



معاونت درمان

دبیرخانه شورای راهبردی تدوین راهنماهای سلامت

شناسنامه و استاندارد خدمت

بررسی حذف های ژن DMD در بیماران دوشن و بکر

بررسی ۲۱ تا ۵۰ ژن توسط روش های NGS

بیماری های که باروش حذف ژنی قابل بررسی هستند مثل دوشن، بیکر- مرحله دوم تعیین نوع جنسیت

بیماری های که باروش حذف ژنی قابل بررسی هستند مثل دوشن، بیکر- مرحله سوم تعیین وضعیت نهایی جنین

(با دامن تشخیص بیماری های ژنتیک)

تابستان ۱۳۹۹

تنظیم و تدوین:

جناب آقای دکتر سیامک میراب سمیعی (آزمایشگاه مرجع سلامت)

سرکارخانم دکتر سماوات (اداره ژنتیک)

جناب آقای دکتر سعید رضا غفاری (موسسه ابن سینا)

جناب آقای دکتر سیروس زینلی (انستیتو پاستور)

سرکارخانم دکتر صغری روحی (انستیتو پاستور)

جناب آقای دکتر سعید طالبی (دانشگاه ایران)

جناب آقای دکتر علی آهنی (آزمایشگاه مندل)

سرکارخانم دکتر پانته آ ایزدی (دانشگاه تهران)

سرکارخانم دکتر معصومه احمدیان (اداره ژنتیک)

سرکارخانم دکتر فائزه عزیزی (اداره ژنتیک)

سرکارخانم نفیسی (آزمایشگاه مرجع سلامت)

سرکارخانم دکتر رفعتی (موسسه ابن سینا)

جناب آقای دکتر کرامتی پور (دانشگاه تهران)

سرکارخانم دکتر مریمی (انستیتو پاستور)

جناب آقای دکتر گرشاسبی (انجمن ژنتیک پزشکی)

جناب آقای دکتر کریمی پور (انستیتو پاستور)

جناب آقای دکتر رشیدی نژاد (انجمن ژنتیک پزشکی)

سرکارخانم دکتر کریمی نژاد (آزمایشگاه ژنتیک پزشکی کریمی نژاد- نجم آبادی)

جناب آقای دکتر طباطبایی فر (دانشگاه علوم پزشکی اصفهان)

جناب آقای دکتر نوروزی نیا (دانشگاه تربیت مدرس)

سرکارخانم دکتر داودی (انستیتو پاستور)

جناب آقای دکتر اکرمی (انجمن ژنتیک پزشکی)

سرکارخانم دکتر انجرازی (آزمایشگاه مرجع سلامت)

سرکارخانم دکتر خداوردیان (آزمایشگاه مرجع سلامت)
جناب آقای دکتر اکبری (آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر اکبری)
سرکارخانم دکتر صدرنبوی (دانشگاه علوم پزشکی اصفهان)
سرکارخانم دکتر فرزانی (آزمایشگاه مرجع سلامت)
جناب آقای دکتر عباس زادگان (دانشگاه علوم پزشکی مشهد)
جناب آقای دکتر مهدیه (انجمن ژنتیک پزشکی)
سرکارخانم دکتر باقرصاد (اداره ژنتیک)
سرکارخانم دکتر حنطوش زاده (دانشگاه علوم پزشکی تهران)
سرکارخانم دکتر پیری (دانشگاه علوم پزشکی تهران)
سرکارخانم دکتر بهجتی (دانشگاه علوم بهزیستی)
جناب آقای رفیعی (آزمایشگاه مرجع سلامت)

تحت نظارت فنی:

گروه استانداردسازی و تدوین راهنماهای سلامت
دفتر ارزیابی فن آوری، استانداردسازی و تعرفه سلامت
دکتر عبدالخالق کشاورزی، فرانک ندرخانی،
دکتر مریم خیری، آزاده حقیقی

الف) عنوان دقیق خدمت مورد بررسی (فارسی و لاتین) به همراه کد ملی:

کد ملی ۸۱۰۱۸۰: بررسی حذف های ژن DMD در بیماران دوشن و بکر

کد ملی ۸۱۰۳۰۲: بررسی ۲۱ تا ۵۰ ژن توسط روش های NGS

کد ملی ۸۰۶۵۶۰: بیماری‌هایی که با روش حذف ژنی قابل بررسی هستند مثل دوشن، بیکر-مرحله دوم تعیین نوع جنسیت

کد ملی ۸۰۶۵۶۵: بیماری‌هایی که با روش حذف ژنی قابل بررسی هستند مثل دوشن، بیکر-مرحله سوم تعیین وضعیت نهایی جنین

ب) تعریف و تشریح خدمت مورد بررسی:

این سند به عنوان یک دستورالعمل جهت ارائه الگوی نحوه استفاده از کدهای کتاب ارزش نسبی خدمات سلامت، جهت تعریف استاندارد تشخیص ژنتیک بیماری های دوشن و بکر برای پزشکان درخواست کننده مجاز در آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی که سیستم مدیریت کیفیت مستقر نموده و پس از اعتبار بخشی، تأیید شده و یا جهت پذیرش ارجاعات تشخیص ژنتیک نظام سلامت منتخب شده اند، کارایی دارد. روسای آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی / مسئولین فنی آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی، جهت مدیریت صحیح هر تکنیک لازم است نکات ضروری این تکنیک را با توجه به الزامات استانداردهای ابلاغی آزمایشگاه مرجع سلامت با رویکرد انطباق با استاندارد INSO-ISO15189 رعایت نمایند. در این قسمت لازم است الزامات فضا، الزامات کارکنان، الزامات تجهیزات، الزامات قبل از آزمایش، حین آزمایش و پس از آزمایش شامل صدور و گزارش نتایج و نحوه حفظ اطلاعات و داده ها مد نظر قرار گیرد.

ت) موارد ضروری انجام مداخله تشخیصی (اندیکاسیون ها)

۱. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله اول

۱.۱. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله اول برای جهش شناخته شده در فامیل: در این صورت جواب آزمایش ژنتیک قبلی باید موجود باشد.

۱.۲. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله اول برای خانواده ای که قبلا آزمایش ژنتیک انجام نداده‌اند: در این صورت جواب آزمایش سطح CK قبل از درمان و EMG-NCV باید موجود باشد.

تبصره: چنانچه فرد مبتلا در دسترس نباشد، آزمایشگاه می‌تواند آزمایش ژنتیک را بر روی مادر متقاضی تشخیص پیش از تولد با ارائه مستندات تایید کننده بیماری در فرد مبتلا انجام دهد.

برای هر دو حالت ذکر شده، پزشک معالج یا مشاور بایستی درخواست را به صورت " تشخیص ژنتیک مرحله اول دوشن" یا " تشخیص ژنتیک مرحله اول بکر" در نسخه فرد مورد بررسی بنویسد.

۲. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله دوم (و سوم): در این صورت جواب آزمایش ژنتیک مرحله اول و آخرین سونوگرافی حاملگی باید موجود باشد.

۳. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله اول و دوم (و سوم): در این صورت جواب آزمایش سونوگرافی و جواب آزمایش سطح CK قبل از درمان و EMG-NCV باید موجود باشد.

در این حالت پزشک معالج یا مشاور بایستی درخواست را به صورت " تشخیص ژنتیک مرحله اول دوشن" یا " تشخیص ژنتیک مرحله اول بکر" و " تشخیص ژنتیک مرحله دوم دوشن" یا " تشخیص ژنتیک مرحله دوم بکر" در نسخه مادر بنویسد.

ج) تواتر ارائه خدمت

ج-۱) تعداد دفعات مورد نیاز

یک بار در هر بارداری براساس اندیکاسیون

یک بار در کل زندگی فرد بیمار براساس اندیکاسیون

ج-۲) فواصل انجام

ندارد

د) افراد صاحب صلاحیت جهت تجویز (Order) خدمت مربوطه و استاندارد تجویز:

فوق تخصص اعصاب کودکان ، متخصص نورولوژی

برای خانم‌های باردار علاوه بر متخصصین ذکر شده، متخصصین و فوق تخصص‌های زنان و زایمان نیز می‌توانند آزمایش مرحله دوم این تست را درخواست نمایند. در این حالت، پزشک درخواست کننده بایستی درخواست را به صورت " تشخیص ژنتیک مرحله دوم دوشن" یا " تشخیص ژنتیک مرحله دوم بکر" در نسخه مادر بنویسد.

ه) ارائه کننده اصلی صاحب صلاحیت جهت ارائه خدمت مربوطه:

دانش آموخته دکتری تخصصی رشته ژنتیک پزشکی که صلاحیت او برای ارائه خدمت بر مبنای سطح بندی تخصصی احراز شده باشد.

و) عنوان و سطح تخصص های مورد نیاز (استاندارد) برای سایر اعضای تیم ارائه کننده خدمت:

ردیف	عنوان رشته	تعداد مورد نیاز به طور استاندارد به ازای ارائه هر خدمت	مقطع تحصیلی	سابقه کار و یا دوره آموزشی مصوب در صورت لزوم	نقش در فرایند ارائه خدمت
۱	علوم آزمایشگاهی احراز صلاحیت شده و کلیه رشته های مرتبط	حداقل ۱ نفر	کارشناسی و بالاتر	-	کارشناس فنی

ز) استانداردهای فضای فیزیکی و مکان ارائه خدمت:

آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی

روسای آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی / مسئولین فنی آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی ، جهت مدیریت صحیح تشخیص بیماری لازم است نکات ضروری مورد نیاز جهت تشخیص بیماری را با توجه به الزامات استانداردهای ابلاغی آزمایشگاه مرجع سلامت با رویکرد انطباق با استاندارد INSO-ISO 15189 رعایت نمایند. در این قسمت لازم است الزامات فضا، الزامات کارکنان، الزامات تجهیزات، الزامات قبل از آزمایش، حین آزمایش و پس از آزمایش شامل صدور و گزارش نتایج و نحوه حفظ اطلاعات و داده ها مد نظر قرار گیرد.

ج) تجهیزات پزشکی سرمایه ای به ازای هر خدمت:

سمپلر های متغیر، یخچال، فریزر ۲۰-، دماسنج، هود، بن ماری ، Hot plate ، اتوکلاو، انکوباتور ، Vortex، ترازو، PH متر، میکروسانتریفیوژ، میکرواسپین، سانتریفیوژ یخچالدار، اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer) یا نانودراپ، لامپ UV جهت رفع آلودگی DNA ، ترموسایکلر، تانک الکتروفورز افقی، Gel photo document، Power supply ، کامپیوتر، PCR ، و سایر نرم افزارهای آنالیز نتایج، دستگاه برقراری برق اضطراری، Genetic analyzer

تبصره: چنانچه آزمایشگاهی فاقد Genetic analyzer باشد می تواند از سایر مراکز خرید خدمت کند.

ط) داروها، مواد و لوازم مصرفی پزشکی جهت ارائه هر خدمت:

ردیف	اقلام مصرفی مورد نیاز	میزان مصرف (تعداد یا نسبت)
۱	مواد مورد نیاز استخراج DNA	بر اساس روش های مختلف متفاوت است
۲	مواد مورد نیاز PCR	بر اساس روش های مختلف متفاوت است
۳	مواد مورد نیاز MLPA	بر اساس روش های مختلف متفاوت است
۴	مواد مورد نیاز تعیین توالی	بر اساس روش های مختلف متفاوت است
۵	مواد مصرفی مانند سرسمپلر، دستکش لاتکس و ..	بر اساس روش های مختلف متفاوت است

ظ) اقدامات پاراکلینیکی، تصویربرداری و دارویی مورد نیاز جهت ارائه خدمت:

- آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی پذیرش کننده نمونه بایستی دارای مسئول فنی ژنتیک پزشکی باشد.
- با توجه به موارد ذکر شده در قسمت قبل، مرحله پیش از انجام آزمایش (پذیرش)، باید به یکی از حالات زیر انجام شود:
۱. پذیرش جهت آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله اول:
- پس از دریافت اطلاعات و ارائه توضیحات لازم در مورد امکان مرحله ای بودن این آزمایش، پذیرش بایستی به صورت زیر انجام شود:
- ۱-۱. پذیرش جهت بررسی حذف و اضافه شدگی های ژن DMD:
- خانواده باید با کد ۸۱۰۱۸۰ (بررسی حذف های ژن DMD در بیماران دوشن و بکر) پذیرش شود.
- ۱-۲. پذیرش جهت تعیین توالی ژن DMD و سایر ژن های مرتبط با میوپاتی های ارثی:

در صورت منفی شدن مرحله قبل، آزمایشگاه باید از کد ۸۱۰۳۰۲ (بررسی ۲۱ تا ۵۰ ژن به صورت یک پانل توسط روش‌های NGS) استفاده نماید. (تعرفه پرداختی بیمار برابر جمع تعرفه کدهای ۸۱۰۱۸۰ و ۸۱۰۳۰۲ می‌باشد).

تبصره ۱: در صورتی که در فامیل جهش نقطه‌ای شناخته شده به عنوان علت بیماری وجود داشته باشد، خانواده باید با کد ۸۱۰۰۸۶ (جهش شناخته شده موسوم به **known familial mutation** برای کلیه بیماری‌ها) پذیرش شود.

تبصره ۲: چنانچه افراد دیگری از خانواده برای ناقل بودن بررسی می‌شوند تعرفه ۸۱۰۰۸۶ یا ۸۱۰۱۱۰ اعمال شود.

۲. پذیرش جهت آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله دوم:

پذیرش باید با کد ۸۰۶۵۶۰ (بیماری‌هایی که با روش حذف ژنی قابل بررسی هستند مثل دوشن، بکر- مرحله دوم تعیین نوع جنسیت) انجام شود.

۳. پذیرش جهت آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله سوم:

پذیرش باید با کد ۸۰۶۵۶۵ (بیماری‌هایی که با روش حذف ژنی قابل بررسی هستند مثل دوشن، بکر- مرحله سوم تعیین وضعیت نهایی جنین) انجام شود.

• مرحله انجام آزمایش

جهش در ژن **DMD** عامل دیستروفی عضلانی دوشن و بکر می‌باشد. این ژن ۷۹ اگزون دارد (NM_004006.2) که تمامی آنها کد کننده می‌باشند. ژن **DMD** پروتئینی با طول ۳۶۸۵ اسید آمینه را سنتز می‌کند.

۱. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله اول:

۱.۱. بررسی حذف و اضافه شدگی های ژن DMD:

آزمایشگاه می‌بایست حذف و اضافه‌شدگی‌ها در ژن **DMD** را بررسی نماید. می‌تواند با یکی از روش‌های **MPLA**، **PCR** کمی، **long-range PCR** و .. صورت گیرد. آزمایش باید به گونه‌ای طراحی شود که علاوه بر شناسایی حذف و اضافه‌شدگی‌ها در افراد مذکر، وضعیت ناقلی در افراد مونث را نیز مشخص نماید.

۱.۲. تعیین توالی ژن DMD و سایر ژنهای مرتبط با میوپاتی های ارثی:

در این مرحله بایستی ژن **DMD** و سایر ژنهای مرتبط با میوپاتی‌های ارثی بررسی گردند. تعیین توالی ژن مربوطه ممکن است به روش توالی‌یابی **Sanger** انجام شود هر چند **NGS** توصیه می‌شود (بررسی ۲۱ تا ۵۰ ژن به صورت یک پانل توسط روش‌های **NGS**).

۲.۲. آزمایش مرحله دوم:

آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی بایستی با روشی مناسب جنسیت جنین را مشخص نماید. رد آلودگی مادری در مواردی که جنین مونث باشد الزامی است.

۲.۳. آزمایش ژنتیک دیستروفی عضلانی دوشن و بکر مرحله سوم:

در آزمایش مرحله سوم، آزمایشگاه بایستی با روشی مناسب ژنوتیپ جنین را برای جهش شناسایی شده در مرحله اول مشخص نماید. تایید صحت نمونه (تعلق نمونه جنین به پدر و مادر) در موارد سالم بودن جنین الزامی است. بررسی مارکرهای ژنتیکی اطراف ژن جهت بررسی غیر مستقیم وضعیت جنین توصیه می‌شود.

ی) استانداردهای گزارش:

- کد نهایی پذیرش شده، نوع تکنیک(های) به کار رفته، جهش بیماری‌زای شناسایی شده حتما باید ذکر گردد.
- آزمایشگاه پزشکی با دامنه فعالیت ژنتیک پزشکی موظف است در گزارش خود مشخص نماید که آیا تغییر(ات) شناسایی شده توجیه‌کننده بیماری می‌باشد یا خیر.
- در صورتی که علیرغم انجام تمام مراحل ذکر شده، جهش بیماری‌زا شناسایی نشود نتیجه باید به پزشک درخواست‌کننده یا متخصص منتخب اعلام شود تا در صورت لزوم، پس از تعامل با آزمایشگاه و بررسی چالش‌های علمی آزمایش، درخواست تست دیگر انجام پذیرد.

گ) شواهد علمی در خصوص کنترل اندیکاسیون های دقیق خدمت:

ندارد

ل) مدت زمان ارائه هر واحد خدمت:

یک ماه

ف) موارد ضروری جهت آموزش به بیمار:

نتایج به دست آمده باید توسط پزشک مشاور ژنتیک یا پزشک متخصص برای افراد مشاوره‌جو توضیح داده شود.

منابع:

- استاندارد INSO-ISO-15189
- کتاب "مجموعه ای از مستندات سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه پزشکی" (آزمایشگاه مرجع سلامت- انجمن آسیب شناسی ایران)، چاپ دوم، سال ۱۳۹۱.
- آیین نامه مستند سازی، شماره گذاری، کنترل مدارک، بازنگری و نحوه صدور به شماره HD-GO-00-MN-RE-001
- good clinical practices, Belgian society of human genetics 2012.
- American college of medical genetics, standards and guidelines for clinical genetic laboratories, 2010.
- Professional guidelines for clinical cytogenetics, general best practice guidelines (2007) v1.04.
- تاریخ اعتبار این راهنما از زمان ابلاغ به مدت ۲ سال می باشد و بعد از اتمام مهلت زمانی میبایست ویرایش صورت پذیرد.