

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 laboratoři 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/screeningDS>.

II. Sledované parametry

1. Biochemické markery screeningu VVV

- Doporučené laboratorní markery pro 1. trimestr PAPP-A, volná β podjednotka hCG odběr v 10.–13. + 6 týdnů těhotenství (optimum 10.–11. + 3)
- Doporučené laboratorní markery pro 2. trimestr hCG, AFP, uE3

Tab. 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
Volná β hCG	plná krev	6 h	1 den	1 r	↑↑
hCG	plná krev	12 h	3 dny	1 r	-
AFP	plná krev	12 h	7 dnů	1 r	-
Volný estriol (uE3)	plná krev	6 h	1 den	1 r	↓↓
PAPP-A	plná krev	12 h	3 dny	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 volné β podjednotky hCG a uE3.

*Vlastní stanovení se provádí v krevním séru nebo plazmě.

Tab. 2. Analytické požadavky I.

Analyt	Verifikace	Návaznost*	Doporučené metody
Volná β hCG	1krát ročně	WHO 4 th IS NIBSC (WHO, 1 st IRP 75/551)	Trace, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
hCG	1krát ročně	WHO 4 th IS NIBSC (WHO, 1 st IRP 75/537)	RIA, IRMA, TRACE, fluorescenční, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
AFP	1krát ročně	WHO 1 st IS NIBSC	IRMA, TRACE, fluorescenční, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
Volný estriol (uE3)	1krát ročně	Ref. metoda Siekmann et al., J. Steroid Biochem. 11 (1979) 117-123 RIFB Bonn (G)	RIA, chemiluminiscenční metody
PAPP-A	1krát 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_list1.xls, dostupné též z www.cskb.cz a www.cmi.cz) nebo jen o referenčních materiálech na webové adrese: <http://www.nibsc.ac.uk/>

odběr ve 14.–20. týdnu těhotenství (optimum 15.–17. týden)

2. Závazné preanalytické a analytické podmínky

2. 1. Preanalytické požadavky (tab. 1)
2. 2. Analytické požadavky I. (tab. 2)
2. 3. Analytické požadavky II. (tab. 3)

Tab. 3. Analytické požadavky II.

Analyt	Opakovatelnost* [%]	Reprodukovatelnost** [%]
Volná β 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 (volnými v rozmezí celého pracovního rozsahu metody – každý v jeho jiné třetině). Měření je prováděno: *minimálně 6krát za podmínek opakovatelnosti, **minimálně 10krát 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 – Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření/klinických testů v klinických laboratořích.

4. Doporučený systém externí kontroly kvality

Pro 1. trimestr – 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 aneuploidí – (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, respektive volná β podjednotka 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, respektive volná β podjednotka 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, volná β 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, respektive volná β podjednotka hCG

14. + 0–20. týden: AFP, hCG, uE3

Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření.

- 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 1. trimestru nebo při později zjištěné graviditě.

5. Falešná pozitivita a výtěžnost (tab. 4)

Tab. 4. Falešná pozitivita a výtěžnost

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

Rozmezí u FP závisí na týdnu těhotenství, ve kterém je test prováděn. Zdroj: Studie SURUSS a FASTER

V. Další doporučení

1. Provádění screeningu v 1. trimestru těhotenství je nutné změřit NT (nuchální translucence) podle metodiky Fetal Medicine Foundation – London. Vyšetření může provádět odborný pracovník 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 ultrazukové vyšetření plodu. Referenční měření pro určení gestačního stáří je ultrazukové měření CRL v 11 + 0–13 + 6 týdnu gravidity.
3. Další ultrazukové markery 1. trimestru mimo NT (nuchální transluce), 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.
5. **Malone, F., Canick, J. A., Ball, R. H., Nyberg, D. A., Comstock, C. H., 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, s. 2001–2011.
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, s. 146–161.
7. **Spencer, K., Cowans, N. J., Molina, F., Kagan, K. O., Nicolaides, K. H.** First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of preterm or early preterm delivery. *Obstet. Gynecol.*, 2008, 31, s. 147–152.
8. **Souka, A. P., Von Kaisenberg, C. S., Hyett, J. A., Sonek, J. D., Nicolaides, K. H.** Increased nuchal translucency with normal karyotype [published erratum appears in *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005, 192, 2096]. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005, 192, s. 1005–1021.
8. 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 WWW: <http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/index.htm>
9. **Nicolaides, K. H.** Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004, 191, s. 45–67.
10. **Wald, N. J., Rodeck, C., Hackshaw, A. K., Walters, J., Chitty, L., Mackinson, A. M.** 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, s. 24–27.

Literatura

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No.77. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities *Obstet. Gynecol.*, 2007, 109, s. 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.*, 2006, 71, 5, s. 363–369.
3. **Driscoll, D. A., Gross, S.** Prenatal Screening for Aneuploidy. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 360, s. 2556–2562.
4. **Loucký, J., Springer, D., Zima, T.** Možnosti screeningu Downova syndromu v České republice. *Čes. Gynek.*, 2008, 73, 3, s. 160–162.

Na druhé revizi doporučení z roku 2002 se podílel kolektiv autorů České společnosti klinické biochemie (ČSKB ČLS JEP), České společnosti nukleární medicíny (ČSNM ČLS JEP) – sekce imunoanalytických metod a Společnosti lékařské genetiky ČLS JEP (SLG ČLS JEP).

Schváleno 26. 1. 2010.