TRISOMY*test*

ZDRAVÍ PLODU NENÍ HÁDANKA

Spolehlivý neinvazivní test k vyšetření Downova syndromu
a dalších trizomií plodu z krve matky

PŘÍRUČKA PRO ODBORNÍKY

TRISOMY test

ZÁKLADNÍ INFORMACE

TRISOMY test

NEINVAZIVNÍ PRENATÁLNÍ SCREENINGOVÉ VYŠETŘENÍ KE ZJIŠTĚNÍ PŘÍTOMNOSTI TRIZOMIÍ 21, 18, 13 A URČENÍ POHLAVÍ PLODU Z KRVE MATKY

TRISOMY test
pro klidné prožití těhotenství:

s vysokou citlivostí a přesností vyloučí sledované trizomie plodu již od **11. týdne gravidity,**

má **> 99 % citlivost a přesnost** sledovaných trizomií,

stanovuje výsledek **do 7 pracovních dní,**

je neinvazivní, bezpečný a téměř bezbolestný způsob testování trizomií plodu **bez rizika spojeného s invazivním odběrem (choriocentéza, amniocentéza),**

může posoudit možné falešně pozitivní výsledky prenatálního screeningu (předtím je ale nutná genetická konzultace),

minimalizuje počet nutných invazivních odběrů,

v případě zájmu určuje **pohlaví plodu,**

jeho **cena je jednou z nejnižších na trhu – 9 600 Kč, včetně DPH,**

je prováděn přímo v České republice (SPADIA LAB, a.s.)

Co je
TRISOMY test

TRISOMY TEST JE NEINVAZIVNÍ SCREENINGOVÉ VYŠETŘENÍ Z KRVE MATKY, KTERÉ DOKÁŽE S VYSOKOU CITLIVOSTÍ A PŘESNOSTÍ VYLOUČIT PŘÍTOMNOST PORUCH POČTU CHROMOZOMŮ Č. 21, 18 A 13 A URČIT POHLAVÍ PLODU JIŽ V ČASNÝCH STÁDIÍCH GRAVIDITY.

TRISOMY test zjišťuje:

trizomii 21 *(Downův syndrom),*

trizomii 18 *(Edwardsův syndrom),*

trizomii 13 *(Pataův syndrom),*

v případě zájmu také **pohlaví plodu.**

Běžně používané označení této metody jako **„NIPT“** – **N**on **I**nvasive **P**renatal **T**esting (neinvazivní prenatální testování) se vztahuje na způsob získávání vzorku. Vyšetření se provádí ze vzorku krve těhotné ženy **již od 11. týdne těhotenství, je** neinvazivní, bez jakéhokoli rizika pro plod.

TRISOMY test je vyšetřovaný v laboratoři molekulární genetiky SPADIA LAB, a.s. v Novém Jičíně, díky čemuž jsou výsledky testování známy zpravidla do 7 pracovních dní (od dne odběru při platbě u lékaře, nebo do 7 pracovních dní od následujícího dne od připsání platby na účet laboratoře).

TRISOMY test není hrazen z veřejného zdravotního pojištění, jeho cena je 9 600 Kč, včetně DPH. Cenu za laboratorní vyšetření může pacientka uhradit po dohodě s lékařem buď přímo v ambulanci platbou zdravotnickému zařízení, které TRISOMY test indikovalo, nebo převodem přímo na účet laboratoře SPADIA LAB a.s.

Pro koho
je test určen?

TRISOMY TEST MŮŽE PODSTOUPIT NA VLASTNÍ ŽÁDOST KAŽDÁ TĚHOTNÁ ŽENA, KTERÁ CHCE MÍT PO ZBYTEK TĚHOTENSTVÍ JISTOTU, ŽE JEJÍ PLOD NENÍ POSTIŽEN NĚKTEROU Z VYŠETŘOVANÝCH TRIZOMIÍ 21, 18 A 13. DLE KAŽDOROČNĚ AKTUALIZOVANÝCH ÚDAJŮ ÚZIS TVOŘÍ TYTO TRIZOMIE 63 % ZE VŠECH CHROMOZOMÁLNÍCH VAD. CHROMOZOMÁLNÍ VADY JSOU V ČR OBECNĚ PŘÍČINOU 39 % ZE VŠECH GENETICKÝCH PORUCH PLODU.

TRISOMY test

je zvlášť vhodný pro těhotné ženy, které:

- **mají zvýšené obavy** z možného postižení plodu některou z vyšetřovaných trizomií,
- budou mít v době porodu **více než 35 let** a měly negativní výsledek screeningu I. nebo II. trimestru,*
- otěhotněly **po umělém oplodnění,**
- prodělaly opakovaně spontánní potrat,*
- mají zdravotní komplikace, které mohou při amniocentéze zvyšovat riziko spontánního potratu (např. myomy dělohy, snížená srážlivost krve).

**** Vyšetření musí předcházet genetická konzultace.***

TRISOMY test

PRŮBĚH VYŠETŘENÍ

Od odběru po výsledek

PRŮBĚH VYŠETŘENÍ, OD ODBĚRU KRVE, PO ELEKTRONICKÉ ODESLÁNÍ VÝSLEDKU TESTU LÉKAŘI, TRVÁ ZPRAVIDLA 7 PRACOVNÍCH DNÍ.

Rychlost vyšetření
závisí na bezproblémovém průběhu jednotlivých kroků:

odběr krve,

doručení vzorku do laboratoře,

úhrada platby za vyšetření,

uvolnění vzorku k analýze,

laboratorní analýza a vyhodnocení získaných dat speciálním softwarem, cíleně vyvinutým pro tento test,

doručení výsledku lékaři.

Pacientka je o připsání platby na účet laboratoře informovaná SMS zprávou.

ODBĚR KRVE

Vzorek 10 ml periferní krve **by měla odebrat těhotné osoba ženského pohlaví** – zdravotní sestra. Minimalizuje se tak možnost kontaminace vzorku mužskou DNA, která by mohla ovlivnit správné stanovení pohlaví plodu (v případě žádosti o určení pohlaví plodu). Optimální je uskutečnit odběr po ukončeném 11. týdnu těhotenství. Odběr krve není nutné provádět nalačno.

Vzorek krve, odebraný do odběrového systému Streck Cell Free DNA BCT o obsahu 10 ml, nebo zkumavky s EDTA o obsahu 10 ml, je nutné označit samolepícím čárovým kódem (součást speciální žádanky), jménem a rodným číslem pacientky. Odběrovou zkumavku je potřeba po naplnění opatrně, ale důkladně promíchat **(10x otočit dnem vzhůru – NEPROTŘEPÁVAT!!!).**

DORUČENÍ VZORKU DO LABORATOŘE

Vzorek spolu s úplně a správně vyplněnou speciální žádankou, uloženou v samostatném transportním sáčku, je třeba doručit do Laboratoře lékařské genetiky, SPADIA LAB, a.s., na adresu Divadelní 2174/27, 741 01 Nový Jičín, nejpozději do 7 dní od odběru. Vzorek je uchováván při pokojové teplotě, nesmí klesnout pod 10 °C. **V případě odběru krve do zkumavky s EDTA** je nutné vzorek doručit do laboratoře nejpozději do 36 hodin, a to při teplotě 4 °C. **Vzorek nesmí být zamražen.**

ÚHRADA ZA VYŠETŘENÍ

a) Přímá platba v ambulanci

Pokud těhotná uhradí platbu za laboratorní vyšetření na místě, přímo ve zdravotnickém zařízení, je lékař povinen pacientce vydat potvrzení. Příjem platby za laboratorní vyšetření pak potvrdí na žádance na vyhrazeném místě. Laboratoř bude cenu za vyšetření fakturovat zdravotnickému zařízení v nejbližším zúčtovacím období.

b) Platba přímo na účet laboratoře SPADIA LAB, a.s.

Pokud není možné laboratorní vyšetření zaplatit v ambulanci, cenu za vyšetření uhradí pacientka co nejdříve přímo na účet laboratoře SPADIA LAB, a.s., ve které se vyšetření realizuje.

- číslo účtu: 249857560/0300
- IBAN: CZ85 0300 0000 0002 4985 7560
- do zprávy pro příjemce se zadá „Trisomy test“ a příjmení těhotné
- jako variabilní symbol použijte posledních 7 čísel kódu žádanky, který se nachází v pravém horním rohu žádanky (pod čárovým kódem)

Například: když je kód žádanky AC 331007 0, v takovém případě jako VS použijete 3310070.

Po připsání platby na účet laboratoře bude pacientce zaslána SMS zpráva. Po ukončení laboratorního vyšetření bude klientce vystaven daňový doklad a zaslán na její e-mail.

Upozornění:

Bez zadání variabilního symbolu platbu neuskutečňujte! Platby bez VS výrazně komplikují identifikaci platby a prodlužují analýzu vzorku. Vyšetření, která nebudou uhrazena, budou po uplynutí 14 dní bez náhrady zlikvidována.

UVOLNĚNÍ VZORKU K ANALÝZE

S ohledem na brzké dokončení analýzy je platbu potřeba uskutečnit co nejdříve po odběru krve. Vzhledem k finanční náročnosti vyšetření jsou na **analýzu zařazovány pouze vzorky s identifikovanou úhradou.** Termín vyšetření vzorku s opožděnou platbou, nesprávně uvedenými údaji, nebo staženou či znemožněnou identifikací platby laboratoř negarantuje.

Vzorky bez identifikované platby nebudou vyšetřeny!

Neuhrazené vzorky budou po uplynutí lhůty 14 dní bez náhrady zlikvidovány.

V LABORATOŘI: ANALÝZA A VYHODNOCENÍ DAT SPECIÁLNÍM SOFTWAREM

1. Zpracování krve

Po přijetí zkumavky s krví do laboratoře proběhne nejdříve separace plazmy, ve které se nachází genetický materiál plodu v mimobuněčné formě.

2. Izolace DNA

Z plazmy se vícekrokovou preciznı́ purifikací získá volná cirkulujı́cí DNA, která pochází jak od matky, tak z placenty (přesněji z trofoblastu). Tato DNA pocházejı́cí z placenty se obvykle označuje jako fetálnı́ DNA (dále „DNA plodu“). DNA plodu představuje v průměru 13 % celkové DNA získané z plazmy. V případě, že odběr krve nebyl provedený v souladu s doporučeními, může dojít k rozpadu krevních buněk a ke snížení podílu DNA plodu, což znemožňuje detekci případné trizomie plodu. V laboratoři po izolaci provádíme kontrolu kvality vzorku, kterou zjišťujeme, zda k rozpadu buněk skutečně nedošlo. Pokud tento jev zjistíme, informujeme ambulanci o nutnosti opakování odběru.

3. Příprava vzorku DNA na analýzu

Izolovaná DNA podléhá ve specializované laboratoři zpracování – tzv. přípravě sekvenační knihovny. Sekvenační knihovna je potřebná k analýze použitím technologie sekvenování nové generace. V procesu přípravy knihovny využíváme také polymerázovou řetězovou reakci na namnožení vzorku, protože celkové množství DNA získané z plazmy je velmi malé. Příprava knihovny vhodné na analýzu v přístroji trvá 48 hodin.

4. Kontrola kvality vzorku

TRISOMY test je časově a finančně náročné vyšetření a jeho výsledek závisí na správně připraveném vzorku na analýzu. Zda se v laboratoři podařilo připravit vhodnou sekvenační knihovnu, kontrolujeme citlivou fluorescenční elektroforetickou analýzou. Úspěšně připravené sekvenační knihovny pokračují do následující fáze, kterou je sekvenační analýza.

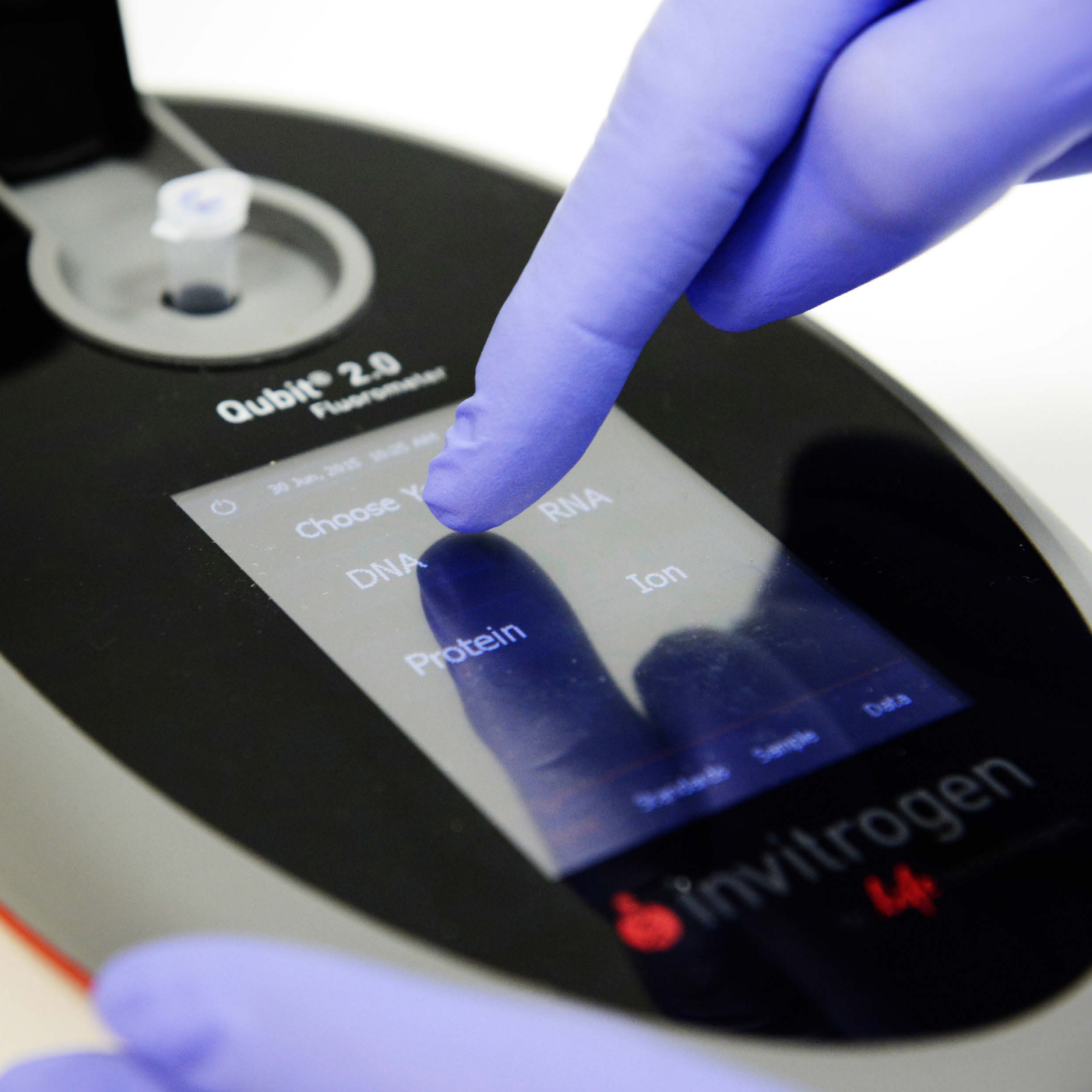
5. Konečná analýza – sekvenování

Přečtením milionů fragmentů DNA v průběhu několikahodinové analýzy ve speciálním sekvenačním přístroji provádíme celogenomovou analýzu s nízkým pokrytím (nečteme každou jednu bázi, ale statisticky pouze každou desátou). Výsledkem sekvenování je zisk dat, které jsou následně vyhodnoceny speciálním softwarem pomocí unikátního matematického algoritmu. Počítačové vyhodnocení dat získaných z jednoho vzorku trvá na vysoce výkonném serveru několik minut.

6. Výsledek testování

Na základě získaných údajů s použitím nejmodernějšího algoritmu se sofistikovaným statisticko-matematickým modelem může odborník v laboratoři stanovit výsledek analýzy. Výsledek vyšetření se posílá odesílajícímu lékaři.

VÝSLEDEK	INTERPRETACE	DOPORUČENÍ
Negativní výsledek	Trizomie chromozomu 21, 18 nebo 13 nebyla zjištěna.	Negativní výsledek není potřeba ověřovat dalším vyšetřením, o dalším průběhu zdravotní péče rozhodne doporučující lékař (lékařský genetik nebo gynekolog).
Pozitivní výsledek	Trizomie některého z vyšetřovaných chromozomů byla zjištěna ve vyšetřeném vzorku.	**Je nezbytná genetická konzultace** v genetické ambulanci. Pozitivní výsledek TRISOMY testu je potřeba potvrdit genetickým vyšetřením vzorku získaným invazivním způsobem.
Neinformativní výsledek	Dodaný vzorek nebylo možné laboratorně zpracovat v souladu se správnou laboratorní praxí, nebo výsledek vyšetření neodpovídá na diagnostickou otázku.	Odběr krve je potřeba opakovat (bez další úhrady za vyšetření ze strany pacientky).


Qubit® 2.0
Fluorometer
Choose Y
RNA
DNA
Ion
Protein
invitrogen

DORUČENÍ VÝSLEDKU LÉKAŘI

Výsledek vyšetření je k dispozici zpravidla do 7 pracovních dní od následujícího dne po identifikaci platby na účtu laboratoře. Výsledkový list je zaslán do ambulance odesílajícího lékaře, který odběr krve realizoval.

O výsledku vyšetření TRISOMY testu informuje pacientku zásadně lékař, který jí test provedl. Informaci o pohlaví je možné pacientce sdělit až po ukončeném 12. týdnu těhotenství.

Screeningová forma vyšetření

Negativní výsledek vyšetření se vztahuje výlučně na vyšetřované trizomie chromozomů č. 21, 18 a 13, které jsou tímto vyšetřením s velmi vysokou pravděpodobností u plodu vyloučeny. Nevylučuje však možnost postižení plodu jinou genetickou, nebo jinou poruchou, která není předmětem tohoto vyšetření. Výsledek testu může zkreslit vícečetné těhotenství, nebo přítomnost cizí DNA v krvi matky, například po krevní transfúzi, transplantaci kmenových buněk, transplantaci orgánů, při nádorovém onemocnění těhotné ženy nebo plodu. Záchytnost chromozomálních abnormalit může být též individuálně ovlivněna mozaicizmem placenty, syndromem mizejícího dvojčete, bodovými mutacemi, inaktivací genů nebo jiným typem genetických, resp. epigenetických mechanizmů. V těchto případech je potřebné odběr předem individuálně konzultovat s laboratoří.

Pozitivní výsledek vyšetření je třeba i přes vysokou citlivost a přesnost TRISOMY testu **potvrdit genetickým vyšetřením vzorku plodové vody nebo choriových klků.** Pozitivní výsledek TRISOMY testu není relevantní podklad k rozhodnutí o umělém přerušení těhotenství.

Před rozhodnutím o využití TRISOMY testu při poskytování zdravotní péče důkladně zvažte účel, výhody a případná rizika, stejně jako alternativní možnosti TRISOMY testu a ujistěte se, že máte k dispozici všechny potřebné informace týkající se zdravotního stavu těhotné, které by mohly ovlivnit výběr nejvhodnějšího postupu při poskytování zdravotní péče.

Agilent Technologies
1-3
4-6
7-9
10-12
DNA Chip
On-Chip-Electrophoresis
LOT#:QM09BK10
EXP:09 DEC

TRISOMY test

ODBORNÉ INFORMACE

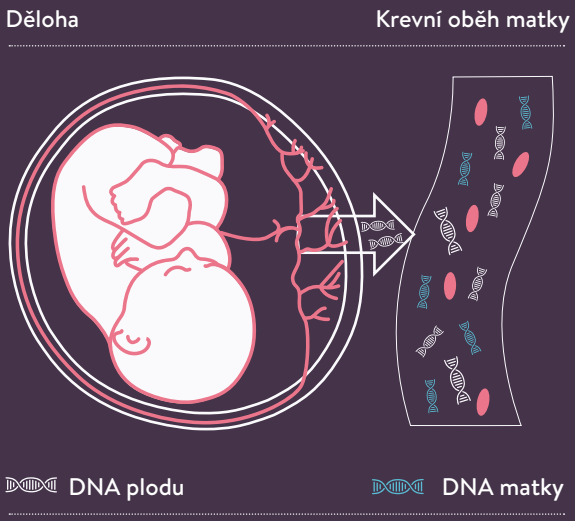
NIPT
Neinvazivní prenatální testování

Vývoj NIPT

1997	objev volně cirkulující DNA související s plodem v krvi matky,
1997	neinvazivní určení pohlaví plodu prostřednictvím detekce Y-chromozomálních sekvencí,
1998	kvantitativní analýza tzv. volné fetální DNA (cffDNA) v mateřské cirkulaci,
1998	neinvazivní určení RHD statusu plodu,
1999	prokázaní rychlého odbourání volné fetální DNA po porodu,
2000	neinvazivní DNA test na monogenně dědičné onemocnění (achondroplazie),
2008	pilotní studie na neinvazivní stanovení aneuploidie plodu,
2009	první aplikace a potvrzení konceptu, že sekvenování nové generace (NGS) umožňuje detekci trizomie 21 plodu,
2010	detailně charakterizovaná rozdílnost fragmentace mateřské a fetální DNA,
2010	neinvazivně stanovená podrobná genomická mapa plodu,
2011	dostupnost komerčních testů NIPT,
2012	neinvazivně stanovená úplná genomická sekvence plodu,
2015	**uvedení TRISOMY testu do klinické praxe v České republice**

Princip testu

Vyšetření využívá celogenomovou resekvenační analýzu volné fetální DNA z periferní krve těhotné. Data získaná sekvenační analýzou s nízkým pokrytím jsou vyhodnocována vlastním výpočtovým algoritmem a verifikována podle postupu publikovaného Bianchi a kol. (2012).*



Klinický význam

TRISOMY test se provádí za účelem zachytit případy častých trizomií plodu s vysokou citlivostí a přesností již v časných stádiích těhotenství.

I přes velmi vysokou citlivost a přesnost záchytu sledovaných trizomií je **TRISOMY test screeningové vyšetření,** ne diagnostické.

V praxi to znamená, že **každý pozitivní výsledek** vyšetření TRISOMY testu **musí být následně potvrzen invazivním odběrem genetického materiálu plodu** (odběr plodové vody, nebo choriových klků) **a následným genetickým vyšetřením takto získaného vzorku** (viz interference).

Negativní výsledek TRISOMY testu s velmi vysokou pravděpodobností vyloučí přítomnost trizomií chromozomů č. 21, 18 a 13 u plodu. Negativní výsledek testu zpravidla není nutné potvrzovat vzorkem získaným invazivním způsobem (viz interference).

* Bianchi DW a kol. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. Obstet Gynecol. 2012 May; 119 (5): 890-901.

Indikující lékař

Vyšetření indikuje lékařský genetik nebo lékař se specializací gynekologie a porodnictví.

Citlivost a přesnost

NIPT testy se všeobecně vyznačují vysokou citlivostí a přesností. Vyšetření tzv. cffDNA poskytované různými laboratořemi se liší určitými technickými detaily. S tím souvisí rozdíly v dosahovaných klíčových parametrech NIPT testů, a to především:

- procento zachycených trizomických plodů – Detection Rate **(DR)**
- procento falešně pozitivních výsledků – False Positive Rate **(FPR)**

Citlivost NIPT pro záchyt trizomie 21 se pohybuje podle konkrétní laboratoře a typu testu v rozmezí 94,4 – 99,9 % při 0 – 1 % falešně pozitivních výsledků.

Citlivost NIPT testů na trizomii 13 je nižší (79 – 92 %). Důvodem případného selhání NIPT mohou být technické příčiny a též relativně nízký výskyt gravidit s trizomií chromozomu č. 13 v populaci. Míru falešné pozitivity je možné očekávat na úrovni 1 – 2 %.

NIPT – detekce chromozomálních aneuploidií, **spolehlivost**

	Downův syndrom	
Test	***DR (n (%))***	***FPR (n (%))***
Chiu et al., 2011	*86/86 (100)*	*3/146 (2,1)*
Ehrich et al., 2011	*39/39 (100)*	*1/410 (0,24)*
Palomaki et al., 2011	*209/212 (98,6)*	*3/1471 (0,20)*
Bianchi et al., 2012	*89/90 (98,9)*	*0/410 (0,00)*
Sparks et al., 2012	*36/36 (100)*	*1/123 (0,81)*
Ashoor et al., 2012	*50/50 (100)*	*0/297 (0,00)*
Norton et al., 2012	*81/81 (100)*	*1/2888 (0,03)*
Celkem	*590/594 (99,3)*	*9/5745 (0,16)*

Počet vzorků bez výsledku < 5 %

TRISOMY test
Citlivost a přesnost

n=203	**Citlivost**	**95 % CI**	**Přesnost**	**95 % CI**	**nP**
T21	> 99 %	90,97-100%	> 99 %	97,78-100%	39
T18	> 99 %	*	> 99 %	*	5
T13	> 99 %	*	> 99 %	*	2

Vzorek bez výsledku < 1%

n *- celkový počet vzorků v potvrzující studii*
nP *- počet pozitivních vzorků*
CI *- Confidence Interval*
****95 %CI*** *pro nízký počet vzorků nehodnocený*

Citlivost a přesnost TRISOMY testu jsou plně porovnatelné s výsledky jiných NIPT testů. Výsledek analýzy je založen na potvrzující studii a opírá se o analýzu kontrolních vzorků se známým karyotypem. Výsledky pilotní validační studie realizované na souboru 130 vzorků obohaceném o vzorky s trizomií 21. chromozomu byly publikované v odborném časopise PLOS ONE a jsou volně dostupné na adrese: http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0144811.
Všechny, do studie zařazené trizomické vzorky 21, 18 a 13, byly pomocí TRISOMY testu úspěšně detekované.

Unikátní metodika přípravy vzorku krve

Speciální součástí laboratorního postupu **při vyšetření TRISOMY testu je unikátní procedura, která zabezpečuje zvýšení podílu fetální DNA (cffDNA)** proti výchozímu stavu. Je to díky využití fyzikální odlišnosti fetální DNA a DNA pocházející od matky. Díky tomuto kroku laboratoř dosahuje po zpracování vzorků TRISOMY testu **průměrný podíl cffDNA** kolem 16 % (průměrný podíl cffDNA ve zveřejněných studiích se pohybuje v rozmezí 10 – 13 %). Ještě důležitější je však fakt, že v souboru vzorků zpracovaných touto speciální metodikou, nebyl nikdy dosažen menší podíl fetální DNA plodu než 7,5 %, **což výrazně snižuje riziko selhání testu** z důvodu nízkého obsahu fetální frakce DNA ve vyšetřovaném vzorku. Pro úspěšné provedení testu má podle různých studií fetální frakce představovat nejméně 4 %. Při fetální frakci pod 4 % nebude výsledek interpretován.

Na základě charakteristiky metody přípravy, analýzy a hodnocení vzorků od těhotných se zdravým plodem a těhotných s plodem s trizomií chromozomu č. 21, použité v rámci potvrzovací studie, je možné statisticky odhadnout výskyt falešně pozitivních a falešně negativních výsledků v závislosti na podílu fetální DNA v krvi těhotné. V návaznosti na dostupné informace je známo, že výška podílu fetální DNA v krvi těhotné je individuální a výskyt vzorků s nízkou fetální frakcí (< 4 %) byl zjištěn u méně než 5 % těhotných (medián fetální DNA se pohybuje na úrovni 14,5 % – Hudecova a kol., 2014).[1]

Z výsledků realizované potvrzovací studie TRISOMY testu, při které bylo analyzováno 164 vzorků od těhotných s normálním plodem a 39 vzorků od těhotných s plodem s potvrzenou trizomií chromozomu 21, vyplynulo, že přiměřený podíl fetální DNA ve vzorcích získaných od těhotných s plodem s trizomií chromozomu 21 dosahoval 16 % (modrá křivka na *grafu 1*). Při tomto podílu fetální DNA v mateřské cirkulaci je pravděpodobnost, že výsledek analýzy bude neinformativní ~ 1 : 3 x 10^{13} a pravděpodobnost, že dosažený výsledek bude falešně negativní (tedy nesprávný) nižší než 1 : 9 x 10^{18}.

Při vzorku s nejnižším, v této potvrzovací studii pozorovaným, podílem fetální DNA dosahujícím 7,5 % (červená křivka), je pravděpodobnost výskytu neinformativního výsledku ~ 1 : 15 a pravděpodobnost výskytu falešně negativního (tedy nesprávného) výsledku nižší než 1 : 740.

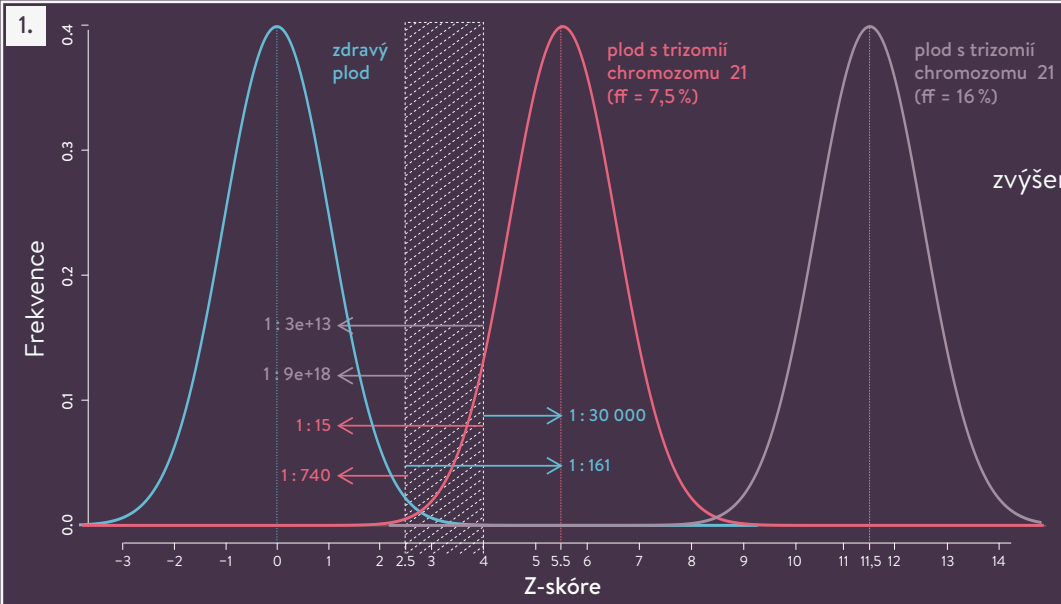
Z analýzy výsledků vzorků od těhotných se zdravým plodem (modrá křivka) vyplývá, že pravděpodobnost výskytu neinformativního výsledku je ~ 1 : 161 a pravděpodobnost výskytu falešně pozitivního (tedy nesprávného) výsledku je nižší než 1 : 30 000.

Na minimalizaci rizika získání falešně negativních, resp. falešně pozitivních výsledků v důsledku přirozeně se vyskytujících případů těhotenství s nízkou fetální frakcí, je při vyhodnocení výsledků analýz použita zóna definující neinformativní výsledky – tzv. šedá zóna. Ta je na grafu prezentována šedým podbarvením *(graf 2)*. Pokud se vzorek po analýze nachází v této oblasti, je nutné vzorek opětovně analyzovat. V této souvislosti se vyžaduje opakování odběru krve těhotné ve dvoutýdenním intervalu.

Reference:

[1] Hudecova I, Sahota D, Heung MM, Jin Y, Lee WS, Leung TY, Lo YM, Chiu RW. Maternal plasma fetal DNA fractions in pregnancies with low and high risks for fetal chromosomal aneuploidies. PLoS One. 2014 Feb 28; 9 (2): e88484. doi: 10.1371/journal.pone.0088484

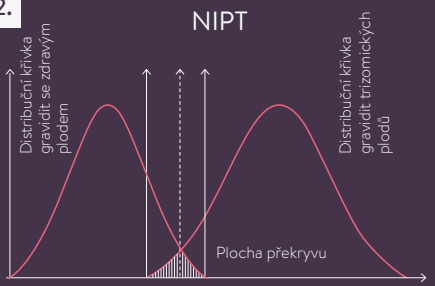
1.



TRISOMY test
zvýšení podílu cffDNA v hodnocených vzorcích

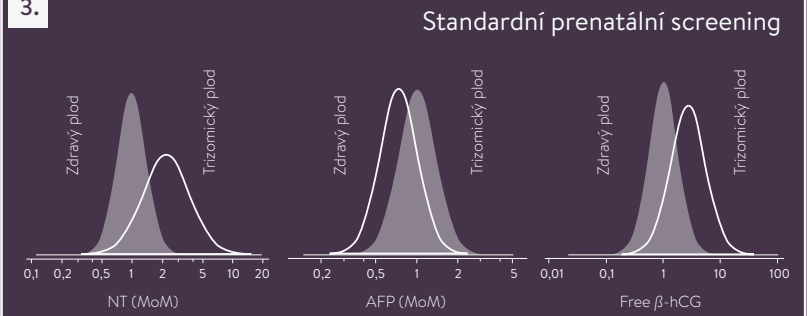
Díky naší laboratorní metodě nebyl ve vyšetřeném souboru vzorků pozorován nižší podíl cff DNA než 7,5 %. V kombinaci s vlastním unikátním algoritmem je citlivost vyšetření natolik vysoká, že i v případě takovéhoto zastoupení fetální frakce dovede TRISOMY test zachytit prakticky všechny případy s trizomií.

2.



Distribuce negativních a pozitivních výsledků stanovených metodou NIPT umožňuje minimalizovat tzv. šedou zónu.

3.



Distribuce negativních a pozitivních výsledků některých parametrů standardního prenatálního screeningu.

Vyhodnocení dat pomocí vlastního algoritmu

Data jednotlivých NIPT testů, získaná celogenomovou resekvenační analýzou cffDNA, jsou vyhodnocována pomocí náročných matematických modelů a liší se v závislosti na použité metodice laboratoře. Cílem hodnocení je výpočet tzv. Z-skóre *(graf 4)*.

Vlastní zdokonalený algoritmus hodnocení dat, vyvinutý speciálně pro **TRISOMY test, umožňuje dosažení vyšší střední hodnoty Z-skóre** v hodnocených vzorcích, proti konkurenčním metodám výpočtu.

Vyšší střední hodnota Z-skóre v pozitivních vzorcích, dosahovaná zdokonaleným algoritmem při hodnocení TRISOMY testu, se automaticky promítá do **přesnější distribuce negativních a pozitivních hodnot výsledků vyšetření a umožňuje zmenšení tzv. šedé zóny (plocha překryvu - graf 2)**, kdy není možné o pozitivite či negativite výsledku vyšetření jednoznačně rozhodnout.

Interference

Vzhledem k tomu, že TRISOMY test je **screeningový a není diagnostický,** mohou se vyskytnout falešně pozitivní a falešně negativní výsledky. **Pozitivní výsledek analýzy je potřeba diagnosticky potvrdit aktuálně dostupnou diagnostickou metodou, tedy následnými genetickými vyšetřeními plodové vody.**

Negativní výsledek není absolutním vyloučením žádné z testovaných trizomií. Příčinou může být přirozeně se vyskytující fenomén mozaicizmu placenty, syndromu mizejícího dvojčete, bodových mutací, inaktivace genů, jiných typů genetických, resp. epigenetických mechanizmů nebo přítomnost cizí DNA v krvi matky.

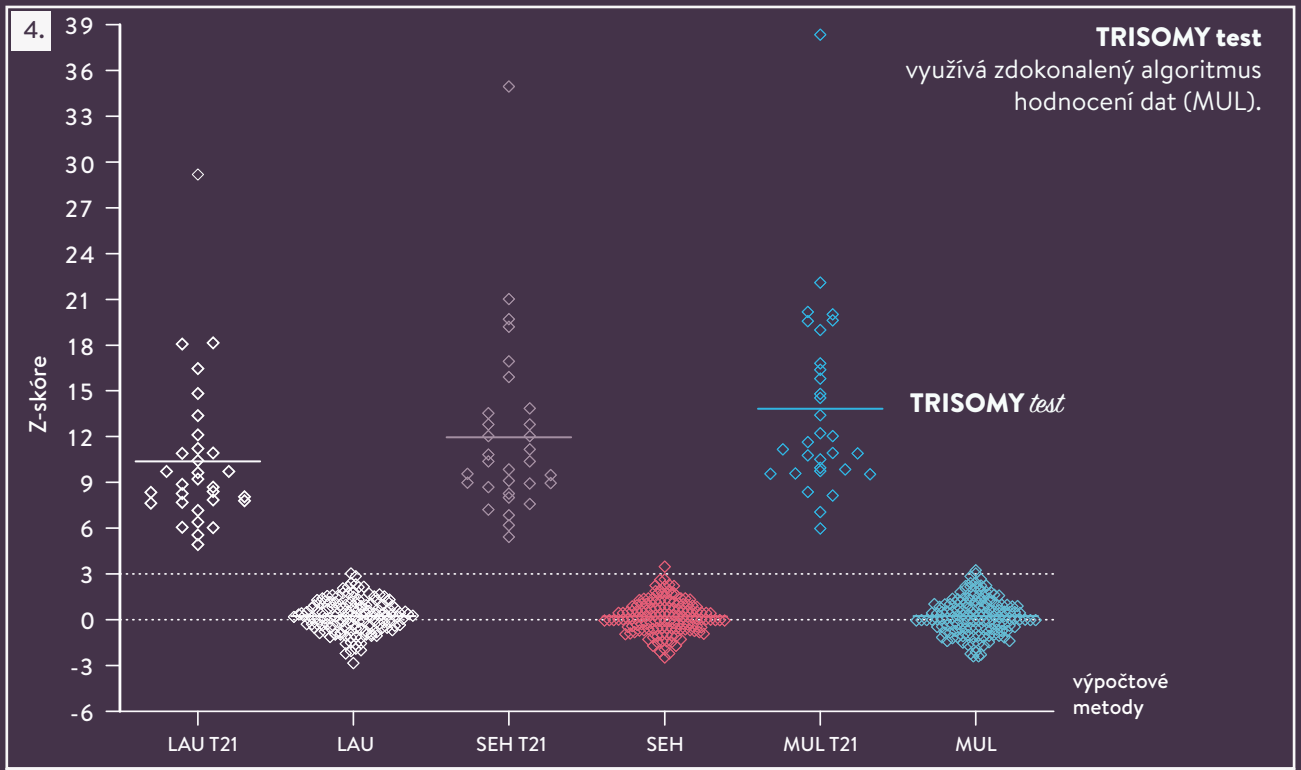
V určitém malém procentu vzorků není možné NIPT test ukončit jednoznačným výsledkem, takový test považujeme za neúspěšný[2]. Příčina selhání může být technická nebo biologická. **Hlavní technickou příčinou selhání** testu bývá nesprávně vykonaný odběr krve nebo transport vzorku do laboratoře v nevyhovujících podmínkách.

Nejčastějším biologickým důvodem neúspěšnosti testu je především snížený podíl fetální DNA v získaném vzorku ve srovnání s obsahem mateřské DNA. V případě, že **je podíl fetální DNA** v získaných vzorcích **nižší než 4 %, výrazně klesá spolehlivost testu** *(graf 5)*. Podle výsledků publikovaných studií je možné očekávat výskyt vzorků s nízkým podílem fetální DNA frakce v 1,5 – 6,1 % případů.

Výsledky získané hodnocením vzorků s obsahem fetální DNA pod 4 % nejsou vhodné k interpretaci.

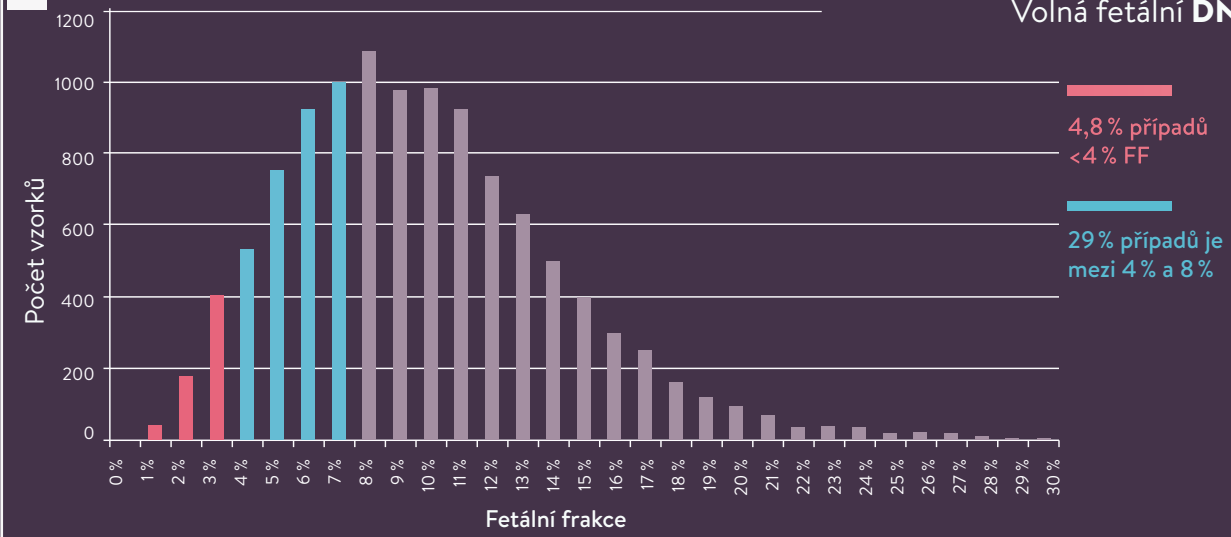
Reference:
[2] M. M. Gil, M. S. Quezada, R. Revello, R. Akolekar, and K. H. Nicolaides, „Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis," Ultrasound Obstet. Gynecol. 45 (3), 249-266 (2015).

4.



TRISOMY test
využívá zdokonalený algoritmus hodnocení dat (MUL).

5.



Volná fetální **DNA**

4,8 % případů <4 % FF

29 % případů je mezi 4 % a 8 %

Analýza více než 11 000 vzorků těhotných žen prokázala, že vzorky s nízkou fetální frakcí (pod 4 %), které komplikují NIPT, se vyskytují u téměř 5 % ze všech vyšetřených těhotných žen.

Autoři metodiky

RNDr. Gabriel Minárik, PhD.

Absolvoval studium molekulární biologie na katedře molekulární biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Komenského v roce 2000, kde ukončil také doktorandské studium v roce 2005. Je autorem nebo spoluautorem 51 publikací indexovaných v databázi Current Contents, které jsou citované 234 krát. Hirchův index má 8.

Od roku 2001 do roku 2007 působil jako specialista zabezpečující servisní Sangerovo sekvenování pro přední slovenské pracovní skupiny a laboratoře v rámci programu BITCET, přičemž na Slovensku patřil mezi první a dnes patří mezi nejzkušenější, slovenské odborníky na tuto metodu.

V současnosti se věnuje zejména výzkumu v oblasti analýzy smíšených DNA/RNA vzorků s aplikací v neinvazivním prenatálním DNA testování, forenzní praxi a analýze lidského mikrobiomu. Současně se věnuje zavedení a využití nových metod sekvenování DNA v základním a aplikovaném výzkumu na Slovensku v rámci ASFEU projektu Revogene.

RNDr. Tomáš Szemes, PhD.

Dosahoval vynikající výsledky již v průběhu studia na magisterském stupni. Za diplomovou práci se mu povedlo získat cenu rektora Univerzity Komenského. Studium PhD. ukončil v roce 2010. Dnes je autorem nebo spoluautorem 29 publikací indexovaných v databázi Current Contents, které jsou citované 141 krát. Hirchův index má 7.

Vede laboratoř genomiky a bioinformatiky. Kromě výzkumu laboratoř poskytuje servisní sekvenační analýzy s použitím 1. generace automatizovaných sekvenátorů. Podílel se na vytvoření genomické podjednotky v projektu BITCET. Věnuje se také pedagogické činnosti předmětů počítače v biologii, bioinformatika, pokročilé metody v molekulární biologii a jiných.

Má dlouhodobé zkušenosti s problematikou DNA. Věnuje se výzkumu nových metod sekvenování DNA, neinvazivní prenatální diagnostiky a genomickému výzkumu virů.

TRISOMY TEST SE VYŠETŘUJE
V LABORATOŘI SPADIA LAB, A.S.

SPADIA LAB, a. s.

Je česká diagnostická laboratoř, která patří k největším poskytovatelům laboratorní medicíny v České republice.

Komplexnost služeb zajišťují jednotlivá oddělení klinické biochemie, hematologie, mikrobiologie, imunologie, toxikologie, farmakologie, lékařské genetiky, cytologie a histologie.

Hlavním cílem je dlouhodobé poskytování špičkové laboratorní medicíny a spolupráce se spolupracujícími lékaři a zdravotnickými zařízeními.

V popředí zájmu je také rozvíjení nových metod a inovátorských postupů.

Pracovníci se společně s univerzitními centry současně podílejí na vědeckých projektech a také se věnují publikační a přednáškové činnosti.

Laboratoř je akreditována podle mezinárodní normy ČSN EN ISO15189: 2007.

www.trisomytest.cz

Pro další informace nebo pomoc

telefon: 558 900 315 (pondělí – pátek: 7.00 – 15.00 h)

e-mail: trisomytest@spadia.cz

SPADIA
DIAGNOSTICKÁ LABORATOŘ

CZV20116