

Drahomíra Springer
Ústav lékařské biochemie a
laboratorní diagnostiky



1. LÉKAŘSKÁ
FAKULTA
Univerzita Karlova



Všeobecná fakultní
nemocnice v Praze

REGISTR LABORATOŘÍ

PROVÁDĚJÍCÍCH

SCREENING DS

STARÉ A NOVÉ

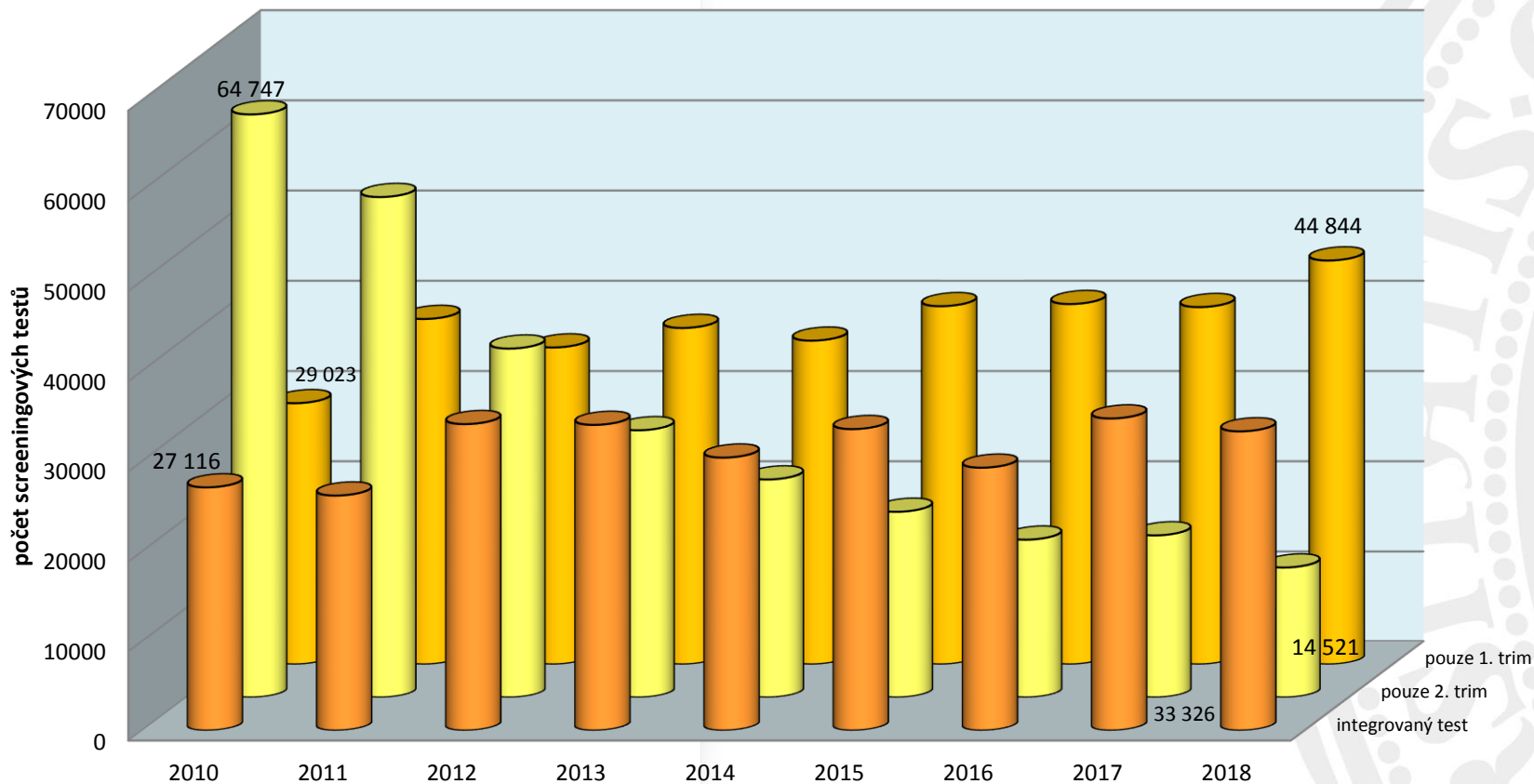
POSTUPY

IAD 2019
17. – 19.3.2019 Plzeň

REGISTR LABORATOŘÍ

- Přehled pracovišť provádějící laboratorní screening VVV je veden při RL pro KB při ÚLBLD 1. LF UK v Praze.
- Je veden od roku 2002
- V roce 2018 bylo v Registru 40 laboratoří provádějících screening VVV
- 34 z nich vyšetřuje v 1. i 2. trimestru
- 2 pouze v 1. trimestru
- Laboratoře, které vyšetřují screening pouze ve 2. trimestru mají 100 až 750 vyšetření ročně
- Seznam laboratoří, aktuální přednášky i odkazy na kontrolu kvality jsou uvedeny na webové stránce

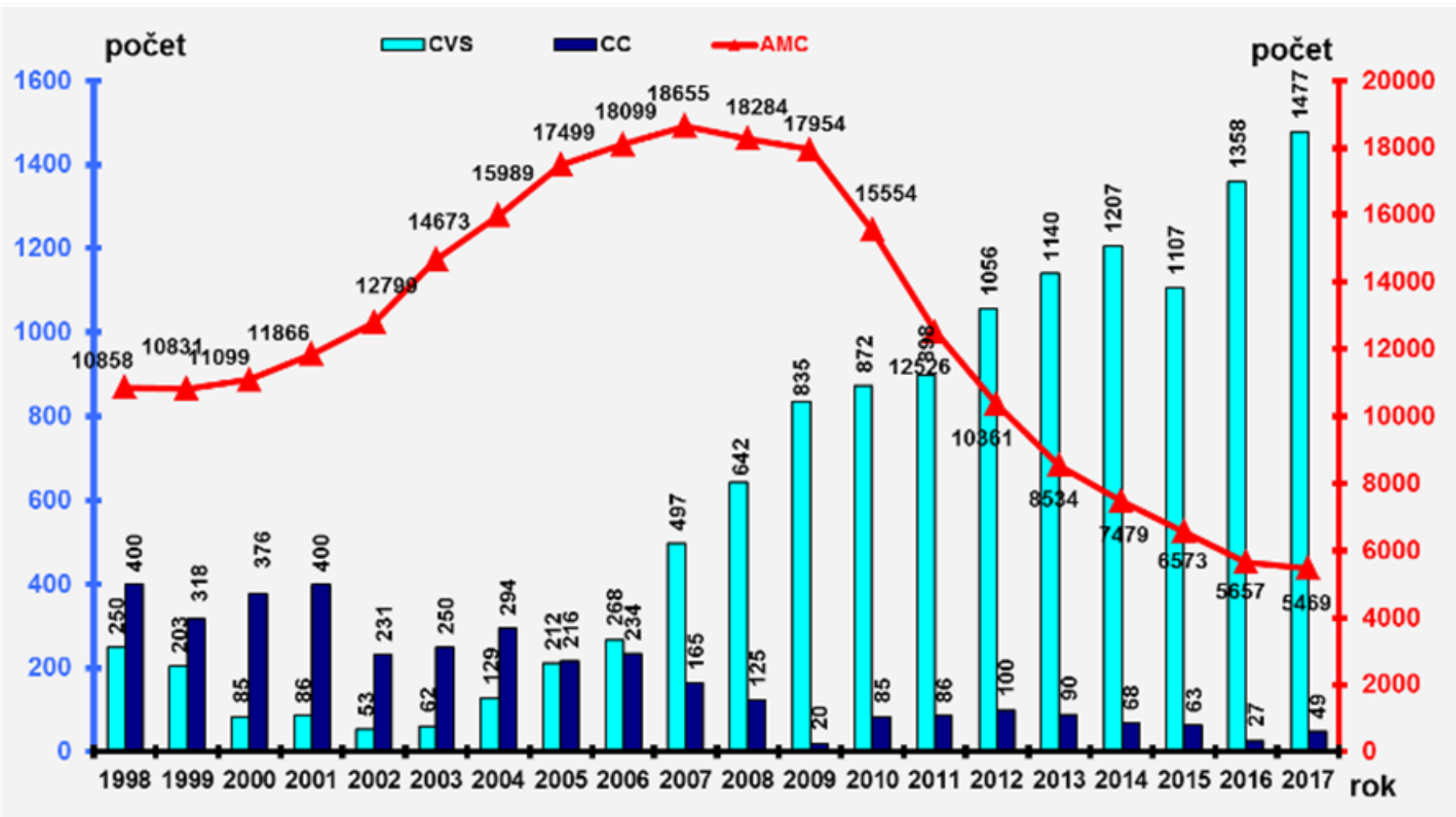
Struktura screeningu v ČR



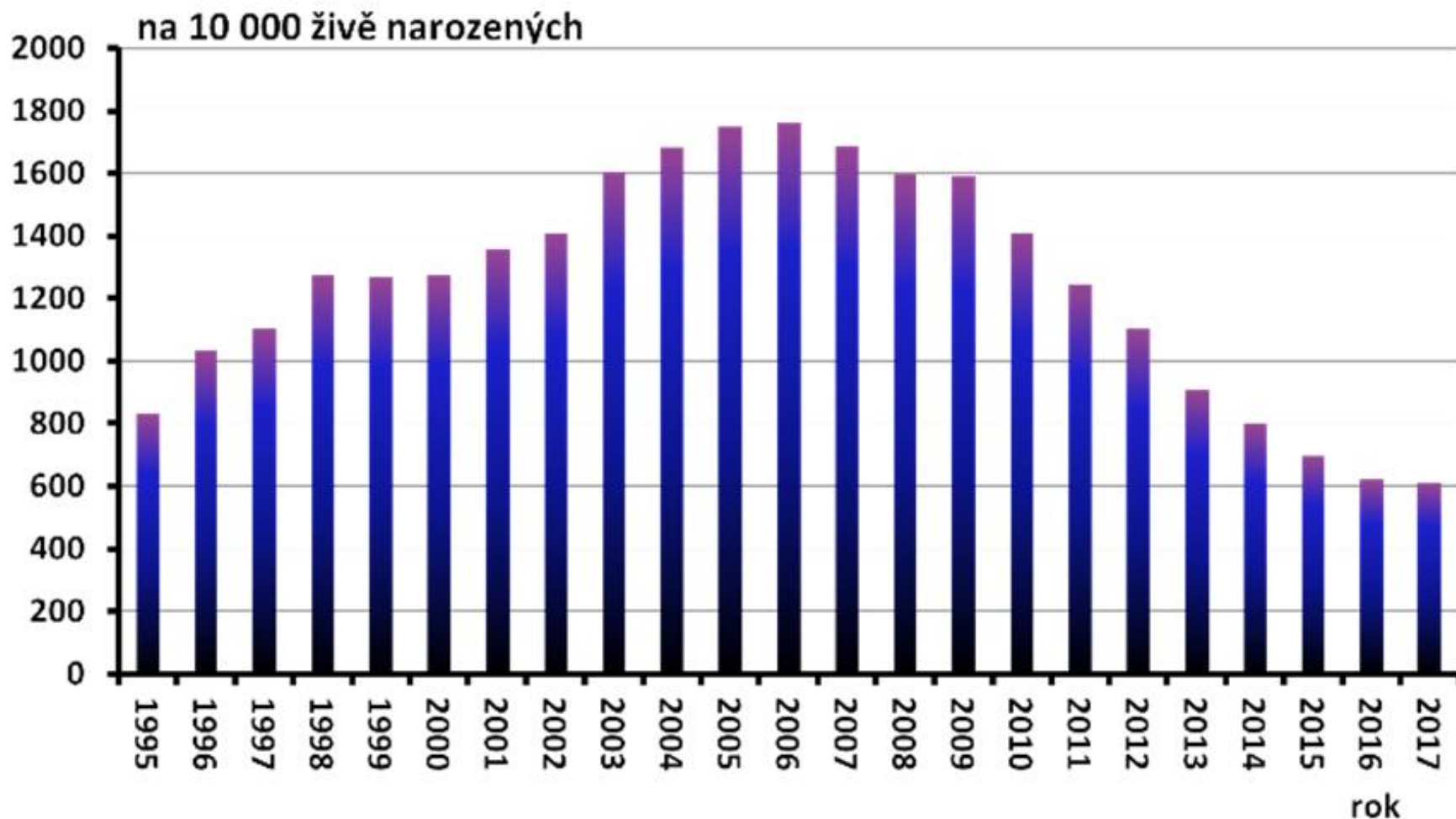
2009	29,8
2010	29,5
2011	32,0
2012	46,8
2013	53,4
2014	55,6
2015	61,9
2016	62,5
2017	65,8
2018	69,7



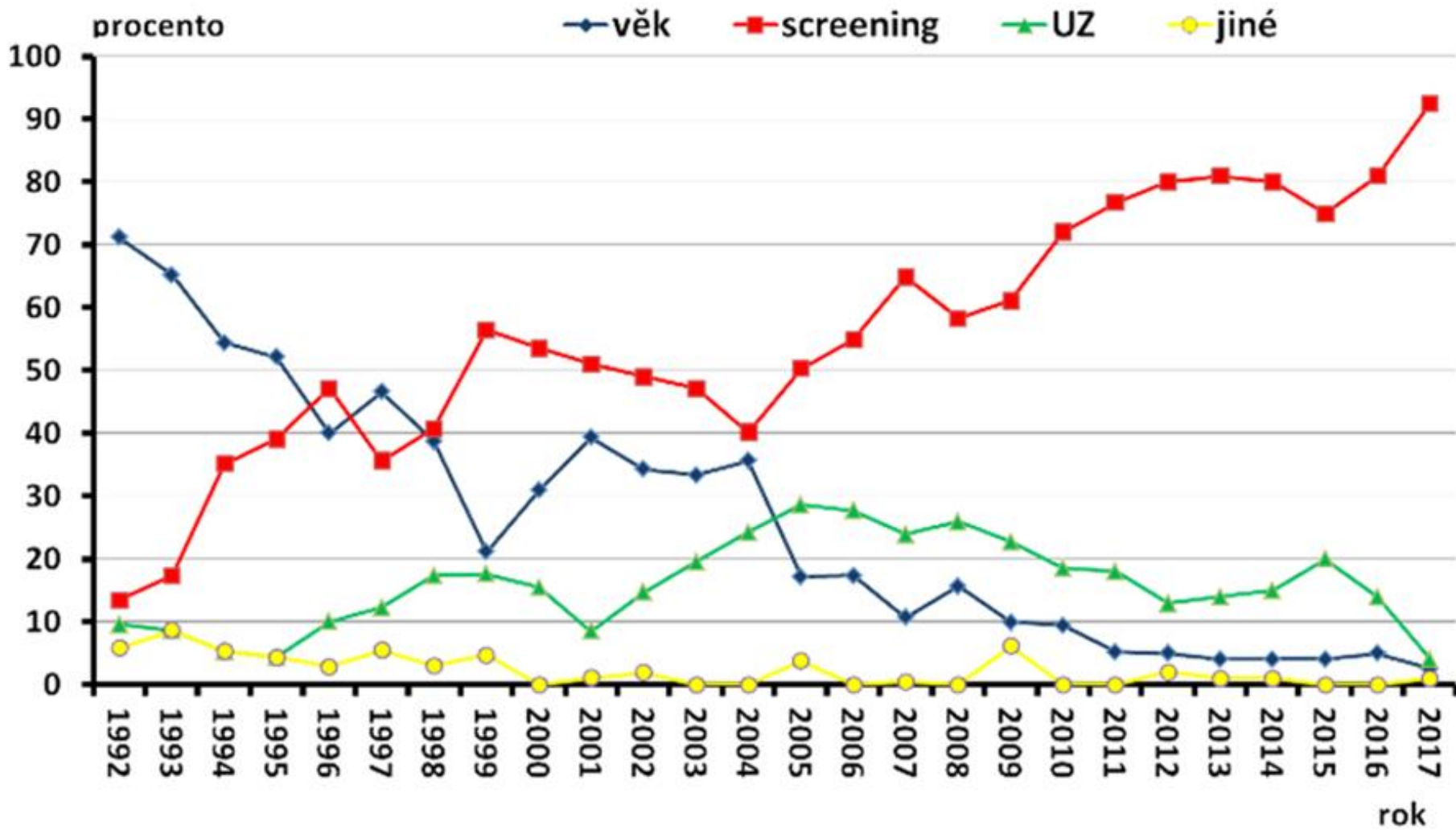
Invazivní prenatální diagnostika v České republice, 1994 - 2017



Invazivní prenatální diagnostika v České republice, 1994 - 2017

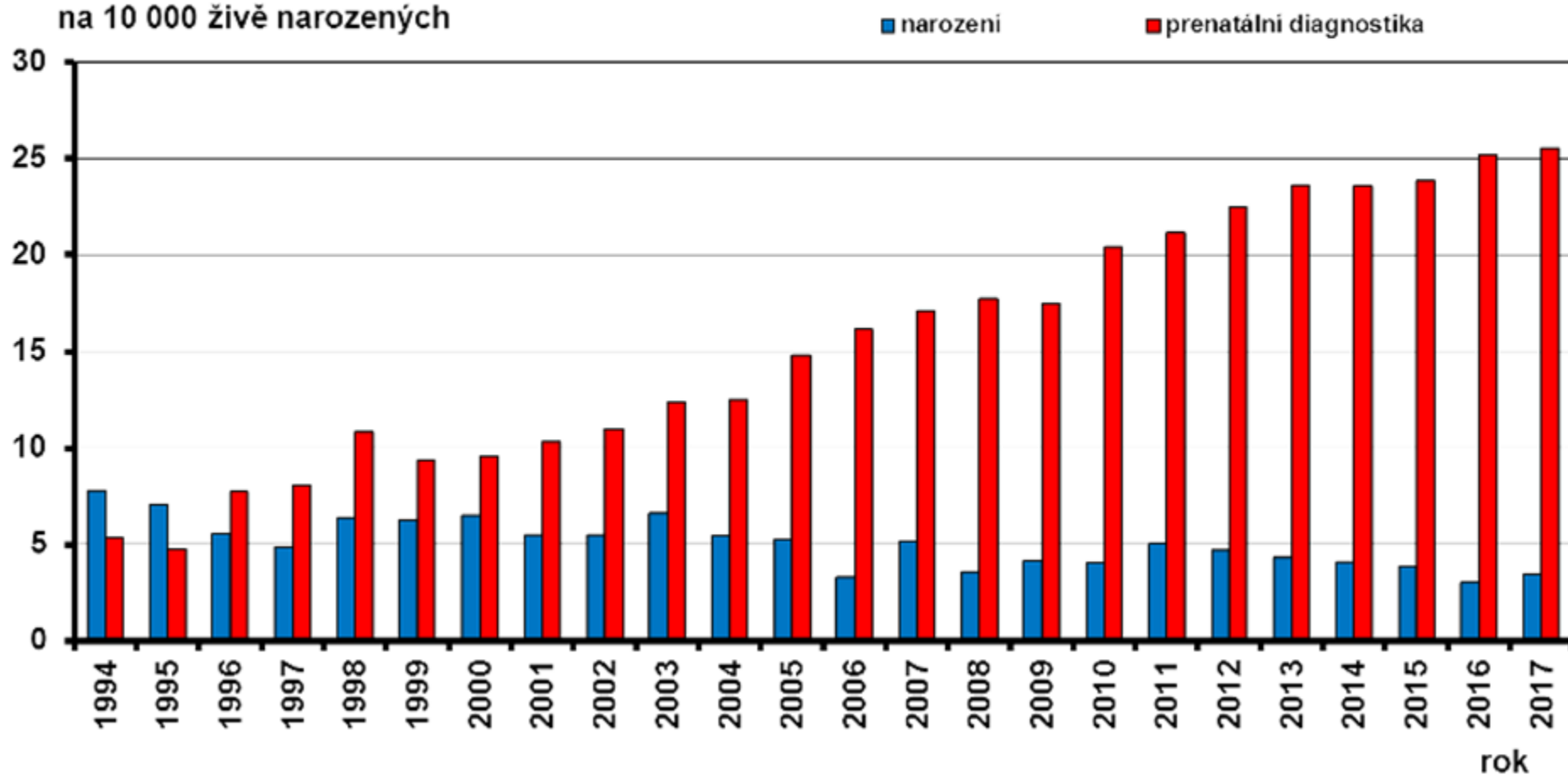


Indikace k invazivní prenatalní diagnostice u plodů s diagnostikovaným DS, ČR 1992 - 2017

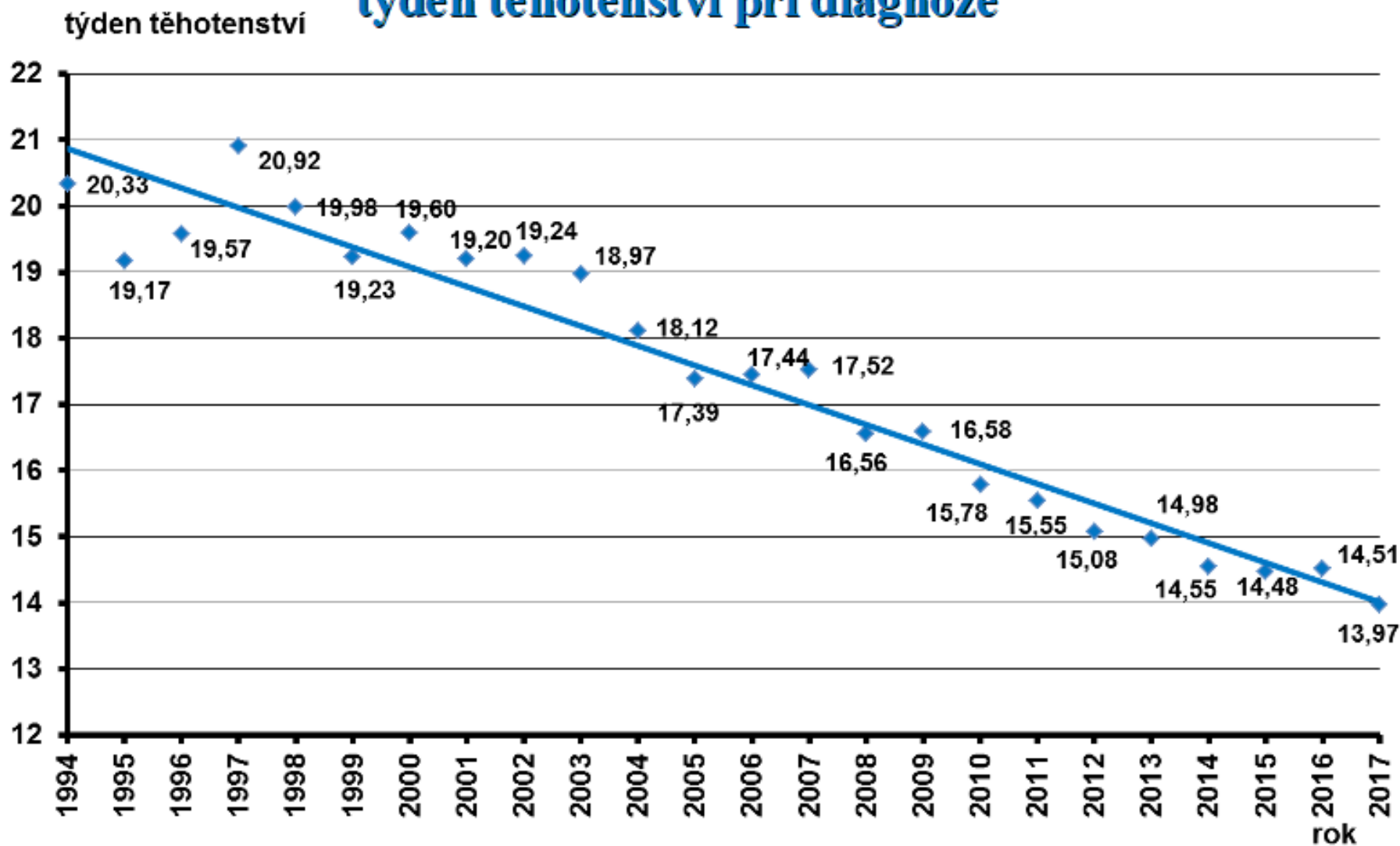


Downův syndrom v České republice, 1994 – 2017

na 10 000 živě narozených



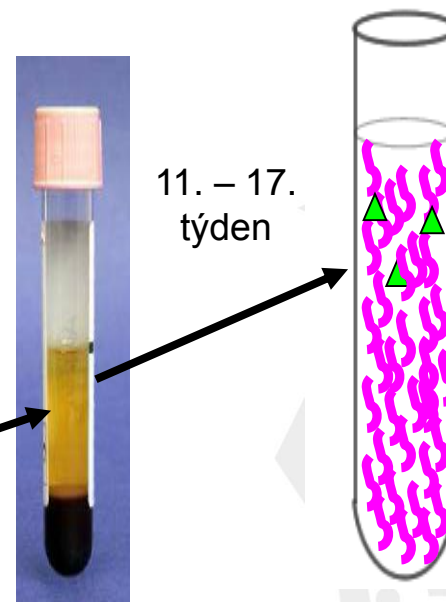
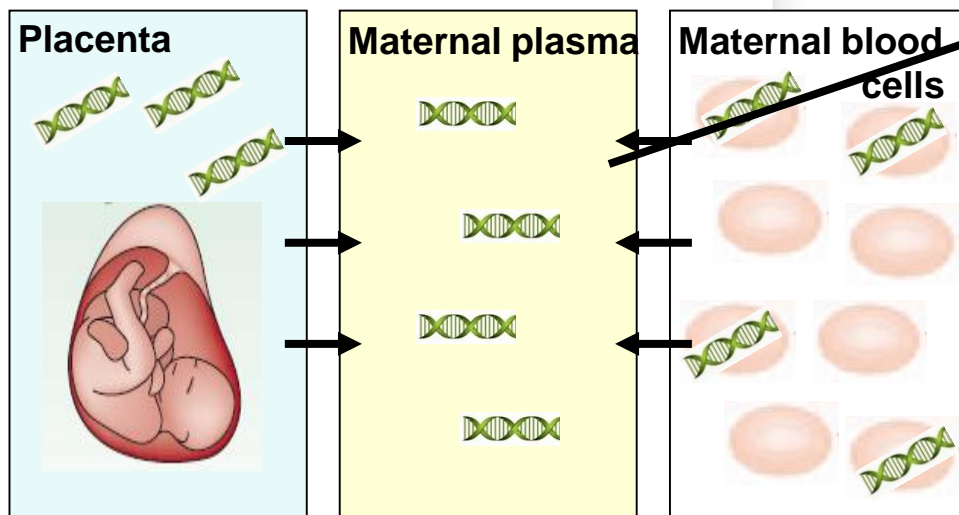
Downův syndrom v České republice, 1994 – 2017, týden těhotenství při diagnóze



NON-INVASIVE PRENATAL TESTING (NIPT)

Izolace volné DNA plodu

•1997 První publikace o cffDNA v krvi matky. (Lo YMD *et al. Lancet* 1997;350:485-7)



▲ Cell free fetální DNA (3,4 %)

⋈ Cell free mateřská DNA (96,6 %)

NIPT

- Odbornými společnostmi SLG a ČSKB ČLS JEP navrhované schéma prenatálního screeningu umožní velmi dobrou detekci vrozených vývojových vad při využití technik NIPT
- Navrhovaný systém hrazení NIPT není plošným screeninem, jde o vyšetření u žen s definovaným hraničním rizikem bez UZ nálezu
- Jde o alternativní metodu, která je v indikovaných případech nejen šetrnější, ale zároveň i finančně výhodnější alternativou (invazivní vyšetření a následný genetický test jsou v souhrnu téměř dvojnásobně dražší než samotné NIPT).

DETEKCE CHROMOZOMÁLNÍCH ANEUPLOIDIÍ, KTERÁ MŮŽE BÝT NAHRAZENA NIPT

- **QF-PCR: 7 500 Kč**

- **Komplexní vyšetření CVS**

QF PCR + karyotyp + odběr: 18 572 Kč nebo

QF PCR + aCGH + odběr: 22 118 Kč

- **Komplexní vyšetření AMC**

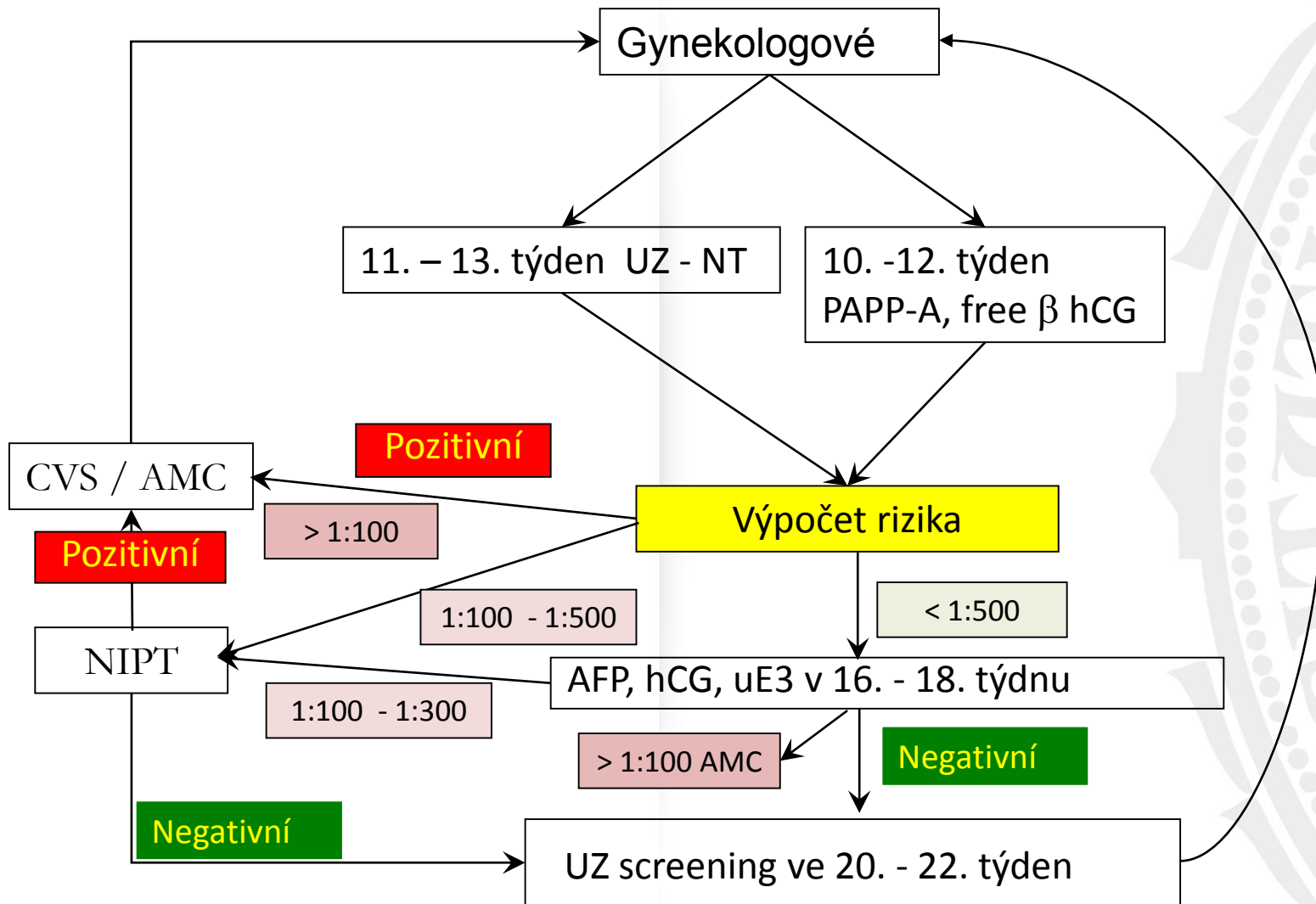
QF PCR + karyotyp + odběr: 16 568 Kč nebo

QF PCR + aCGH + odběr: 21 649 Kč

- **NIPT (kód 94 995) = **12 500 Kč** + izolace DNA (kód 94235) = **12 987 Kč****

NÁVRH TEXTU KE KÓDU 94995

- NIPT, jakožto screeningová alternativa invazivního vyšetření plodu, je indikováno při riziku mezi **1/101 až 1/300 (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
- 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.



KOMBINOVANÝ TEST JAKO KRITÉRIUM PRO VYŠETŘENÍ NIPT

- Námitka plátců péče: není důsledná kontrola na měření NT - kvalita měření NT je významně odlišná
- Fetal Medicine Foundation – sleduje a ověřuje každoročně správnost měření NT – v ČR má k únoru 2019 platný certifikát 145 lékařů a porodních asistentek
- ČGPS má přes 1900 členů, běžný gynekolog má 100 těhotných za rok
- Kolik je měření NT u gynekologů bez FMF certifikátu?



Výrobce	Test	
Ariosa Diagnostic	Harmony Prenatal Test	http://www.ariosadx.com/
Sequenom	MaterniT21 PLUS	http://www.sequenomcmm.com/home/
BGI Health Europe	Prenascan	http://www.prenascan.eu
ILLUMINA	Verifi® Prenatal Test Verifi® Plus Prenatal Test	https://www.illumina.com/clinical/illumina_clinical_laboratory/verifi-prenatal-tests.html
Natera	Panorama	http://global.panoramatest.com/uk/about
Multiplicom	Clarigo	https://www.agilent.com

- Velká centra (3 - 7 tisíc scr/rok) provedla, vzhledem k celkovým počtům screeningů, NIPT u 11 – 14 % žen

Test	počet vyšetření
Clarigo	1 618
Panorama	1 585
Prenascan	1 494
cffDNA Gennet	1 493
Trisomy test	367
Harmony	156
MaterniT-genome	21
MaterniT21Plus	19
VisibiliT	5
celkem	6 758

CERTIFICATE OF PROFICIENCY
*FOR SUCCESSFULLY IMPLEMENTING CLARIGO**

Clarigo™

Enabling NIPT for all

IS AWARDED TO

General Hospital Prague

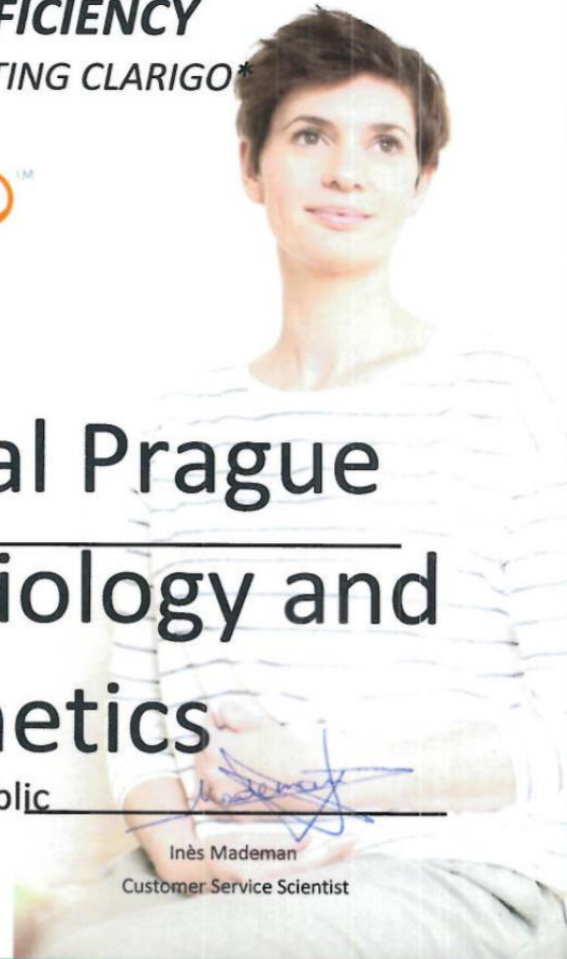
Department of Biology and
Human Genetics

Prague, Czech Republic



Inès Mademan
Inès Mademan

Customer Service Scientist



CERTIFICATE OF PROFICIENCY



** Clarigo was successfully implemented according to the following achievements and in accordance with Multiplicom's proficiency certification criteria (in attachment):*

Training

Operator Ales Horinek was successfully trained at Multiplicom in the dedicated Clarigo Workshop on 20-23/02/2018.

Proficiency run

Clarigo proficiency run has been performed successfully on a MiSeq at 15/03/2018. Following results were obtained in run Proficiency by Ales Horinek.

- ✓ The 12 proficiency samples (gDNA) supplied by Multiplicom were processed in 1 batch according to the latest active version IFU382 after diluting 1/20
- ✓ None of the samples failed during PCR steps
- ✓ Average Primer dimer fraction for proficiency samples is less than 15 %
- ✓ Clarigo reporter call is in agreement with Multiplicom results (all LFF call)
- ✓ None of the samples received a 'Low sample correlation call'

Pregnancy Samples runs

In two consecutive pregnancy sample runs Run 4 - plasma 3 on 05/06/2018 and Run 5 - plasma 4 on 05/10/2018, the following results were obtained conform to Multiplicom's criteria by operator Ales Horinek:

- ✓ None of the samples failed during PCR steps
- ✓ A minimum of 2M uniquely mapped reads is obtained for all pregnancy samples (equimolar pooling)
- ✓ Average Primer dimer fraction for pregnancy samples is less than 10 %
- ✓ None of the samples received the call 'Low sample correlation'
- ✓ All samples receive a call concordant with the known outcome for all chromosomes tested
- ✓ No more than 15 % LFF and 15 % NACs are present

This sample is processed with Clarigo and was analyzed on 2019-02-08 (10:22) as part of run **Calrigo Run 6-plasma 5** with Clarigo Reporter version 2.0.0.

Test Results

Fetal fraction*: 7.9%

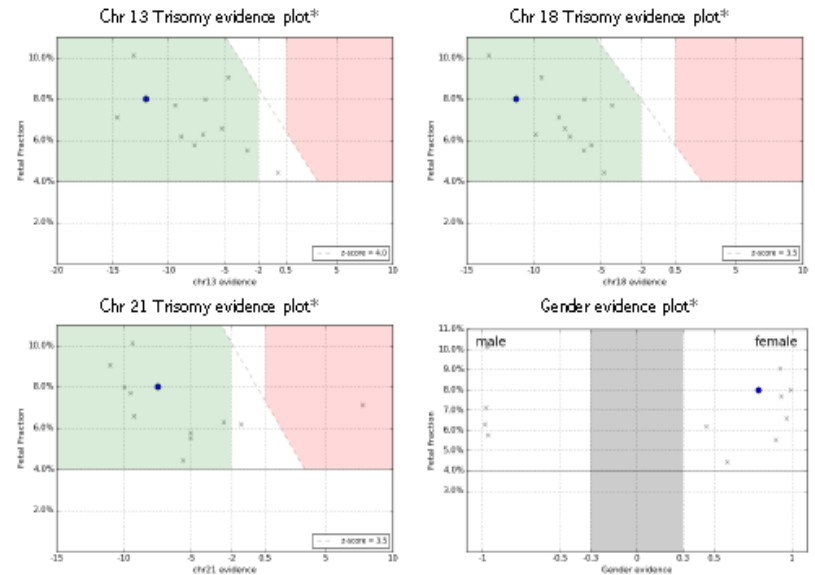
Condition tested	Trisomy Call*	Trisomy Evidence*	Z-score*
Trisomy 13	negative	-12.0	-1.3
Trisomy 18	negative	-11.3	-1.1
Trisomy 21	negative	-7.4	-0.2

Gender evidence*: 0.79. Gender call*: female.

Process parameters

Sample coverage*:	2.714M reads (NOTE: Clarigo IFU requires at least 2M reads)
Sample correlation*:	99.60%
Sample correlation σ -fold*:	-0.3
Classified read fraction*:	91.93%

Graphs



SCREENING V I. TRIMESTRU

- 31.1.2019
- věk v termínu porodu 35
- UZ v normě
- CRL 61 mm 12+5
- NT 3,2 mm

- Odběr 9+5
- free β hCG 80,9 ng/ml 0,2 MoM
- PAPP-A 0,17 mIU/l 0,199 MoM
- PIGF 8,5 pg/ml
- riziko DS (NT+věk+bioch.) **>1:4**
- riziko T18 **1:410**
- riziko T13 **1:89**
- Růstová retardace plodu **1:9**



Závěr: Screening pozitivní

This sample is processed with Clarigo and was analyzed on 2019-02-08 (10:22) as part of run [Calrigo Run 6-plasma 5](#) with Clarigo Reporter version 2.0.0.

Test Results

Fetal fraction*: 7.1%

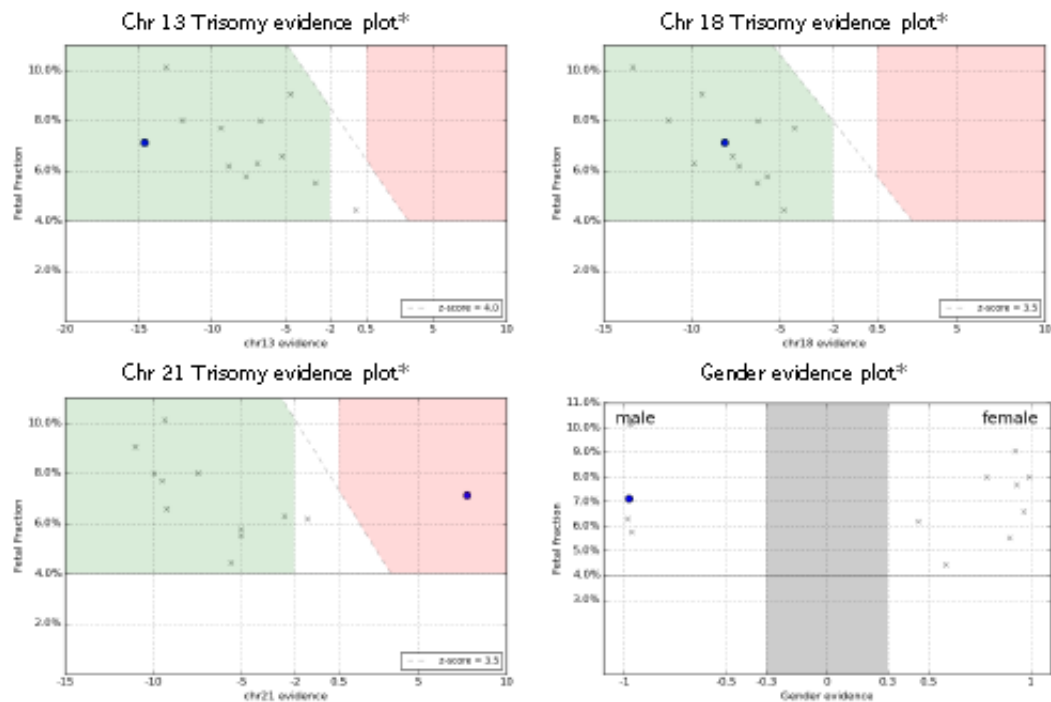
Condition tested	Trisomy Call*	Trisomy Evidence*	Z-score*
Trisomy 13	negative	-14.6	-3.1
Trisomy 18	negative	-8.1	-0.0
Trisomy 21	positive	7.8	7.0

Gender evidence*: -0.97. Gender call*: male.

Process parameters

Sample coverage*:	2.692M reads (NOTE: Clarigo IFU requires at least 2M reads)
Sample correlation*:	99.56%
Sample correlation σ -fold*:	-0.7
Classified read fraction*:	95.14%

Graphs



NIPT

- je v současnosti screeningovou metodou s nejvyšším zachytem a nejnižší falešnou pozitivitou nejčastějších chromosomálních aberací
- Jde o rutinně používanou metodu, která je vyhledávaná pro svou přesnost a jednoduchou dosažitelnost
- Spektrum genetických onemocnění vyšetřitelných NIPT se stále rozšiřuje (mikrodelece /mikroduplikace, monogenní choroby).