



آزمایشگاه تشخیص طبی دانش

غربالگری سلامت جنین

آنچه که کارکنان باید بدانند



دی ماه ۱۳۹۶



**همواره به خاطر داشته باشید که
اکثر نوزادان سالم متولد می‌شوند!**



آزمایشگاه تشخیص طبی دانش

اصفهان - بزرگراه خیام تقاطع جهاد (صارمیه) نبش کوچه ۵۷
تلفن ۲۸۲۵ ۳۲۳۵ و ۱۳۸۶ ۳۲۳۳ (۰۳۱)

تستهای غربالگری سلامت جنین

غربالگری جنین عبارت است از تعیین شانس یک خانم باردار برای داشتن نوزاد مبتلا به ناهنجاریهای کروموزومی یا نقائص زمان تولد.

آزمایش غربالگری به عوامل مختلفی از جمله موارد زیر بستگی دارد:

- سن مادر در زمان بارداری

- نژاد

- اندازه گیری تعدادی از مواد شیمیایی موجود در خون مادر در زمان های مختلف در طول دوران بارداری

- اندازه گیری معیارهای خاص جنینی با استفاده از سونوگرافی

- وجود مواردی مانند: IDDM، وضعیت سیگار کشیدن، IVF

غربالگری در دو مرحله غربالگری سه ماهه اول و سه ماهه دوم انجام می شود، غربالگری سه ماهه اول در هفته ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز (ترجیحاً هفته دوازدهم) و سه ماهه دوم از هفته چهاردهم تا بیست و دوم بارداری (ترجیحاً هفته پانزدهم و شانزدهم) انجام می شود.

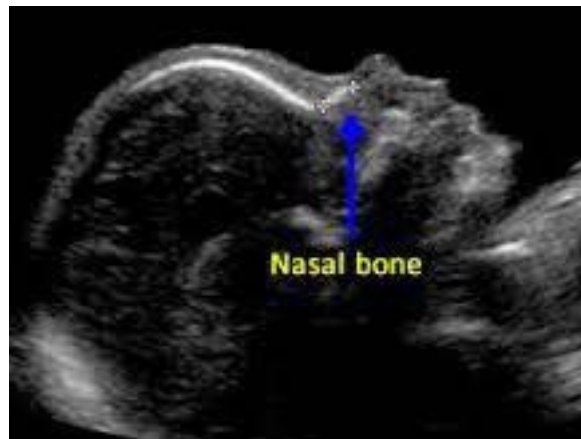
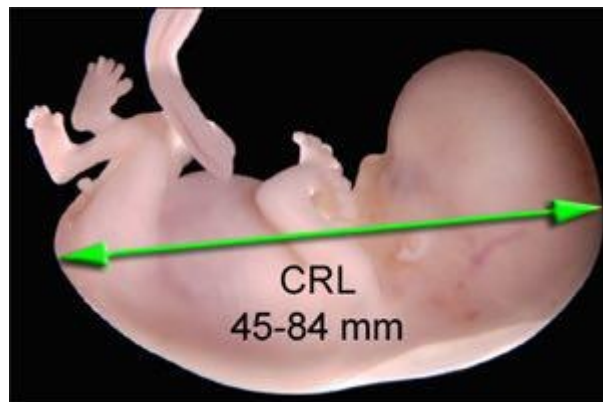
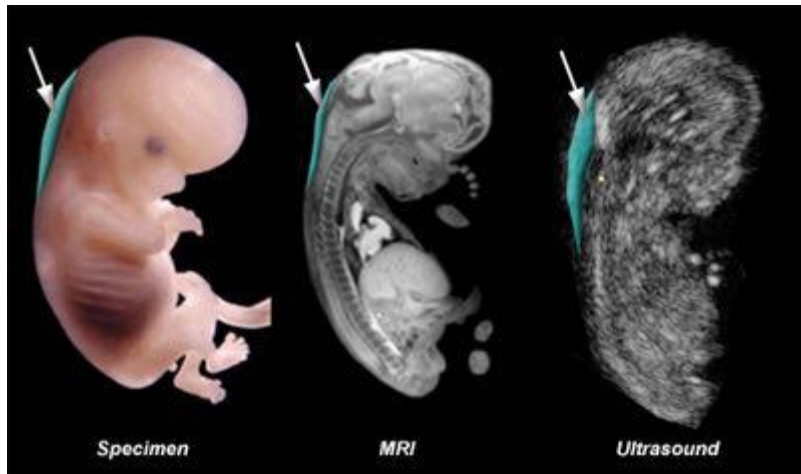
اگر در سه ماهه اول بارداری مادر، نتایج غربالگری ریسک ابتلا به تریزومی ها را نشان دهد، باید با نمونه برداری از پرزهای جفتی (CVS) تست تشخیصی انجام شود، اما اگر مادر در سه ماهه دوم باشد، باید نمونه برداری از مایع اطراف جنین (کاریوتایپ آمنیوسنتز) انجام شود.

غربالگری ۳ ماهه اول که بین هفته های ۱۱-۱۳ بارداری انجام می شود، برای بررسی احتمال خطر سندرم داون و تریزومی ۱۸ انجام می شود و شامل آزمایش خون و سونوگرافی است.

آزمایش های غربالگری سندروم داون:

۱. آزمایش دابل مارکر (Double Marker)

به این آزمایش اصطلاحاً FTS یا First Trimester Screening می گویند. در این آزمایش به طور هم زمان دو شاخص خونی PAPP-A و Free β HCG و یک شاخص سونوگرافی به نام NT یا Nuchal Translucency بررسی می شود. این آزمایش از ابتدای هفته ۱۱ تا انتهای هفته ۱۳ (+۰) تا ۱۳+۶ انجام می شود. ارزش تشخیصی این تست ۸۵ درصد است.



راهنمای انجام تست Contingent



Screening Timeline



۲. تریپل مارکر (Triple Marker)

در این آزمایش AFP، HCG و استریول غیر کونژوگه اندازه گیری می شود. این تست در هفته های ۱۵ تا ۲۰ انجام می شود. برای انجام این تست نمونه خون از بیمار گرفته می شود و در آزمایشگاه مورد بررسی قرار می گیرد. مقادیر غیر طبیعی ممکن است نشانه موارد زیر باشد:

- سندروم داون
- سندروم ادوارد
- نقائص لوله عصبی مانند اسپینا بیفیدا
- چند قلویی

۳. کوآد مارکر (Quad Marker)

این آزمایش در هفته های ۱۴ تا ۲۲ انجام می شود و چهار شاخص خونی AFP، β HCG، uE3 و Inhibin-A را بررسی می کند. با انجام این آزمایش می توان به وجود اختلالات سیستم عصبی، سندروم داون و تریزومی ۱۸ پی برد.

۴. آزمایشهای یکپارچه (Integrated Prenatal Test)

به این تست IPS نیز می گویند. در این آزمایش خانم باردار آزمایش مرحله اول را انجام می دهد ولی نتیجه آزمایش گزارش نمی شود و سپس در هفته ۱۵ بارداری آزمایش های سه ماهه سوم را انجام داده و با استفاده از شاخص ها نتیجه محاسبه و گزارش می شود. ارزش تشخیصی این تست ۹۵ درصد است و کاملترین پروتکل غربالگری سندروم داون در دنیا است.

۵. غربالگری متوالی Sequential Screening

روش Sequential به دو صورت "قدم به قدم" stepwise و "مشروط" Contingent اجرا می شود.

در مدل قدم به قدم stepwise ابتدا در سه ماهه اول FTS انجام می شود اگر ریسک بدست آمده بالاتر از cut off باشد بیمار برای مشاوره ژنتیک و انجام تست های تشخیصی (CVS) معرفی می گردد و اگر ریسک بدست آمده کمتر از cut off باشد بیمار کاندید انجام غربالگری سه ماهه دوم (کوآد) خواهد بود.

در مدل مشروط زنان باردار بر اساس نتایج غربالگری سه ماهه اول به سه دسته ریسک بالا، ریسک متوسط و ریسک پایین تقسیم می شوند. زنان با ریسک بالا (بالتر از ۱:۴۰) برای انجام CVS فرستاده می شوند. آنهایی که ریسک پایین دارند (کمتر از ۱:۲۰۰۰) احتیاجی نیست که تست غربالگری دیگری در موردشان اجرا شود و فقط زنانی که دارای ریسک متوسط (بین ۱:۴۰ و ۱:۲۰۰۰) کاندید انجام غربالگری مرحله دوم (کواد) هستند. با اجرای این استراتژی نه تنها میزان تشخیص بالا و مثبت کاذب پایین داریم بلکه از تعداد غربالگری لازم در سه ماهه دوم کم می شود. در هر دو مدل Sequential موارد غربالگری مثبت برای انجام تست های تشخیصی زود هنگام (CVS) فرستاده می شوند. میزان تشخیص این روش ها بیشتر از ۹۰٪ با مثبت کاذب ۵٪ است.

۶. نمونه برداری از پرزهای کوریونی (Chorionic Villus Sampling)

نمونه برداری از پرزهای جفتی یا CVS یک آزمون تشخیصی پیش از تولد است که تحت بیحسی موضعی و با استفاده از اولتراسوند، به کمک سوزنی که از دیواره شکم مادر عبور می کند و با انبر جراحی که از گردن رحم عبور می کند، از پرزهای جفتی نمونه تهیه می شود.

نمونه برداری از پرزهای جفتی بین هفته های ۱۱ تا ۱۴ انجام می گیرد و می تواند اطلاعات مهمی در رابطه با ساختار ژنتیکی جنین فراهم آورد. در موارد زیر بیمار جهت نمونه برداری ارجاع داده می شود:

- نتیجه آزمون غربالگری مثبت گزارش شده باشد.

- سابقه وجود بیماری کروموزومی در بارداری قبلی

- سن ۳۵ و بالاتر مادر

- وجود سابقه بیماری خانوادگی و ژنتیکی مانند تی-ساکس و فیبروز کیستیک

نکته قابل توجه این است که نمونه برداری از پرزهای کوریونی در موارد نگرانی از ابتلای جنین به نقائص لوله عصبی موثر نیست و در این موارد بهتر است آمنیوسنتز انجام شود. پزشک پیش از انجام نمونه برداری باید بیمار را از خطرات، مزایا و معایب این روش آگاه کند بیمار باید مایعات زیادی بنوشد زیرا مثانه پر در هدایت سوزن به پزشک کمک می کند. در صورتی که این عمل ترانس سروبیکال انجام می شود باید از عدم وجود خونریزی یا لکه بینی و عفونت واژینال، واژینیسموس، جفت غیر قابل دسترس به دلیل فیبروم رحمی اطمینان پیدا کرد. اگر بیمار RH منفی و همسرش RH مثبت باشد، تزریق آمپول رگام ضرورت دارد.

۳- گروه اسکرین منفی (low risk)

ریسک به دست آمده از ۱:۴۰۰ کمتر است. در این صورت غربالگری سندرم داون پایان می پذیرد.

۴- در صورتی که نتیجه غربالگری اختلالات طناب عصبی بیشتر از ریسک تفکیک کننده (۱:۱۰۰) باشد، جهت پی گیری این اختلالات باید هر چه سریعتر به پزشک معالج مراجعه شود.

طبق توصیه آخرین راهنمای BCPGSP، انجام سونوگرافی تفصیلی سه ماهه دوم در هفته ۲۰-۱۸ باید به تمام زنان باردار پیشنهاد شود. اگر در این سونوگرافی هیچ گونه مارکر مربوط به سندرم داون تحت عنوان مارکرهای خفیف (soft markers) وجود نداشته باشد، می توان ریسک تریزومی ۲۱ را تا ۵۰٪ کاهش یافته قلمداد کرد

DR=Detection Rate

FPR= False Positive Rate

OAPR= Odds of being Affected given a Positive Result

تفسیر تست:

بر اساس نتیجه تست غربالگری سندرم داون در سه ماهه دوم مادران در چهار گروه قرار می گیرند:

۱- گروه اسکرین مثبت (high risk)

در صورتی که ریسک جنین بیشتر از ۱:۲۵۰ باشد، پس از تأیید سن جنین، مادر برای مشاوره ژنتیک و انجام آمنیوسنتز ارجاع داده می شود. در صورتی که سن جنین با سن گزارش شده در جواب آزمایش بیش از ۷ روز اختلاف داشته باشد مادر برای محاسبه مجدد ریسک به آزمایشگاه ارجاع داده می شود. در صورتی که برای تعیین سن جنین از LMP استفاده شده باشد حتماً باید پیش از انجام آمنیوسنتز، یک سونوگرافی برای تأیید سن جنین انجام شود .

تبصره ۱: در صورتی که ریسک جنین فقط برای تریزومی ۱۸ مثبت شود به دلیل آنکه تریزومی مزبور با (IUGR) اختلال رشد داخل رحمی) همراه است، اختلاف سن بین سونوگرافی و LMP فاقد ارزش است.

تبصره ۲: در صورتی که جواب آمنیوسنتز طبیعی بود، باید این زنان از نظر پیامدهای نامطلوب بارداری جزء گروه پرخطر قرار گیرند و مراقبت های دوران بارداری برای آنها افزایش یابد (از جمله انجام آنومالی اسکن در هفته های ۲۰-۱۸، سونوگرافی هفته ۲۴ حاملگی برای رد IUGR، کنترل فشار خون، کنترل دفع ادراری پروتئین، کنترل ترشحات واژن برای رد عفونت و ...

۲- گروه با ریسک بینابینی (borderline risk)

در صورتی که ریسک سندرم داون بین ۱:۴۰۰-۱:۲۵۰ باشد، انجام سونوگرافی تفصیلی در هفته ۲۰-۱۸ توصیه می شود. همچنین وجود سطح غیرطبیعی مارکرها نظیر AFP، HCG، Inhibin A و uE3، سبب افزایش احتمال پیامدهای نامطلوب بارداری شده، ضرورت مراقبت های دوران بارداری را افزایش می دهد .

خطرات این آزمون عبارتند از:

خونریزی، سقط، ناسازگاری RH و پارگی زودرس پرده های جنینی

۲ تا ۴ روز پس از نمونه برداری باید سلامت جنین را مورد ارزیابی قرار داد.

سندروم داون، تریزومی ۱۸ و تریزومی ۱۳ و نیز کروموزوم های جنسی را می توان با استفاده از تکنیک تلفیقی واکنش زنجیره ای پلیمرز - فلئورسانس (QF-PCR) تشخیص داد که در این صورت در طی ۴۸ ساعت تشخیص میسر خواهد شد. در حالی که در روش های دیگر ابتدا باید سلول ها قبل از آزمایش رشد داده شوند لذا نتایج نهایی ۱۰ روز پس از نمونه برداری از پرزهای کوریون و ۲ تا ۳ هفته پس از آمنیوسنتز آماده می شود.

برای خانمهای بارداری که ریسک آزمایش غربالگری آنها ۱:۲۵۰ یا بیشتر گزارش شده باید آزمایش نمونه برداری از پرزهای کوریون درخواست شود.

۷. آمنیوسنتز

آمنیوسنتز هم یک روش تشخیصی پیش از تولد است که در طی آن مقدار کمی از مایع آمنیوتیک از کیسه اطراف جنین برداشته میشود. نمونه گیری تحت هدایت سونوگرافی و از طریق یک سوزن نازک که از روی شکم وارد رحم می شود، انجام می گیرد. انجام این روش در موارد زیر توصیه می شود:

- سن بالای ۳۵ سال

- سونوگرافی غیر طبیعی

- سابقه تولد نوزاد با نقائص خاص زمان تولد

- سابقه داشتن کودک با نقائص مادرزادی

به کمک آمنیوسنتز میتوان بیماری هایی مانند سندروم داون، فیبروز کیستیک، نقائص لوله عصبی، اسپینایفیدا، آنانسفالی، دیستروفی عضلانی، تی ساکس و بیماری آنمی داسی شکل را تشخیص داد.

دقت انجام آمنیوسنتز ۹۹٫۴ درصد است و خطرات احتمالی ناشی از آن کمتر از ۱ درصد است.

در جدول زیر می توانید تست های غربالگری و زمان انجام تست ها و مارکهای قابل اندازه گیری در هر تست را مشاهده کنید:

خونریزی واژینال Vaginal Bleeding

بروز ناگهانی خونریزی واژینال درست قبل از انجام خونگیری برای تست‌های غربالگری، نتایج را تحت تاثیر قرار داده (باعث افزایش مقدار AFP می‌گردد) و از این رو توصیه می‌گردد در صورت وقوع، جمع‌آوری نمونه خون جهت آزمایش غربالگری حداقل به یک هفته پس از توقف کامل خونریزی موکول گردد.

آمیوسنتز قبل از نمونه گیری خون

از آنجائیکه انجام آمیوسنتز می‌تواند خود منجر به افزایش مقدار AFP در خون گردد، در اینگونه موارد نتایج حاصل، قابل تفسیر نبوده لذا هیچگونه ریسکی نیز گزارش نمی‌گردد.

بارداری پیشین مبتلا به سندروم داون

اگر خانمی در بارداری قبلی نوزاد مبتلا به سندرم داون و نقص لوله عصبی داشته باشد، تست غربالگری وی بدون توجه به سطح مارکرها مثبت تلقی می‌شود و لذا بایستی آزمایشات بیشتری انجام گیرد. البته میزان ریسک محاسبه شده با توجه به سن و مارکرها نیز توسط نرم افزار گزارش می‌شود که ممکن است در جهت ریسک و یا تقویت آن باشد.

مقایسه تست‌های غربالگری سندرم داون با یکدیگر

براساس اطلاعات ارایه شده در جدول ذیل می‌توان گفت که درصد تعیین DR() که تقریباً معادل حساسیت می‌باشد و همچنین ارزش پیش‌بینی نتایج مثبت OAPR() برای روش‌های مختلف غربالگری سندرم داون متفاوت بوده و لیکن مقدار مثبت کاذب (FPR) حاصل از هریک از روش‌ها دارای مقدار ثابت ۵٪ می‌باشد، به استثنای آزمون جامع که در آن این نسبت به ۱٪ تقلیل می‌یابد. به عبارت دیگر آزمون جامع Test Integrated در مقایسه با سایر تست‌ها از بیشترین DR و کمترین FPR برخوردار است لذا تست پیشنهادی جهت انجام غربالگری با دقت و حساسیت بیشتر می‌باشد

Method of screening	DR	FPR	OAPR
Maternal ago (alone)	۳۲٪	۵٪	۱/۵۶
Triple Test	۷۸٪	۵٪	۱/۲۳
Quadruple Test	۸۳٪	۵٪	۱/۲۱
Penta Screen	۸۷٪	۵٪	---
Combined Test	۸۹٪	۵٪	۱/۲۰
Integrated Test	۹۵٪	۱٪	۱/۱۹

نام تست	زمان انجام	مارکهای قابل اندازه گیری
Double marker	سه ماهه دوم	AFP+HCG
Triple marker	سه ماهه دوم	AFP+HCG+uE3
Quad marker	سه ماهه دوم	Triple+inhibin A
Combined test	سه ماهه اول	NT+PAPP-A+free β HCG
Serum integrated test	سه ماهه دوم	PAPP-A+Quad marker
integrated test	سه ماهه دوم	NT+serum integrated

۸. آزمایش DNA آزاد در خون مادر

وجود DNA آزاد جنینی در گردش خون مادر برای اولین بار در سال ۱۹۹۷ مطرح شد. اما تا سال ۲۰۰۸ بطول انجامید تا این کشف مهم، پایه ای برای طراحی روشی غیر تهاجمی برای تشخیص بیماری های ژنتیکی شود..

اساس این روش، بررسی DNA آزاد موجود در خون مادر است که قسمتی از آن منشأ جنینی داشته و از سلولهای تروفوبلاست (در جفت) آزاد می شود (cell free fetal DNA). حدود ۳ تا ۱۳ درصد از کل DNA آزاد موجود در گردش خون مادر را تشکیل می دهد و از نظر اندازه بسیار کوچکتر از cfmDNA (cell free maternal DNA) است. این ویژگی اساس بسیاری از تکنیک های افتراق cffDNA از cfmDNA را تشکیل می دهد. در هفته ۷ بارداری در خون مادر ظاهر شده و بلافاصله پس از تولد نوزاد، از گردش خون مادر پاک می شود.

امروزه cffDNA کاربردهای مختلفی در زمینه تشخیص اختلالات جنین پیدا کرده؛ اما مهمترین کاربرد آن تشخیص اختلالات تعدادی کروموزومهای ۲۱، ۱۸، ۱۳، X و Y و همچنین تعیین جنسیت جنین (در اختلالات ژنتیکی وابسته به جنس) می باشد.

انجام تست cffDNA در چه مواردی توصیه می شود؟

۱. زنان ۳۵ سال و بیشتر
۲. وجود یک تست غربالگری مثبت
۳. وجود یافته ای در سونوگرافی دال بر افزایش ریسک اختلالات تعدادی کروموزومی (آنپلوئیدی) لازم به ذکر است که در صورت مشاهده یک آنومالی ساختاری در سونوگرافی، مادر باید مستقیماً برای تست تهاجمی تشخیصی ارجاع شود.
۴. وجود سابقه قبلی جنین یا فرزند مبتلا به آنپلوئیدی

نکات مهم در مورد تست: cffDNA

قدرت تشخیص این تست برای تریزومی های ۱۳، ۱۸ و ۲۱، ۹۹٪ است.

• تست cffDNA یک تست تشخیصی نبوده و جایگزینی برای CVS یا آمنیوسنتز محسوب نمی شود.

• در صورت مثبت شدن تست، بیمار باید به منظور تایید نتیجه و انجام تست تشخیصی (CVS) یا آمنیوسنتز، به مشاور ژنتیک ارجاع شود.

• نتیجه منفی به معنی اطمینان کامل از عدم ابتلای جنین به سندرمهای کروموزومی نمی باشد.

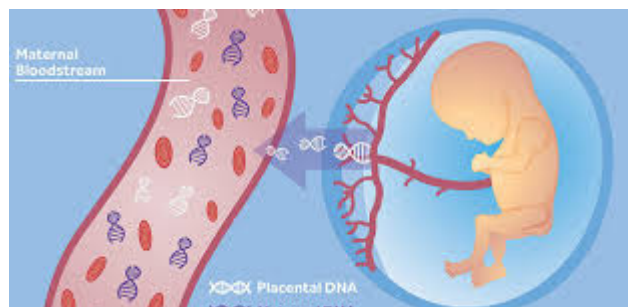
• این تست قادر به شناسایی فرمهای موزاییسم، آنوپلوئیدی های جزئی کروموزومی، حذفها یا جابجایی های کروموزومی نمی باشد.

• انجام این تست پیش از هفته دهم بارداری و همچنین در خانمهای بسیار چاق بعلت پایین بودن سطح cffDNA و در نتیجه وجود موارد منفی کاذب زیاد، توصیه نمی شود.

• این تست نباید به گروه های کم خطر و یا زنانی که بارداری آنها دو یا چند قلوپی است، پیشنهاد شود. زیرا کارایی این تست در این موارد هنوز مشخص نشده است. پژوهش های اخیر نشان می دهد که سطح cffDNA در زنان گروه پرخطر بالاتر از زنان گروه کم خطر است و همین امر سبب کارایی بهتر تست در این گروه می شود.

• با توجه به اینکه تقریباً منشاء تمام cffDNA موجود در خون مادر سلولهای جفت است و نه جنین، در صورت وجود موزاییسم جفتی که حالتی نسبتاً شایع است و در ۱ تا ۲ درصد از بارداری ها وجود دارد، امکان کسب نتیجه مثبت کاذب وجود خواهد داشت. این همان مشکلی است که در CVS وجود دارد و در صورت کسب نتیجه مثبت برای تایید تشخیص نیاز به آمنیوسنتز می باشد.

با اینکه cffDNA از cfpDNA متمایز است، اما بررسی cfpDNA در قریب به اتفاق موارد نتایج بسیار خوبی بدست می دهد. توجه به تفاوت مفهومی این دو اصطلاح از این جهت مهم است که مشخص می کند که چرا با وجود صحت بالا، این تست قدرت کافی برای استناد جهت سقط جنین، بدون تایید توسط یک تست تشخیصی نظیر آمنیوسنتز ندارد.



Maternal age group (years)	Probability of a Screen-Positive result
Under 25	1 in 50
۲۵-۲۹	1 in 40
۳۰-۳۴	1 in 20
۳۵-۳۹	1 in 8
۴۰-۴۴	1 in 4
۴۵ and over	1 in 2
All	1 in 20

عوامل مداخله گر در آزمایش:

سن مادر Maternal Age

همانطور که در مباحث پیش عنوان گردید پارامتر سن مادر باردار جهت محاسبه ریسک از چنان ارزشی برخوردار است که به تنهایی تحت عنوان یک ریسک پیش زمینه "Background Risk" تلقی گشته و نتایج حاصل از آنالیز مارکرهای بیوشیمیایی، همگی در کنار این پارامتر ارزشمند بوده و مورد آنالیز و بررسی قرار می گیرند. اهمیت این مسئله ایجاب می نماید تا به هنگام ثبت اطلاعات مورد نیاز جهت پردازش، از سن دقیق و حقیقی مادر مطمئن گردید.

وزن مادر Maternal Weight

از آنجائیکه کلیه مارکرهای بیوشیمیایی مورد سنجش در آزمایش های غربالگری جهت خانم های باردار با وزن بیشتر نسبت به وزن نرمال، کاهش می یابند و بالعکس در خانم های با دار با وزن کمتر نسبت به وزن نرمال، افزایش می یابند لازم است تا وزن دقیق مادر هنگام نمونه گیری تعیین و ثبت گردد.

نژاد Ethnic Group

به دلیل آنکه برخی از مارکرهای بیوشیمیایی مد نظر در آزمایش های غربالگری از نظر مقدار بستگی قابل توجهی به نژاد مادر دارند (سطوح AFP حدود ۲۰٪، BHCG Free حدود ۱۰٪ و PAPP-A در حدود ۶۰٪ در زنان سیاه پوست بالاتر از زنان سفید پوست می باشد و از طرفی احتمال بروز بیماری هایی نظیر SLOS در برخی نژادها مثل اهالی کشورهای اسکاندیناوی به مراتب بیش از سایر جمعیت هاست) لازمست تا این پارامتر در برگه ثبت اطلاعات عنوان گردد.

مارکرهای مورد اندازه گیری:

۱. Pregnancy associated plasma protein screening (PAPP-A)

پروتئینی است که در اوایل بارداری در جفت تولید می شود. اندازه گیری PAPP-A در طی هفته های ۱۰ تا ۱۳ بارداری، مارکر مفیدی جهت غربالگری سندروم داون و دیگر ناهنجاری های ژنتیکی جنین مثل Fetal Aneuploidy می باشد.

هر گونه کاهش غیرطبیعی PAPP-A (نسبت به الگوی طبیعی) و در نتیجه کاهش MoM مربوطه، ریسک بروز سندرم داون را نسبت به ریسک پیش زمینه افزایش می دهد.

۲. Human chorionic gonadotropin (HCG)

هورمون HCG توسط سلولهای سن سیتوتروفوبلاست جفت ساخته می شود و از نقطه نظر فیزیولوژیک نقش مهمی در ابقاء عملکرد جسم زرد در هفته های نخست بارداری دارد یعنی تا زمانی که عمل تولید پروژسترون از جسم زرد به جفت منتقل گردد. مشابه سایر هورمون های پروتئینی، HCG بر روی پلی زوم های متصل به غشاء ساخته می شود، زیر واحد های آلفا و بتای این هورمون به جای اینکه از یک mRNA ساخته شده باشند، از mRNA های جداگانه ترجمه می شوند. هر چند نسبت پلی زوم های سازنده HCG در جفت، در ادامه بارداری تنزل پیدا می کند، ولی بین سه ماهه اول تا سوم بارداری، نسبت زیر واحد آلفا به زیر واحد بتا تا دو برابر افزوده می گردد. این مشاهده که با مقادیر فزاینده زنجیره های آزاد آلفا و مقادیر کاهنده زیر واحدهای آزاد بتا در پلاسمای مادر، در هنگام پیشروی بارداری مطابقت دارد، اشاره بر این می نماید که ساخت زیر واحدهای آلفا و بتای هورمون HCG ممکن است بطور مستقل از یکدیگر کنترل گردند.

اندازه گیری این فاکتور در طی هفته های ۱۰ تا ۱۳ بارداری، مارکر مفیدی جهت غربالگری سندرم داون می باشد. هر گونه افزایش غیرطبیعی Free BHCG (نسبت به الگوی طبیعی) و در نتیجه افزایش Multiple of Median (MoM) مربوطه، ریسک بروز سندرم داون را نسبت به ریسک پیش زمینه افزایش می دهد.

۳. سونوگرافی NT

روش انجام آن مثل سونوگرافی های معمولی است (از روی شکم). اما در این سونوگرافی، با روش خاصی، ضخامت پشت گردن جنین و وجود استخوان بینی در جنین بررسی می شود. این سونوگرافی باید توسط سونوگرافست ماهری که گواهی نامه ی انجام آن را دارد انجام شود.

Maternal age at EDD	Risk of Down's syndrome	Maternal age at EDD	Risk of Down's Syndrome	Maternal age at EDD	Risk of Down's syndrome
۲۰	۱:۱۴۵۰	۳۰	۱:۹۴۰	۴۰	۱:۸۵
۲۱	۱:۱۴۵۰	۳۱	۱:۸۲۰	۴۱	۱:۷۰
۲۲	۱:۱۴۵۰	۳۲	۱:۷۰۰	۴۲	۱:۵۵
۲۳	۱:۱۴۰۰	۳۳	۱:۵۷۰	۴۳	۱:۴۵
۲۴	۱:۱۴۰۰	۳۴	۱:۴۶۰	۴۴	۱:۴۰
۲۵	۱:۱۳۵۰	۳۵	۱:۳۵۰	۴۵	۱:۳۵
۲۶	۱:۱۳۵۰	۳۶	۱:۲۷۰	۴۶	۱:۳۰
۲۷	۱:۱۲۰۰	۳۷	۱:۲۰۰	۴۷	۱:۳۰
۲۸	۱:۱۱۵۰	۳۸	۱:۱۵۰	۴۸	۱:۳۰
۲۹	۱:۱۰۵۰	۳۹	۱:۱۱۰	۴۹	۱:۲۵

لازم بذکر است که ریسک اختصاصی سن مادر، یک ریسک پیش زمینه Background Risk جهت محاسبه نهایی نتایج غربالگری با استفاده از مارکرهای بیوشیمیایی است. همچنین براساس مطالعات صورت گرفته و آنالیز حاصل از نرم افزار، نتیجه غربالگری ۱ مورد از هر ۵۰ مورد تست غربالگری خانم های باردار زیر ۲۵ سال مثبت بوده که این میزان با افزایش سن مادر بتدریج افزایش یافته تا حدی که در زنان بارداری ۴۵ سال و بیشتر به ۱ مورد از هر ۲ مورد می رسد و بطور کلی انتظار آن می رود که با آنالیز کلیه نتایج مربوط به همه رده های سنی مادران باردار ۱ مورد از هر ۲۰ مورد بارداری منجر به کسب نتیجه غربالگری مثبت گردد.

صورت واضح کارشناس آزمایشگاه را توجیه و محل ذخیره شدن اعداد را نمایش دهد. همچنین پس از **update** مدین ضرایب تغییر یافته نیز در اختیار آزمایشگاه قرار گرفته و یا نامه رسمی از طرف شرکت مبنی بر این که مدین‌ها **update** شده و به روز رسانی شده است، در اختیار آزمایشگاه قرار گیرد. با توجه به تجاری شدن این موضوع در سراسر کشور، آزمایشگاه باید هوشمندانه این موضوع را بررسی و از قبول این که صرفاً نرم افزار قادر به به روز رسانی است، خودداری نماید و حتماً نتایج **update** شده را در اختیار داشته باشد. نرم افزار غربالگری مورد استفاده باید بتواند **Regression** هر مارکر را به آزمایشگاه نمایش داده تا آزمایشگاه بتواند در هر تاریخ و بازه مورد نظر گزارش آماری هر مارکر را مشاهده و پرینت نماید.

بررسی های اپیدمیولوژیک

جهت این موضوع در نرم افزارهای نوین، در قسمت جمعیت شناسی و بررسی اپیدمیولوژیک، آیتم های متعدد و گسترده تر از نیازهای مرجع سلامت وجود دارد. در این بخش علاوه بر **IPR** می توان میزان نرخ تشخیص و موارد مثبت کاذب را در سنین مختلف بارداری، مارکهای مختلف بارداری و **Cutoff** های مختلف به صورت نمودارهای مختلف (دایره ای و ستونی و ...) بررسی کرد. همچنین می توان در قسمت آنالیز ریسک با تغییر دادن میزان **OFF CUT** درصد موارد مثبت گزارش شده در آزمایشگاه را بررسی نمود.

علاوه بر آن، در این قسمت شیوع مورد انتظار در سنین مختلف برای هر ناهنجاری، شیوع واقعی هر ناهنجاری بر اساس تولد زنده و گزارش شیوع مارکهای موثر در غربالگری (دیابت، سیگاری بودن، **IVF**، سابقه داون و ...) نیز وجود دارد.

سن مادر:

همانطور که پیشتر گفته شد ریسک ابتلاء جنین به سندرم داون ارتباط مستقیمی با سن مادر داشته و به موازات افزایش سن مادر مقدار آن افزایش می یابد. عامل سن مادر در تعیین ریسک فاکتور از چنان ارزشی برخوردار است که به تنهایی می تواند مورد آنالیز قرار گرفته و با توجه به بررسی های اپیدمیولوژیک صورت گرفته از آن می توان بعنوان یک ریسک اختصاصی یاد نمود.



کوچکترین خطایی در اندازه گیری عدد آن تی، می تواند نتیجه ی غربالگری را تغییر دهد. سونوگرافی آن تی، بین هفته های ۱۱ تا ۱۴ بارداری انجام می شود عدد آن تی (ضخامت پشت گردن جنین)، در جنین های مبتلا به سندرم داون، افزایش نشان می دهد. دیده شدن استخوان بینی، نشانه ی خوبی است. اما مشاهده نشدن آن، نیاز به پیگیری مجدد در هفته های آینده دارد.

اگر آزمایشات هیچ مشکلی نداشته باشد، اما عدد آن تی بالاتر از حد مشخص است، فقط در موارد زیر آزمایشات دقیق تر مثل آمنیوسنتز نیاز است:

- عدد آن تی بالای ۳ باشد و مادر بالای ۳۵ سال سن داشته باشد.

- عدد آن تی بالای ۴ باشد و مادر زیر ۳۵ سال سن داشته باشد.

تمام زنان (در هر سنی) اگر عدد آن تی بالاتر از ۳ و نیم داشته باشند، باید در ۱۸ تا ۲۰ هفتگی اکوی قلب جنین انجام دهند.

استخوان بینی در سه ماهه اول در ۶۷ درصد بیماران مبتلا به سندروم داون یا تریزومی ۱۸ و در ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به سندروم ترنر مشاهده نمی شود.

۴. Alpha feto protein (AFP)

آلفا فتوپروتئین نوعی پروتئین پلاسما است که در اوایل بارداری در کیسه زرده جنین و در مراحل بعدی در دستگاه گوارش و کبد جنین تولید می شود. تا هفته سیزدهم بارداری غلظت آلفا فتوپروتئین هم در سرم مادر و هم در مایع آمنیوتیک افزایش می یابد و پس از آن به سرعت از میزان آن کاسته می شود.

میزان آلفا فتوپروتئین تولید شده توسط جنین در سرم مادری معمولاً در هفته های ۱۵ الی ۱۸ بارداری توسط یک آزمایش خون ساده مشخص می شود. میزان آلفا فتوپروتئین سرم مادر بر حسب نانو گرم در میلی لیتر (**ng/ml**) اندازه گیری و به صورت مضارب میانه جمعیت غیر

مبتلا (**MoM**) گزارش می شود. محدوده طبیعی برای میزان آلفا فتوپروتئین $2/0 - 2/5$ **MoM** می باشد. اگر در بارداری تک قلوپی این میزان بیش از $2/0$ یا $2/5$ **MoM** و در بارداری های دوقلوپی بیش

از $4/0$ یا $4/5$ **MoM** باشد در این صورت یک سونوگرافی برای تعیین سن دقیق بارداری تجویز

می گردد و در صورت نیاز آزمایش مجدد تکرار می شود. در صورتی که در آزمایش بعدی این میزان کاهش بیابد نتیجه طبیعی است، ولی در صورتی که افزایش یافته باشد پزشک سونوگرافی تخصصی و همچنین آزمایش آمنیوسنتز را تجویز می نماید.

عوامل متعددی بر میزان آلفا فتوپروتئین سرم مادری تاثیر گذارند که در هنگام محاسبه **MoM** باید مورد توجه قرار گیرند.

سن بارداری در سه ماهه دوم بارداری میزان غلظت آلفا فتوپروتئین سرم مادر حدود ۱۵ درصد به ازای هر هفته افزایش می‌یابد به همین دلیل آگاهی از سن دقیق بارداری ضرورت دارد.

وزن مادر وزن می‌تواند بر حجم توزیع آلفا فتوپروتئین تولید شده توسط جنین در گردش خون مادر تاثیرگذار باشد.

نژاد و قومیت نژاد می‌تواند بر این آزمایش تاثیر گذارد به عنوان مثال در زنان آمریکایی آفریقایی تبار غلظت سرمی آلفا فتوپروتئین ۱۰ درصد بیشتر است.

دیابت در زنان دیابتی میزان آلفا فتوپروتئین سرم آنان حدود ۲۰ درصد کمتر از افراد غیر دیابتی است.

بارداری چندقلویی در بارداری دو قلویی باید آستانه بالاتری را برای غربالگری در نظر گرفت به عنوان مثال در بارداری دو قلویی ممکن است ضریب میانی بیشتر از ۳/۵ غیر طبیعی نتیجه گیری شود.

۵. Unconjugated estriol

استریول غیر کونژوگه توسط غدد آدرنال جنین ساخته شده و در جفت متابولیزه گشته و به گردش خون مادر منتقل می‌شود. در مادر، استریول غیر کونژوگه با تبدیل شدن به مشتقات سولفاته و گلوکورونیده از طریق ادرار دفع می‌گردد. مزایای متعددی در اندازه گیری استریول غیر کونژوگه نسبت به استریول تام سرم یا استریول ادراری وجود دارد و از آن جمله که بیماری‌های کبدی و کلیوی مادر و همچنین تجویز آنتی‌بیوتیک‌های خاص، نقشی در تغییر میزان استریول غیر کونژوگه ندارد. مقدار استریول غیر کونژوگه در سراسر دوران بارداری به طور مداوم افزایش می‌یابد و حداکثر آن در طول سه ماهه سوم (هفته ۲۸ تا ۴۰ بارداری) است.

اندازه گیری این فاکتور در طی هفته های ۱۴ تا ۲۲ بارداری، مارکر مفیدی جهت غربالگری سندرم داون می‌باشد. هر گونه کاهش غیرطبیعی uE3 (نسبت به الگوی طبیعی) و در نتیجه کاهش MoM مربوطه، ریسک بروز سندرم داون را نسبت به ریسک پیش زمینه افزایش می‌دهد.

۶. Inhibin-A

هورمون Inhibin A یک پروتئین هترو دایمر است که به وسیله سلول‌های گرانولوزای تخمدان و همچنین سلول‌های سرتولی بیضه ترشح شده و بطور انتخابی ترشح هورمون FSH را مهار می‌نماید. از آنجائیکه پارامتر Inhibin A به تازگی جهت غربالگری سندرم داون مختلف بارداری در دسترس نبوده و تنها می‌توان گفت که مقدار آن در طی سه ماهه دوم بارداری و تا قبل از هفته ۱۷ ابتدا کاهش

سن جنین براساس یافته‌های سونوگرافی است چراکه تنها با وجود خطای ۱ تا ۲ هفته در گزارش سن جنین و به خصوص در حوالی هفته هفدهم مقدار ریسک گزارش شده توسط نرم افزار به میزان قابل توجهی تغییر می‌یابد.

هرگونه افزایش غیرطبیعی Inhibin A (نسبت به الگوی طبیعی) و در نتیجه افزایش MoM مربوطه، ریسک بروز سندرم داون را نسبت به ریسک پیش زمینه افزایش می‌دهد.

محاسبه ریسک:

MoM: برای محاسبه ریسک بیماری‌ها در نرم‌افزار قدر مطلق میزان مارکر استفاده نمی‌شود. بلکه از پارامتری بنام MOM (Multiple of median) استفاده می‌شود. علت استفاده از MOM این است که مارکرها بطور طبیعی در سنین مختلف حاملگی متفاوت است، برخی افزایش و برخی کاهش نشان می‌دهند. به همین دلیل نسبت مارکر اندازه گیری شده در هفته خاص حاملگی به میزان مورد انتظار آن برای همان هفته بارداری بنام MOM نامیده می‌شود.

MOM = میزان مارکر اندازه گیری شده در آزمایشگاه / میزان مورد انتظار مارکر مذکور برای حاملگی

برای مثال اگر میزان مارکر خانمی در هفته ۱۴ 100 IU/ mL اندازه گیری شده باشد و میزان مورد انتظار این مارکر برای هفته چهاردهم 50 IU/ mL باشد MOM=۲ خواهد بود.

نرم افزاری که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد باید این امکان را داشته باشد که نتایج مختلف را در هفته‌های مختلف بارداری به صورت جامع و در یک جدول به آزمایشگاه ارائه نماید. همچنین آزمایشگاه باید بتواند نتایج قبل و بعد از update مدین را مشاهده نماید این امکان در قسمت مطالعات آماری نرم افزار به صورت آیتم بررسی مدین اختصاصی وجود دارد. در این آیتم بر اساس تعداد آزمایش‌های انجام شده در هفته‌های مختلف بارداری، مدین هر هفته بارداری و متناظر با آن MOM آن هفته بارداری نشان داده شده است. در پایان بررسی، مدین هر مارکر به صورت کلی محاسبه شده و محدوده ۱۰ درصد، ۹۰ درصد و انحراف معیار به صورت MOM Log 10 نمایش داده می‌شود. نرم افزار این امکان را دارد که علاوه بر این آیتم‌ها خروج آنالیت مورد آزمایش را از محدوده تعیین شده توسط آزمایشگاه مرجع سلامت، به صورت اتوماتیک با هشدار به آزمایشگاه نمایش دهد. کیتی که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد در روند صحت نتایج، بسیار تاثیر گذار است. نرم افزار باید قادر باشد که برای هر کیت، ضرایب اختصاصی ایجاد نماید و شرکت پشتیبان نیز باید به