

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

توضیحات	کاربرد ندارد	نیاز به اصلاح	غیر قابل قبول	قابل قبول	روش ارزیابی	الزامات مورد نظر/سنجه		
کارکنان آزمایشگاه								
					- ارزیابی مدارک تحصیلی و سوابق کاری مسئول فنی و کارشناس (های) مسئول انجام این گروه از آزمایش ها - ارزیابی سوابق دوره های آموزشی گذرانده شده کارکنان - ارزیابی سوابق احراز صلاحیت کارکنان توسط مسئول فنی	مسئول فنی و کارشناسان مسئول بخش NGS دارای مدرک مرتبط بوده و دوره های آموزشی لازم را جهت آشنایی با الزامات فنی مرتبط دیده اند.	۱	
فرآیند قبل از انجام آزمایش								
اطلاعات لازم جهت جمع آوری نمونه، انجام آزمایش و تفسیر نتایج								
					- بررسی مستندات مرتبط با اطلاعات ارائه شده، که حداقل شامل موارد زیر باشد: - اطلاعات کلی درباره NGS و ویژگیهای عملکردی روش (عمق و پوشش) - تواناییها و محدودیت های آزمایش - مراحل آزمایش - اطلاعات مربوط به نمونه های مورد نیاز برای انجام آزمایش - مزایا و ریسک های آزمایش - هزینه های آزمایش - زمان گزارش دهی - شرایط اخذ رضایت آگاهانه و حقوق بیمار در این رابطه - نحوه برخورد در صورت وجود یافته های تصادفی (براساس آخرین دستورالعمل ACMG برای secondary findings انجام شود)	آزمایشگاه اطلاعات لازم برای گیرندگان خدمت NGS (شامل بیماران، افراد درخواست کننده آزمایش، آزمایشگاه های ارجاع دهنده و ...) را در قالب راهنما، بروشور و ... بصورت کتبی و یا الکترونیک تهیه نموده و در دسترس آنها قرار می دهد.	۲	MOL.35840

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					• مصاحبه با مسئول فنی و کارکنان ذیربط، و بررسی نحوه ارائه اطلاعات لازم به گروههای مختلف گیرندگان خدمات (بیماران، پزشکان، آزمایشگاههای ارجاع دهنده و...)		
					• بررسی وجود اطلاعات لازم همراه درخواست آزمایش حداقل شامل: - تشخیص پزشک و هدف از درخواست آزمایش NGS - اطلاعات کلینیکی و پاراکلینیکی فرد یا افراد بیمار در خانواده که موید سابقه بالینی خانواده در قالب شجره نامه، فنوتیپ بیماری و در نظر گرفتن تشخیص های افتراقی باشد - سوابق آزمایشات ژنتیکی که قبلا انجام شده	۳	اطلاعات لازم برای انجام آزمایش همراه درخواست آزمایش ارائه شده و در آزمایشگاه ثبت می گردد.
شرایط ارجاع و انتقال نمونه							
					• بررسی سوابق اطلاعات ارسالی همراه نمونه های ارجاع شده، در آزمایشگاه های ارجاع دهنده • بررسی سوابق اطلاعات دریافت و ثبت شده از نمونه های ارجاعی در آزمایشگاه های ارجاع	۴	MOL.35845 در مورد نمونه های ارجاعی، کلیه اطلاعات مورد نیاز جهت انجام آزمایش، که بر آنالیز نتایج تاثیرگذار هستند، همراه نمونه ارسال می شود.
					• بررسی سوابق ارزیابی و حصول اطمینان از کیفیت عملکرد آزمایشگاه ارجاع • بررسی مجوزها، گواهینامه ها و اعتبار نامه های آزمایشگاه ارجاع که از سازمان ها و مجامع معتبر بین المللی و یا مراجع مسئول مجاز داخلی اخذ شده	۵	آزمایشگاه دارای یک خط مشی مکتوب و مشخص جهت انتخاب و ارزیابی آزمایشگاه های ارجاع برای آزمایش NGS می باشد.
					- بررسی قرارداد بین آزمایشگاه ارجاع دهنده و آزمایشگاه ارجاع و اطمینان از مشخص بودن حداقل موارد زیر در قرارداد: - مسئولیت جمع آوری و تهیه نمونه، و ارسال اطلاعات لازم همراه نمونه - مسئولیت انتقال نمونه و رعایت شرایط لازم برای انتقال	۶	چنانچه آزمایشگاه به لحاظ ارسال یا پذیرش نمونه NGS، با آزمایشگاه های دیگر ارتباط دارد، قرارداد مشخصی که نحوه ارتباط و مسئولیت دو آزمایشگاه ارجاع دهنده و ارجاع را مشخص نماید، مکتوب شده است.

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					- زمان چرخه کاری انجام آزمایش های مختلف و آماده شدن نتایج - نحوه گزارش دهی و افراد مسئول ارسال و دریافت گزارش ها در دو آزمایشگاه ارجاع و ارجاع دهنده - نحوه ارتباط مالی دو آزمایشگاه - نحوه رفع مشکلات و حل اختلافات - مدت اعتبار و زمان بازنگری قرارداد - فایل هایی که به آزمایشگاه ارجاع دهنده تحویل می شود - نحوه ارسال فایل ها - مدت زمان نگهداری فایل ها در آزمایشگاه ارجاع دهنده		
					• بررسی دستورالعمل های مرتبط • بررسی شواهد و مشاهده روند ارجاع و انتقال نمونه ها	۷	دستورالعمل های لازم جهت چگونگی انتقال نمونه شامل حفظ کیفیت نمونه، انتقال امن و ایمن، جلوگیری از آلودگی و اشتباه شدن نمونه ها با یکدیگر حین انتقال نمونه (در داخل آزمایشگاه و طی روند ارسال به آزمایشگاه های ارجاع) مکتوب بوده و رعایت می شود.
					• بررسی سوابق مربوط به نمونه های ارجاعی حداقل شامل: - مشخصات نمونه های ارجاعی و اطلاعات همراه نمونه - سوابق مربوط به نگهداری و زنجیره انتقال نمونه ها - سوابق ثبت و ردیابی نمونه ها و داده ها از ابتدای پذیرش آزمایش NGS تا گزارش نهایی	۸	سوابق نمونه های ارجاعی برای آزمایش NGS، در هر دو آزمایشگاه ارجاع دهنده و ارجاع تا مدت زمان مقتضی نگهداری می شود.
					• بررسی سوابق نمونه های ارجاعی به خارج از کشور و اطمینان از رعایت الزامات مرتبط	۹	در صورت ارجاع نمونه به آزمایشگاه های خارج از کشور، مجوز مربوطه از وزارت متبوع گرفته شده و ضوابط بخشنامه ۳۰۷/۳۱۶ د مورخ ۱۳۹۶/۴/۳ رعایت می گردد.

پذیرش و نگهداری نمونه قبل از آزمایش						
				• بررسی رعایت اندیکاسیون های درخواست آزمایش بر اساس توانایی ها و محدودیت های آزمایش و مطابق با ضوابط ابلاغی وزارت متبوع (از جمله بررسی محدودیت زمانی - حداقل دو هفته بین دریافت خون و انجام آزمایش در بیمارانی که سابقه دریافت خون دارند و/یا تحت شیمی درمانی هستند و/یا محدودیت های انجام آزمایش بر روی نمونه خون بیمارانی که پیوند مغز استخوان داشته اند) • بررسی سوابق پذیرش و ارزیابی رعایت تعرفه های ابلاغی آزمایش (مطابق با کدهای تعیین شده در دفترچه تعرفه خدمات آزمایشگاهی ژنتیک ابلاغی توسط وزارت متبوع) • سوابق انجام مشاوره در مراکز مجاز، قبل از انجام تست NGS	۱۰	MOL.35845
				• بررسی راهنمای مکتوب معیارهای عدم پذیرش نمونه که حداقل موارد زیر در آن لحاظ شده باشد: - کیفیت یا کمیت نامناسب نمونه DNA - مخدوش یا نامشخص بودن مشخصات برچسب نمونه - عدم هم خوانی اطلاعات برگه همراه با مشخصات برچسب و کد نمونه - ناکامل بودن مشخصات مندرج در برگه اطلاعات نمونه - شکستگی یا نشت ظروف حاوی نمونه - همولیز واضح نمونه خون • مصاحبه با مسئول پذیرش، نمونه گیری و کارکنان فنی مرتبط، و ارزیابی آگاهی آنها از معیارهای عدم پذیرش نمونه	۱۱	معیارهای عدم پذیرش نمونه برای آزمایش NGS مشخص و مکتوب بوده، و افراد ذی ربط مانند مسئول پذیرش و نمونه گیری و کارکنان فنی آگاهی کامل از این معیارها داشته و قبل از پذیرش و انجام آزمایش، این معیارها را مورد بررسی قرار می دهند.

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					بررسی شواهد و سوابق تماس با پزشکان، آزمایشگاه ارجاع دهنده یا مراجعین	۱۲ تمهیداتی برای تماس به موقع با پزشک و مراجعین در موارد ضروری (مثلا مواردی که لازم است در مورد اشکال در کمیت یا کیفیت نمونه اطلاع رسانی شود) پیش بینی شده است.	
					- بررسی دستورالعمل های مرتبط - بررسی مکان و شرایط نگهداری نمونه ها قبل از انجام آزمایش جهت حصول اطمینان از رعایت موارد لازم از جمله شرایط فیزیکی، پیشگیری از آلودگی و دسترسی غیر مجاز،...	۱۳ نمونه ها قبل از انجام آزمایش در شرایط مناسب نگهداری می شوند	
					فرآیند انجام آزمایش		
					تولید داده NGS		
					- بررسی مستندات مرتبط با روش صحه گذاری/تصدیق - بررسی سوابق انجام صحه گذاری/تصدیق روش آزمایش	۱۴ روش آزمایشگاه جهت صحه گذاری/تصدیق کیت ها و مواد مصرفی قبل از انجام آزمایش مشخص بوده و به اجرا در می آید.	
					- بررسی دستورالعمل های مرتبط این فرایند که باید شامل: - توصیف مناطق هدف (مثلا ژن های موجود در پانل، اگزوم، ژنوم یا دیگر مناطق هدف مانند اینترون ها یا سایت های پروموتور) - توصیف نمونه های قابل قبول که برای آن ها آزمون تایید شده است (مثلا خون، بزاق، نمونه های FFPE)، شامل تعریف حداقل الزامات نمونه برای انجام آزمون - در صورت کاربرد، روش ها و مواد مورد استفاده برای جداسازی اسیدهای نوکلئیک و تبدیل آنها به کتابخانه NGS - روش ها و مواد مورد نیاز برای غنی سازی مناطق هدف (در صورت کاربرد) - روش ها و مواد مورد استفاده برای نشان دار نمودن مولکولی/بارکد گذاری نمونه های pool شده (در صورت کاربرد)	۱۵ آزمایشگاه دارای روش اجرایی مکتوب برای انجام فرایند های آزمایش wet- lab می باشد.	MOL.36010

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					- کنترل های مورد استفاده در فرآیند wet bench (به عنوان مثال، کنترل برای نشان دادن محدودیت های تشخیص یا کنترل دارای جهش های شناخته شده) - پلت فرم تعیین توالی و نسخه (version) مواد مورد استفاده در توالی یابی و مواد مصرفی (به عنوان مثال flow cells و تراشه ها) - نرم افزار های نصب شده بر روی دستگاه توالی یابی و نسخه آنها که برای داده ها و فرمت خروجی (به عنوان مثال فایل های FASTQ) استفاده شده		
				• بررسی برنامه تضمین کیفیت که باید شامل متریکس ها و پارامترهای کنترل کیفی باشد • کاربرد آن برای پایش و ارزیابی عملکردهای آنالیز بر اساس هر ران آنالیز، و همچنین در پایش دوره ای است. • بررسی سوابق پایش برنامه تضمین کیفیت توسط مسئول فنی، مشتمل بر شناسایی انحرافات و موارد نامنطبق • بررسی سوابق اقدامات اصلاحی انجام شده و تایید برطرف شدن مشکل توسط مسئول فنی آزمایشگاه	آزمایشگاه از یک برنامه تضمین کیفیت مکتوب برای فرایند آنالیز تبعیت می کند.	۱۶	MOL.36125
				بررسی مستندات مرتبط با معیارهای رد نتایج : معیارها باید بر اساس ماتریکس ها و پارامترهای کنترل کیفی باشد که در طول بهینه سازی تست و اعتبار سنجی تعیین شده و باید مشخص باشد چه زمانی فرایند wet bench شکست خورده و نباید پردازش بیشتر نمونه صورت گیرد. برخی از این معیار ها شامل موارد زیر است: ۱) توزیع اندازه قطعات نوکلئیک اسید پس از قطعه سازی (fragmentation) ۲) غلظت کتابخانه NGS و توزیع اندازه آن ۳) تراکم کلاستر در flow cell	معیارهای پذیرش و عدم پذیرش نتایج حاصل از فرایند wet lab و dry lab مشخص و مکتوب است.	۱۷	MOL.36015

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					۴) توزیع امتیازهای کیفیت بازی قطعات خوانش شده ۵) درصد قطعات خوانش شده که با توجه به فیلتر های کیفیتی دستگاه توالی یابی قابل قبول هستند ۶) تعداد کلی قطعات خوانش شده تولیدی ۷) تناسب حجم فایل FASTQ خروجی (bytes) با تعداد بازهای تولید شده ۸) درصد read های map شده • مصاحبه با کارکنان فنی مرتبط، و ارزیابی آگاهی آنها از معیارهای عدم پذیرش نتایج • بررسی شواهد رعایت معیارها مثلا بررسی سوابق نتایجی که پذیرش نشده اند • بررسی سوابق ارزیابی نتیجه های مورد قبول، جهت اطمینان از رعایت شرایط مورد نظر			
					• سوابق و مدارک زیر باید در آزمایشگاه وجود داشته باشد: - دستورالعملی که فرایند پایش ارتقاء ها را مشخص کند. - سوابق فعالیت های پایش و ارزیابی - سوابق صحت گذاری/تصدیق مجدد/تأیید اطلاعات از جمله نوع ارتقا، و متریکس ها و پارامترهای کنترل کیفی (QC) پایش شده برای ارزیابی عملکرد آنالیزی - تاییدیه مسئول فنی آزمایشگاه جهت صحت گذاری/تصدیق/تصدیق مجدد و تغییرات پروتکل - تاریخ اجرا	آزمایشگاه (در صورت کاربرد) برنامه مدونی برای پایش، استقرار و ثبت ارتقاها و تجهیزات مربوط به تجهیزات، شیمی تعیین توالی و مواد و کیت های مورد استفاده در تولید داده NGS دارد. این برنامه مدون در قالب دستورالعملی مکتوب برای پایش و اجرای دوره ای ارتقاها و نرم افزاری، شیمی و تجهیزات، تهیه شده و متناسب با آن دستورالعمل، آزمایشگاه نشان می دهد که به ویژگیهای عملکردی قابل قبولی دست می یابد.	۱۸	MOL.36035
					• بررسی سوابق و ثبت موارد استثناء توسط مسئول فنی آزمایشگاه یا فرد منتصب وی • بررسی سوابق هر گونه اقدام اصلاحی که در نتیجه این بررسی ها صورت گرفته است.	ثبت موارد عدم انطباق: آزمایشگاه نمونه هایی که مراحل طی شده برای آنها از روش های اجرایی مکتوب پیروی نمی کنند را ثبت می کند.	۱۹	MOL.35860

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					• ارزیابی سیستم کنترل موجودی برای کیت ها و مواد مصرفی	آزمایشگاه تمهیداتی جهت مدیریت موجودی کیت و مواد مصرفی آزمایش NGS در نظر گرفته است.	۲۰	
					• بررسی مستندات مرتبط با پیش بینی شرایط پشتیبان جهت جلوگیری از ایجاد وقفه در انجام کار	آزمایشگاه تمهیداتی را برای پیشگیری از وقفه کار و انجام آزمایش در نظر گرفته و مکتوب نموده است.	۲۱	
آنالیز داده NGS								
					• بررسی مستندات مرتبط با مراحل آنالیز داده ها به تفکیک • بررسی مستندات مرتبط با سوابق و نحوه کنترل کیفی داده ها	دستورالعمل تعیین مراحل کار (work flow) آنالیز داده های NGS تهیه شده و مورد استفاده قرار می گیرد.	۲۲	
					• پارامترهای مهم QC که باید قبل از انجام فرایند فراخوانی جهش، بر روی فایل FASTQ بررسی و ثبت شود: ○ توزیع امتیاز بازها ○ توزیع طول خوانش ها ○ درصد خوانش های N ○ نمودار درصد خوانش های تکراری ○ درصد محتوای آدپتوری ○ نمودار درصد احتمالی فراخوانی بازهای DNA از دستگاه ○ نمودار درصد محتوای GC - تک تک application ها و دیتابیس های استفاده شده و flags یا سایر آیتم های configuration که برای راه اندازی و اجرای پایپلاین لازم است. - سایر مراحل یا اسکریپت های به کار رفته جهت اتصال application های مجزا در یک پایپلاین	دستورالعمل مکتوب جهت ثبت فرایندهای بیوانفورماتیک (پایپلاین) مورد استفاده جهت آنالیز داده، در آزمایشگاه مشخص شده است.	۲۳	MOL.36105

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

				- در صورتیکه خود آزمایشگاه ابزار یا پایلانی را راه اندازی کرده است، سوابق تست های انجام شده، نتایج اجرایی و کد های مربوطه - ثبت assembly توالی رفرانس، ورژن، منبع و URL محل دانلود assembly مرجع و هرگونه تغییری که در فایل رفرانس اعمال شده، جهت application هایی که به توالی رفرانس جهت alignment توالیهای خوانش شده احتیاج دارند. - توصیف اطلاعات و یا فایل های داده ورودی و خروجی در هر مرحله از فرایند - معیارها و حدود آستانه اختصاصی (۹-۳-۱-۵ استاندارد) تعریف شده جهت ورود داده های حاصل از مرحله فراخوانی واریانت (Variant calling) به مراحل آنالیز، طبقه بندی و تفسیر واریانت (به عنوان مثال حداقل read coverage depth، امتیاز کیفیت واریانت یا نوکلئوتید، درصد allelic read) - فرایندهای بیوانفورماتیکی و آستانه های مورد قبول جهت مرحله اولویت بندی و شناسایی واریانت ها/ژن های مسبب یا کاندید (در صورت کاربرد) - معیارهای پذیرش و عدم پذیرش نتایج به دست آمده از پایپلاین آنالیز داده. این معیارها باید بر اساس متریکس ها و پارامترهای کنترل کیفی تعیین شده در مراحل بهینه سازی آزمایش باشد. • ارزیابی و اطمینان از دسترسی کارکنان مرتبط به دستورالعمل ها و اطلاعات پایپلاین		
MOL.36115	۲۴	صحه گذاری/تصدیق پایپلاین توسط آزمایشگاه انجام گرفته است.	• بررسی سوابق صحه گذاری/تصدیق، مشتمل بر متریکس ها و پارامترهای QC که قبلا جهت استقرار و ارزیابی عملیات بیوانفورماتیکی استفاده شده است. نکته: در شرایطی که فرایندهای آزمایشگاهی تولید داده و فرایندهای آنالیز داده توسط ترکیبی از دو آزمایشگاه تولید کننده داده و			

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					آزمایشگاه پردازنده داده انجام می شود، لازمست مسئول فنی آزمایشگاه پردازنده داده، سوابقی مبنی بر بررسی و مرور مراحل صحنه گذاری/تصدیق های آزمایشگاه تولید داده را نیز ارائه دهد.		
					- ارزیابی سوابق صحنه گذاری/تصدیق مجدد و/یا مطالعات تاییدی، مشتمل بر متریکس ها و پارامترهای QC که قبلا جهت استقرار و ارزیابی عملیات بیوانفورماتیکی استفاده شده است. - بررسی تاییدیه کتبی صحنه گذاری/تصدیق های مجدد توسط مسئول فنی آزمایشگاه	۲۵	MOL.36125
					- بررسی دستورالعمل پایش pachها، ارتقاها و به روز رسانی ها (در این دستورالعمل باید مشخص شود که در چه فواصلی پایش و به روز رسانی ها انجام می شوند). - ارزیابی سوابق فعالیتهای پایشی - بررسی سوابق صحنه گذاری/تصدیق های مجدد مشتمل بر نوع ارتقاء نرم افزاری و اینکه چه متریکس ها و پارامترهای کنترل کیفی (QC) جهت ارزیابی عملکرد آنالیزی استفاده شده است - بررسی تاییدیه مکتوب صحنه گذاری/تصدیق های مجدد توسط مسئول فنی - تاریخ به روز رسانی یا ارتقا	۲۶	MOL.36135
					- بررسی بسته نرم افزاری، scriptها و دیتابیس ها به همراه شماره های ورژن و configuration item آنها، که برای هر گزارش NGS/ بیمار باید مشخص شده باشد. - اشاره به پایپلاین به صورت کلی، بر اساس نامگذاری اختصاصی آزمایشگاه (به عنوان مثال: NGS پایپلاین v1.01) و/یا وارد کردن log file (در صورتیکه به ازای هر آنالیز از یک dataset بیمار تولید می شود)، قابل قبول است.	۲۷	MOL.36145

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					- بررسی پایگاه های اطلاعاتی که حداقل شامل اطلاعات جمعیتی، پیش بینی اثر واریانت و میزان حفاظت شدگی واریانت باشد. - پایگاه های اطلاعاتی اختصاصی می تواند مشتمل بر داده های قبلی آن مرکز و یا سایر مراکز NGS مرتبط باشد.	پایگاه های اطلاعاتی مشخصی (عمومی یا اختصاصی) جهت آنالیز داده های NGS تعیین شده و مورد استفاده قرار می گیرد.	۲۸	
تایید نتایج NGS								
					- بررسی مستندات مرتبط با خط مشی شامل اندیکاسیون های آزمایش تاییدی (بررسی های مرتبط ژنوتیپ - فنوتیپ) - بررسی سوابق انطباق با خط مشی آزمایش تاییدی - سوابق بررسی دوره ای انطباق نتایج آزمون NGS با نتایج آزمایشات تایید کننده	آزمایشگاه دارای یک خط مشی مکتوب برای نحوه تایید انواع واریانت های گزارش شده است.	۲۹	MOL.35850
فرآیند پس از انجام آزمایش (این قسمت از چک لیست برای بررسی آزمایشگاه هایی که مسئول تفسیر نهایی و گزارش دهی نتایج آزمایش NGS هستند، مورد استفاده قرار می گیرد).								
گزارش دهی نتایج								
					- بررسی دستورالعمل های مرتبط با زمان چرخه کاری و محدوده زمانی برای انجام هر آزمایش و گزارش نتایج - بررسی سوابق گزارش نتایج طی مدت زمان تعیین شده	نتایج آزمایش، ظرف مدت زمان تعیین شده برای آماده شدن نتایج، به پزشک/ مرکز ارجاع کننده گزارش می گردد.	۳۰	MOL.36155
					- بررسی دستورالعمل فرایند به کار رفته جهت طبقه بندی، تفسیر و گزارش دهی واریانت های تعیین توالی شده - بررسی سوابق انطباق با دستورالعمل موجود برای طبقه بندی، تفسیر و گزارش دهی واریانت ها - بررسی دیتابیس واریانت های شناسایی شده و/یا گزارش شده آزمایشگاه - بررسی سوابق آنالیز داده ها	تفسیر و گزارش دهی نتایج بر اساس استانداردها و دستورالعمل های تخصصی گزارش دهی NGS ارائه می گردد.	۳۱	

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					• بررسی سوابقی که نشان دهد ارزیابی مجدد واریانت ها در دوره های زمانی تعیین شده توسط آزمایشگاه انجام می شود. • ارزیابی سوابق اقدامات انجام شده زمانیکه واریانت ها دچار تغییر طبقه بندی می شوند.	۳۲	دستورالعمل مدونی جهت ارزیابی دوره ای گزارش های قبلی NGS در آزمایشگاه وجود دارد که در آن شرایط و فواصل زمانی ارزیابی مجدد گزارش ها تعیین شده است.
					• بررسی سیاست مدون آزمایشگاه در رابطه با نحوه و دلیل گزارش یافته های ژنتیکی نامرتبط با هدف بالینی آزمایش (در صورت وجود) • بررسی سوابق رضایت آگاهانه بیماران در ارتباط با یافته های ژنتیکی تصادفی یا ثانویه • گزارش دهی variant به مریض ACMG • سیاست آزمایشگاه در رابطه با Follow up جهش های ناشناخته چیست (reanalysis) • post –test genetic counseling	۳۳	آزمایشگاه دارای سیاست مشخصی جهت گزارش دهی یافته های ژنتیکی تصادفی (یا ثانویه) می باشد.
نگهداری نمونه ها و گزارش ها							
					• داده های ذخیره شده باید حاوی همه فایل های لازم برای آنالیز مجدد بیماران از ابتدا تا انتها باشد. این فایل ها معمولاً شامل موارد زیر می باشند: - ردیابی هویت نمونه ها، فایل ها و داده های متریکس کیفیت، گزارش متریکس کیفیت توالی یابی، فایل نقشه برداری، واریانت هایی که به صورت دستی بررسی شده اند و فایل های مرتبط با واریانت ها و تفسیر آنها . - نمونه هایی از فایل های نگهداری شده ممکن است شامل VCF، BAM، FASTQ و مشتقات آن باشند. • بررسی خط مشی مکتوب که شامل نوع فایل ها و مدت زمان نگهداری هر کدام باشد. (فایل توالی fastq حداقل به مدت دو سال و فایل توالی vcf به مدت ۵ سال نگهداری شود).	۳۴	آزمایشگاه دستورالعمل مشخصی برای مدت زمان نگهداری نمونه ها، نتایج و فایل های خام داده های NGS تهیه نموده و به اجرا درآورده است.

چک لیست ارزیابی تضمین کیفیت آزمایش های NGS

ویرایش:
مرداد ۱۴۰۳

					ارزیابی سوابق نگهداری داده ها مطابق با خط مشی تعیین شده			
					- بررسی استفاده از پروتکل های امن و رمزگذاری شده برای انتقال داده ها (e.g. SFTP, HTTPS, FTPS) تأیید سیستم و هویت کاربر، ثبت فعالیت ها، رمزگذاری، محدودیت دسترسی و پشتیبان گیری صحیح اطلاعات - بررسی سوابق پارامترهای امنیتی و پروتکل های انتقال و ذخیره داده های NGS ، از جمله رمزگذاری، کنترل دسترسی فیزیکی و مجازی به داده ها، پشتیبان گیری سیستم - بررسی سوابق دیجیتالی برای داده های ارسال شده NGS شامل فایل های داده ای مرتبط، سیستم های ارسال کننده و پذیرنده و	اقدامات لازم جهت حصول اطمینان از محرمانه بودن، امنیت و یکپارچگی داده ها در حین ذخیره سازی داخلی و خارجی اطلاعات و انتقال داده های NGS از سوی آزمایشگاه به اجرا در می آید.	۳۵	MOL.35865

نکات تکمیلی:

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

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

منابع مورد استفاده:

(۱) استاندارد ISO 15189: 2022

(۲) استاندارد آزمایشگاههای پزشکی ویرایش ۱۳۹۷، ابلاغی معاونت درمان- وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی طی بخشنامه ۴۰۰/۵۳۶۶ د مورخ ۱۳۹۷/۳/۹

3) Bennett RL at al. Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. Genet Couns. 2008 Oct;17(5):424-33.

- 4) Brownstein CA et al. An international effort towards developing standards for best practices in analysis, interpretation and reporting of clinical genome sequencing results in the CLARITY Challenge. *Genome Biol.* 2014;15(3).
- 5) Clinical Tests Arch Pathol Lab Med. Association for Clinical Genetic Science (ACGS) practice guidelines for Targeted Next Generation Sequencing Analysis and Interpretation.
- 6) CLSI standard MM09-A2 Nucleic Acid Sequencing Methods in Diagnostic Laboratory
- 7) European Society of Human Genetics. *Eur J Hum Genet.* 2013 Jun;21 Suppl 1:S1-5.
- 8) Green RC1, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med.* 2023 Jul;15(7):565-74.
- 9) Lubin IM, McGovern MM, Gibson Z, Gross SJ, Lyon E, Pagon RA, Pratt VM, et al. Clinical perspective about molecular genetic testing for heritable conditions and development of a clinician friendly laboratory report. *J Mol Diagn.* 2009 Mar;11(2):162-71.
- 10) Rehm HL et al. Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for nextgeneration sequencing. *Genet Med.* 2013;15(9):733-47.
- 11) Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015 May;17(5):405-24.
- 12) Scheuner MT, Hilborne L, Browne J, Lubin IM, et al. A report template for genetic tests designed to improve communication between the clinician and the laboratory. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012 Jul;16(7):761-9.
- 13) van El CG, et al; ESHG Public and Professional Policy Committee. Whole-genome sequencing in health care: recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur J Hum Genet.* 2013 Jun;21(6):580-4.
- 14) Weiss, Van der Zwaag et al. Best practice guidelines for the use of next-generation sequencing applications in genome diagnostics: a national collaborative study of Dutch genome diagnostic laboratories. *Hum Mutat* 2013; 34:1313-21.
- 15) Yang, et al. *N Engl J Med.* 2013 Oct 17;369(16):1502-11, and GeneDx, Retterer et al., *Genet Med.* 2015 Dec 3).
- 16) College of American Pathologists (CAP) Molecular Pathology Checklist. 2015 http://www.cap.org/web/home/lab/accreditation/accreditation-checklists?_afLoop=684110479155191#!%40%40%3F_afLoop%3D684110479155191%26_adf.ctrl-state%3D1b36gc8uxe_17
- 17) Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2017 Feb;19(2):249-255.