

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

### **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. i 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 1. i 2. trimestr 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, které provádí konečné vyhodnocení screeningu. Výsledky stanovení jednotlivých analytů musí být laboratoří vydány nejpozději do tří pracovních dnů od přijetí vzorku. Výsledky vyšetření ve 2. trimestru (AFP, hCG, uE3) jsou vydávány nejen v absolutních hodnotách, ale i v násobcích mediánu pro daný gestační věk. Výsledek screeningu 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/~dbezdz/>

### **II. Sledované parametry**

#### **1. Biochemické markery screeningu VVV**

- Doporučené laboratorní markery pro 1. trimestr
  - **PAPP-A, volný  $\beta$  hCG**
    - odběr v 10.-13.+6 týdnů těhotenství (optimum 10. – 11+3),
- Doporučené laboratorní markery pro 2. trimestr
  - **hCG, AFP, uE3**
    - odběr v 14.-20. týdnu těhotenství (optimum 15.-17.týden)

## 2. Závazné preanalytické a analytické podmínky

### 2.1. Preanalytické požadavky

Analyt	Odebíraný materiál (*)	Stabilita séra (plazmy) +20 až 25°C	Stabilita séra (plazmy) při +4 až +8°C	Stabilita séra (plazmy) při -20°C	Významná změna hladiny při nedodržení preanalytiky
Volný $\beta$ hCG	Plná krev	6 h	1 d	1 r	↑↑
hCG	Plná krev	12 h	3 d	1 r	-
AFP	Plná krev	12 h	7 d	1 r	-
Volný estriol (uE3)	Plná krev	6 h	1 d	1 r	↓↓
PAPP-A	Plná krev	12 h	3 d	1 r	-

Plnou krev je vhodné doručit do laboratoře do 3. h po odběru, nejpozději však do 8 h. Po odběru je potřeba co nejdříve separovat sérum pro stanovení volného  $\beta$  hCG a uE3.

\*Vlastní stanovení se provádí v krevním séru nebo plazmě.

### 2.2. Analytické požadavky I.

Analyt	Verifikace	Návaznost*	Doporučené metody
Volný $\beta$ hCG	1x ročně	WHO 4 <sup>th</sup> IS NIBSC (WHO, 1 <sup>st</sup> IRP 75/551)	Trace, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
hCG	1x ročně	WHO 4 <sup>th</sup> IS NIBSC (WHO, 1 <sup>st</sup> IRP 75/537)	RIA, IRMA, TRACE, fluorescenční, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
AFP	1x ročně	WHO 1 <sup>th</sup> IS NIBSC	IRMA, TRACE, fluorescenční, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
Volný estriol (uE3)	1x ročně	Ref. metoda Siekmann et al., J.Steroid Biochem. 11 (1979) 117-123 RIfB Bonn (G)	RIA, chemiluminiscenční metody
PAPP-A	1x ročně	WHO IRP 78/610	Trace, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody

\*Podrobné a průběžně aktualizované informace o referenčních metodách a referenčních materiálech lze nalézt např. na webové adrese <http://www.bipm.org> (konkrétně např. dokument [http://www.bipm.org/utis/en/xls/jctlm\\_listI.xls](http://www.bipm.org/utis/en/xls/jctlm_listI.xls), dostupné též z [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz) a [www.cmi.cz](http://www.cmi.cz)) nebo jen o referenčních materiálech na webové adrese: <http://www.nibsc.ac.uk/>

### 2.3. Analytické požadavky II.

Analyt	Opakovatelnost*	Reprodukovatelnost**
Volný $\beta$ hCG	6 %	10 %
hCG	6 %	10 %
AFP	6 %	10 %
uE3	6 %	10 %
PAPP-A	6 %	10 %

*Průměrná hodnota získaná z měření tří kontrolních vzorků s různými koncentracemi analytu (volenými v rozmezí celého pracovního rozsahu metody - každý v jeho jiné třetině). Měření je prováděno: \*) minimálně 6x za podmínek opakovatelnosti, \*\*) minimálně 10x za podmínek reprodukovatelnosti (pokaždé v jiném dni)*

### 3. Verifikace a nejistota měření

Pro měření sledovaných parametrů používá laboratoř pouze validované metody. Validaci in vitro diagnostik (s CE značkou) provádí jejich výrobce. Nejsou přípustné jakékoliv změny metodiky. Laboratoř má provedenu verifikaci metod a stanovenu rozšířenou nejistotu měření v souladu s doporučením odborných společností, např. [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz) - Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření/ klinických testů v klinických laboratořích.

### 4. Doporučený systém externí kontroly kvality:

Pro 1.trimetr – DGKC, INSTAND, SEKK, UK NEQAS

Pro 2.trimestr - DGKC, SEKK, UK NEQAS

### 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 (m. Down), 18. chromozomu (m. Edwards) a 13. chromozomu (m. Patau). Ve 2. trimestru na defekt neurální trubice (NTD).

### IV. Možnosti provádění screeningu Downova syndromu

#### 1. Integrovaný test

10+0 -11+3 týden: PAPP-A, resp. volný  $\beta$  hCG

11. - 13+6 týden: měření NT (nuchální translucence – šíjové projasnění plodu) sonografistou auditovaným u FMF Londýn

14. - 20. týden: AFP, hCG, uE3

Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření.

## 2. Sekvenční varianta integrovaného test

10+0 -11+3 týden: PAPP-A, resp. volný  $\beta$  hCG

11. - 13+6 týden: měření NT sonografistou auditovaným u FMF Londýn

Předběžné vyhodnocení testu, vysoce pozitivní screening řešit okamžitě.

Ostatní těhotné ženy pokračují do II. trimestru.

14. - 20. týden: AFP, hCG, uE3

Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření.

## 3. Kombinovaný test (1.trimestr)

10+0-13+6 týden: PAPP-A, volný  $\beta$  HCG

11. - 13+6 týden: měření NT sonografistou auditovaným u FMF Londýn

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

## 4. Sérum integrovaný test – v místech, kde není možné měřit spolehlivě NT

10+0 -11+3 týden těhotenství: PAPP-A, resp. volný  $\beta$  hCG

14+0 - 20. týden: AFP, hCG, uE3

Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření.

**4. a) sekvenční varianta:** u těhotných s PAPP-A pod 0,35 MoM - doporučit změření NT + fetální morfologie sonografistou auditovaným u FMF Londýn.

## 5. Triple nebo double test (2.trimestr)

15+0 - 18. týden: AFP, hCG, uE3

vhodný pro ženy, které se dostaví pozdě na vyšetření v I. trimestru, nebo při později zjištěné graviditě.

## 6. Falešná pozitivita a výtěžnost

	Falešná pozitivita při 85% výtěžnosti	Výtěžnost při 5% falešné pozitivitě
<b>kombinovaný test</b>	<b>3,8 - 6,8%</b>	<b>85%</b>
<b>Triple nebo double test</b>	<b>9,3 – 14,0 %</b>	<b>69%</b>
<b>integrovaný test</b>	<b>0,8 - 1,2%</b>	<b>94%</b>
<b>sérum integrovaný test</b>	<b>2,7 - 5,2%</b>	<b>85%</b>

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

Zdroj: Studie SURUSS a FASTER

## V. Další doporučení

1. Pro provádění screeningu v 1. trimestru těhotenství je nutné změření NT (nuchální translucence) dle metodiky Fetal Medicine Foundation – London. Vyšetření může provádět gynekolog po absolvování příslušného školení s vydáním osvědčení k tomuto vyšetření ve spolupráci s FMF Londýn. Toto osvědčení je potřeba pravidelně obnovovat, aby neztratilo platnost.
2. 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.
3. Další ultrazvukové markery 1. trimestru mimo NT (nuchální translucence) jako jsou nosní kost (NB), trikuspidální regurgitace a vyšetření ductus venosus, frontomaxilární úhel mohou zvyšovat efektivitu kombinovaného nebo integrovaného testu, se provádí v 11.-13+6 týdnu těhotenství. Vzhledem k tomu, že se jedná o náročnější UZ měření, jejich provádění by mělo být záležitostí specializovaných center s dostatečným množstvím prováděných měření.
4. K hodnocení výsledků screeningu a informování o nových trendech se každý rok koná setkání odpovědných pracovníků všech laboratoří v rámci Imunoanalytických dnů.
5. Systém provádění screeningu v 1. a 2. trimestru je dán dohodou mezi laboratoří, gynekology a genetiky.

## Literatura :

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No.77. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities *Obstet gynecol* 2007;109:217-227
2. Dhaifalah I., Vrbická D., Šantavý J.: OSCAR (one stop clinic) pro zhodnocení rizika fetálních abnormalit: dvouletá zkušenost užívání screeningu chromozomálních abnormalit v I. trimestru gravidity. *Čes.Gynek.* 71, 5, 363-369, 2006
3. Driscoll DA, Gross S.: Prenatal Screening for Aneuploidy. *N Engl J Med* 2009;360:2556-2562.
4. Loucký J, Springer D, Zima T: Možnosti screeningu Downova syndromu v České republice, *Česká gynekologie*, 73, 2008, 3, 160-162
5. 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.

6. 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.
7. 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.
8. Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency with normal karyotype [published erratum appears in *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:2096]. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1005-21.
9. UK National Screening Committee. Fetal anomaly screening programme – screening for Down's syndrome: UK NSC policy recommendations 2007-2010: model of best practice. Available online at <http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/index.htm>
10. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:45-67.
11. 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