۸- نام و نام خانوادگي زوجین (و فرزند)

تبصره: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم (اگر انجام شده باشد) ذکر شود.

۹- در متن فارسي باید به پزشک یا خانواده و ..... اطلاع داده شود که چکار باید بکنند.

۱۰- آدرس و مشخصات آزمایشگاه

۱۱- نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد.

۱۲- هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه)

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be in DNA analysis. Incorrect diagnosis may risk of errors aware of the result from (١) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (٢) Incomplete family studies and history (٣) Mix-up of (٤)Paternity DNA or blood samples both in transportation or in the lab problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare .molecular events (٧) New or spontaneous mutations (٨) Technical errors of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism The risk is approximately ٠.٣%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ٠.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ٠.٥%.
We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

٤. مرحله اول و دوم و سوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی B (مواردیکه بیش از یک فرد مبتلا در خانواده وجود دارد یا پدر مبتلا است).

هرگاه خانمی که قطعاً ناقل است و برای مرحله اول تا سوم هموفیلی B مراجعه کرده است موارد زیر باید رعایت شود.

٤.١. در صورت وجود وقت کافی تعیین موتاسیون به شرایطی که در مرحله اول گفته شد انجام می گیرد.

٤.٢. تشخیص به روش غیرمستقیم در هر صورت باید انجام شود و اگر گویا نباشد اول تعیین جنسیت و اگر جنین پسر بود روش مستقیم انجام شود. (در صورتیکه در زمان

مراجعه جنین ۱۰ هفته یا بیشتر سن داشته باشد) تعیین جنسیت در اولویت است ولی روشهای دیگر باید ادامه پیدا کند (برای مرحله احتمالی سوم یا بارداریهای بعدی). در صورتیکه جنین دختر بود مانند مرحله دوم عمل شود.

۴.۳. در صورتیکه پسر بود مانند مرحله سوم عمل شود.

۴.۴. نحوه گزارش اول و دوم و یا اول تا سوم

۱- روش آزمایش بکار رفته برای تشخیص (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیر مستقیم مشخص باشد)

۲- شماره پرونده خانواده در آزمایشگاه

۳- نحوه معرفي به آزمایشگاه (چه کسي خانواده را معرفي کرده است)

نام و نام خانوادگی فرد مورد مشاوره و فرد مبتلاییکه مورد آزمایش قرار گرفته (در صورت لزوم نام والدین فرد مبتلا و سایر افراد مورد آزمایش به صلاحدید آزمایشگاه) آورده شود. چنانچه نام فردی آورده می شود می بایست وضعیت مولکولی (مستقیم و یا غیرمستقیم) وی مشخص شود.

٤- تاریخ مراجعه خانواده (اولین بار) (تاریخ مراجعه یعني تاریخ دریافت نمونه یا نمونه گیري)

٥- محل نمونه گیري یا ارسال نمونه (اختیاری)

٦- تاریخ گزارش نهایي به خانواده، پزشک و .....

۷- روش یا روشهاي تشخیص مولکولي (مستقیم و یا غیرمستقیم و یا هر دو)

۸- چنانچه جنین دختر بود مانند مرحله دوم ذکر شود و اگر پسر بود وضعیت وی مشخص شود.

۹- نام و نام خانوادگي زوجین (و فرزند)

تبصره: در هر صورت در گزارش فارسي یا انگلیسي مي بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسي غیر مستقیم اگر انجام شده باشد ذکر شود.

۱۰- در متن فارسي باید به پزشک یا خانواده و ..... اطلاع داده شود که چکار باید بکنند.

۱۱- آدرس و مشخصات آزمایشگاه

۱۲- نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني باشد.

۱۳- هر گزارش باید جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضمیمه)

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be in DNA analysis. Incorrect diagnosis may risk of errors aware of the result from (١) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (٢) Incomplete family studies and history (٣) Mix-up of (٤)Paternity DNA or blood samples both in transportation or in the lab problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare .molecular events (٧) New or spontaneous mutations (٨) Technical errors of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism The risk is approximately ٠.٣%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ٠.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ٠.٥%.
We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

٥. مرحله اول و دوم و سوم تشخیص قبل از تولد هموفیلی B (مواردیکه فقط یک فرد مبتلا در خانواده وجود دارد).

در مواردیکه خانم برای مرحله اول تا سوم مراجعه کرده و فقط یک فرد مبتلا در خانواده وجود دارد و ناقل بودن وی هنوز مشخص نیست (مانند مادر در یک فرد مبتلا یا خواهر یک فرد مبتلا).

٥.١. اول جنین به شرحی که در مرحله دوم PND ذکر شد تعیین جنسیت می شود.

٥.٢. اگر جنین پسر باشد باید تعیین موتاسیون صورت گیرد و تشخیص فقط از طریق موتاسیون انجام شود برای تعیین موتاسیون به شرحی که در مرحله اول ذکر شد اقدام شود.

۵.۳. نحوه گزارش مانند مرحله اول و دوم و سوم توام انجام شود. باید سن بارداری در زمان مراجعه و زمان نمونه گیری و زمان نمونه گیری و زمان اعلام گزارش (نتیجه کار) در گزارش نهایي آورده شود.

دستورالعمل کشوری تشخیص ناقلین و قبل از تولد فنیل کیتونوری (PKU)

پذيرش عمومي:

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاوره ژنتیک از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک صورت می گیرد. در صورتي كه پذيرش بيمار با معرفی پزشک متخصص صورت گرفته است ، باید فرم ارجاع از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک تکمیل و توسط خانواده به آزمایشگاه تحویل داده شود.

۱. **تشخيص قبل از تولد فنيل كتونوري PKU - مرحله اول**

۱.۱. جهت شروع آزمایشات نمونه خون از افراد زیر گرفته شود: فرد مبتلا، پدرو مادر فرد مبتلا، حداقل يك فرزند سالم خانواده در صورت وجود و افراد ناقل احتمالي (مشكوك).

۱.۲. در صورتیکه آزمایش PND براي همان خانواده انجام نمی شود بر حسب ضرورت از بستگان خانواده خون گرفته شود.

۱.۳. تشخیص ناقلین و قبل از تولد PKU با استفاده از روشهای زیر صورت می گیرد:

۱.۳.۱. روش غیرمستقیم

برای استفاده از روشهای غیر مستقیم می توان از محلهای زیر استفاده کرد (VNTR ، STRs ، SNP ها).

۱.۳.۲. روش مستقیم

۱.۳.۲.۱. در روش مستقیم در ابتدا موتاسیونهای زیر مورد بررسی قرار گیرند
S٦٧P, IVS١٠nt٥٤٦, L٣٣٣F, ,L٣٦٤del, R٢٦١Q,)
.(R٢٥٢W,R٢٦١X, R٤٠٨W, R٤٠٨Q, IVS١١nt?

تبصره ۱: انتخاب موتاسیونهای بالا فقط پیشنهاد است و آزمایشگاه ها بر اساس تجربه شخصی می توانندعمل کنند.

تبصره۲: براي نام گذاري موتاسيون ها و نوع آنها به سايت زير مراجعه شود:
http://www.pahdb.mcgill.ca

۱.۳.۲.۲. برای بررسی سایر موتاسیونها می توان از روش های نظیر SSCP,CSGE و ... و سپس Sequencing و یا مستقیماً sequencing استفاده کرد.

تبصره: در صورتیکه موتاسیون مشخص نشود و هاپلوتایپ گویا نباشد می توان از هریک از چندحالتی های گویا (Informative Polymorphic Markers) برای نتیجه گیری استفاده کرد (در چنین شرایطی PKU کلاسیک بودن محرز شود).چنانچه آزمایشگاه حدس می زند که علت حذف ژنی باشد می تواند از Real Time PCR و یا روشهای مشابه استفاده کند.

۱.٤. گزارش مرحله اول فنيل كتونوري:

بعد از انجام آزمايشات فوق آزمايشگاه مي بايست گزارش كتبي تهيه كند و به خانواده، پزشک، مرکز بهداشتي و درماني ويژه مشاوره ژنتيک و يا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

گزارش مرحله اول باید شامل موارد زیر باشد.

۱- نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲- شماره پرونده
۳- نحوه معرفي به آزمايشگاه (چه كسي خانواده را معرفي كرده است)
٤- آدرس و مشخصات آزمايشگاه (گزارش در سربرگ آزمايشگاه نوشته شود)
٥- تاريخ اولين مراجعه خانواده (تاريخ دريافت نمونه يا نمونه گيري)
٦- محل نمونه گيري يا ارسال نمونه
۷- تاريخ گزارش نهايي
۸- روش يا روشهاي تشخيص مولكولي بر اساس دستورالعمل
۹- نتیجه بررسی روشهای مولکولی (غیر مستقیم مثلاً VNTR و .....، روش مستقیم مثلاً IVS۱۰nt٥٤٦)

تبصره: در هر صورت در گزارش فارسی یا انگلیسی می بایست نام روش غیرمستقیم و نیز روش مستقیم ذکر شود.

۱۰- در متن فارسي امكان يا عدم امكان تشخيص قبل از تولد و زمان مراجعه بايد ذكر شود.
۱۱- هر گزارش بايد جملاتي در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد (ضميمه)
۱۲- نام و نام خانوادگي و امضاء و مهر مسئول فني .

۲. تشخيص قبل از تولد PKU - مرحله دوم

مرحله دوم براي كساني است كه مرحله اول را قبل از بارداري و يا در قبل از هفته دهم بارداري انجام داده اند.

۲.۱. نمونه جنيني مي بايست به همراه DNA والدين براي تعيين موتاسيون و روش غيرمستقيم (به شرحي كه در مرحله اول PND ذكر شده) مورد آزمايش قرار گيرد. نمونه جنيني براي موتاسيون والدين مي بايست حداقل ۲ بار مورد آزمايش قرار گيرد. استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است.

۲.۲. چنانچه در زمان نمونه گيري از جنين سن جنين بيش از ١٤ هفته باشد توصيه مي شود كه نمونه جنيني جهت تعيين موتاسيون مورد بررسي قرار گيرد. در صورتی كه تعيين وضعيت جنين تنها با يک روش (مستقيم يا غيرمستقيم، به دليل كمبود وقت يا مشخص نبودن جهش يا نداشتن جايگاه گويا در خانواده) انجام می گيرد، آزمايشات لازم بر روی نمونه جنينی می بايست حداقل ۲ بار تكرار شوند. توصيه می شود آزمايشگاه بررسی های خود را جهت تكميل ژنوتيپ يا هاپلوتيپ، برای بارداريهای احتمالی بعدی انجام دهد.

تبصره۱- چنانچه در بررسي مرحله دوم يا اول و دوم موتاسيون در يكي يا هر دو والد مشخص نباشد و فرصت بررسي دقيق مانند تعيين توالی وجود نداشت و يا به نتيجه نرسيد استفاده از روش غيرمستقيم مجاز مي باشد و بالعكس.

تبصره ۲- چنانچه آزمايشگاه محيطي در مرحله اول و دوم و يا دوم ظرف دو هفته نتوانست به نتيجه برسد ضمن ادامه آزمايشات مي بايست نمونه والدين و جنيني و ..... را طي نامه رسمي به همراه نتايج آزمايشات بيوشيميائی و نتايج بررسيهاي مولكولي به عمل آمده را به آزمايشگاه مرجع ارسال دارد. آزمايشگاه مرجع ظرف حداكثر يک هفته مي بايست امكان يا عدم امكان تشخيص را كتباً به آزمايشگاه محيطي اعلام نمايد.

تبصره ۳ – چنانچه با فرض تبصره ۲(بالا) آزمايشگاه نتواند به موقع وضعيت جنين را مشخص كند گزارش به همراه دليل عدم تشخيص قطعي و احتمال خطر ظرف يک هفته بعداز نمونه گيری جنين به خانواده داده شود.

۲.۳.نحوه گزارش مرحله دوم PKU

۱- نام و نام خانوادگی زوجين (و فرزند)
۲- شماره پرونده
۳- نحوه معرفي به آزمايشگاه (چه كسي خانواده را معرفي كرده است)
۱۵- تاريخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و يا اول و دوم) مشخص شود.
۱٦- محل نمونه گيري از والدين و يا ارسال نمونه
۱۷- نوع نمونه جنيني و پزشک نمونه گير
۱۸- آدرس و مشخصات آزمايشگاه (گزارش در سربرگ آزمايشگاه نوشته شود)
۱۹- تاريخ و سن جنين در هنگام نمونه برداري
۲۰- تاريخ صدور گزارش
۲۱- نتيجه روش غيرمستقيم والدين (فرزند مبتلا يا ناقل) و جنين
۲۲- نتيجه موتاسيون والدين (فرزند مبتلا يا ناقل) و جنين.

۲۳- نتيجه گيري نهايي وضعيت جنين و توضيح اينكه سالم، مبتلا يا ناقل است.
۲٤- Disclaimer (ذكر احتمال خطا)
۲٥- نام و نام خانوادگی، امضاء و مهر مسئول فنی

It is of outmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, and the families themselves to be aware of the risk of errors in DNA analysis. Incorrect diagnosis may result from (۱) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (۲) Incomplete family studies and history (۳) Mix-up of DNA or blood samples both in transportation or in the lab (٤)Paternity problems, adoptions, IVF (٥) Maternal contamination of CVS (٦) Rare molecular events (۷) New or spontaneous mutations (۸) Technical errors.
The risk of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately ۰.۳%. The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately ۰.٥% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be ۰.٥%.
We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

۳. تشخیص قبل از تولد مرحله اول و دوم PKU

چنانچه در هنگام اولین مراجعه خانواده به مرکز PND خانم باردار باشد (معمولا از طریق سونوگرافی مشخص می شود و بعد از هفته هفتم می باشد) مرحله اول و دوم تواماً بر اساس پروتکلهای تدوین شده فوق انجام خواهد شد.

تبصره: در صورت کمی وقت آزمایشگاه می بایست موتاسیونهای شایع در کشور را مورد بررسی قرار دهد و از روشهای غیر مستقیم کمک گیرد. چنانچه استفاده از روش غیر مستقیم مبنای تصمیم گیری است PKU کلاسیک بودن باید محرز شود.

۱-٦-۱ گزارش مرحله اول و دوم PKU

بعد از انجام آزمایشهای ذکر شده (بر اساس پروتکل تدوین شده) آزمایشگاه مي بایست گزارش کتبي تهیه کرده و به خانواده، پزشک مرکز بهداشتي، درماني ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

نحوه ارئه گزارش مانند مرحله دوم خواهد بود.

برنامه جامع کنترل بیماریهای ژنتیک (بیماری اختصاصی، .....)، فرم شماره (3) ، PND / بررسی ژنتیک

دانشگاه علوم پزشکی: .....

مرکز بهداشتی درمانی ویژه مشاوره ژنتیک: ..... تلفن: ..... نمابر : .....

آدرس: استان: ..... شهر : ..... خیابان:..... / ..... کوچه: ...../...../..... پلاک:.....

نام و نام خانوادگی مشاور ژنتیک (ارجاع دهنده): ..... تاریخ ارجاع: ...../...../.....

نام بیماری مرتبطو علت ارجاع : ..... نوع استراتژی کنترل بیماری: .....

نام و نام خانوادگی / تاریخ : ..... /

بخش اول — **الف ، مشخصات و آزمایشات قبلی**

فرد	نام و نام خانوادگی	تاریخ تولد	تحصیلات	محل تولد		دین	قومیت	قومیت والدین		استان محل تولد والدین	
				شهر	استان			پدر	مادر	پدر	مادر
زن											
مرد											

سال ازدواج : ..... **نسبت خویشاوندی**: ..... **تعداد فرزندان مبتلا (به این بیماری)**: ..... **تعداد فرزندان سالم**: .....

خانم باردار است: **بلی** £ **(سن جنین به هفته** (LMP) : ..... **نوبت بارداری** : ..... **نوبت PND** : .....) **خیر** £ **علت ارجاع** : .

نشانی محل سکونت : **استان**: ..... **شهر**: ..... **روستا**: ..... **تلفن** 1) : .....
2).....

نوع بیمه: ..... **مشمول تسهیلات ویژه** : **خیر** £ **بله** £ **بهداشت ارجاع دهنده**: %

ب ، نتایج آزمایشات غیر ژنتیک

فرد	اولیه	تکمیلی (مرحله اول)	تکمیلی (مرحله دوم)
زن			
مرد			
تذکر:	در بیماری تالاسمی به ترتیب اول MCV بعد MCH و بعد HbA2 نوشته شود.		

ج ، نتایج PND (و بررسی ژنتیک قبلی)

سابقه PND قبلی؟ ندارد £ **دارد** £ **تعداد PND** : ..... **جنین بیمار** : ..... **(جنین سقط شده** : .....) **جنین سالم**: ..... **جنین ناقل**:.....

سابقه بررسی موتاسیون؟ ندارد £ **دارد** £ **افراد بررسی شده و نتایج به تفکیک** : .....

بخش دوم

شماره پرونده: ..... **تاریخ پذیرش**: ...../...../..... **تاریخ اعلام نتیجه نهایی**: ...../...../.....

نوع نمونه و تاریخ نمونه گیری :.....

نتایج بررسی موتاسیون (مستقیم و غیر مستقیم) و PND

فرد	نام و نام خانوادگی	نام موتاسیون	بررسی غیر مستقیم (نام محل های گویا)	تشخیص نهایی
زن				
مرد				
جنین				

پیشنهاد نهایی :
.....

نام و نام خانوادگی مسئول فنی آزمایشگاه : ..... **مهر آزمایشگاه** :

نحوه برخورد با نمونه جنینی

۱. نمونه جنینی می بایست توسط افراد و یا مراکز مورد تائید اخذ شود. نام مراکز هر ساله توسط اداره ژنتیک اعلام خواهد شد.
۲. نمونه ها می بایست همراه کد و نام خانم مورد بررسی(مادر) تحویل آزمایشگاه شوند. در غیر این صورت مسئولیت پزیرش با آزمایشگاه می باشد ولی این مورد باید در پرونده درج و به خانواده اطلاع داده شود و تعیین هویت برای اینگونه نمونه ها اجباریست.
۳. نمونه جنینی باید توسط افراد واجد شرایط و آموزش دیده مورد دستورزی و یا تمیز کردن قرار گیرد.
٤. نمونه CV باید زیر میکروسکوپ وارونه و یا استریو میکروسکوپ تمیز و جداسازی شود.
٥. در صورتیکه جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادر باشد تعیین هویت جنین ضروری می باشد (تعیین هویت مولکولی بطور کلی برای کلیه نمونه های جنینی توصیه می شود).
٦. چنانچه نمونه جنینی مایع آمنیون باشد غیر از بررسی مولکولی از جمله تعیین موتاسیون و روش غیر مستقیم (ذکر شده در مرحله اول) باید کشت شود و بررسی بر روی سلولهای کشت داده شده باید انجام گیرد و همچنین تعیین هویت DNA typing و یا Fingerprinting صورت گیرد.
۷. برای خانمهایی که در زمان نمونه گیری جنین حداقل ۳۵ سال سن دارند (در صورت توافق خانواده) جهت اختلال کروموزومی نیز بررسی های لازم صورت پذیرد.
۸. بررسی کروموزومی برای CVS نیز مانند مایع آمنیون خواهد بود.

تبصره ۱- برای خانمهای زیر ۳۵ سال بررسی کروموزومی به خانواده در صورت واجد اندیکاسون بودن (مثلا از طریق آزمایشات Quadriple test) توصیه می شود (توضیح کافی مبنی بر عدم پوشش بیمه باید به صورت کاملاً و شفاف به خانواده توضیح داده شود).
تبصره ۲- در صورتیکه نمونه برای اختلال کروموزومی بررسی می شود کشت نمونه باید انجام و در صورت ابتلا جنین به بیماری مورد آزمایش، بررسی کروموزومی متوقف شود. در صورت درخواست خانواده مبنی بر عدم سقط جنین مبتلا به بیماری مورد آزمایش بررسی کروموزومی می تواند ادامه یابد.

آزمایشگاه مرجع کشوری تشخیص پیش از تولد و ناقلین بیماریهای ژنتیکی

1. نحوه انتخاب آزمایشگاه مرجع کشوری:

1.1.از میان مراکز ژنتیک پزشکی کشور (دولتی یا خصوصی) که از تجربه مناسبی در خصوص تشخیص ناقلین و قبل از تولد بیماریهای ژنتیکی برخوردارند و دارای متخصصینی با تجربه و دارای تجهیزات مناسب هستند دو مرکز به عنوان مرجع انتخاب که یکی به عنوان اصلی و دیگری به عنوان کمکی خواهد بود. کمیته فنی تشخیص پیش از تولد می تواند برای هر بیماری و یا چند بیماری یک مرکز را به عنوان مرجع انتخاب نماید.

1.2.انتخاب مرکز یا مراکز مرجع بر اساس دارا بودن بهترین شرایط برای بیماریهای مورد نظر است. انتخاب مرکز مرجع برای بار اول به مدت 2 سال و انتخاب مجدد بلامانع خواهد بود.

1.3.چنانچه آزمایشگاه مورد نظر برای مرجعیت دارای شرایط لازم تضمین کیفیت نبود جهت استقرار وپیاده سازی ضوابط و معیارهای این دستور العمل به آن آزمایشگاه 6 ماه فرصت داده می شود تا شرایط لازم تضمین کیفیت را کسب نماید. در خلال این 6 ماه دو بار از آزمایشگاه بازدید به عمل می آید. ارزیابی، تایید یا رد و یا طبقه بندی آزمایشگاه مرجع در پایان این 6 ماه انجام می شود.

2. نحوه لغو مرجعیت آزمایشگاه مرجع کشوری:

2.1.چنانچه آزمایشگاه مرجع در طی دو بازدید و یا در پی شکایت از طرف آزمایشگاه های محیطی و تائید کمیته فنی نتوانست به وظایف تعیین شده عمل کند مرجعیت آن لغو خواهد شد و آزمایشگاه دیگری ظرف مدت حد اکثر 2 ماه انتخاب خواهد شد.

3. وظایف آزمایشگاه مرجع عبارت است از :

3.1.پاسخگویی به رفع مشکلات و نیازهای برنامه کشوری در بعد آزمایشگاهی به نحویکه مشکلات آزمایشگاه های عضو شبکه آزمایشگاه های تشخیص پیش از تولد را در راستای کنترل بیماری مورد نظر بتواند حل کند.

آزمایشگاه مرجع در ابعاد زیر به رفع مشکلات و پاسخگویی برنامه خواهد پرداخت.

3.1.1. رفع مشکلات مشاوره ای به طرق مختلف مانند مشاوره ی تلفنی ، E. mail، fax و امثالهم.

3.1.2. رفع مشکلات مواد و ملزومات مانند پرایمر و نمونه کنترل مثبت (درموارد خاص بصورت فوری و فروش خدمات).

3.1.3. رفع مشکلات تشخیصی آزمایشگاهای منتخب و محیطی در زمینه بیماری مورد سوال(درموارد خاص بصورت فوری و فروش خدمات).

3.2.انجام کنترل های کیفی داخلی و خارجی به منظور استقرار نظام تضمین کیفیت در آزمایشگاه مرجع و اعضاء شبکه.

3.2.1. آزمایشگاه مرجع ملزم به رعایت کنترل کیفی داخلی می باشد.

3.2.2. آزمایشگاه مرجع ملزم به اتصال به برنامه کنترل کیفی معتبر بین المللی می باشد.

3.2.3. آزمایشگاه مرجع ملزم به اجرای برنامه کنترل کیفی خارجی حداقل سالی یک بار برای موارد ساده و شناخته شده بر اساس دستورالعمل و نیز سالی یکبار برای موارد پیچیده ولی شناخته شده (برای آزمایشگاه مرجع) به آزمایشگاه های عضو شبکه می باشد. باید توجه داشت که موارد پیچیده باید جزء مواردی باشد که هر آزمایشگاه محیطی و یا منتخب ممکن است با آن مواجه شود.

3.2.4. آزمایشگاه مرجع موظف به کمک برای استقرار نظام کنترل کیفی داخلی در آزمایشگاه های محیطی و یا منتخب می باشد.

3.2.5. ارائه نتیجه کنترل کیفی خارجی (کنترل کیفی خارجی اجرا شده توسط آزمایشگاه مرجع برای آزمایشگاه های محیطی و برنامه کنترل کیفی خارجی که برای آزمایشگاه مرجع انجام شده است) به کمیته فنی تشخیص پیش از تولد سالی یکبار.

تبصره: پرداخت هزینه های مربوط به برقراری نظام تضمین کیفیت به عهده وزارت متبوع (پیگیری با اداره ژنتیک است) و یا هر مرجع دیگری که وزارت بهداشت بتواند از آن منبع هزینه ها را تامین کند می باشد.

3.3.برگزاری دوره های مختلف و متنوع آموزشی به منظور ارتقاء نحوه و سطح ارائه خدمات.

انجام آموزش های درخواست شده از سوی کمیته فنی تشخیص پیش از تولد

3.3.1. آموزش جهت راه اندازی آزمایشگاه های محیطی

3.3.2. آموزش موردی برای ارتقاء آزمایشگاه های موجود

3.3.3. ارائه و پیشنهاد برنامه های آموزشی مورد نیاز جهت ارتقاء کیفیت آزمایشگاه های موجود

3.3.4. همکاری دربرگزاری سمینار ها وهمایش ها

تبصره: وزارت متبوع مسئول تامین منابع مالی مورد نیاز است و پیگیری با اداره ژنتیک است.

3.4.انجام تحقیقات مناسب برای حل مشکلات تشخیصی و موارد مورد نیاز برنامه کشوری.

تبصره: آزمایشگاه مرجع تمامی وظایف خود را زیر 3.4.1. نظر کمیته فنی تشخیص پیش از تولد انجام خواهد داد.

انجام تحقیقات مناسب برای حل مشکلات تشخیصی و موارد مورد نیاز برنامه کشوری، عناوین تحقیقاتی هر ساله توسط کمیته کشوری تشخیص قبل از تولد تعیین و پیشنهاد می شود.

تبصره: وزارت متبوع مسئول تامین منابع مالی مورد نیاز است و پیگیری با اداره ژنتیک است.

چك ليست عمومی ارزيابي آزمايشگاه مرجع :

انتخاب آزمای‌شگاه مرجع بر اساس تجربه و تعداد نمونه های انجام گرفته توسط مرکز ی‌ا مراکز مربوطه، تصمی‌م کمی‌ته کشوری و دی‌گر شرای‌طی که کمی‌ته ی‌ا مرکز مدی‌ری‌ت بی‌ماری‌هاتعی‌ی‌ن خواهد کرد می‌باشد.

جهت تعی‌ی‌ن آزمای‌شگاه مرجع دو چک لی‌ست ازی‌ابی وجود دارد ی‌کی چک لی‌ست عمومی و دی‌گری چک لی‌ست اختصاصی.

آ: چک لی‌ست عمومی

گروه بازدید کننده باید مدارک لازم در هر مورد را (مثلا اسامی کامل پرسنل همراه با CV هر یک از آنها) ضمیمه چک لی‌ست نماید.

مدت و شرایط فعالیت مرتبط و عمومی مرکز مرجع مورد نظر:

الف _ پرسنل:

1_ آیا آزمایشگاه مسئول فنی دارد؟

بلی ☐ (نام و مشخصات اخذ شود) خیر ☐

مسئول فنی می بایست دارای پروانه و مجوز تاسیس آزمایشگاه ژنتیک پزشکی از وزارت بهداشت باشد و دارای تجربه انجام حد اقل 50 نمونه تشخیصی پیش از تولد و ناقلین در زمینه بیماری مورد نظر و یا 100 مورد سایر موارد تشخیصی پیش از تولد بیماریهای ژنتیکی را با روشهای استاندارد و یا متطبق با این دستورالعمل و یا گواهی گذراندن دوره مورد تائید کمیته فنی کشوری تشخیص پیش از تولد باشد. تجربه تشخیص ناقلین و قبل از تولد مسئول فنی در مورد بیماری مورد نظر، تعداد در هر مورد و روشهای استفاده شده در هر مورد دقیقا بررسی و مدارک لازم اخذ، ضمیمه و یا تایید شود.

2_ آزمایشگاه کارشناس ارشد دارد.

بلی ☐ (نام و مشخصات اخذ شود) خیر ☐

(حد اقل یک نفر فوق لیسانس ژنتیک مولکولی یا زیست مولکولی یا بیولوژی مولکولی یا بیوشیمی مولکولی یا میکروبیولوژیوی مولکولی یا هماتولوژی مولکولی)

3_ آزمایشگاه کارشناس دارد.

بلی ☐ (نام و مشخصات اخذ شود) خیر ☐

(حد اقل دو نفر لیسانس ژنتیک یا زیست شناسی یا زیست مولکولی یا بیولوژی یا بیوشیمی یا میکروبیولوژیو یا هماتولوژی)

4_ آزمایشگاه کاردان دارد

بلی ☐ خیر ☐

(حد اقل یک نفر) (نام و مشخصات اخذ شود)

5_ آزمایشگاه منشی دارد.

بلی ☐ خیر ☐

(یک نفر با تسلط کامل به امور رایانه ای) (نام و مشخصات اخذ شود))

ب _تجهیزات آزمایشگاهی

1- کامپیوتر با لوازم جانبی و ارتباطی کامل وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

2- هود کلاس II وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

3- هود مکنده وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

4- ترازوی نیمه حساس (0.01g) وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

5- ترازوی حساس (0.001 یا بهتر) وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

6- شیکر لوله Vortex وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

7- میکسر Hot plate وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

8- سانتریفوژ دور متوسط وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

9- بن ماری یا Heating block وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

10-انکوباتور 37 درجه یا انکوباتور هیبریداسیون وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد خیر ☐

11- فور وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

12- یخچال وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

13-فریزر 20 - وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

14- فریزر 70 - وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

15- امکانات نیتروژن مایع وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

16- میکروسانتریفوژ رومیزی وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد خیر ☐

17- دستگاه P.C.R وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد (حداقل 2عدد) خیر ☐

18-دستگاه Reat-time PCR وجود دارد

بلی ☐ تعداد خیر ☐

19- دستگاه الکتروفورز افقی انواع مختلف و پاورسوپلای مربوطه وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ تعداد (حداقل 2عدد) خیر☐

20-الکتروفورز عمودی و متعلقات وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر☐

21- سمپلرهای متغیر وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد (حداقل 5 دست یا set)خیر☐

22- P.H متر وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر

23- دستگاه عکسبرداری از ژل (Documentation Doc) وجود دارد؟ اگر بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر☐

24-دستگاه اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer) وجود دارد؟ اگر
بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر☐

25-دستگاه Sequencer وجود دارد؟
بلی ☐ تعداد خیر☐

26-دستگاه تولیدآب مقطر و دیونیزه وجود دارد؟ اگر
بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر☐

27-اتوکلا وجود دارد؟ اگر
بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر☐

28-میکروسکوپ و یا استریواسکوپ (برای تمیز کردن نمونه های CVS) بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد) خیر☐

29-دستگاه برقراری برق اضطراری دارد (در بخش های حیاتی) وجود دارد؟ اگر
بلی ☐ تعداد خیر☐

30- سیستم ایمنی کار (از جمله آتش نشانی ها) تائید شده توسط سازمان مربوطه وجود دارد؟ اگر
بلی ☐ تعداد (حداقل 1 عدد در هر اتاق) خیر☐

ج _مواد

1- مواد بیولژیک (متناسب برای مصرف 8-6 ماه آزمایشگاه و کمک به دیگر مراکز در صورت نیاز) از جمله Primer های لازم را وجود دارد؟

اگر بلی ☐ خیر ☐

2- آیا امکان برسی ملکولی بیماریهایی که مرکز داوطلب مرجعیت میباشد (مثلا SSCP, CSGE, تعیین توالی و یا برسی حذف و اضافه شده گی و ...) وجود دارد؟ اگر بله آیا انجام می شود؟

بلی ☐ خیر ☐

3- اگر از Probe استفاده میشود آیا به اندازه کافی وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ (خریداری میشود یا در محل تهیه می شود؟) خیر ☐

4- آنزیم های Restriction کافی وجود دارد؟ اگر

بلی ☐ برای چند واکنش؟ نام آنزیمها آورده شود. خیر ☐

5- آنزیم های پلی مراز کافی وجوددارد؟ بلی ☐ خیر ☐

6- مواد لازم برای بررسی SNP, VNTR, STR , RFLPرا دارد.

بلی ☐ اگر بله برای حدودا چند واکنش خیر ☐

7- مواد شیمیایی لازم و کافی وجود دارد؟ (مصرف حداقل 6 ماه) (شامل بازها, نمکها, اسیدها, مواد ژل ها)

بلی ☐ خیر ☐

د _آیا آزمایشگاه برنامه کنترل کیفی داخلی دارد

بلی ☐ خیر ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه است.

چک لیست کنترل کیفی

الف _پذیرش

پزیرش خانواده ها می بایست به صورت کامپوتری صورت گیرد. در هنگام پزیرش آزمایشگاه می بایست اطلاعات لازم را از خانواده کسب نماید. در ضمن گرفتن رضایتنامه به آزمایشگاه اجازه فعالیتهای تحقیقاتی و استفاده از آنها را برای کنترل داخلی خواهد داد.

1_ نحوه پذیرش بیمار چگونه است؟

دستی ☐ کامپیوتری ☐

2_ آیا مسئول پذیرش دارای اطلاعات کافی در زمینه طرح PND می باشد.

بلی ☐ خیر ☐

3_ آیا فرم پزیرش برابر استاندارد دستورالعمل کشوری می باشد؟ برای راهنمای آزمایشگاه یک نمونه در پیوست آمده است ولی منظور از استاندارد در اینجا این است که کلیه اطلاعات لازم برای رسیدن به جواب، ارائه گزارش و نیز چاپ یافته ها در برگه آورده شده باشد.

بلی ☐ خیر ☐

4_ آیا تاریخ جوابدهی مشخص است و رعایت زمان مورد نیاز در این زمینه شده است؟

بلی ☐ خیر ☐

5_ آیا برگه پذیرش حاوی اطلاعات تعیین شده می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

ب _فضای آزمایشگاهی

فضای کلی آزمایشگاه چند متر مربع می باشد (حداقل می بایست 100 متر مربع باشد).

1. آیا فضای متناسب به قسمتهای مختلف آزمایشگاهی اختصاص داده شده است؟

بلی ☐ خیر ☐

2. آیا فضای تخلیص DNA فضای مجزایی است؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

3. آیا فضای مقدماتی PCR (pre PCR) وجود دارد؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

4. آیا فضای بعد از PCR (post PCR) وجود دارد؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

5. آیا فضای آزمایشگاهی به گونه ای طراحی شده است که آلودگی را به حداقل برساند؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟ (مثلا استفاده از هود و workstation و ...)

6. آیا اطاق کشت و هاروست لازم است؟ اگر بله آیا شرایط استریل را دارا می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

7. آیا تاریکخانه لازم است؟ اگر بله آیا به طریقی فضا بندی شده است که خطری متوجه پرسنل نباشد؟ بلی ☐ خیر ☐

ج _پرسنل آزمایشگاه:

آیا مسئول فنی آزمایشگاه حداقل 4 ساعت در روز در آزمایشگاه حضور دارد؟

بلی ☐ خیر ☐ اگر خیر چند ساعت در هفته حضور دارد؟

د _ابزار و تجهیزات:

1. آیا لیست کلیه ابزار و تجهیزات موجود می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

2. آیا لیستی از خرابی و تعمیرات دستگاه ها وجود دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

3. آیا دفتر راهنمای طرز کار و نگهداری و ... (Log book) برای تمام تجهیزات موجود می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

4. آیا پرسنل آگاهی کامل با روش کار ابزار دارند؟

بلی ☐ خیر ☐

5. آیا تعداد و نوع تجهیزات برابر با لیست (بند 1) می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

6. آیا ابزار و تجهیزات دارای مدرک کالیبراسیون , تعمیر و نگهداری مشخص می باشند؟

بلی ☐ خیر ☐

*1- **ترازو**:*

1-1- آیا کفه (های) ترازو و ملحقات آن تمیز هستند؟

بلی ☐ خیر ☐

1-2- آیا محل قرار گیری ترازو مناسب است؟

بلی ☐ خیر ☐

1-3- آیا نحوه کنترل و کالیبراسیون مشخص است؟

بلی ☐ خیر ☐

1-4- آیا کنترل صحت عملکرد ترازو بطور دوره ای (هر شش ماه) ثبت می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

*2_**سانتریفوژ**:*

2-1- آیا محفظه داخل سانتریفوژ بطور هفتگی ضد عفونی می شود؟

بلی ☐ خیر ☐

2-2- آیا دور سانتریفوژ کنترل می گردد؟ بلی ☐ خیر ☐

2-3- آیا تایمر سانتریفوژ کنترل می گردد؟ بلی ☐ خیر ☐

2-4- آیا مدارک مربوط به ارزیابیهای فوق در دسترس است؟ بلی ☐ خیر ☐

5-2- تعداد و نوع سانتریفیوژها ذکر شود.

3_آب

3-1- آیا دستگاه تخلیص کن و یا تقطیر و دیونیزه کردن آب مناسب وجود دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

3-2- آیا به طور دوره ای ماهیت آب تولید شده کنترل می گردد؟ بلی ☐ خیر ☐

4_یخچالها و فریزرها

4-1- آیا شرایط نگهداری نمونه ها در یخچال و فریزر صحیح است؟ (نحوه نگه داری کنار هم و نیز سهولت در پیداکردن آنها). بلی ☐ خیر ☐

4-2- آیا شرایط کارکرد یخچال ها و فریزرها مناسب است؟

بلی ☐ خیر ☐

4-3- آیا به نظافت و برفک زدایی یخچالها و فریزرها توجه می شود؟(توصیه می شود از فریزر با برفک یا برفک تولید کن With frost استفاده شود)؟ بلی ☐ خیر ☐

4-4- آیا دماسنج مناسب جهت ثبت دما داخل یخچال و فریزر وجود دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

4-5- آیا دمای یخچال و فریزر به صورت روزانه ثبت می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

5_بن ماری و بلوک های حرارتی (Heating block)

5-1- آیا بن ماری و بلوک های حرارتی مناسب وجود دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

5-2- آیا بطورمنظم نظافت می شوند؟

بلی ☐ خیر ☐

5-3- آیا دمای آنها کنترل و ثبت می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

6_لوازم شیشه ای و لوازم حجمی

6-1- آیا تمام وسایل حجمی شیشه ای دارای صحت عملکرد می باشند؟

بلی ☐ خیر ☐

6-2- آیا لوازم شیشه ای شکسته از ردیف کار حذف شده است؟

بلی ☐ خیر ☐

6-3- آیا سمپلر ها بطور مرتب تمیز و کالیبره می شوند؟

بلی ☐ خیر ☐

6-4- آیا سمپلرها برای صحت و دقت مورد بررسی قرار می گیرند؟

بلی ☐ خیر ☐

6-5- آیا مدارک این بررسی ها در دسترس می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

7_اتوکلاو

7-1- آیا اتوکلاو بطور مرتب تمییز می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

7-2- آیا وسایل با برچسب مخصوص در داخل دستگاه گذاشته می شوند؟

بلی ☐ خیر ☐

7-3- آیا به صورت دوره ای بررسی فنی در مورد عملکرد دستگاه صورت می گیرد؟

بلی ☐ خیر ☐

7-4- آیا مدارک مربوطه وجود دارد.

بلی ☐ خیر ☐

8- میکروسکوپ (میکروسکوپ، استریسکوپ و میکروسکوپ وارونه)

13-1- آیا میکروسکوپها برای کار در نظر گرفته شده مناسب می باشند؟

بلی ☐ خیر ☐

8-2- آیا به طور مرتب عدسی تمیز می گردند؟

بلی ☐ خیر ☐

8-3- آیا دارای روکش ضد خاک می باشند؟

بلی ☐ خیر ☐

8-4- آیا دور از نور مستقیم قرار دارند؟

بلی ☐ خیر ☐

***9_هود شیمیائی و بیولوژیکی و* Workstation**

9-1- آیا هود مناسب در آزمایشگاه وجود دارد؟

بلی ☐ (تعداد و نوع مشخص شود) خیر ☐

9-2-آیا به صورت دوره ای بررسی فنی در مورد نحوه کارکرد آنها صورت می گیرد؟

بلی ☐ خیر ☐

10- pH متر

10-1- آیا دستگاه pH متر مناسب وجود دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

10-2- آیا محلول ها با pH مناسب جهت کالیبراسیون موجود می باشد؟

بلی ☐ خیر ☐

10-3- آیا کنترل دستگاه مرتب انجام می شود؟

بلی ☐ خیر ☐

10-4- آیا نحوه نگهداری دستگاه مناسب است؟

بلی ☐ خیر ☐

11- تجهیزات اختصاصی

PCR و الکترو فورز و ....:

1 -11- آیا دستگاه PCR از کیفیت مطلوب برخوردار است؟

بلی ☐ اگر بله چگونه ارزیابی میشود؟ خیر ☐

2-11- آیا دستگاه های الکتروفورز افقی و عمودی دارای کیفیت مناسب می باشند؟

بلی ☐ اگر بله عملکرد آنهاچگونه ارزیابی میشود؟ خیر ☐

3-11- آیا دستگاه های مولد برق (پاورسوپلاهای) لازم وجود دارند؟

بلی ☐ اگر بله عملکرد آنهاچگونه ارزیابی میشود؟ خیر ☐

5-11- آیا دستگاه ترانس ایلومیناتور و سیستم ثبت عکس ژلها دارای کیفیت مناسب می باشد؟

بلی ☐ اگر بله عملکرد آنهاچگونه ارزیابی میشود؟ خیر ☐

6-11- آیا دستگاه PCR برای صحت عملکرد مورد آزمایش ادواری قرار میگیرد؟

بلی ☐ اگر بلی چگونه؟ خیر ☐

12_بن ماری

1-12- آیا دمای آن بطور مرتب کنترل و ثبت می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

13_لوازم شیشه ای و حجمی

1-13- ظروف شیشه ای و حجمی کالیبره و کنترل می گردند؟ بلی ☐ خیر ☐

14- لوازم حجمی

1-14- فلاسک آن موجود است؟ بلی ☐ خیر ☐

15_اتوکلاو

1-15- آیا بطور مرتب وسائل برچسب زده می شوند؟ بلی ☐ خیر ☐

16- هود

1-16- آیا بطور مرتب بررسی فنی در مورد نحوه کارکرد آنها صورت می گیرد؟

بلی ☐ خیر ☐

17- pH متر

1-17- آیا محلولهای مناسب کالیبراسیون موجود هستند؟

بلی ☐ خیر ☐

17-2- آیا برنامه اتوکالیبراسیون داخلی موجود هستند؟ ثبوت دما در آن وجود دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

18- انکوباتور

18-1- آیا دمای آن مرتب کنترل می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

19- انکوباتور CO2

19-1_ آیا دمای داخلی آن به صورت دوره ای کنترل می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

19-2_ آیا میزان CO2 به صورت دوره ای مانیتور می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

19-3- آیا محل و نحوه نگهداری تانکهای ازت و CO2 مناسب است؟

بلی ☐ خیر ☐

20- هیبریداسیون (Oven)

20-1- آیا دمای آن مرتب کنترل می گردد؟

بلی ☐ خیر ☐

تبصره:آیا لیست کاملی از دستگاه ها و تعمیرات و نیز بازدید ها و سرویسهای ادواری وجود دارد؟

1. آیادستگاههای مورد استفاده طبق چک لیست روتین آزمایشگاه رفرانس مورد بررسی قرار می گیرند.

بلی ☐ خیر ☐

2. دستگاههای تخصصی آزمایشگاه ژنتیک مثل PCR و اطاق هیبریدیزاسیون توسط توصیه های شرکت سازنده کنترل و عمل گردد.

بلی ☐ خیر ☐

3. در رابطه با آزمایشاتی که برای بررسی روشهای تشخیص مستقیم جهش ها می باشد مثل ARMS و یا Inversion 22 و یا STR ها از کنترلهای مثبت و منفی استفاده می شود(در هر RUN)؟

بلی ☐ اگر بله توالی استفاده، تنوع استفاده، سال شروع استفاده و... ثبت شود

خیر ☐

تبصره: لازم به ذکر است که در کلیه آزمایشات کنترل منفی (بدون DNA) وجود داشته باشد.

4. در رابطه با آزمایشات غیر مستقیم مثل RFLP-PCR سه کنترل منفی _ منفی, منفی _ مثبت, مثبت _ مثبت در هر RUN (-/-) (-/+) (+/+) وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توالی استفاده، تنوع استفاده، سال شروع به استفاده و... ثبت شود

خیر ☐

تبصره: لازم به ذکر است که در کلیه آزمایشات کنترل منفی (بدون DNA) وجود داشته باشد.

5. آیا در آزمایشاتی مثل VNTR و STR از DNA LADDER استفاده می گردد؟ (در روشهای دیگر مثل SSCP و DGGEو ... الزاماً کنترل مثبت (نمونه با موتاسیون) و منفی (نمونه فرد سالم) در هر run موجود باشد).

بلی ☐ اگر بله توالی استفاده، تنوع استفاده، سال شروع به استفاده و... ثبت شود

خیر ☐

تبصره: لازم به ذکر است که در کلیه آزمایشات کنترل منفی (بدون DNA) وجود داشته باشد.

6. آیا آزمایشگاه مرجع در برنامه کنترل کیفی خارجی معتبر بین المللی شرکت دارد؟

بلی ☐ خیر ☐

چک لیست وظایف آزمایشگاه مرجع:

1) آیا بانکی از نمونه های DNA که جهش ها چه بصورت هتروزیگوت یا هموزیگوت به تشخیص قطعی متخصصین این رشته رسیده باشد و همچنین در مورد RFLP یا STR یا VNTRs و یا SNPs نیز نمونه ها بهمین نحو به تائید رسیده باشند، در آزمایشگاه مرجع ایجاد شده است.

بلی ☐ خیر ☐

2) آیا آزمایشگاه های مرجع بصورت Blind حداقل سالی یکبار تعدادی از این نمونه ها را به آزمایشگاهی محیطی و منتخب مختلف ارسال نموده است؟ بلی ☐ خیر ☐

3) آیانتایج دریافت شده از آزمایشگاه های محیطی با جوابهای موجود مقایسه و در صورت همانند بودن تائید و در صورت ناهماهنگی, نتیجه به کمیته فنی ارسال شده است؟

بلی ☐ خیر ☐

4) آیا در رفع مشکلات آزمایشگاه های محیطی اقدامی صورت گرفته است؟

بلی ☐ مستندات ضمیمه شود خیر ☐

5) آیا در رفع نیازهای آزمایشگاه های محیطی (مثلا مواد، پرایمر، نمونه کنترل و ...) اقدامی صورت گرفته است؟

بلی ☐ مستندات ضمیمه شود خیر ☐

آیا آزمایشگاه مرجع برنامه های آموزشی بر اساس شرح وظایف (آموزش جهت راه اندازی آزمایشگاه های محیطی، آموزش موردی برای ارتقاء آزمایشگاه های موجودو تیز همکاری دربرگزاری سمینار ها وهمایش ها

داشته است؟

بلی ☐ مستندات ضمیمه شود خیر ☐

6) آیاارائه پیشنهاد برنامه های آموزشی مورد نیاز جهت ارتقاء کیفیت آزمایشگاه های موجود داشته است؟

بلی ☐ مستندات ضمیمه شود خیر ☐

7) آیا تحقیقات برای حل مشکلات تشخیصی و موارد مورد نیاز برنامه کشوری بر اساس در خواست کمیته فنی داشته است؟

بلی ☐ مستندات ضمیمه شود خیر ☐

چك ليست عمومی ارزيابي آزمايشگاههاي منتخب و محيطي

انتخاب آزمای‌شگاه منتخب و ی‌ا محی‌طی بر اساس تجربه و تعداد نمونه های انجام گرفته توسط مرکز داوطلب خواهد بود و بر اساس دستورالعل کشوری خواهد بود. به طور کلی تجربه و ی‌ا دوره های آموزشی مستقی‌می که مسئول فنی طی کرده است و تجربه کاری در آزمای‌شگاه مورد بازدی‌د و مدارک مربوطه ملاک تای‌ی‌د و ی‌ا رد خواهد بود.

مدت و شرايط فعاليت مرتبط و عمومی مرکز مورد بازديد :

الف _ پرسنل:

(خواهشمند است اسامی کامل پرسنل همراه با تخصص هر یک آنها بصورت ضمیمه درج شود)

1_ آیا آزمایشگاه مسئول فنی دارد؟ بلی ☐ (نام و مشخصات اخذ شود) خیر ☐

(این فرد می بایست یک نفر متخصص ژنتیک مولکولی یا بیولوژی مولکولی یا بیوشیمیست مولکولی یا پاتولوژیست مولکولی یا هماتولوژیست مولکولی با تجربه انجام 20 نمونه تشخیصی پیش از تولد و ناقلین در زمینه هموفیلی Aو B و یا 100 مورد سایر موارد و یا گزراندن دوره مورد تائید کمیته کشوری). تجربه تشخیص ناقلین و قبل از تولد مسئول فنی در مورد هر نوع هموفیلی و یا دیگر بیماریهای خونریزی دهنده به طور مفصل با ذکر نوع و تعداد در هر مورد دقیقا برسی و ذکر شود.

2_آیا آزمایشگاه کارشناس ارشد دارد؟ بلی ☐ (نام و مشخصات اخذ شود) خیر ☐

(حد اقل یک نفر فوق لیسانس ژنتیک مولکولی یا زیست مولکولی یا بیولوژی مولکولی یا بیوشیمی مولکولی یا میکروبیولوژیوی مولکولی یا هماتولوژی مولکولی)

3_ آیا آزمایشگاه کارشناس دارد؟

بلی ☐ (نام و مشخصات اخذ شود) خیر ☐

(حد اقل یک نفر لیسانس ژنتیک یا زیست شناسی یا زیست مولکولی یا بیولوژی یا بیوشیمی یا میکروبیولوژیو یا هماتولوژی)

4_ آیا آزمایشگاه کاردان دارد؟ بلی ☐ خیر ☐

(حد اقل یک نفر) (نام و مشخصات اخذ شود)

5_ آیا آزمایشگاه منشی دارد؟ بلی ☐ خیر ☐

(یک نفر با تسلط کامل به امور رایانه ای،) (نام و مشخصات اخذ شود))

ب _تجهیزات آزمایشگاهی

1. آیا کامپیوتر با لوازم جانبی و ارتباطی کامل وجود دارد؟
بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

2. آیا هود کلاس II وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

3. آیا هود مکنده وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

4. آیا ترازوی نیمه حساس وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

5. آیا شیکر لوله Vortex وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

6. آیا میکسر Hot plate وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

7. آیا سانتریفوژ دور متوسط وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

8. آیا بن ماری یا Heating block وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

9. آیا انکوباتور 37 درجه یا انکوباتور هیبریداسیون وجود دارد؟
بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

10. آیا فور وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

11. آیا یخچال وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

12. آیا فریزر 20 - وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

13. آیا فریزر 70 - وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

14. آیا امکانات نیتروژن مایع وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

15. آیا میکروسانتریفوژ رومیزی وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

16. دستگاه P.C.R وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 2عدد) خیر ☐

17. دستگاه Real-time P.C.R وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

18. دستگاه الکتروفورز افقی انواع مختلف و پاورسوپلای مربوطه وجود دارد؟
بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 2عدد) خیر ☐

19. الکتروفورز عمودی و متعلقات وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر ☐

20. سمپلرهای متغیر وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 5 دست یا set)خیر ☐

21. pH متر وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر

22. دستگاه عکسبرداری از ژل (Documentation Doc) وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر ☐

23. دستگاه اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer) وجود دارد؟
بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر ☐

24. دستگاه تولیدآب مقطر و دیونیزه وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر ☐

25. اتوکلا وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر ☐

26. میکروسکوپ و یا استریواسکوپ (برای تمیز کردن نمونه های CVS).

بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد) خیر ☐

27. دستگاه برقراری برق اضطراری دارد (در بخش های حیاتی) وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بلی تعداد خیر ☐

28. سیستم ایمنی کار (از جمله آتش نشانی ها) تائید شده توسط سازمان مربوطه وجود دارد؟
بلی ☐ اگر بلی تعداد (حداقل 1 عدد در هر اتاق) خیر ☐

ج _مواد

1- مواد بیولژیک (متناسب برای مصرف 8-6 ماه آزمایشگاه)از جمله Primer های لازم را وجود دارد؟ بلی ☐ اگر بلی توضیح دهید خیر ☐

2- آیا امکان برسی وارونگی ژنی (inversion) وجود دارد. اگر بله آیا انجام می شود؟
بلی ☐ اگر بلی توضیح دهید کدامیک و از چه زمان خیر ☐

3- اگر از Probe استفاده میشود آیا به اندازه کافی وجود دارد؟ اگر بلی ☐ (خریداری میشود یا در محل تهیه می شود؟ خیر ☐

4- آنزیم های Restriction کافی وجود دارد؟ اگر
بلی ☐ برای چند واکنش؟ نام آنزیمها آورده شود. خیر ☐

5- آنزیم های پلی مراز کافی وجوددارد؟ بلی ☐ خیر ☐

6- مواد لازم برای بررسی VNTR, STR , RFLP را دارد. .
بلی ☐ اگر بله برای حدودا چند واکنش خیر ☐

7- مواد شیمیایی لازم و کافی وجود دارد؟ (مصرف حداقل 6 ماه) (شامل بازها, نمکها, اسیدها, مواد ژل ها).
بلی ☐ خیر ☐

چک لیست کنترل کیفی

الف _پذیرش

1. نحوه پذیرش بیمار چگونه است؟
دستی ☐ کامپیوتری ☐

2. آیا مسئول پذیرش دارای اطلاعات کافی در زمینه طرح PND هموفیلی می باشد.
بلی ☐ خیر ☐

3. آیا برگه در خواست آزمایش برابر دستورالعمل می باشد؟ بلی ☐ خیر ☐

4. آیا تاریخ جوابدهی مشخص است و رعایت زمان مورد نیاز در این زمینه شده است؟
بلی ☐ خیر ☐

5. آیا برگه پذیرش حاوی اطلاعات تعیین (حد اقل اطلاعات لازم در ارائه گزارش کتبی به پزشک و نیز اطلاعاتی که آزمایشگاه به آن نیاز دارد. اطلاعات کاملتر در ضمیمه 1 آورده شده است) شده می باشد؟ بلی ☐ خیر ☐

ب _فضای آزمایشگاهی

فضای کلی آزمایشگاه چند متر مربع می باشد (حداقل می بایست 100 متر مربع باشد).

1. آیا فضای کافی به قسمتهای مختلف آزمایشگاه اختصاص داده شده است؟ (با توجه به برگه پیوست) بلی ☐ خیر ☐

2. آیا فضای تخلیص DNA فضای مجزایی است؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

3. آیا فضای مقدماتی PCR (pre PCR) وجود دارد؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

4. آیا فضای بعد از PCR (post PCR) وجود دارد؟

خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

5. آیا فضای آزمایشگاهی به گونه ای طراحی شده است که آلودگی را به حداقل برساند؟
خیر ☐ بلی ☐ اگر بله توضیح داده شود چگونه؟

6. آیا اطاق کشت و هاروست لازم است؟ اگر بله آیا شرایط استریل را دارا می باشد؟
بلی ☐ خیر ☐

7. آیا تاریکخانه لازم است؟ اگر بله آیا به طریقی فضا بندی شده است که خطری متوجه پرسنل نباشد؟ بلی ☐ خیر ☐

ج _پرسنل آزمایشگاه:

آیا مسئول آزمایشگاه حداقل 4 ساعت در روز در آزمایشگاه حضور دارد؟
بلی ☐ خیر ☐ اگر خیر چند ساعت در هفته حضور دارد؟

د _ابزار و تجهیزات:

1. آیا لیست کلیه ابزار و تجهیزات موجود می باشد؟
بلی ☐ خیر ☐
2. آیا لیستی از خرابی و تعمیرات دستگاه ها وجود دارد؟
بلی ☐ خیر ☐
3. آیا دفتر راهنمای طرز کار و نگهداری برای تمام تجهیزات موجود می باشد؟
بلی ☐ خیر ☐
4. آیا پرسنل آگاهی کامل با روش کار ابزار دارند؟
بلی ☐ خیر ☐
5. آیا تعداد و نوع تجهیزات برابر با لیست می باشد؟
بلی ☐ خیر ☐
6. آیا ابزار و تجهیزات دارای مدرک کالیبراسیون , تعمیر و نگهداری مشخص می باشند؟
بلی ☐ خیر ☐

ترازو:

1. آیا کفه (های) ترازو و ملحقات آن تمیز هستند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا محل قرار گیری ترازو مناسب است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا نحوه کنترل و کالیبراسیون مشخص است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4. آیا کنترل صحت ترازو بطور دوره ای (هر شش ماه) ثبت می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

سانتریفوژ:

1. آیا محفظه داخل سانتریفوژ بطور هفتگی ضد عفونی می شود؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا دور سانتریفوژ کنترل می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا تایمر سانتریفوژ کنترل می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4. آیا مدارک مربوط به ارزیابیهای فوق در دسترس است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

آب

1. آیا دستگاه تخلیص کن و یا تقطیر و دیونیزه کردن آب مناسب وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله نوع دستگاه ذکر شود خیر ☐

2. آیا به طور دوره ای ماهیت آب تولید شده کنترل می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

یخچال و فریزر

1. آیا شرایط نگهداری نمونه ها در یخچال و فریزر صحیح است؟ (نحوه نگه داری کنار هم و نیز سهولت در پیداکردن آنها).

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا شرایط کارکرد یخچال ها و فریزرها مناسب است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا به نظافت و برفک زدایی یخچالها و فریزرها توجه می شود؟(توصیه می شود از فریزر با برفک یا برفک تولید کن With frost استفاده شود)؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4. آیا دماسنج مناسب جهت ثبت دما داخل یخچال و فریزر وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

5. آیا دمای یخچال و فریزر به صورت روزانه ثبت می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

بن ماری و بلوک های حرارتی (Heating block)

1. آیا بن ماری و بلوک های حرارتی مناسب وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا بطورمنظم نظافت می شوند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا دمای آنها کنترل و ثبت می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

لوازم شیشه ای و لوازم حجمی

1. آیا تمام وسایل حجمی شیشه ای دارای صحت می باشند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا لوازم شیشه ای شکسته ردیف کار حذف شده است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا سمپلر ها بطور مرتب تمیز و کالیبره می شوند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4. آیا سمپلرها برای صحت و دقت مورد بررسی قرار می گیرند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

5. آیا مدارک این بررسی ها در دسترس می باشد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

اتوکلاو

1. آیا اتوکلاو بطور مرتب تمییز می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا وسایل با برچسب مخصوص در داخل دستگاه گذاشته می شوند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا به صورت دوره ای بررسی فنی در مورد عملکرد دستگاه صورت می گیرد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

میکروسکوپ

1. آیا میکروسکوپها برای کار در نظر گرفته شده مناسب می باشند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا به طور مرتب عدسی تمیز می گردند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا دارای روکش ضد خاک می باشند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4. آیا دور از نور مستقیم قرار دارند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

هود شیمیائی و بیولوژیکی

1. آیا هود مناسب در آزمایشگاه وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا به صورت دوره ای بررسی فنی در مورد نحوه کارکرد آنها صورت می گیرد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

pH متر

1. آیا دستگاه pH متر مناسب وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2. آیا محلول ها با pH مناسب جهت کالیبراسیون موجود می باشد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3. آیا کنترل دستگاه مرتب انجام می شود؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4. آیا نحوه نگهداری دستگاه مناسب است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

11- تجهیزات اختصاصی

PCR و الکترو فرز :

1 -11- آیا دستگاه PCR از کیفیت مطلوب برخوردار است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2-11- آیا دستگاه های الکتروفورز افقی و عمودی دارای کیفیت مناسب می باشند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3-11- آیا پاورسوپلاهای لازم وجود دارند؟ بلی ☐ خیر ☐

4-11- آیا دستگاه ترانس ایلومیناتورو سیستم ثبت عکس ژلها دارای کیفیت مناسب می باشد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

12_بن ماری

1-12- آیا دمای آن بطور مرتب کنترل و ثبت می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

13_لوازم شیشه ای

1-13- آیا سمپلرها کالیبره و کنترل می گردند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

14- لوازم حجمی

1-14- فلاسک آن موجود است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

15_اتوکلاو

1-15- آیا بطور مرتب وسائل برچسب زده می شوند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

16- هود

1-16- آیا بطور مرتب بررسی فنی در مورد نحوه کارکرد آنها صورت می گیرد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

17- pH متر

1-17- آیا محلولهای مناسب کالیبراسیون موجود هستند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2-17- آیا برنامه اتوکالیبراسیون داخلی موجود هستند؟ ثبوت دما در آن وجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

18- انکوباتور

1-18- آیا دمای آن مرتب کنترل می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

19- انکوباتور CO2

19-1_ آیا دمای داخلی آن به صورت دوره ای کنترل می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

19-2_ آیا میزان CO2 به صورت دوره ای مانیتور می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

20- هیبریداسیون (Oven)

20-1- آیا دمای آن مرتب کنترل می گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

1_آیا دستگاههای مورد استفاده طبق چک لیست روتین آزمایشگاه رفرانس مورد بررسی قرار می گیرند؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

2_ آیا دستگاههای تخصصی آزمایشگاه ژنتیک مثل PCR و اطاق هیبریدیزاسیون توسط توصیه های شرکت سازنده کنترل و عمل گردد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

3_آیا در رابطه با آزمایشاتی که برای بررسی روشهای تشخیص مستقیم جهش ها می باشد مثل ARMS و یا Inversion 22 و یا Inversion 1 از کنترلهای مثبت و منفی استفاده می شود(در هر RUN).

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

4_آیا در رابطه با آزمایشات غیر مستقیم مثل RFLP-PCR سه کنترل منفی _ منفی, منفی _ مثبت, مثبت _ مثبت در هر RUN (-/-) (-/+) (+/+) وجود دارد؟.

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

5_ در رابطه با آزمایشاتی مثل VNTR و STR حتماً از DNA LADDER استفاده گردد. در روشهای دیگر مثل SSCP و DGGE الزاماً کنترل مثبت (نمونه با موتاسیون) و منفی (نمونه فرد سالم) در هر run موجود باشد. آیا این گونه است؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

6-آیا همکاری پارالل با آزمایشگاههای مرجع و یا معتبروجود دارد؟

بلی ☐ اگر بله توضیح دهید چگونه خیر ☐

روش کنترل کیفی خارجی

1. تشکیل بانکی از نمونه های DNA که جهش ها چه بصورت هتروزیگوت یا هموزیگوت به تشخیص قطعی متخصصین این رشته رسیده باشد و همچنین در مورد RFLPو STR یا VNTRs نیز نمونه ها بهمین نحو به تائید رسیده باشند و به آزمایشگاه مرجع داده شود. آیا وجود دارد؟

   بلی ☐ خیر ☐

2. آزمایشگاه های مرجع بصورت Blind تعدادی از این نمونه ها را به آزمایشگاهی محیطی مختلف ارسال نموده و پس از اخذ پاسخ با جوابهای موجود مقایسه و در صورت همانند بودن تائید و در صورت ناهماهنگی, نمونه فوق به مرجع ثالث ارسال می گردد. آیا از آزمایشگاه مرجع تا کنون نمونه ای برای تعین وضعیت به آزمایشگاه شما ارسال شده است؟

   بلی ☐ اگر بلی چند مورد و نتیجه چه بوده است؟ خیر ☐

دستورالعمل بازدی‌د از آزمای‌شگاه های محی‌طی عضو شبکه:

گروه در بازدی‌دها بای‌د دقت کند که آزمای‌شگاه عضو و فعال را بازدی‌د می کنند و فعالی‌ت انجام گرفته از نظر کمی و کی‌فی مورد ارزی‌ابی قرار گی‌رد.
لازم به ذکر است که آزمای‌شگاه لازم است لی‌ستی از نتای‌ج تحقی‌قات، آزمای‌شات، تشخی‌صها و مقالات و دستاوردهای علمی مرکز را آماده کرده تا در بازدی‌دها قابل دسترس باشد. البته گروه حق ندارد اطلاعاتی از آزمای‌شگاه را بدون اجازه کپی کرده و ی‌ا بردارد. در زی‌ر بعضی از ای‌ن اطلاعات آمده است.

نکته: در نهایت اطلاعات بعضی از جداول را می توان به صورت نمودار در آورد.

تبصره: هیچ یک از اعضائ تیم بازدید کننده حق ندارند اطلاعات فوق را کپی کرده و یا با خود ببرند. آزمایشگاه مورد بازدید می بایست مطالب چاپ نشده را با شرایط امانت به اعضائ تیم نشان دهد.

چک لیست بازدید از مراکز آزمایشگاهی تشخیص قبل از تولد تالاسمی بتا

1. آیا فرم پذیرش ویژه تالاسمی برای زوج های مراجعه کننده وجود دارد؟

2. آیا فرم پذیرش حاوی اطلاعات عمومی (نام ونام خانوادگی، سن، جنس، اصلیت، نام و نام خانوادگی والدین، نسبت فامیلی زوج با یکدیگر، مرحله اول، مرحله دوم ، مرحله اول و دوم با هم، تاریخ دریافت نمونه خون زوجین، تاریخ دریافت خونشناسی زوجین، تاریخ دریافت خون و خون شناسی والدین، تاریخ دریافت نمونه جنین، سن جنین در هنگام دریافت نمونه، پزشک گیرنده نمونه جنین، آیا خانواده دارای فرزند تالاسمی ماژور است.) می باشد؟

3. آیا فرم شماره 1 مراکز بهداشتی درمانی ویژه مشاوره ژنتیک به صورت تکمیل شده به آزمایشگاه ارائه شده است؟

4. آیا اطلاعات ژنتیک فرم شماره 1 کامل شده است؟

5. آیا خانواده با معرفی پزشک خون شناس مشاور دانشگاهی به آزمایشگاه ژنتیک مراجعه نموده است؟

6. آیا خون شناسی و الکتروفورز Hb زوجین در پرونده وجود دارد؟

7. آیا خون شناسی و الکتروفورز Hb زوجین در یک آزمایشگاه معتبر تکرار شده است؟

8. آیا آزمایشات خون شناسی والدین زوجین در پرونده موجود می باشد؟

9. آیا نتایج آزمایشات خون شناسی فرزند تالاسمی ماژور خانواده در پرونده موجود می باشد(در صورت دارا بودن فرزند ماژور)

10. آیا نتایج آزمایشات تعیین موتاسیون به روش مستقیم (ARMS) به همراه کاربرگهای مربوطه در پرونده موجود است؟

11. آیا تصاویر نتایج آزمایشات ARMS به صورت مناسب ذخیره و قابل دسترسی است؟

12. آیا نتایج آزمایشات RDB (در صورت انجام) به همراه کاربرگهای مربوطه در پرونده موجود است؟

13. آیا نتایج تعیین توالی ژن بتا گلوبین و آنالیز گراف ها(در صورت انجام) به همراه کاربرگهای مربوطه در پرونده موجود است؟

14. آیا آزمایشات غیر مستقیم (RFLP) برای خانواده انجام شده است؟(در چه محلهایی؟)

15. آیا در آزمایشات غیر مستقیم حداقل یک محل گویا بدست آمده است ؟

16. آیا در آزمایشات غیر مستقیم(RFLP) کنترلهای لازم (+/-و +/+و -/-) وجود دارد؟

17. در موارد با HbF بالاو HbA2 نرمال آیا آزمایشات حذف های شناخته شده خوشه ژنی β (HPFH,δβ) برای خانواده انجام شده است؟ (کاربرگ و عکسهای مربوطه)

18. در صورت عدم همکاری خانواده (عدم ارائه آزمایشات و نمونه های لازم) وعدم انجام روشهای غیر مستقیم آیا مستندات کافی در پرونده وجود دارد؟

19. آیا نتایج نهایی وضعیت جنین (نرمال – مینور- ماژور-) در پرونده وجود دارد؟

20. در صورت لزوم آیا آزمایشات تعیین هویت مولکولی برای جنین انجام شده است؟(کاربرگ و مستندات نتایج)

21. آیا گزارش مرحله اول، دوم و اول ودوم (بسته به وضعیت خانواده) تهیه شده است؟

22. محتویات گزارش آیا با دستورالعمل تطابق دارد؟

(نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند) – شماره پرونده- نحوه معرفی به آزمایشگاه- تاریخ اولین مراجعه- محل ، نوع نمونه گیری و یا ارسال نمونه – تاریخ گزارش- روش یا روشهای مولکولی انجام شده برای زوجین و جنین- نتیجه بررسی روشهای مولکولی (مستقیم و غیر مستقیم) برای زوجین و جنین – نام و نام خانوادگی وامضاء (در صورت لزوم) Comment– مهر مسئول فنی- جملات مربوط به احتمال خطر- آیا گزارش در سربرگ آزمایشگاه نوشته شده است. (آدرس- شماره تلفن آزمایشگاه).

23. آیا درگزارش جملاتی مربوط به نیاز یا عدم نیاز به مرحله دوم PND آورده شده است؟

24. آیا درگزارش مشاوره لازم به پزشک داده شده است؟

25. آیا پرونده دارای consent form (فرم رضایتنامه) می باشد؟

26. آیا فرم رضایتنامه به درستی طراحی شده و دارای اجزای موردنیاز می باشد؟

این قسمت با چک لیست تطابق داده شود.

دستورالعمل عمومی استقرار برنامه تضمین کیفیت در آزمایشگاه ژنتیک
(پیش نویس ۱)

۱- ساختار آزمایشگاه:

۱. نوع آزمایشگاه و اهداف کاری (مثلاً آزمایشگاه ژنتیک پزشکی - تشخیص بیماریهای ژنتیک انسانی به روش مولکولی)
۲. مدارک مسئول فنی با قوانین موجود در کشور هماهنگی داشته باشد. (قوانین عمومی و اختصاصی یعنی رعایت قوانین تعیین شده توسط اداره کل امور آزمایشگاهها و اداره ژنتیک- مرکز مدیریت بیماری ها)
۳. تعداد پرسنل با تنوع فعالیت ها، ساعت کاری، سطح و نوع تحصیلات مورد نیاز باید تطابق داشته باشد. (با توجه به اهمیت تشخیص پیش از تولد باید آزمایشگاه دارای شیفت کاری بعدازظهر، جانشین مسئول فنی، سوپروایزر مشخص با سطح تحصیلات کارشناسی ارشد در رشته مرتبط باشد) (در بعضی از موارد تعداد در چک لیست آمده است).
٤. اطلاعات پرسنلی و نحوه ارتباط با هرکدام از همکاران باید در دسترس باشد.
٥. آزمایشگاه باید مجهز به خط تلفن مستقیم، نمابر و اتصال به اینترنت باشد.
٦. فضای فیزیکی برابر استاندارد آزمایشگاه ژنتیک باشد (حداقل فضای فیزیکی لازم بر اساس مساحت و نوع فعالیتک؛ هر چقدر فعالیت آزمایشگاه متنوع تر باشد به فضای بیشتری نیاز است).
۷. آزمایشگاه باید مجهز به برق اضطراری و یا UPS باشد.
۸.

۲- تجهیزات:

۱. لیست کاملی از تجهیزات بهمراه شماره اموال باید وجود داشته باشد.
۲. تجهیزات باید دارای شناسنامه تجهیزات براساس قوانین ایزو ۱۵۱۸۹ باشند (توضیح داده شود).
۳. کاربر / کاربران هر کدام از تجهیزات باید مشخص باشند. (در صورتیکه تجهیزات توسط کاربران متعددی مورد استفاده قرار می گیرند باید در یک برگه کاربری ساعت استفاده هر کدام از کاربران مشخص گردد).
٤. دستورالعمل فنی کار با هرکدام از تجهیزات باید موجود و در معرض رویت باشد.
٥. نحوه ایمن سازی هر دستگاه در صورت نیاز به تعمیرات باید مشخص باشد.
٦. هر تجهیز باید دارای دفترچه (و یا مستندات مشابه) کنترل کیفی داخلی باشد.
۷. مستندات کنترل کیفی حداقل باید شامل تاریخ کالیبراسیون، تاریخ تعمیرات، نوع تعمیرات، مستندات کنترل کیفی داخلی باشد.
۸. شماره تماس تعمیرکاران تجهیزات باید در دسترس باشد.

۹. توصیه می گردد که برگه ارزیابی عرضه کنندگان بر اساس استاندارد ایزو ۱۵۱۸۹ موجود باشد.
۱۰. نحوه قرار گیری تجهیزات باید بر اساس کتب مرجع و مطابق با استانداردهای جهانی باشد.

۳- مواد مصرفی آزمایشگاهی:

۱. لیست کاملی از مواد مصرفی آزمایشگاهی باید موجود باشد.
۲. تاریخ خرید و ترجیحاً چارتی از نحوه مصرف مواد موجود باشد.
۳. نحوه انبارش هرکدام از مواد باید کاملاً مشخص و رعایت گردیده باشد.
٤. باید در هر لحظه امکان ارزیابی میزان مواد موجود فراهم باشد. (وجود برنامه نرم افزاری انبار این مورد را تسهیل خواه نمود).
٥. مسئول انبارش مواد باید مشخص باشد.

٤- ایمنی:

*۱. رعایت نکات ایمنی در آزمایشگاه الزامی است (بر اساس دستورالعمل WHO و یا موارد دیگر).
۲. نکات ایمنی باید در مورد تمامی مراجعه کنندگان و کارکنان آزمایشگاه رعایت گردد.
۳. وسایل اولیه اطفا حریق باید در دسترس بوده و تمامی پرسنل باید به نحوه کار آنها آشنا باشند.
٤. وسایل کمک های اولیه و داروهای موردنیاز باید در محل موجودباشد.
٥. چشم شوی و دوش اضطراری باید وجود داشته باشد.
٦. تمامی پرسنل آزمایشگاه ملزم به رعایت نکات ایمنی فردی می باشند.
۷. مسئول ایمنی آزمایشگاه باید مشخص باشد.
۸. ثبت وقایع مخاطره آمیز و نحوه برخورد با آن الزامی است.
۹. ایمن سازی کارکنان در مقابل هپاتیت (ب) الزامی است.
۱۰. رعایت قوانین دفع پسماندها برابر با قوانین کشوری است.
۱۱. رعایت فضابندی آزمایشگاه باید به نحوی صورت پذیرد که کمترین مخاطره را برای پرسنل بهمراه داشته باشد و تمامی نکات ایمنی رعایت گردیده باشد.
۱۲. از تردد مراجعه کنندگان به فضاهای داخلی آزمایشگاه باید ممانعت بعمل آید.
۱۳. در محل نمونه گیری باید صندلی نمونه گیری ایمن بوده و از سقوط بیمار جلوگیری نماید. ترجیحاً تخت در محل نمونه گیری موجود باشد

٥- مستند سازی:

۱. مستندسازی صحیح از الزامات هر آزمایشگاهی بخصوص آزمایشگاه ژنتیک می باشد که اطلاعات آن دارای ارزش ویژه ای در بحث پزشکی قانونی داراست.
۲. اصول مستندسازی برابر با مقررات ایزو ۱۵۱۸۹ می باشد (توضیح داده شود).
۳. تمامی تلاش مسئول فنی در مورد سری نگهداشتن اطلاعات باید صورت پذیرد.
٤. هر بیمار باید دارای کد ویژه ای باشد که دستیابی به اطلاعات او را در سال های مختلف به راحتی امکان پذیر سازد.
٥. تمامی اطلاعات هر بیمار بایددر دسترس باشد.
٦. اطلاعات هر مجموعه آزمایش باید در دسترس باشد و کنترل کیفی داخلی آن ثبت گردیده باشد.

۷. نحوه بایگانی اطلاعات باید اگر به صورت نرم افزاری صورت می پذیرد به نحوی باشد که خطر از دست رفتن آنان موجود نبوده و تمهیدات لازم در این خصوص صورت گرفته باشد.

اطلاعات داده شده در زیر فقط برای اطلاعات عمومی اعضاء شبکه می باشد و استفاده از آن کمک به استقرار نظام کیفی خواهد کرد.

Swiss Society of Medical Genetics
www.ssgm.ch
Guidelines ۲۰۰۳
SSGM/M. Morris Page ۱/۹ Reporting Guidelines DNA v۱/۲۰۰۳

Best practice guidelines on reporting in molecular genetic diagnostic laboratories in Switzerland

۱. Scope and application of these Guidelines..... ۱
۲. General..... ۲
۳. Laboratory Identification, Signature and Administrative elements..... ۲
٤. Patient Identification..... ۳
٥. Restate in some form the clinical question being addressed ۳
٦. Specify the tests used..... ۳
۷. Present the laboratory results in a brief unambiguous form..... ٤
۸. Interpretation..... ٤
۹. Answer the question in a concise and clear way..... ٥
۱۰. Further tests and/or information..... ٥
۱۱. Requirement for genetic counselling..... ٥
۱۲. Interim reports ٦
۱۳. Reporting multiple patients..... ٦
۱٤. Disclaimers..... ٦
۱٥. References..... ۷
۱٦. Comments concerning laboratory accreditation (EN ISO/IEC ۱۷۰۲٥)..... ۷
۱۷. Check-list for “standard report”: ۸
۱۸. Standard report based on these guidelines..... ۸

۱. Scope and application of these Guidelines

۱.۱. This text presents Best Practice Guidelines for Swiss laboratories reporting molecular genetic diagnostic testing of constitutional mutations.
۱.۲. The aim of the guidelines is to improve the quality of reporting in Switzerland and to help laboratories to provide the most understandable and complete reports of their analyses.
۱.۳. The guidelines are modified with permission from the draft guidelines on Reporting of the European Molecular Quality Network (EMQN, www.emqn.org). The EMQN has no responsibility for this modified version. The guidelines also take account of the ISO/IEC ۱۷۰۲٥ norm and of the NCCLS “Molecular Diagnostic Methods for Genetic Diseases; Approved Guideline” (MM۱-A, Vol. ۲۰ No. ۷, ۲۰۰۰).
۱.٤. Laboratories following these Guidelines in essence may state “Laboratory reports are produced according to the Best Practice Guidelines of the Swiss Society of Medical Genetics”. Any Laboratory who includes this statement in external documentation is required to inform the Society (General Secretary) by writing. Laboratories are free within reason to modify elements of the guidelines if they feel this is appropriate; the Committee of the Society alone can judge whether such modifications remain within the essence of the Guidelines.

۲. General

۲.۱. Reports are specific formal documents from the laboratory to the referring doctor, recording the outcome of molecular genetic investigations on a patient. Their principal aim is to provide a clear, concise, accurate, fully interpretative and authoritative answer to a clinical question.
۲.۲. Reports must in particular be understandable by medical professionals who may have little background in genetics and who are unable to correctly or fully interpret genetic data.
۲.۳. The interpretation of molecular genetics results depends entirely on the context (see ٦.۱).
۲.٤. Reports should not extend beyond one side of a page, insofar as is possible.

٢.٥. The conclusion must be evident (e.g. bold).
٢.٦. Reports should be typed, word-processed or created by computer. Hand-written reports are not acceptable.
٢.٧. Integrated laboratory computer systems often have reporting modules which simplify report writing by use of coded or automatic text. Careful thought needs to be put into setting these systems up so that the coded text is meaningful, accurate, appropriate and adaptable to different situations.
٢.٨. Reports should be sent to the referring doctors, medical institution or medical genetics laboratory. If the latter has requested in writing that copies be sent to other health care professionals, this should be done. If the laboratory feels sending copies is inappropriate (e.g. in HD predictive testing, APOE genotyping etc.) this should be discussed with the referring doctor.
٢.٩. The result must be archived in the patient's file in the laboratory (electronically or on paper). As molecular genetics results have implications for relatives of the patient tested, thirty years (one generation) is proposed as the **minimum** archive period; *ad eternam* is preferable.

٣. Laboratory Identification, Signature and Administrative elements

٣.١. The Laboratory issuing the report should be clearly identified, with full contact details. The report should carry a title (e.g. "Result of genetic analysis") and be dated.
٣.٢. The page number and total number of pages should be indicated on every page.
٣.٣. If any part of the analysis for which results are presented is performed in an external lab, it is essential to indicate this on the report and to clearly indicate which results come from which laboratory. It is strongly recommended that the original report is transmitted in its original form.
If your laboratory is accredited and the external laboratory is not, it is essential to indicate this fact.
٣.٤. The sample nature and date of reception should be mentioned.
٣.٥. Unless the preanalytical phase is assured by the laboratory, the report should indicate that the results apply only to the supplied sample.
٣.٦. The name of the person (doctor, laboratory) requesting the analysis should be indicated.
٣.٧. Reports should be signed by the laboratory director (or another FAMH Specialist in Medical Genetic Analyses or other title-holder authorized for the analysis).
٣.٨. It is recommended that reports are co-signed or initialled by a second person who has interpreted the result (usually the person who has performed the analysis).
٣.٩. The name, function or other identification of all signatories must be given.
٣.١٠. It is preferable that reports be signed manually, not electronically.

٤. Patient Identification

٤.١. Even though many tested individuals are in good health, for simplicity the word "patient" is recommended.
٤.٢. Patients should be identified on reports by at least two items of information, most commonly full name and date of birth. Inclusion of laboratory accession number is strongly recommended.
٤.٣. When several reports are written on different members of a family or when one report concerns several individuals, it is recommended to include pedigree or family number or equivalent, and/or to indicate the family relationships clearly. Whenever possible, it is recommended to issue separate reports for each individual, carrying only data essential for the interpretation, to preserve confidentiality (see ١٤).
٤.٤. Foetal samples (CVS, amniocytes etc.) should be clearly distinguished from those of their mothers (cytogenetics labs commonly identify such samples with the mother's name, which is not acceptable for DNA).

٥. Restate in some form the clinical question being addressed

٥.١. **The interpretation of molecular genetics results depends entirely on the clinical context.** Therefore, reports should explicitly restate the clinical question being asked (or if the referral form is ambiguous, what the question is that is being answered). This usually comprises at least the following three elements:
- The disease/marker being tested (e.g. fragile-X syndrome, cystic fibrosis)
- The request being made (e.g. diagnostic confirmation, carrier status)
- The indication - why the request is being made (e.g. positive family history).

٥.٢. In the absence of clinical information, the laboratory should indicate that the accuracy of

the interpretation depends on that of the assumed question.
5.3. If space permits, re-state any additional information on the referral form which has a bearing on the clinical question.
Reminder: accredited labs must clearly distinguish whether or not this indication/question is part of the scope of the accreditation.

٦. Specify the tests used

٦.١. Indicate the material that has been tested (e.g. “EDTA blood”, “cultured amniocytes”, “purified DNA”). If the position of sampling is relevant to the quality of the result (e.g. muscle biopsy, tumour/normal tissue) this should be indicated.
٦.٢. Include brief technical details about the tests used in the analysis. This is of particular importance in situations where other laboratories may have to analyse relatives of your reported patient or where the patient may in the future undergo further investigation following a negative result. It is particularly useful to state which test is used when a number of alternatives are in established usage (e.g., ARMS, fluorescent OLA or restriction analysis to detect CF mutations).
٦.٣. Give full details of the extent of the tests (e.g. which exons screened for deletions in DMD, which mutations looked for in CF etc). Again, this is particularly important when reporting negative results.
٦.٤. When reporting mutation detection studies, mention the method(s) used. For techniques which are not entirely sequence-specific, the interpretation should state "...consistent with...”. Methods include:

Sequence-specific methods	**Non sequence-specific methods**
direct sequencing	SSCA
creation of a restriction site	destruction of a restriction site
ARMS sizing	
ASO hybridisation	PTT
OLA	DGGE.

٧. Present the laboratory results in a brief unambiguous form

٧.١. The results should include sufficient precise data to be fully interpretable to other laboratories, without becoming a scientific paper.
٧.٢. Use of "+" and "-" in reporting mutations is open to misinterpretation and should be avoided.
٧.٣. Nomenclature should be meaningful, unambiguous and consistent. The HUGO standard mutation nomenclature system (den Dunnen & Antonarakis, *Hum Genet* ١٠٩(١): ١٢١-١٢٤, ٢٠٠١) is recommended by the SSGM as it reduces the potential for ambiguity when reading reports issued by other labs. Note that the base/codon numbering system, although unambiguous, frequently differs from systems that were in place before ١٩٩٨.
٧.٤. If for some reason other nomenclature is adopted, the following points should be considered:
- For mutation studies, letter codes are most straightforward. Avoid symbols which may not exist on all keyboards/in email (e.g. use F٥٠٨del, not Greek delta).
- Avoid mixing code/numbering systems on different reports.
If the HUGO system is not used, a key should be used to avoid confusion and to allow other laboratories to accurately interpret your report.
٧.٥. For microsatellites and other length polymorphisms, the most commonly used scoring system is to assign numbers with "١" representing the largest allele. Specify the scoring system used (e.g. ”alleles are numbered from largest to smallest”).
Family studies (see also 14)
٧.٦. A table and/or annotated pedigree can convey complex information much more concisely than text. This format is particularly recommended for linked-marker studies.
٧.٧. The pedigree should include sufficient information to unambiguously identify the family (include family/ pedigree number) and to distinguish each relevant person.
٧.٨. Pedigree diagrams should include only those individuals relevant to the interpretation. The confidentiality of information of relatives of the patient being reported must be a consideration - see ١٤.
٧.٩. Where pedigree diagrams display linked-marker haplotypes, the marker order presented should accurately reflect marker order on the chromosome or around the gene. An indication of orientation should be made to avoid potential confusion. We recommend ptelomere
to q-telomere.

٨. Interpretation

٨.١. The report must provide a **full and clear interpretation** of molecular genetic test results. Reports are destined to be read by a variety of professionals involved in the care of the patient, many of whom will be unable to fully interpret genotyping results.
٨.٢. Some laboratories may feel pressurised not to provide full interpretation by clinicians who prefer to interpret genotyping results themselves. This pressure should be resisted - if the clinicians do not want to read the interpretation, they can ignore that section of the report. The inclusion of an interpretation of results, and not just the result itself, is a responsibility of FAMH Specialists in Medical Genetic Analysis.
٨.٣. In order to provide a full interpretation, genotyping results must be reviewed in the context of the relevant clinical and family information available. The report should restate briefly any such information which is considered in the final interpretation (this may have been done at the beginning of the report; see ٦. The information may include the following:
- Relationship between the patient and the index case where there is a family history of the disease.
- Ethnic background where relevant (e.g. CF)
- Other laboratory investigations (e.g. CPK results in DMD)
- Unusual or suspicious clinical picture (e.g. foetal echogenic bowel in CF).

٨.٤. In the case of negative results, it is important to provide an estimate of the diagnostic sensitivity (ie the proportion of affected individuals likely to be detected). Sensitivity estimates may be influenced by information supplied on the referral form (see ٧.٣). It can be useful to provide a key reference to support sensitivity estimates when appropriate, but the report should not become a scientific discussion.
٨.٥. In the case of positive results, it is often important to provide an estimate of diagnostic specificity, which indicates the risk of a false-positive result (typically, in late-onset diseases or in case of reduced penetrance).
٨.٦. When appropriate, genetic carrier risks should be stated (e.g. “the patient’s residual risk of carrying a CF mutation is …”). Risk estimates are usually most appropriately based on Bayesian calculations and are most commonly calculated “by hand”.

٩. Answer the question in a concise and clear way

٩.١. The final answer to the clinical question is a statement of the interpretation of the genotyping results taking into account any appropriate additional information supplied. Wherever possible this should be expressed in a simple concise statement.
٩.٢. It is recommended that laboratories **highlight** this conclusion (bold, underline, large font, text in a box etc). Clinicians familiar with the report format (or in a hurry) will focus on this "bottom line" and ignore the "blurb". For this reason careful thought must be given to wording so that the statement is accurate and not open to misinterpretation. Appropriate phrases include:
"This patient shows no evidence of a fragile-X expansion",
"This patient is a CF carrier", "low risk of being a carrier",
“The absence of the mutation excludes the diagnosis”,
“This negative result does not formally exclude the diagnosis but renders it highly unlikely”.
Disease-specific suggestions can be found at www.emqn.org/bpguidelines.htm.
٩.٣. In particular, remember that negative results (“no mutation detected”) can easily be misinterpreted by non-specialists as exclusions.

١٠. Further tests and/or information

١٠.١. Indicate if further tests could be undertaken to improve the accuracy or scope of the interpretation. This may include tests for additional disorders or additional tests to more fully investigate the disease in question.
١٠.٢. If the additional tests suggested are not performed "in-house", alternative specialist laboratories where the DNA may be sent can be proposed.
١٠.٣. Suggest any other information which could be supplied or arranged by the referring clinician which might improve the accuracy of your interpretation (e.g. arranging testing of the index case in a family to confirm a diagnosis or to determine which mutations are present).

١١. Requirement for genetic counselling

١١.١. The report should carry the reminder to the referring doctor that “genetic tests should be accompanied by genetic counselling” (or similar).
Note that at present in Switzerland it would be incorrect to say “must be accompanied by” nor “counselling by an FMH Specialist in Medical Genetics is essential”.

١١.٢. It is essential that all positive (abnormal) results should carry the suggestion of counselling.
١١.٣. In certain cases (prenatal diagnosis, presymptomatic testing, or results with major implications for other family members) it is appropriate to indicate that “this result and its implications should be transmitted only in a specialized genetic consultation” (or similar).
١١.٤. Family follow-up. When a new diagnosis is made (positive result in a diagnostic confirmation) it may be appropriate to state specifically that the result has “potentially important implications for other family members” or equivalent.

١١.٥. It must never be stated that prenatal or presymptomatic diagnosis is “indicated” or “necessary”. The role of the laboratory does not go beyond stating that diagnosis “would be possible if desired”.

١٢. Interim reports

١٢.١. It may in some circumstances be useful to issue a report before all studies are complete (e.g. when indicative preliminary results have been obtained but a long delay is expected before the final results will be ready). Interim reports should be clearly marked as such and should be worded to avoid misinterpretation of their status. Thus, phrases or summary statements appearing to give a definitive result should not be used.
١٢.٢. It should be clearly stated which analyses are still underway.
١٢.٣. The definitive report should clearly state which are the new results, and should include a general conclusion taking account of all results.

١٣. Reporting multiple patients

١٣.١. As a general rule, each unrelated patient should be reported on a separate and unique document, since the reports will ultimately be filed in individual patient or family files (as well as for reasons of confidentiality).
١٣.٢. When several family members are analysed simultaneously, policies vary as to whether they should be reported on the same or on different reports. This will depend on the disorder and the nature of the analysis as the following situations illustrate:
- Huntington’s (and comparable) predictive test results **must always** be reported on separate, individual reports.
- Linked-marker studies only make sense in the context of alleles inherited by several family members, which must be included in the report. It is recommended to restrict the number of individuals reported to only those essential for accurate analysis, and to include an interpretation and final risk only for one person per report.

Uncertainty about whether or not to report several relatives on the same report might be resolved by considering:
- is the answer to an individual’s clinical question dependent upon stating information about other family members?
- since a copy of the report may be filed in the patient notes of each individual reported, what are the consequences of any of those individuals having access to information about other family members?

١٣.٣. If a couple undergo carrier testing for CF (or other recessive disorders) prior to embarking on pregnancy, the information they require is the risk to their foetus. The test results for one partner must be interpreted in light of the other partner’s results and it is common practice to report both individuals together. However, some laboratories are uneasy about this (the couple may separate) and issue separate reports but with cross references to the partner’s results.
We recommend issuing separate reports, with each indicating the name of the partner and a conclusion “the risk that a child of this couple be affected by CF is ١ in …”.

١٤. Disclaimers

١٤.١. Mention only where appropriate the possibility of errors due to factors beyond the control of the laboratory (e.g. the risk of "non-paternity" and the need for family relationships at stated on the referral forms being correct).
١٤.٢. In indirect (linkage) analyses, it is sometimes advisable to state that the “accuracy of the result depends on the clinical diagnosis and the assumption that gene X is responsible for disease” (or similar).
١٤.٣. It is neither necessary nor desirable to mention the possibility of laboratory error or sample mislabelling on every report. However, laboratories might wish to add a note of caution when reports are based on DNA samples or reports sent from another laboratory.

١٤.٤. It is suggested that all reports carry a standard phrase indicating that “this report cannot be copied or reproduced, except in its totality”.

١٥. References

١٥.١. References should be given when published data have a bearing on the interpretation or risk calculation. In general references are only necessary when the data are newly published or present information which is not widely known or accepted. When different publications present conflicting data, it is important to specify which has been used as the basis for your interpretation.

١٥.٢. Include enough information to allow the reader to obtain the reference themselves, (e.g. Rousseau et al. Am. J. Hum. Genet. ٥٥: ٢٢٥ (١٩٩٤), rather than just Rousseau et al. ١٩٩٤).

١٦. Comments concerning laboratory accreditation (EN ISO/IEC ١٧٠٢٥)

١٦.١. These Guidelines have been designed to help fulfil the requirements of the Swiss Accreditation Service (SAS) for accreditation according to the cited European norm. Although the SSGM cannot formally guarantee that such reports will automatically fulfil the requirements of the SAS, all laboratories who have accredited or are considering accrediting medical genetic analyses are strongly encouraged to implement the Guidelines, for their own benefit as well as for a better service.

١٦.٢. Accredited laboratories need to state what elements of the report are covered by the accreditation (for example, not the sample, not the indication, not the Commentary etc). Similarly, results of analyses which are not accredited must be indicated (e.g. by a symbol).

١٧. Check-list for “standard report”:

Laboratory Identifiers
Title, date
Name of patient (at least two identifiers; date of birth, sample number, etc)
Indication for testing or question to be answered
Test performed, mutations tested, sensitivity
Methods used (in brief)
Result (formal genotype)
Interpretation of result in simple language
Remarks on sensitivity, specificity, context
Requirement for counselling and/or further testing
Signature of lab director, visa/signature of second person
Laboratory’s Standard phrase concerning reproduction of report and scope of results.

١٨. Standard report based on these guidelines

see following page; note that no requirements of layout are imposed.

SAMPLE REPORT ACCORDING TO SSGM GUIDELINES

The Swiss Hospital
Division of Genetics
Laboratory of Molecular Genetics
Our Address
Tel (+٤١) ٠١٢ ٣٤ ٥٦ ٧٨٩, Fax ٠١٢ ٣٤ ٥٦ ٧٨٠
email the.geneticist@switzerland.ch

Report of molecular genetic investigations City, ١٢-١٢-١٦٠٢

This report cannot be copied without permission of the Laboratory, except in its entirety. Further information is available in the Catalogue of Analyses or from the Laboratory on request. The above results refer only to the samples as received. The indication, the remarks and sections indicated by § are not part of the scope of the accreditation.

page ٩ of ٩

Patient(s): **MENDEL Gregor (٢٢-٧-١٨٢٢; # ٠٠٠٠١)**

Indication: Clinical suspicion of autosomal dominant achocolataemia.

Material tested: EDTA
blood.

Analyses: DNA extraction. Analysis of the most common mutations of the gene *CHOC1*, by PCR and sequencing of exon ١٠ (reference: *Eur J Choc Biol* ١ ١٢٣-٤٥٦). *Sample received :* ١-١-٢٠٠٢

Result: **No *CHOC1* mutations detected.**

Interpretation: **The absence of any mutations in exon ١٠ makes the diagnosis very unlikely, without formally excluding it (٩٩% of patients have a mutation in this exon).**

Remarks: Further very rare mutations could be analysed on request.

Gene TESTER Ph.D.

FAMH specialist in medical genetic analysis
Laboratory Director
Analyses performed by: XYZ
Analysis requested by Dr A. Medic, Switzerland
Copy to -
Because of their complexity and their potential implications for other family members, all genetic tests should be accompanied by genetic counselling.

Signature

signature/initials