

## **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 laboratoří, 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  $\beta$  hCG (optimální odběr 10+0 až 11+3 týden těhotenství), PlGF (optimální odběr 11+0 až 13+6 týden těhotenství)

Doporučené laboratorní markery pro 2. trimestr – hCG (ev. volný  $\beta$  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. Ultrazukové 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 ultrazukové vyšetření plodu. Referenční měření pro určení gestačního stáří je ultrazukové 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 aneuploidii – 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  $\beta$  hCG , ev. PIGF

11+0 - 13+6: měření NT sonografistou certifikovaným a pravidelně auditovaným u FMF Londýn

Předběžné vyhodnocení testu, vysoce pozitivní screening (obvykle riziko vyšší než 1:100) 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  $\beta$  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)

**NIPT (neinvazivní prenatální testování, angl. *non-invasive prenatal testing*) je v současnosti alternativní metodou ke genetickému testování plodu v indikovaných případech hraničního rizika častých aneuploidií bez ultrazvukového nálezu.**

NIPT je moderní technikou využívající masivní paralelní, nebo cílené sekvenování volné fetální DNA (cfDNA) z krve matky pro 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 parametrů asociovaných s hledaným onemocněním. NIPT přináší těhotným ženám velmi přesné informace v brzkém stádiu těhotenství, ale nemůžeme je 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.

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%).

## Protokol provádění NIPT:

1. Základním vyšetřením pro stanovení individuálního rizika častých aneuploidíí u plodu je prenatální kombinovaný test sestávající z kombinace stanovení minimálně dvou biochemických maternálních biomarkerů v 10. – 12. týdnu (PAPP-A, free  $\beta$ -hCG) a ultrazvukového vyšetření plodu v 11. - 13. gestačním týdnu dle metodiky Nadace fetální medicíny (Fetal Medicine Foundation; fetalmedicine.org) a dle společných laboratorních doporučení CSKB.cz, CSNM.cz a SLG.cz. Výsledkem kombinovaného testu je individuální riziko nejčastějších trisomií (chromosomy 13, 18, a 21).

2. Pokud je kombinované riziko některé z vyšetřovaných trisomií vyšší nebo rovné 1/100 nebo je zjištěn pozitivní ultrazvukový nález, je indikováno kaskádové genetické vyšetření materiálu plodu získaného invazivním odběrem (CVS, aminocentéza). Týká se cca 1 - 3 % žen vyšetřovaných kombinovaným testem v závislosti na jejich věkové distribuci.

3. NIPT, jakožto screeningová alternativa invazivního vyšetření plodu, je indikováno při riziku mezi 1/101 až 1/500 a při negativním ultrazvukovém nálezu. Týká se cca 4 - 6 % vyšetřovaných žen v závislosti na jejich věkové distribuci. Pozitivní nález NIPT (při daných indikačních kritériích odpovídá cca 1 - 2 % z celkového počtu výsledků NIPT) musí být potvrzen přímým genetickým vyšetřením tkání plodu (např. amniocentézou). **Tento způsob začlenění NIPT do screeningového protokolu zvyšuje celkovou efektivitu screeningu a snižuje počet invazivních zákroků.**

4. NIPT může být indikován na základě výsledku prenatálního integrovaného testu, sérum integrovaného testu, případně i samotného testu ve II. trimestru těhotenství (riziko v rozmezí 1/101 - 1/300 s negativním ultrazvukovým nálezem). Týká se méně než 1 % výsledků integrovaného testu v závislosti na věkové distribuci vyšetřovaných žen.

5. NIPT musí být prováděno laboratoří akreditovanou dle ČSN EN ISO 15189 dle ustanovení § 28 - 29 zákona 373/2011 Sb. v platném znění. Laboratoř musí být zapojena do externí kontroly kvality (např. UK NEQAS) pro NIPT a musí pravidelně publikovat screeningové parametry (počet testů, senzitivita, FPR, FNR).

6. NIPT je indikováno po *lege artis* konzultaci lékařem se specializovanou způsobilostí v oboru lékařská genetika (odb. 208).

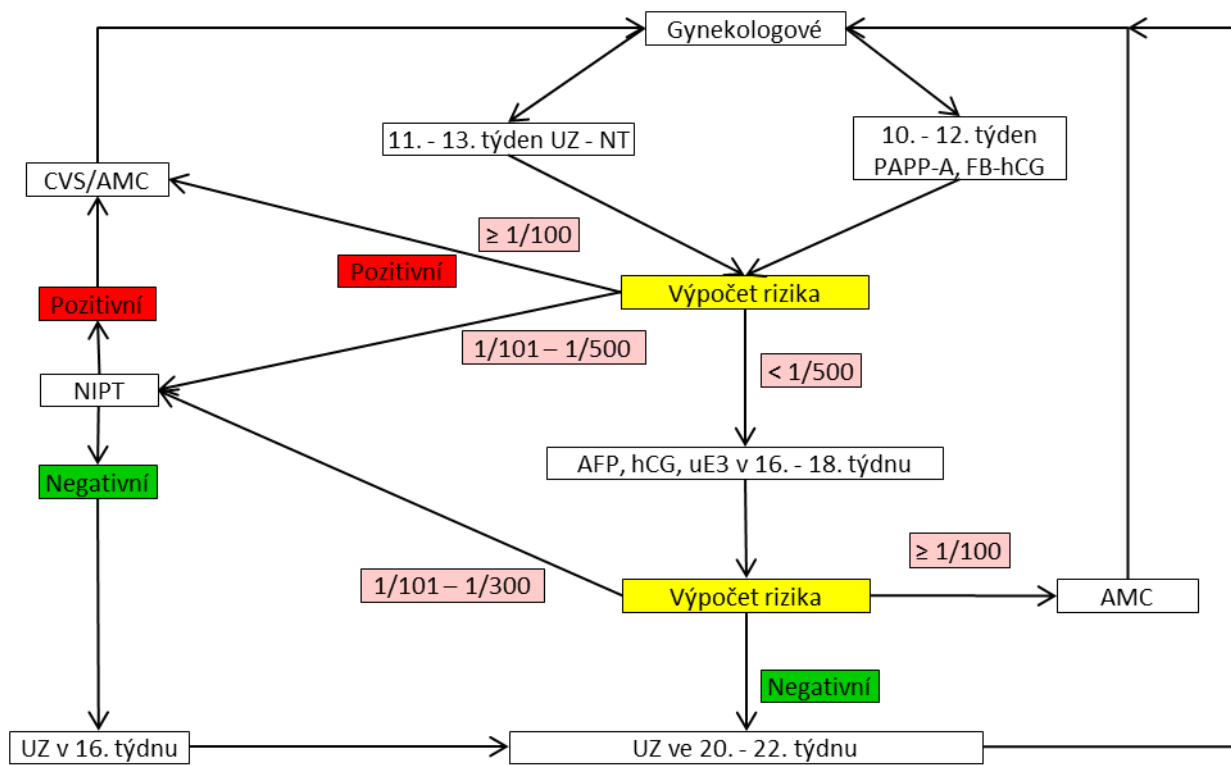
7. Biochemické části integrovaného testu v I. a II. trimestru jsou prováděny v jedné laboratoři. Oddělené vyhodnocování screeningu v I. a II. trimestru není doporučováno a je považováno za postup *non lege artis*.

### 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
<b>Kombinovaný test</b>	90	5	180	4,991	1 z 28 (3,57 %)
<b>Integrovaný test</b>	90	2	180	1,996	1 z 12 (8,33 %)
<b>cfDNA test</b>	99	0,2	198	0,4	1 ze 2 ( 50 %)

## Indikační schéma genetiké prenatalní péče



### 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

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](http://www.ispdhome.org)

Practice Bulletin No. 163 Summary: Screening for Fetal Aneuploidy *Obstet Gynecol* 2016; 127: 979–981.