

باسمه تعالی

آزمایشگاه های شرکت کننده در این برنامه شامل آزمایشگاه های منتخب سطح ۱ (آزمایشگاه های ارسال کننده نمونه) جهت تهیه و ارسال نمونه و آزمایشگاه منتخب غربالگری بیوشیمی (آزمایشگاه های سطح ۲ یا آزمایشگاه های مجری انجام آزمایشات) و ژنتیک منتخب می باشد. در این دستورالعمل صرفا الزامات آزمایشگاه های ارسال کننده نمونه و مجری انجام آزمایشات در حوزه بیوشیمی ذکر شده است.

کلیه ادارات امور آزمایشگاه های معاونت درمان دانشگاه ها، باید فهرستی از آزمایشگاه های منتخب مذکور را داشته باشند و در صورت نیاز در اختیار متقاضیان قرار دهند.

آزمایش های بیوشیمیایی مورد نظر در این برنامه در شرایط فعلی که با استفاده از روش های Immunoassay-based انجام می پذیرند، عبارتند از:

- ۱- تست های غربالگری سه ماهه اول
- ب- Double Marker شامل تعیین میزان PAPP-A و Free β hCG در سرم مادر
- ۲- تست های غربالگری سه ماهه دوم
- ب- Quadruple test شامل Total hCG / β hCG و AFP و u E3 و (Inhibin -A) DIA در هفته ۱۷-۱۴
- ۳- تست های غربالگری تلفیقی (Integrated) یا ترتیبی (Sequential) و Contingent که به صورت دو مرحله ای با ترکیب تست های فوق و یک یا دو بار محاسبه ریسک انجام می پذیرد.

۱) انتخاب و احراز صلاحیت آزمایشگاه ها:

انتخاب و نظارت بر عملکرد آزمایشگاه ها در دو مرحله انجام می گیرد:

مرحله اول: خود اظهاری

کلیه آزمایشگاه های متقاضی همکاری در برنامه باید پس از فراخوان عمومی در سامانه ای که تحت عنوان www.screening.ir طراحی شده است ثبت نام نموده و ضمن اعلام برخورداری از حداقل الزامات عمومی و فنی تعیین شده، چک لیست ویژه آزمایشگاه های غربالگری را به شکل خوداظهاری تکمیل و ثبت نمایند.

کارشناسان آزمایشگاه مرجع سلامت پس از بررسی اطلاعات ارائه شده و در صورت انطباق آنها با الزامات مورد درخواست، آزمایشگاه را بطور مقدماتی در فهرست همکاران برنامه قرار می دهند تا مراحل مختلف تعیین شده در برنامه را اجرا و اطلاعات را ارسال نمایند.

۱) مرحله دوم: ممیزی در محل و بررسی نتایج مهارت آزمایشی

- ۲) در طول دو ماه اول اجرای برنامه ممیزین اداره امور آزمایشگاه ها براساس چک لیست های مشخص و متناسب با گروهی که آزمایشگاه در آن قرار گرفته از آن بازدید به عمل آورده و در صورت اطمینان از صحت اطلاعات ارائه شده ، آزمایشگاه در فهرست اولیه باقی مانده و به فعالیت خود ادامه می دهد.
- ادامه فعالیت آزمایشگاه منوط به توانایی ارائه عملکرد مناسب در نتایج آزمایشات که در سامانه ثبت شده اند، ارزیابی صلاحیت های دوره ای با انجام ممیزی های تکمیلی و همچنین بررسی نتایج شرکت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت (مهارت آزمایی) می باشد رکه توسط وزارت بهداشت طراحی می گرددو شامل آنالیت های مورد نظر در غربالگری سه ماهها اول و دوم بارداری می باشد.
-
- نتایج به دست آمده در برنامه مهارت آزمایی باید به طور مرتب توسط آزمایشگاه بررسی شود و اقدامات اصلاحی مقتضی در برخورد با نتایج خارج از محدوده مجاز، باید بلافاصله صورت پذیرد.
- چنانچه در یک آزمایشگاه نتایج برنامه مهارت آزمایی برای هر آنالیت بیش از دو دوره متوالی خارج از محدوده مجاز تعیین شده باشد ، ممیزین اداره امور آزمایشگاهها موضوع را بطور جدی پیگیری کرده و در صورت لزوم ارائه خدمت در این حوزه را متوقف می نمایند. در این صورت بازگشت مجدد آزمایشگاه به چرخه ارائه خدمت منوط به ارزیابی مجدد و کسب اطمینان از موثر بودن اقدامات اصلاحی انجام شده با انجام روش های کنترل کیفیت داخلی و همچنین انجام مجدد آزمایش روی نمونه کنترل خارجی است که از مجریان برنامه مهارت آزمایی تهیه می گردد. بدیهی است پس از بررسی و تایید نهایی توسط ممیزین اداره امور آزمایشگاهها، آن آزمایشگاه مجددا مجاز به ارائه خدمت در حوزه غربالگری می باشد.
-

۲) الزامات فنی و اجرایی:

الف) الزامات مراکز نمونه گیری برای غربالگری بیوشیمی سندرم داون (آزمایشگاه های منتخب سطح یک):

- ۱- مرکز باید در فهرست مراکز منتخب و تحت نظارت دانشگاه جهت جمع آوری و ارسال نمونه قرار داشته باشد.
- ۲- نمونه گیری در این مراکز باید براساس دستورالعمل ابلاغی از سوی وزارت بهداشت و منطبق با روش استاندارد نمونه گیری انجام گیرد.
- ۳- آزمایشگاه باید با متخصصین بالینی زنان یا پره ناتولوژی متقاضی انجام آزمایش یا در صورت لزوم متخصصین صاحب نظر جهت تعیین تکلیف ابهامات مطرح شده در خصوص درخواست یا گزارش آزمایش مشورت بالینی نموده و سوابق این مشاوره ها را حفظ نماید .
- ۴- مسئول فنی و کارشناس مسئول انجام این گروه از آزمایش ها در آزمایشگاه باید دوره های آموزشی تعیین شده در این زمینه را که توسط وزارت بهداشت و یا مراکز منتخب آن ارائه می گردد ، گذرانده و گواهی مربوطه را جهت مشخص نمودن

صلاحیت احراز شده دریافت نموده باشند. بدیهی است مسئولیت ایجاد فرصت های آموزشی حین خدمت و تأیید صلاحیت کارکنان مرتبط با این آزمایشات به عهده مسئول فنی می باشد.

۵- مرکز موظف به انجام وظایف مربوطه بر اساس دستورالعمل برنامه غربالگری سندرم داون می باشد.

۶- مرکز موظف به استفاده از سیستم تعریف شده انتقال نمونه در چارچوب قرارداد معین، با تأکید بر استاندارد های مورد اشاره در بند (د)، می باشد.

ب) الزامات قبل از نمونه گیری:

۱. وجود درخواست پزشک برای انجام آزمایش ها
۲. توجه به محتوای علمی- اجرایی و اهمیت بازه های زمانی در برنامه و موارد نیازمند اقدامات فوری (مادران پرخطر)
۳. بررسی مناسب بودن سن حاملگی و تطبیق آن با نوع آزمایش درخواستی در هنگام پذیرش
۴. اطلاع رسانی درمورد نحوه انجام آزمایش ها و دریافت نتایج، به کلیه مراجعین قبل از نمونه گیری
۵. تکمیل فرم رضایت نامه برای هر یک از مراجعین قبل از نمونه گیری
۶. تکمیل و ارسال فرم اطلاعات مورد نیاز همراه نمونه (چنانچه اطلاعات مورد نیاز در فرم درج نشده باشد ، آزمایشگاه منتخب غربالگری باید قبل از نمونه گیری به تکمیل آنها اقدام نماید.) این اطلاعات شامل موارد زیر است:

- ✓ نام و شماره تماس پزشک ارجاع دهنده
- ✓ مشخصات مادر: نام و نام خانوادگی، آدرس و تلفن، تاریخ تولد / سن، ملیت و نژاد، وزن به کیلوگرم، سابقه وجود اختلالات کروموزومی در بارداری های قبلی و یا داشتن فرزند مبتلا، سابقه مصرف دخانیات، سابقه بیماری بخصوص دیابت وابسته به انسولین، سابقه انجام آزمایشهای مشابه در بارداریهای قبلی، سابقه انجام آمنیوسنتز یا CVS در بارداری های قبلی، نحوه بارداری (طبیعی، IVF، با استفاده از دارو)، تعداد زایمان (Parity)، تاریخ LMP / سن بارداری
- ✓ اطلاعات در برگه سونوگرافی همراه: تاریخ انجام سونوگرافی، نام سونوگرافیسیت، اندازه CRL در جنین، اندازه NT، تعداد جنین زنده، تعداد ضربان قلب جنین (FHR)، تعیین Chorionicity در حاملگی چند قلبی (به خصوص دو قلبی)، اندازه CRL بزرگتر در حاملگی دوقلویی، تصویرسونوگرافی (باید پیوست باشد).

ج) الزامات مربوط به مدیریت نمونه:

۱. آمادگی قبل از نمونه گیری: برای نمونه های بیوشیمی بیمار نیاز به آمادگی خاصی ندارد. (شرایط ناشتا الزامی نمی باشد.)
۲. نوع نمونه : برای مرحله اول غربالگری (۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز بارداری) سرم به دست آمده از ۵ سی سی خون کامل و برای مرحله دوم غربالگری (۱۴ تا ۱۶ هفته و ۶ روز بارداری) سرم به دست آمده از ۱۰ سی سی خون کامل
۳. ظرف جمع آوری نمونه : نمونه می بایست در لوله در پیچ دار بدون ماده ضد انعقاد ریخته شود.

۴. شرایط نگهداری نمونه: سرم می بایست در فاصله زمانی حداکثر ۲ ساعت بعد از نمونه گیری جدا شده و تا زمان ارسال یا انجام آزمایش در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد نگهداری شود. (نکته: به دلیل ناپایداری استریول کونژوگه در نمونه خون کامل، سرمی بایست در اسرع وقت جدا شود).
۵. تاریخ و زمان نمونه گیری به همراه نام مادر باید بر روی لوله های حاوی نمونه درج ، و همراه با برگه اطلاعات ارسال گردد.

(د) الزامات انتقال نمونه:

۱. جمع آوری نمونه ها از سطح مراکز نمونه گیری همراه با برگه اطلاعات مراجعه کننده به آزمایشگاه منتخب انجام می شود.
۲. فواصل انتقال نمونه: انتقال نمونه ها سه بار در هفته (حداکثر هر ۴۸ ساعت یک بار) براساس برنامه زمان بندی مشخص، که با همکاری آزمایشگاه منتخب غربالگری تعیین شده است، صورت می پذیرد.
۳. شرایط انتقال نمونه: انتقال نمونه باید در دمای ۸-۲ درجه و در بسته بندی سه لایه ای (گروه B) حداکثر ظرف ۴۸ ساعت از زمان نمونه گیری صورت گیرد. (با رعایت زنجیره سرما)

(ه) معیارهای رد نمونه:

- مقدار CRL گزارش شده در برگه سونوگرافی در سه ماه اول بارداری، خارج از محدوده ۸۴-۴۵ میلی متر.
- مراجعه مادر یا ارجاع نمونه، خارج از محدوده زمانی مشخص شده بارداری (۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز برای سه ماه اول و ۱۴-۱۷ هفته برای سه ماه دوم بارداری)
- ناقص بودن اطلاعات برگه سونوگرافی
- عدم رعایت زنجیره سرد به هنگام انتقال نمونه ها(بالا رفتن دما به سرعت موجب نامعتبر شدن نتایج تست Free β HCG می شود).
- نگهداری سرم بیش از یک هفته در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد
- عدم انطباق حجم نمونه با حجم مورد نیاز مندرج در دستورالعمل نمونه گیری (حداقل حجم نمونه در مرحله اول ۵ سی سی و مرحله دوم ۱۰ سی سی می باشد).
- وجود همولیز واضح
- نمونه لیپمیک
- جمع آوری نمونه در لوله دارای ضد انعقاد
- عدم هم خوانی اطلاعات برگه همراه با مشخصات برجسب و کد نمونه، و یا ناکامل بودن مشخصات ذکر شده در برگه اطلاعات
- مخدوش بودن مشخصات برجسب نمونه

▪ شکستگی یا نشستی در ظرف حاوی نمونه

*کلیه آزمایشگاه های سطح دو موظفند هر گونه موارد عدم انطباق در مراحل مختلف این فرآیند را (بر اساس الزامات در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال کننده نمونه اطلاع داده و همچنین کتبا به اداره امور آزمایشگاهها اعلام نمایند.

ن) الزامات مراکز منتخب انجام دهنده آزمایشات غربالگری سندرم داون (آزمایشگاه های سطح دو):

۱. آزمایشگاه منتخب باید برای انجام این آزمایش ها از کیت، برنامه نرم افزاری و تجهیزات دارای تأییدیه های معتبر CE, FDA, و یا تأییدیه وزارت بهداشت و درمان ایران استفاده نمایند. (آزمایشگاه منتخب می بایست در هنگام تهیه این ملزومات از شرکت ارایه کننده نسخه ای از تأییدیه های موجود را دریافت و در ممیزی آزمایشگاه در اختیار ممیزین قرار دهد).
۲. آزمایشگاه منتخب غربالگری می بایست هر دو مرحله آزمایشات غربالگری را ارائه دهد (مگر مواردی که به دلایلی با هماهنگی آزمایشگاه مرجع سلامت فقط مجری تست های سه ماهه اول یا دوم باشد).
۳. آزمایشگاه منتخب غربالگری موظف به انجام وظایف مربوطه بر اساس دستورالعمل برنامه غربالگری سندرم داون می باشد.
۴. ضروری است آزمایش های سه ماهه اول بارداری توسط سیستم های بسته با صحت مناسب در عملکرد (درستی و دقت) انجام گیرد.
۵. برای آنالیت هایی که هم اکنون در سیستم های بسته اندازه گیری قرار ندارند (آزمایشات مرحله دوم غربالگری)، رعایت الزامات آزمایش با روش های باز و اجرای دقیق برنامه های کنترل کیفیت داخلی مورد تاکید است.
۶. انجام آزمایش های صحنه گذاری اولیه، قبل از استفاده از کیت های جدید و همچنین اطمینان از حفظ ویژگی های عملکردی مورد انتظار در استفاده از کیت های با سری ساخت متفاوت الزامی است. در انتخاب روش های انجام این آزمایش ها حداقل باید از تناسب محدوده آنالیتیک قابل اندازه گیری، حد تشخیص، درستی و دقت روش، اطمینان لازم ایجاد شود. (لازم است میزان عدم دقت **within run**، محاسبه شود و بیش از ۴ درصد نباشد).
۷. آزمایشگاه باید با رعایت کلیه الزامات مندرج در استانداردهای ابلاغی آزمایشگاه مرجع سلامت در حوزه سیستم مدیریت کیفیت دارای یک برنامه تضمین کیفیت مشخص و مدون بوده و براساس آن برای انجام آزمایش ها یک برنامه کنترل کیفیت داخلی تعریف کرده باشد.
۸. با هر سری کاری، باید کنترل های معتبر تجاری حداقل در دو سطح بالا و پائین برای هر یک از آنالیت های مورد اندازه گیری قرائت و ثبت شود و نتایج آن، با توجه به خطای مجاز تعریف شده برای این گروه از آزمایش ها، در چارت کنترلی مورد ارزیابی قرار گیرد. توصیه می گردد کنترل ها در سه سطح غلظتی **Low, Med, High** تهیه و قرائت شود.
۹. تکنولوژی مورد استفاده برای انجام این آزمایش ها باید در برنامه نرم افزاری محاسبه خطر، مشخص شده باشد.
۱۰. آزمایشگاه باید از تعداد نمونه کافی برای محاسبه میان هر هفته بارداری، برخوردار باشد (۱۰۰ نمونه برای هر هفته بارداری) به عبارت دیگر میان ها در هر آزمایشگاه و براساس جمعیت مراجعین آن آزمایشگاه باید تعیین و به روز گردد. (برای محاسبه میان ها می توان از نمونه های فریز شده نیز استفاده نمود).

۱۱. در مراحل اولیه پذیرش نمونه ها، در صورتی که هنوز تعداد نمونه ها به حدنصاب لازم برای محاسبه مدیان نرسیده است، آزمایشگاه می تواند به مدت حداکثر سه ماه از مدیان هایی که شرکت پشتیبان نرم افزار، متناسب با روش مورد استفاده برای آزمایش، در اختیار می گذارد استفاده نماید. (این مدیان ها با هماهنگی آزمایشگاه مرجع سلامت یا آزمایشگاه های مورد تأیید آن مرکز محاسبه می گردد). چنانچه پس از گذشت این زمان نمونه های پذیرش شده به تعداد کافی نرسد، انجام این آزمایش ها باید متوقف گردد و برای تصمیم گیری درخصوص نحوه ادامه فعالیت مراتب به اداره امور آزمایشگاه ها اطلاع داده شده یا در سامانه اختصاصی جهت انجام هماهنگی های لازم با آزمایشگاه مرجع سلامت ثبت گردد..
 ۱۲. آزمایشگاه برای پشتیبانی و سایر خدمات لازم باید با شرکت نرم افزاری پشتیبان قرارداد سالیانه داشته باشد.
 ۱۳. آزمایشگاه موظف است در هر گونه برنامه ارزیابی خارجی کیفیت مرتبط که توسط آزمایشگاه مرجع سلامت یا مراکز منتخب آن اجرا می شود، شرکت کند.
 ۱۴. آزمایشگاه باید به طور ماهانه وضعیت median MoM کلی مربوط به PAPP-A و Free β hCG خود را کنترل نموده باشد و مقدار آن نباید از $1 \text{ MoM} \pm 10\%$ بیشتر شود.
 ۱۵. آزمایشگاه باید در چارچوب دستورالعمل برنامه کشوری پیشگیری و کنترل سندرم داون ابلاغ شده از سوی وزارت متبوع برنامه آزمایشگاهی را به اجرا گذارد.
- آزمایشگاه باید با سطوح تعیین شده در نظام سلامت بر اساس دستورالعمل برنامه در ارتباط باشد و بر اساس تعریف صورت گرفته به تبادل اطلاعات بپردازد. (و الزامات مرحله پس از انجام آزمایش

۱. تمامی آزمایش ه باید در مدت سه روز کاری پاسخ داده شود. (این سه روز از زمان نمونه گیری تا زمان تحویل گزارش به مرجع تعیین شده در دستورالعمل است).
۲. فرمت جوابدهی باید شامل: نام و نام خانوادگی، تاریخ تولد، تاریخ و شماره پذیرش آزمایشگاه یا کد اختصاصی نمونه، نام پزشک درخواست کننده، تاریخ نمونه گیری، اطلاعات مربوط به بارداری (سن مادر، سن بارداری، وزن مادر، (CRL)، NT، (برحسب mm)، نام سونوگرافست باشد.
۳. نتایج آزمایش شامل مقدار عددی غلظت (که قابل ردیابی به واحدهای SI باشد) و مقادیر تفسیری به MoM است. که برای آزمایشگاه سطح یک ارجاع کننده نمونه ارسال و توسط آن آزمایشگاه در اختیار مراجعه کننده قرار می گیرد.
۴. تفسیر نتایج در سه ماه اول به صورت: risk cut-off level : Low /High risk و تعیین ریسک اختصاصی مادر برای ابتلا جنین به اختلالات کروموزومی (تریزومی) و در سه ماه دوم بصورت risk cut-off : Low /High risk level و ریسک اختصاصی مادر است.
۵. در برگه جوابدهی می بایست حتما این عبارت به زبان انگلیسی قید گردد:
"آزمایش های انجام شده صرفا به عنوان غربالگری بوده و به هیچ عنوان تشخیص قطعی محسوب نمی شود."
"تصمیم گیری برای انجام آزمایش های بعدی به عهده پزشک معالج می باشد."
۶. تمامی نتایج مربوط به موارد مثبت غربالگری باید به عنوان یک نتیجه بحرانی (Critical Value) محسوب شده و می بایست توسط آزمایشگاه انجام دهنده به صورت تلفنی به پزشک متخصص ارجاع دهنده و یا مرکز بهداشت شهرستان اطلاع داده شود. (در این شرایط مادر برای دریافت نتایج و مراجعه فوری به پزشک توسط آزمایشگاه ارجاع دهنده فراخوان می شود).
۷. پس از انجام آزمایش، باقی مانده نمونه ها باید در شرایط مناسب به مدت حداقل یک سال نگهداری شود تا در صورت لزوم انجام تست های بیشتر بر روی آنها ممکن باشد.
۸. نسخه ای از نتایج (الکترونیک یا کاغذی) باید به مدت حداقل ۵ سال در آزمایشگاه نگهداری گردد.