

باسمه تعالی

راهنمای آزمایشگاهی برنامه ساماندهی پیشگیری از ناهنجاری های کروموزومی جنین

سندرم داون

و

تریزومی ۱۳ و ۱۸

بازنگری ۱۳۹۹

آزمایشگاه جامع سلامت

## دامنه کاربرد:

- ۱- آزمایشگاه های ارسال کننده نمونه و آزمایشگاه های مجری انجام آزمایشات غربالگری بیوشیمیایی سندرم داون
- ۲- مدیریت آزمایشگاه های معاونت درمان دانشگاه
- ۳- مدیریت امور آزمایشگاه های معاونت بهداشت دانشگاه

## آزمایش های غربالگری بیوشیمیایی برنامه :

۱- آزمایش های غربالگری سه ماهه اول  
Double Marker شامل PAPP-A و Free  $\beta$  hCG در ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز بارداری . نتایج تعیین میزان این مارکرها به همراه اندازه گیری nuchal translucency جنین در سونوگرافی به صورت combined test در برگه گزارش ارائه می گردد

۲- آزمایش های غربالگری سه ماهه دوم  
Quadruple test شامل Total hCG /  $\beta$  hCG و AFP و u E3 و (Inhibin -A ) DIA در ۱۴ تا ۱۶ هفته و ۶ روز بارداری

## (۱) انتخاب و احراز صلاحیت آزمایشگاه ها:

الف) انتخاب و ارزیابی آزمایشگاه های منتخب ارسال کننده نمونه های غربالگری بیوشیمیایی:  
مدیریت آزمایشگاه های بهداشت و درمان دانشگاه موظفند آزمایشگاه های متقاضی را قبل از ورود به برنامه براساس چک لیست اختصاصی غربالگری سندرم داون و با تمرکز بر فرآیندهای قبل و بعد از انجام آزمایش ، ارزیابی نموده و پس از اطمینان از انطباق اجرای فرآیندها با الزامات تعیین شده آزمایشگاه مرجع سلامت، آنها را در فهرست آزمایشگاه های ارسال کننده نمونه قرار دهند.

## ب) ارزیابی و انتخاب آزمایشگاه های مجری انجام آزمایش های غربالگری بیوشیمیایی :

این فرآیند در دو مرحله انجام می گیرد:

(۱) مرحله خود اظهاری به دنبال اعلام آمادگی آزمایشگاه جهت انجام آزمایش های غربالگری ، لازم است مسئول فنی فرم های درخواست مرتبط با برنامه غربالگری و چک لیست همراه آن را تکمیل نموده و در اختیار اداره امور آزمایشگاه ها قرار دهد.

### (۲) ارزیابی در محل و بررسی چگونگی استقرار الزامات تعیین شده :

- پس از بررسی اولیه چک لیست خود اظهاری و در صورتی که حداقل الزامات مورد نظر آزمایشگاه مرجع سلامت (شامل کارکنان، تجهیزات ، تضمین کیفیت ، نرم افزار مورد استفاده جهت تعیین ریسک و همچنین شرایط جمع آوری و ارسال اطلاعات به کلیه سطوح مرتبط بر اساس دستور العمل) وجود داشته باشد ، هماهنگی های لازم با آزمایشگاه جهت انجام ارزیابی در محل صورت می پذیرد.

- طی ارزیابی، صلاحیت آزمایشگاه برای انجام آزمایش های غربالگری در حوزه تخصصی مورد نظر بررسی و تأیید می گردد.

اطمینان از استمرار صلاحیت آزمایشگاه با انجام ارزیابی های تکمیلی که به صورت دوره ای انجام می گیرند و همچنین بررسی نتایج شرکت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت ( مهارت آزمایی ) می باشد که توسط وزارت بهداشت طراحی می گردد. لازم است نتایج به دست آمده در برنامه مهارت آزمایی به طور مرتب توسط آزمایشگاه بررسی شود و اقدامات اصلاحی مقتضی در برخورد با نتایج نامنتطبق ، باید بلافاصله صورت پذیرد.

## ۲) الزامات فنی و اجرایی :

### الف) الزامات آزمایشگاههای ارسال کننده نمونه برای غربالگری بیوشیمی سندرم داون و تری زومی ۱۳ و ۱۸ :

- ۱- آزمایشگاه باید در فهرست آزمایشگاههای 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 موظف به انجام وظایف مربوطه بر اساس دستورالعمل برنامه غربالگری سندرم داون می باشد.
- ۴- مسئول فنی و کارشناس مسئول انجام این گروه از آزمایش ها در آزمایشگاه باید در کلیه دوره های آموزشی که توسط وزارت بهداشت و یا مراکز منتخب آن تعیین می گردد شرکت 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 آزمایش ها به عهده مسئول فنی می باشد.
- ۵- جهت تعیین تکلیف ابهاماتی که ممکن است در بررسی درخواست یا تهیه گزارش آزمایش ایجاد گردد، آزمایشگاه لازم است با درخواست کننده آزمایشها (ماما، متخصصین زنان یا پیره ناتولوژی و دیگر متخصصین صاحب نظر) مشورت نموده و سوابق این مشاوره ها را حفظ نماید.
- ۶- آزمایشگاه 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. آگاهی از دستورالعمل ها و محتوای علمی- اجرایی برنامه با توجه ویژه به بازه های زمانی تعیین شده در آن و موارد نیازمند اقدام فوری ( مادران پرخطر)
۲. وجود درخواست پزشک یا ماما برای انجام آزمایش ها
۳. بررسی مناسب بودن سن حاملگی و تطبیق آن با نوع آزمایش درخواستی در هنگام پذیرش
۴. اطلاع رسانی به مادر در مورد نحوه انجام آزمایش ها و دریافت نتایج
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 / ماما 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 و شماره نظام سونوگرافیسیت، اندازه CRL در جنین، اندازه NT، تعداد جنین زنده، تعیین Chorionicity در حاملگی چند قلویی (به خصوص دو قلویی)، تصویر سونوگرافی (باید پیوست باشد).

### ج) الزامات مربوط به فرآیند نمونه گیری :

۱. وجود شرایط ناشتا برای آزمایش های غربالگری الزامی نمی باشد.
۲. نوع نمونه : برای مرحله اول غربالگری ( ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز بارداری) و مرحله دوم غربالگری ( ۱۴ تا ۱۶ هفته و ۶ روز بارداری) خون کامل به میزان کافی ( به تناسب نوع و تعداد آزمایش ها و سیستم مورد استفاده برای اندازه گیری) در لوله در پیچ دار بدون ماده ضد انعقاد گرفته شود
۳. 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 : با توجه به ناپایداری استریول کونژوگه و تبدیل آن به فرم غیر کونژوگه و افزایش کاذب مقدار  $\beta hCG$  در خون کامل، حتما باید سرم در اسرع وقت جدا شود.)
۴. 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. آزمایشگاه ارسال کننده باید کلیه نمونه ها را به همراه برگه اطلاعات تکمیل شده مراجعه کننده به آزمایشگاه مجری انجام آزمایشات ارسال نماید.
۲. انتقال نمونه ها سه بار در هفته (حداکثر هر ۴۸ ساعت یک بار) براساس برنامه زمان بندی مشخص، که با همکاری آزمایشگاه منتخب مجری آزمایش های غربالگری تعیین شده است، صورت می پذیرد.
۳. انتقال نمونه باید در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد و در بسته بندی سه لایه ای (مطابق با دستورالعمل ابلاغ شده از سوی آزمایشگاه مرجع سلامت تحت عنوان "دستورالعمل روش استاندارد حمل و نقل و انتقال نمونه های عفونی" ) حداکثر ظرف مدت ۴۸ ساعت از زمان نمونه گیری صورت گیرد.

### ه) شرایط لازم جهت پذیرش و نمونه گیری :

- مقدار CRL گزارش شده در برگه سونوگرافی در سه ماه اول بارداری، در محدوده ۴۵-۸۴ میلی متر باشد .
- مراجعه مادر یا ارجاع نمونه، در زمان مشخص شده بارداری ( ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز برای سه ماه اول و ۱۴ تا ۱۶ هفته و ۶ روز برای سه ماه دوم بارداری) باشد.
- اطلاعات برگه سونوگرافی کامل بوده و تصویر سونوگرافی پیوست باشد.

و) معیارهای رد نمونه :

- حجم ناکافی نمونه
- همولیز یا لیپمیک بودن واضح نمونه
- نا همخوانی مشخصات برچسب و کد نمونه، با مشخصات ذکر شده در برگه اطلاعات همراه
- مخدوش بودن مشخصات درج شده روی برچسب نمونه
- شکستگی یا نشستی ظرف حاوی نمونه
- عدم رعایت زنجیره سرد (۸-۲ درجه سانتیگراد) به هنگام انتقال نمونه ها (بالا رفتن دما به سرعت موجب نامعتبر شدن نتایج تست  $\beta$ hCG می شود).
- نگهداری سرم بیش از یک هفته در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد
- عدم انطباق حجم نمونه با حجم مورد نیاز مندرج در دستور العمل نمونه گیری
- جمع آوری نمونه در لوله دارای ضد انعقاد
- مراجعه مادر یا ارجاع نمونه، خارج از محدوده زمانی مشخص شده بارداری برای غربالگری
- ناقص بودن اطلاعات سونوگرافی

\* با توجه به اهمیت این گروه از آزمایش ها لازم است آزمایشگاه های انجام دهنده هرگونه مورد عدم انطباق در مراحل مختلف این فرآیند را بر اساس الزامات تعیین شده، در اسرع وقت به آزمایشگاه ارسال کننده نمونه و در صورت لزوم به پزشک/ ماما درخواست کننده اطلاع دهد.

ن) الزامات مراکز منتخب انجام دهنده نمونه برای غربالگری بیوشیمی سندرم داون و تری زومی ۱۳ و ۱۸ :

۱. آزمایشگاه منتخب باید برای انجام این آزمایش ها از تجهیزات، معرف ها و برنامه نرم افزاری مورد تأیید وزارت بهداشت و درمان استفاده نماید. (آزمایشگاه منتخب می بایست در هنگام تهیه این محصولات از شرکت ارایه کننده نسخه ای از تاییدیه های موجود را دریافت و در هنگام ارزیابی آزمایشگاه در اختیار ارزیابان قرار دهد).
۲. ضروری است آزمایش های سه ماهه اول بارداری توسط سیستم های بسته مناسب برای انجام آزمایش های غربالگری انجام گیرد.
۳. برای آنالیت هایی که هم اکنون در سیستم های بسته اندازه گیری ارائه نشده اند (تعدادی از آزمایش های مرحله دوم غربالگری)، رعایت الزامات انجام آزمایش با روش های باز و اجرای دقیق برنامه های کنترل کیفیت داخلی مورد تأکید است.
۴. انجام آزمایش های صحه گذاری و یا تصدیق، قبل از استفاده از کیت های جدید و همچنین به منظور 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 به ویژه 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 (برای آزمایشات سه ماه اول) بیش از ۴ درصد نباشد.

۵. آزمایشگاه باید با رعایت کلیه الزامات مندرج در استانداردهای ابلغی 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.
۶. با هر سری کاری، باید کنترل های معتبر تجاری حداقل در دو سطح 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 مورد ارزیابی قرار گیرد. (بهتر است کنترل ها در سه سطح غلظتی بالا، نرمال و پایین تهیه و قرائت شود).
۷. فناوری مورد استفاده برای انجام این آزمایش ها باید در برنامه نرم افزاری محاسبه خطر، مشخص شده باشد.
۸. مدیان ها در هر آزمایشگاه و براساس جمعیت مراجعین آن آزمایشگاه (بارداری های تک قلو) باید تعیین و به روز گردد و آزمایشگاه باید از تعداد نمونه کافی برای محاسبه مدیان هر هفته بارداری، برخوردار باشد ( ۱۰۰ نمونه برای هر هفته بارداری) . برای محاسبه مدیان ها می توان از نمونه های فریز شده نیز استفاده نمود.
۹. 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.
۱۰. آزمایشگاه برای پشتیبانی و سایر خدمات لازم باید با شرکت نرم افزاری پشتیبان قرارداد سالیانه داشته باشد.
۱۱. آزمایشگاه موظف است در هر گونه برنامه ارزیابی خارجی کیفیت مرتبط در حوزه غربالگری که توسط آزمایشگاه مرجع سلامت یا مراکز منتخب آن اجرا می شود، شرکت کند.
۱۲. آزمایشگاه باید به طور ماهانه وضعیت median MoM کلی مربوط به هر یک از آزمایشات غربالگری خود را کنترل نموده باشد و مقدار آن نباید از  $1 \text{ MoM} \pm 10\%$  بیشتر شود.
۱۳. آزمایشگاه باید با سطوح تعیین شده در نظام سلامت بر اساس دستورالعمل برنامه در ارتباط بوده و به تبادل اطلاعات بپردازد.

## و) الزامات مرحله پس از انجام آزمایش :

۱. تمام آزمایش ها 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 می باشد).
۲. 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 فوری به آزمایشگاه ارجاع دهنده و رابط بهداشت شهرستان اطلاع داده شود. (در این شرایط مادر برای دریافت نتایج و مراجعه فوری به پزشک توسط رابط شهرستان فراخوان می شود).
۳. برگه گزارش باید شامل: نام و نام خانوادگی مادر، تاریخ تولد، تاریخ و شماره پذیرش آزمایشگاه یا کد اختصاصی نمونه، نام پزشک درخواست کننده، تاریخ نمونه گیری، اطلاعات مربوط به بارداری ( سن بارداری، وزن مادر، CRL، NT و BPD در صورت لزوم ( برحسب mm) و نام و شماره نظام سونوگرافیست باشد.
- در مواردی که NT بیش از 3.5mm یا نسبت NT به CRL ۹۵ پرستایل و بالاتر باشد دابل مارکر انجام نشده و مادر می بایست برای ارجاع به متخصص زنان راهنمایی شود.
۴. نتایج آزمایش شامل مقدار عددی غلظت (که قابل ردیابی به واحدهای SI باشد) و مقادیر تفسیری آن به MoM است.

۵. تفسیر نتایج در سه ماه اول و دوم به صورت : Risk cut-off level , Screen positive/Screen negative و تعیین ریسک اختصاصی مادر برای ابتلا جنین به اختلالات کروموزومی (تریزومی) است .
۶. در برگه گزارش می بایست حتما این عبارت 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."
۷. آزمایشگاه می بایست از انجام توصیه به اقدامی خاص از جمله انجام NIPT، انجام آزمایشات سه ماهه دوم و ... در برگه پاسخ اجتناب نماید.
۸. پس از انجام آزمایش، باقی مانده نمونه ها باید در دمای مناسب (۲۰- درجه سانتیگراد) به مدت حداقل ۶ ماه نگهداری شود تا در صورت لزوم انجام تست های بیشتر بر روی آنها ممکن باشد.
۹. نسخه ای از نتایج (الکترونیک یا کاغذی) باید به مدت حداقل ۵ سال در آزمایشگاه نگهداری گردد.
۱۰. آزمایشگاه موظف است در خصوص ارسال داده های مربوط به غربالگری از روش های اعلام شده توسط وزارت متبوع همکاری لازم را داشته باشد.