

Česká společnost klinické biochemie (ČSKB ČLS JEP)
Česká společnost nukleární medicíny (ČSNM ČLS JEP) -sekce imunoanalytických metod
Společnost lékařské genetiky ČLS JEP (SLG ČLS JEP)
Referenční laboratoř MZ ČR pro klinickou biochemii

Novelizace doporučení schválená výše uvedenými odbornými společnostmi 10.11.2014

Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství

Systém provádění screeningu v 1. a 2. trimestru je dán dohodou mezi laboratořmi, gynekology a genetiky.

I. Požadavky na laboratoře

1. Podmínkou pro zařazení laboratoře do sítě laboratoří provádějících laboratorní screening vrozených vývojových vad (VVV) je doložitelné provádění minimálně 1 000 screeningových vyšetření ročně pro každý analyt, což platí pro biochemické markery 1. nebo 2. trimestru, aby byly spolehlivě určeny mediány pro daný gestační den.
2. Laboratoř musí mít pracovníka odpovědného za provádění laboratorních screeningových vyšetření a za systém jeho vnitřní i externí kontroly kvality (vysokoškolsky vzdělaný pracovník se specializovanou způsobilostí v klinickém laboratorním oboru).
3. Laboratoř používá účinný systém vnitřní kontroly kvality, zúčastňuje se externího hodnocení kvality nejméně ve 2 kontrolních cyklech ročně pro každý z užívaných systémů screeningu a vlastní platné příslušné certifikáty/osvědčení.
4. Laboratoř má vypracovaný postup pro odběr, transport a skladování vzorků, které provádí v souladu s požadavky na preanalytickou fázi.
5. Laboratoř musí spolupracovat s ošetřujícím gynekologem a genetickým pracovištěm. Výsledky stanovení jednotlivých analytů musí být laboratoří vydány nejpozději do tří pracovních dnů od přijetí vzorku. Výsledek je vydáván ve formě rizika vypočítaného validovaným softwarem (obvykle screening ve 2. trimestru) nebo v přímo v absolutních hodnotách naměřených biochemických markerů, přičemž riziko je vypočítáno genetickým nebo gynekologickým pracovištěm (obvykle screening v 1. trimestru). Výsledek je předáván požadujícímu gynekologickému pracovišti, které je odpovědné za další postup. Přehled pracovišť provádějící laboratorní screening VVV je veden při RL MZ ČR pro KB v Praze. Tyto informace jsou uvedeny na webové stránce - <http://www1.lf1.cuni.cz/screeningDS>
6. K hodnocení výsledků screeningu a informování o nových trendech se každý rok koná setkání odpovědných pracovníků všech laboratoří v rámci pravidelné odborné akce.

II. Sledované parametry

1. Biochemické markery screeningu VVV

Doporučené laboratorní markery pro 1. trimestr – PAPP-A, volný β hCG (optimální odběr 9+1 až 11+3 týden těhotenství), PIGF (optimální odběr 11+0 až 13+6 týden těhotenství)

Doporučené laboratorní markery pro 2. trimestr – hCG (ev. volný β hCG), AFP, uE3, (optimální odběr 15. až 17. týden těhotenství)

Požadavky na preanalytické i analytické parametry metod, stejně jako na verifikaci, výpočty nejistot a externí kontrolu kvality jsou uvedeny v příloze č. 1.

2. Ultrazvukové markery

Pro provádění screeningu v 1. trimestru těhotenství je nutné změření NT (nuchální translucence) dle metodiky Fetal Medicine Foundation (FMF) – London. Vyšetření může provádět sonografista po absolvování příslušného školení s vydáním osvědčení k tomuto vyšetření ve spolupráci s FMF Londýn. Toto osvědčení je potřeba pravidelně obnovovat, aby byla zajištěna dlouhodobá kvalita měřených parametrů.

Pro spolehlivé stanovení gestačního stáří pro screening je nutné ultrazvukové vyšetření plodu. Referenční měření pro určení gestačního stáří je ultrazvukové měření CRL v 11+0 – 13+6 týdnu gravidity.

Možnost vyšetření dalších UZ markerů trizomie 21 – nosní kosti, trikuspidální regurgitace, průtoku ductus venosus (ev. dalších) během UZ vyšetření na stanovení NT a morfologie plodu – tato varianta má vyšší DR při stejné, nebo nižší FPR. Certifikace a pravidelný audit pro obnovování licence je prováděn pro každý marker (NT, NB, TR, DV) zvlášť. Sonografista je ve screeningu oprávněn použít pouze ty markery, pro něž má platnou licenci.

III. Vydávání výsledků - výpočet rizika

Výpočet rizika vrozené vývojové vady musí být prováděn pomocí spolehlivého validovaného počítačového programu, který upozorňuje na zvýšené riziko nejdůležitějších aneuploidií – trizomie 21. chromozomu (Downův syndrom), 18. chromozomu (Edwardsův syndrom) a 13. chromozomu (Patauův syndrom). Ve 2. trimestru na defekt neurální trubice (NTD).

IV. Možnosti provádění screeningu Downova syndromu

1. Sekvenční varianta integrovaného testu

Sekvenční varianta integrovaného testu vychází z teoretického modelu integrovaného testu, který má nejvyšší výtěžnost, ale v praxi se nepoužívá.

10+0 -11+3: PAPP-A, resp. volný β hCG, ev. PIGF

11+3 - 13+6: měření NT sonografistou certifikovaným a pravidelně auditovaným u FMF Londýn

Předběžné vyhodnocení testu, vysoce pozitivní screening (obvykle riziko vyšší než 1:30) řešit okamžitě.

Ostatní těhotné ženy pokračují do 2. trimestru

15+0 – 20+0: AFP, hCG, uE3

Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření.

V místech, kde není možné nabídnout spolehlivé měření NT je doporučován **sérum integrovaný test**, který vyhodnocuje pouze biochemické markery stanovené v krvi v obou trimestrech.

Oddělené vyhodnocování screeningu v 1. a 2. trimestru není doporučováno a je považováno za postup non lege artis!

2. Kombinovaný test

10+0-13+6: PAPP-A, volný β HCG, ev. PIGF

11+3 – 13+6: změření NT sonografistou certifikovaným a pravidelně auditovaným u FMF Londýn

Výtěžnost tohoto testu je vyšší při odběru biochemických markerů v 10. – 11. týdnu než při odběru ve 13. týdnu.

3. Biochemický screening v 2. trimestru – (triple nebo double test)

15+0 – 20+0: AFP, hCG, resp. uE3

Samostatně prováděný je vhodný pro ženy, které se dostaví pozdě na vyšetření v 1. trimestru, nebo při později zjištěné graviditě.

Falešná pozitivita a výtěžnost

	Falešná pozitivita při 85% výtěžnosti	Výtěžnost při 5% falešné pozitivitě
Integrovaný/sekvenční test	0,8 - 1,2 %	94%
Sérum integrovaný test	2,7 - 5,2 %	85%
Kombinovaný test	3,8 - 6,8 %	85%
Triple nebo double test	9,3 - 14 %	69%

Rozmezí u FP závisí na týdnu těhotenství, ve kterém je test prováděn

V. Neinvazivní prenatální testování (NIPT)

Neinvazivní prenatální testování (NIPT) je novou, moderní technikou využívající masivní paralelní, nebo cílené sekvenování volné DNA (cfDNA) v krvi matky pro přesnou detekci chromozomálních vad plodu. Základním rozdílem z pohledu získávané informace je skutečnost, že NIPT vyhodnocuje přímo genetickou výbavu plodu, kdežto standardní screening pro hodnocení využívá surogátních parametrů asociovaných s hledaným onemocněním. Tento nový způsob testování chromozomálních vad plodu byl zaveden do praxe roku 2011. Zavedením NIPT došlo k výraznému zlepšení parametrů screeningu u těhotné populace. NIPT přináší těhotným ženám velmi přesné informace v brzkém stádiu těhotenství, ale v současné době jej stále nemůžeme považovat za diagnostickou metodu. NIPT nabízí jednoduchost provedení a vysokou přesnost bez obavy z invazivního zákroku. Jednotlivé neinvazivní testy se od sebe mohou odlišovat způsobem vyjádření výsledku, přesností, spektrem vyšetřovaných onemocnění a možnostmi použití.

1. Vlastnosti mimobuněčné DNA (cfDNA) v maternální cirkulaci

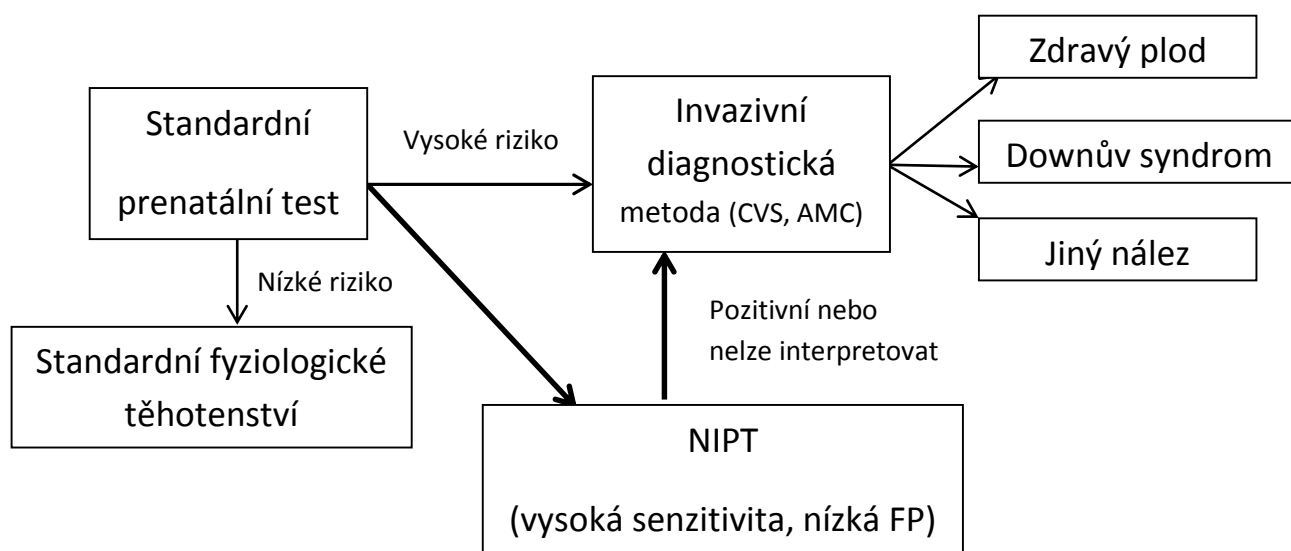
V plazmě matky lze identifikovat jak mateřskou mimobuněčnou DNA, která pochází z bílých krvinek nebo jiných mateřských tkání, tak mimobuněčnou DNA fetálního původu, která pochází z placenty.

Mimobuněčná DNA je tvořena relativně malými fragmenty (150-200 bp), které reprezentují kompletní genetickou informaci. Fetální DNA tvoří 4-25% z celkové mimobuněčné DNA (průměrně ~10%).

3. Provádění NIPT

NIPT je možno provádět od 10. týdne těhotenství, při čemž pro validní výsledek se doporučuje stanovení fetální frakce (obsahu cffDNA plodu), které by měla být vyšší než 4%. V současné době je možné test provádět buď jako základní screeningový test také u nízkorizikové populace, nebo může být proveden v kontingenčním režimu pro ověření pozitivních výsledků získaných standardním způsobem screeningu.

NIPT v režimu kontingenčního testu při provádění standardního screeningu



Efektivita standardního screeningu versus NIPT

Předpoklad: 100.000 těhotných žen, prevalence Downova syndromu 1:500

Typ screeningu	senzitivita (%)	FPR (%)	Počet identifikovaných plodů s DS	Počet FP výsledků	PPV testu
Kombinovaný test	90	5	180	4,991	1 z 28 (3,57 %)
Integrovaný test	90	2	180	1,996	1 z 12 (8,33 %)
cfDNA test	99	0,2	198	0,4	1 ze 2 (50 %)

Toto doporučení je v souladu s doporučením České gynekologické a porodnické společnosti (ČGPS) a Společnosti lékařské genetiky (SLG) ČLS JEP. (viz Přílohy č. 2 a 3)

Zkratky

hCG – lidský choriový gonadotropin

volný β hCG – volná beta podjednotka choriového gonadotropinu

AFP - alfa 1 fetoprotein

uE3 – volný estriol

PAPP-A – specifický těhotenský protein A

PIGF – placentární růstový faktor

RIA – kompetitivní radioimunoanalýza

IRMA – sendvičová radioimunoanalýza

TRACE – fluorescenční imunoanalýza patentovaná B.R.A.H.M.S.

DR – Detection rate – výtěžnost

PPV – Positive predictive value

FPR – False positive rate – falešná pozitivita

CRL – temeno-kostrční vzdálenost

UZ markery - ultrazvukové markery

NT - nuchální translucence

NB – Nose bone – nosní kost

TR – Trikuspidální regurgitace

DV – Ductus venosus

FMF - Fetal Medicine Foundation – Nadace fetální medicíny z Londýna

cfDNA – cell free DNA – mimobuněčná DNA

cffDNA – cell free fetal DNA – mimobuněčná DNA fetálního původu

CVS – Odběr choriových klků

AMS – aminocentéza

RfB - Referenzinstitut für Bioanalytik

UK NEQAS - United Kingdom National External Quality Assessment Schemes

SEKK – Systém externí kontroly kvality

Literatura

Driscoll DA, Gross S.: Prenatal Screening for Aneuploidy. N Engl J Med 2009;360:2556-2562.

Loucký J, Springer D, Zima T: Možnosti screeningu Downova syndromu v České republice, Česká gynekologie, 73, 2008, 3, 160-162

Malone F, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Buckowski R, et al. First- trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. First and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. N Engl J Med 2005;353:2001-11.

Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, Board of the Canadian College of Medical Geneticists. SOGC Clinical Practice Guideline No. 187, February 2007. Prenatal Screening for Fetal Aneuploidy. J Obstet Gynaecol Can 2007;29(2):146-161.

Spencer K, Cowans NJ, Molina F, Kagan KO, Nicolaides KH. First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of preterm or early preterm delivery. Obstet Gynecol 2008;31:147-52.

Screening for Down's syndrome: UK NSC Policy recommendations 2011–2014 Model of Best Practice Available online at <http://anr-dpn.vjf.cnrs.fr/sites/default/files/NSCModel-of-Best-Practice-DS%20screening2011-2014Sept2011.pdf>

Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. Am J Obstet Gynecol 2004;191:45-67.

Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). Health Technology Assessment 2003;7:24-27

Peter Benn et al: Position Statement from the Aneuploidy Screening Committee on Behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis, April 2013. Available online at www.ispdhome.org