	چک‌لیست ارزیابی آزمایشگاه‌های ژنتیک مولکولی پزشکی	**ویرایش: اول- ۱۴۰۲**

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر/ سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
فضا و تجهیزات							
ACMG, G7.1.1	۱	فضاهای مجزا حداقل برای مراحل پیش از PCR و پس از PCR وجود داشته و طراحی فضاها به گونه‌ای باشد که با رعایت گردش کار یک سویه، امکان ورود محصولات PCR به قسمت پیش از PCR به حداقل رسانده شود.	- مشاهده و ارزیابی فضاهای اختصاص داده شده به مراحل پیش از PCR و پس از PCR - بررسی رعایت الزامات مطابق با دستورالعمل های مرتبط				
ACMG, G7.2.1, G7.2.2, G7.2.3	۲	در هر کدام از فضاهای پیش از PCR، انجام PCR و پس از PCR، وسایل حفاظت فردی مانند دستکش، روپوش و غیره، همچنین وسایل، تجهیزات و مواد مصرفی مورد استفاده اختصاصی همان بخش موجود باشد.	- مشاهده و حصول اطمینان از کامل بودن (متناسب با دامنه فعالیت)، مجزا بودن تجهیزات، وسایل (سمپلرها و ...) و مواد مصرفی موجود در بخش های پیش از PCR، PCR و پس از PCR				
ACMG, G7.1.2.5	۳	چگونگی پیشگیری و رفع آلودگی فضاها، وسایل و تجهیزات اختصاصی مرحله پیش از PCR به انواع DNA (با استفاده از محلول وایتکس ۱۰٪، تابش UV و ...) در دستورالعمل های مرتبط مکتوب و در دسترس کارکنان مرتبط باشد و دستورالعمل ها اجرا شوند.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق اقدامات انجام شده برای پیشگیری و رفع آلودگی به DNA				
فرایند قبل از انجام آزمایش							
	۴	آزمایشگاه اطلاعات مورد نیاز در خصوص خدماتی که ارائه می کند را در دسترس گیرندگان خدمت قرار می دهد. دامنه خدمات، فهرست آزمایش‌ها، زمان آماده شدن نتیجه هر آزمایش (TAT) به ویژه برای آزمایش های تشخیص قبل از تولد (PND)، تشخیص قبل از لانه‌گزینی (PGD)، و بعضی موارد لوسمی ها (نظیر لوسمی M3)، مشخص باشد و مطابق آن عمل شود.	- بررسی مستندات مرتبط - مصاحبه با مسئول فنی و کارکنان ذیربط در خصوص نحوه ارائه اطلاعات لازم به بیماران، پزشکان، کادر درمانی و سایر گیرندگان خدمات آزمایشگاه - بررسی شواهد رعایت زمان جواب‌دهی				

	چک‌لیست ارزیابی آزمایشگاه‌های ژنتیک مولکولی پزشکی	ویرایش: اول- ۱۴۰۲

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۵	اطلاعات لازم شامل نوع نمونه، حداقل حجم مورد نیاز، نوع ماده ضد انعقاد و شرایط مربوط به انتقال نمونه های مختلف از قبیل نمونه خون، نمونه بافتی، نمونه مغز استخوان، نمونه جنینی (CVS)، نمونه مایع آمنیون، DNA و RNA برای تشخیص بیماری‌های ژنتیک و مولکولی مستند گردیده و بر حسب نیاز در اختیار بیماران، پزشکان، مراقبین سلامت، آزمایشگاه های ارجاع‌دهنده نمونه و سایر گیرندگان خدمات آزمایشگاه قرار گیرد.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی نحوه اطلاع‌رسانی به گروه های مختلف گیرندگان خدمات				
	۶	فرم پذیرش حاوی اطلاعات خانواده شامل نام و نام خانوادگی، تاریخ تولد و کد ملی افراد مورد بررسی، فرد پروباند، سابقه پیوند مغز استخوان، سابقه تزریق خون، سابقه استفاده از تکنیک های ART برای باروری و فرزندخواندگی و شجره‌نامه (حداقل ۳ نسل برای بیماری های توارثی) باشد.	- بررسی اطلاعات در فرم پذیرش و محتویات پرونده ها				
	۷	برچسب ظروف محتوی نمونه بیماران، علاوه بر نام و نام خانوادگی، دارای یک شناساگر منحصر به فرد دوم مانند کد اختصاصی یا بارکد باشد.	- بررسی برچسب ظروف محتوی نمونه بیماران - بررسی دستورالعمل های مرتبط				
	۸	در مورد نمونه های ارسالی، تاریخ نمونه‌گیری و ارسال نمونه و نیز تاریخ دریافت نمونه در آزمایشگاه ارجاع مشخص باشد.	- بررسی سوابق ارجاع و ارسال نمونه ها و اطلاعات ثبت شده از نمونه های ارسالی				
	۹	دستورالعمل مشخص برای میزان نمونه جنینی مورد نیاز، نحوه انتقال نمونه، نحوه پیشگیری از آلودگی یا جابجایی نمونه جنین با نمونه های دیگر و مواردی که نیاز به نمونه‌گیری مجدد می باشد، توسط آزمایشگاه تهیه و در اختیار پزشکان و مراکز نمونه گیری جنین قرار داده شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی نحوه اطلاع‌رسانی به پزشکان و مراکز نمونه‌گیری جنین				
	۱۰	در موارد شک به آلودگی نمونه جنین به مادر و عدم امکان رفع کامل آلودگی، در صورت امکان، نمونه جنینی کشت داده شود. نمونه جنینی پشتیبان (back up) در آزمایشگاه، تهیه و تا پایان مراحل انجام کار و دادن گزارش در آزمایشگاه نگهداری شود.	- بررسی سوابق کشت نمونه های مشکوک به آلودگی - مشاهده محل و شرایط نگهداری نمونه‌های پشتیبان (back up)				

	چک‌لیست ارزیابی آزمایشگاه‌های ژنتیک مولکولی پزشکی	**ویرایش: اول- ۱۴۰۲**

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۱۱	پذیرش مراجعین مطابق با برگه یا فرم درخواست معتبر و شفاف پزشک متخصص، پزشک مراکز بهداشت و یا مشاور ژنتیک مورد تأیید وزارت بهداشت باشد.	- بررسی سوابق پذیرش و فرم های درخواست آزمایش				
	۱۲	رضایت آگاهانه پس از توضیحات کامل به فرد بیمار یا قیّم وی به صورت کتبی اخذ شود.	- بررسی فرم تکمیل شده رضایت آگاهانه در پرونده ها (به ویژه در مورد آزمایش های تعیین هویت)				
	۱۳	معیارهای رد نمونه ناشی از اشکالات در کیفیت یا کمّیت نمونه و یا نامشخص بودن و عدم هم‌خوانی مشخصات نمونه و ... در آزمایشگاه مشخص و مکتوب باشد و افراد ذی‌ربط مانند مسئول پذیرش و نمونه‌گیری و کارکنان فنی آگاهی کامل از این معیارها داشته و قبل از پذیرش و انجام آزمایش، این معیارها را مورد بررسی قرار دهند.	- بررسی مستندات مرتبط با معیارهای رد نمونه - مصاحبه با مسئول پذیرش و نمونه‌گیری و کارکنان فنی مرتبط، و ارزیابی آگاهی آنها از معیارهای رد نمونه - بررسی شواهد رعایت معیارها مثلاً بررسی سوابق نمونه هایی که رد شده‌اند				
	۱۴	هویت مراجعین توسط مسئولین پذیرش و نمونه‌گیری محرز گردد. احراز هویت از طریق مدرک شناسایی معتبر (کارت ملی، شناسنامه، پاسپورت) انجام می شود. همچنین توصیه می شود در مورد آزمایش های تعیین هویت، بررسی ابوّت و رابطه مادر – فرزندی، و بررسی روابط خویشاوندی از افراد پذیرش‌شده عکس گرفته و ضمیمه پرونده شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق احراز هویت - مشاهده نحوه احراز هویت مراجعین				
	۱۵	دستورالعمل های لازم جهت حفظ کیفیت، انتقال امن و ایمن، جلوگیری از آلودگی و اشتباه شدن نمونه ها با یکدیگر حین انتقال نمونه در داخل آزمایشگاه و طی روند ارجاع به آزمایشگاه های ارجاع رعایت شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی شواهد و مشاهده روند ارجاع و انتقال نمونه ها				
	۱۶	تمهیداتی برای تماس به موقع با پزشک و مراجعین در موارد ضروری (مثلاً مواردی که لازم است در مورد اشکال در کمّیت یا کیفیت نمونه اطلاع‌رسانی شود یا درخواست نمونه جدید) پیش‌بینی شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی شواهد و سوابق تماس با پزشکان یا مراجعین				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۱۷	هنگام پذیرش، سوابق بیماری در خانواده، اطلاعات بالینی و پاراکلینیک لازم جمع آوری شود.	- مصاحبه با مسئول پذیرش و بررسی اطلاعاتی که هنگام پذیرش جمع‌آوری می‌شود. - بررسی محتویات پرونده ها				
	۱۸	نمونه ها قبل از انجام آزمایش در شرایط مناسب (از نظر مکان، دما، نور، ارتعاش، ...) نگهداری شوند.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی مکان و شرایط نگهداری نمونه ها قبل از انجام آزمایش جهت حصول اطمینان از رعایت شرایط لازم				
فرایند انجام آزمایش و اطمینان از کیفیت انجام آزمایش							
استخراج اسیدهای نوکلئیک							
CAP, MOL.32425 ACMG, G3.1 ACMG, G3.4	۱۹	روش استخراج DNA و RNA (در صورت نیاز) از نمونه های مختلف اعم از خون، نمونه‌های جنینی، بافت، بلوک پارافینه و .... مشخص بوده و بر اساس مراجع معتبر، با استفاده از کیت های معتبر، و یا روش های طراحی شده در آزمایشگاه که صحه گذاری (validated) شده‌اند، انجام شود.	- بررسی دستورالعمل استخراج DNA و RNA - بررسی سوابق مربوط به استخراج DNA و RNA - چنانچه از روش‌های طراحی شده در آزمایشگاه استفاده می‌شود، بررسی سوابق صحه گذاری (validation) روش های طراحی شده مطابق با دستورالعمل های موجود.				
ACMG, G3.2	۲۰	شرایط پذیرش یا ارجاع نمونه های DNA و RNAهای تخلیص شده برای تکنیک های مولکولی مختلف، مشخص باشد.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط با نمونه‌های DNA تخلیص شده برای تکنیک‌های مولکولی مختلف - بررسی سوابق ارزیابی نمونه های DNA استخراج شده جهت اطمینان از رعایت شرایط مورد نظر				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر/ سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
MOL.32430 MOL.32435	۲۱	در آزمایش های کمّی که غلظت و کیفیت DNA اهمیت دارد (مانند MLPA و Real time PCR) تعیین غلظت و کیفیت DNA برای تمام نمونه ها انجام شود. در مورد آزمایش های کیفی هم توصیه می شود غلظت و کیفیت DNA خوانش شود.	- بررسی دستورالعمل مرتبط - بررسی سوابق ثبت شده از تعیین غلظت و کیفیت‌سنجی DNA				
ACMG, G3.3	۲۲	DNA به دست آمده از نمونه بیمار تا زمان رسیدن به نتیجه کامل، در شرایط ایمن، با دسترسی مناسب در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و پس از آن برای نگهداری طولانی مدت، به صورت فریز شده (۲۰- درجه سانتی‌گراد) و یا روش مطمئن دیگر نگهداری شود.	- بررسی دستورالعمل مرتبط - بررسی محل و شرایط نگهداری نمونه های DNA				
طراحی پرایمر/ پروب							
ACMG, G4	۲۳	دستورالعمل چگونگی طراحی پرایمر/ پروب برای آزمایش های مختلف در آزمایشگاه موجود باشد و طراحی پرایمر/ پروب مطابق با آن انجام شود.	- بررسی دستورالعمل طراحی پرایمر/ پروب - بررسی سوابق طراحی پرایمر/ پروب مطابق با دستورالعمل مربوطه				
ACMG, G4	۲۴	اطلاعات کامل پرایمرها / پروب ها (شامل نام ژن، جایگاه کروموزومی، رفرنس ژنومی مورد استفاده، جایگاه دقیق پرایمر/ پروب بر اساس رفرنس ژنومی مورد استفاده و توالی منطقه هدف و توالی پرایمر/ پروب و mRNA accession number برای پرایمرهای مربوط به اگزون های مختلف، وجود توالی های ژنومی همولوگ، وجود ژن کاذب، و نیز پلی‌مورفیسم های شایع در محل اتصال پرایمر/ پروب) در آزمایشگاه موجود و در دسترس کارشناسان مرتبط باشد.	- بررسی مستندات مرتبط با پرایمرها/ پروب ها - ارزیابی و اطمینان از دسترسی کارکنان مرتبط به دستورالعمل ها و اطلاعات پرایمرها/ پروب ها				
PCR							
ACMG, G7.3.1.1	۲۵	شرایط بهینه هر PCR (پارامترهای مربوط به مواد مصرفی و ترموسایکلر) به طور دقیق در دستورالعمل های مرتبط موجود باشد و آزمایش ها بر اساس آن انجام شوند.	- بررسی دستورالعمل مرتبط - ارزیابی سوابق آزمایش های PCR انجام شده و اطمینان از انجام آنها مطابق با دستورالعمل های مکتوب				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۲۶	در تمامی واکنش های PCR به منظور شناسایی آلودگی ها، حداقل یک واکنش فاقد نمونه DNA (NTC) به همراه سایر واکنش ها انجام شود.	- بررسی سوابق انجام آزمایش روی نمونه بلانک همراه با سایر نمونه ها				
ACMG, G7.3.2.1	۲۷	در صورتی که آزمایشگاه از روش های خود ساخته (LDT) یا از کیت های تحقیقاتی Research use only (RUO) استفاده می کند، روش های کار صحه‌گذاری (validate) شده و مواردی مانند میزان حساسیت و اختصاصیت تکنیک، سنجیده و اثبات شود که تکنیک دارای ویژگی های عملکردی لازم مورد بررسی می باشد. همچنین در صورت استفاده از کیت ها و روش های دارای تأییدیه، تصدیق (verification) روش انجام شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط با نحوه صحه گذاری و یا تصدیق - بررسی سوابق انجام صحه‌گذاری و یا تصدیق مطابق با دستورالعمل های تدوین شده				
ACMG, G7.4	۲۸	زمانی که از طریق واکنش PCR به طور مستقیم، ژنوتیپ تعیین می شود (مانند ARMS-PCR) باید نمونه کنترل نرمال فاقد جهش مذکور و نمونه کنترل دارای موتاسیون مذکور (چنانچه افتراق حالت هتروزیگوت از هموزیگوت مهم باشد هر دو نمونه هتروزیگوت و هموزیگوت) در هر واکنش مورد بررسی قرار گیرد.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - ارزیابی سوابق PCR های انجام شده و اطمینان از وجود انواع کنترل های مورد نیاز در هر واکنش				
ACMG, G7.4	۲۹	در هر واکنش PCR، باید از سایز استانداردی که طول قطعات مورد بررسی را پوشش می دهد و یا کنترل های مناسب جهت تأیید طول قطعه مورد بررسی استفاده شود.	- بررسی مستندات مرتبط - ارزیابی سوابق PCR های انجام شده جهت اطمینان از استفاده از سایز استاندارد که قطعات مورد بررسی را پوشش دهد				
ACMG, G4	۳۰	در مورد PCR-RFLP باید آنزیم مورد استفاده برای برش و سایز آلل ها و باندهای ثابت (در صورت وجود) ذکر گردد.	- بررسی مستندات مرتبط - بررسی سوابق انجام PCR-RFLP و آنزیم های مورد استفاده				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
ACMG, G7.1.2.4	۳۱	در مواردی نظیر PCR-RFLP کنترل های هموزیگوت، هتروزیگوت (-/-، -/+، +/+)، کنترل محصول PCR برش داده نشده و نمونه فاقد DNA (بلانک) در واکنش ها وجود داشته باشد.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - ارزیابی سوابق آزمایش‌های PCR-RFLP انجام شده و اطمینان از وجود انواع کنترل‌های لازم در هر واکنش				
	۳۲	در مواردی که از Multiplex PCR برای تشخیص وجود یا عدم وجود یک قطعه ژنی استفاده می شود، اختصاصیت مناسب برای تکثیر تمام قطعات وجود داشته باشد.	- بررسی مستندات مرتبط - بررسی سوابق ارزیابی اختصاصیت روش، در مواردی که از Multiplex PCR برای تشخیص وجود یا عدم وجود یک قطعه ژنی استفاده می شود				
Sanger sequencing							
ACMG, G10.1.8 MOL.35815	۳۳	شاخص های کیفیت نتایج تعیین توالی Sanger باید توسط آزمایشگاه تعیین شوند و برای تعیین ژنوتیپ صرفاً نتایج مورد قبول بر اساس معیارهای تأیید نتیجهٔ تعیین توالی (شامل منطقه تعیین توالی‌شده، نسبت سیگنال به نویز، شکل پیک ها و ...) استفاده شوند.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق و نتایج تعیین توالی استفاده شده برای تعیین ژنوتیپ				
ACMG, G10.1.11	۳۴	چنانچه تعیین توالی Sanger نیاز به تأیید داشته باشد، تأیید از طریق مقایسه نتیجه به‌دست آمده با نتیجه تعیین توالی رشته مکمل یا تکرار تعیین توالی انجام شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق تأیید توالی ها				
آنالیز و تفسیر نتایج تعیین توالی							
	۳۵	از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک و پایپ‌لاین های نرم‌افزاری معتبر (بر اساس گایدلاین ACMG، CAP و ضوابط کشوری) برای مراحل مختلف آنالیز داده های تعیین توالی استفاده شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق آنالیز داده ها				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
MOL.35820 ACMG, G10.1.12	۳۶	از گایدلاین ACMG و بانک های اطلاعاتی معتبر برای بررسی بیماری‌زایی تغییرات شناسایی شده در تعیین توالی استفاده شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق انجام کار بر اساس گایدلاین ACMG				
	۳۷	نتایج تعیین توالی توسط دو نفر به صورت مجزا (کارشناس واجد شرایط مورد تأیید مسئول فنی و سوپروایزر/ مسئول فنی، و یا دو کارشناس واجد شرایط مورد تأیید مسئول فنی) آنالیز شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق آنالیز نتایج تعیین توالی به طور مجزا توسط دو نفر				
تشخیص ژنتیک							
	۳۸	در مواردی که جهش عامل بیماری (بیماری‌زا/ احتمالاً بیماری‌زا) در فرد بیمار (پروباند) به‌دست آمده، بررسی در والدین نیز ضروری می باشد (این مورد برای تشخیص قبل از تولد و تشخیص قبل از لانه‌گزینی در خانواده، اثبات de novo بودن جهش در بیماری‌های اتوزوم غالب و نیز بررسی موزائیسم گنادی ضروری می باشد).	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق انجام کار مطابق با دستورالعمل های تدوین شده				
	۳۹	در صورت عدم هم‌خوانی نتایج (منطبق نبودن آزمایش‌های ژنتیک با داده های بالینی و پاراکلینیک، منطبق نبودن آزمایش‌های ژنتیک با همدیگر، و ...) آزمایش ها و تفسیر نتایج، تکرار و یا با روش دیگری بررسی شوند.	- بررسی موارد عدم انطباق - بررسی سوابق تکرار و یا انجام آزمایش ها به روش های مختلف در موارد عدم هم‌خوانی نتایج آزمایش ها				
	۴۰	دستورالعمل فنی تشخیص ژنتیک بیماری های مختلف، بر اساس مراجع و گایدلاین های معتبر در آزمایشگاه موجود بوده و مورد استفاده قرار گیرند.	بررسی دستورالعمل های تشخیص ژنتیک بیماری های مختلف				
	۴۱	فرایند مشخصی برای ردیابی نمونه و مراحل متوالی انجام کار در آزمایشگاه (از پذیرش تا جواب‌دهی) در آزمایشگاه موجود باشد.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - استفاده از روش ردیابی (Tracing) برای ارزیابی مراحل متوالی انجام کار				
	۴۲	دستورالعمل برای تفسیر موارد مشکوک به موزائیسم (سوماتیک، گنادی) در آزمایشگاه موجود باشد.	- بررسی دستورالعمل تفسیر موارد مشکوک به موزائیسم				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۴۳	دستورالعمل برای اقدامات لازم در موارد موتاسیون جدید در فرزند مبتلا (عدم وجود جهش در والدین) در آزمایشگاه موجود باشد (مانند تعیین هویت و یا هاپلوتایپینگ و ...).	- بررسی دستورالعمل های مرتبط				
	۴۴	آزمایشگاه از روش های مناسب برای بررسی بیماری های مرتبط با افزایش تعداد تکرارهای سه‌تایی (trinucleotide repeat expansion) نظیر هانتیگتون، سندرم X شکننده و نیز مواردی که ممکن است اندازه محصول PCR متغیر باشد استفاده کند (در صورت امکان برآوردی از محدوده طول قطعه که قابل تکثیر می باشد توسط آزمایشگاه ارائه شود).	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق انجام آزمایش به روش های مناسب مطابق با دستورالعمل های تدوین شده				
	۴۵	در صورت استفاده از روش Triplet Repeat Primed PCR از کنترل های سالم، ناقل و بیمار و نیز کیت و نرم‌افزار مناسب استفاده شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی کیت ها، نرم‌افزارها و سوابق استفاده از کنترل های سالم، ناقل و بیمار				
	۴۶	در صورت استفاده از مارکرهای STR برای مواردی مانند تعیین هویت، آنالیز linkage، بررسی موزائیسم بعد از پیوند، QF-PCR، بررسی آلودگی نمونه جنین با مادر و ناپایداری میکروساتلایت ها در تومورها، راهنماهای مرتبط در خصوص نحوه انجام کار و آنالیز داده‌ها موجود باشد و مطابق آنها عمل شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق و اطمینان از انجام کار مطابق با دستورالعمل های تدوین شده				
	۴۷	در مواردی که تشخیص بیماری از نظر بالینی و پاراکلینیک قطعی بوده و بیماری فقط یک ژن مسئول داشته باشد و آزمایشگاه قادر به تشخیص جهش عامل بیماری با روش‌های استاندارد نباشد، می تواند از روش غیرمستقیم (linkage) برای تشخیص ناقلین و تشخیص قبل از تولد استفاده کند که در این صورت باید دستورالعمل‌های مرتبط مکتوب موجود بوده و مطابق با آنها عمل شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق و اطمینان از انجام کار مطابق با دستورالعمل های تدوین شده				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
تعیین وضعیت جنین							
	۴۸	در پرونده های مربوط به تشخیص وضعیت جنین، اطلاعات مربوط به سن بارداری، سن مادر، چندقلویی، احتمال vanishing twin و تغییرات بیماری‌زای شناسایی‌شده در والدین موجود باشد.	- بررسی اطلاعات پرونده های مربوط به تشخیص وضعیت جنین				
	۴۹	درخواست نمونه جنینی توسط آزمایشگاه در مواردی که جهش بیماری‌زا/ احتمالاً بیماری‌زای خانواده، مشخص بوده و تشخیص قبل از تولد امکان‌پذیر باشد انجام شود. پذیرش نمونه جنینی قبل از انجام مرحله اول، منوط به قبول مسئولیت توسط آزمایشگاه و توجیه خانواده و اخذ رضایت باشد و مطابق دستورالعمل های موجود در آزمایشگاه انجام شود.	- بررسی سوابق جهت حصول اطمینان از درخواست نمونه جنینی توسط آزمایشگاه صرفاً در مواردی که جهش خانواده مشخص بوده و تشخیص قبل از تولد امکان‌پذیر باشد - بررسی سوابق اخذ رضایت از خانواده در شرایط غیر از آن				
	۵۰	کار با نمونه جنینی و استخراج DNA توسط کارشناس آموزش‌دیده که صلاحیت وی توسط مسئول فنی تأیید شده باشد، انجام شود.	- بررسی سوابق ارزیابی صلاحیت کارکنانی که با نمونه جنینی کار می کنند توسط مسئول فنی آزمایشگاه				
	۵۱	برای مشاهده و تمیز کردن نمونه های CVS از میکروسکوپ اینورت یا استریومیکروسکوپ استفاده شود.	- مشاهده روش و تجهیزات مورد استفاده برای انجام کار				
	۵۲	در صورتی که جهش والدین جنین در آزمایشگاه دیگری به دست آمده باشد، نمونه والدین به همراه نمونه جنین بررسی شود.	- بررسی سوابق بررسی نمونه والدین به همراه نمونه جنین در مواردی که جهش والدین در آزمایشگاه دیگری به دست آمده				
	۵۳	تعیین ژنوتیپ نمونه های جنینی با دو روش متفاوت یا تکرار یک روش در دو زمان متفاوت یا توسط دو کارشناس متفاوت انجام شود.	- بررسی سوابق آزمایش تعیین ژنوتیپ نمونه های جنینی با دو روش متفاوت یا تکرار یک روش در دو زمان متفاوت				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۵۴	تمهیدات لازم برای جلوگیری از آلودگی و جابجایی نمونه حین کار بر روی نمونه جنین، اعم از جدا کردن نمونه جنینی از بافت مادری (تمیز کردن نمونه های پرزهای جفتی)، استخراج اسیدهای نوکلئیک و انجام PCR و الکتروفورز به کار گرفته شود. در خصوص نمونه های مایع آمنیوتیک در صورت امکان از سلول های کشت داده شده استفاده شود. در صورتی که از سلول های آمنیوتیک مستقیماً استخراج DNA صورت می گیرد، آزمایشگاه از روش های رفع شبهه مانند تعیین هویت با مادر استفاده کند.	- مشاهده نحوه انجام کار - ارزیابی شواهد مربوط به تمهیدات پیش‌بینی شده جهت جلوگیری از آلودگی و جابجایی نمونه جنینی - بررسی سوابق انجام کار				
	۵۵	در تشخیص پیش از تولد، رد آلودگی نمونه جنین با مادر (MCC) با استفاده از مارکرهای پلی‌مورف مانند STR، VNTR و ... انجام شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق انجام کار مطابق با دستورالعمل های تدوین شده - به ویژه در موارد انجام تشخیص قبل از تولد برای جهش های حذفی که کیت MLPA برای آنها وجود ندارد.				
	۵۶	در مورد بارداری های دوقلویی یا چندقلویی دستورالعمل های لازم موجود باشد و مطابق آنها عمل شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق انجام کار مطابق با دستورالعمل های تدوین شده				
	۵۷	در صورت نرمال بودن جنین از نظر جهش های والدین، تعلق نمونه جنین به خانواده (از طریق بررسی چند مارکر گویا) ثابت شود.	ـ بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق اثبات تعلق نمونه جنین به خانواده از طریق بررسی حداقل یک مارکر گویا				
فرایند پس از انجام آزمایش							
تهیه گزارش و جواب‌دهی							
	۵۸	گزارش نهایی در سربرگ آزمایشگاه، حداقل حاوی آدرس، شماره تماس و دارای مهر و امضای مسئول فنی باشد.	- بررسی محتویات گزارش نهایی				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۵۹	گزارش نهایی شامل مشخصات عمومی افراد مورد بررسی اعم از نسبت خانوادگی و یا نسبت با فرد بیمار و یا پروباند، تاریخ تولد و جنس، تاریخ ارجاع، نوع نمونه و احتمال آلودگی آن، تاریخ نمونه‌گیری، تاریخ جواب‌دهی، نام پزشک یا آزمایشگاه همکار ارجاع‌دهنده و علت ارجاع باشد.	- بررسی محتویات گزارش نهایی				
	۶۰	گزارش نهایی شامل روش های مورد استفاده و محدودیت های آنها، نام ژن ها یا واریانت‌های مورد بررسی به صورت استاندارد و بیماری‌زایی آنها و ژنوتیپ های شناسایی شده باشد.	- بررسی محتویات گزارش نهایی				
MOL.49630 ACMG, G10.1.13	۶۱	در گزارش نتیجه تعیین توالی، تغییر باز و محل نوکلئوتید تغییریافته و محل تغییر متناظر در پروتئین مربوطه بر اساس گایدلاین های نام‌گذاری استاندارد، قید گردد.	- بررسی نتایج تعیین توالی گزارش شده				
ACMG, G10.1.14	۶۲	در صورت عدم تشخیص جهش توجیه‌کنندهٔ بیماری از طریق تعیین توالی یا سایر روش‌ها، به علل احتمالی این مسأله در گزارش نهایی اشاره شود.	- بررسی محتویات گزارش های نهایی				
	۶۳	در گزارش نهایی تشخیص قطعی (درصورت وجود)، تفسیر نتایج به دست آمده، پیشنهاد مشاوره ژنتیک، توصیه برای پزشک و خانواده و disclaimer درج شود.	- بررسی محتویات گزارش های نهایی				
	۶۴	در مورد نمونه های جنینی، تعیین وضعیت نهایی جنین از نظر سالم بودن، ناقل بودن یا ابتلا به بیماری مورد نظر مشخص شود.	- بررسی محتویات گزارش های نهایی				
	۶۵	در گزارش نهایی در قسمت نتایج، صرفاً واریانت های بیماری‌زا/ احتمالاً بیماری‌زا که توجیه‌کنندهٔ وضعیت بالینی می باشند، آورده شود (در مورد واریانت های VUS بر اساس گایدلاین های معتبر در گزارش ارائه شوند).	- بررسی محتویات گزارش های نهایی				
	۶۶	گزارش نتایج آزمایش ها (به ویژه درموارد آزمایش ابوّت) با حفظ محرمانگی اطلاعات دراختیار فرد، پزشک معالج و یا مراجع ذی‌ربط قرار گیرد.	- مصاحبه با مسئول جواب‌دهی - بررسی تمهیدات پیش‌بینی شده جهت حفظ محرمانگی اطلاعات				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۶۷	دستورالعمل های مرتبط با برخورد با یافته های تصادفی (incidental finding) بر طبق گایدلاین های معتبر نظیر ACMG در آزمایشگاه موجود باشد و مطابق آن عمل شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی سوابق برخورد با یافته های تصادفی مطابق با دستورالعمل های تدوین‌شده				
نگهداری نمونه ها و سوابق انجام آزمایش ها							
	۶۸	دستورالعمل بایگانی و نگهداری سوابق بیماران شامل عکس های ژل الکتروفورز، فایل های تعیین توالی، فایل های آنالیز فراگمنت، MLPA، NGS و ردیابی آنها در آزمایشگاه موجود بوده و مطابق آن عمل شود و تمامی فایل ها دارای پشتیبان (back up) باشند.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی فایل های مرتبط و back up آنها				
	۶۹	مدت زمان نگهداری و بانک کردن نمونه های آزمایشگاه (نمونه های خون، نمونه جنینی، نمونه های cell free و DNA و RNA و ...) مشخص باشد و مطابق آن عمل شود (نمونه های DNA جنینی و نمونه های فرزند مبتلا حداقل ۱۰ سال در آزمایشگاه نگهداری شوند).	- بررسی دستورالعمل های مرتبط با مدت زمان نگهداری نمونه های مختلف - مشاهده محل و شرایط نگهداری نمونه‌های مختلف				
	۷۰	مدت زمان نگهداری پرونده ها به صورت الکترونیک و فیزیکی مشخص باشد (پرونده ها حداقل به مدت ۳۰ سال در آزمایشگاه نگهداری شوند).	- بررسی دستورالعمل های مرتبط با مدت زمان نگهداری پرونده های مختلف - مشاهده و بررسی نحوه نگهداری پرونده‌های مختلف				
	۷۱	مقداری از نمونه اصلی مراجعین تا پایان کار و پس از گزارش‌نویسی و ارائه جواب نگهداری شود. این مدت می تواند بیشتر از چند سال باشد ولی حداقل برای مراجعه فعلی خانواده تا حصول نتیجه و حتی تولد جنین تشخیص داده شده و مشخص شدن وضعیت وی نگهداری شود تا در صورت بروز خطا علت مشخص شود	- مشاهده محل و شرایط نگهداری نمونه‌های اصلی تا پایان گزارش‌دهی				

مرجع	ردیف	الزامات مورد نظر / سنجه	روش ارزیابی	قابل قبول	غیر قابل قبول	نیاز به اصلاح	توضیحات
	۷۲	استفاده از نمونه های مربوط به پرونده های قبلی به عنوان نمونه کنترل یا جهت راه‌اندازی آزمایش های جدید، تنها با اخذ رضایت از مراجعین و با رعایت کدهای اخلاقی، محرمانگی اطلاعات و ثبت سوابق مربوطه انجام شود.	- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی شواهد و سوابق اخذ رضایت، نحوه حفظ محرمانگی و ... در مواردی که از نمونه های قبلی به عنوان نمونه های کنترل یا برای راه‌اندازی آزمایش جدید استفاده شده‌اند.				
	۷۳	سوابق پذیرش، نمونه‌گیری و گزارش نتایج آزمایشهای قبلی بر اساس نام و کد مراجعین در دسترس باشد.	- بررسی سوابق پذیرش، نمونه‌گیری و گزارش نتایج چند نمونه از پرونده های قبلی				
	۷۴	سوابق مراجعین بر اساس اصول محرمانگی (privacy)، امنیتی (security)، یکپارچگی (integrity) و در دسترس بودن (accessibility) نگهداری شوند.	- بررسی شرایط و چگونگی نگهداری سوابق بیماران				

نکات تکمیلی:

تمامی دستورالعمل های تهیه شده در آزمایشگاه باید با استفاده از راهنماهای ابلاغ شده توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و در صورت عدم وجود راهنماهای ابلاغی بر اساس گایدلاین های معتبر مانند American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) یا Best Practice Guidelines (BPG) مکتوب شوند.

آزمایشگاه باید از کیت های تشخیص آزمایشگاهی (In vitro diagnostic; IVD) استفاده نماید و درصورت استفاده از کیت های Research Use Only (RUO) یا کیت های طراحی شده در آزمایشگاه، مستندات مربوط به چگونگی صحه‌گذاری (validation) در آزمایشگاه موجود باشد.

در فرایند ممیزی توجه به اصول محرمانگی اطلاعات آزمایشگاه، اعم از فرم ها، دستورالعمل ها، روش های اجرایی، اطلاعات مربوط به توالی پرایمرها و پروب ها و نیز اطلاعات بیماران توسط ممیزین باید رعایت شود و هر گونه اخذ اطلاعات باید با اجازه و توافق مسئول فنی صورت گیرد.

منابع مورد استفاده:

1. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015 May; 17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
2. Den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, Roux AF, Smith T, Antonarakis SE, Taschner PE. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. Hum Mutat. 2016 Jun; 37(6):564-9. doi: 10.1002/humu.22981.
3. Schrijver I, Cherny SC, Zehnder JL. Testing for maternal cell contamination in prenatal samples: a comprehensive survey of current diagnostic practices in 35 molecular diagnostic laboratories. J Mol Diagn. 2007 Jul; 9(3):394-400. doi: 10.2353/jmoldx.2007.070017.
4. Nagan N, Faulkner NE, Curtis C, Schrijver I; MCC Guidelines Working Group of the Association for Molecular Pathology Cliniinical Practice Committee. Laboratory guidelines for detection, interpretation, and reporting of maternal cell contamination in prenatal analyses a report of the association for molecular pathology. J Mol Diagn. 2011 Jan; 13(1):7-11. doi: 10.1016/j.jmoldx.2010.11.013.
5. ACMG Technical Standards for Clinical Genetics Laboratories (2021 Revision at: https://www.acmg.net/ACMG/Medical-Genetics-Practice-Resources/Genetics_Lab_Standards/ACMG/Medical-Genetics-Practice-Resources/Genetics_Lab_Standards.aspx?hkey=0e473683-3910-420c-9efb-958707c59589.