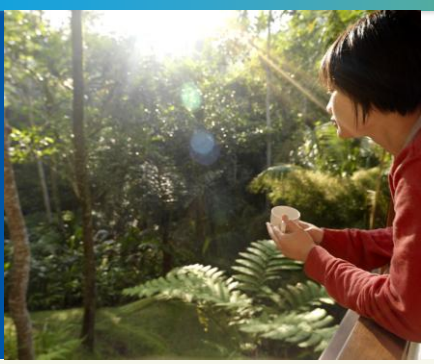
PerkinElmer
For the Better

HUMAN HEALTH | ENVIRONMENTAL HEALTH



Giọt máu khô

trong sàng lọc trước sinh

Nội dung

- Trung tâm nào đang thực hiện XN sàng lọc trước sinh bằng giọt máu khô (DBS)
- Tính thực tiễn của XN SLTS bằng giọt máu khô
- Giá trị lâm sàng và hiệu quả phát hiện các bất thường
- Ứng dụng

2

Qui trình SLTS bằng giọt máu khô

Trung tâm thu thập mẫu

Lấy máu đầu ngón tay

HOẶC

DỤNG CỤ LẤY GIỌT MÁU

Mẫu giấy thấm

Phơi khô

Gửi mẫu

Trung tâm xét nghiệm

Bấm lỗ

Hoá chất

AutoDELFIA

HOẶC

DELFIA

3

Và đánh giá nguy cơ.....

NTD labs New York USA

- NTD – SLTS bằng giọt máu khô hơn 20 năm
- 75% SLTS trong quí 1 ở được thực hiện trên mẫu máu khô
- Đánh giá hiệu quả XN SLTS quí 1 trên mẫu máu khô (AJOG 2006)
- XN chính xác và có độ nhạy cao

4

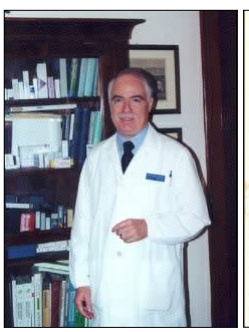
CGC Bồ Đào Nha

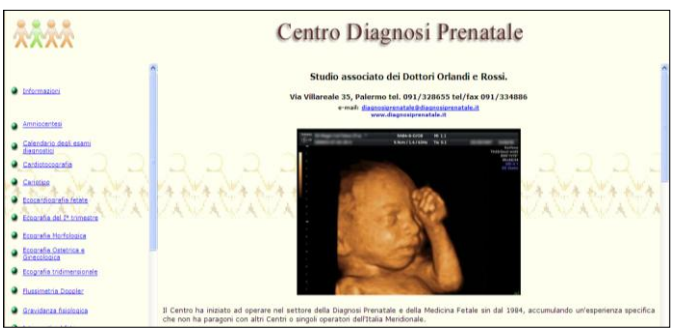
SLTS sử dụng mẫu máu khô từ năm 2001

5

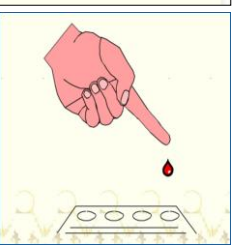
Một trong những trung tâm xét nghiệm lớn nhất Châu Âu

TT chẩn đoán trước sinh Palermo, Ý





- Dott. Francesco Orlandi, Giám đốc lâm sàng
- Đã cộng tác lâu dài với
- 10,000 ca SLTS quí 1 thai kì hằng năm



6

Warnex ở Quebec, Canada

25,000 ca SLTS quí 1 mỗi năm

Là trung tâm nghiên cứu

7

Những ai đang được thụ hưởng SLTS bằng giọt máu khô?

Mỹ – 75% tất cả các mẫu SLTS quí 1

- Đa số là các tình nguyện viên tham gia thử nghiệm FASTER

Nga

- Ekaterinburg, Krasnoyarsk, Novosibirsk, Saratov

Bồ Đào Nha

- CGC Genetics

Ý

- Orlandi Clinic

Canada

- Warnex (Montreal, Quebec)

8

Những quốc gia đang đánh giá để đưa DBS vào chương trình SLTS

- Ấn Độ
- Trung Quốc
- Ukraine
- Hà Lan
- Tây Ban NHa
- Hi Lạp
- Brazil
- Argentina

9

PerkinElmer
For the Better

HUMAN HEALTH | ENVIRONMENTAL HEALTH

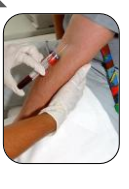
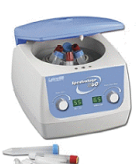
Lí do nên dùng mẫu máu khô

Hiệu quả kinh tế & lấy mẫu, thu thập, vận chuyển và lưu trữ mẫu

PerkinElmer For the Better

Chi phí và các vấn đề liên quan

Huyết thanh







Mẫu máu khô

Tại sao sàng lọc bằng mẫu máu khô?

PerkinElmer For the Better

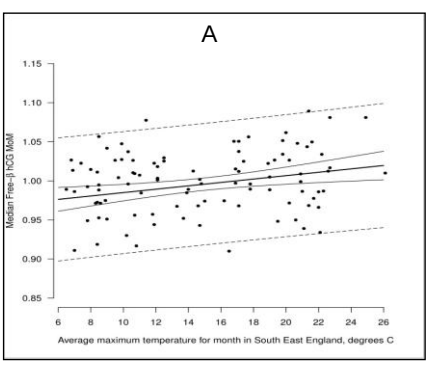
- Lấy mẫu đơn giản, không cần quay li tâm
- Dễ dàng hơn, an toàn hơn, hiệu quả kinh tế hơn trong vận chuyển
- Giảm chất thải sinh học
- Lấy máu ở đầu ngón tay cần ít máu hơn
- Tỉ lệ phát hiện bất thường cũng tương đương (Perni et al 2006)

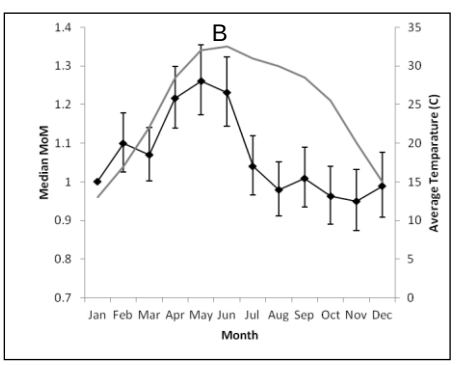
PerkinElmer
For the Better

HUMAN HEALTH | ENVIRONMENTAL HEALTH

SLTS quí 1 – cơ bản về lâm sàng

Tính ổn định của hCGβ tự do trong huyết thanh





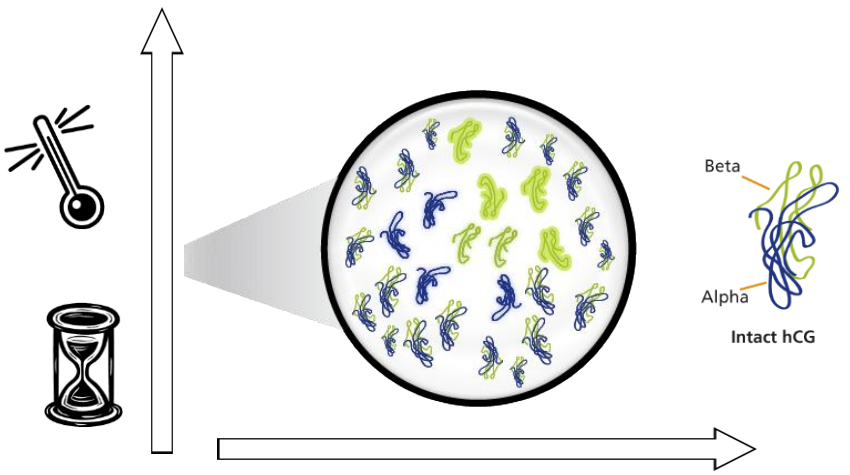
A) Anh: điều kiện khí hậu ít ảnh hưởng đến trung vị MoM hCGβ tự do

B) Ấn Độ: khí hậu thay đổi theo mùa ảnh hưởng đáng kể đến trung vị MoM hCGβ tự do

Barking, Havering and Redbridge NHS University Hospitals NHS Trust

14

Ảnh hưởng của tính ổn định hCG lên nồng độ hCGβ tự do



Tăng nồng độ hCG ß tự do

15

Tăng tỉ lệ dương tính giả

Tính ổn định của hCGß tự do Stability cải thiện đáng kể khi sử dụng DBS

PRENATAL DIAGNOSIS
Prenat Diagn 2011; **31**: 293–298.
Published online 4 February 2011 in Wiley Online Library
(wileyonlinelibrary.com) **DOI:** 10.1002/pd.2709

The stability of free-β human chorionic gonadotrophin and pregnancy-associated plasma protein-A in first trimester dried blood spots†

Nicholas J. Cowans[1], Anastasia Stamatopoulou[1], Paivi Liitti[2], Mikko Suonpaa[2] and Kevin Spencer[1]*

[1]*Prenatal Screening Unit, Department of Clinical Biochemistry, King George Hospital, Barley Lane, Goodmayes, Essex, UK*
[2]*PerkinElmer, Turku, Finland*

Objectives To determine the stability of first trimester free-β human chorionic gonadotrophin (free-β hCG) and pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in dried blood spots (DBSs) under typical storage conditions.

Methods First trimester maternal blood was spotted onto filter paper and left to dry. DBSs were analysed for PAPP-A and free-β hCG using an AutoDELFIA dual assay at $t = 0$. Cards were stored at one of −20 °C, refrigerator temperature, room temperature or 30 °C and reanalysed at set future time points.

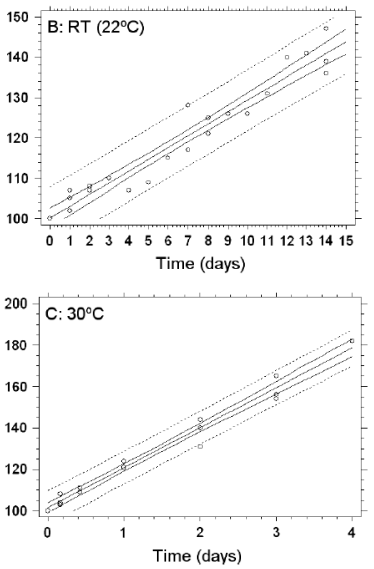
Results Free-β hCG was stable (< 10% change in concentration) under all temperatures tested for at least 35 days. PAPP-A was stable at −20 °C and refrigerator temperature for at least 35 days. However, PAPP-A levels decreased by 10% at 4.1 days at room temperature and at 3.9 days at 30 °C. Longer-term storage at −20 °C and refrigerator temperature showed that both PAPP-A and free-β hCG levels were significantly decreased by 107 and 244 days.

Conclusions Free-β hCG stability is greatly improved in DBS compared to serum storage; however PAPP-A stability is decreased in the DBS medium. Despite this DBS, screening may not necessitate such strict storage and transportation rules compared to serum screening programmes.

16

Cowans – tính ổn định của hCGß tự do trong huyết thanh

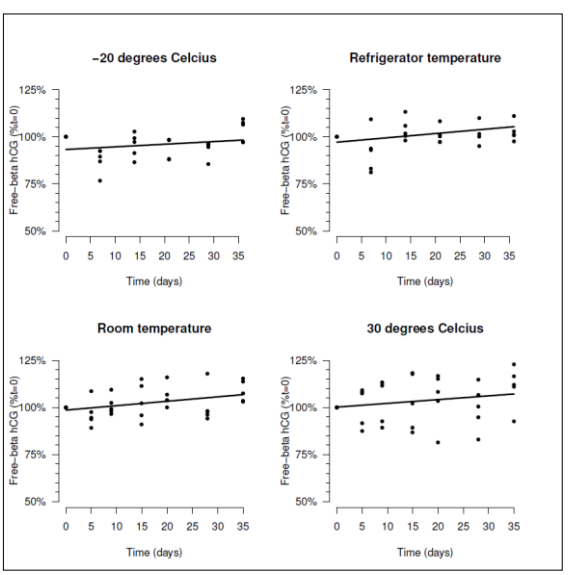
hCGß tự do trong huyết thanh



- ß-hCG tự do và PAPP-A đều ổn định trong huyết thanh khi dùng trong sàng lọc thường qui…
- …**trong điều kiện 4° C và thời gian vận chuyển ngắn nhất**
- Nồng độ ß-hCG tự tăng khá nhanh ở nhiệt độ phòng do sự phân li của phân tử hCG

17

Kết quả của hCGß tự do trong mẫu máu khô

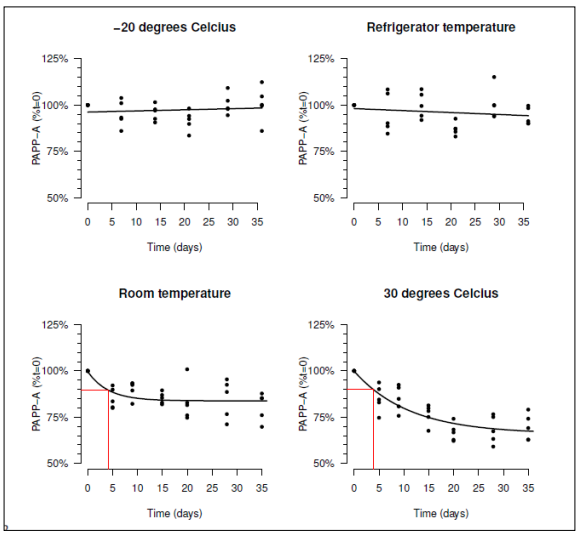


- hCGß tự do ổn định trong mọi điều kiện khi khảo sát sau ít nhất 35 ngày, với sai lệch cho phép < 10% so với thời điểm vừa mới lấy mẫu
- So với huyết thanh thì hCGß tự do trong mẫu máu khô cao ổn định hơn nhiều

18

Barking, Havering and Redbridge University Hospitals NHS Trust

Kết quả của PAPP-A trong mẫu máu khô



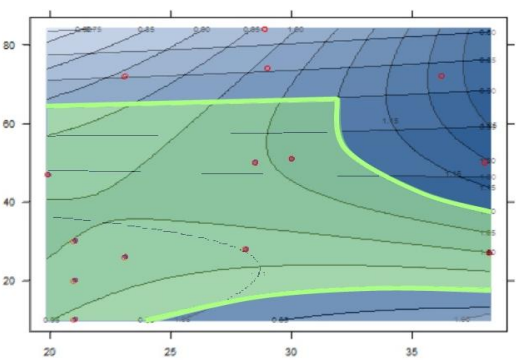
- PAPP-A ổn định khi giữ lạnh hoặc ở -20° C trong ít nhất 30 ngày
- Nồng độ PAPP-A giảm 10% sau 4.1 ngày ở nhiệt độ phòng và sau 3.9 ngày ở 30° C.

19

Barking, Havering and Redbridge University Hospitals NHS Trust

Điều kiện phơi khô mẫu xét nghiệm PAPP-A và hCGβ tự do

Nhiệt độ: 20-32° C
Độ ẩm : ≤70%



Hiện đang nghiên cứu ứng dụng dụng cụ làm khô mẫu để phục vụ cho những nơi không đáp ứng được các điều kiện trên

20

In press, Spencer et al

Orlandi/NTD Study UOG 1997

First-trimester screening for fetal aneuploidy: biochemistry and nuchal translucency

F. Orlandi, G. Damiani, T. W. Hallahan*, D. A. Krantz* and J. N. Macri*

Prenatal Diagnosis Center, Cervello Hospital, Palermo, Italy; *Research Division, NTD Laboratories, Inc., Huntington Station, NY, USA

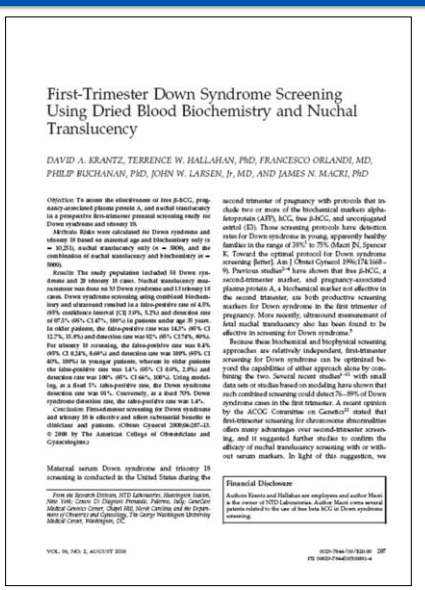
ABSTRACT

INTRODUCTION

- Là một trong những nghiên cứu tiến cứu đầu tiên về SLTS trên 2010 thai phụ. Mẫu máu khô lấy từ đầu ngón tay.
- Ttrung tâm NTD phát triển kĩ thuật ELISA
- Chỉ 1/3 mẫu nghiên cứu là có được dữ liệu NT (774) – 11 ca T21. Chỉ có 7 ca có NT
- Với tỉ lệ dương tính giả 5%, tỉ lệ phát hiện bất thường là 61% đ/v XN sinh hoá, 75% đ/v NT và 87% khi kết hợp

21

Krantz/NTD study – Obstet Gynecol 2000



First-Trimester Down Syndrome Screening Using Dried Blood Biochemistry and Nuchal Translucency

DAVID A. KRANTZ, TERRENCE W. HALLAHAN, PhD, FRANCESCO ORLANDI, MD, PHILIP BUCHANAN, PhD, JOHN W. LARSEN, Jr, MD, AND JAMES N. MACRI, PhD

Financial Disclosure

- Các nghiên cứu tiên cứu 1995-1998. 10,251 thai phụ. Mẫu máu khô – máu đầu ngón tay hoặc máu tĩnh mạch có dùng dụng cụ nhỏ giọt máu
- Trung tâm NTD phát triển kĩ thuật ELISA
- Chỉ ½ mẫu nghiên cứu là có dữ liệu (5809) – 33 ca bị T21. 13 ca T18
- 30/33 (91%) ca T21 được phát hiện, dương tính giả 7.9%

22

Perni, Chervenak, Chasen, AJOG 2006

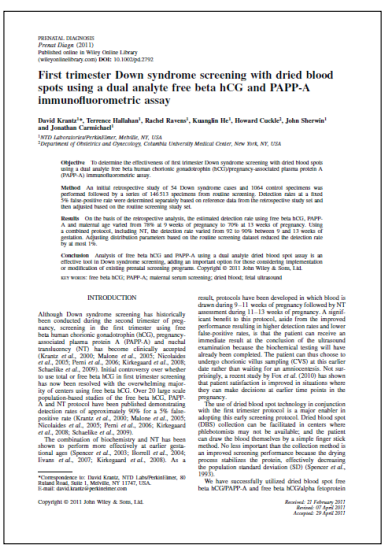
Clinical use of first-trimester aneuploidy screening in a United States population can replicate data from clinical trials

Sriram C. Perni, MD,* Mladen Predanic, MD, MSc, Robin B. Kalish, MD, Frank A. Chervenak, MD, Stephen T. Chasen, MD

- ĐH Cornell, USA
- Đánh giá hiệu quả của XN sàng lọc kết hợp của quí 1 tại 1 trung tâm
- 4883 thai phụ được xét nghiệm sàng lọc kết hợp trong quí 1 – sử dụng máu toàn phần, giọt máu khô
- **KẾT QUẢ:** trung vị tuổi thai phụ là 33 và 22 thai được chẩn đoán T21
- Tỉ lệ phát hiện: 90.9% ,tỉ lệ dương tính giả 5%

23

Krantz, Prenatal Diagnosis 2011



First trimester Down syndrome screening with dried blood spots using a dual analyte free beta hCG and PAPP-A immunofluorometric assay

David Krantz[1]*, Terrence Hallahan[1], Rachel Ravens[1], Kuanglin He[1], Howard Cuckle[2], John Sherwin[1] and Jonathan Carmichael[1]

- Kĩ thuật mới miễn dịch huỳnh quang
- NC hồi cứu trên 54 ca T21, 1064 ca chứng
- Sàng lọc thường qui 146,513 thai phụ để thiết lập phân bố của các thông số
- Kết hợp với NT. Tỉ l ệ phát hiện 92%-90% đ/v thai từ 9 đến 13 tuần

24

So sánh sự phân bố các thông số với dữ liệu đã được công bố

PerkinElmer For the Better

PAPP-A Unaffected SD (log10)

Publication	*N*	*SD*
Malone 2005	89	0.2214
Weinans 2005	16953	0.225
Gyselaers 2005	12781	0.2361
Avgidou 2005	1564	0.237
Dual DBS Assay	**758**	**0.2403**
Wojdemann 2005	673	0.2415
Orlandi 2005	30234	0.2454
Borrell 2004	425	0.2495
Scott 2004	1454	0.25
Muller 2003	3169	0.251
Wald 2003	267	0.2543
Spencer 2002/2003	10000	0.2558
Crossley 2002	377	0.2659
Tsai 2001	5636	0.267
Tsukerman 1999	200	0.2868
De Biasio 1999	320	0.2923
Casals 1999	500	0.3597
Overall	**84642**	**0.2442**

Free hCGß Unaffected SD (log10)

Publication	*N*	*SD*
Dual DBS Assay	**758**	**0.1909**
Orlandi 2005	10000	0.2177
Biagiotti 1995	246	0.2208
Forest 1997	500	0.2498
Brambati 1994	89	0.2573
De Biasio 1999	1454	0.26
Spencer 2002/2003	13073	0.2613
Wald 2003	425	0.2651
Wheeler 1998	673	0.2654
Avgidou 2005	30234	0.2661
Biagiotti 1998	200	0.2676
Muller 2003	5634	0.269
Crossley 2002	16912	0.269
Weinans 2005	320	0.2727
Haddow 1998	3169	0.275
Wald 1996	383	0.2833
Tsukerman 1999	11659	0.295
Casals 1999	136	0.3041
Juaniaux 1996	51	0.3474
Overall	**95158**	**0.2655**

25

DELFIA/AutoDELFIA PAPP-A/Free hCGß Dual DBS kit : FTS- DR 90% FPR 5%

Giá trị của mẫu máu khô – CVs (hệ số biến thiên) và SD (độ lệch chuẩn)

PerkinElmer For the Better

SD nhỏ = marker tốt

Những yếu tố ảnh hưởng lên SD

- Sự biến thiên sinh học (không thể khống chế được)
- Biến thiên do thao tác và vận chuyển (tính ổn định) – mẫu máu khô tốt hơn
- Biến thiên do xét nghiệm (CV) – mẫu máu khô tốt hơn

26

Clinical performance of DBS = Serum

Độ lệch chuẩn (SD) nhỏ = marker tốt

PerkinElmer For the Better

DBS | HT

SD nhỏ đóng góp tích cực nhiều hơn…..

CV lớn

SD nhỏ | SD lớn

CVs lớn | CVs thấp

Biến thiên do khâu thao tác/ vận chuyển

Đánh giá trên lâm sàng

27

Hiệu quả phát hiện bất thường là tương đương

PerkinElmer For the Better

HUMAN HEALTH | ENVIRONMENTAL HEALTH

Ứng dụng

Chứng nhận của FMF /UKNEQAS

The Fetal Medicine Foundation

Chứng nhận của FMF

Đang chờ công bố nghiên cứu của Spencer/Wright chứng minh DBS tương đương với huyết thanh

Các thông số của DBS

- Hiện có trong phần mềm LifeCycle
- Sẽ được tích hợp với phần mềm FMF

UKNEQAS

Chương trình thí điểm DBS đã bắt đầu từ năm 2010

- 15 phòng xét nghiệm tham gia
- Miễn phí

29

Qualifications

DBS được ứng dụng để mở rộng chương trình sàng lọc

DBS không thay thế sàng lọc trên huyết thanh một khi qui trình SL trên huyết thanh đã thực hiện tốt

DBS không thực hiện được đ/v PlGF

30

Kết luận

- DBS đã sử dụng trong sàng lọc sơ sinh hơn 50 năm qua
- DBS đã sử dụng trong sàng lọc trước sinh gần 20 năm qua
- DBS là sự thay thế tuyệt vời của huyết thanh, đặc biệt ở vùng sâu vùng xa
- **Giá trị lâm sàng tương đương với huyết thanh**

31

Thank you

32

PerkinElmer
For the Better

HUMAN HEALTH | ENVIRONMENTAL HEALTH

Back up slides

CVs, SDs and Detection Efficiency

PerkinElmer
For the Better

Did you know…..

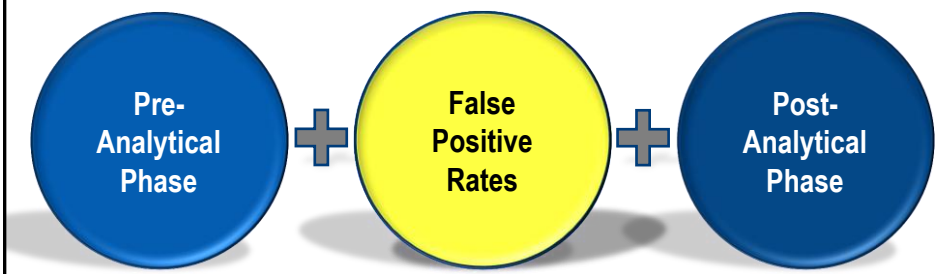
Research has shown that the ***preanalytical phase*** of the sample process accounts for more than two thirds of laboratory errors.

34

Detection Efficiency

PerkinElmer For the Better

A function of 3 elements



- Patient status
- Specimen collection
- Specimen transport to the laboratory
- Specimen processing

- Test performance
- Analytical procedure
- Internal QC
- External QC

- Interpretation
- Reporting

Pre-Analytical Phase + Analytical Phase + Post-Analytical Phase

35

Careful sample collection VERY important!