

آزمایشگاه دنا

D_eNA Laboratory

سری اول • شماره پانزدهم (بازنگری اول) • زمستان ۱۳۹۵
شماره سند: AB1-1-31



استراتژی پیشنهادی به منظور طراحی
برنامه کشوری غربالگری مادران باردار
از نظر ابتلای جنین به سندرم داون

این نوشتار گزیده ای است از سند نهایی استراتژی پیشنهادی به منظور طراحی برنامه کشوری غربالگری مادران باردار از نظر ابتلای جنین به سندرم داون، ویرایش نخست-بازنگری ششم- شهریورماه ۱۳۹۴ که توسط اداره ژنتیک تدوین شده و به طور آزمایشی در چهار استان در حال اجرا است. فهرست پیش نویس در متن اصلی به شرح زیر است اما فقط قسمت هایی از آن به منظور خلاصه کردن مطالب، و کاربردی تر شدن آن در این بولتن آورده شده است.

مبتلا به سندرم داون و همچنین آنپلوئیدی ۱۳ و ۱۸ که در مارکرهای بیوشیمیایی و مولکولی غربالگری با تریزومی ۲۱ مشترک هستند کمک نمود.

توصیف روش های تشخیصی مورد نیاز و اختصاصات هر روش (حساسیت و اختصاصیت)

استراتژی پذیرفته شده به منظور تشخیص این بیماری در مرحله قبل از تولد با انجام تست های غربالگری آغاز می شود. این تست ها در دو گروه عمده آزمایشگاهی (بیوشیمی و مولکولی) و رادیولوژی قرار می گیرند و شامل موارد زیر می باشند:

۱- مارکرهای رادیولوژی (سونوگرافی): اندیکاتورهایی که در اولتراسونوگرافی آنپلوئیدی ها مطرح می باشند شامل نقایص ساختاری، ناهمخوانی های بیومتریک و تغییراتی در آناتومی نرمال بدن است که آخری را تحت عنوان مارکرهایی می شناسند که وجودشان به خصوص در مواردی که بیش از یکی باشد احتمال ابتلای جنین را چندین برابر می کند. از بین مارکرهای بافت نرم که در سندرم داون دیده شده موارد زیر با حساسیت و ویژگی قابل توجه، بیش از همه مطرح می باشند:

الف- NT (Fetal nuchal translucency): افزایش ضخامت بافت نرم خلف گردن شناخته شده ترین و پر استفاده ترین مارکر است که بسیار زود قابل تشخیص بوده و هم اکنون در الگوریتم های غربالگری بسیاری از برنامه های ملی جای دارد. ثابت شده است که با اندازه گیری میزان ترانسلوسنسسی چین خلفی گردن در جنین در نمای میدساژیتال و در فاصله هفته ۱۰ تا ۱۳ بارداری می توان وجود ادم میان بافتی را که یکی از علایم تشخیصی به نفع سندرم داون می باشد تشخیص داد. چنانچه این اندازه از ۳ میلی متر بیشتر باشد ارزش دارد. البته باید توجه داشت که تنها در نیمی از موارد افزایش قابل توجه ضخامت چین خلف گردن، جنین مبتلا به تریزومی ۲۱ می باشد (۵۳) علل دیگری مانند Cystic hygroma یا نقایص قلبی نیز موجب ایجاد چنین نمایی شوند که باید در هنگام بررسی های تکمیلی در نظر گرفته شده و افتراق داده شوند.

ب- NB nasal bone (nasal bone): عدم تشکیل یا هیپوپلازی استخوان بینی در سه ماهه دوم بارداری یکی از علایم کمک کننده است.

ج- نارسایی دریچه سه لتی (Tricuspid Regurgitation): و مشاهده وجود ناهنجاری در شکل امواج داپلر مجرای وریدی (Flow Ductus Venusus) هر دو از علایمی هستند که مشاهده آنها احتمال وجود این بیماری را در جنین تقویت می کند.

۲- مارکرهای آزمایشگاهی که در دو گروه عمده بیوشیمیایی و مولکولی قرار می گیرند شامل موارد زیر می باشند:

برای پیامدهای مختلف مربوط به تشخیص سندرم داون در حاملگی در مطالعات قبلی اندازه گیری شده بود (۱۹). مطلوبیت مربوط به هر پیامد در مدت زمان تنزیل یافته برنامه های غربالگری سندرم داون در کشورهای صنعتی با آمینوسنتز و مطالعات کروموزومی جنین شروع شدند که به طور ابتدایی به زنان در معرض خطر (زنان حامله مسن تر از ۴۰ سال، زنانی که هم اکنون دارای فرزند مبتلا به سندرم داون و یا ناقل بازآرایی کروموزومی هستند) پیشنهاد می گردید. به موازات افزایش ظرفیت آزمایشگاهی، شناسایی مارکرهای مختلف و معرفی تکنولوژی های نوین تشخیصی در کنار تغییرات جمعیت شناختی که تولد کودکان مبتلا به سندرم داون از مادران مسن را در کشورهای صنعتی کاهش داده، موجب جستجو برای آن دسته از آزمایش های غربالگری شده است که می توان به زنان جوان تر پیشنهاد نمود.

بالتر رفتن سن ازدواج و سن مادر در زمان حاملگی و سیاست های جدید جمعیتی، اهمیت غربالگری این سندرم به عنوان یکی از برنامه های مهم و ضروری جهت اجرا و ادغام در نظام سلامت کشور مطرح می نماید. از سوی دیگر داده های نظام مراقبت مرگ کودک در کشور نشان می دهد که ناهنجاری مادرزادی بعد از سوانح و حوادث، دومین علت مرگ است. از مزایای قابل توجه و پیامدهای مهم اجرای برنامه غربالگری سندرم داون کمک به کشف ناهنجاری های لوله عصبی و تریزومی های شایع دیگر (۱۳ و ۱۸) نیز می باشد که منجر به کاهش مرگ و میر نوزادان، کودکان و مرده زایی و کاهش ناتوانی و عقب ماندگی های ذهنی و مشکلات مرتبط با هزینه های مراقبت از این بیماران خواهد شد.

با توجه به توضیحات فوق می توان گفت اجرای این برنامه منجر به موارد زیر خواهد شد:

- ۱- کاهش مرگ و میر نوزادان و کودکان زیر ۵ سال
- ۲- کاهش ناتوانی و بهبود کیفیت زندگی
- ۳- اجرای همزمان غربالگری تریزومی ۱۳ و ۱۸ و ناهنجاری های لوله عصبی
- ۴- کاهش سقط غیرقانونی، کاهش زایمان زودرس و مرگ جنین درون رحم درخواست روزافزون مادران باردار برای ایجاد اطمینان لازم از سلامت جنین از یک سو و تسهیلات تکنولوژیک موجود هم اکنون این امکان را ایجاد می کند که با پیگیری و تعقیب تغییراتی که در سطح تعدادی از مارکرهای بیوشیمیایی و همچنین هورمون های مترشحه در سرم و بعضاً ادرار مادران که در زمان های مختلف بارداری به حداکثر خود می رسند و همچنین معیارهای رادیولوژیک قابل توجه در جنین مبتلا به راحتی می توان با انجام تست های غربالگری به اشکال مختلف به یافتن به هنگام جنین های ناسالم و پیشگیری از تولد نوزاد

الف – PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A)

ب – Free β hCG or Total hCG

ج – μ E3 (unconjugated Estriol)

د – AFP (Alpha-Fetoprotein)

ه – DIA (Dimeric Inhibin -A)

و – cell free fetal DNA

سکانس های DNA آزاد جنین از هفته چهارم بارداری در خون مادر قابل جداسازی است. این مقدار با افزایش هفته های بارداری بیشتر شده و تا ۱۰٪ میزان DNA آزاد در پلاسماي مادر می رسد. مدت زمان پایداری آنها در خون مادر بسیار محدود بوده و نیمه عمری در حد ۱۶ دقیقه دارند. پس از زایمان کلیه سکانس های جنینی ظرف مدت ۲ ساعت از خون مادر پاک می شوند.

حساسیت و ویژگی بسیار بالای این تست موجب شده تا به شیوه ای قابل توجه درخواست انجام آن در غربالگری مادران باردار بالا رود. با استفاده از روش های Sequencing که به دو صورت massive parallel shotgun یا targeted انجام می گیرد امروزه می توان Fetal amplified DNA را از خون مادر جدا نموده و برای استفاده های تشخیصی مورد بررسی قرار داد. هر چند این روش از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار است اما به علت وجود محدودیت های عملکردی چون عدم امکان تشخیص نقایص تک ژنی، عدم پاسخگویی در تعدادی از موارد انجام شده (no call) و محدودیت در مطالعات انجام گرفته برای تعیین ارزش پیشگویی کننده مثبت تست در مادران کم خطر و همچنین هزینه بالای آن که علیرغم افزایش تعداد تولیدکنندگان سیستم های تجاری، استفاده از این روش غربالگری را محدود نموده است. هزینه اندازه گیری و بررسی با این روش همچنان در کشورهای مختلف با رقمی بیش از ۵۰۰ دلار انجام می گیرد.

cfDNA هم اکنون به عنوان یک روش انتخابی برای مادران با خطر بالا در غربالگری سندرم داون مطرح می باشد هر چند مطالعات وسیع و متعددی هم اکنون جهت مشخص نمودن ارزش تست در برنامه های دو مرحله ای به شکل contingent sequential و به منظور بررسی هزینه اثر بخشی آن در حال اجرا است.

انواع تست های غربالگری (بیوشیمیایی و سونوگرافی):

- ۱- تست های غربالگری سه ماهه اول - Combined tests شامل اندازه گیری NT در سونوگرافی به همراه تعیین میزان سرمی PAPP-A
- ۲- تست های غربالگری سه ماهه دوم Quadruple test شامل Total β hCG و AFP و μ E3 و DIA (Inhibin -A) در هفته ۱۷-۱۵

۱- تست های غربالگری تلفیقی یا مرحله ای

انجام تست های سه ماهه اول و دوم به شکل دو مرحله ای یکی از روش هایی است که علیرغم افزایش میزان تشخیص چنانچه به طور مستقل انجام گیرد با

افزایش موارد مثبت کاذب نیز همراه خواهد بود، استراتژی های مطرح کنونی برای برنامه های دو مرحله ای که ریسک نهایی را پس از بررسی هر دو مرحله تعیین می نماید، عبارتند از:

الف – Integrated: شامل انجام تست های PAPP-A + NT در سه ماهه اول با در نظر گرفتن سن مادر و انجام تست کوادراپل در سه ماهه دوم و محاسبه نهایی ریسک براساس مجموعه موارد است.

ب – Serum Integrated: انجام تست PAPP-A در سه ماهه اول و تست کوادراپل در سه ماهه دوم و محاسبه ریسک نهایی براساس کلیه نتایج است.

ج – Stepwise sequential در این روش تست های سه ماهه اول انجام می گیرد و ریسک محاسبه می گردد. براساس ریسک محاسبه شده افرادی که مشخصاً در خطر بالا (ریسک بالاتر از ۱/۵۰) قرار می گیرند مشخص شده و برای آنها مشاوره و انجام تست تشخیصی پیشنهاد می شود. سایر موارد که ریسک کمتری دارند برای انجام تست کوادراپل در سه ماهه دوم ارجاع می شوند و اقدامات لازم بعدی پس از محاسبه ریسک نهایی و تعیین وضعیت نسبت به Cut off سه ماهه دوم صورت می پذیرد.

د – Contingent sequential در این روش نیز به دنبال انجام تست های سه ماهه اول ریسک ابتلا محاسبه می گردد اما این بار نتایج براساس مرزبندی های مشخص و با فاصله در سه گروه خطر بالا، خطر متوسط و خطر پایین قرار می گیرند. موارد با خطر بالا برای تست های تشخیصی ارجاع می شوند، برای موارد باخطر پائین اقدام بیشتری انجام نمی شود و افراد با خطر متوسط برای انجام تست کوادراپل و یا تست های مولکولی و محاسبه ریسک نهایی ارجاع می گردند.

عملکرد هر یک از الگوریتم های مورد استفاده در غربالگری براساس موارد زیر محاسبه می گردد:

- میزان تشخیص موارد مبتلا در غربالگری های به عمل آمده (حساسیت یا Detection rate) (تعداد موارد تشخیص داده شده به کل موارد غربالگری)
- درصد موارد سالم که به طور کاذب نتیجه غربالگری آنها مثبت شده است (False Positive rate /1- Specificity)

- شانس مثبت شدن نتیجه غربالگری در موارد ابتلای جنین (Odds of Being Affected) given a Positive Result که در واقع معادل PPV (Positive Predictive Value) می باشد.
(موارد مبتلا که نتیجه تست در آنها مثبت شده است به موارد سالم با نتیجه مثبت)

روش های تشخیص پیش از تولد آنابلوئیدی های جنینی:

۱- کاریوتایپ

۲- QF-PCR

Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction یکی از

مشخص می گردد. حساسیت آنالیتیکال QF-PCR برای تشخیص سندروم داون ۹۹/۴٪، و ویژگی (Specificity) آن ۱۰۰٪ می باشد. این روش دارای حساسیت کمتر برای تشخیص موزائیسیم و همچنین اختلالات کروموزوم های جنسی می باشد.

در ارتباط با تست NIPT توجه به موارد زیر ضروری است :

۱- مادر باردار می تواند این تست را به جای تست های غربالگری معمول

انتخاب کند(مشروط به تکمیل برگه رضایتنامه)

۲- تست به هیچ عنوان جایگزین تست تشخیصی برای اثبات بیماری نمی باشد.

روش های تشخیص سریع آنیوپلوئیدی های قابل حیات (تریزومی ۱۳، ۱۸، ۲۱، سندروم کلاین فلتر و سندروم ترنر) بوده که در سال های اخیر به سرعت جایگزین کاربوتایپ در تشخیص های پیش از تولد بارداری های با نتیجه پرخطر در غربالگری سندروم داون شده است. در این روش از کیت هایی که دارای چندین جفت پرایمر فلئورسنت اختصاصی نواحی مختلف کروموزوم های ۱۳، ۱۸، ۲۱، X و Y است استفاده می شود. در نهایت محصولات PCR با استفاده از کاپیلاری الکتروفورزیس جدا شده و به صورت کمی با نمونه کنترل نرمال مقایسه می شوند و بدین ترتیب تعداد نسخه های هر یک از این کروموزوم ها

جدول شماره ۱۵ - مزایا و معایب روش های مختلف غربالگری سندروم داون

معایب	مزایا	نام تست
<ul style="list-style-type: none"> - نیاز به سونوگرافی و تعیین NT - کمتر بودن حساسیت و ویژگی تست درمقایسه با روش های دو مرحله ای - بالاتر بودن احتمال سقط در اثر انجام تست های تشخیصی در مقایسه با روش های دیگر (PRL) - نیاز به انجام تست غربالگری برای NTD در سه ماهه دوم (سونوگرافی یا AFP) 	<ul style="list-style-type: none"> - یک مرحله نمونه گیری - زمان انجام و تصمیم گیری زود هنگام - یک بار محاسبه خطر - امکان انجام CVS و آمنیوسنتز - خطر کمتر در ختم حاملگی (کم بودن GA) - دسترسی به نرم افزار های مناسب غربالگری در سه ماهه اول 	<p>Combined</p> <p>NT</p> <p>+</p> <p>PAPP-A + free β hCG</p>
<ul style="list-style-type: none"> - دو مرحله نمونه گیری و آزمایش - لزوم ورود کلیه نمونه ها به مرحله دوم آزمایش - وابسته بودن نتایج به تست های سه ماهه دوم که برخی از آنها بخصوص DIA برندها و روش های بسیار محدودی دارند - نیاز به نرم افزارهای سه ماهه دوم - احتمال عدم مراجعه تعدادی از موارد در سه ماهه دوم - لزوم آماده بودن آزمایشگاه برای محاسبه خطر براساس تست سه ماهه اول (در صورت عدم مراجعه مادر) - افزایش خطرات ختم حاملگی به علت بالاتر بودن GA - افزایش فشار کاری روی آزمایشگاه (پیگیری نمونه ها در سه ماهه دوم) - لزوم پیگیری نمونه ها در سه ماهه دوم 	<ul style="list-style-type: none"> - بالاتر بودن حساسیت و ویژگی تست در مقایسه با روش ترکیبی 	<p>Integrated</p> <p>NT+ PAPP-A</p> <p>+</p> <p>hCG + μE3 + DIA+ AFP</p>
<ul style="list-style-type: none"> - دو مرحله نمونه گیری و آزمایش - دوبار محاسبه خطر - وابسته بودن نتایج نهایی به تست های سه ماهه دوم - نیاز به نرم افزارهای سه ماهه دوم - افزایش خطرات ختم حاملگی به علت بالاتر بودن GA در گروهی که در مرحله دوم در تست های تشخیصی به نتیجه مثبت می رسند - احتمال از دست دادن نمونه ها در مرحله دوم - نیاز به مشاوره های بیشتر ژنتیک (هزینه بالاتر مشاوره) - افزایش فشار کاری روی آزمایشگاه (لزوم پیگیری نمونه ها در سه ماهه دوم) 	<ul style="list-style-type: none"> - تعیین تکلیف مادران Low risk در سه ماهه اول و ایجاد اطمینان لازم - سرعت بالاتر در پاسخگویی به مادران high risk و انجام تست های تشخیصی - ورود تعداد بسیار کمتر نمونه ها (۱/۴) به مرحله دوم (گروه بینابینی) - امکان انجام CVS در سه ماهه اول - بالاتر بودن حساسیت و ویژگی تست نسبت به روش ترکیبی 	<p>Contingent</p> <p>NT</p> <p>+</p> <p>PAPP-A + free β hCG</p> <p>+</p> <p>Total hCG + μE3 + DIA+ AFP</p>
<ul style="list-style-type: none"> - مشابه Integrated - نیاز به CRL در سه ماهه اول یا BPD در سه ماهه دوم 	<ul style="list-style-type: none"> - عدم نیاز به NT در سونوگرافی - برابر بودن حساسیت و ویژگی با روش ترکیبی 	<p>Serum integrated</p> <p>PAPP-A</p> <p>+</p> <p>hCG + μE3 + DIA+ AFP</p>
<ul style="list-style-type: none"> - وابسته بودن نتایج به تست های سه ماهه دوم - نیاز به نرم افزارهای سه ماهه دوم - افزایش خطرات ختم حاملگی به علت بالاتر بودن GA 	<ul style="list-style-type: none"> - امکان انجام و محاسبه خطر در سه ماهه دوم برای مادرانی که دیر مراجعه می کنند. 	<p>Quadruple</p> <p>Free β hCG or Total hCG + μE3 + DIA+ AFP</p>
<ul style="list-style-type: none"> - هزینه زیاد انجام تست برای هر نفر - محدودیت های متعدد در تشخیص برخی از ناهنجاری های ژنتیک - محدودیت دسترسی به تکنولوژی تشخیصی در کشور 	<ul style="list-style-type: none"> - بالاترین میزان حساسیت و ویژگی - تعیین تکلیف در یک بار مراجعه - هزینه کمتر در غربالگری جمعی - کم کردن تعداد نمونه برای تست های تشخیصی - کاهش میزان سقط در اثر انجام تست تشخیصی 	<p>ادغام cell free DNA در برنامه</p>

۳- مشاوره قبل و بعد از انجام تست الزامی است.

۴- وجود یک نتیجه منفی به معنی عدم ابتلای قطعی جنین نمی‌باشد.

۵- نتیجه مثبت باید با آمنیوسنتز تأیید شود.

۶- سن بارداری باید بین ۱۶-۱۰ هفته باشد اما برای سن مادر محدودیتی وجود ندارد.

۷- انجام تست های غربالگری با روش ها / آلگوریتم های مختلف هم زمان و به طور موازی با تست NIPT مجاز نمی باشد.

کلیه درخواست های مربوط به ارسال نمونه به خارج از کشور برای انجام تست باید با کسب مجوز از آزمایشگاه مرجع سلامت همراه باشد.

موارد ذکر شده در این جدول با در نظر گرفتن کلیه جوانب فنی و کاربردی برای هر یک از روش ها آمده است. تفاوت در هزینه انجام روش ها در بخش دیگری در کنار محاسبات مربوط به تعداد موارد خطای هر روش مورد تحلیل قرار گرفته است.

برنامه پیشنهادی جهت غربالگری سندرم داون در مادران باردار در کشور ایران

شاخص هایی که برای تصمیم گیری روی ترکیب پیشنهادی از تست ها در نظر گرفته شد:

۱- میزان تشخیص (Detection rate)

۲- کارایی (Efficacy): تعداد نتیجه مثبت کاذب (FPR) در برابر میزان ثابت نرخ تشخیص (DR) است و به شکلی عملکرد روش غربالگری را نشان می دهد.

۳- ایمنی (Safety): تعداد جنین سالم از دست رفته به علت روش های تهاجمی تشخیص (CVS و آمنیوسنتز) در صدهزار غربالگری

۴- تعداد نوزاد متولد شده مبتلا به سندرم داون

۵- هزینه اثربخشی (Cost-effectiveness): هزینه غربالگری صدهزار بارداری در برابر هزینه تشخیص بارداری های مثبت (از نظر سندرم داون) سنجیده می شود.

نتایج آماری که در تصمیم گیری برای تعیین محدوده سنی مادران باردار در نظر گرفته شده است :

آخرین اطلاعات منتشر شده کشور که می توان از آنها برای محاسبه میزان باروری در سنین مختلف استفاده شده در ذیل آمده است. همانگونه که ملاحظه می شود میزان باروری در سن بالای ۳۵ سال در آمار سال ۲۰۰۸ به میزان ۵/۵٪ کل بارداری ها بوده است. از موارد زایمان جنین مبتلا به سندرم داون هم اکنون اطلاعی در دست نیست ولی با در نظر گرفتن شیوع بیماری می توان انتظار داشت که هرچند ریسک ابتلای جنین با بالا رفتن سن مادر افزایش می یابد (با استناد بر منابع معتبری که در کشورهای دارای برنامه ثبت موارد سندرم داون) اما چنانچه فقط خانم های بالای ۳۵ سال در برنامه غربالگری تحت پوشش قرار گیرند، شناسایی درصد قابل توجهی از موارد مبتلا از دست خواهد رفت.

همانگونه که در جدول بالا ملاحظه می شود، روش Contingent با حد پایین و

بالای Cut off به ترتیب ۵۰/۱ و ۱۱۰۰/۱ در مرحله اول و ۲۷۰/۱ در مرحله دوم،

با توجه به داشتن سطح دسترسی با وجود ۱۵۶۵۴ که هزینه بیشتر برای تشخیص

هر مورد اضافه تر DS، نسبت به روش ترکیبی در هر ۱۰۰۰۰۰ بارداری و ۶

سندرم داون کمتر متولد شده و ۵ جنین سالم کمتر از دست رفته هزینه اثربخش

ترین روش در تشخیص کودکان مبتلا به سندرم داون می باشد. همچنین این

روش با میزان تشخیص بالاتر نسبت به روش ترکیبی، روش ایمن تری نیز در

جهت جلوگیری از، از دست رفتن جنین های سالم می باشد.

۱- در تعیین هزینه برای هر روش بر حسب وارد کردن یا وارد نکردن هزینه مراقبت بچه مبتلا به سندرم داون ۲ نوع هزینه یعنی هزینه روش بدون احتساب هزینه مراقبت بچه مبتلا به سندرم داون (Method Cost: MC) و هزینه کل (Total Cost: TC) محاسبه شد.

۲- در روش CEA میزان سندرم داون تشخیص داده شده (detection rate: DR) معیار اثربخشی بود و از TC برای محاسبات استفاده گردید.

۳- در روش CUA به منظور تعیین اثر (effect) پیامدهای مربوط به تولد یا سقط سندرم داون، از شاخص مطلوبیت (utility) استفاده شد. مطلوبیت (discounted time) مربوط به آن پیامد ضرب شد تا مقدار QALY مربوط به آن پیامد محاسبه شود (جدول ۱۸). در این روش از MC برای محاسبات استفاده گردید.

۴- در محاسبات هزینه با توجه به تورم، نرخ تنزیل (discount rate) به طور متوسط برابر ۱۰٪ و در محاسبات QALY، ۵٪ در نظر گرفته شد.

۵- هزینه مراقبت و نگهداری سالانه کودک مبتلا به سندرم داون برابر $k2000$ در نظر گرفته شد (این هزینه در کشورهای غربی بین $k11000$ و $k5000$ در سال می باشد (۱۹)).

۶- پس از تعیین هزینه ها (MC, TC)، میزان تشخیص (DR) و QALY مربوط به هر روش به صورت جداگانه، برای تعیین مناسب ترین روش ۲ سناریو در نظر گرفته شد.

- در سناریوی اول همه روش های مطرح در غربالگری سندرم داون با یکدیگر مقایسه شدند.

- در سناریوی دوم تنها روش هایی با هم مقایسه شدند که زیرساخت لازم برای اجرای آنها در کشور موجود بود.

۷- برای محاسبات ICER (یا ICUR)، روش ها به ترتیب نزولی به صعودی بر حسب میزان اثربخشی یا مطلوبیت مرتب شدند. سپس روش ها نامناسب (روش هایی که نسبت به روش مقایسه با هزینه بیشتر اثربخشی یا مطلوبیت کمتری داشتند) حذف می شدند. در نهایت از روش های باقیمانده روشی که ICER (یا ICUR) کمتری داشت به عنوان مناسب ترین روش انتخاب می شد. در نهایت در تحلیل نهایی نمودار هزینه اثربخشی (مطلوبیت) نیز در تفسیر مد نظر قرار گرفت. در بررسی نموداری گروه روش هایی که حالت خوشه ای (cluster) داشتند هم وزن تفسیر می شدند.

تولد نوزاد مبتلا به سندرم داون)، توانایی مالی و همچنین انتخاب مادر پس از انجام مشاوره های اولیه می باشد.

بسته B: استان هایی که به سونوگرافی جهت تعیین NT استاندارد دسترسی ندارند:

- در این استان ها عدم امکان دسترسی به نتایج قابل اعتماد سونوگرافی موجب می گردد از همان ابتدا مادر در مسیر B حرکت کند یعنی انجام Serum integrated test در صورتی که در سه ماهه اول مراجعه کند و انجام Quadruple test در مراجعات سه ماهه دوم.

- تعیین سن دقیق بارداری در این استان ها نیز براساس اندازه گیری مارکرهای سونوگرافی (CRL, BPD) انجام می گیرد.

- وجود عواملی که خطر اولیه (Priori risk) را بالا ببرد سبب ارجاع وی به مادر مراکزی می گردد که امکان انجام روش های با عملکرد بهتر را نیز دارا می باشند.

در بررسی نهایی به این نتیجه می رسیم که با توجه به زیرساخت های موجود روش combined کم هزینه ترین روش منتخب و روش های تلفیقی مناسب ترین روش ها در بستر فعلی نظام سلامت باشند. با عنایت با اینکه مناسب ترین روش در کل روش تلفیقی (بیوشیمیایی ۲ مرحله و cfDNA ۵۰-۱۱۰۰) بود به نظر می رسد شروع برنامه با روش combined یا تلفیقی و استانداردسازی بستر نظام سلامت برای این روش ها مناسب ترین اقدام باشد. در عین حال با توجه به توسعه روز افزون روش cf-DNA تدوین کنندگان برنامه کشوری در نظر دارند در صورت فراهم شدن زیرساخت های مناسب (با در نظر گرفتن آخرین پیشرفت ها و به روز ترین توصیه های علمی) این روش نیز به عنوان روش کمکی به برنامه کشوری در آینده ای نزدیک اضافه شود.

بسته ها و الگوریتم های پیشنهادی خدمت

اجرای برنامه در قالب دو بسته خدمتی دیده می شود:

بسته A (شامل A1 و A2): استان هایی که به سونوگرافی جهت تعیین NT استاندارد دسترسی دارند:

- مادران باردار در محدوده این استان ها امکان استفاده از برنامه غربالگری به روش های مختلف Contingent و Integrated (full & Serum only) و Quadruple را دارند.

- عوامل تعیین کننده در انتخاب روش غربالگری: زمان مراجعه مادر (سن بارداری)، وجود عواملی که خطر اولیه (Priori risk) را بالا ببرد (مانند سابقه

تست غیرتهاجمی NIPT

مواردی که درخواست تست NIPT اندیکاسیون دارد:

۱- یافته های مثبت سونوگرافیک (Soft Marker) به نفع آنومالی های شایع مثل تریزومی های ۱۳ (سندرم پاتو)، ۱۸ (سندرم ادوارد) و ۲۱ (سندرم داون) (حداقل یک یافته)

تبصره ۱: جواب منفی NIPT به دست آمده از انجام آزمون صحیح و دقیق بر روی یک نمونه صحیح، وجود این سه آنومالی را می تواند Rule out نماید.

روش	Incremental Cost per Case detection	Prevention of LOHF	Prevention of DS Birth	درصد کارایی در تشخیص در سه ماهه اول	درصد اثربخشی در کنترل مولد مبتلا به بیماری تعداد جنین سالم سقط شده ناشی از آمیو سنتز تعداد متولدین با سندرم داون	%FPR	%DR	Cur off	Cost/each Dlection (با ضرب ک)	میزان تشخیص در واقعیت	میزان تشخیص در تئوری با توجه به درصد DR	هزینه کل (ک)	ترتیب بر حسب هزینه- اثربخشی	روش
روش تلفیقی (۱۱۰۰-۵۰)	13654	-5	-6	76.5	57.5	39	4.6 (1.8,16.5)	92 (71,17%)	1/50, 1/270	12,808	169	208	1	روش تلفیقی (۱۱۰۰-۵۰)
روش تلفیقی (۱۱۰۰-۱۰)	21703	-8	-5	73.7	56.8	36	4.2 (0.6,19.2)	91 (51,19%)	1/10, 1/270	12,708	166	206	2	روش تلفیقی (۱۱۰۰-۱۰)
روش تلفیقی (۱۱۰۰-۷۰)	19337	-1	-6	76.3	57.4	43	4.8 (2.4,14.0)	92 (74,17%)	1/70, 1/270	12,648	168	208	3	روش تلفیقی (۱۱۰۰-۷۰)
روش ترکیبی (Comperator)	*	*	*	69	53	44	6.1	85	1/300	12,181	156	192	4	روش ترکیبی (Comperator)
روش کودک	#DIV/0!	1	0	69	53	45	6.2	85	1/270	14,104	156	192	5	روش کودک
روش سرم اینگریتد	#DIV/0!	-8	0	69	53	36	5	85	1/250	14,655	156	192	6	روش سرم اینگریتد
روش اینگریتد	#DIV/0!	-35	0	69	53	9	1.2	85	1/100	19,703	156	192	7	روش اینگریتد
روش ترکیبی (متد کنولی در انگلیس)	-21722	-30	-4	72.9	56.1	14	2	90	1/150	10,285	165	203	8	روش ترکیبی (متد کنولی در انگلیس)
روش cfDNA	363510	-43	-12	80.9	62.3	1	0.1	100	?	63,974	183	226	9	روش cfDNA
روش تلفیقی و cfDNA (1100-50)	62335	-31	-13	83.6	62.4	13	(1.8,17)	100 (71,17%)	1/50, 2nd?	19,538	189	226	10	روش تلفیقی و cfDNA (1100-50)
روش تلفیقی ۲ مرحله و cfDNA (۵۰-۱۱۰۰)	13336	-31	-13	83.6	62.4	13	(1.8,17,0.1)	100 (71,17%)	1/50, 1/270	12,309	189	226	11	روش تلفیقی ۲ مرحله و cfDNA (۵۰-۱۱۰۰)

- و نتریبومگالی ملایم (۹ تا ۱۱)

- Short Long Bone

- Small Nose BONE (FL,HL<5th Percentile)

- بینی هیپوپلاستیک (این مورد از بعد از ۱۵ هفتگی قابل تشخیص است).

- NF>6 mm

- Aberrant right subclavian artery

- Echogenic bowel بعد از هفته ۱۸

- هیدرونفروز (Pyelectasia>5 mm) بین هفته ۱۸ تا ۲۰

بررسی موارد فوق جهت کاهش نگرانی مادر باردار، کاهش سقط غیرقانونی و یا سقط ناشی از آمنیوسنتز غیرضروری در صلاحدید کارگروه تعیین استانداردهای تشخیص ژنتیک می باشد.

۲- سابقه تولد نوزاد مبتلا به تریزومی ۱۳ (سندرم پاتو)، ۱۸ (سندرم ادوارد)

و ۲۱ (سندرم داون) (بدون ترانسلوکاسیون).

توجه: اگر ترانسلوکاسیون باشد حتماً آمنیوسنتز پیشنهاد می شود.

۳- حاملگی با استفاده از روش های کمک باروری.

۴- نتایج مثبت در آزمایش های غربالگری سه ماهه اول و دوم، مشروط بر این

که بیمار به دلایل موجه پزشکی انجام آمنیوسنتز پس از مشاوره توصیه نشود

مانند مسائل زیر:

- مادر با خونریزی (تهدید به سقط)

- مثبت بودن عفونت های ویروسی HIV، HBS و HCV در مادر

- مادر با RH منفی

۵- جا به جایی کروموزومی در کروموزوم ۱۳، ۱۸ و ۲۱.

نکته مهم: اگر در زمینه تشخیص سندرم داون، به مسائل دیگری برخورد

نماییم، وظیفه اخلاقی ارائه مشاوره می باشد.

مواردی که درخواست تست اندیکاسیون ندارد:

۱- دوقلویی های دی کوریونی.

۲- چندقلویی.

۳- در مادران با چاقی شدید با BMI>30 و یا با وزن بالای ۱۰۰ کیلوگرم.

۴- غربالگری آنومالی های کروموزومی غیر از ۱۳، ۱۸ و ۲۱

۵- در صورتی که نتیجه تست به خاطر Low Fetal Fraction منفی شده

است نمونه گیری مجدد و ارسال نمونه مجدد توصیه نمی شود. در این صورت

باید آمنیوسنتز انجام بگیرد.

در انجام تست NIPT (با استفاده از Cell free DNA)

توجه به موارد زیر ضروری است:

۱- مادر باردار می تواند این تست را به جای تست های غربالگری معمول انتخاب کند.

۲- تست به هیچ عنوان جایگزین تست تشخیصی برای اثبات بیماری نمی باشد.

۳- مشاوره قبل و بعد از تست الزامی است.

۴- وجود یک نتیجه منفی به معنی عدم ابتلای قطعی جنین نمی باشد.

۵- نتیجه مثبت باید با آمنیوسنتز تایید شود.

۶- سن بارداری باید بین ۱۰ تا ۱۶ هفته باشد اما برای سن مادر محدودیتی

وجود ندارد.

۷- انجام تست های غربالگری با روش های الگوریتم مختلف، همزمان و به طور

موازی با تست NIPT مجاز نمی باشد.

۸- کلیه درخواست های مربوط به ارسال نمونه به خارج از کشور باید با مجوز

آزمایشگاه مرجع سلامت باشد.

نکات مهم در روند اجرایی :

نکته ۱: مادرانی که قبل از انجام تست غربالگری دارای خطر اولیه بالا هستند

می توانند درخواست انجام تست Cell Free Fetal DNA را قبل از انجام

تست تشخیصی و به عنوان تست غربالگری داشته باشند.

نکته ۲: در مواردی که سن حاملگی مادر در هنگام اولین مراجعه کمتر از ۱۱

هفته باشد لازم است، به وی توصیه گردد که در زمان مناسب تعیین شده برای

انجام غربالگری مراجعه نماید.

نکته ۳: برای تأیید ابتلای جنین باید دو بار تست QF-PCR انجام گرفته (با انجام

تمامی مراحل تست و استخراج DNA از اول) و نتیجه هر دو تست مثبت باشد

پیوست ۲

الزامات آزمایشگاه های انجام دهنده تست های غربالگری و تشخیصی

الزامات فنی ویژه تست های غربالگری

الف) الزامات مرحله قبل از انجام آزمایش

۱- اطلاعات برگه درخواست و اطلاعات همراه نمونه

۲- الزامات مربوط به مدیریت نمونه

ب) الزامات مرحله انجام آزمایش غربالگری بیوشیمیایی

* تمامی آزمایشگاه های مجری باید برای انجام این آزمایشات از کیت و

تجهیزات مورد تأیید وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی استفاده نمایند

که تحت برنامه دقیق نگهداری، پشتیبانی و کالیبراسیون قرار دارد.

استاندارد سازی نحوه انجام و آنالیز نتایج غربالگری ناهنجاری جنین مورد تأکید

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی است. بنابراین ضروری است

آزمایش های سه ماهه اول توسط سیستم های بسته با صحت مناسب در عملکرد

(درستی و دقت) انجام گیرد. برای آنالیت هایی که هم اکنون در سیستم های

بسته اندازه گیری قرار ندارند، رعایت الزامات دقیق آزمایش با روش های باز و

اجرای برنامه های کنترل کیفیت داخلی مورد تأکید است.

* انجام آزمایش های صحت گذاری اولیه، قبل از استفاده از کیت های جدید یا با

سری ساخت متفاوت الزامی است. این آزمایش ها حداقل باید به گونه ای

انتخاب گردد که از نظر محدوده آنالیتیک قابل اندازه گیری، حد تشخیص،

درستی و دقت روش اطمینان لازم را ایجاد کند. (لازم است میزان عدم دقت،

محاسبه شود و بیش از ۴ درصد نباشد.

- آزمایشگاه باید دارای برنامه تضمین کیفیت مشخص و مدون بوده و براساس آن برای انجام آزمایش ها یک برنامه کنترل کیفی داخلی تعریف کرده باشد.

- با هر سری کاری، باید کنترل های معتبر تجاری حداقل در دو سطح بالا و پائین برای هر یک از پارامترهای مورد اندازه گیری قرائت شود و نتایج آن با توجه به خطای مجاز تعریف شده برای این گروه از تست ها در چارت کنترلی مورد ارزیابی قرار گیرد. توصیه می گردد کنترل ها در سه سطح غلظتی Low, Med/Moderate, High تهیه و قرائت شود.

- تکنولوژی مورد استفاده برای انجام این آزمایش ها باید در برنامه نرم افزاری محاسبه خطر، مشخص شده باشد.

- برنامه نرم افزاری باید در فهرست نرم افزارهای مورد تأیید آزمایشگاه مرجع سلامت قرار داشته باشد.

- آزمایشگاه باید از تعداد نمونه کافی برای محاسبه میان هر هفته بارداری، برخوردار باشد (۱۰۰ نمونه برای هر هفته بارداری) به عبارت دیگر میان ها در هر آزمایشگاه و براساس جمعیت مراجعین آن آزمایشگاه باید تعیین و به روز گردد.

- برای محاسبه میان ها می توان از نمونه های فریز شده نیز استفاده نمود.

- در مراحل اولیه پذیرش نمونه ها، در صورتی که هنوز تعداد نمونه ها به حدنصاب لازم برای محاسبه میان نرسیده است، آزمایشگاه می تواند به مدت حداکثر سه ماه از میان هایی که شرکت پشتیبان نرم افزار متناسب با روش مورد استفاده برای آزمایش در اختیار می گذارد، استفاده نماید. (این میان ها با هماهنگی آزمایشگاه مرجع سلامت یا آزمایشگاه های مورد تأیید آن مرکز محاسبه می گردد). چنانچه پس از گذشت این زمان نمونه های پذیرش شده به تعداد کافی نرسد، انجام این آزمایش ها باید متوقف گردد و آزمایشگاه در صورتی که واجد شرایط لازم باشد در فهرست آزمایشگاه های سطح I قرار گیرد.

- آزمایشگاه برای پشتیبانی و سایر خدمات لازم باید با شرکت نرم افزاری پشتیبان قرارداد سالیانه داشته باشد.

- آزمایشگاه موظف است در هر گونه برنامه ارزیابی خارجی کیفیت که توسط آزمایشگاه مرجع سلامت یا مراکز منتخب آن اجرا می شود، شرکت کند.

- آزمایشگاه باید به طور ماهانه وضعیت median MoM کلی مربوط به PAPP-A و Free β hCG خود را کنترل نماید که مقدار آن نباید از 1MoM $\pm 10\%$ بیشتر شود.

الزامات مرحله پس از انجام آزمایش

- تمامی آزمایش های با ریسک بالا و متوسط باید در مدت سه روز کاری پاسخ داده شود. (این سه روز از زمان نمونه گیری تا زمان تحویل گزارش به مادر یا پزشک می باشد).

- فرمت جوابدهی باید شامل: نام و نام خانوادگی، تاریخ تولد، تاریخ و شماره پذیرش آزمایشگاه یا کد اختصاصی نمونه، نام پزشک درخواست کننده، تاریخ نمونه گیری، اطلاعات مربوط به بارداری (سن مادر، سن بارداری، وزن

مادر، (CRL)، NT (برحسب mm)، نام سونوگرافیست، نتایج آزمایش شامل مقدار عددی غلظت که قابل ردیابی به واحدهای SI باشد و مقادیر تفسیری به MoM است.

- تفسیر نتایج در سه ماه اول به صورت: risk cut-off: Low /High risk level و تعیین ریسک اختصاصی مادر برای ابتلا جنین به اختلالات کروموزومی (تریزومی) و در سه ماه دوم بصورت Low/High risk cut-off level و ریسک اختصاصی مادر است.

- در برگه جوابدهی حتما این عبارت قید گردد که آزمایش های انجام شده صرفاً به عنوان غربالگری بوده و به هیچ عنوان جنبه تشخیصی ندارد. تصمیم گیری برای انجام آزمایش های بعدی به عهده پزشک معالج می باشد.

- تمامی نتایج مربوط به موارد مثبت غربالگری باید به عنوان یک نتیجه بحرانی قلمداد شده و در اسرع وقت به پزشک ارجاع دهنده و مادر اطلاع داده شود.

- پس از انجام آزمایش، باقیمانده نمونه ها باید در شرایط مناسب (دمای منهای ۲۰ درجه سانتیگراد) نگهداری شود تا در صورت لزوم انجام تست های بیشتر بر روی آنها ممکن باشد.

- نسخه ای از نتایج (الکترونیک یا کاغذی) باید به مدت حداقل ۵ سال در آزمایشگاه نگهداری گردد.

