




عنوان سند:
استاندارد پذیرش نمونه
در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک
شماره سند:
HD-GO-00-MN-SD-002-00

تاریخ	ویرایش	شرح اقدام	تهیه کننده	تایید کننده	تصویب کننده
۱۳۹۸/۴/۹	00	تدوین کلی استاندارد	نام: دکتر علی رشیدی نژاد سمت: عضو کمیته تضمین کیفیت اداره ژنتیک	نام: دکتر سعید طالبی سمت: دبیر کمیته تضمین کیفیت اداره ژنتیک	نام: دکتر اشرف سموات سمت: رئیس اداره ژنتیک
			امضا	امضا	امضا
			نام سمت	نام سمت	نام سمت
			امضا	امضا	امضا
			نام سمت	نام سمت	نام سمت
			امضا	امضا	امضا
			نام سمت	نام سمت	نام سمت
			امضا	امضا	امضا
			نام سمت	نام سمت	نام سمت
			امضا	امضا	امضا

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002	استاندارد پذیرش نمونه در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک	
شماره بازنگری: 00		

- (۱) **هدف از ایجاد:** هدف از ایجاد این سند تشریح معیارهایی است که طبق آن استانداردها، نمونه مناسب در آزمایشگاه منتخب جهت انجام آزمایش‌های اختصاصی ژنتیک پذیرش شده تا مورد آزمایش قرار گیرد..
- (۱-۱) بازنگری این سند طبق نظر هر یک از کارکنان ذیصلاح و تأیید مقام ذیصلاح امکان‌پذیر است.
- (۲) **دامنه کاربرد:** کاربرد این استاندارد در آزمایشگاه‌های تشخیص ژنتیک پزشکی است که در سطح سوم تشخیص در چارچوب برنامه‌های ژنتیک اجتماعی فعالیت دارند. کلیه کارکنان در واحدهای نمونه‌گیری و بخش‌های پذیرش آزمایشگاه‌های تشخیص ژنتیک منتخب ملزم به رعایت مفاد این سند هستند.

(۳) منابع:

(۳-۱) استاندارد INSO-ISO 15189

(۳-۲) کتب معتبر علم ژنتیک پزشکی

(۴) تعاریف : ندارد.

(۵) شرح اقدامات:

در این سند به شرایط استاندارد ماهیت نمونه‌های (پرزهای جفتی) CV ، مایع آمنیون، خون، مغز استخوان و بافت جهت پذیرش در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک پرداخته شده است.




استاندارد پذیرش نمونه
در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002

شماره بازنگری: 00


۵-۱) نمونه CV یا پرزهای جفتی : CV بافت پرز ماندی است که حاوی رگ های خونی مادر (قسمت پرننگ) و قسمت جفتی یا جنینی (قسمت کمرنگ مایل به خاکستری) است. کارشناس ماهر رگ های خونی مادر (قسمت مادری) را از پرزهای جنینی زیر میکروسکوپ اینورت یا میکروسکوپ Sterioscope با سوزن انسولین جدا کرده و آنچه باقی می ماند صرفا بخش جنینی است. مقدار نمونه مناسب شامل حدود ۱۵ میلی گرم از نمونه CV باید توسط متخصصین مجاز فرستاده شود که حداقل ۵ میلی گرم پرز جفتی جنینی حاصل آن باشد.

معیارهای پذیرش نمونه CV :	معیار های رد نمونه CV : ندارد.
۱۵ میلی گرم نمونه CV که حداقل ۵ میلی گرم پرز جفتی پاک شده و تمیز بدهد. ترجیحا نمونه بایستی شامل چند رشته پرز مجزا باشد. توصیه می شود به هنگام نمونه گیری تلاش شود که پرزها از مناطق مختلف جفت بدست آیند.	در موارد زیر ممکن است که جوابدهی دچار مشکل شود و لازم است که پزشک و مراجعه کننده از امکان تکرار و نیاز به نمونه گیری مجدد آگاه شوند.
نمونه گیری در هفته ۱۱-۱۳ انجام شده باشد.	حداقل میزان پرز جفتی برای به دست آوردن میزان DNA یا کشت قابل قبول ۳ تا ۴ میلی گرم است و کمتر از آن می تواند کافی نباشد. در نمونه های تک پرزی احتمال confined placental mosaicism وجود دارد.
نمونه CV باید در لوله فالکون شناور در محیط انتقال دهنده (transfer media) یا Ham's F ₁₀ یا نرمال سالین به صورت استریل فرستاده شود.	نمونه فاقد لیبل . در این قسمت در صورت وقوع، نیاز به اقدام فوری و پیشگیرانه از قبیل هماهنگی کتبی با فرد نمونه گیرنده برای تعیین تکلیف هویت نمونه وجود دارد.
نمونه های پرزهای جفتی که بلافاصله تمیز و پاک نشده باشند احتمال آلودگی به سلول های مادری بیشتری دارند	فاصله زمانی زیاد از نمونه گیری تا شروع کار برای کشت کروموزومی می تواند مانع از رشد شود
نمونه CV باید در محلول شناور باشد.	نمونه CV خشک ، تکه تکه، پودر یا له شده
Labeling استاندارد نمونه شامل ساعت نمونه گیری، نام و نام خانوادگی دهنده نمونه، سن حاملگی حتما ذکر شده باشد.	
شاخک هایی با جوانه هایی همانند قارچ میسلیمومی حاوی خون در نمونه باید دیده شود و بهتر است جوانه ای که از شاخه اصلی آن جدا شده باشد و از جنینی بودن منشا آن اطمینان وجود ندارد مطالعه نشود	

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002	استاندارد پذیرش نمونه در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک	 سازمان بهداشت و آموزش پزشکی
شماره بازنگری: 00		

۲-۵) نمونه آمنیون: یک مایع محافظ اطراف جنین است که در کیسه آمنیوتیک زن باردار قرار دارد.

معیارهای پذیرش نمونه آمنیون	معیار های رد نمونه آمنیون: ندارد.
نمونه آمنیون باید در سرنگ استریل بدون هرگونه ماده ضدانعقاد حداقل ۲۰ تا ۲۵ میلی‌لیتر فرستاده شود	در موارد زیر ممکن است که جوابدهی دچار مشکل شود و لازم است که پزشک و مراجعه کننده از امکان تکرار و نیاز به نمونه گیری مجدد آگاه شوند.
زمان رسیدن نمونه به آزمایشگاه کمتر از ۲۴ ساعت باشد.	اگر میزان نمونه کمتر از ۱۵ - میلی‌لیتر باشد، ممکن است مدت زمان کشت افزایش یابد که در این صورت ممکن است در فرآیندهایی نظیر سقط قانونی اختلال ایجاد شود.
نمونه آمنیون به منظور جلوگیری از خطر آلودگی با DNA مادری، نباید خونی باشد. در صورت خونی بودن ابتدا سانتیفریوژ کرده و بعد کشت سلولی انجام شود.	وجود تکه‌های یخ در نمونه آمنیون به منظور انجام بررسی‌های سیتوژنتیکی
مایع آمنیون نباید زیر ۵ میلی‌لیتر باشد. در غیر این صورت باید DNA را استخراج کرد و OD آن را خواند و در صورت پایین بودن DNA content نمونه‌گیری تکرار شود.	نمونه فاقد لیبل
labeling استاندارد باید شامل نام و نام خانوادگی مادر، روز نمونه‌گیری و هفته بارداری باشد.	ماندن نمونه در دماهای خارج از ۴ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد خونی بودن نمونه اعم از خون جدید یا کهنه می‌تواند در جوابدهی تاثیر داشته باشد.
مایع آمنیون نباید کدر، سبز یا خونی باشد.	نیاز به اقدام فوری جهت تعیین هویت نمونه توسط نمونه‌گیری دارد.
ممکن است مایع آمنیوتیک Lipeimic باشد یا حاوی رسوبات سلولی باشد که اختلالی در مطالعه ایجاد نمی‌کند.	

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002	استاندارد پذیرش نمونه در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک	
شماره بازنگری: 00		

در زیر چند آزمایش مهم و حداقل میزان نمونه مایع آمنیون مورد نیاز آن‌ها اشاره شده است:

حداقل میزان نمونه	نام آزمایش
دو سرنگ مجزا حاوی ۱۰ میلی لیتر مایع آمنیون	کاریوتایپ مایع آمنیون
۵ میلی لیتر مایع آمنیون	بررسی نمونه آمنیون به روش QF-PCR ^۲
دو سرنگ مجزا حاوی ۱۰ میلی لیتر آمنیون	بررسی نمونه آمنیون به روش QF-PCR و کاریوتایپ
۲۰-۱۵ میلی گرم پرز جفتی	بررسی نمونه پرزهای جفتی به روش QF-PCR و کاریوتایپ
۵ میلی لیتر خون EDTA	انجام QF-PCR بر روی نمونه خون
دو سرنگ مجزا حاوی ۱۰ میلی لیتر مایع آمنیون	انجام FISH جهت تشخیص تریزومی‌ها
دو سرنگ مجزا حاوی ۱۰ میلی لیتر مایع آمنیون	MLPA جهت تشخیص تریزومی‌های شایع
دو سرنگ مجزا حاوی ۱۰ میلی لیتر مایع آمنیون	Array CGH و QF-PCR بر روی نمونه مایع آمنیون
۵ میلی لیتر خون EDTA	Array CGH بر روی نمونه خون
۵ میلی لیتر خون هپارینه	آزمایش کاریوتایپ خون
۵ میلی لیتر خون EDTA	تعیین جهش نقطه‌ای شناخته شده بر روی نمونه خون



استاندارد پذیرش نمونه
در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002

شماره بازنگری: 00

۳-۵) خون: نمونه خون مناسب برای آزمایشگاه ژنتیک نمونه ای است که از رگ وریدی به مقدار ۳ تا ۵ سی سی در شرایط مناسب توسط افراد مجاز گرفته شود و طبق جدول زیر، روی ماده ضدانعقاد مناسب ریخته شود.

معیارهای پذیرش نمونه	معیارهای رد نمونه
میزان نمونه خون برای بالغین حداکثر ۵ تا ۶ میلی لیتر باشد.	نمونه های فاقد لیبل
میزان نمونه خون برای نوزادان حداکثر ۲ میلی لیتر و حداقل ۰/۸ میلی لیتر باشد.	نمونه هایی که لوله آن شکسته شده باشد
میزان نمونه خون برای بیماری های X شکننده و فانکونی حداقل ۴ میلی لیتر نمونه خون مورد نیاز است و در غیر این صورت تکرار نمونه گیری باید انجام شود.	نمونه های یخ زده قابل قبول نمی باشد.
نمونه خون لخته و همولیز نباشد.	نمونه خون نباید در لوله های شیشه ای ریخته شود.
مشخصات ماده ضد انعقاد حتما روی لوله نوشته شده باشد.	نمونه خون افراد زیر برای مطالعات سیتوژنتیک دارای مشکل است و نباید از آنها خون گیری نمود.
برای آزمایشات سیتوژنتیک باید سدیم-هیپارین اندوده باشد	خانم های باردار که در هفته آخر بارداری هستند.
نمونه خون برای آزمایشات مولکولی ۱۰ میلی لیتر در ۴۰۰ میکرولیتر K3-EDTA or K2-EDTA در لوله بنفش رنگ ارسال شود.	افراد معتاد
labeling استاندارد باید شامل نام و نام خانوادگی دهنده نمونه، و روز نمونه گیری باشد. نمونه های فاقد Labeling استاندارد باید تکرار شود نه اصلاح.	افراد در کما یا ICU یا به علت تزریق مکرر خون و فرآورده های خونی
به تاریخ انقضای لوله های Venoject هیپارینه و EDTA توجه شود	افراد BMT
لوله های مجاز برای سیتوژنتیک Venoject با سرپوش سبز و در غیراین صورت از سرنگ معمولی با ۲۰۰ میکرولیتر هیپارین رقیق شده استفاده شود	افراد تحت کموتراپی و تحت درمان با داروهای ساپرس کننده سیستم ایمنی
برای ارسال نمونه خون باید از لوله با جنس PET استفاده شود.	
در فصول گرم سال یا در مناطق گرم نمونه خون باید در Cool Box یا کنار یخ حمل شود.	
۱۲ تا ۲۴ ساعت مدت زمان مناسب برای ارسال نمونه است.	




استاندارد پذیرش نمونه
در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002

شماره بازنگری: 00

۴-۵ مغز استخوان (BM) : Bone Marrow

معیارهای پذیرش نمونه مغز استخوان:	معیار های رد نمونه مغز استخوان: ندارد.
نمونه مغز استخوان tap اول برای مطالعات کروموزومی است حداقل میزان برای امکان انجام کشت‌های کافی ۵ میلی‌لیتر است	در موارد زیر ممکن است که جوابدهی دچار مشکل شود و لازم است که پزشک و مراجعه‌کننده از امکان عدم جوابدهی آگاه شوند.
برای مطالعات سیتوژنتیک ماده ضدانعقاد مناسب برای جلوگیری از لخته شدن نمونه مغز استخوان هپارین سدیم و برای آزمایشات مولکولی K-EDTA است. ترجیحا نمونه در محیط ترانسفر منتقل شود. در لوله فالكون یا Flask استریل ارسال شود. محیط ترانسفر، محیط RPMI همراه با ماده ضدانعقاد است یا محیط اختصاصی MAROPAN یا MAROMAX که ۵ میلی‌لیتر از BM در آن ریخته می‌شود. نمونه BM نباید لخته یا لیز باشد و وجود خرده های استخوان ممانعتی ایجاد نمی‌کند.	نمونه‌هایی با حجم کم، با ماده انعقاد نامناسب، نمونه‌های لیز شده نمونه‌هایی که دمای انتقال مناسب نداشته‌اند زمان انتقال نمونه در کیفیت و حضور بلاست‌ها که سلول‌های مورد مطالعه هستند به‌خصوص برای مطالعه سیتوژنتیک تاثیر دارد. نمونه‌های خیلی رقیق که tap اول نیستند.
نمونه نباید یخ بزند و در دمای ترجیحا یخچال ۴-۱۰ درجه سانتی‌گراد و در غیر این‌صورت در دمای محیط تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شود.	
نمونه های افراد تحت کموتراپی، پیوند مغز استخوان، تحت داروهای ساپرس مغز استخوان و - Revlimid- Thalomod فاقد ارزش مطالعه است	
BM برای آزمایشات مولکولی در EDTA ارسال شود. نمونه‌های خون؛ جایگزین مغز استخوان، برای مطالعات سیتوژنتیک باید بیش از ۱۰ درصد بلاست داشته باشد.	

شماره سند: HD-GO-00-MN-SD-002	استاندارد پذیرش نمونه در آزمایشگاه تشخیص ژنتیک	
شماره بازنگری: 00		

۵-۵) بافت: برای مطالعه کروموزومی و FISH و بررسی های مولکولی

معیار های رد نمونه بافت:	معیارهای پذیرش نمونه بافت:
نمونه بافت تازه داخل محیط انتقال (transfer media) یا پذیرش نیست	نرمال سالین یا Ham's F10 باشد.
فقط FISH و مولکولی	نمونه بافت بلوک جراحی بهتر است کمتر از ۷ سال باشد
فقط FISH و مولکولی	میزان بافت سرطانی در بلوک جراحی توسط پاتولوژی تایید شود
	سایز بافتی که در بلوک جراحی است باید نیم سانتی متر در دو سانتی متر و ضخامت آن چهاردهم میکرومتر باشد
	میزان نمونه بافت تازه جهت استخراج DNA بستگی به کیت مورد استفاده دارد

۶) مستندات: ندارد.