

Mitteinvasiivne geneetiline analüüs raseduse katkemise põhjuste selgitamiseks

KASUTUSJUHEND

CLARITY on mitteinvasiivne laboris välja töötatud (LDT) geneetiline uuring, mis tehakse raseduse katkemise järel **naiselt võetud vereproovi** põhjal. Analüüs põhineb **rakuvabal DNA-l** (cfDNA), mis koosneb veres ringlevatest DNA fragmentidest ning pärineb nii naiselt kui ka katkenud rasedusest. Testi eesmärk on tuvastada kromosoomihäireid, mis võivad olla seotud raseduse katkemisega. Kuna analüüsitav rakuvaba DNA sisaldab nii ema kui ka loote päritolu DNA-d, võib test tuvastada ka emalt pärinevaid kromosoomi koopianumbri muutusi, mis võivad olla seotud raseduse kuluga.

CLARITY test on valideeritud järgmiste kromosoomihäirete tuvastamiseks kogu genoomi hõlmava analüüsi abil:

- **autosoomsed aneuploidsused** kromosoomides 1–22
- **sugukromosoomide aneuploidsused** (nt Turneri sündroom (45,X), Klinefelteri sündroom (47,XXY), Jacobsi sündroom (47,XYY) ja trisoomia X (47,XXX))
- **loote kromosomaalne sugu**

CLARITY test on valideeritud kasutamiseks **alates 6. rasedusnädalast**. Test on mõeldud kasutamiseks kvalifitseeritud tervishoiutöötajate poolt. Tegemist on kvalitatiivse sõeluringuga, mis määrab analüüsitava kromosoomihäirete olemasolu või puudumise.

METOODIKA

CLARITY testi puhul eraldatakse rakuvaba DNA (cfDNA) naiselt võetud vereproovist ning sellest valmistatakse sekveneerimisraamatukogu Focus Plus laborimeetodi abil. See meetod hõlmab loote päritolu cfDNA rikastamist enne sekveneerimist, mis suurendab loote DNA osakaalu ja parandab testi analüütilist tundlikkust. Sekveneerimine viiakse läbi Illumina platvormil. CLARITY kasutab kogu genoomi hõlmavat analüüsimeetodit. Sekveneerimisandmed genereeritakse kõigi 23 kromosoomipaari kohta. Bioinformaatilise analüüsi käigus joondatakse sekveneerimisloendid referentsgenoomile ning hinnatakse nende jaotust genoomis. Genoomi eri piirkondades olevate lugemite suhtelise esindatuse põhjal arvutatakse riskiskoorid. Lisaks määratakse loote kromosomaalne sugu.

KVALITEEDIPARAMEETRID

Tundlikkus

- Autosoomsed aneuploidsused: 95%
- Sugukromosoomide aneuploidsused: >99%
- Loote kromosomaalse soo määramine: >99%

Spetsiifilisus (kõik kategooriad): ≥85%

Need toimivusnäitajad põhinevad kontrollitud tingimustes läbi viidud valideerimisuuringutel ning võivad varieeruda sõltuvalt proovi kvaliteedist, loote DNA osakaalust ja muudest preanalüütilistest ning analüütilistest teguritest.

CLARITY komplekt

CLARITY komplekt sisaldab järgmisi komponente:

- 10 mL vereproovi kogumise katsuti (Streck Cell-Free DNA BCT)
- Vereproovi katsuti imav kaitseümbris
- Plastist transpordikott
- Transpordikarp
- Kiirjuhend koos viitega kasutusjuhendile (QR-kood)
- Patsiendi nõusolekuvorm

Komplekti tuleb säilitada toatemperatuuril. CLARITY komplekti säilivusaeg on märgitud nii vereproovi kogumise katsutile kui ka transpordikarbil. Komplekte, mille säilivusaeg on möödunud, ei tohi kasutada ning need tuleb tagastada laborisse.

!!! Vereproovi kogumise katsuti on valmistatud klaasist ja võib puruneda. Katsuti purunemise korral järgige oma asutuse ohutusnõudeid. Kahjustatud katsuteid või korke ei tohi kasutada, isegi kui need näivad steriilsed.

TESTI TELLIMINE

CLARITY testi on soovitatav tellida turvalise elektroonilise vormi kaudu, mis on kättesaadav aadressil **labor.ut.ee**. Elektroonilise tellimise jaoks annab Celvia CC igale kliinikule pärast teenuslepingu sõlmimist unikaalse tellimiskoodi.

Alternatiivina on võimalik CLARITY testi tellida komplekti kuuluva **patsiendi nõusolekuvormi** alusel. Dokument tuleb täita ja allkirjastada **enne** patsiendi vereproovi võtmist.

VEREPROOVI VÕTMINE

CLARITY testi jaoks on vajalik veeniverest võetud vereproov naiselt, kellel on hiljuti toimunud raseduse katkemine. Vereproovi võtmise ajal peab raseduskude olema emakas endiselt olemas. Vereproov tuleb võtta komplekti kuuluvasse vereproovi kogumise katsutisse ning katsuti peab olema täidetud vähemalt 80% ulatuses. Kui proovi võtmine ei õnnestu (näiteks vere ebapiisava mahu tõttu), tuleb kasutada uut komplekti. Täiendavaid tarvikuid komplekt ei sisalda. Vereproovi võtmine peab toimuma vastavalt kliiniku tavapärastele protseduuridele või CLSI juhendile GP41. Kui sama veenipunktsiooni käigus võetakse mitu katsutit, **tuleb EDTA katsuti võtta enne CLARITY katsutit ning vältida hepariini sisaldavate katsutite kasutamist vahetult enne CLARITY katsutit.**

Pärast vereproovi võtmist tuleb katsutit pöörata õrnalt 180° vähemalt kümme korda, et segada verd stabiliseeriva ainega. Täiendavad juhised on toodud transpordikarbi sees. Täidetud katsuti tuleb saata laborisse esimesel võimalusel. Transpordi temperatuur on määratud transpordi karbil.

Vereproov tuleb toimetada Celvia CC meditsiinilaborisse kullerteenuse abil.

Kiirjuhend proovi pakendamiseks ja saatmiseks

1. Proovi ettevalmistamine

- Asetage täidetud vereproovi kogumise katsuti imavasse kaitseümbrisesse.
- Sulgege katsuti plastikust transpordikotti.
- Asetage suletud kott musta transpordikarpi.

2. Dokumentide lisamine

- Lisage musta transpordikarpi üks allkirjastatud eksemplar patsiendi nõusolekuvormist.

3. Kulleri tellimine

- Tellige kuller vastavalt transpordikarbi sees toodud juhistele.

4. Saadetise sulgemine

- Sulgege transpordikarp komplektis olevate kummipaelte abil.

TULEMUSED

Testi tulemused edastatakse elektrooniliselt tervishoiutöötajale, kes analüüsi tellis. Nii negatiivsed kui ka positiivsed tulemused tuleb patsiendile selgitada kvalifitseeritud tervishoiutöötaja või kliinilise geneetiku poolt ning vajaduse korral tuleb pakkuda asjakohast nõustamist. Koos patsiendiga otsustab tervishoiutöötaja testi tulemuste põhjal sobivad edasised sammud. CLARITY testi võimalikud tulemused on kirjeldatud allpool.

Positiivne tulemus

Tuvastati üks või mitu kromosoomihäiret. Need leiud võivad viidata võimalikule raseduse katkemise põhjusele. Kromosoomihäire võib pärineda säilinud raseduskoest või mõnel juhul olla seotud ema kromosoomimuutustega. Kui on kahtlus, et leid pärineb emalt, märgitakse see vastusraportis.

Negatiivne tulemus

Analüüsitud proovis ei tuvastatud kromosoomihäireid. Negatiivne tulemus ei välista raseduse katkemise geneetilist põhjust, kuna mõned kromosoomi- või geneetilised muutused võivad jääda väljapoole testi ulatust või alla selle tehnoloogilise tuvastamispiiri.

Mitteinformatiivne tulemus

Tulemust ei pruugita väljastada ühel või mitmel järgmistest põhjustest:

- Vereproovi kogumise katsuti oli täidetud vähem kui 80% nõutud mahust.
- Raseduse kestus oli alla 6 nädala.
- Vereproovi võtmise ja Celvia CC laboris registreerimise vaheline transpordiaeg ületas 14 päeva.
- Vereproovi kogumise katsuti oli laborisse saabumisel kahjustatud.
- Testi andmed sisaldasid liigselt taustmüra (nt kõrge standardhälve), mis ei võimaldanud kromosoomihäireid usaldusväärselt hinnata. See võib olla seotud nii proovi enda omaduste kui ka transporditingimustega.
- Vead proovi või nõusolekuvormi identifitseerimisel (nt vale kodeering) ei võimaldanud tulemusi usaldusväärselt konkreetse patsiendiga siduda

Mitteinformatiivse tulemuse üldine tõenäosus on väike (<1%).

PIIRANGUD

CLARITY test tuvastab kõige sagedasemaid raseduse katkemisega seotud kromosoomihäireid, kuid ei tuvasta kõiki geneetilisi haigusi ega kõiki võimalikke kromosoomimuutusi. Kuna meetod põhineb rakuvaba DNA (cfDNA) kogu genoomi sekveneerimisel, ei ole mõningaid kõrvalekaldeid võimalik usaldusväärselt tuvastada. Seetõttu ei saa täielikult välistada nii valenegatiivsete kui ka valepositiivsete tulemuste võimalust.

Test ei ole mõeldud ega valideeritud järgmiste seisundite tuvastamiseks:

- triploidia või tetraploidia
- monogeensed (ühe geeni muutustest põhjustatud) haigused või punktmutatsioonid
- väikesed koopiaarvu muutused (CNV)
- madala tasemega või koespetsiifilised mosaiiksed kromosoomihäired
- tasakaalustatud struktuursete kromosoomihäired (nt tasakaalustatud translokatsioonid või inversioonid)
- uniparentaalne disoomia

Negatiivne testitulemus (st kromosoomihäiret ei tuvastatud) kajastab üksnes analüüsitud rakuvaba DNA kromosoomset seisundit ega välista teisi raseduse katkemise geneetilisi ega mittegeneetilisi põhjuseid. CLARITY test ei anna teavet loote struktuurse arengu kohta ega hinda raseduse katkemise põhjuseid, mis on seotud emaka, platsenta või ema ja loote vahelise koostoime häiretega.