

دستورالعمل کشوری

تشخیص ناقلین و قبل از

تولد بیماریهای ژنتیک

توجه:

رعایت کلیه موارد ذکر شده در این برنامه راهبردی برای کلیه آزمایشگاههای عضو شبکه تشخیص پیش از تولد (بیماریهای نام برده شده) الزامی است و در بازدیدهای ادواری کمیته فنی تشخیص پیش از تولد رعایت موارد زیر بر اساس چک لیست ها مورد ارزیابی و بازدید قرار خواهند گرفت. رعایت موارد مزبور برای آزمایشگاههایی که قصد عضویت در شبکه را دارند و یا در زمینه های ذکر شده فعالیت می کنند توصیه می شود و هنگام بررسی تقاضا در زمان بازدیدها بعنوان امتیاز تلقی خواهد شد.

**دستورالعمل کشوری تشخیص ناقلین و
قبل از تولد تالاسمی
(بازنگری اسفند ۱۳۹۵)**

مرحله اول:

پذیرش عمومی:

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاوره ژنتیک از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک همراه فرم ارجاع (فرم شماره یک) صورت می گیرد. برای شروع آزمایشات مرحله اول تشخیص قبل از تولد لازم است زوجین به همراه نتایج کلیه آزمایشات خون شناسی (CBC و مقدار A2 و F) به همراه زوجین ارسال شود.

تبصره: چنانچه پذیرش بیمار از طریق معرفی پزشک متخصص صورت گیرد. باید فرم ارجاع (فرم شماره یک) از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک توسط زوجین دریافت و به آزمایشگاه تحویل داده شود.

در مرحله اول، آزمایشات CBC و الکتروفورز هموگلوبین دقیقاً بررسی می شود و چنانچه در تفسیر آزمایشات ابهامی وجود داشته باشد پزشک در آزمایشگاه ژنتیک می تواند تصمیم به تکرار آزمایش بگیرد. لازم است علاوه بر میزان HbA2 مقدار HbF و واریانتهای (در صورت وجود) نیز مورد بررسی دقیق قرار گیرد.

تبصره: پس از بررسی دقیق نتایج آزمایشات خون شناسی و نسبتهای A, A2, F و دیگر هموگلوبینها از طریق الکتروفورز یا ستونی، نوع آزمایشات مولکولی مشخص می شود.

۱- آزمایش برای بتا – تالاسمی و انواع ترکیبات آن (مانند سیکل – تال یا بتا-دلتا و ...)

۲- تشخیص پیش از تولد مرحله اول برای زوجهای مشکوک (که یکی یا هر دو دارای $MCV < 80$, $MCH < 27$ و $HbA2 > 3.5$ باشند).

۱- آزمایش برای بتا – تالاسمی و انواع هموگلوبینوپاتیها (مانند سیکل – تال یا بتا-دلتا و ...)

۱.۱. تشخیص قبل از تولد تالاسمی بتا – مرحله اول

پذیرش عمومی:

الف: پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاور ژنتیک از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک به همراه فرم شماره ۱ شبکه خدمات آزمایشگاهی ژنتیک و تشخیص قبل از تولد صورت می گیرد.

تبصره ۱: در صورتی که پذیرش بیمار با معرفی پزشک متخصص مشاور دانشگاهی صورت گرفت باید فرم شماره ۱ از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک توسط خانواده دریافت و به آزمایشگاه تحویل داده شود.

ب: در هنگام پذیرش زوجین می بایستی هر دو نفر زوجین قطعا ناقل تالاسمی بتا باشند ($MCH < 27$ $MCV < 80 f$) و یا یکی ناقل بتا تالاسمی و دیگری ناقل سیکل سل و یا لپور و یا امثالهم باشد.

تبصره ۱: مقدار A2 با روش کاپیلاری تایید شده باشد.

تبصره ۲: چنانچه در تفسیر آزمایشات ابهامی وجود داشت پزشک و یا مسئول فنی آزمایشگاه (در آزمایشگاه ژنتیک) می تواند تصمیم به تکرار آزمایش بگیرد.

تبصره ۳: همچنین برای آزمایشات مرحله اول تشخیص قبل از تولد در صورتی که خانواده دارای فرزند مبتلا نباشد نمونه خون و آزمایشات خون شناسی والدین آنها و یا فرد دیگری از خانواده برای انجام آزمایشات به روش غیر مستقیم مورد نیاز است و می بایستی توسط آزمایشگاه اخذ شوند. چنانچه خانواده دارای فرزند مبتلا باشد نمونه خون فرزند مبتلا و والدین وی برای انجام آزمایشات کافی است.

ج: برای تشخیص قبل از تولد انجام توام آزمایشهای تعیین موتاسیون (روش مستقیم) و مطالعه پیوستگی ژنی (از جمله RFLP، SNP،.....) (روش غیر مستقیم) ضروریست.

تبصره: تشخیص قبل از تولد برای زوجینی که هر دو ناقل سیکل سل و یا دلتا - بتا تالاسمی و امثالهم باشند مانند تالاسمی می باشند ولی با ملاحظات تشخیصی خواص هر مورد.

د: برای انجام هر PND (مرحله اول، مرحله اول و دوم) می بایست کلیه مستندات آزمایشگاهی شامل فرم پذیرش، کار برگ آزمایشگاهی (Work sheet)، دفتر آزمایشات، پرونده خانواده به همراه رضایت نامه (Consent form) ضمیمه ۲) و بقیه موارد که بوسیله آنها می توان آزمایشات خانواده را پیگیری کرد وجود داشته باشد. توصیه می شود که در پرونده آزمایشگاهی هر خانواده روند کار بصورت روز شمار آورده شود. مانند روز و یا روزهای مراجعه، دریافت نمونه خون، دریافت نمونه جنینی، دریافت آزمایشات خون شناسی، شروع کار آزمایشگاهی و مشخص شود.

۱.۱.۱. روش مستقیم:

برای تعیین موتاسیون در ژن بتا گلوبین حداقل می توان ۲۰ جهش شایع کشور که توسط محققین تعیین شده اند (جدول ۱) برای زوجین یا فرزند مبتلای آنها به روش ARMS-PCR مورد بررسی قرار گیرد (چنانچه موتاسیون از طریق فرزند بیمار خانواده مشخص شده باشد جهت تایید موتاسیون یافت شده، والدین بیمار باید مورد بررسی قرار گیرند). استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است.

تبصره: آزمایشگاه می تواند بر اساس فراوانی جهش یا جهشهای خاص منطقه این لیست را تهیه کند.

CD5 (-CT)	CD44 (+T)	CD39 (C to T)	CD30 (G to C)	IVSI-1 (G to A)	C36-37 (-T)	IVSI-5 (G to C)	IVSI-110 (G to A)	Fr8-9 (+G)	IVSII-1 (G to A)
-88 (C to T)	CD37 (G to A)	CD 8 (-AA)	IVSI-128 (T to G)	-28 (A to G)	CD15 (G to A)	IVSII-745 (C to G)	C82-83 (-G)	-25del	CD22 (G to T)

جدول موتاسیونهای شایع بتا تالاسمی در ایران:

چنانچه با انجام مراحل فوق موتاسیون مشخص نشد تعیین موتاسیون با کمک روشهای مستقیم مانند DGGE ، SSCP ، و بعد Sequencing یا مستقیماً Sequencing ژن بتا گلوبین انجام شود.

تبصره: با توجه به ضرورت به حداقل رسانیدن خطای تشخیص در صورت یافتن موتاسیون روش غیرمستقیم (به شرح زیر) نیز می بایست انجام شود.

۱.۱.۲ روش غیر مستقیم:

مطالعه پیوستگی ژنی (بررسی STR، RFLP، SNP و ...) برای زوجین و فرزند مبتلای آنها و در صورت نداشتن فرزند مبتلا برای خانواده آنها انجام می شود.

۱.۱.۲.۱ آزمایشگاه می بایست به حداقل یک محل گویا دست یابد و محل گویا بدون هیچ

ابهامی قابل تفسیر باشد. در روش غیر مستقیم مشروط بر اینکه موتاسیون هر دو (زوجین) مشخص باشد حداقل یک محل گویا کافی می باشد. برای یافتن محل گویا می بایست حداقل ۵ محل از محلهای زیر مورد بررسی قرار گیرند (بهتر است بررسی با مارکرهای داخل ژن بتا آغاز گردد (جدول زیر). استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است.

HincII-ε	XmnI	HindIII-γ ^G	HindIII-γ ^A	HincII-5'ψβ
HincII-3'ψβ	RsaI-, β	AvaII-β	HinfI-β	دیگر SNP ها

تبصره ۱: در صورت نیاز به توالی پرایمرها از آزمایشگاه مرجع کمک گرفته شود.

تبصره ۲: در صورتیکه آزمایشگاه بعد از انجام مراحل فوق (مستقیم یا غیرمستقیم و یا هر دو) نتوانست به نتیجه برسد لازم است آزمایشگاه مرجع را به صورت کتبی مورد مشاوره قرار دهد و آزمایشگاه مرجع می بایست ظرف

یک هفته بعد از دریافت درخواست نظر خود را کتباً اعلام نماید. چنانچه آزمایشگاه مرجع نیاز به نتایج بررسی و یا نمونه خانواده داشت آزمایشگاه محیطی می بایست همکاری لازم را به عمل آورد.

تبصره ۳: در صورتیکه نتیجه روش غیرمستقیم مبنای تصمیم گیری باشد، ناقل بتا تالاسمی بودن فرد باید محرز شود (مثلاً تکرار آزمایشات خون شناسی، داشتن فرزند مبتلا و...).

تبصره ۴: در صورتیکه بعد از بررسی های فوق آزمایشگاه نتیجه بگیرد که نیازی به PND مرحله دوم تالاسمی نمی باشد، در صورت صلاحدید، می تواند آزمایشگاه مرجع را مورد مشاوره کتبی قرار دهد و آزمایشگاه مرجع وظیفه دارد حداکثر ظرف یک هفته بعد از دریافت درخواست، نظر خود را به صورت کتبی اعلام نماید.

تبصره ۵: روش غیرمستقیم فقط در صورت عدم همکاری خانواده (بر اساس مستندات موجود در پرونده مربوطه) قابل حذف می باشد.

تبصره ۶: در صورتیکه در انجام RFLP، SNP و ... گویایی دیده نشد و اگر در تعیین توالی SNP مشاهده شده می تواند به عنوان روش غیر مستقیم نیز محسوب شود.

۱.۲ تشخیص موارد خاص پیش از تولد تالاسمی و هموگلوبینوپاتیها به قرار زیر است:

۱.۲.۱ چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگری ناقل HbS باشد نیاز به PND می باشد (مانند تالاسمی بتا عمل شود).

۱.۲.۲ چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگری ناقل HbC باشد نیاز به PND نمی باشد (به سایت ApoGI مراجعه شود).

۱.۲.۳ چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگری ناقل HbE باشد نیاز به PND می باشد (مانند تالاسمی بتا عمل شود).

۱.۲.۴ چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگر ناقل دلتا-بتا تالاسمی ویا لپور (Lepore) باشد نیاز به PND می باشد (مانند تالاسمی بتا عمل شود).

۱.۲.۵ چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگر ناقل HbD باشد نیاز به PND ندارد. (HbD فقط با HbS نیاز به PND دارد).

۱.۲.۶ چنانچه یکی از زوجین قطعاً ناقل بتا و دیگر ناقل Alpha triplication باشد نیاز به PND می باشد (در صورت نیاز با آزمایشگاه مرجع مشاوره شود).

۱.۲.۷ بیماری داسی شکل Sickle cell disorders و حالت‌های مختلف آن مانند:

۱. Sickle cell anaemia (Hb SS)
۲. Hb SC disease
۳. Hb S/ β -thalassaemia
۴. Hb S/DPunjab
۵. Hb S/OArab
۶. Hb S/HPFH

۱,۲,۸. هموگلوبینوپاتیهای بی خطر:

۱. Hb C/ β -thalassaemia
۲. Hb D/ β -thalassaemia
۳. Hb DD
۴. Hb CC
۵. Hb CD
۶. Hb CE
۷. Hb DE
۸. Hb EE

۱,۲,۹. در مورد سایر هموگلوبینوپاتیها از منابع ذیل استفاده و تصمیم گیری شود:

<http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html> A database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemias

و نیز سایت APOGI

<http://www.chime.ucl.ac.uk/APoGI>

و سایت زیر

<http://www.sickleandthal.org.uk/Documents/LabHandbook2006.pdf> www.screening.nhs.uk/sickleandthal

تبصره: با توجه به اینکه بارها مشاهده شده است که فردی می تواند همزمان ناقل بتا تالاسمی و هموگلوبین D باشد و با فرد دیگری که ناقل بتا تالاسمی می باشد و یا حالتی غیر معمول دیگر باشند و نیاز به PND داشته باشد و یا نداشته باشد. لذا تصمیم به انجام یا عدم انجام مرحله اول و یا دوم PND برای دیگر حالتی هموگلوبینوپاتیها بر اساس منطق علمی و عدله کافی و یا براساس نظر کتبی آزمایشگاه مرجع صورت پذیرد.

۱,۱,۳. نحوه گزارش دهی مرحله اول:

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه کرده و به خانواده، پزشک، مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

۱,۱,۳,۱. گزارش مرحله اول باید شامل حداقل موارد زیر باشد:

۱. نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)

۲. شماره پرونده

۳. نحوه معرفی به آزمایشگاه (مرجع معرفی خانواده)
۴. آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش می بایست در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)
۵. تاریخ اولین مراجعه خانواده (تاریخ دریافت نمونه خون)
۶. محل نمونه گیری یا ارسال نمونه
۷. تاریخ گزارش نهایی
۸. روش یا روشهای تشخیص مولکولی (مستقیم، غیر مستقیم، نوع موتاسیون و نتیجه روش غیرمستقیم مشخص باشد).
۹. نتیجه بررسی روشهای مولکولی (مثلا IVSH-1 به روش sequencing، و یا به روش ARMS-PCR و PCR-RFLP تشخیص داده شده است)
- تبصره: در هر صورت در گزارش فارسی یا انگلیسی می بایست نام موتاسیون و نتیجه بررسی غیر مستقیم) فقط محلهای گویا (ذکر شود.
۱۰. در متن فارسی امکان یا عدم امکان و یا نیاز و یا عدم نیاز به تشخیص قبل از تولد و زمان مراجعه ذکر شود. مثلا نوشته شود موتاسیون بیماریزا می باشد و احتمال ابتلاء جنین به تالاسمی بتا و ... ۲۵٪ می باشد. نیاز به مشاوره با متخصص دارد.
۱۱. هر گزارش باید جملاتی در خصوص احتمال خطا (disclaimer) داشته باشد. (ضمیمه)
۱۲. نام و نام خانوادگی و امضاء و مهر مسئول فنی و نام کارشناسی که مسئول پرونده می باشد آورده شود.

۱,۳. تشخیص قبل از تولد بتا تالاسمی: مرحله دوم

مرحله دوم تشخیص قبل از تولد تالاسمی بتا برای کسانی صورت می پذیرد که مرحله اول را قبل از بارداری و یا در هفته های اولیه بارداری انجام داده اند و وضعیت مولکولی آنها مشخص شده است.

۱,۳,۱. اعزام خانواده بعد از محرز شدن ناقل بودن زوجین صورت گیرد. بهتر است قبل از اعزام سن بارداری قبلا مشخص شده باشد (مثلا با انجام سونوگرافی). اعزام خانواده برای نمونه جنینی با هماهنگی آزمایشگاه صورت گیرد و برای اعزام خانواده جهت نمونه گیری از جنین (مثلا CVS) لازم است سن بارداری بعد از هفته دهم بارداری باشد (تایید شده از طریق سونوگرافی). توصیه می شود گروه خونی مادر مشخص شود. چنانچه خانواده به موقع مراجعه کرده باشد ترجیحا نمونه گیری بین هفته ۱۱-۱۲ صورت گیرد مگر با دلیل قابل قبول.

۱,۳,۲. نمونه CVS حتماً باید توسط فرد آموزش دیده زیر میکروسکوپ Invert یا استریوسکوپ تمیز شود و در صورت امکان بانک نمونه جنینی تهیه شود و حداقل برای ۵ سال نگهداری شود.

۱,۳,۳. نمونه جنینی می بایست به همراه DNA والدین برای تعیین موتاسیون و روش غیرمستقیم (به شرحی که در مرحله اول PND ذکر شده) مورد آزمایش قرار گیرد. نمونه جنینی برای موتاسیون والدین می بایست حداقل ۲ بار مورد آزمایش قرار گیرد. استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است. اگر تشخیص با روش تعیین توالی صورت گرفت می بایست از هر قطعه از دو طرف تعیین توالی شود.

۱,۳,۴. چنانچه در زمان نمونه گیری از جنین سن جنین بیش از ۱۴ هفته باشد توصیه می شود که نمونه جنینی جهت تعیین موتاسیون مورد بررسی قرار گیرد. در صورتی که تعیین وضعیت جنین تنها با یک روش (مستقیم یا غیرمستقیم، به دلیل کمبود وقت یا مشخص نبودن جهش یا نداشتن جایگاه گویا در خانواده) انجام می گیرد، آزمایشات لازم بر روی نمونه جنینی می بایست حداقل ۲ بار تکرار شوند. توصیه می شود آزمایشگاه بررسی های خود را جهت تکمیل ژنوتیپ یا هاپلوتیپ، برای بارداریهای احتمالی بعدی انجام دهد.

تبصره ۱: در صورتیکه مراجعه خانواده بعد از آخر هفته ۱۶ بارداری باشد و آزمایشگاه نتواند قبل از اتمام مهلت قانونی سقط درمانی به جواب برسد به شرط مطلع کردن به موقع به خانواده مقصر شناخته نمی باشد (بهتر است آزمایشگاه از خانواده رضایت نامه لازم را اخذ نماید). این مورد در صورتی صحت دارد که مراجعه خانواده به همان آزمایشگاه مرحله اول باشد.

تبصره ۲: چنانچه در بررسی مرحله دوم یا اول و دوم موتاسیون در یکی یا هر دو والد مشخص نباشد و فرصت بررسی دقیق مانند تعیین توالی وجود نداشت و یا به نتیجه نرسید استفاده از روش غیرمستقیم مجاز می باشد و بالعکس.

تبصره ۳: چنانچه آزمایشگاه محیطی در مرحله اول و دوم و یا دوم ظرف دو هفته نتوانست به نتیجه برسد ضمن ادامه آزمایشات می بایست نمونه والدین و جنینی و را طی نامه رسمی به همراه نتایج خونشناسی و نتایج بررسیهای مولکولی به عمل آمده به آزمایشگاه مرجع ارسال دارد. آزمایشگاه مرجع ظرف حداکثر یک هفته می بایست امکان یا عدم امکان تشخیص را کتباً به آزمایشگاه محیطی اعلام نماید.

تبصره ۴: چنانچه با فرض تبصره ۳ (بالا) آزمایشگاه نتواند به موقع وضعیت جنین را مشخص کند گزارش به همراه دلیل عدم تشخیص قطعی و احتمال خطر ظرف یک هفته بعد از نمونه گیری جنین به خانواده داده شود.

۱,۳,۵. در صورتیکه جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادر باشد تعیین هویت جنین (رفع شبهه با نمونه مادری) ضروری است (تعیین هویت مولکولی بطور کلی برای کلیه نمونه های جنینی توصیه می شود زیرا در مواردی می تواند خطای جابجایی نمونه را مشخص کند). در صورت نیاز بررسی کروموزومی برای CVS نیز مانند مایع آمنیون خواهد بود.

۱,۳,۶. چنانچه نمونه جنینی مایع آمنیون باشد غیر از بررسی مولکولی از جمله تعیین موتاسیون و روش غیر مستقیم (ذکر شده در مرحله اول) کشت آن انجام شود و بررسی بر روی سلولهای کشت داده شده باید انجام گیرد. در ضمن میبایست رفع شبهه مانند بالا مثلا با روش DNA typing و یا Fingerprinting انجام شود.

۱,۳,۷. توصیه می شود برای خانمهاییکه در زمان نمونه گیری جنین حداقل ۳۵ سال سن دارند (در صورت توافق خانواده) جهت اختلال عددی کروموزوم (سندرم داون) نیز بررسی شود (با هزینه مجزا). البته مبنی دستورالعمل یا سند پیشگیری از بروز سندروم داون خواهد بود.

۱,۳,۸. تبصره ۱: برای خانمهاییکه زیر ۳۵ سال سن دارند بررسی اختلالات عددی کروموزومی پیشنهاد شود (عدم پوشش بیمه به خانواده یادآوری شود) ولی برای خانمهای بالای ۳۵ سال توصیه شود. البته مبتنی بر دستورالعمل یا سند پیشگیری از بروز سندروم داون خواهد بود.

تبصره ۲: در صورتیکه نمونه برای اختلال کروموزومی بررسی می شود کشت نمونه صورت گیرد و یا QFPCR و یا روش مشابه انجام و در صورت ابتلا جنین به تالاسمی بررسی کروموزومی متوقف شود. در صورت درخواست خانواده مبنی بر عدم سقط جنین مبتلا به تالاسمی بررسی کروموزومی می تواند ادامه یابد.

۱,۳,۹. گزارش مرحله دوم بتا - تالاسمی

بعد از انجام آزمایشهای ذکر شده (بر اساس پروتکل تدوین شده) آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه کرده و به خانواده، پزشک مرکز بهداشتی، درمانی ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

۱,۳,۹,۱. گزارش می بایست شامل موارد زیر باشد:

۱. نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)

۲. شماره پرونده
 ۳. نحوه معرفی به آزمایشگاه (مرجع معرفی خانواده)
 ۴. تاریخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و یا اول و دوم)
 ۵. محل نمونه گیری از والدین و یا ارسال نمونه
 ۶. نوع نمونه جنینی و پزشک نمونه گیر
 ۷. آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)
 ۸. تاریخ و سن جنین در هنگام نمونه برداری
 ۹. تاریخ صدور گزارش
 ۱۰. نتیجه موتاسیون والدین (فرزند مبتلا یا ناقل) و جنین.
 ۱۱. نتیجه روش غیرمستقیم والدین (فرزند مبتلا یا ناقل) و جنین
 ۱۲. نتیجه نهایی وضعیت جنین و توضیح اینکه جنین سالم، مبتلا یا ناقل است.
 ۱۳. Disclaimer (ذکر احتمال خطا)
 ۱۴. نام و نام خانوادگی و امضاء و مهر مسئول فنی و نام کارشناسی که مسئول پرونده می باشد آورده شود.
- تبصره:** در صورتیکه جنین مبتلا باشد آزمایشگاه می بایست نامه ای جداگانه برای سازمان پزشکی قانونی تهیه کرده و گواهی نماید که جنین مبتلا می باشد. لازم است عکس زوجین به گواهی مربوطه الصاق و ممهور به مهر آزمایشگاه شود.

۱,۴. تشخیص قبل از تولد مرحله اول و دوم بتا – تالاسمی

چنانچه در هنگام اولین مراجعه خانواده به مرکز PND خانم باردار باشد (معمولاً از طریق سونوگرافی مشخص می شود و بعد از هفته هفتم می باشد) مرحله اول و دوم تواماً بر اساس پروتکل‌های تدوین شده فوق انجام خواهد شد.

۱,۴,۱. گزارش مرحله اول و دوم بتا – تالاسمی

بعد از انجام آزمایشهای ذکر شده (بر اساس پروتکل تدوین شده) آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه کرده و به خانواده، پزشک مرکز بهداشتی، درمانی ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

تبصره: در احتمال بروز خطا یا Disclaimer و نیز عدم اقدام به موقع و یا به جواب نرسیدن و یا در مراجعه دیر هنگام (بعد از هفته ۱۶ بارداری) و عدم امکان و یا دیر به جواب رسیدن به خانواده تذکر داده شود و در گرفتن رضایت نامه نیز اعلام شود.

جدول: Disclaimer (ذکر احتمال بروز خطا) که می بایست در تمامی گزارشات آورده شود.

It is of utmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, in DNA analysis. Incorrect diagnosis may **risk of errors** and the families themselves to be aware of the result from (1) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (2) Incomplete family (4)Paternity studies and history (3) Mix-up of DNA or blood samples both in transportation or in the lab problems, adoptions, IVF (5) Maternal contamination of CVS (6) Rare molecular events (7) New or spontaneous mutations (8) Technical errors

of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately 0.3%. The risk The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately 0.5% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be 0.5%.

We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

۲. تشخیص پیش از تولد مرحله اول برای زوجهایی مشکوک (

که یکی یا هر دو دارای ($MCV < 80$ fl, $MCH < 27$ pg $HbA2 > 3.5$ باشند)

پذیرش عمومی:

پذیرش بیمار با معرفی پزشک مشاوره ژنتیک از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک همراه فرم ارجاع (فرم شماره یک) صورت می گیرد. برای شروع آزمایشات مرحله اول تشخیص قبل از تولد لازم است خانواده به همراه نتایج کلیه آزمایشات انجام گرفته (آزمایشات خون شناسی، CBC و مقدار A2 و F) به آزمایشگاه ژنتیک اعزام شوند.

تبصره: چنانچه پذیرش بیمار از طریق معرفی پزشک متخصص صورت گیرد. باید فرم ارجاع (فرم شماره یک) از مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک توسط خانواده دریافت و به آزمایشگاه تحویل داده شود.

قبل از ورود به بحث تشخیص قبل از تولد آلفا-تالاسمی مرحله اول، باید ذکر شود که در مورد تشخیص قبل از تولد مرحله اول برای خانواده هایی که یکی ناقل بتا-تالاسمی و دیگری حالت دیگری مانند S, D, G, E, C, مشکوک به آلفا، بتای خفیف و موارد مشابه می باشد، توصیه های عمومی برای PND بتا-تالاسمی و آلفا تالاسمی رعایت شود. برای اطلاعات و وجود ضرورت یا عدم ضرورت انجام تشخیص قبل از تولد می توان به سایتهای مربوطه مانند سایتهای موسوم به globin gene server و APoGI مراجعه شود.

<http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>

<http://www.chime.ucl.ac.uk/APoGI>

مثال:

یکی از والدین ناقل قطعی بتا و دیگری مشکوک به آلفا تالاسمی است

برای فرد ناقل قطعی بتا مرحله اول بتا تالاسمی انجام و برای فرد مشکوک بررسی آلفا و بتا صورت می گیرد. تشخیص اینکه کدام مورد اول صورت گیرد بعهدده آزمایشگاه می باشد.

در صورتیکه در بررسی ها مشخص شد که هر دو زوج ناقل بتا-تالاسمی باشند تشخیص مانند بتا-تالاسمی ادامه پیدا خواهد کرد.

در صورتیکه آزمایشگاه موتاسیون آلفا را در فرد مشکوک مشخص کرد در صورت ضرورت می تواند وضعیت آلفا را در طرف دیگر که قطعاً ناقل بتا نیز می باشد مشخص کند. تجربه نشان داده است که در مواردی فرد ناقل گاما-دلتا-بتا-تالاسمی با مقدار A2 و F طبیعی، واجد دلتا-تالاسمی با F نرمال، جواب A2 و یا F غلط و ... باشد و حتی ممکن است مقدار MCV و یا MCH نزدیک به ۷۶ و ۲۶ داشته باشد و ازدواج با فرد ناقل بتا-تالاسمی منجر به تولد فرد مبتلا شود. لذا لازم است هر گاه یک طرف ناقل قطعی بتا-تالاسمی بود و طرف دیگر مشکوک به تالاسمی بتا یا آلفا بود، در درجه اول به علت تاکید دستور العمل کشوری به پیشگیری از تالاسمی بتا و نیز حساستر بودن این بیماری، فرد مشکوک ابتدا برای عدم ناقل بتا-تالاسمی بودن مورد آزمایش قرار گیرد. مثلاً برای رد وجود حذف می توان از RFLP های متصل به ژنهای بتا، شبه بتا، گاما استفاده کرد و یا از MLPA استفاده کرد. در خصوص رد وجود جهشهای نقطه ای بهترین روش تعیین

توالی ژن بتا گلوبین است. متاسفانه در بررسی نتایج انجام گرفته در بعضی از آزمایشگاه ها و یا نتایج CBC و وضعیت A2 و یا F اشتباه های مکرری دیده می شود. لذا دقت در اجرای موارد بالا اکیدا توصیه می شود.

بررسی ها نشان می دهد که هر گاه یکی از زوجین ناقل بتا و دیگری ناقل آلفای شدید بود، در صورتیکه نوع آلفای شدید به صورت Cis یا بر روی یک کروموزوم باشد (مثلا 20.5 kb del or MED) لازم است وضعیت آلفا تالاسمی در زوج ناقل بتا دقیقا مشخص شود (با روش تعیین توالی کامل دو ژن و MLPA). بررسی جهش های شایع کفایت نمی کند. اگر فرد ناقل بتا تالاسمی ناقل آلفا تالاسمی نیز بود بر اساس دستورالعمل تشخیص قبل از تولد الفا-تالاسمی.

اگر هر دو طرف ناقل الفا-تالاسمی بودند، در چنین صورتی ضرورت مراحل PND مرحله دوم آلفا تالاسمی مانند PND آلفا تالاسمی می باشد. چنانچه یکی قطعاً بتا و دیگر فقط آلفا (ازهرنوع) باشد نیاز به PND مرحله دوم نیست.

تبصره: از آنجائیکه یکی از زوجین می تواند هم ناقل مثلاً بتا-تالاسمی و هم ناقل هموگلوبین D باشد و زوج دیگر ناقل بتا-تالاسمی و یا حالت های غیر شایعه دیگر باشد و نیاز به PND داشته باشند. لذا تصمیم به انجام یا عدم انجام مرحله اول و یا دوم PND برای دیگر حالت های هموگلوبینوپاتیها بر اساس نظر کتبی آزمایشگاه مرجع باید صورت پذیرد. برای هر PND مرحله اول و یا دوم می بایست کلیه مستندات آزمایشگاهی شامل کار برگ آزمایشگاهی (work sheet)، دفتر آزمایشات، پرونده خانواده و بقیه اسنادی که براساس آن می توان آزمایشات خانواده را پیگیری کرد وجود داشته باشد. توصیه می شود که در پرونده آزمایشگاهی هر خانواده روند کار بصورت روز شمار آورده شود.

بهرتر است کلیه آزمایشگاهها برای پذیرش خانواده ها مواردی که مورد نیاز است را به طرق مقتضی به اطلاع خانواده ها برسانند.

۲.۱. مرحله اول

۲.۱.۱. برای تشخیص قبل از تولد آلفا تالاسمی مرحله اول حتماً باید آزمایشات تعیین حذف یا موتاسیون نقطه ای صورت گیرد.

۲.۱.۲. برای بررسی آلفا تالاسمی ابتدا جهش های حذفی مورد بررسی قرار گرفته و در صورت نیاز بعد از آن موتاسیون های نقطه ای بررسی گردند. ترتیب بررسی حذف و یا جهش های نقطه ای ژن های آلفا

به عهده آزمایشگاه است (منبع) [Haematologica](#). Elucidating the spectrum of alpha-thalassemia mutations in Iran.

(2007). [Hadavi V](#), ..., [Najmabadi H](#) et al. (2007 Jul;92(7):992-3, [Hadavi V](#), ..., [Najmabadi H](#) et al. (2007). (پیوست)

۲,۱,۳. چنانچه براساس بررسیهای فوق الذکر موتاسیون مشخص نگردید باید بررسی سنتز زنجیره های ی گلوبین، بررسی با روش MLPA یا Real time PCR و یا تعیین توالی ژنهای α (با تشخیص آزمایشگاه) انجام شود. چنانچه پس از آزمایش های فوق الذکر موتاسیونی در ژنهای آلفا یافت نگردید و دلیلی برای حذف هم مشخص نگردید، متخصص ژنتیک براساس نتایج سنتز زنجیره ها و یا Real time PCR یا MLPA و تفسیر آزمایشات می تواند بررسی لازم بر روی ژن بتا را انجام دهد.

۲,۱,۴. چنانچه هر دو زوج ناقل آلفا تالاسمی باشند براساس نوع حذف و یا موتاسیون نقطه ای تشخیص قبل از تولد پیشنهاد و یا رد می شود.

تبصره ۱: چنانچه موتاسیون در هر دو والد مشخص شود و لزوم انجام PND وجود داشته باشد نمونه گیری از جنین بر اساس روش ذکر شده در مرحله دوم انجام و بررسی های لازم بر روی نمونه جنین صورت خواهد گرفت. چنانچه موتاسیون فقط در یکی از والدین مشخص شود ممکن است متخصص ژنتیک بر اساس نتایج آزمایشات هماتولوژی و سنتز زنجیره ها و یا MLPA یا Real time PCR به این نتیجه برسد که انجام آزمایش تشخیص قبل از تولد مورد نیاز است. در این حالت نمونه گیری از جنین صورت می گیرد و جنین برای موتاسیون شناخته شده مورد بررسی قرار می گیرد. اگر جنین فاقد موتاسیون شناخته شده باشد به خانواده اطلاع داده خواهد شد و اقدام دیگری مورد نیاز نیست ولی در صورتیکه موتاسیون مشخص نگردید باید وضعیت موجود کاملاً به اطلاع خانواده برسد. در چنین شرایطی آزمایشگاه باید از طریق مشاوره کتبی و ارائه خلاصه پرونده نظر آزمایشگاه مرجع را کسب نماید. آزمایشگاه مرجع موظف است حداکثر ظرف یک هفته نتیجه را به آزمایشگاه محیطی اعلام نماید.

تبصره ۲: توصیه برای تشخیص قبل از تولد مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به هیدروپس وجود داشته باشد مرحله دوم اکیداً توصیه میشود ولی چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به بیماری H (H disease) وجود داشته باشد توصیه انجام مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. در این زمینه لازم است بر اساس شواهد علمی حاصل از اجرای برنامه اصلاح مستمر تصمیم گیری توسط کمیته فنی تشخیص پیش از تولد صورت گیرد. متخصص ژنتیک می بایست کتباً در این موارد با آزمایشگاه مرجع مشورت نماید و آزمایشگاه مرجع موظف است ظرف یک هفته پاسخ را کتبا اعلام نماید (لیست آزمایشگاه و یا آزمایشگاه های مرجع و یا مورد سوال توسط اداره ژنتیک هر ساله اعلام می شود).

تبصره ۳: استفاده از چند حالتیها فقط در مواردی مجاز است که آزمایشگاه با روشهای فوق به وجود موتاسیون پی برده و مستقل از تفسیر نتایج چند حالتیها به ضرورت انجام PND رسیده باشد.

۲,۱,۵. نحوه گزارش مرحله اول آلفا تالاسمی به مراکز بهداشتی (و پزشک مربوطه) :

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه نماید و به خانواده، پزشک، مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

گزارش باید شامل حداقل موارد زیر باشد:

۱. نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲. شماره پرونده
۳. نحوه معرفی زوجین به آزمایشگاه
۴. آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش می بایستی در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)
۵. تاریخ اولین مراجعه خانواده و تاریخ دریافت نمونه خون
۶. محل نمونه گیری یا ارسال نمونه
۷. تاریخ گزارش نهایی
۸. روش یا روشهای تشخیص مولکولی
۹. نتیجه بررسی روشهای مولکولی مثلاً حذف $3,7\alpha$ - و نقطه ای Poly A
۱۰. توصیه مربوط به ضرورت و یا عدم ضرورت به انجام PND مرحله دوم
۱۱. نام و نام خانوادگی و امضاء و مهر مسئول فنی و نام کارشناسی که مسئول پرونده می باشد آورده شود

۲,۲. مرحله دوم

۲,۲,۱. ضرورت تشخیص قبل از تولد مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. چنانچه احتمال

تولد فرزندی مبتلا به هیدروپس وجود داشته باشد مرحله دوم اکیداً توصیه میشود ولی چنانچه احتمال تولد فرزندی مبتلا به بیماری H (H disease) وجود داشته باشد توصیه انجام مرحله دوم بستگی به ژنوتیپ آلفای والدین دارد. در این زمینه لازم است بر اساس شواهد علمی حاصل از اجرای برنامه اصلاح مستمر تصمیم گیری توسط کمیته فنی تشخیص پیش از تولد صورت گیرد. در هر صورت تصمیم به انجام آزمایشات به نظر متخصص ژنتیک بستگی دارد ولی آزمایشگاه می بایست کتباً

با آزمایشگاه مرجع مشورت نماید و آزمایشگاه مرجع موظف است ظرف یک هفته پاسخ را کتبا اعلام نماید.

۲,۲,۲ تبصره: متأسفانه به دلیل تفاوت در تظاهر بالینی بین افراد مبتلا به بیماری H نظر قطعی دادن ساده نیست ولی به طور کلی انواع جهش نقطه ای با مشکل بیشتری مواجه هستند تا نوع حذفی. با همه اینها همه جهش های نقطه ای شدت یکسانی ندارند. برای اطلاعات بیشتر به سایت OMIM در <http://www.omim.org/entry/613978> مراجعه شود. اطلاعات خوبی در این سایت وجود دارد.

۲,۲,۳ اعزام خانواده بعد از محرز شدن ناقل بودن زوجین و ضرورت نیاز به PND صورت گیرد. بهتر است قبل از اعزام سن بارداری قبلاً مشخص شده باشد (مثلاً با انجام سونوگرافی). اعزام خانواده برای نمونه جنینی با هماهنگی آزمایشگاه صورت گیرد و برای اعزام خانواده جهت نمونه گیری از جنین (مثلاً CVS) لازم است سن بارداری بعد از هفته دهم بارداری باشد (تایید شده از طریق سونوگرافی). توصیه می شود گروه خونی مادر مشخص شود. چنانچه خانواده به موقع مراجعه کرده باشد ترجیحاً نمونه گیری بین هفته ۱۱-۱۲ صورت گیرد مگر با دلیل قابل قبول.

۲,۲,۴ نمونه CVS حتماً باید توسط فرد آموزش دیده زیر میکروسکوپ Invert یا استریوسکوپ تمیز شود و در صورت امکان بانک نمونه جنینی تهیه شود و حداقل برای ۵ سال نگهداری شود.

۲,۲,۵ نمونه جنینی می بایست به همراه DNA والدین برای تعیین موتاسیون و روش غیرمستقیم (به شرحی که در مرحله اول PND ذکر شده) مورد آزمایش قرار گیرد. نمونه جنینی برای موتاسیون والدین می بایست حداقل ۲ بار مورد آزمایش قرار گیرد. استفاده از نمونه های مشخص شده قبلی (کنترلها) در هر مورد ضروری است. اگر تشخیص با روش تعیین توالی صورت گرفت می بایست از هر قطعه از دو طرف تعیین توالی شود.

۲,۲,۶ چنانچه در زمان نمونه گیری از جنین سن جنین بیش از ۱۴ هفته باشد توصیه می شود که نمونه جنینی جهت تعیین موتاسیون مورد بررسی قرار گیرد. در صورتی که تعیین وضعیت جنین تنها با یک روش (مستقیم یا غیرمستقیم، به دلیل کمبود وقت یا مشخص نبودن جهش یا نداشتن جایگاه گویا در خانواده) انجام می گیرد، آزمایشات لازم بر روی نمونه جنینی می بایست حداقل ۲ بار تکرار شوند. توصیه می شود آزمایشگاه بررسی های خود را جهت تکمیل ژنوتیپ یا هاپلوتیپ، برای بارداریهای احتمالی بعدی انجام دهد. استفاده از MLPA، Real time PCR، تعیین توالی و یا Gap PCR برای مشخص کردن جهش در جنین ضروری می باشد و استفاده از روش غیر مستقیم فقط به همراه و قطعی بودن نتایج روش مستقیم ارزش دارد.

تبصره: در صورتیکه مراجعه خانواده بعد از آخر هفته ۱۶ بارداری باشد و آزمایشگاه نتواند قبل از اتمام مهلت قانونی سقط درمانی به جواب برسد به شرط مطلع کردن به موقع به خانواده مقصر شناخته نمی

باشد(بهرتر است آزمایشگاه از خانواده رضایت نامه لازم را اخذ نماید). این مورد در صورتی صحت دارد که مراجعه خانواده به همان آزمایشگاه مرحله اول باشد.

تبصره ۱- چنانچه آزمایشگاه محیطی در مرحله اول و دوم و یا دوم ظرف دو هفته نتوانست به نتیجه برسد ضمن ادامه آزمایشات می بایست نمونه والدین و جنینی و را طی نامه رسمی به همراه نتایج خونشناسی و نتایج بررسیهای مولکولی به عمل آمده به آزمایشگاه مرجع ارسال دارد. آزمایشگاه مرجع ظرف حداکثر یک هفته می بایست امکان یا عدم امکان تشخیص را کتباً به آزمایشگاه محیطی اعلام نماید.

تبصره ۲- چنانچه با فرض تبصره ۲ (بالا) آزمایشگاه نتواند به موقع وضعیت جنین را مشخص کند گزارش به همراه دلیل عدم تشخیص قطعی و احتمال خطر ظرف یک هفته بعداز نمونه گیری جنین به خانواده داده شود.

۲،۲،۷ در صورتیکه جنین از نظر موتاسیون (و روش غیرمستقیم) شبیه نتایج مادر باشد تعیین هویت جنین (رفع شبه با نمونه مادری) ضروری است (تعیین هویت مولکولی بطور کلی برای کلیه نمونه های جنینی توصیه می شود زیرا در مواردی می تواند خطای جابجایی نمونه را مشخص کند). در صورت نیاز بررسی کروموزومی برای CVS نیز مانند مایع آمنیون خواهد بود.

۲،۲،۸ چنانچه نمونه جنینی مایع آمنیون باشد غیر از بررسی مولکولی از جمله تعیین موتاسیون و روش غیر مستقیم (ذکر شده در مرحله اول) کشت آن انجام شود و بررسی بر روی سلولهای کشت داده شده باید انجام گیرد. در ضمن میبایست رفع شبه مانند بالا مثلاً با روش DNA typing و یا Fingerprinting انجام شود.

۲،۲،۹ توصیه می شود برای خانمهای که در زمان نمونه گیری جنین حداقل ۳۵ سال سن دارند (در صورت توافق خانواده) جهت اختلال عددی کروموزوم (سندرم داون) نیز بررسی شود (با هزینه مجزا). البته مبنی دستورالعمل یا سند پیشگیری از بروز سندروم داون خواهد بود.

تبصره ۱- برای خانمهای که زیر ۳۵ سال سن دارند بررسی اختلالات عددی کروموزومی پیشنهاد شود (عدم پوشش بیمه به خانواده یادآوری شود) ولی برای خانمهای بالای ۳۵ سال توصیه شود. البته مبتنی بر دستورالعمل یا سند پیشگیری از بروز سندروم داون خواهد بود.

تبصره ۲- در صورتیکه نمونه برای اختلال کروموزومی بررسی می شود کشت نمونه صورت گیرد و یا QFPCR و یا روش مشابه انجام و در صورت ابتلا جنین به تالاسمی بررسی کروموزومی متوقف شود. در صورت درخواست خانواده مبنی بر عدم سقط جنین مبتلا به تالاسمی بررسی کروموزومی می تواند ادامه یابد.

۲،۲،۱۰. نحوه گزارش مرحله دوم تشخیص قبل از تولد آلفاتالاسمی به مراکز بهداشتی (و پزشک مربوطه) :

بعد از انجام آزمایشات فوق آزمایشگاه می بایست گزارش کتبی تهیه نماید و به خانواده، پزشک، مرکز بهداشتی و درمانی ویژه مشاوره ژنتیک و یا در صورت درخواست قانونی به مراجع ذیصلاح ارائه دهد.

گزارش می بایست شامل موارد زیر باشد:

۱. نام و نام خانوادگی زوجین (و فرزند)
۲. شماره پرونده
۳. نحوه معرفی به آزمایشگاه (مرجع معرفی خانواده)
۴. تاریخ مراجعه خانواده (مرحله دوم و یا اول و دوم) مشخص شود.
۵. محل نمونه گیری از والدین و یا ارسال نمونه
۶. نوع نمونه جنینی و پزشک نمونه گیر
۷. آدرس و مشخصات آزمایشگاه (گزارش در سربرگ آزمایشگاه نوشته شود)
۸. تاریخ و سن جنین در هنگام نمونه برداری
۹. سن مادر (در هنگام نمونه گیری جنینی)
۱۰. تاریخ صدور گزارش
۱۱. روش آزمایش (مستقیم، مولکولی) نتیجه موتاسیون والدین، فرزند مبتلا یا ناقل و جنین.
۱۲. نتیجه گیری نهایی وضعیت جنین و توضیح اینکه سالم یا ناقل و یا مبتلا (HbH & Hydrops Fetalis) است
۱۳. Disclaimer (ذکر احتمال خطا)
۱۴. نام و نام خانوادگی و امضاء و مهر مسئول فنی و نام کارشناسی که مسئول پرونده می باشد آورده شود.
۱۵. آدرس و مشخصات آزمایشگاه
۱۶. جدول: Disclaimer (ذکر احتمال بروز خطا) که می بایست در تمامی گزارشات آورده شود.

It is of utmost importance for all clinicians involved in the care of families requesting prenatal diagnosis, in DNA analysis. Incorrect diagnosis may risk of errors and the families themselves to be aware of the result from (1) Incorrect hematological data and clinical diagnosis for thalassemia (2) Incomplete family (4) Paternity studies and history (3) Mix-up of DNA or blood samples both in transportation or in the lab problems, adoptions, IVF (5) Maternal contamination of CVS (6) Rare molecular events (7) New or

spontaneous mutations (8) Technical errors

of error from DNA recombination in diagnosis by polymorphism is approximately 0.3%. The risk The risk of error from the various reasons mentioned above and several other factors is approximately 0.5% whereas the chances of technical error of all types of DNA analysis are estimated to be 0.5%.

We at Medical Genetics Laboratory of Dr. routinely perform both direct mutation analysis and RFLP. We also apply other QC to reduce the risk of errors to the minimum. Any feedback from our colleagues in the clinical field would be most welcomed. Comments can be given either in written form or calling us at the numbers given below or by E.mail: info@medicalgeneticslab.ir

۲,۲. تشخیص قبل از تولد آلفا تالاسمی مرحله اول و دوم

در خصوص خانواده هایکه در حین بارداری برای تشخیص قبل از تولد آلفا تالاسمی مراجعه می کنند لازم است مرحله اول به سرعت انجام و در صورت نیاز مرحله دوم انجام شود. نحوه انجام و ارائه گزارش مانند مرحله اول و دوم است.

نحوه برخورد با نمونه جنینی

۱. نمونه جنینی می بایست توسط افراد و یا مراکز مورد تائید اخذ شود. نام مراکز هر ساله توسط اداره ژنتیک اعلام خواهد شد.
۲. نمونه ها می بایست همراه کد و نام خانم مورد بررسی (مادر) تحویل آزمایشگاه شوند. در غیر این صورت مسئولیت پذیرش با آزمایشگاه می باشد ولی این مورد باید در پرونده درج و به خانواده اطلاع داده شود و تعیین هویت برای اینگونه نمونه ها اجباریست.
۳. نمونه جنینی باید توسط افراد واجد شرایط و آموزش دیده مورد دستورزی و یا تمیز کردن قرار گیرد.
۴. نمونه CV باید زیر میکروسکوپ وارونه و یا استریو میکروسکوپ تمیز و جداسازی شود.

۵. در صورتیکه جنین از نظر موتاسیون و روش غیرمستقیم شبیه نتایج مادر باشد تعیین هویت جنین ضروری می باشد (تعیین هویت مولکولی بطور کلی برای کلیه نمونه های جنینی توصیه می شود).
۶. چنانچه نمونه جنینی مایع آمنیون باشد غیر از بررسی مولکولی از جمله تعیین موتاسیون و روش غیر مستقیم (ذکر شده در مرحله اول) باید کشت شود و بررسی بر روی سلولهای کشت داده شده باید انجام گیرد و همچنین تعیین هویت DNA typing و یا Fingerprinting صورت گیرد.
۷. برای خانمهایی که در زمان نمونه گیری جنین حداقل ۳۵ سال سن دارند (در صورت توافق خانواده) جهت اختلال کروموزومی نیز بررسی های لازم صورت پذیرد.
۸. بررسی کروموزومی برای CVS نیز مانند مایع آمنیون خواهد بود.
- تبصره ۱: برای خانمهای زیر ۳۵ سال بررسی کروموزومی به خانواده در صورت واجد اندیکاسون بودن (مثلا از طریق آزمایشات Quadriple test) توصیه می شود (توضیح کافی مبنی بر عدم پوشش بیمه باید به صورت کاملاً و شفاف به خانواده توضیح داده شود).
- تبصره ۲: در صورتیکه نمونه برای اختلال کروموزومی بررسی می شود کشت نمونه باید انجام و در صورت ابتلا جنین به بیماری مورد آزمایش، بررسی کروموزومی متوقف شود. در صورت درخواست خانواده مبنی بر عدم سقط جنین مبتلا به بیماری مورد آزمایش بررسی کروموزومی می تواند ادامه یابد.