



عنوان سند

دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل

PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

شماره سند

HD- IMD-00-MN-WI-007-00

تاریخ	ویرایش	شرح اقدام	تهیه کنندگان	تایید کننده	تصویب کننده
۱۳۹۹/۰۵/۰۱	00	تدوین کلی سند در فرمت اسناد اداره ژنتیک	نام و سمت: دکتر کتابون خداوردیان (آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی) دکتر صغری روحی (عضو کمیته تضمین کیفیت اداره ژنتیک وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی) زهرا کلهر (کارشناس اداره ژنتیک وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی)	نام: دکتر سماء سموات سمت: رئیس اداره ژنتیک	نام: دکتر سیامک میراب سمیعی سمت: مدیر کل آزمایشگاه مرجع سلامت
			امضا	امضا	امضا
			نام : سمت:	نام : سمت:	نام : سمت:
			امضا	امضا	امضا
			نام : سمت:	نام : سمت:	نام : سمت:
			امضا	امضا	امضا

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

معاونت بهداشت

دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل

PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

۱۳۹۹

تدوین:

آزمایشگاه مرجع سلامت

و

مرکز مدیریت بیماری‌های غیرواگیر

اداره ژنتیک



دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل
PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

شماره سند: HD- IMD-00-MN-WI-007

شماره بازنگری: 00

(۱) **هدف از ایجاد:** هدف از تدوین این سند ایجاد شیوه‌ای یکسان، یکپارچه و استاندارد جهت بهبود روند اجرای نمونه‌گیری و انجام آزمایشات غربالگری و تأییدی در برنامه غربالگری نوزادان در دانشگاه‌های علوم پزشکی همکار با اداره ژنتیک وزارت بهداشت و رعایت کلیه موازین و استانداردهای موجود جهت اجرای برنامه غربالگری نوزادان است.

شایان ذکر است اجرای برنامه کشوری پیشگیری و کنترل بیماری فنیل‌کتونوری از سال ۱۳۸۶، لزوم تدوین دستورالعملی جامع جهت کلیه عوامل اجرایی و مدیریتی را مطرح نمود که این مهم توسط استادان گرانقدر سرکار خانم دکتر رضی و جناب آقای دکتر کازرونی در همان سال انجام گردید. بازبینی دوم این دستورالعمل در سال ۱۳۸۹ با تأکید بیشتر بر روی مدیریت نمونه توسط همکار گرامی سرکار خانم دکتر سجادیان صورت گرفت.

بازبینی سوم این مجموعه با تکیه بر الزامات استاندارد سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه‌ها و با تأکید بیشتر بر فرایندهای مدیریت کارکنان، مدیریت تجهیزات، کنترل فرایند (پیش از انجام آزمایش، انجام آزمایش و پس از انجام آزمایش)، مستندسازی و مدیریت عدم انطباق در بهمن سال ۱۳۹۴ توسط همکار محترم خانم دکتر خداوردیان با تکیه بر الزامات استاندارد سیستم مدیریت کیفیت بر اساس استاندارد ۱۵۱۸۹ تدوین گردیده است تا موجب ارتقاء کیفیت عملکرد آزمایشگاه‌های فعال در زمینه پیشگیری و کنترل بیماری فنیل‌کتونوری گردد.

بازبینی چهارم این مجموعه با هدف بهبود، توسط کارشناسان اداره ژنتیک وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و همکاران آزمایشگاه مرجع سلامت انجام شده تا نکات نمونه‌گیری با توجه به برنامه بیماری‌های متابولیک ارثی مدنظر قرار گرفته و ابلاغ شود.

دستورالعمل پیش رو بازبینی پنجم این مجموعه است که با هدف بهبود بیشتر، توسط کارشناسان اداره ژنتیک وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و همکاران آزمایشگاه مرجع سلامت در سال ۱۳۹۹ ایجاد شده و در ضمن به فرمت استاندارد مستندسازی اداره ژنتیک برده شده است به این ترتیب ویرایش نخست این سند با شماره HD- IMD-00-MN-WI-007 ایجاد می‌گردد.

(۱-۱) بازنگری این سند با نظر هریک از کارکنان ذی‌صلاح و با تأیید بالاترین مقام ذی‌صلاح امکان‌پذیر است.

(۲) **دامنه کاربرد:** این سند در کلیه دانشگاه‌های علوم پزشکی سراسر کشور، مراکز بهداشتی درمانی (نمونه‌گیران، بهورزان، کاردانان، کارشناسان، پزشکان)، آزمایشگاه منتخب (مرجع یا رفرانس) غربالگری، آزمایشگاه‌های کنترل درمان در برنامه پیشگیری و کنترل PKU است که در چارچوب معاونت بهداشت وزارت بهداشت کاربرد داشته لذا کلیه افراد مرتبط ملزم به رعایت مفاد آن هستند.

***راهنمای قسمت اصلی سند؛ بند ۵ این دستورالعمل، به شرح زیر است:**

زیربند ۵-۱: ساختار تشکیلاتی دستگاه‌های کلیدی و شرح وظایف ایشان

زیربند ۵-۲: روش نمونه‌گیری

زیربند ۵-۳: روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری فنیل‌آلانین

شماره سند: HD- IMD-00-MN-WI-007	دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل PKU بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک	
شماره بازنگری: 00		

زیربند ۴-۵: آزمایش در آزمایشگاه‌های غربالگری و تأیید تشخیص

زیربند ۵-۵: نحوه گزارش‌دهی

زیربند ۶-۵: آزمایشگاه‌های کنترل فنیل آلانین در طول درمان

زیربند ۷-۵: تضمین کیفیت

زیربند ۸-۵: نمودار گردشی فرآیند غربالگری نوزادان، تأیید تشخیص و کنترل درمان از نظر بیماری

فنیل کتونوری "ویژه آزمایشگاه"

(۳) منابع:

- 3-1) Norbert W. Tietz: Fundamentals of clinical chemistry. W.B. SANDERS COMPANY.,2006
- 3-2) Hannon H. and Terrel B. "Guidelines on the Prevention and Control of Phenyketouira", Pub. No. WHO/Hkp/pku/gl/90.4, World Health Organization, 1990
- 3-3) McCabe ERB, Lednard, Co et al, "Newborn Screening Fact Sheet". Report of the committee on Genetics, American Academy of Pediatrics., Pediatrics83; 443 (1989)
- 3-4) Evaluation of 6-year application of the enzymatic colorimetric phenylalanine assay in the setting of neonatal screening for phenylketonuria Schulze A, Mayatepek E,Hoffmann GF. Clin Chim Acta.2002 Mar;317(1-2):27-37
- 3-5) Phenylketonuria: Screening and Management National Institutes of HealthConsensus Development Conference Statement, October 16-18, 2000
- 3-6) Enzymatic method for phenylketonuria screening using phenylalanine dehydrogenase Dooley KC. Clin Biochem. 1992 Aug;25(4):271-5.
- 3-7) SIX SIGMA -TEST INTERPRETATION GUIDELINES AS TOLERANCE LIMITSJames O. Westgard , PhD.www.westgard.com
- 3-8) Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard—Fourth Edition CLSI_2006
- 3-9) Effect of specimen collection method on newborn screening for PKU Fred W. Lorey and George C. Cunningham California Department of Health Services, Genetic Disease Branch, 2151 Berkeley Way, Annex 4, Berkeley, CA, 94704, USA
Available online 26 April 2005
- 3-10) A method of PKU screening using phenylalanine dehydrogenase and microplate system H. Narusea, Y.Y. Ohashi”, A. Tsujib, M. Maedab, K. Nakamurac ,T. Fujii”, A. Yamaguchid, M. Matsumoto” and M. Shibataf (Accepted 18 September 1991)
- 3-11) Use of the Guthrie bacterial inhibition assay to monitor blood phenylalanine for dietary treatment of phenylketonuria Frances J. Rohra, Elizabeth N. Allredb, Melissa Turnera, Jane Simmonsd and Harvey L. Levya, c, d , Available online 27 April 2005
- 3-12) Effect of specimen collection method on newborn screening for PKU Fred W. Lorey and George C. Cunningham accepted 15 April 1994 .
- 3-13) Determination of amino acids by ion-exchange chromatography oner paper spotted blood samples stored at different temperatures andor different periods: comparison with capillary and



venous bloodYousef M. Abdulrazzaq*, Ahmed Ibrahim. Clinical Biochemistry 34 (2001) 399–406Available online 11 October 2001.

3-14) SKIN PUNCTURE ON INFANTSChapter 12 Pediatric ProceduresRevised: August 22, 2007

۱۵-۳) استانداردهای بالینی، تدوین کمیته کشوری کنترل بیماری PKU، ۱۳۸۵.

۱۶-۳) راهنمای تشخیص بیماری‌های متابولیک، دکتر محمود سلطانی، ۱۳۸۸.

۱۷-۳) کتاب جامع تجهیزات آزمایشگاهی و فرآورده‌های تشخیصی، ۱۳۸۸.

۱۸-۳) اصول مستندسازی و مستندات در آزمایشگاه پزشکی: انجمن آسیب شناسی ایران، ۱۳۸۷.

۱۹-۳) مدیریت و کنترل کیفی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی: انجمن آسیب شناسی ایران، ۱۳۹۱.

۲۰-۳) دستورالعمل نمونه‌گیری آزمایشگاه تشخیص و شناسایی بیماری‌های متابولیک ارثی به شماره
HD-IMD-00-MN-WI-001

۲۱-۳) استاندارد پذیرش/رد نمونه در آزمایشگاه‌های شناسایی و تشخیص بیماری‌های متابولیک ارثی به شماره
HD-IMD-00-MN-SD-003

۲۲-۳) آیین نامه غربالگری نوزاد بستری در بیمارستان به شماره ۳۰۵/۱۰۰۰۹ مورخ ۱۳۹۱/۱۱/۳

۴) تعاریف:

۱-۴) **فنیل‌آلانین**: فنیل‌آلانین یک اسید آمینه ضروری برای بدن انسان است. چنانچه از فنیل‌آلانین مواد غذایی در بدن برای ساخت پروتئین استفاده نشود، این ماده به طور طبیعی تجزیه می‌گردد. کمبود آنزیم فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز یا کوفاکتور آن یعنی تتراهیدروبیوپترین موجب تجمع فنیل‌آلانین در مایعات بدن شده سبب ایجاد فرم‌های مختلف بالینی و بیوشیمیایی افزایش فنیل‌آلانین در بدن می‌شود.

۲-۴) **فنیل‌کتونوری (PKU) نوع کلاسیک**: این نوع بیماری به دلیل کمبود یا فقدان آنزیم فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز ایجاد می‌شود. فنیل‌آلانین اضافی به فنیل‌پیروویک اسید و فنیل‌اتیلین آمین تبدیل می‌شود. این متابولیت‌ها و سایر متابولیت‌های بعدی همراه با فنیل‌آلانین اضافی متابولیسم طبیعی را مختل نموده و موجب صدمه مغزی می‌گردند. کودک مبتلا در ابتدای تولد طبیعی است و عقب‌ماندگی ذهنی به تدریج پیشرفت می‌کند و طی چند ماه آشکار می‌شود. کودک در صورتی که تحت درمان قرار نگیرد، به ازا هر ماه ۴ نمره از IQ او کاسته خواهد شد و تا پایان سال اول ۵۰ نمره از IQ را از دست خواهد داد. عقب‌ماندگی مغزی در این بیماری شدید است و کودک مبتلا پرفعالیتی همراه با حرکات بی‌هدف پیدا می‌کند. اغلب بیماران مبتلا، نیاز به مراقبت مخصوص دارند. بوی مخصوص و نامطبوع این کودکان مربوط به متابولیت اسیدلاکتیک است. در معاینه عصبی، علائم یکنواختی را نمی‌توان یافت. اغلب بیماران هیپرتونیک هستند و ۱/۴ این بیماران تشنج نیز دارند. در کشورهایی که غربالگری نوزادان در حال انجام است و کودکان مبتلا به موقع شناسایی و درمان می‌شوند بندرت می‌توان تظاهرات این بیماری را یافت.

این بیماری در بدو تولد با اندازه‌گیری فنیل‌آلانین خون قابل تشخیص است. کافی است چند قطره خون مویرگی بر روی کاغذ فیلتر گرفته شود و به آزمایشگاه منتخب ارسال، تا آزمایش لازم انجام گردد. توصیه

می‌شود خون نوزاد بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تولد وی و بعد از شروع تغذیه با شیر گرفته شود. رعایت این نکته موجب می‌شود تا نتایج منفی کاذب کاهش یابد. در صورتی که این تست مقدماتی افزایش فنیل آلانین را نشان دهد، فنیل آلانین و تیروزین سرم (با روش HPLC) باید اندازه‌گیری شود. در صورتی که فنیل آلانین خون بیش از ۲۰ mg/dl و تیروزین خون طبیعی باشد و همچنین متابولیت‌های فنیل آلانین در ادرار افزایش یافته باشد و اختلال مربوط به تتراهیدروبیوپترین (کوفاکتور فنیل آلانین هیدروکسیلاز) رد شود، تشخیص pku کلاسیک تأیید می‌شود.

اقدامات درمانی این بیماری متمرکز بر کاهش فنیل آلانین و متابولیت‌های آن در خون است و هدف آن ممانعت یا کاهش صدمه مغزی است. فنیل آلانین رژیم این بیماران باید محدود شود. این رژیم باید تحت نظر یک متخصص تغذیه تنظیم گردیده و با آزمایشات مکرر خون از سطح مناسب فنیل آلانین خون اطمینان حاصل شود. سطح فنیل آلانین کنترل شده در بیماران بین ۲ mg/dl تا ۶ mg/dl در کودکان زیر ۱۲ سال و ۲ تا ۱۰ برای کودکان بزرگتر از ۱۲ سال است. گرچه بعد از ۶ سال از عمر کودک شدت کنترل رژیم غذایی کاهش می‌یابد لیکن، رژیم مخصوص غذایی تا پایان عمر ادامه می‌یابد.

۳-۴) PKU غیر کلاسیک یا بدخیم (کمبود کوفاکتور BH4): در حداقل ۲٪ کودکانی که افزایش فنیل آلانین خون دارند نقص در آنزیم‌هایی است که ایجاد یا تجدید BH4 را موجب می‌شوند. در این کودکان حتی در صورتی که فنیل آلانین خون کنترل شود پیشرفت صدمه مغزی ادامه می‌یابد. BH4 کوفاکتور آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز، تیروزین و تریپتوفان است و هیدروکسیلازهای تیروزین و تریپتوفان برای ساخت نوروترانسمیترهای دوپامین و سروتونین ضروری است. چهار اختلال آنزیمی که منجر به کمبود این کوفاکتور میشوند شناخته شده‌اند. بیش از ۵۰٪ اختلال مربوط به کمبود آنزیم ۶-پیروویل تتراهیدروپترین سنتتاز (6-PTS) و کمبود DHPR است. از نقطه نظر بالینی علائم این بیماری شبیه بیماران فنیل کتونوری کلاسیک است ولی علیرغم رژیم درمانی مناسب، علائم‌شان بعد از ۳ ماهگی ادامه می‌یابد (به استثنای کمبود یا فقدان آنزیم کاربونیولامین دهیدراتاز که علائم بالینی ندارد و این به دلیل آن است که دهیدراتاسیون می‌تواند به طور غیرآنزیماتیک و به آهستگی انجام شود و BH2 ایجاد گردد). یکی از راه‌های تشخیص این بیماری تجویز BH4 است که به loading test معروف است. در این روش BH4 خوراکی داده می‌شود و در بیماران مبتلا به این کمبود، فنیل آلانین خون طی ۴ تا ۴۸ ساعت طبیعی می‌گردد. تست در حالی انجام می‌شود که رژیم غذایی کودک حاوی فنیل آلانین باشد. برخی بیماران مبتلا به نقص آنزیمی دی هیدروپترییدین ردوکتاز (DHPR) به این تست جواب نمی‌دهند. این گروه اخیر را می‌توان از طریق بررسی آنزیمی تشخیص داد. این نقص همچنین می‌تواند از طریق مطالعه ژن مربوطه نیز شناسایی شود. درمان به روش‌های مختلف انجام می‌شود و اثرات طولانی مدت درمان همچنان نامعلوم است، از جمله روش‌های درمانی در این بیماری رژیم محدود در فنیل آلانین و همچنین تجویز پیش‌سازهای نوروترانسمیترها (5-hydroxytryptophan, L-dopa) است. روش دیگر درمان، رژیم محدود در فنیل آلانین و

تجویز خوراکی BH₄ است. دوز کم روزانه این ماده، فنیل آلانین خون را کاهش می دهد و در صورتی که با دوز بالا (۲۰ mg/kg/۲۴h) تجویز شود این ماده از سد خونی مغزی نیز عبور نموده و از پیشرفت صدمات مغزی جلوگیری می نماید.

۴-۴) فنیل آلانینمی گذرا: افزایش فنیل آلانین خون در تیروزینمی گذرا نوزادان رخ می دهد. وقتی توانایی نوزادان برای اکسیده کردن تیروزین تکامل یابد، سطح فنیل آلانین خون طبیعی خواهد شد. فنیل آلانین ترانس- آمیناز نیز اگر وجود نداشته باشد یا به حد کافی تکامل نیافته باشد، می تواند این مشکل را در صورتی که نوزاد محتوای پروتئینی شیرش بالا باشد، ایجاد نماید. این نوزادان حتی وقتی سطح فنیل آلانین خونشان به ۳۰ mg/dl می رسد فنیل کتونوری ندارند و مبتلا به فنیل آلانینمی گذرا هستند و اگر شیر آنها محتوای پروتئینی شیر انسان را داشته باشد وضعیت طبیعی پیدا می کنند.

۵) شرح اصلی سند:

۱-۵) ساختار تشکیلاتی دستگاههای کلیدی

دستگاه های کلیدی و مرتبط با تشخیص آزمایشگاهی بیماری PKU به شرح زیر هستند:

- ✓ آزمایشگاه مرجع سلامت
- ✓ دفتر مدیریت بیماری های غیر واگیر (اداره ژنتیک)
- ✓ دانشگاه علوم پزشکی
- ✓ معاونت های درمان و بهداشت
- ✓ آزمایشگاههای غربالگری نوزادان
- ✓ آزمایشگاه تایید تشخیص
- ✓ آزمایشگاه انستیتو پاستور ایران

۵-۱-۱) تشکیلات و وظایف

الف) دفتر مدیریت بیماری های غیر واگیر (اداره ژنتیک)

۱. تشکیل کمیته علمی متشکل از اعضای موثر هیئت علمی، بالینی، آزمایشگاهی، ژنتیک و صاحب نظران حوزه های مرتبط
۲. پیگیری قوانین و مصوبات لازم برای اجرای هماهنگ برنامه در کشور
۳. مشارکت در برنامه های آموزشی، توجیهی، تهیه، تدوین و انتشار بسته های آموزشی مورد نیاز برای گروه های هدف برنامه
۴. پیش بینی و تدارک بودجه مناسب برای اجرای برنامه
۵. مشارکت در تدوین و اجرای دستورالعمل آزمایشگاهی کنترل و پیشگیری PKU، بازنگری دوره ای و ارتقای آن با همکاری آزمایشگاه مرجع سلامت

ب) آزمایشگاه مرجع سلامت

۱. هماهنگی و مشارکت در ارتقاء توانمندی کارکنان فنی، ممیزین بهداشتی و نظارت بر نحوه انجام وظایف کارشناسان بر امور آزمایشگاهها
۲. مشارکت در اجرای برنامه‌های پایش و نظارت بر عملکرد آزمایشگاههای غربالگری و تایید تشخیص و کنترل درمان به منظور حصول اطمینان از استقرار استانداردهای سیستم مدیریت کیفیت و ارائه گزارش به معاونت بهداشتی
۳. مشارکت در تدوین دستورالعمل‌ها و چک لیست‌های تخصصی
۴. مشارکت در برنامه ریزی به منظور نظارت بر عملکرد آزمایشگاههای غربالگری، تایید تشخیص و کنترل درمان و نظام ارجاع
۵. مدیریت و برنامه‌ریزی به منظور اجرای الزامات انتقال امن و ایمن نمونه‌های بالینی به آزمایشگاههای انجام‌دهنده غربالگری، آزمایشگاههای تائید تشخیص، ژنتیک و آزمایشگاههای حد واسط
۶. تعیین و پیشنهاد تغییر تعرفه آزمایشات غربالگری و تائید تشخیص و درصد نمونه‌گیری با همکاری و هماهنگی اداره ژنتیک
۷. اعلام سالانه فهرست آزمایشگاههای همکار به معاونت‌های بهداشتی بر اساس ارزیابی عملکرد آزمایشگاهها
۸. همکاری در ارزیابی و انتخاب آزمایشگاه مرجع کشوری جهت تایید تشخیص نمونه‌های غربالگری مثبت با هماهنگی اداره ژنتیک
۹. مشارکت در تعیین استانداردهای نیروی انسانی، تجهیزات، فضا و غیره بر اساس شرایط کشور
۱۰. برنامه‌ریزی جهت توانمند سازی و ارتقاء دانش و مهارت کارکنان آزمایشگاهی
۱۱. همکاری و مشارکت در ارزیابی کیفیت و عملکرد وسایل تشخیصی آزمایشگاه پزشکی (IVD)
۱۲. برنامه‌ریزی و اجرای PMS وسایل تشخیص آزمایشگاهی پزشکی (IVD) شامل رسیدگی به شکایات
۱۳. همکاری در رسیدگی به موقع و موثر به مشکلات گزارش شده در مورد کیفیت و عملکرد وسایل تشخیص آزمایشگاهی پزشکی (IVD)
۱۴. مشارکت در برنامه‌ریزی جهت مدیریت داده‌ها و اطلاعات آزمایشگاهی به منظور استفاده در سیاست‌گذاری‌های مبتنی بر شواهد در نظام سلامت

پ) دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی

۱. نظارت بر حسن اجرای برنامه (توسط معاونت‌های تابعه است).
۲. پشتیبانی، تامین و مدیریت و تولید منابع در اجرای برنامه پیشگیری و کنترل فنیل کتونوری
۳. تشکیل کمیته دانشگاهی به ریاست رئیس دانشگاه با حضور عناصر مرتبط برنامه و تشکیل جلسه توجیهی با حضور معاونین مرتبط
- *عناصر مرتبط شامل سازمان‌های همکار از جمله معاونت‌های غذا و دارو، آزمایشگاه مرجع سلامت، سازمان بهزیستی، کمیته امداد امام خمینی ره، بیمه سلامت و تامین اجتماعی، پزشکی قانونی، مجمع خیرین سلامت، اداره کل ثبت احوال، اداره پست، مددکاری و سایر سازمان‌های مرتبط موظف به فعالیت در چارچوب اختیارات قانونی، دستورالعمل‌ها و هماهنگی با متولی برنامه هستند).
- **عناصر اصلی معاونت بهداشتی شامل معاون بهداشت/معاونت فنی، معاون اجرایی، مدیر/کارشناس مسئول غیرواگیر، کارشناس ژنتیک و سایر افراد بر حسب نیاز
- ***عناصر اصلی معاونت درمان شامل مدیر درمان، کارشناس مرتبط درمان، رئیس و مدیر بیمارستان منتخب و سرپرست تیم بالینی و سایر افراد بر حسب نیاز
۴. هماهنگی و همکاری در اجرای برنامه با معاونت بهداشت، معاونت درمان، آزمایشگاه مرجع سلامت، بیمارستان منتخب و اعضای تیم بالینی منتخب مرکز استان، آزمایشگاه‌های همکار طرف قرارداد برای ارسال نمونه به آزمایشگاه غربالگری و تاییدی منتخب برنامه غربالگری نوزادان
۵. اجرای آموزش مستمر گروه‌های هدف برنامه (نمونه‌گیران، کارشناسان ستادی، کارکنان آزمایشگاه‌های غربالگری و تایید تشخیص) و مشارکت با سایر معاونت‌ها در اجرای برنامه‌های آموزشی گروه‌های هدف مرتبط (رابطین، والدین بیمار و ...)
۶. حمایت لازم برای تامین نیروی انسانی شامل مسئول فنی، کارشناس فنی و امور اداری کارآمد و کافی برای انجام کلیه امور آزمایشگاه‌های غربالگری، تایید تشخیص و کنترل درمان
۷. حمایت لازم برای تامین تجهیزات پایه و ضروری برنامه
۸. نظارت بر هزینه‌کرد مناسب بودجه‌های تخصیصی
۹. ارزیابی و ارزشیابی دوره‌ای برنامه دانشگاهی

ت) معاونت درمان

۱. معرفی آزمایشگاه طرف قرارداد برای انجام آزمایشات تائید و عقد قراردادهای مربوط برابر با ضوابط و اعلام موارد در دستورالعمل کشوری با هماهنگی معاونت بهداشت و آزمایشگاه مرجع سلامت و اطمینان از حسن عملکرد آن‌ها

۲. مشارکت در پایش و نظارت مستمر آزمایشگاه‌های غربالگری، تأیید تشخیص و کنترل درمان به منظور حصول اطمینان از استقرار استانداردهایی سیستم مدیریت کیفیت و گزارش وضعیت به رئیس دانشگاه و کمیته دانشگاهی ژنتیک
۳. تامین امکانات انجام آزمایش‌های دوره‌ای کنترل درمان برای بیماران PKU در آزمایشگاه بیمارستان منتخب شامل نیروی انسانی، تجهیزات، فضای فیزیکی و سایر مواد لازم
۴. اطمینان از وجود هماهنگی با بخش‌های مختلف تحت پوشش با یکدیگر و با معاونت بهداشتی
۵. شرکت موثر در جلسات هماهنگی و مطالبه تشکیل جلسه هماهنگی بر حسب ضرورت

ث) معاونت بهداشت

۱. نظارت و پایش آزمایشگاه‌های غربالگری با هماهنگی معاونت درمان
۲. هماهنگی با معاونت درمان جهت نظارت و پایش آزمایشگاه طرف قرارداد برای انجام آزمایش تایید تشخیص (به روش HPLC)
۳. مدیریت دریافت مکتوب نتیجه آزمایشات HPLC از آزمایشگاه تأیید تشخیص و ارسال آن به ستاد پیگیری بیماری‌های شهرستان
۴. مشارکت در هماهنگی بین بخش‌های اصلی اجرای برنامه شامل نظام مراقبت برنامه در سطح مناطق تحت پوشش، آزمایشگاه‌های منتخب، بیمارستان منتخب استان (و شهرستان)، مشاوران ژنتیکی مراکز بهداشتی درمانی، مراکز تشخیص ژنتیک مرتبط و سایر بخش‌های ذیربط
۵. مشارکت در عقد قرارداد با انستیتو پاستور ایران جهت انجام تست‌های تأیید تشخیص (به روش HPLC)
۶. هماهنگی با آزمایشگاه مرجع کشوری بیوشیمی انستیتو پاستور ایران جهت انجام آزمایشات رد موارد بدخیم و سایر آزمایشات تأییدی در صورت نیاز
۷. اطمینان از حسن عملکرد آزمایشگاه‌های غربالگری
۸. ارسال دستورالعمل چگونگی ارجاع نمونه‌های DBS نوزاد فراخوان شده (موارد مثبت غربالگری) برای انجام آزمایش فنیل‌آلانین به روش HPLC و نمونه پلاسما به مراکز تحت پوشش
۹. پیگیری اعلام تلفن کارشناس ستاد غیر واگیر پیگیری بیماری‌های شهرستان‌ها به آزمایشگاه منتخب غربالگری
۱۰. مدیریت اجرای آموزش مستمر گروه‌های هدف برنامه (نمونه‌گیران، کارشناسان ستادی، کارکنان آزمایشگاه‌های غربالگری و تأیید تشخیص) و مشارکت با سایر معاونت‌ها در اجرای برنامه‌های آموزشی گروه‌های هدف مرتبط (رابطین، والدین بیمار و ...)

ج) کارشناس مسئول امور آزمایشگاه‌های بهداشتی

۱. مشارکت در عقد قرارداد با انستیتو پاستور ایران جهت انجام تست‌های تأیید تشخیص و سایر مراکز

۲. ارسال دستورالعمل چگونگی ارجاع نمونه های DBS نوزاد فراخوان شده (موارد مثبت غربالگری) برای انجام آزمایش فنیل آلانین به روش HPLC و نمونه پلاسمای هپارینه به مراکز تحت پوشش
۳. برنامه ریزی و پیگیری چگونگی پذیرش کلیه نمونه های ارسالی توسط آزمایشگاه مرجع کشوری بیوشیمی انستیتو پاستور ایران
۴. پیگیری در اعلام فوری جواب آزمایش های مثبت با تلفن و همچنین ارسال مکتوب جواب کلیه آزمایشات از آزمایشگاه های مربوطه به معاونت بهداشت دانشگاه و مرکز بهداشت شهرستان
۵. پیگیری و هماهنگی در چگونگی اجرای انجام آزمایش فنیل آلانین به روش HPLC بر روی DBS و پلاسمای هپارینه بر اساس دستورالعمل کشوری
۶. پایش و نظارت بر عملکرد آزمایشگاه های غربالگری
۷. پیگیری تامین کیت و ملزومات مصرفی لازم جهت انجام آزمایشات غربالگری نوزادان، تأیید تشخیص (به روش HPLC) (به نحوی که وقفه ای در آزمایشات ایجاد نشود)
۸. هماهنگی های لازم در خصوص شرکت پرسنل در برنامه های آموزشی در زمینه انجام آزمایشات
۹. آموزش پرسنل نمونه گیر، نظارت بر عملکرد نمونه گیری و آزمایشگاه غربالگری بر اساس چک لیست
۱۰. پیگیری و تدارک کلیه تجهیزات و کیت های مورد نیاز در هماهنگی با مسئولین مربوطه
۱۱. شرکت در جلسات در سطح ستاد وزارت بهداشت/دانشگاه
۱۲. پیگیری در اعلام فوری جواب آزمایش های مثبت از طریق تلفن و همچنین ارسال کلیه جواب ها بصورت مکتوب از آزمایشگاه های غربالگری و تأیید تشخیص به معاونت بهداشت دانشگاه / مرکز بهداشت شهرستان
۱۳. پایش و نظارت آزمایشگاه های غربالگری نوزادان بر اساس چک لیست مربوطه
۱۴. نظارت بر وظایف کارشناس آزمایشگاه شهرستان برای اخذ نمونه مناسب و ارائه گزارش به واحد مرتبط

چ) مرکز بهداشت شهرستان (مسئول انجام اقدامات رئیس مرکز بهداشت شهرستان و مسئول پیگیری اقدامات کارشناس غیر واگیر شهرستان است.)

۱. تشکیل کمیته ژنتیک شهرستان به ریاست مدیر شبکه و دبیری رئیس مرکز بهداشت با حضور کارشناس برنامه، کارشناس مسئول بیماری های غیرواگیر، کارشناس مسئول سلامت خانواده، کارشناس مسئول مدیریت شبکه، کارشناس مسئول آزمایشگاه و سایر عناصر درون بخشی و بین بخشی مرتبط مطابق با استان (خدمات پست جهت ارسال به موقع نمونه ها، ثبت احوال بر اساس دستورالعمل کشوری و آیین نامه ها) به منظور انجام هماهنگی های لازم در اجرای برنامه
۲. عقد قرارداد با آزمایشگاه محل انجام آزمایش غربالگری و تأیید تشخیص

۳. معرفی آزمایشگاه همکار ارسال کننده نمونه های مورد نیاز در برنامه با همکاری معاونت درمان دانشگاه/شبکه بهداشت و درمان شهرستان
۴. کلیه نتایج آزمایش های غربالگری و تأیید تشخیص بر اساس اعلام آزمایشگاه مربوطه
۵. دریافت مکتوب (و تلفنی موارد مثبت غربالگری) نتیجه آزمایشات غربالگری از آزمایشگاه منتخب توسط ستاد پیگیری بیماری های غیرواگیر شهرستان
۶. اعلام فوری جواب آزمایش های مثبت غربالگری (ارسال شده از سوی آزمایشگاه منتخب استان و آزمایش تایید) به مرکز نمونه گیری به منظور ارجاع فوری به بیمارستان منتخب استان جهت تنظیم و شروع برنامه درمانی بر اساس دستورالعمل و یا شروع مراقبت ژنتیک
۷. ارسال یک نسخه از جواب آزمایش HPLC به مراکز نمونه گیری و مراکز تحت پوشش و تحویل آن به والدین در موارد مثبت و فراخوان والدین برای تحویل در موارد منفی
۸. ثبت و پیگیری نتیجه آزمایش تأیید و ارجاع به بیمارستان منتخب و تشخیص نهایی در دفتر ثبت پیگیری (موارد مثبت غربالگری و نیازمند نمونه مجدد PKU) در فرم های برنامه یا سامانه مربوطه بر اساس شرایط تعیین شده در دستورالعمل کشوری
۹. ثبت و پیگیری موارد نمونه غربالگری مجدد (در دفتر ثبت پیگیری) در فرم های برنامه یا سامانه مربوطه بر اساس شرایط تعیین شده در دستورالعمل کشوری
۱۰. نظارت بر حسن اجرای فرآیند نمونه گیری و ارائه گزارش و نتایج آزمایشات
۱۱. اعلام فوری جواب آزمایش های مثبت غربالگری (ارسال شده از سوی آزمایشگاه منتخب استان و آزمایش تایید) به مرکز نمونه گیری به منظور ارجاع فوری به بیمارستان منتخب استان جهت تنظیم و شروع برنامه درمانی بر اساس دستورالعمل و یا شروع مراقبت ژنتیک
۱۲. آموزش و توجیه نیروهای مرتبط در سطوح تابعه (آزمایشگاه، نمونه گیران، تیم بالینی بیمارستان، تیم مشاوره، مراکز بهداشتی درمانی، مادران باردار)

ح) مراکز نمونه گیری

۱. تهیه نمونه خون به روش استاندارد مطابق با دستورالعمل مربوطه و ارسال نمونه ها همراه با یک نسخه از فرم شماره ۱ و یا یک نمونه از فرم / دفتر ثبت پیگیری در مرکز نمونه گیری و ارسال نمونه ها به آزمایشگاه غربالگری، حداکثر تا ۲۴ ساعت
۲. پیگیری جواب نمونه های غربالگری ارسالی و ثبت جواب آزمایشات غربالگری مثبت در دفتر ثبت پیگیری (موارد مثبت غربالگری و نیازمند نمونه مجدد PKU) حداکثر ۲ هفته از زمان نمونه گیری
۳. اعلام موارد نمونه گیری که طی یک ماه از آزمایشگاه مرجع استان نتیجه آن به مرکز بهداشت شهرستان گزارش نشده است. (مانند نمونه مفقود شده و ...)

۴. بایگانی جواب آزمایشات غربالگری به مدت یک سال در مراکز به منظور تحویل جواب آزمایشات به خانواده‌ها. در صورتی که والدین (تا قبل از یک سال) جویای پاسخ باشند، باید پاسخ آزمایشات به ایشان تحویل گردد. پاسخ آزمایشات می‌بایست در یک نسخه از فرم استاندارد جواب‌دهی برنامه، تحویل والدین گردد.

(این موضوع باید در هنگام ارائه نسخه سوم یا چهارم فرم شماره ۱ نمونه‌گیری به والدین گوشزد شود)

۵. شرکت در برنامه‌های آموزشی ابلاغ شده توسط سطوح بالاتر

۶. پیگیری دریافت متون آموزشی و دستورالعمل‌های مرتبط و آرشو مناسب آنها و اطمینان از دسترس قرار گرفتن پرسنل به آنها

۷. پیگیری فراهم بودن تجهیزات، پرسنل کافی و فضای مناسب جهت انجام نمونه‌گیری

۸. در صورت مراجعه کودک بعد از ۵ روزگی نمونه‌گیری مطابق با استانداردهای آزمایشگاهی برنامه انجام گردد.

۹. مراقب سلامت باید از طریق کنترل مشخصات درج شده روی کارت نمونه خون نوزاد با والدین، از کفایت و صحت اطلاعات ثبت شده اطمینان حاصل نماید.

۱۰. ثبت دقیق اطلاعات در دفتر ثبت پیگیری (موارد مثبت غربالگری و نیازمند نمونه‌گیری مجدد PKU) و فرم‌های تعیین شده و در سامانه‌های مرتبط

۱۱. ارسال فرم خلاصه اطلاعات فعالیت‌های انجام شده، فرم اعلام نتایج آزمایشات غربالگری از مرکز نمونه‌گیری به مرکز بهداشت شهرستان بر اساس شرایط تعیین شده در دستورالعمل

۱۲. اعلام شرایط و زمان مراجعه به بیمارستان منتخب در موارد غربالگری مثبت مطابق با دستورالعمل مراقبت

خ) اداره امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان استان

۱. ارتقاء کیفیت عملکرد آزمایشگاه‌های فعال در زمینه پیشگیری و کنترل بیماری‌های متابولیک ارثی (PKU) کودکان با تکیه بر الزامات استاندارد سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه‌ها و با تاکید بیشتر بر فرآیندهای مدیریت کارکنان، مدیریت تجهیزات، کنترل فرایند (پیش از انجام آزمایش، انجام آزمایش و پس از انجام آزمایش) صورت می‌گیرد.

۲. مشارکت فعال آزمایشگاه مرجع استان و اداره امور آزمایشگاه‌های معاونت درمان استان با سایر معاونت‌های مرتبط در اجرای هر چه بهتر برنامه بسیار حائز اهمیت است. آموزش و نظارت بر واحدهای ذیربط ضامن مهمی برای دستیابی به هدف فوق است.

۳. همکاری در روند انجام آزمایش یا ارسال نمونه به آزمایشگاه طرف قرارداد منتخب و تحویل پاسخ آزمایشات کنترل درمان در زمان تعیین شده برای ویزیت بالینی دوره ای

۴. مدیریت اجرای استانداردهای بسته بندی نمونه، فراهم آوری محفظه های امن و ایمن و انتقال نمونه در چارچوب دستورالعمل های انتقال نمونه در جهت پیشبرد برنامه
۵. شرکت در جلسات ماهانه تیم پزشکی و جلسات مرتبط برنامه ریزی شده توسط سطوح بالاتر

➤ آزمایشگاه منتخب غربالگری

۱. عقد قرار داد با معاونت بهداشتی / مرکز بهداشت شهرستان جهت انجام غربالگری
۲. پذیرش و ثبت کلیه نمونه های DBS غربالگری
۳. انجام کلیه آزمایشات غربالگری حداکثر در ۴۸ ساعت
۴. بررسی نمونه ها (پذیرش نمونه های مناسب و رد نمونه های نامناسب و اعلام به مرکز بهداشت)
- تذکر مهم: آزمایشگاه موظف است موارد نمونه نامناسب را به صورت تلفنی و نتایج مثبت را به دو شیوه تلفنی و کتبی به کارشناس ستادی ژنتیک گزارش نماید.
۵. اعلام جواب آزمایشات مثبت غربالگری و موارد رد نمونه به مرکز بهداشت شهرستان در اسرع وقت بصورت تلفنی / نمابر
۶. اعلام هر گونه عدم هم خوانی و ابهام در فرم ثبت اطلاعات که شامل اختلاف شماره کاغذ، ثبت دو نوزاد با شماره یکسان و... به مرکز بهداشت شهرستان
۷. اعلام پاسخ همه موارد غربالگری نوزادان به مرکز بهداشت شهرستان (یا استان) در پایان هر هفته
۸. مشارکت در اجرای برنامه های آموزشی ابلاغ شده پرسنل مراکز نمونه گیری از سوی سطوح بالاتر
۹. اخذ هزینه آزمایش غربالگری مطابق تعرفه اعلام شده معاونت بهداشت
۱۰. ارسال اطلاعات درخواستی دانشگاه ها و ستاد وزارت بهداشت بر حسب شرایط ابلاغ شده

➤ آزمایشگاه انجام آزمایش تأیید

۱. عقد قرارداد با معاونت بهداشتی / مرکز بهداشت شهرستان جهت انجام و پیگیری آزمایش تایید
۲. وجود مستندات عقد قرارداد با اداره امور آزمایشگاه های درمان
۳. عقد قرارداد با آزمایشگاه های حد واسط و انتقال دهنده نمونه جهت دریافت نمونه بر اساس توافق فیما بین
۴. دریافت نمونه یا پذیرش نوزاد توسط آزمایشگاه و انجام آزمایش فنیل آلانین بر روی نمونه های DBS ارسالی (بر اساس دستورالعمل های ابلاغی از اداره امور آزمایشگاه های درمان) با استفاده از دستگاه HPLC

۵. اعلام مکتوب و فوری پاسخ آزمایشات تأیید از آزمایشگاه / آزمایشگاه ژنتیک منتخب به مرکز بهداشت شهرستان / استان حداکثر تا ۴۸ ساعت
۶. مشارکت در برنامه‌های آموزشی مرتبط
۷. همکاری با تیم ممیزی و استقرار تضمین کیفیت
۸. اخذ هزینه آزمایش غربالگری / تایید مطابق تعرفه اعلام شده معاونت بهداشت وزارت بهداشت
۹. ارسال اطلاعات درخواستی دانشگاه‌ها و ستاد وزارت بهداشت بر حسب شرایط ابلاغ شده

➤ آزمایشگاه تهیه‌کننده و ارسال‌کننده نمونه ادرار، خون، ژنتیک، DBS (آزمایشگاه حد واسط)

کلیه نمونه‌گیری‌ها برای آزمایشات تایید، بایستی در آزمایشگاه تایید شده طرف قرارداد صورت گیرد بر این اساس وظایف زیر به عهده آزمایشگاه‌های حدواسط است:

۱. پایبندی به الزامات ذکر شده در قرارداد منعقد شده با آزمایشگاه تأیید منتخب (معرفی شده از سوی معاونت بهداشت با هماهنگی معاونت درمان) و هم چنین ارسال کپی قرارداد به معاونت بهداشت و درمان دانشگاه
۲. پیگیری دریافت راهنمایی چگونگی تهیه و ارسال نمونه با توجه به استانداردهای تعیین شده
۳. تهیه نمونه درخواستی جهت انجام آزمایش تایید بر اساس استانداردهای اعلام شده
۴. ارسال نمونه به آزمایشگاه تایید
۵. پیگیری جواب کلیه نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه تایید
۶. اعلام تلفنی جواب‌های مثبت به مرکز بهداشت شهرستان (کارشناس ژنتیک بیماری‌های غیرواگیر) به طور همزمان
۷. پیگیری دریافت جواب مکتوب از آزمایشگاه تایید
۸. ارسال جواب مکتوب آزمایشات به مرکز بهداشت شهرستان
۹. پایش و ارزیابی نحوه اجرای کار و رعایت استانداردها

➤ وظایف آزمایشگاه‌های تشخیص پزشکی (اعم از آزمایشگاه‌های تایید و یا آزمایشگاه‌های ژنتیک پیشگیری)

۱. به منظور حصول اطمینان از اعتبار نتایج، آزمایشگاه‌ها موظف به استقرار نظام مدیریت فراگیر کیفیت و ایجاد یک نظام کارآمد مدیریت عدم انطباق هستند.
۲. آزمایشگاه‌ها ملزم به بکارگیری کارکنان آموزش‌دیده احراز صلاحیت‌شده در آزمایشگاه هستند.

۳. مسئول فنی آزمایشگاه بایستی هماهنگی‌های لازم جهت آموزش کارکنان را فراهم کرده و صلاحیت آنها را قبل از شروع به کار تایید نماید.
۴. آزمایشگاه‌ها موظف هستند به منظور پی گیری روند مراقبت از بیمار تا مدت ۱ سال تمام کارت‌های نمونه‌های با سطح فنیل‌آلانین زیر کات‌آف را حداکثر تا یک سال در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد و نمونه‌های با سطح فنیل‌آلانین بالاتر از کات‌آف به مدت حداقل ۵ سال در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد با کد شناسه نگهداری و سپس آن‌ها را از بین ببرند.
۵. بررسی مجدد نمونه برای مقاصد پزشکی مستلزم درخواست کتبی پزشک مسئول کودک و رضایت والدین وی است.
۶. بررسی مجدد نمونه برای مقاصد پزشکی قانونی مستلزم درخواست کتبی سازمان رسمی مرجع است.
۷. به دلیل این که کارت‌های نمونه خون نوزاد محتوی اطلاعات ژنتیکی است، نباید به خانواده عودت داده شود.
۸. پژوهش روی نمونه‌های دارای مشخصات فردی مستلزم رضایت والدین، و در صورت عدم دسترسی، رضایت یکی از آن‌ها است (بررسی ژنتیکی نمونه‌های دارای مشخصات فردی مستلزم رضایت پدر نوزاد است).
۹. پژوهش روی نمونه‌ها منوط به کسب مجوز کمیته اخلاق در پژوهش است.
۱۰. آزمایشگاه‌ها حق فروش یا اعطای امتیاز نمونه‌های غربالگری به هیچ سازمانی مانند سازمان‌های پژوهشی یا تجاری را ندارند.
۱۱. پژوهش روی نمونه خون‌های غربالگری برای مقاصد بهبود خدمات سلامت عمومی منوط به مجوز اداره مدیریت اطلاعات و کمیته اخلاق در پژوهش است.
۱۲. رعایت کلیه موازین مطابق با قرارداد منعقد شده با دانشگاه‌های علوم پزشکی و جوابدهی به کلیه بیماران ظرف مدت ۴۸-۲۴ ساعت

➤ وظایف آزمایشگاه مرجع کشوری بیوشیمی ارائه دهنده خدمات تشخیصی (انستیتو پاستور

ایران)

۱. پذیرش نمونه/بیمار جهت تایید تشخیص نهایی بیماری و تعیین موارد غیرکلاسیک با انجام آزمایش روی نمونه DBS برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم DHPR و انجام آزمایش روی نمونه ادرار جهت اندازه‌گیری نوپترین و بیوپترین نوزاد؛ ارسال شده از بیمارستان منتخب به آزمایشگاه مرجع کشوری انستیتو پاستور ایران
۲. انجام آزمایش فنیل‌آلانین بر روی نمونه‌های ارسالی با استفاده از تکنیک HPLC
۳. اعلام جواب‌ها به بیمارستان منتخب ظرف ۴۸ ساعت تا ۲ هفته بر حسب شرایط بیمار



۴. مشارکت در اجرای برنامه‌های آموزشی

۵. مشارکت در تدوین استانداردهای برنامه کشوری

➤ وظائف آزمایشگاه انجام دهنده آزمایشات کنترل درمان

۱. انجام آزمایش بر روی نمونه DBS یا پلاسمای هپارینه به روش HPLC به منظور کنترل

درمان در آزمایشگاه منتخب HPLC مورد تأیید آزمایشگاه مرجع سلامت

۲. ارائه جواب آزمایشات در زمان تعیین شده

تبصره: در صورتی که امکان انجام آزمایش با دلایل مستدل در بیمارستان مقدور نباشد،

لازم است نمونه بیمار اخذ و توسط آزمایشگاه بیمارستان منتخب PKU به آزمایشگاه طرف

قرارداد ارسال شود و جواب آزمایش در بیمارستان منتخب به خانواده بیمار تحویل گردد؛

(به نحوی که خانواده برای دادن نمونه و یا اخذ جواب به خارج از بیمارستان اعزام نشود).

۵-۲) نمونه‌گیری

نمونه‌گیری صحیح از نوزاد با شرایط و در زمان مناسب شرط اول غربالگری است. استفاده از کاغذ فیلتر مورد

تأیید برنامه کشوری واتمن 903 و عدم بکارگیری فیلترهای دیگر نیز از ضروریات نمونه‌گیری صحیح است.

رعایت موارد مندرج در بخش نمونه‌گیری و خونگیری در فاصله 3 تا 5 روز بعد از تولد و بر اساس روش

استانداردی که توسط کمیته ملی استاندارد آزمایشگاه‌های بالینی 'CLSI' ارائه شده است، انجام می‌شود.

آموزش حضوری کارکنان نمونه‌گیری یک‌بار در سال ضروری است. (آموزش نیروی انسانی جدید باید قبل از

شروع به کار انجام گردد)

* قبل از نمونه‌گیری، فرم شماره ۱ تکمیل و مشخصات نوزاد روی کارت گاتری درج شود.

* مجدداً در زمان نمونه‌گیری نام و نام خانوادگی نوزاد از همراه نوزاد پرسیده شود.

نکات قابل توجه:

۱. بهترین زمان جهت نمونه‌گیری در غربالگری خصوصاً غربالگری نوزادان برای بیماری فنیل کتونوری بعد

از ۷۲ ساعت از تغذیه کافی نوزاد با شیر مادر (۳ تا ۵ روزه گی نوزاد) می‌باشد.

۲. از نوزادان نارس (با وزن کمتر از ۱۵۰۰ گرم) باید یک نمونه در روزهای سوم تا پنجم و یک نمونه در

یک ماهگی (با وزن بیشتر از ۲۵۰۰ گرم) گرفته شود.

* CLSI Clinical and Laboratory standards Institute^۱



دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل
PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

شماره سند: HD- IMD-00-MN-WI-007

شماره بازنگری: 00

۳. از نوزادان بیمار (بستری در بیمارستان به هر علتی) باید یک نمونه در روزهای سوم تا پنجم و یک نمونه در زمان ترخیص از بیمارستان (در شرایط بهبود) گرفته شود. (الزامات بند ۲ هم مد نظر باشد)
۴. در مورد کودکانی که غربالگری در مورد آنان از ۳ ماهگی تا یکسالگی انجام نشده است نمونه خون برای غربالگری بیماری فنیل کتونوری گرفته می شود تا با روش HPLC آزمایش شود. توجه شود از انجام غربالگری با روش اسپکتروفتومتری برای این گروه اکیدا خودداری شود.
۵. در مواردی که نتیجه غربالگری در مورد بیماری فنیل کتونوری منفی است اما نوزاد تاخیر در تکامل دارد نمونه مجدد از کودک گرفته شده و آزمایش تعیین سطح فنیل آلانین خون باید با روش HPLC انجام گیرد.
۶. نمونه گیری مجدد از نوزادانی که تعویض یا تزریق خون داشته اند به فاصله ۴۸ تا ۷۲ ساعت از زمان تعویض خون توصیه می گردد.
۷. نمونه گیری خون برای آزمایش DHPR (Dihydropteridine Reductase) جهت رد یکی از انواع فنیل کتونوری غیر کلاسیک، در مورد نوزادانی که تعویض یا تزریق خون داشته اند ۳ ماه بعد از تعویض یا تزریق خون توصیه می گردد.
۸. مواردی که آزمایش غربالگری را به صورت کاذب منفی می نماید:
- در صورتی که از نوزاد قبل از گذشت ۴۸ ساعت از تولد، خون گیری شود و یا به هر دلیل در زمان خون گیری تغذیه کافی با شیر نشده باشد (مصرف شیر مادر به مدت ۳ روز و هر روز ۵۰ سی سی به ازای کیلوگرم وزن نوزاد یا روزانه ۳۰ سی سی شیر خشک به ازای کیلوگرم وزن نوزاد)، آزمایش به صورت کاذب منفی می شود. در این شرایط باید در زمانی که نوزاد به مدت ۷۲ ساعت از شیر تغذیه شده باشد، خون گیری و آزمایش مجدداً تکرار شود.
- در حالات زیر نیز نتیجه آزمایش فنیل آلانین نوزاد می تواند به صورت کاذب منفی شود:
- ✓ اشکالات تکنیکی،
 - ✓ دیالیز،
 - ✓ تزریق یا تعویض خون،
 - ✓ تغذیه خوراکی یا وریدی با مواد کم پروتئین،
 - ✓ NPO بودن و شرایطی نظیر این موارد که مانع افزایش فنیل آلانین (Phe) خون می شود.
- در هر یک از این حالات فوق باید بعد از رفع عامل (زمان رفع عامل را پزشک معالج تعیین می کند و باید برای هر نوزاد بستری در بیمارستان توسط پزشک در پرونده ترخیص زمان مناسب آزمایش غربالگری را ثبت و به والدین آموزش) و در شرایطی که تغذیه نوزاد به مدت ۷۲ ساعت با شیر صورت گرفته باشد، نمونه گیری و آزمایش مجدد به روش ذکر شده، صورت گیرد.
- تبصره:** ضروری است نمونه غربالگری قبل از ترخیص بیمار از بیمارستان تهیه گردد، مگر این که نوزاد قبل از روز سوم از بیمارستان ترخیص شود؛ در آن صورت لازم است عدم غربالگری نوزاد در برگه خلاصه پرونده با

خودکار قرمز ثبت شود. همچنین والدین به طور کامل نسبت به مراجعه به موقع برای غربالگری و پیگیری نتیجه، آموزش داده شوند.

۹. مواردی که آزمایش غربالگری را به صورت کاذب مثبت می‌نماید:

در حالاتی نظیر اشکالات تکنیکی، بیماری‌های کبد، نارسایی نوزاد، ابتلای مادر به PKU، هیپرایمانتاسیون، تیروزینمی، بیماری‌های کلیوی و مصرف داروهایی چون تری متوپریم آزمایش غربالگری می‌تواند به صورت کاذب مثبت شود.

نکته: اشکالات تکنیکی می‌تواند به صورت کاذب منجر به مثبت یا منفی شدن آزمایش غربالگری نوزاد شود. در این موارد نیز باید نمونه‌گیری و آزمایش غربالگری تکرار و نتایج مجدداً ارزیابی شود.

۵-۲-۱) وسایل مورد نیاز:

- ✓ کاغذ فیلتر واتمن 903،
- ✓ گاز،
- ✓ راک برای خشک شدن فیلترها،
- ✓ دستکش بدون پودر تالک،
- ✓ ست نمونه‌گیری (لانست، پد الکلی یا پنبه الکلی، چسب)،
- ✓ کاغذ گاتری،
- ✓ گاز استریل،
- ✓ سیفتی باکس،
- ✓ وسایل گرم‌کننده (کیسه آب گرم، ژل، حوله)،
- ✓ پاکت کاغذی،
- ✓ پاکت مخصوص برای ارسال نمونه‌ها،
- ✓ کیسه پلاستیکی زیپ دار،
- ✓ بالشتک رطوبت گیر،
- ✓ کارت نشانگر رطوبت،
- ✓ مستندات برنامه،
- ✓ زونکن جوابدهی،
- ✓ فرم‌های مربوطه.

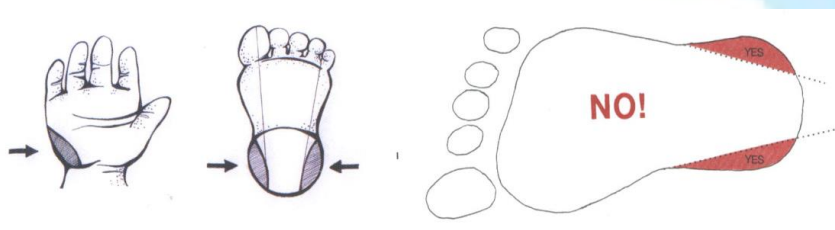
۵-۲-۲) پر کردن فرم نمونه‌گیری

فرم مخصوص نمونه‌گیری باید ابتدا و قبل از نمونه‌گیری به طور کامل و با جزئیات درج شده تکمیل شود. مشخصات لازم دقیق و خوانا روی فرم مخصوص نمونه‌گیری با خودکار و روی سطح صاف تکمیل شود. قبل از

شروع نمونه‌گیری شماره‌های پرسشنامه و کارت خونی را تطبیق داده و از یکسان بودن آنها مطمئن شوید. اطمینان از یکسان بودن شماره‌ها بسیار مهم است.

۵-۲-۳ آماده کردن نوزاد

نمونه‌گیری می‌تواند در آغوش مادر انجام شود. برای جلوگیری از آلودگی و سرماخوردگی نوزاد فقط پای او را لخت نمایید. محل خون‌گیری پاشنه پای نوزاد است (شکل ۱) محل خون‌گیری می‌بایست از سطح قلب پائین‌تر باشد. در صورت داشتن اسکار، بریدگی، تورم و راش از نمونه‌گیری از پاشنه پا خوداری گردد. پاشنه پا با یک گاز یا حوله ولرم گرم کنید تا جریان خون در محل افزایش یابد (حرارت ۴۰-۴۱ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش جریان خون در موضع می‌شود). دست‌هایتان را خوب شسته و دستکش بپوشید. محل لانست در پاشنه پا و اطراف آن را با الکل ایزوپروپانول ۷۰٪ و یا پد الکل به خوبی پاک نموده و صبر کنید تا در جریان هوا خشک شود. توجه شود که الکل باقی مانده روی پوست، نمونه را تحت تاثیر قرار داده و بر نتایج آزمایش اثر می‌گذارد. الکل باعث همولیز گلبول‌های قرمز شده، در اطراف نمونه بر روی کاغذ فیلتر حلقه سرمی ظاهر می‌گردد.



شکل ۱- محل لانست زدن

۵-۲-۴ نمونه‌گیری از نوزاد

پس از پوشیدن دستکش و ضد عفونی کردن موضع، با استفاده از لانست مورد تایید ضربه یکنواخت و آرامی به پاشنه پا مطابق نواحی تعیین شده در شکل ۱ وارد نمایید تا خون به راحتی جاری شود. در نوزادان نارس برای جلوگیری از آسیب به استخوان، تاندون و عصب، عمق پانچ نباید بیشتر از ۲ میلی‌متر باشد. به هر دلیلی که امکان خون‌گیری از پاشنه پا وجود نداشته باشد، از نرمه کناری دست خون‌گیری انجام شود. حاشیه کناری پاشنه پا و نرمه دست مطمئن‌ترین محل است (شکل ۱). در بالغین از سطح داخلی انگشت دست (بند آخر انگشتان میانه و یا چهارم) و بچه‌های بزرگتر از یکسال معمولاً از نرمه دست استفاده می‌گردد. به ناحیه مرکزی پاشنه پا در نوزادان ضربه نزنید زیرا استخوان خیلی به پوست نزدیک است.

قطره اول خون را با گاز پاک کرده (چون حاوی مایعات نسجی است و باعث رقت خون می‌گردد)، سپس فشارهای متناوب و مختصری به پاشنه پا وارد کنید تا قطره بزرگی شکل گیرد. کارت نمونه‌گیری را به قطره خون نزدیک کرده تا خود بخود جذب مرکز دایره فیلتر شده و پشت و روی آن را به صورت یکنواخت بپوشاند و آن را اشباع کند. با یک تکنیک صحیح می‌توان ۵ دایره نمونه خون روی کاغذ فیلتر به روش ذکر شده تهیه کرد.

نکات مهم:



دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل
PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

شماره سند: HD- IMD-00-MN-WI-007

شماره بازنگری: 00

* از کارت واتمن 903 دارای نام تولیدکننده، شماره ساخت و تاریخ انقضاء و مورد تایید وزارت بهداشت و درمان استفاده گردد.

* جمع‌آوری نمونه خون وریدی (به وسیله سرنگ) و انتقال قطره خون بر روی کاغذ فیلتر برای غربالگری نوزادان نباید استفاده گردد ولی روش مذکور در انجام آزمایش کنترل درمان بیماران PKU قابل استفاده است.
* حداکثر طول سوزن لانست مورد تایید ۲ میلی‌متر است.

* در صورتی که نمونه‌گیری از یک محل موفقیت آمیز نبود از زدن لانست مجدد به محل خودداری شود، در محل مناسب دیگری باید سوراخ ایجاد شود که در این صورت باید از ست نمونه‌گیری جدید استفاده شود.

۵-۲-۵) مراقبت از زخم

بعد از نمونه‌گیری، پا را بالای سطح بدن نگه دارید به مدت ۵ دقیقه گاز را روی محل خون‌گیری قرار داده و تا بند آوردن خون موضع با دست فشار دهید. سپس می‌توان چسب مخصوص ضد حساسیت بر روی محل نمونه‌گیری قرار دهید. لانست و تمام وسایل استفاده شده باید به شکل بهداشتی معدوم شوند. پسماندهای تیز در safety box (ظرف ایمن) جمع‌آوری شده و پس از آلودگی‌زدایی به طریقه بهداشتی دفع گردد.

۵-۲-۶) نکات مهم در نمونه‌گیری

۱. اولین گام قبل از هرگونه اقدام، چک کردن تاریخ و ساعت تولد نوزاد است.
۲. جهت نمونه‌گیری نیاز به ناشتا بودن نوزاد نیست.
۳. نوزاد باید قبل از نمونه‌گیری حداقل به مدت ۷۲ ساعت تغذیه مناسبی با شیر داشته باشد.
۴. هنگام نمونه‌گیری از پاشنه پا نوزاد بهتر است نوزاد در آغوش مادر یا همراه قرار گیرد این امر منجر به کاهش احساس درد در نوزاد می‌شود.
۵. محل خون‌گیری باید از سطح قلب نوزاد پایین‌تر باشد.
۶. مشخصات نوزاد روی کاغذ فیلتر نمونه‌گیری صرفاً توسط خودکار نوشته شود استفاده از روان‌نویس، خودنویس و مداد و ... ممنوع است. این موارد شامل:

✓ نام و نام خانوادگی نوزاد

✓ جنسیت

✓ تاریخ و ساعت تولد

✓ تاریخ و ساعت نمونه برداری

✓ نام و نام خانوادگی مادر نوزاد

✓ نام بیمارستان محل تولد

۷. کاغذ فیلتر نمونه‌گیری به هیچ عنوان آغشته به مواد خارجی نگردد.

۸. از تماس دست حتی با دستکش با سطوح دواپر کاغذ فیلتر جدا خودداری شود.

۹. از پذیرش نمونه‌های تهیه شده خارج از سیستم برنامه غربالگری نوزادان خودداری شود.
۱۰. اگر نوزاد واکسن زده یا مختصری تب و سرماخوردگی داشته باشد می‌توان نمونه‌گیری را انجام داد.

۵-۲-۶-۱) ویژگی‌های نمونه مناسب (شکل ۲)

۱. شکل نمونه باید به صورت دایره باشد.
۲. قطر لکه خون بیش از ۵ میلی متر باشد.
۳. لکه خون از دو طرف همسان دیده شود.
۴. دو لکه روی هم نباشد.
۵. در یک دایره بیش از یک لکه نباشد.
۶. کاغذ فیلتر نمونه‌گیری آغشته به مواد خارجی نباشد.
۷. لکه‌های خون بدون اثر انگشت باشند.



شکل ۲: تصویر نمونه‌های مناسب و نامناسب بر روی کاغذ فیلتر

* نکته مهم:

کم بودن حجم نمونه گرفته شده بر روی کاغذ فیلتر و بصورت پر نشدن دایره یا عدم اشباع فیلتر کاغذی یکی از رایج‌ترین منابع ایجاد خطا در بخش قبل از تجزیه است. با توجه به این که قطر پانچ در اندازه‌گیری فنیل‌آلانین $3/2$ میلی‌متر است، پرکردن دایره از خون با قطر ۵ تا ۱۰ میلی‌متر (ترجیحا ۱۰ میلی‌متر) با یک قطره خون روان که به یک باره روی کاغذ قرار گیرد، بسیار مهم و ضروری است. کوچک بودن لکه خون منجر به اخذ نتیجه کمتر از مقدار واقعی می‌شود. در صورتی که نمونه فاقد ویژگی‌های نمونه مناسب (شکل ۲) باشد، آزمایشگاه باید نمونه دیگری برای آزمایش درخواست نماید.

۵-۲-۷) شرایط نگهداری و نحوه ارسال نمونه از مراکز نمونه‌گیری

۱. بعد از تهیه نمونه، کارت نمونه‌گیری حاوی خون نوزاد را به صورت افقی روی راک مسطح مخصوص قرار دهید.
۲. زمان لازم جهت خشک شدن کامل لکه‌های خون بر روی کاغذ فیلتر در حرارت اتاق (۲۵-۱۸ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳ ساعت است.

۳. در زمان خشک شدن از قرار دادن کارت‌های خونی در جریان هوای آلوده به دود و گرد و غبار جداً خودداری شود.
۴. از گذاشتن کارت‌های خونی در معرض حرارت و تابش مستقیم نور خورشید اکیدا پرهیز شود.
۵. کارت‌های نمونه‌گیری می‌بایست بدون چروک و یا تاخوردگی باشند.
۶. هر یک از نمونه‌های کاملاً خشک شده را جداگانه و به ضمیمه فرم مشخصات نوزاد در پاکت قرار دهید.
۷. نگهداری و انتقال کاغذ فیلترها می‌بایست بدون فشار و ایجاد آسیب در آن‌ها صورت گیرد.
۸. مواد شیمیایی و سایر نمونه‌های بیولوژیک نباید در ظرف حمل کارت‌های خونی بسته‌بندی شوند.
۹. کارت‌های خونی را می‌توان به مدت یک هفته در پاکت‌های مقاوم به رطوبت در درجه حرارت اطاق نگهداری نمود.
۱۰. کارت‌های حاوی لکه‌های خون در پاکت‌های پلاستیکی زیپ‌دار و حاوی سیلیکاژل در صورتی که میزان رطوبت محیط کمتر از ۳۰ درصد باشد تا ۲ سال در یخچال در دمای ۴-۸ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری است و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت طولانی و بیش از ۲ سال پایدار می‌ماند در مناطقی با رطوبت بیشتر از ۳۰ درصد به علت اثر نامساعد رطوبت بر میزان جذب نوری، حتماً در انتقال نمونه‌ها و نگهداری آنها باید رطوبت محیط توسط مواد رطوبت‌گیر کنترل گردد. زیرا رطوبت بر روی پایداری نمونه‌ها نقش تعیین‌کننده دارد.

*** نکته مهم ۱:** انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه غربالگری در مرکز استان، می‌بایست حداکثر ۲۴ ساعت بعد از نمونه‌گیری انجام گیرد و در صورت عدم امکان ارسال سریع نمونه کاغذ فیلتر، آن را در یخچال نگهداری کنید و در اولین فرصت ارسال شود.

*** نکته مهم ۲:** با توجه به این که بیماری فنیل‌کتونوری یکی از بیماری‌های متابولیک ارثی است، مطابق اسناد تهیه شده مرتبط با بیماری‌های متابولیک ارثی و تصمیمات کمیته کشوری؛ پس از انجام آزمایش، نگهداری نمونه‌های با سطح فنیل‌آلانین زیر کات‌آف حداکثر تا یک سال در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد و نمونه‌های با سطح فنیل‌آلانین بالاتر از کات‌آف به مدت حداقل ۵ سال در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد از الزامات است.

۳-۵) روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری فنیل‌آلانین

الف) روش‌های غربالگری: فنیل‌آلانین مانند سایر اسیدهای آمینه به روش‌های کیفی، نیمه کمی و کمی قابل اندازه‌گیری است.

۱- روش اسپکتروفتومتری:

روش اسپکتروفتومتری در بسیاری از مطالعات به عنوان روشی مناسب و قابل دستیابی برای غربالگری معرفی شده است.

در کشورهای مختلف روش مورد استفاده برای غربالگری نوزادان برای بیماری PKU متفاوت است. به عنوان مثال در آمریکا شایع‌ترین روش‌های مورد استفاده فلوریمتری و Tandem mass spectrometry است.

در ایران با در نظر گرفتن امکانات کشور، روش اسپکتروفتومتری به عنوان روش غربالگری در کشور انتخاب شده است. در این روش فنیل آلانین از لکه خون روی کاغذ فیلتر استخراج شده و تحت تاثیر آنزیم فنیل آلانین دهیدروژناز قرار می‌گیرد. واکنش باعث احیای NAD موجود در محیط به NADH می‌گردد که خود این محصول باعث احیای اندیکاتور شده و رنگ صورتی مایل به قرمز ایجاد می‌کند. رنگ ایجاد شده که با غلظت فنیل آلانین رابطه مستقیم دارد، در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانش شده و نتیجه در مقایسه با منحنی حاصله از کالیبراتورها، محاسبه می‌شود. در روش‌های اسپکتروفتومتری، فنیل آلانین تحت تاثیر آنزیم مشخص به محصولی تبدیل می‌گردد که این محصول قابل سنجش است.

۲- روش فلوریمتری:

فنیل آلانین در حضور L-lecyle-L-alanine با نین‌هیدرین تبدیل به یک ترکیب فلورسنت می‌شود که میزان آن با غلظت فنیل آلانین رابطه مستقیم دارد. رازین قلیایی تارتارات مس برای پایدار کردن محصول فلورسنت به کار می‌رود. این روش یکی از متداول‌ترین روش‌های غربالگری در ایالات متحده است.

۳- Tandem mass spectrometry

در این روش دو یا بیشتر mass analyzer پشت سر هم قرار می‌گیرند. ابتدا ترکیب مورد نظر یونیزه شده و از این طریق از سایر مواد جدا می‌شود. در مرحله بعد در برخورد با یک گاز خنثی، به حالت کلوئید در آمده و توسط اسپکترومتر بعدی خوانش می‌شود. این روش از حساسیت، اختصاصیت، صحت و دقت بالایی برخوردار بوده، موارد مثبت و منفی کاذب کمی دارد. از آنجایی که به فن‌آوری و تسلط فنی ویژه نیاز دارد و انجام آن هزینه بالایی نیز دارد در مواردی که امکان انتقال فن‌آوری و غربالگری چندین بیماری در جمعیت وسیع به طور همزمان وجود دارد مقرون به صرفه است.

۴- Guthrie test

تست گاتری یک روش نیمه کمی میکروبیولوژیک است که از باسیل‌های اسپوردار خصوصاً *Bacillus subtilis* استفاده می‌نماید. باسیل‌ها در آگاری که حاوی یک ماده مهارکننده رشد باکتری (مهارکننده اغلب ساختمان مولکولی مشابه با اسید آمینه مورد نظر دارد) است، تلقیح



می‌شوند. نمونه روی آگار قرار گرفته و پلیت انکوبه می‌شود. بعد از مدت مشخص پلیت از نظر رشد باکتری بررسی می‌شود. در صورت وجود مقادیر بالایی از اسید آمینه موردنظر، فعالیت ماده مهارکننده کاهش یافته و رشد باکتری مشاهده می‌گردد. سیستم طوری طراحی می‌شود که مقادیر غیرطبیعی اسید آمینه را شناسایی نماید.

۵-روش فتومتری (آزمایش کلرید فریک)

از کلرید فریک برای شناسایی فنیل پیرویک در ادرار استفاده می‌شود. ولی از آنجایی که تا مقدار فنیل آلانین خون به 12-15 mg/dL نرسد، فنیل پیرویک به مقدار قابل سنجش در این روش نمی‌رسد، برای مقاصد غربالگری استفاده نمی‌شود.

ب) روش‌های تایید تشخیص

اندازه‌گیری فنیل آلانین برای تایید تشخیص باید به روش کمی اندازه‌گیری گردد. روش‌های کروماتوگرافی Thin layer chromatography, Ione exchange chromatography, Gas liquid chromatography (HPLC)، و متداول‌ترین روش‌های کروماتوگرافیک اندازه‌گیری فنیل-آلانین هستند. از بین ۳ روش فوق‌الذکر که نتایج را به صورت کمی بیان می‌نمایند، HPLC با توجه به حساسیت عالی، قدرت تفکیک مناسب و زمان کوتاه آنالیز برای تایید تشخیص در کشور ایران مورد توجه قرار گرفته است.

۵-۴) عملکرد مطلوب آزمایشگاه‌های غربالگری و تأیید تشخیص

۵-۴-۱) مشخصات فضای فیزیکی

در آزمایشگاه باید فضای مناسب برای کارها در نظر گرفته شود به نحوی که از کیفیت ایمنی و کارایی خدمات اطمینان حاصل شده و سلامت و ایمنی کارکنان، بیماران و مراجعین تضمین گردد. مساحت کافی باید متناسب با حجم کاری، تنوع آزمایش‌ها، تعداد تجهیزات، تعداد کارکنان و میزان استفاده از سیستم‌های اتوماسیون تخمین زده شود و آزمایشگاه بر این اساس باید مناسب و کافی بودن فضای اختصاص داده شده را تعیین و ارزیابی کند.

۵-۴-۲) کارکنان

۱. استفاده از کارکنان آموزش‌دیده و ثابت در آزمایشگاه غربالگری، یکی از مهم‌ترین ارکان تضمین کیفیت است.

۲. پرسنل فعال در این آزمایشگاه باید دارای تحصیلات مطابق با دستورالعمل کارکنان مندرج در استانداردهای مرجع سلامت بوده (حداقل کاردان علوم آزمایشگاهی) و پس از طی دوره‌های آموزشی، در آزمایشگاه غربالگری شروع به کار نمایند.

۳. کارکنان قبل از شروع به فعالیت در آزمایشگاه غربالگری باید سرفصل‌های زیر را آموزش ببینند:

- آشنایی با اصول غربالگری نوزادان،
 - آشنایی با مبانی تضمین کیفیت و اصول مستندسازی،
 - آشنایی با تجهیزات مرتبط و نحوه کنترل و نگه داری آنها،
 - آشنایی با اصول آزمایش و کنترل کیفی و خطاهای آن و نیز انجام حداقل ۲۰۰ آزمایش غربالگری جهت آشنایی کارکنان با فرایند انجام آزمایش و منابع ایجاد خطا.
۴. لازم است بر اساس نیازسنجی آموزشی، برنامه‌های آموزشی دوره‌ای ضمن خدمت هم برگزار گردد و سوابق آموزشی در پرونده کارکنان نگهداری گردد.
۵. مسئول فنی آزمایشگاهی واجد شرایط باید صحت آزمایشات را به عهده گیرد.

***نکته مهم:** در صورت استفاده از پرسنل غیرثابت حداقل یک ماه قبل باید آموزش دیده و دارای تأیید کتبی صلاحیت توسط مسئول فنی باشد.

۵-۴-۳) تجهیزات

باید در نظر داشت تجهیزات ذکر شده مطابق با دستورالعمل فعلی غربالگری نوزادان است و در صورت ورود تکنولوژی و یا کیت جدید، تهیه سایر ملزومات مطابق با دستورالعمل انجام آزمایش ضروری است.

۵-۴-۳-۱) تجهیزات ضروری مورد استفاده در آزمایشگاه غربالگری نوزادان به شرح زیر است:

۱. دستگاه قرائت‌کننده الیزا

حتماً باید از نوع Plate Reader خریداری گردد. دستگاه می‌بایست حداقل روی طول موج‌های 405، 630 نانومتر قابل تنظیم بوده و به سیستم مخلوط‌کننده (Mixing) مجهز باشد.

۲. شیکر مخصوص الیزا

شیکر می‌بایست توانایی ایجاد لرزش ۶۰ دور در دقیقه را داشته باشد.

۳. میکروپیپت/سمپلر

سمپلر ۸ شاخه (۳۰-۳۰۰ میکرولیتر)، در صورت تمایل آزمایشگاه‌ها می‌توانند به جای سمپلر ۸ شاخه از میکروپیپت‌های اتوماتیک یا نیمه اتوماتیک (Repetitive Pipettes) مناسب استفاده نمایند.

۴. ترجیحاً پانچر اتوماتیک (حداقل نیمه اتوماتیک)

۵. سایر تجهیزات شامل :

- ✓ دماسنج: دماسنج مورد استفاده باید دارای قدرت تفکیک ۰-۱ درجه سانتی گراد باشد.
- ✓ یخچال: قابلیت حفظ دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد را داشته باشد. برفک ایجاد نکند و در طبقات مختلف از دمای یکسان برخوردار باشد.
- ✓ فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد،
- ✓ سیستم تخلیص آب،
- ✓ کنداکتومتر
- ✓ بن ماری (در صورت نیاز با توجه به نوع کیت مورد استفاده)
- * آزمایشگاه می تواند آب مورد نیاز خود را خریداری نماید. در این صورت نیازی به سیستم تخلیص آب نیست.

۶. سایر مواد و وسایل مصرفی مورد نیاز:

- ✓ دستکش،
- ✓ نوک سمپلر،
- ✓ آب جهت تهیه محلول های استاندارد، معرف ها ، کنترل ها..... (آب درجه II)
- ✓ کیت مورد تایید برنامه،
- ✓ محلول سفیدکننده خانگی با رقت ۱/۱۰ (دارای کلر فعال ۵ درصد باشد)،
- ✓ کاغذ فیلتر و موارد مورد نیاز برای انجام آزمون غربالگری مطابق با دستورالعمل کیت

۴-۴-۵) آزمایش در آزمایشگاه های غربالگری و تایید تشخیص

۴-۴-۵-۱) آزمایشگاه های غربالگری

۱. در این آزمایشگاه ها، نمونه های DBS پذیرش می شود و آزمایش به روش کالریمتری (اسپکتروفتومتری) انجام می گردد.

۲. در آزمایش غربالگری با روش فوق الذکر، مقدار برش (Cut off) فنیل آلانین برای DBS ۴ mg/dl تعیین گردیده است.

۳. بعد از انجام آزمایش نمونه ها؛ می بایست نمونه های DBS با سطح فنیل آلانین زیر کات آف به مدت ۱ سال و نمونه های بالاتر از سطح کات آف به مدت ۵ سال در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد در آزمایشگاه نگهداری گردد.

۴-۴-۵-۲) آزمایشگاه های تایید تشخیص

اگر میزان فنیل آلانین در نمونه DBS غربالگری به روش کالریمتری (اسپکتروفتومتری) مساوی و یا بیشتر از ۴ میلی گرم درصد باشد تست غربالگری نوزاد مثبت است و نوزاد به مراکز نمونه گیری فراخوان می گردد.



DBS تایید تشخیص از نوزاد مذکور در این مراکز گرفته شده و به آزمایشگاه تایید تشخیص ارسال می‌گردد. در آزمایشگاه تایید تشخیص آزمایش فنیل آلانین و تیروزین بر روی نمونه DBS با استفاده از روش HPLC انجام می‌گیرد. مقدار برش (cut off) در این روش $3/4$ میلی گرم درصد بوده در صورتی که فنیل آلانین در نمونه DBS نوزاد مساوی و یا بیشتر از $3/4$ میلی گرم درصد باشد نوزاد به بیمارستان منتخب معرفی می‌گردد.

* نکات مهم قابل توجه:

۱. در آزمایشگاه بیمارستان منتخب، یک نمونه پلاسما برای اندازه گیری فنیل آلانین و یک نمونه DBS برای اندازه گیری فعالیت آنزیم DHPR و یک نمونه ادرار جهت اندازه گیری نئوپترین و بیوپترین از نوزاد تهیه می‌گردد و نهایتاً تا ۴ ساعت پس از نمونه‌گیری به آزمایشگاه مرجع کشوری بیوشیمی انستیتو پاستور ایران ارسال می‌گردد.
- تبصره: در صورت عدم امکان ارجاع نمونه مناسب با روش امن و ایمن، پس از هماهنگی اعزام نوزاد با خانواده به انستیتو پاستور ایران انجام شود.
۲. در نمونه تایید تشخیص DBS، به علت اضافه شدن مرحله استخراج در انجام آزمایش، میزان برش (cut off) فنیل آلانین نسبت به پلاسما کاهش یافته است و میزان آن در نمونه DBS $3/4$ mg/dl تعیین گردیده است.
۳. جهت تهیه نمونه پلاسما باید خون در لوله حاوی ضد انعقاد هپارین جمع‌آوری و جداسازی پلاسما از خون تام باید حداکثر در مدت یک ساعت انجام گردد. نمونه به مدت یک هفته در -20 درجه سانتی‌گراد و ۲ ماه در -70 درجه سانتی‌گراد پایدار است. جهت نمونه‌گیری وریدی، می‌بایست شیرخوارن حداقل به مدت ۳ ساعت و کودکان و بزرگسالان به مدت ۱۲ ساعت ناشتا باشند.
۴. مقدار برش فنیل آلانین (Cut off) برای پلاسمای هپارینه، 4 mg/dl تعیین می‌گردد.
- تبصره مهم: خاطر نشان می‌گردد در موارد سطح فنیل، آلانین بین ۲ تا 4 mg/dl انجام آزمایشات مرتبط با رد فنیل‌کتونوری غیر کلاسیک با توجه به نظر پزشک منتخب ضروری است و در صورت تایید موارد بدخیم ممکن است مراقبت بیمارستانی و ژنتیک ضروری باشد.
۵. ضروری است نوزادانی که در آزمایش تائید فنیل آلانین بالا دارند به بیمارستان منتخب ارجاع شوند و در بیمارستان منتخب مجدداً از نوزاد نمونه‌گیری شده تا برای رد موارد بیماری فنیل‌کتونوری ناشی از کمبود BH₄ به آزمایشگاه انستیتو پاستور ایران ارجاع گردند. آزمایش فنیل آلانین بر روی پلاسما، DHPR و بیوپترین و نئوپترین در آزمایشگاه مرجع کشوری بیوشیمی انستیتو پاستور ایران انجام می‌گردد.

۶. سپس تا آماده شدن جواب آزمایشگاه انستیتو پاستور ایران، پزشک منتخب موظف است بر اساس نتیجه آزمایش تائید بر روی DBS یا پلاسما برای شروع رژیم درمانی و مراقبت‌های بیمارستانی و ژنتیک مطابق دستورالعمل بالینی عمل نماید و پس از دریافت جواب آزمایشات فنیل آلانین و DHPR

بیوپترین و نوپترین از آزمایشگاه مرجع کشوری بیوشیمی انستیتو پاستور ایران، در صورت وجود فنیل-کتونوری غیرکلاسیک برنامه درمانی جدید برای وی تنظیم نماید.

۵-۵) نحوه گزارش دهی

۱. نتایج آزمایشات تایید تشخیص می بایست به واحدهای اندازه گیری میلی گرم در دسی لیتر و میکرومول گزارش گردد.

*نکته: با توجه به این که واحد وزن در سیستم SI (System International) مول است برای تبدیل میلی گرم در دسی لیتر به میکرومول کافی است از فرمول زیر استفاده گردد.

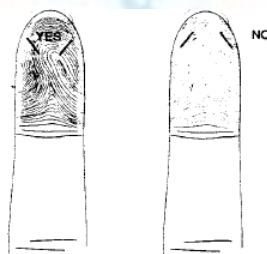
فاکتور (۶۰/۵۴) x مقدار mg/dl = مقدار (میکرومول در لیتر) در سیستم SI

۵-۶) آزمایشگاه های کنترل فنیل آلانین در طول درمان

اندازه گیری دوره ای سطح خونی فنیل آلانین پس از تشخیص اولیه و شروع رژیم غذایی از الزامات پیگیری درمان موفق است. فواصل اندازه گیری در سنین مختلف در بخش استانداردهای درمان ذکر شده است. برای پیگیری درمان، اندازه گیری دوره ای سطح خونی فنیل آلانین بر روی نمونه لکه خون (DBS) یا پلاسمای هپارینه باید با روش HPLC انجام گردد.

نمونه مورد استفاده در این مرحله؛ همان طور که در بالا اشاره شده است، نمونه لکه خون (DBS) یا پلاسمای هپارینه است.

❖ نمونه لکه خون (DBS) بسته به سن بیمار از پاشنه پا، کنار دست یا نوک انگشت به دست آمده و بر روی کاغذ فیلتر مطابق به روش ذکر شده در این دستورالعمل در آزمایشگاه بیمارستان منتخب تهیه می گردد. سپس آزمایش انجام می گیرد. در صورتی که سن بیمار کمتر از یکسال باشد، نمونه از پاشنه پا یا نرمه کناری دست (شکل ۱) و در سنین بالاتر از سطح داخلی انگشت (بند آخر انگشتان میانه و چهارم) مطابق (شکل ۳) گرفته می شود. از سطح جانبی و نوک انگشتان و همچنین سایر انگشتان نباید نمونه گیری صورت گیرد.



شکل ۳

روش کلی نمونه‌گیری (DBS) از نوک انگشت دست مشابه با نمونه‌گیری از پاشنه پا ذکر شده در بند ۵-۲ این سند بوده و تمامی مراحل مندرج در بخش نمونه‌گیری باید انجام شود.

❖ برای تهیه پلاسمای هپارینه باید ۲ میلی‌لیتر خون وریدی بیمار با ۵ میکرولیتر از هپارین ۵ هزار واحدی مخلوط شود. این نمونه باید حداکثر تا یک ساعت پس از نمونه‌گیری در دور ۲۵۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده، مایع زرد بالایی؛ که پلاسما است، با دقت و بدون هر نوع آلودگی با سلول‌های قرمز جدا شود.

* مدیریت نمونه و ارسال امن و ایمن آن از اهمیت خاص برخوردار است. در این زمینه به آخرین ویرایش روش اجرایی نظام انتقال امن و ایمن نمونه بیولوژیک در برنامه ژنتیک اجتماعی به شماره HD-GO-00-MN-PR-008 و دستورالعمل‌ها و استانداردهای پیوست به آن رجوع شود.

* در صورتی که آزمایشگاه بیمارستان منتخب قادر به انجام آزمایش در طی ۲۴ ساعت نباشد، بیمار جهت انجام آزمایشات کنترل درمان به مرکز نمونه‌گیری محل سکونت خود مراجعه و نمونه‌گیری انجام می‌گیرد. این امر با همکاری مراکز نمونه‌گیری باید به صورتی انجام گیرد که جواب آزمایش در روز مراجعه بیمار به بیمارستان منتخب آماده باشد.

* جواب آزمایش بیمار به والدین توسط مرکز نمونه‌گیری تحویل داده شود و والدین با در دست داشتن جواب آزمایش به بیمارستان مراجعه کنند.

- **تبصره و نکته مهم:** لازم به ذکر است در صورتی که نتیجه آزمایشات کنترل درمان، خارج از محدوده کنترل باشد ($2 < \text{phe} < 10$) برای کودکان کوچک‌تر از ۱۲ سال و $2 < \text{phe} < 10$ برای بیماران بزرگ‌تر از ۱۲ سال، ضروری است آزمایش کنترل درمان به روش HPLC، بر روی پلاسما و یا DBS هفته‌ای یک بار انجام شده تا جواب آزمایشات به محدوده کنترل ادامه یابد.

۵-۷) تضمین کیفیت

منظور از تضمین کیفیت فعالیت‌های برنامه‌ریزی شده و گام به گامی است که اطمینان می‌دهد یک آزمایش به درستی انجام شده، نتایج آن صحیح و معتبر بوده و خطاهای احتمالی قابل کشف و اصلاح هستند. پایش نظام‌مند سیستم و ارکان آن و ایجاد یک نظام کارآمد مدیریت عدم انطباق از اصول اساسی نظام مدیریت کیفیت است.

استقرار برنامه تضمین کیفیت می‌بایست در فرایندهای قبل از انجام آزمایش به جهت مدیریت نمونه، حین انجام آزمایش (کنترل کیفیت) و پس از انجام آزمایش، صورت گیرد.

۵-۷-۱) کنترل و تضمین کیفیت فرایند قبل از انجام آزمایش:

مدیریت نمونه تأثیر مستقیم بر صحت نتایج آزمایشگاهی و البته کارایی آزمایشگاه دارد. مدیریت نمونه یکی از مهم‌ترین جنبه‌های کنترل فرایند قبل از انجام آزمایش است و موجب کاهش خطاهای این مرحله می‌شود. یک برنامه جامع مدیریت نمونه باید بتواند شناسایی بیمار، نمونه‌گیری، ثبت و پذیرش نمونه، نگهداری و انبارش، بسته بندی و حمل و نقل (به هنگام ارجاع نمونه) و امحاء نمونه را تحت کنترل بگیرد. برای جمع‌آوری نمونه یا نمونه‌گیری باید از روش‌های مدونی استفاده شود که در آن :

✓ تعیین هویت بیمار به درستی انجام شود.

✓ جمع‌آوری نمونه در ظرف مناسب (کاغذ فیلتر)، حجم و در زمان مناسب انجام شود.

✓ نمونه‌های غیرقابل قبول رد شوند. (خطاها و مشکلات شناسایی شده در مرکز نمونه‌گیری ثبت

شوند و پیرو آن اقدامات لازم جهت برطرف شدن و پیشگیری از وقوع مجدد آن صورت گیرد)

✓ نمونه‌ها به درستی ثبت شوند.

✓ ملاحظات عمومی و اختصاصی ایمنی رعایت شوند.

✓ نمونه‌ها باید در مدت زمان قابل قبول به آزمایشگاه انتقال یابند.

نکات مورد توجه در ارجاع نمونه به آزمایشگاه دیگر به شرح زیر است:

۱. نمونه به آزمایشگاه مورد تایید آزمایشگاه مرجع سلامت ارجاع گردد.

۲. از آگاهی کارکنان نسبت به روش‌های آماده سازی و انتقال امن و ایمن نمونه بر اساس استانداردهای

ابلاغی اطمینان حاصل شود. در این زمینه به آخرین ویرایش روش اجرایی نظام انتقال امن و ایمن

نمونه بیولوژیک در برنامه ژنتیک اجتماعی به شماره HD-GO-00-MN-PR-008 و دستورالعمل‌ها

و استانداردهای پیوست به آن رجوع شود.

۳. شناسایی و ثبت موارد عدم انطباق به عنوان مثال کم بودن حجم نمونه گرفته شده بر روی کاغذ

فیلتر و به صورت پر نشدن دایره یا عدم اشباع فیلتر کاغذی یکی از رایج‌ترین منابع ایجاد خطا در

بخش قبل از تجزیه است که در صورت مشاهده باید ثبت و پیگیری شود.

۵-۷-۲) کنترل و تضمین کیفیت فرایند انجام آزمایش:

آزمایش‌های تشخیصی اعم از کیفی یا کمی نیازمند کنترل کیفیت هستند. روش‌های کنترل کیفیت دو وظیفه بر عهده دارند:

۱. تعیین وجود یا عدم وجود خطا

۲. کمک به تعیین ماهیت خطا (تصادفی یا سیستماتیک)

روش‌های کنترل کیفیت به آزمایش‌گر کمک می‌کنند که خطا در هر یک از اجزای سیستم آزمایش یا Test

System شامل تکنولوژیست، دستورالعمل فنی انجام آزمایش، تجهیزات و ابزار پایه اعم از دستگاه، لوله آزمایش،

وسایل حجم‌سنجی و انتقال حجم، انکوباتور و غیره، کیت‌ها، استاندارد یا کالیبراتور، نمونه، کنترل و محیط را شناسایی کند. در روش‌های کنترل کیفیت معمولاً از مواد کنترل استفاده می‌شود که میزان آنالیت مورد نظر و دامنه تغییرات قابل قبول آن به یکی از روش‌های معتبر مشخص شده است. استفاده از این ماده کنترلی در هر سری آزمایش، و مقایسه نتایج به دست آمده از آن با محدوده قابل قبول (مورد انتظار) به آزمایش‌گر کمک می‌کند که مشخص کند تغییرات مشاهده شده ناشی از شانس است (قابل قبول) و یا از خطا منشا می‌گیرد (غیرقابل قبول). الگوی تکرار تغییرات می‌تواند به تشخیص تصادفی بودن از سیستماتیک بودن خطا کمک کند. تعیین اقدام اصلاحی، فقط پس از تشخیص تصادفی بودن یا سیستماتیک بودن یک خطا میسر است. در کنترل کیفیت از روش‌های آماری، ثبت و نمایش نموداری و اصول و قواعد مشخصی استفاده می‌شود که بر مبنای آن‌ها خطاها شناسایی و ماهیت آن‌ها معلوم می‌شود.

نکات مهم در انجام آزمایشات:

- دمای اتاق باید در محدوده ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شود.
- پانچ کردن نمونه‌ها دقیقاً قبل از شروع آزمایش صورت گیرد.
- برای اطمینان از پاک بودن فضای داخل پانچ بعد از برش هر نمونه، پانچ با ضربات ملایم از ذرات کاغذ فیلتر باقیمانده تخلیه گردد.
- از قرارگرفتن کامل نمونه زیر بافر اطمینان حاصل شود.
- از تماس دست با سطوح زیرین پلیت خودداری شود.
- از عدم تشکیل حباب در چاهک اطمینان حاصل شود.
- تعیین محل تاریک در اتاق به منظور مراحل انکوباسیون ضروری است.
- در صورت نمونه‌گیری مجدد حتماً "آزمایش به صورت دوپلیکت انجام شود.
- از آنجایی که که آزمایش کنترل در دو غلظت و در هر سری کاری ضروری است وجود کنترل در داخل کیت الزامی است در صورت عدم وجود، باید کنترل از تولیدکننده یا واردکننده درخواست شود. گزارش نتایج بیماران تنها پس از اخذ نتیجه مناسب از کنترل‌ها ممکن است.
- مشخصات عملکردی کیت خصوصاً میزان تکرارپذیری و درستی نتایج که برحسب CV% و Bias% بیان می‌شود، از موارد دیگری است که حتماً آزمایشگاه‌ها باید در نظر داشته باشند. براساس مراجع بین‌المللی مقدار خطای مجاز برای اندازه‌گیری فنیل‌آلانین ۲۱/۶٪ می‌باشد (۸)، این مقدار خطا بدین معناست که اگر مقدار واقعی فنیل‌آلانین در نمونه‌ای ۱۰ mg/dl باشد، در بهترین شرایط که تمامی منابع ایجاد خطا تحت کنترل است، نتایج ممکن است در محدوده ۸-۱۲ mg/dl قرائت گردد. کارکنان آزمایشگاه غربالگری می‌بایست از میزان خطای موجود در آزمایشگاه مطلع باشند و این اطلاعات را در اختیار پزشکان و کارشناسان تغذیه قرار دهند.

۵-۷-۳ کنترل و تضمین کیفیت عملکرد تجهیزات



دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل
PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

شماره سند: HD- IMD-00-MN-WI-007

شماره بازنگری: 00

یکی از عوامل موثر در فرایند انجام آزمایش استفاده از تجهیزات مناسب، اطمینان از صحت عملکرد و تدوین مستندات مرتبط با آن است.

موارد ذکر شده در ذیل چکیده‌ای از روش‌های کنترل کیفی ابزار پایه و تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه‌های غربالگری است. سایر الزامات و دستورالعمل‌ها می‌بایست مطابق با استانداردهای آزمایشگاهی ارائه شده توسط آزمایشگاه مرجع سلامت، تهیه گردد.

لازم به ذکر است اولین قدم برای استفاده صحیح از تجهیزات آزمایشگاهی، مطالعه کامل کاتالوگ‌ها و عمل به دستورالعمل‌های نگهداری و کنترل کیفیت مندرج در آن است.

۵-۷-۳ (۱) الایزایدر:

۱. برای ارزیابی کیفیت الایزایدرها استفاده از چک‌پلیت/ یا نوارهای کنترل (check strips) و در صورت در دسترس نبودن آن دو مورد، کیت تجاری توصیه می‌شود.

۲. با استفاده از چک‌پلیت یا نوارهای کنترل، صحت فتومتری، خطی بودن و تکرارپذیری ارزیابی می‌گردد.

۵-۷-۳ (۲) سمپلر

۱. سمپلر می‌بایست با توجه به حجم کاری آزمایشگاه به طور منظم تحت کنترل کیفیت قرار گیرد ولی به طور کلی بررسی سمپلر حداقل هر ۳ ماه توصیه می‌گردد.

۲. در حال حاضر مقادیر عدم دقت $CV = 2\%$ و عدم صحت $Bias = 3\%$ نیز در ایران قابل قبول شناخته می‌شود.

۳. در صورت مشاهده $CV\%$ و $Bias\%$ غیر قابل قبول آزمایشگاه می‌تواند خود نسبت به تنظیم سمپلر اقدام و یا جهت سرویس به شرکت پشتیبان ارسال نماید. در صورت بروز ضربه به سمپلر، تأیید کیفیت مجدد ضروری است.

۴. نتایج کنترل کیفیت و هرگونه سابقه باید در فرم‌های مربوطه ثبت و نگهداری شوند.

۵-۷-۳ (۳) دماسنج

دماسنج در صورت امکان از دماسنج‌های دیجیتال با ثبت منحنی دمای شبانه‌روزی استفاده شود. دماسنج‌های دیجیتال باید باید به طور سالانه کالیبره شوند.

۵-۷-۳ (۴) آب مقطر

برای اطمینان از کیفیت آب، بررسی مقاومت آن با استفاده از هدایت‌سنج یا کندانکتومتر پیشنهاد می‌گردد. اندازه‌گیری هدایت آب باید پس از اندازه‌گیری دما با دماسنج کالیبره و براساس دستورالعمل هدایت‌سنج صورت گیرد.

در صورت خرید آب، می‌بایست مشخصات آب از طرف تولیدکننده ارائه گردد. پیشنهاد می‌شود آزمایشگاه در فواصل معین نسبت به کنترل آب خریداری شده اقدام نماید. باید در نظر داشت انواعی از آب استریل که بصورت ویال عرضه می‌شود، الزاما از کیفیت مورد نیاز آزمایشگاه برخوردار نبوده و باید قبل از استفاده، میزان هدایت آن بررسی شود.

نکته مهم: حجم ادعا شده ویال‌های آب، نباید مبنایی برای به حجم رساندن کنترل‌ها، کالیبراتورها، معرف‌ها و ... باشد. آزمایشگاه می‌بایست صرف نظر از حجم مندرج روی ویال، با استفاده وسایل حجمی مناسب مانند پیپت اقدام به انتقال حجم مورد نیاز نماید.

۴-۷-۵) کنترل و تضمین کیفیت فرایند پس از انجام آزمایش:

درج صحیح مشخصات نمونه و نتایج در برگه گزارش دهی (ایجاد یک گزارش مناسب با رعایت الزامات ذکر شده در بند ۵-۸ استاندارد ۱۵۱۸۹) و گزارش فوری نتایجی که در محدوده بحرانی قرار دارند (نمونه مثبت) و نگهداری نمونه‌ها در شرایط صحیح به دلیل احتمال نیاز به آزمایش مجدد از جمله موارد حائز اهمیت است.

۵-۷-۵) مدیریت عدم انطباق (مدیریت رخداد)

دلایل بروز خطا متنوع هستند: عدم شفاف بودن مسئولیت‌ها، عدم وجود دستورالعمل مکتوب، نادیده گرفتن دستورالعمل‌های مکتوب، عدم انجام آموزش یا آموزش ناقص، عدم نگهداری مناسب کیت‌های آزمایشگاهی، عدم انجام کنترل کیفی داخلی و مهارت‌آزمایی، نگهداری نامناسب تجهیزات و ...

خلاصه فرآیند مدیریت عدم انطباق به شرح زیر است:

مدیریت عدم انطباق زمانی محقق می‌شود که سیستمی ایجاد شود تا بلافاصله پس از کشف هر خطا یا مشکل تحقیق آغاز گردد. مراحل و توالی آنها به شرح زیر است:

۱. فرآیندی برای کشف همه مشکلات ایجاد شود (شایان ذکر است که باید به یاد داشته باشیم از بعضی مشکلات نمیتوانیم آگاه شویم مگر اینکه به دنبالشان بگردیم!)
۲. رخداد خطاها ثبت و نگهداری شود.
۳. علل جستجو و اطلاعات تجزیه و تحلیل شوند.
۴. اقدام اصلاحی طراحی و اجرا شود.
۵. یافته‌ها و اقدامات ثبت و نگهداری شوند.
۶. وقوع مجدد مشکل بطور نظام مند پایش شود.
۷. کسانی که خطا یا مشکل به آنها ارتباط پیدا می‌کند و به هر نحو ممکن است تحت تاثیر آن قرار گیرند مورد اطلاع رسانی قرار گیرند.



دستورالعمل کشوری آزمایشگاهی برنامه پیشگیری و کنترل
PKU

بازبینی پنجم؛ ویرایش نخست در قالب اسناد اداره ژنتیک

شماره سند: HD- IMD-00-MN-WI-007

شماره بازنگری: 00

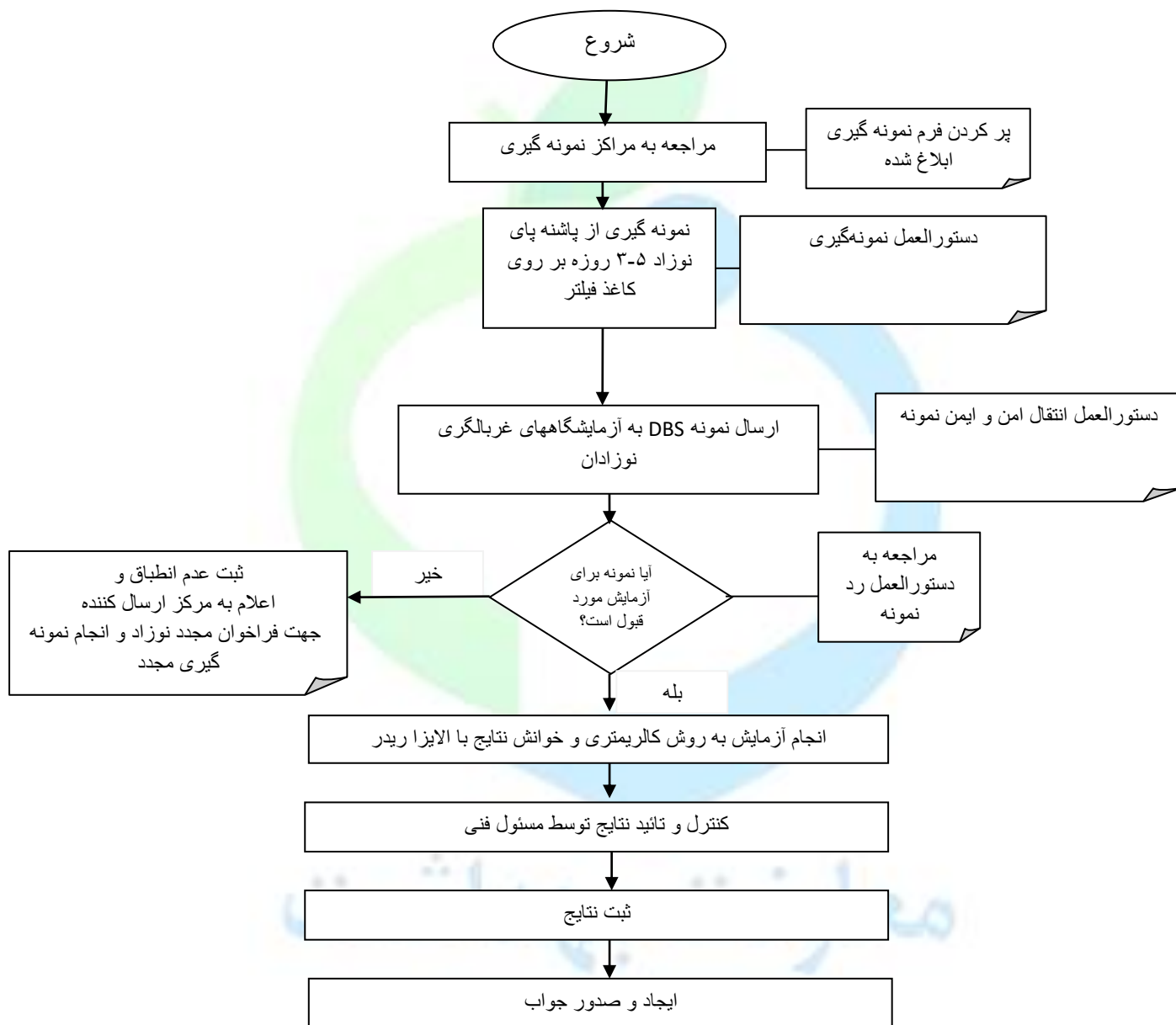
***نکته مهم:** تدوین و استفاده از فرم ثبت خطا و عدم انطباق و اقدامات متعاقب آن ابزار مناسبی برای مدیریت عدم انطباق محسوب می‌شود. این فرم باید به نحوی تهیه شود که گزارش عدم انطباق، تحقیق و اقدامات متعاقب آن، پایش و مستند سازی را تسهیل نماید

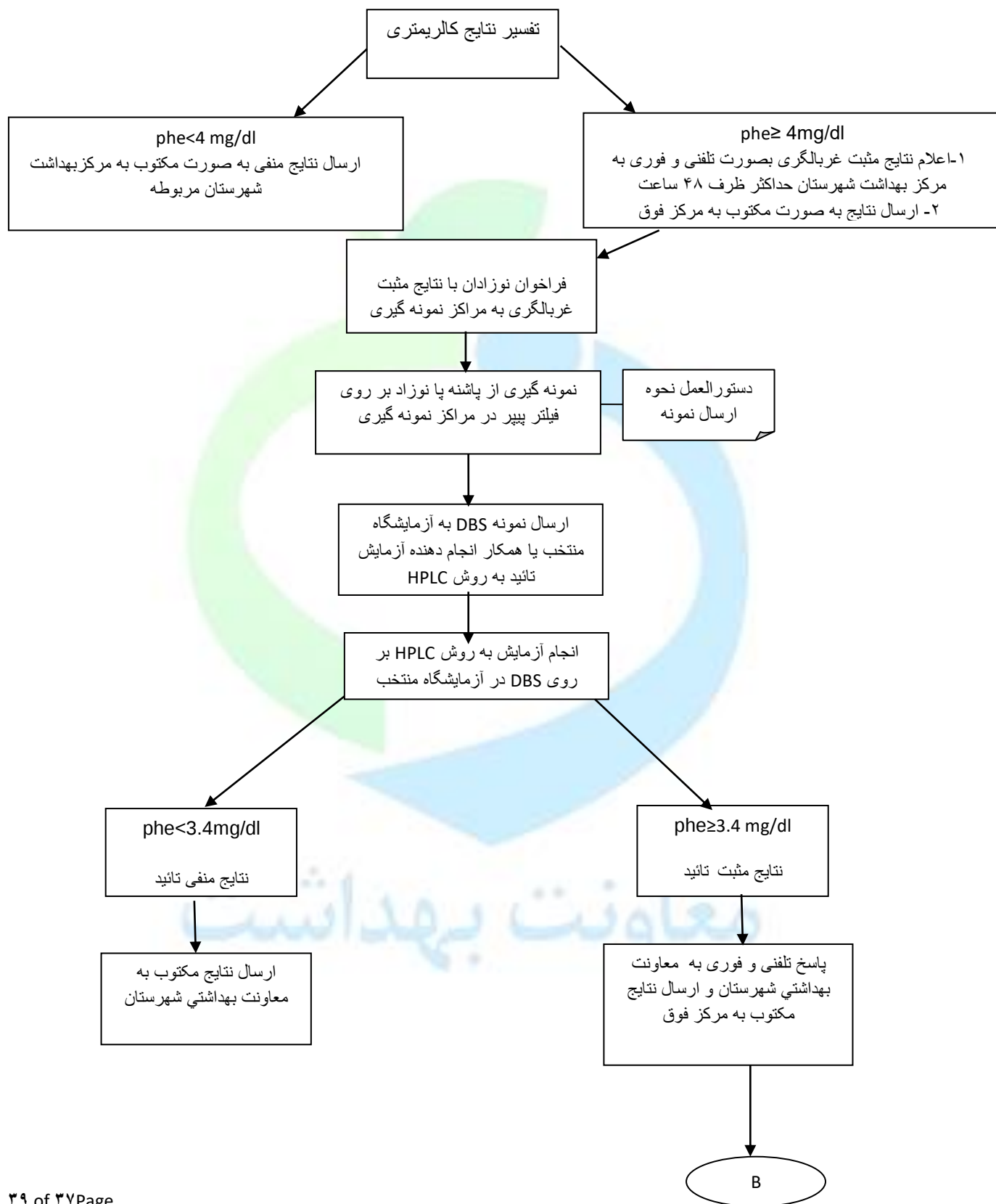


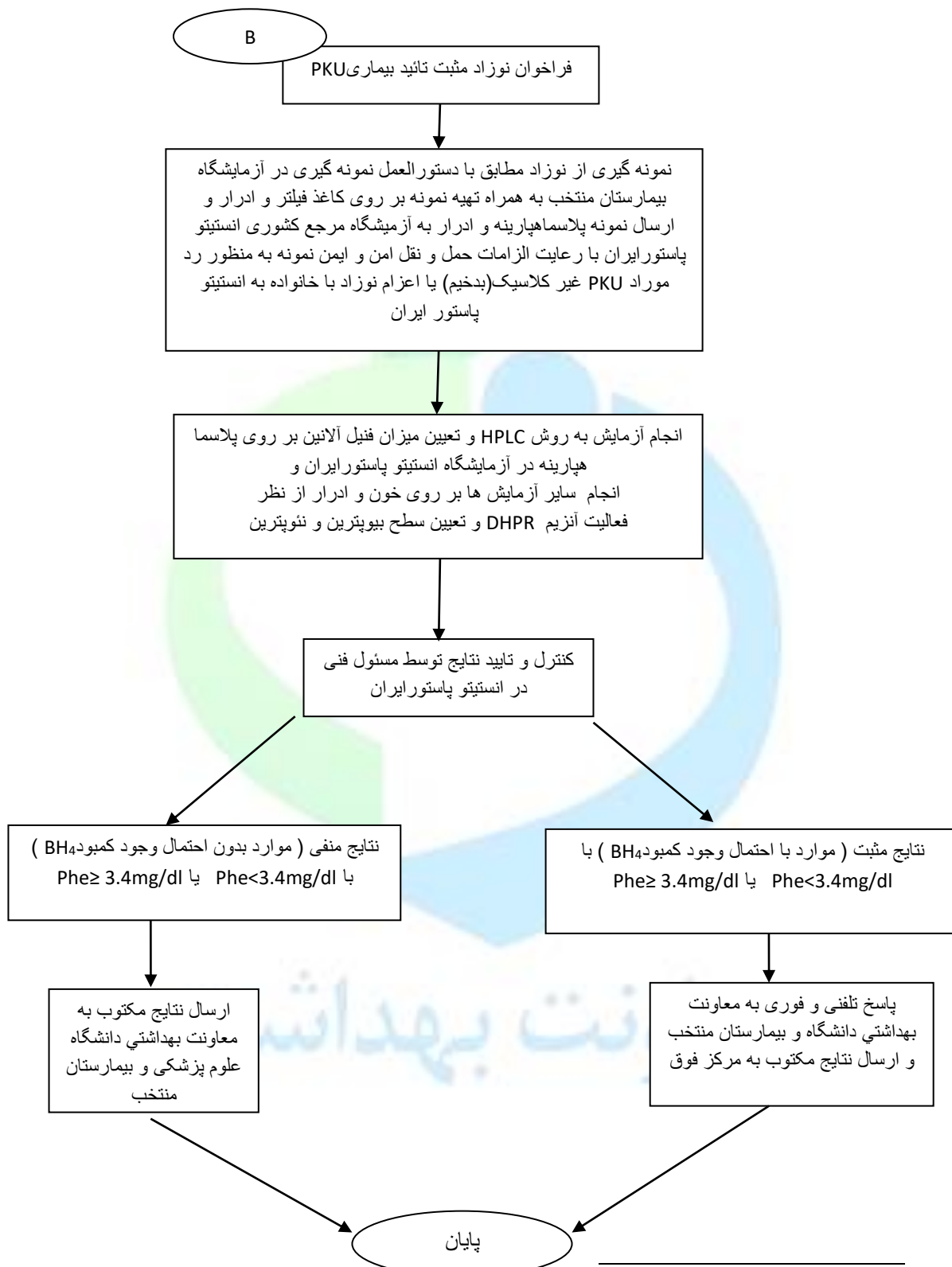
۵-۸) نمودار گردش فرآیند غربالگری نوزادان، تایید تشخیص و

کنترل درمان از نظر بیماری فنیل کتونوری

"ویژه آزمایشگاه"

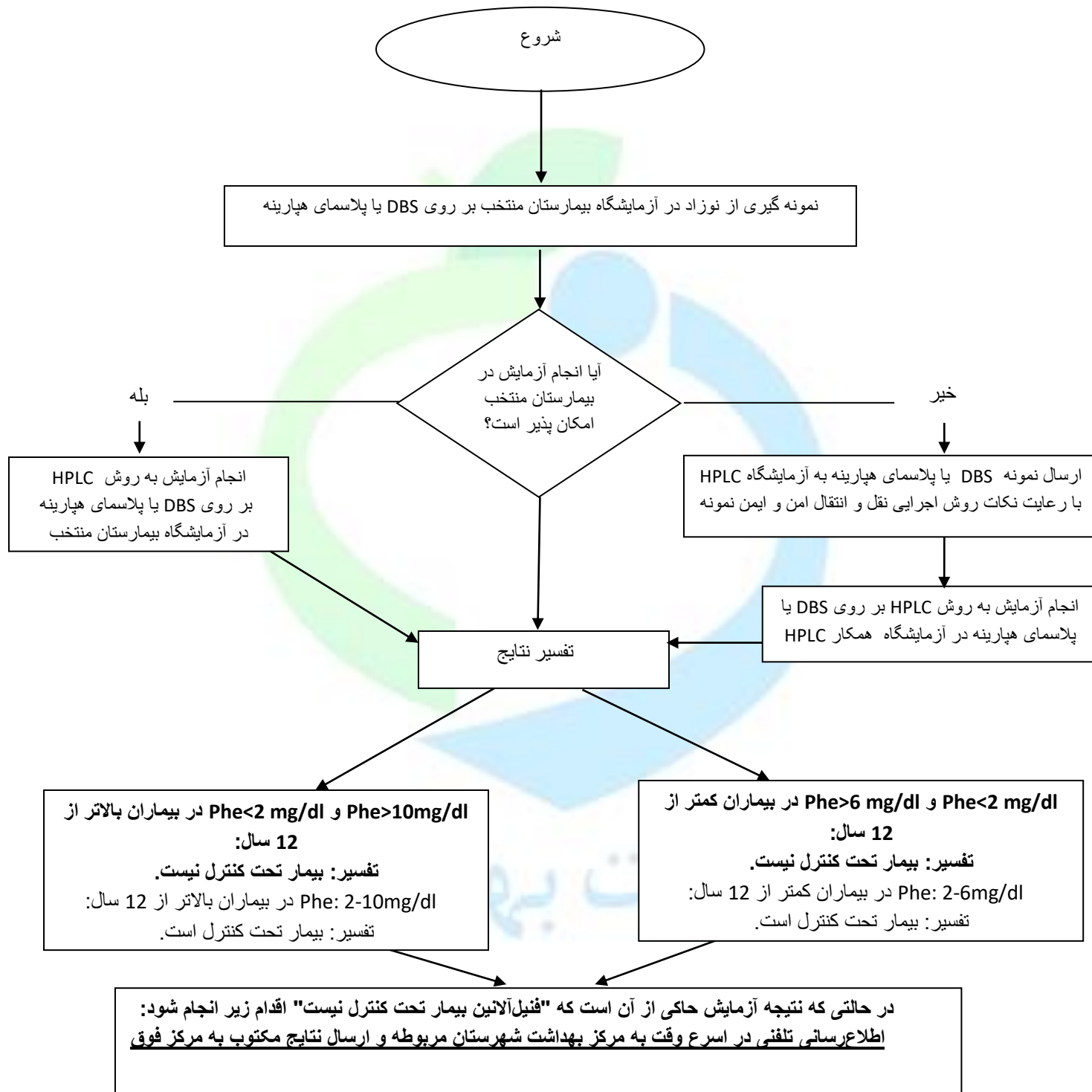






^۲ لازم به ذکر است موارد بدخیم بیماری در موارد فنیل آلانین بسیار پایین نیز قابل مشاهده است و ممکن است محدوده ای بین ۱۰-۲۰ mg/dl نیز قابل مشاهده است. در این موارد نمونه ادرار برای اندازه گیری نوپترین و بیوپترین و نمونه RBC جهت اندازه گیری فعالیت DHPR ارسال می گردد و در صورت تأیید فنیل کتونوری غیر کلاسیک (بدخیم)، سایر اقدامات درمانی انجام می شود.

کنترل درمان



۶ مستندات: ندارد.