

Svrha testa PrenatalSafe®

Test PrenatalSafe® je neinvazivni prenatalni test koji, analizom cirkulirajuće izvanstanične DNK fetusa izolirane iz uzorka majčine krvi, procjenjuje prisustvo najčešćih fetalnih aneuploidija u trudnoći, poput onih povezanih s 21. kromosomom (Downov sindrom), 18. kromosomom (Edwardsov sindrom), 13. kromosomom (Patau sindrom) i spolnim kromosomima (X i Y), kao na primjer Turnerov sindrom (monosomija X kromosoma). Test također, ovisno o izabranoj opciji, omogućava procjenu prisustva aneuploidija i strukturnih promjena svih kromosoma.

Opcije testa su sljedeće:

- Test PrenatalSafe® **3** analizira aneuploidije 21., 18. i 13. kromosoma i uključuje procjenu spola fetusa (izborno).
- Test PrenatalSafe® **5** analizira aneuploidije 21., 18. i 13. kromosoma, aneuploidije spolnih kromosoma (X i Y) i uključuje procjenu spola fetusa (izborno). Ova se analiza ne može provoditi za bihorijske blizanačke trudnoće.
- Test PrenatalSafe® **Plus**, osim aneuploidija 21., 18. i 13. kromosoma te spolnih kromosoma (X i Y), procjenjuje prisustvo trisomija 9. i 16. kromosoma (izborno) te omogućuje procjenu prisutnosti submikroskopskih strukturnih promjena fetusa tj. određenih mikrolepcijskih sindroma (DiGeorgeov sindrom (22q11.2), 1p36 delecijski sindrom, Angelmanov sindrom (15q11.2), Prader-Willijev sindrom, Sindrom Cri du Chat (5p-sindrom), Wolf-Hirschhornov sindrom (4p-sindrom)). Test također uključuje određivanje spola fetusa (izborno). Ova se analiza ne može provoditi za bihorijske blizanačke trudnoće.
- Test PrenatalSafe® **Karyo Plus** omogućuje analizu svih kromosoma fetusa uz dodatnu procjenu prisutnosti submikroskopskih strukturnih promjena u fetusu, tj. određenih mikrolepcijskih sindroma (DiGeorgeov sindrom (22q11.2), 1p36 delecijski sindrom, Angelmanov sindrom (15q11.2), Prader-Willijev sindrom, Sindrom Cri du Chat (5p-sindrom), Wolf-Hirschhornov sindrom (4p-sindrom), Jacobsenov sindrom (11q23-q24.3), Langer-Giedionov sindrom (8q24.11-q24.13), Smith-Magenisov sindrom (17p11.2)). Test uključuje procjenu spola fetusa (izborno). Ova se analiza ne može provoditi za bihorijske blizanačke trudnoće.
- Test **RhSafe®** se može napraviti uz testove PrenatalSafe® bez dodatnog troška. To je neinvazivni prenatalni test koji određuje Rh(D) faktor fetusa analizom fetalnog DNK izoliranog iz uzorka krvi buduće majke. Test RhSafe® nije obavezan i provodi se (na zahtjev) kod Rh(D) negativne trudnice sa Rh(D) pozitivnim muškim partnerom.

Kromosomske aneuploidije koje se analiziraju testom PrenatalSafe®

TRISOMIJA 21: Uzrokovana je prisustvom dodatne kopije 21. kromosoma. Poznata je kao Downov sindrom. Karakterizira ju zaostajanje u razvoju, specifične fizičke karakteristike i često srčane greške. Procjenjuje se da je prisutna u 1/700 poroda, iako je rizik da žena nosi fetus s trisomijom 21 blisko povezan s njenom dobi u vrijeme začeća te može stoga varirati ovisno o dobi žene.

TRISOMIJA 18: Uzrokovana je prisustvom dodatne kopije 18. kromosoma. Poznata je i kao Edwardsov sindrom te je povezana s visokim rizikom od pobačaja i uzrokuje teške zaostatke u razvoju. Novorođenčad s trisomijom 18 imaju urođenu srčanu manu, uz druga patološka stanja koja smanjuju životni vijek. Procjenjuje se da je trisomija 18 prisutna u 1/5000 poroda, iako je rizik da žena nosi fetus s trisomijom 18 blisko povezana s njenom dobi u vrijeme začeća te može stoga varirati ovisno o dobi žene.

TRISOMIJA 13: Uzrokovana je prisustvom dodatne kopije 13. kromosoma. Poznata je i kao Patauov sindrom, te je povezana s visokim rizikom od pobačaja. Novorođenčad s trisomijom 13 mogu imati srčanu manu i druga patološka stanja, što znači da jako rijetko požive dulje od 1 godine. Procjenjuje se da je trisomija 13 prisutna u 1/16.000 poroda, iako je rizik da žena nosi fetus s trisomijom 13 blisko povezana s njenom dobi u vrijeme začeća te može stoga varirati ovisno o dobi žene.

Test PrenatalSafe® analizira spolne kromosome (X i Y) omogućujući informacije o spolu fetusa i aneuploidijama spolnih kromosoma. Test može prepoznati nekoliko aneuploidija spolnih kromosoma, od kojih je najčešća monosomija X koja je klinički povezana sa stanjem poznatim kao Turnerov sindrom. Karakteristike Turnerovog sindroma su niski rast i problemi reproduktivnog zdravlja te druge, varijabilne kliničke manifestacije poput urođene srčane mane, neurosenzorne hipoakuzije, bubrežnih anomalija, i predispozicije za neke autoimune bolesti (tireoiditis, dijabetes, celijakija, itd.). Ostale aneuploidije spolnih kromosoma koje test može otkriti su trisomija X (XXX), Klinefelterov sindrom (XXY) i Jacobsov sindrom (XYY).

Test PrenatalSafe® Plus također može prepoznati trisomiju 9. i 16. kromosoma (izbornu). Potpune trisomije navedenih dvaju kromosoma općenito nisu spojive sa životom i često rezultiraju spontanom pobačajima, dok mozaični oblici navedenih trisomija mogu biti održivi.

Strukturne promjene kromosoma (delecije i segmentalne duplikacije) koje se analiziraju testom PrenatalSafe® Karyo

Pomoću testa PrenatalSafe® Karyo također je moguće prepoznati strukturne promjene svih kromosoma fetusa. Strukturne promjene rezultat su lomova jednog ili više kromosoma te je, s obzirom na to da se lomovi mogu dogoditi bilo gdje u genomu, broj potencijalnih preuređenja praktički je beskonačan. Takve promjene uzrokuju gubitak, odnosno stjecanje genetičkog materijala, stoga se općenito utvrđuju u osoba s različitim kliničkim manifestacijama. Glavni tipovi strukturnih promjena jesu:

- 1) Delecije: sastoje se od gubitka segmenta kromosoma, koji može biti terminalni ili intersticijski. Delecijski sindromi uobičajeno uključuju relativno velike segmente kromosoma (> 10 Mb = megabaza).
- 2) Duplikacije: sastoje se od prisutnosti triju kopija segmenta kromosoma te stoga čine djelomične trisomije.
- 3) Kompleksna preuređenja: sastoje se od prisutnosti delecija/duplikacija dvaju ili više segmenata kromosoma (nebalansirana translokacija). Mogu nastati tijekom začeća ili biti posljedica neravnoteže balansirane translokacije prisutne u roditelju.

Mikrodelecijski sindromi koji se analiziraju testom PrenatalSafe® Plus

Test PrenatalSafe® Plus omogućuje također analizu 6 najčešćih mikrodelecijskih sindroma u fetusu. Mikrodelecijski sindromi su kromosomske promjene koje su rezultat gubitka malog dijela kromosoma i, posljedično, gena smještenih na tom segmentu kromosoma. Ove promjene uzrokuju sindrome različite kliničke važnosti ovisno o tome o kojem je kromosomu riječ, dijelu kromosoma koji je zahvaćen i veličini. Glavni mikrodelecijski sindromi uključuju:

DiGeorgeov sindrom (delecija 22q11.2) je kompleksno stanje koje se manifestira različitim bolestima: urođene srčane bolesti, deformacija nepca (rascjep) i zastoj u razvoju/intelektualno zaostajanje, kao najčešće karakteristike, uz hipoplaziju timusa i imunodeficienciju, te specifične crte lica. Incidencija u svijetu je incidencija 1/2000-1/4000 živorođenih.

Cri-du-chat sindrom (delecija 5p) je kromosomska bolest koju uzrokuje delecija promjenjivog dijela kratkog kraka 5. kromosoma (5p-). Glavni klinički znakovi uključuju snažan piskutavi plač (od kuda i naziv „mačji krik“), mikrocefaliju, specifične crte lica i teški zastoj psihomotornog razvoja i intelektualnu zaostalost. Incidencija u svijetu varira između 1/15.000 i 1/50.000 živorođenih.

Sindrom Prader-Willi/Angelman (delecija 15q11.2): ova dva sindroma uključuju isti dio kromosoma (kritičnu regiju 15q11.2-q13), ali se različito manifestiraju ovisno o tome je li zahvaćeni kromosom naslijeđen od majke ili oca. Prader-Willijev sindrom je stanje koje uglavnom karakterizira nizak stas, pretilost, hipotonija mišića, endokrinološki poremećaji, dismorfija lica i zastoj psihomotornog razvoja. Ovaj sindrom zahvaća 1/25.000 poroda. Angelmanov sindrom je neurološka bolest koju karakterizira teški zastoj psihomotornog razvoja i zaostatak u intelektualno razvoju, te specifične crte lica. Prisutnost ovog sindroma se procjenjuje između 1/10.000 i 1/20.000.

Sindrom delecije 1p36 je kromosomska abnormalnost koju uzrokuje djelomična heterozigotna delecija distalnog dijela kratkog kraka kromosoma 1, s kritičnom točkom između 1p36.13 i 1p36.33. Karakterizira ga dismorfija lica, hipotonija, zastoj u razvoju, kognitivne smetnje, konvulzije, bolesti srca, gluhoća i zastoj u rastu koji nastupa već prenatalno. Smatra se jednim od najčešćih sindroma kromosomske delecije, s incidencijom od 1/5.000-10.000 živorođenih.

Wolf-Hirschhornov sindrom (delecija 4p) je razvojna bolest, uzrokovana delecijom kratkog kraka kromosoma 4 (regija 4p16.3) koju karakteriziraju specifični kraniofacijalni poremećaji, prenatalni i postnatalni zastoj u rastu, kognitivne poteškoće, teški zastoj psihomotornog razvoja, konvulzije i hipotonija. Učestalost je 1/50.000 poroda i češće se javlja kod žena nego kod muškaraca (2:1).

Mikrodelecijski sindromi koji se analiziraju testom PrenatalSafe® Karyo Plus

Test PrenatalSafe® Karyo Plus omogućuje otkrivanje prisutnosti dodatna 3 mikrodelecijska sindroma u fetusu (ukupno 9):

Jacobsenov sindrom je uzrokovan delecijom dugog kraka kromosoma 11 (11q23). Karakterizira ga zastoj u razvoju, specifični izgled lica, poremećaji krvarenja i neki poremećaji u ponašanju. Učestalost je 1/100.000 poroda.

Langer-Giedionov sindrom ili trihorinofalangealni sindrom tipa 2 je uzrokovan mikrodelecijom dugog kraka kromosoma 8 (regija 8q24.11-q24.13), koja dovodi do gubitka barem dva gena: *TRPS1* i *EXT1*. Karakteriziraju ga kognitivne poteškoće povezane s raznim abnormalnostima, koje uključuju višak kože, višestruku egzostozu hrskavice, specifični izgled lica i čunjaste falangealne epifize. Također su primijećeni zastoj u rastu, mikrocefalija, hipotonija i problemi sa sluhom.

Smith-Magenisov sindrom (SMS) je složena genetička bolest koju prati blaga do umjerena kognitivna zaostalost, značajni zastoj u govoru, smanjena osjetljivost na bol, periferna neuropatija, (karakteristični) poremećaji sna i problemi u ponašanju (ćudljivost/izljevi bijesa, stalno traženje pažnje, agresija, neposlušnost, rastresenost i samoozljeđivanje). Učestalost u svijetu je 1/15.000-25.000 poroda. SMS je sporadična bolest koju uzrokuje delecija 17p11.2 gena *RAI1* (90%) ili zbog mutacije samog gena (10%). Mutacije u genu *RAI1* se ne analiziraju ovim testom.

Mikrodelecijski sindrom	Kromosomska regija	Učestalost (pri rođenju)
DiGeorgeov sindrom	delecija 22q11.2	1/2000 – 1/4000
Sindrom Cri-du-chat	delecija 5p15.3	1/15.000 – 1/50.000
Prader-Willyjev sindrom	delecija 15q11.2	1 na 25.000
Angelmanov sindrom	delecija 15q11.2	1/10.000 – 1/20.000
Sindrom delecije 1p36	delecija 1p36	1/5000 – 1/10.000
Wolf-Hirschhornov sindrom	delecija 4p16.3	1/20.000 – 1/50.000
Jacobsenov sindrom	delecija 11q23-q24.3	1 na 100.000
Langer-Giedionov sindrom	delecija 8q24.11-q24.13	1 na 200.000
Smith-Magenisov sindrom	delecija 17p11.2	1/15.000 – 1/25.000

Mikrodelecijski sindromi općenito su sporadični, odnosno uglavnom se događaju kao nasumičan događaj.

Tko može obaviti test PrenatalSAFE®?

Sve trudnice gestacijske dobi od najmanje 10 tjedana trudnoće. Test se može obaviti u slučaju jednostruke trudnoće i blizanačke trudnoće ostvarene prirodnim putem ili s pomoću tehnika homologne ili heterologne potpomognute oplodnje.

Kako se provodi test PrenatalSAFE®?

Tijekom trudnoće neki fragmenti DNK fetusa cirkuliraju kroz krv majke. DNK fetusa moguće je otkriti od 5. gestacijskog tjedna, a njezina se koncentracija povećava u narednim tjednima te nestaje odmah nakon poroda. Količina DNK fetusa u krvi majke između 9. i 10. gestacijskog tjedna dovoljna je kako bi se zajamčila visoka specifičnost i osjetljivost testa. Test se provodi uzimanjem uzorka krvi majke najranije u 10. tjednu trudnoće. Izvanstanična DNK fetusa izolira se iz plazme majčine krvi, a zatim se kromosomske regije DNK fetusa sekvenciraju pri velikoj dubini čitanja upotrebom inovativne tehnologije masivnog paralelnog sekvenciranja (MPS) cjelokupnoga genoma fetusa upotrebom sustava za sekvenciranje sljedeće generacije ILLUMINA. Sekvence kromosoma zatim se kvantificiraju putem napredne bioinformatičke analize kako bi se utvrdila prisutnost fetalnih kromosomskih aneuploidija koje se utvrđuju prekomjernim sekvencama koje se mogu uskladiti s određenim kromosomom. Slično tome, analiza se provodi kako bi se utvrdile patološke varijante koje prouzrokuju naslijeđene genetičke bolesti ili *de novo* genetičke bolesti.

Rezultati koji se mogu dobiti provedbom testa PrenatalSAFE®

„POZITIVAN” – otkrivena je aneuploidija ili strukturna promjena kromosoma: rezultat ukazuje na to da je testom dobiven rezultat koji je dosljedan s aneuploidijom ili fetalnom strukturnom kromosomskom abnormalnošću jednog ispitanog kromosoma ili više njih. Međutim, **taj rezultat ne predstavlja dijagnozu te stoga ne jamči da fetus ima navedenu bolest.** Preporučuje se da se slijedom tog rezultata napravi invazivni prenatalni dijagnostički test kao što je uzorkovanje korionskih resica (CVS) ili amniocenteza. Genetičar će Vam tijekom genetičkom savjetovanju detaljno objasniti rezultat testa te preporučiti da se dobiveni rezultat potvrdi invazivnom prenatalnom dijagnostikom. **Ni u kojim okolnostima ne smijete iskoristiti važeće zakone o prekidu trudnoće bez da ste prethodno potvrdili rezultat testa amniocentezom ili biopsijom korionskih resica.**

„NEGATIVAN” – nije otkrivena aneuploidija ili strukturna promjena kromosoma: rezultat testa ukazuje na to da nisu otkrivene aneuploidije ili strukturne promjene kromosoma na razini ispitanih kromosoma. Međutim, **rezultat testa ne jamči da fetus nema navedene abnormalnosti.** Naime, zbog fiziologije placente dobiveni rezultat možda ne odražava pravo kromosomsko stanje fetusa.

U približno 1 % slučajeva test može dati **NEOPTIMALAN** ili **NEDOVOLJAN rezultat**. U nekim slučajevima od trudnice će se zatražiti davanje novog uzorka krvi kako bi se test ponovio. Čak i nakon ponavljanja testa dobiveni rezultat može biti nedovoljan/neoptimalan. U takvim slučajevima preporučuje se provedba prenatalne dijagnostičke metode kao što je amniocenteza ili CVS jer je u znanstvenoj literaturi zabilježen porast incidencije fetalnih aneuploidija u uzorcima s nedovoljnim rezultatima, primjerice zbog niske razine DNK fetusa prisutnog u majčinoj krvi.

U drugim slučajevima test bi mogao dati rezultat koji ukazuje na sumnju fetalne kromosomske aneuploidije (**GRANIČNI rezultat**). U tom slučaju preporučit će se da se dobiveni rezultat potvrdi invazivnom prenatalnom dijagnozom kao i u slučaju pozitivnog rezultata.

Spol fetusa bit će naveden na nalazu na zahtjev. U slučaju blizanačkih trudnoća jedan rezultat bit će naveden za oba fetusa. U takvim slučajevima spol fetusa bit će naveden kao muški ili ženski na temelju prisutnosti ili odsutnosti kromosoma Y.

Pouzdanost testa PrenatalSAFE®

U ispitivanjima pretkliničke validacije test je pokazao pouzdanost iznad 99 % u otkrivanju uobičajenih kromosomskih aneuploidija u trudnoći (trisomija 21, trisomija 18, trisomija 13, aneuploidije spolnih kromosoma) s postotkom lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata < 1 %. Iako je pogreška testa ograničena, ona ipak postoji. Uspješnost testa PrenatalSafe® navedena je u nastavku.

Tablica 3. Uspješnost PrenatalSAFE testa za učestale aneuploidije, aneuploidije spolnih kromosoma I druge abnormalnosti u 71.883 trudnoće

Pozitivni slučajevi (n= 1011) Ukupno popraćeni (n=868)	Trisomija 21	Trisomija 18	Trisomija 13	SCA	Druge promjene*	Sveukupna uspješnost
Stvarno pozitivni	437	93	37	156	58	781
Lažno pozitivni	3	1	8	17	54	83
Stvarno negativni	71392	71775	71828	65598	46577	70872
Lažno negativni	2	0	0	1	1	4
Osjetljivost (95% CI)	99.54% (98.36%-99.94%)	100% (96.11% -100.00%)	100% (90.51%-100.00%)	99.36% (96.50%-99.98%)	98.31% (90.91%-99.96%)	99.49% (98.70% - 99.86%)
Specifičnost (95% CI)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99% -100.00%)	99.99% (99.98%-100.00%)	99.97% (99.96%-99.99%)	99.88% (99.98%-99.99%)	99.88% (99.86% - 99.91%)
PPV (95% CI)	99.32% (97.92%-99.78%)	98.94% (92.91%-99.85%)	82.22% (69.82%-90.24%)	90.17% (85.08%-93.66%)	51.79% (45.08%-58.42%)	90.39% (88.36% - 92.11%)
NPV (95% CI)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99% -100.00%)	100% (99.99% -100.00%)	99.99% (99.99% -100.00%)

CI: Intervali pouzdanosti, SCA: aneuploidije spolnih kromosoma.

Pozitivni slučajevi koji nisu potvrđeni isključeni su iz broja pozitivnih iz Tablice 3: T21 (49); T18 (14); T13 (10); SCA (36); druge abnormalnosti (34).

* Uključene su rijetke autosomne aneuploidije, segmentalne abnormalnosti i mikrodelecije.

Tablica 4.: Uspješnost PrenatalSAFE testa za aneuploidije spolnih kromosoma

	X0	XXX	XXY	XXY
Stvarno pozitivni	52	27	51	26
Lažno pozitivni	13	0	3	1
Stvarno negativni	65724	65775	65747	65776
Lažno negativni	1	0	0	0
Osjetljivost (95%CI)	98.11% (89.93% - 99.95%)	100% (87.23% - 100.00%)	100% (93.02% - 100.00%)	100% (86.77% - 100.00%)
Specifičnost (95% CI)	99.98% (99.97% - 99.99%)	100% (99.99%- 100.00%)	99.99% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.99% - 100.00%)
PPV (95%CI)	80% (69.88% - 87.34%)	100% (99.99% - 100.00%)	94.44% (84.57% - 98.14%)	96.3% (78.55% - 99.46%)
NPV (95%CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)

CI: Intervali pouzdanosti, SCA: aneuploidije spolnih kromosoma. Pozitivni slučajevi bez praćenja isključeni iz broja pozitivnih iz Tablice 4: X0 (18); XXX (6); XXY (7); XYY (5).

Tablica 5.: Uspješnost PrenatalSAFE testa za rijetke autosomne aneuploidije, strukturne promjene i mikrolelecije

	RAA	Strukturne promjene (>7 Mb)	Mikrolelecije*
Stvarno pozitivni	33	20	5
Lažno pozitivni	36	16	2
Stvrano negativni	46630	46681	28743
Lažno negativni	0	0	1
Osjetljivost (95%CI)	100% (89.42% - 100.00%)	100% (83.16% - 100.00%)	83.33% (35.88% - 99.58%)
Specifičnost (95%CI)	99.92% (99.89% - 99.95%)	99.97% (99.96%- 99.99%)	99.99% (99.99% - 100.00%)
PPV (95%CI)	47.83% (39.81% - 55.96%)	55.56% (43.37%- 67.11%)	71.43% (37.40% - 91.27%)
NPV (95%CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)

CI: Intervali pouzdanosti; RAA: rijetke kromosomske abnormalnosti.

Pozitivni slučajevi koji nisu potvrđeni isključeni su iz broja pozitivnih iz Tablice 5: RAA (25) segmentalne abnormalnosti < 7 Mb (7); mikrolelecije (2).

* Ispitani mikrolelecijski sindromi: DiGeorgeov sindrom, sindrom Cri-du-chat, Prader-Willyjev sindrom, Angelmanov sindrom, sindrom delecije 1p36, Wolf- Hirschhornov sindrom, Jacobsenov sindrom, Langer-Jeidonov sindrom i Smith-Magenisov sindrom.

Ograničenja testa PrenatalSAFE®

Neinvazivno prenatalno testiranje izvannastanične fetalne DNK izolirane iz uzorka krvi majke je **test probira** pa, iako je test jako precizan, **rezultati nisu dijagnostički** i potrebno ih je vrednovati u kontekstu kliničke slike buduće majke i obiteljske povijesti bolesti. Uz to, ovaj test ne predstavlja zamjenu za invazivnu prenatalnu dijagnozu (biopsija korionskih resica ili amniocenteza).

Test je validiran na jednoplodnim i blizanačkim trudnoćama, monozigotnim ili dizigotnim, počevši od 10. tjedna gestacije.

Test **ne može isključiti** prisutnost kromosomskih abnormalnosti fetusa koje nisu testirane.

Test PrenatalSafe® **ne može otkriti** uravnotežena kromosomska preuređenja, mozaicizam fetusa i/ili placente (tj. prisutnost dviju linija stanica s različitim kromosomskim uređenjem), jednonukleotidne varijante, pogreške metilacije i poliploidije. Testom se ne otkrivaju malformacije ili oštećenja koja se ne traže. Testom se osobito ne otkriva prisutnost mendelskih nasljednih genetičkih bolesti.

U bihorijskim blizanačkim trudnoćama nije moguće razlikovati stanje pojedinačnog fetusa, evaluirati aneuploidije spolnih kromosoma ili otkriti prisutnost mikroleucije. Međutim, moguće je otkriti prisutnost, odnosno odsutnost kromosoma Y. Ako se otkrije prisutnost kromosoma Y, nije moguće odrediti je li jedan fetus muškoga spola ili su oba.

U slučaju trudnoća koje su započele kao blizanačke ili višepodne, nakon čega je uslijedio spontani pobačaj jednog ili više fetusa s resorpcijom gestacijske vrećice (**nestajući blizanac**), DNK fetusa izvan stanica pobačenog fetusa također može biti prisutna u krvi majke. To bi moglo ometati kvalitetu rezultata te dovesti do lažno pozitivnih rezultata ako je uzrok pobačaja bila prisutnost kromosomskih aneuploidija koje utječu na jedan od ispitanih kromosoma. Slično tome, može postojati nepodudarnost u rezultatima u pogledu spola (npr. dijagnoza muškog spola, gdje prisutnost kromosoma Y potječe iz DNK-a pobačenog fetusa).

Postojanje tumora u trudnice može dovesti do lažno pozitivnih rezultata.

Test se temelji na kvantifikaciji fragmenata izvannastanične fetalne DNK koja cirkulira kroz krv majke, koja je po podrijetlu iz placente. Stoga, zbog stanja **placentarnog mozaicizma** (učestalost: 1 – 2 %) može doći do odstupanja u rezultatima (lažno pozitivni ili lažno negativni) koja opravdavaju osjetljivost i specifičnost testa < 100 %. Test može dati pozitivan rezultat (otkrivena je aneuploidija), no ta kromosomska abnormalnost može biti ograničena na placentu zbog mozaicizma te stoga fetus može imati normalan kariotip u trenutku invazivne prenatalne dijagnoze (lažno pozitivan rezultat). S druge strane, test može dati negativan rezultat (nije otkrivena aneuploidija) zbog postojanja placentarnog mozaicizma te stoga fetus može imati aneuploidni kariotip u trenutku invazivne prenatalne dijagnoze ili nakon rođenja.

Spol fetusa određuje se kao muški ili ženski na temelju prisutnosti ili odsutnosti kromosoma Y, no ne pružaju se informacije o prisutnosti ili odsutnosti gena SRY.

Trudnoće u kojima je ultrazvučnim pregled ukazao na bolest fetusa potrebno je ispitati **drugim vrstama prenatalnih ispitivanja**, kao što je molekularni kariotip fetusa na korionskim resicama ili amnionskoj tekućini.

Test može otkriti kromosomske abnormalnosti trudnice u homogenom ili mozaičnom obliku s posljedičnim smanjenjem preciznosti testa. Ukoliko je trudnica nositeljica kromosomske abnormalnosti test ne može dati informacije o njezinoj prisutnosti u fetusu te može biti preporučljivo da se provede invazivna dijagnostika.

Rezultat „**NEGATIVNO – aneuploidija ili strukturna kromosomska promjena nije otkrivena**“ znatno smanjuje vjerojatnost da fetus ima aneuploidiju ili strukturne kromosomske promjene na razini ispitanih kromosoma, **no ne može jamčiti da su kromosomi zaista normalni ili da je fetus zdrav.**

Zbog prethodno navedenih ograničenja u slučaju pozitivnog rezultata preporučuje se savjetovanje s genetičarom i potvrđivanje rezultata analizom kariotipa ili molekularnog kariotipa iz amniotske tekućine.

Vrijeme čekanja rezultata

Očekivano vrijeme dobivanja rezultata od zaprimanja uzorka u laboratorij je 3 -5 (brzi postupak) ili 3-7 radnih dana (standardni postupak), ovisno o opciji testiranja. Ovi vremenski okviri nisu obvezujući nego mogu biti i dulji u slučaju ponavljanja testa, neoptimalnih rezultata, dubinske analize ili dvojbi kod očitavanja testa.

Dodatne analize uz test PrenatalSafe™

Uz poseban zahtjev, također je moguće povezati test PrenatalSafe® s testom RhSafe®. Test RhSafe® je neinvazivni prenatalni test koji, analizom DNK fetusa izoliranog iz krvi buduće majke, određuje Rh (D) faktor fetusa. Test je primjenjiv samo u trudnoćama u kojima je buduća majka Rh (D) negativna a muški partner Rh (D) pozitivan.

Rhesus faktor (Rh)

Crvene krvne stanice kod ljudi na svojoj površini imaju antigen odgovoran za krvne grupe ABO i antigen koji sačinjava Rhesus faktor (Rh). Među antigenima Rh faktora, D je klinički najvažniji. Osobe koje imaju antigen D na površini crvenih krvnih stanica se definiraju kao Rh pozitivne, a osobe koje ga nemaju su Rh negativne (oko 15% populacije bijelaca). RhD igra ključnu ulogu u takozvanoj inkompatibilnosti majke i fetusa. Ukoliko je fetus Rh(D) pozitivan (Rh+) a buduća majka Rh(D) negativna (Rh-) vrlo je vjerojatno da će crvene krvne stanice fetusa ući u majčin krvotok. Bez odgovarajućih mjera predostrožnosti tijekom trudnoće, postoji rizik da će trudnica razviti imunološku reakciju i početi proizvoditi antitijela protiv crvenih krvnih stanica fetusa (senzibilizacija ili aloimunizacija), koje će ostati u njenoj krvi. U slučaju druge trudnoće s Rh(D) pozitivnim fetusom, majčina antitijela protiv eritrocitnih antigena fetusa mogu proći kroz posteljicu i napasti crvene krvne stanice fetusa, te će ih na taj način uništiti jer su ih prepoznali kao „strane“. To uzrokuje takozvanu hemolitičku bolest fetusa i novorođenčadi (HDFN). Inkompatibilnost majke i fetusa se ne događa ako su oba roditelja Rh negativna, ili ako je majka Rh pozitivna a otac je Rh negativan.

Kako izbjeći rizik od senzibilizacije

Kako bi se izbjegla senzibilizacija, trudnica se mora podvrgnuti imunoprofilaksi s anti-D imunoglobulinima, tijekom trudnoće i nakon poroda.

Dobrobiti testa RhSafe®

Neinvazivni test za rano otkrivanje Rh(D) faktora fetusa, koji analizira slobodni DNK fetusa iz krvi majke, je pouzdan i korisan test koji je postao rutinski test u vođenju trudnoća u kojima je prisutna inkompatibilnost majke i fetusa. Test pomaže prepoznati trudnoće u kojima postoji rizik od hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčadi i tako smanjuje uporabu anti-D profilakse u slučajevima kada je fetus Rh(D) negativan kao i majka.

Tko se može podvrgnuti testu RhSafe®?

Sve trudnice koje su Rh(D) negativne i najmanje u 10. tjednu gestacije. Test RhSafe® test se provodi (na zahtjev) samo kod trudnoća kada je buduća majka Rh(D) negativna a muški partner Rh(D) pozitivan. Kako bi se test proveo, mora se priložiti medicinska dokumentacija koja potvrđuje Rh faktor para. Ukoliko se ta dokumentacija ne dostavi unutar 30 dana od dana zaprimanja uzorka, test se neće obaviti a uzorak će se ukloniti u skladu s aktualnim zakonima.

Kako se provodi test RhSafe®?

Izvanstanična DNK fetusa se prvo izolira iz krvi majke. Zatim, uz pomoć visoko-osjetljivih procesa napredne tehnologije, DNK amplificira koristeći metodu Real time PCR. Automatizirana genetička analiza prepoznaje prisutnost/odsutnost DNK sekvenci koje pripadaju RHD genu i tako omogućuju određivanje je li fetus Rh(D) pozitivan (prisutnost RHD gena) ili negativan (odsutnost RHD gena) kod Rh(D) negativnih žena.

Ograničenja testa RhSafe®

Test RhSafe® je test probira i nije dijagnostički test. Test nije zamjena za invazivnu prenatalnu dijagnostiku (biopsiju korionskih resica ili amniocentezu). Ukoliko je nalaz „NEGATIVAN – odsustvo RHD gena“, to uvelike smanjuje vjerojatnost da je fetus RhD pozitivan, ali ne može jamčiti da je taj nalaz istovjetan stvarnom genotipu fetusa. Odsutnost signala povezanog s amplifikacijom RHD gena može biti zbog izostanka ili male količine DNK fetusa prisutne u majčinoj krvi ili zbog propadanja DNK. Stoga je pouzdanost rezultata povezana s količinom fetalne DNK dostupne u testnom uzorku, što ovisi o gestacijskom tjednu pacijentice i kvaliteti fetalnog DNK u biološkom uzorku. Neki fragmenti *RHD* gena mogu se pronaći u trudnica s Rh- fenotipom, a to se može dogoditi zbog pseudogena (*RhDΨ*) ili haplotipske varijante d(C)ce, prisutnih uglavnom u afričkoj populaciji. Ti genotipovi mogu dati lažno pozitivne rezultate s genetičkom analizom RhD-a. Zbog prisutnosti lokaliziranih varijanti na mjestima povezivanja primera lažno negativni rezultati također su mogući, osobito u slabije ispitanim populacijama. Zbog tog razloga uvijek se preporučuje provedba RhD genotipa u trenutku poroda. Test se ne može provesti na trudnicama koje su RhD pozitivne. U slučaju blizanačke trudnoće pozitivan rezultat ne definira ima li jedan/oba fetusa *RHD* gen. Postoji rizik od fetalne imunizacije majke čak i ako je jedan od fetusa RhD pozitivan. Osjetljivost testa iznosi 99,7 %, a specifičnost 99,5 %. Procijenjeni rizik od dijagnostičke pogreške iznosi približno 1 %.

Privatnost

Prema svim vašim podacima postupat će se s iznimnom povjerljivošću te u skladu s važećim zakonima o privatnosti (Uredba (EU) 2016/679). Rezultati testa bit će otkriveni jedino zdravstvenim djelatnicima koji sudjeluju u provedbi testa ili genetičaru (prema potrebi). Nadalje, rezultati testa mogu se izdati osobama koje imaju pristup u skladu sa zakonom.

Pohrana uzoraka

Biološki uzorci identificiraju se s pomoću crtičnog koda i alfanumeričkog ID-a, stoga se s epruvetom s uzorkom ne povezuju podaci koji bi mogli identificirati pojedinu osobu. Nemoguće praćenje osobnih podataka. U svakom slučaju 30 dana nakon izdavanja medicinskog nalaza biološki uzorci bit će uništeni u skladu s važećim propisima.