

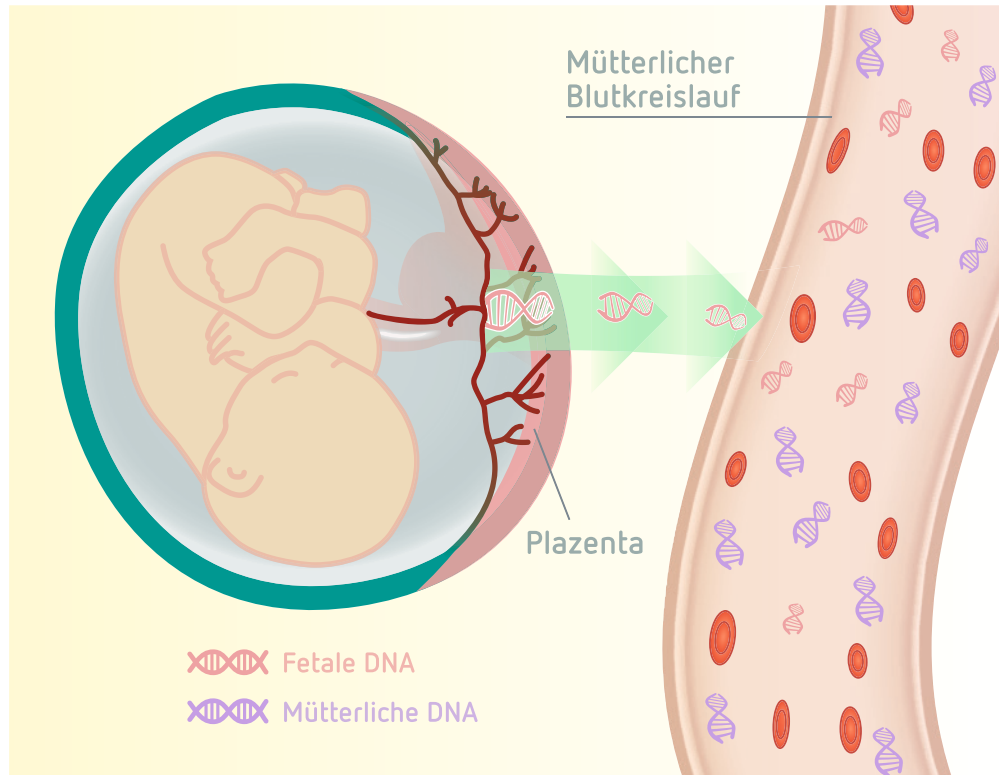
harmony

PRENATAL TEST



Harmony® Prenatal Test
Die Technologie

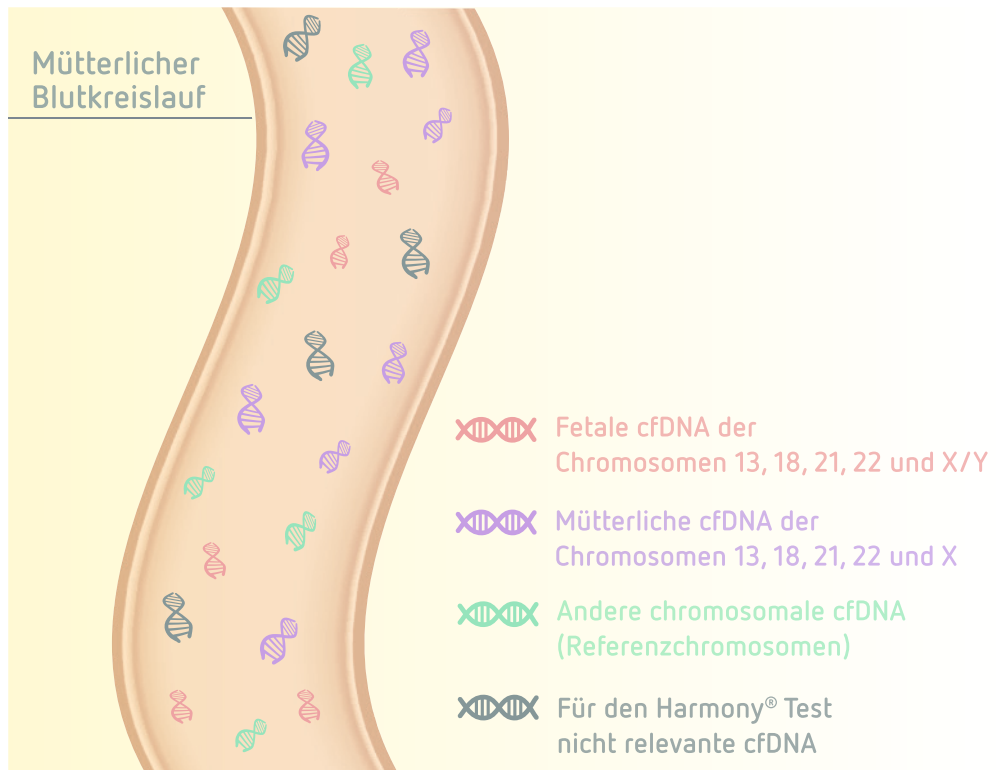
Fetale zellfreie DNA im mütterlichen Blutkreislauf



Während der Schwangerschaft ist die Plazenta (Mutterkuchen) mit dem Blutkreislauf der Mutter verbunden und versorgt den Fetus mit den notwendigen Nährstoffen. Die Plazenta setzt sich aus embryonalem und mütterlichem Gewebe zusammen und gibt DNA in den mütterlichen Blutkreislauf frei. Die zirkulierende zellfreie fetale DNA (cffDNA) stammt aus den Trophoblasten^[1], die den größten Teil der Plazenta ausmachen. Der Harmony® Test verwendet die zellfreie DNA, um häufige Chromosomenstörungen des Fetus zu untersuchen. Der Anteil zellfreier fetaler DNA im mütterlichen Blutkreislauf beträgt in der Schwangerschaftswoche 10+0 durchschnittlich 10 %^[2].

cffDNA (cell free fetal DNA) = Außerhalb von Zellen im Blut zirkulierende fetale DNA
Trophoblasten = Die äußere Zellschicht der Keimblase in einem frühen Zellstadium

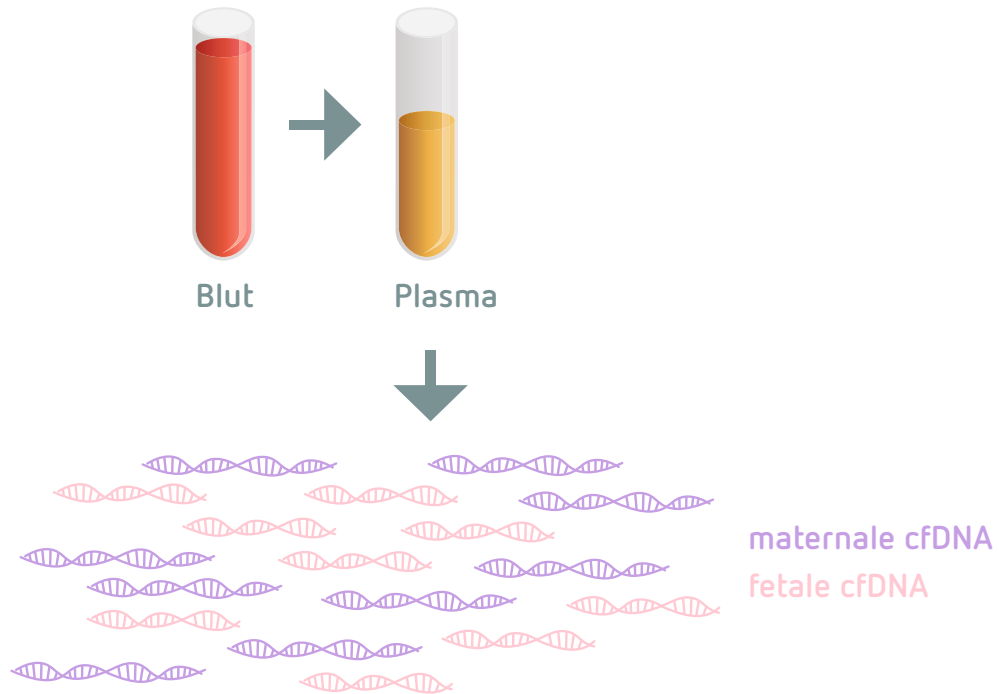
Zellfreie DNA im mütterlichen Blutkreislauf



Die genetischen, nicht-invasiven Pränataltests aus dem mütterlichen Blut basieren auf der Isolierung und Untersuchung fetaler und mütterlicher zellfreier DNA^[3]. Der Harmony® Test analysiert die cfDNA der Chromosomen 21, 18, 13 sowie der Geschlechtschromosomen X und Y^[4,5]. DNA-Fragmente von anderen Chromosomen werden teilweise für die Auswertung als Referenz verwendet (Referenzchromosomen).

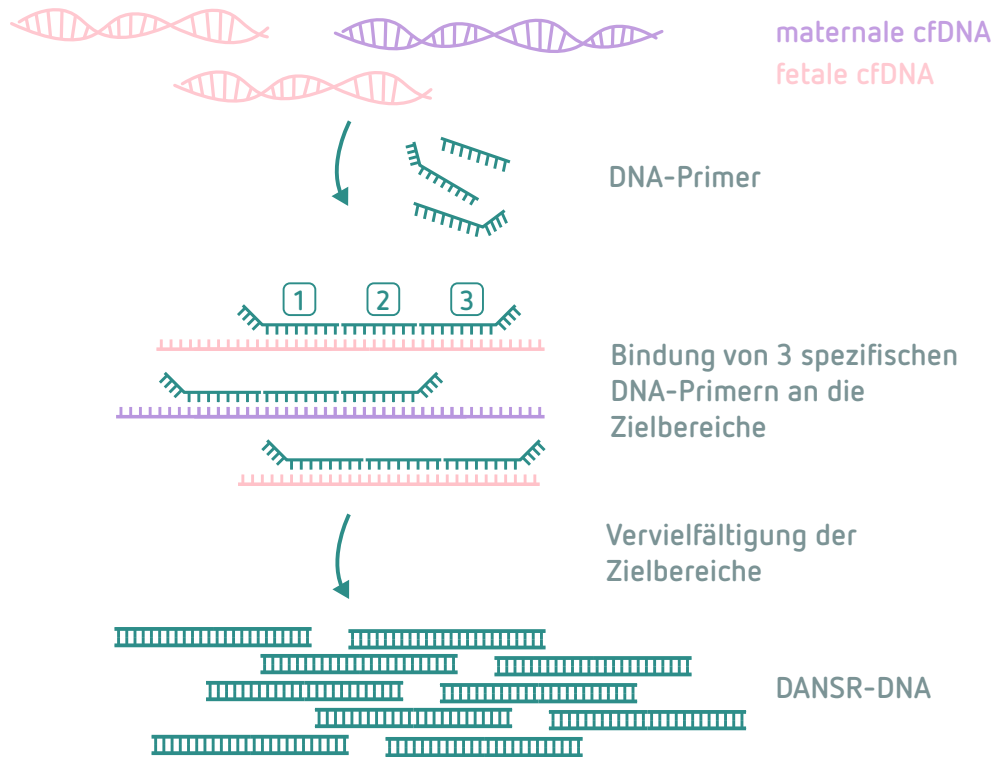
cfDNA (cell free DNA) = Außerhalb von Zellen im Blut zirkulierende DNA

Isolation maternal und fetaler cfDNA



Für den Harmony® Test werden zwei Blutröhrchen mit venösem Blut der Mutter befüllt. Die in den Röhrchen vorhandene Flüssigkeit stabilisiert die Blutbestandteile für einen Zeitraum von 7 Tagen und verhindert dadurch die Freisetzung von mütterlicher DNA aus den Leukozyten. Nach Eintreffen im Labor wird das Plasma isoliert und große Fragmente zellfreier DNA durch Größen-selektion abgetrennt. Da zellfreie DNA fetalen Ursprungs (cffDNA) im Mittel kürzer ist als zellfreie DNA mütterlichen Ursprungs ^[6], wird durch diesen Arbeitsschritt der Anteil an zellfreier fetaler DNA in der zu untersuchenden Probe erhöht.

DANSR-Assay

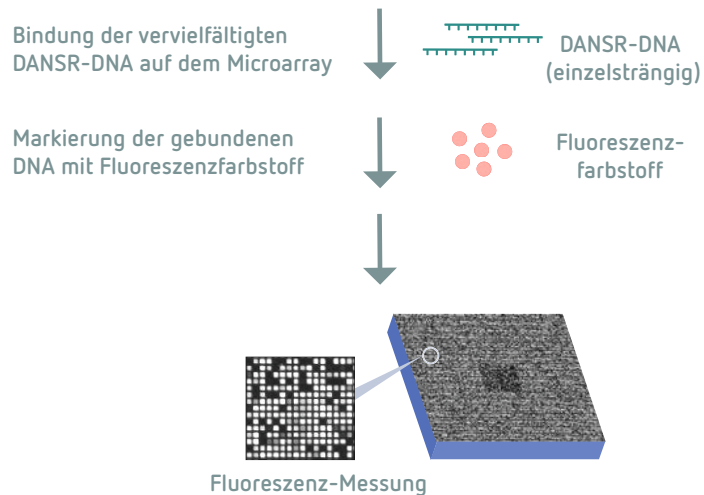
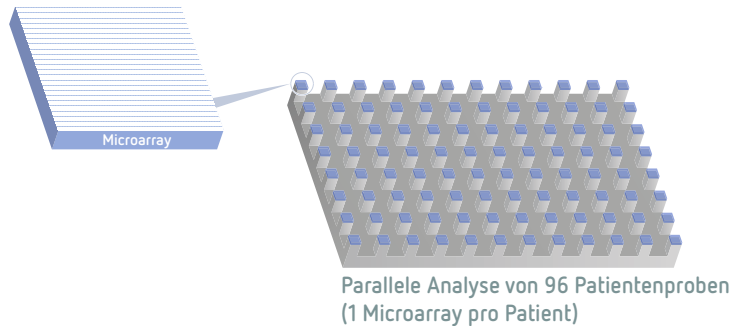


Bei der **DANSR**-Technologie des Harmony® Tests handelt es sich um ein Verfahren, bei dem ausgewählte Abschnitte des Genoms analysiert werden^[4,5]. Hierfür lagern sich **DNA-Primer** an fetale und mütterliche cfDNA an und initiieren eine Vervielfältigung der zuvor ausgewählten Bereiche. Die vervielfältigte DNA wird im Folgenden "DANSR-DNA" genannt.

DANSR = Digital analysis of selected regions

DNA-Primer = Kurze DNA-Stücke, die den zu vervielfältigten Bereich festlegen

Microarray-Analyse

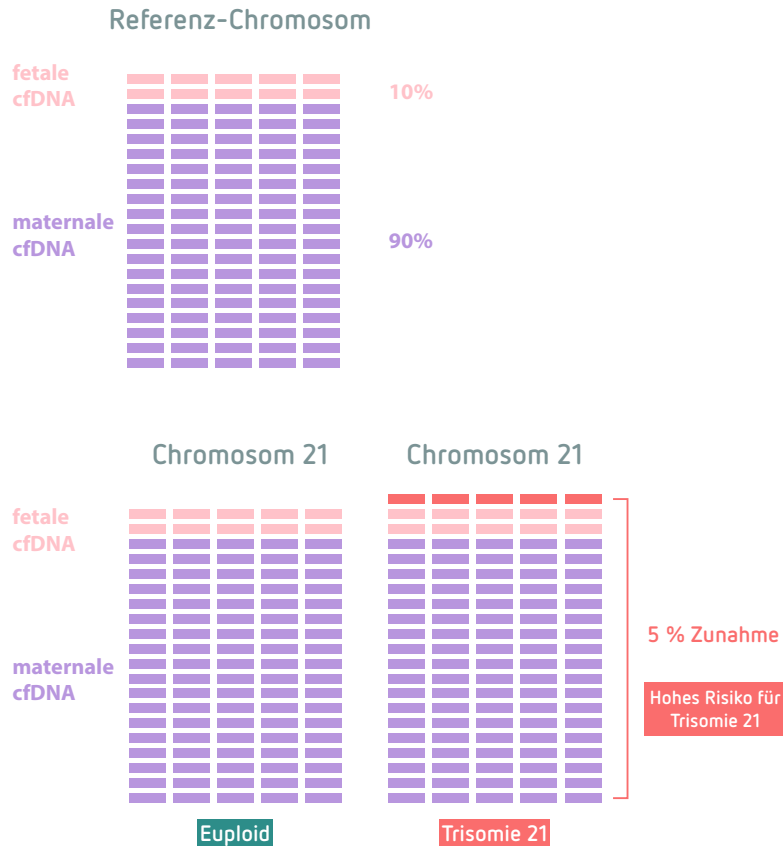


Der Harmony® Test verwendet die Microarray-Technologie - eine besonders schnelle und präzise Quantifizierungsmethode^[7]. Ein Microarray enthält viele Tausend Positionen, die mit **komplementären** Zielbereichen (DNA-Sonden) besetzt sind. Die hinzugefügte DANSR-DNA bindet an diese DNA-Sonden und wird anschließend mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Das dabei entstehende Signal wird gemessen und so die Menge cfDNA quantifiziert. Bestandteil des Harmony® Tests ist weiterhin eine sogenannte "**SNP**-Analyse". Diese ermöglicht über das Erkennen von Unterschieden einzelner Basen zwischen Mutter und Kind unter anderem eine sehr genaue Quantifizierung des Anteils an zellfreier fetaler DNA. Dadurch wird die hohe Zuverlässigkeit des Harmony® Tests gewährleistet^[5,7].

komplementär = sich miteinander paarende DNA-Basen (A-T, G-C)

SNP = Single Nucleotide Polymorphisms sind Unterschiede in Form einzelner abweichender DNA-Basen. Sie stellen die häufigsten genetischen Variationen zwischen Individuen dar^[8,9].

Ergebnisauswertung



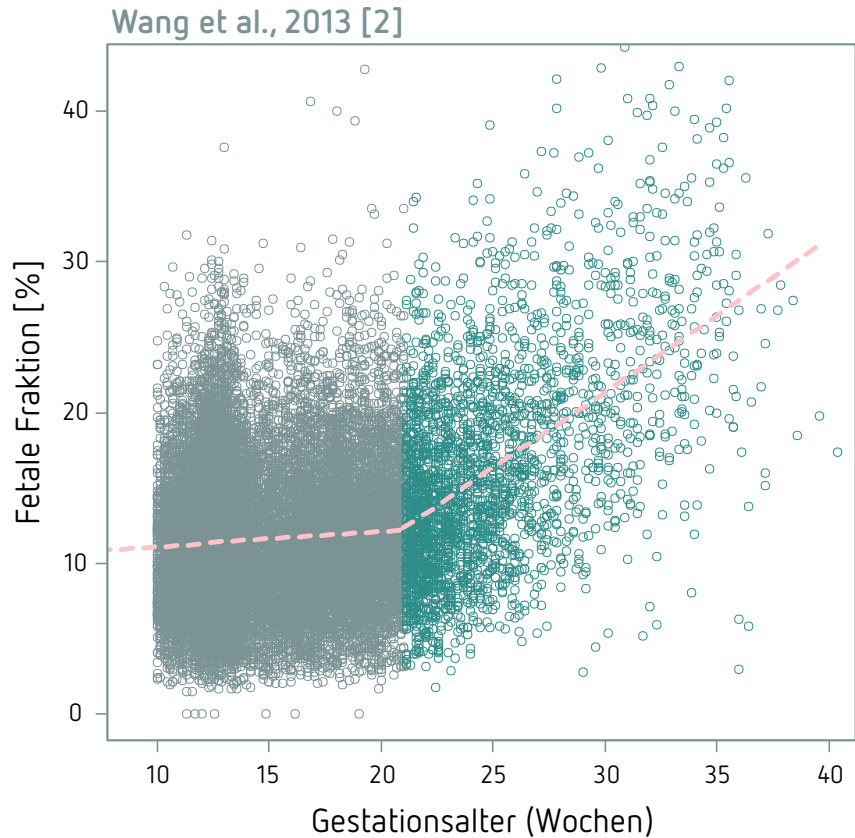
Die Quantifizierung der fetalen Chromosomen 21, 18 und 13 erfolgt durch den Vergleich mit Referenzchromosomen. Der Harmony® Test verwendet den proprietären **FORTE**-Algorithmus, der für die individuelle Risikoberechnung unter anderem den Anteil fetaler cfDNA, das mütterliche Alter und die Schwangerschaftswoche berücksichtigt. Bei einem Anteil von 10 % fetaler cfDNA weist eine 5%-ige Zunahme der Menge an genetischer Information von Chromosom 21 auf das Vorliegen einer fetalen Trisomie 21 hin. Der Harmony® Test liefert in diesem Fall ein Ergebnis mit hohem Risiko. Bei einem zu geringen Anteil fetaler cfDNA (<4%) ist die Unterscheidung zwischen **euploidem** und **aneuploidem** Zustand nicht präzise genug möglich^[10]. Deshalb findet in diesem Fall keine Ergebnisauswertung statt.

FORTE = Fetal-fraction Optimized Risk of Trisomy Evaluation

Euploid = Zellen enthalten vollständig diploide Chromosomensätze

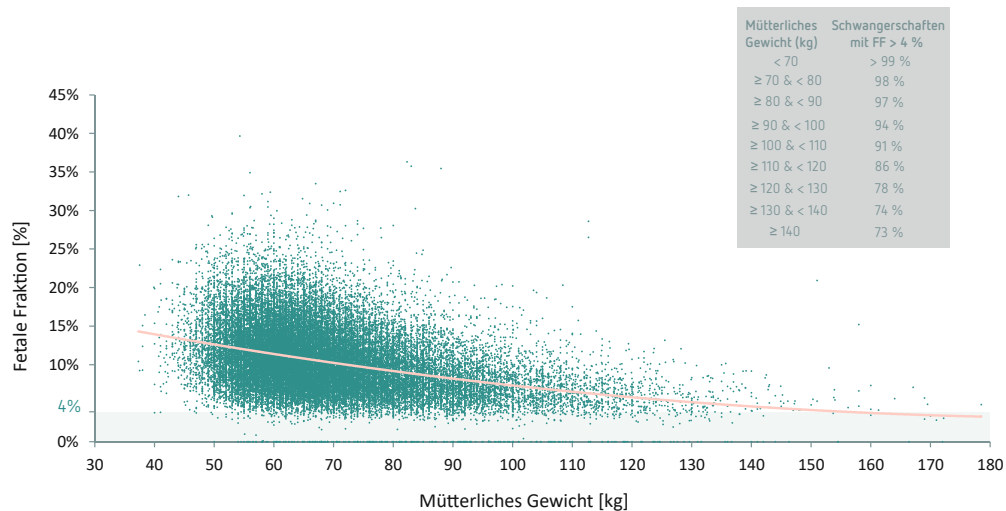
Aneuploid = Zellen enthalten von der Norm abweichende Chromosomensätze

Einfluss des Gestationsalters auf den Anteil der fetalen cfDNA



Der Harmony® Test ist ab der Schwangerschaftswoche (SSW) 10+0 durchführbar. Der Anteil an fetaler cfDNA im Blut der Schwangeren steigt mit zunehmender Schwangerschaftswoche - vor der 21. SSW im Durchschnitt um ca. 0,1%-Punkte pro Woche und nach der 21. SSW um ca. 1,1%-Punkte pro Woche [2].

Einfluss des Körpergewichts auf den Anteil der fetalen cfDNA



Die Darstellung beinhaltet die Daten von 43.639 Harmony® Test-Analysen der Cenata GmbH. Der hellgrün markierte Bereich umfasst Proben mit einer fetalen Fraktion von unter 4 %.

Der Anteil an fetaler cfDNA im mütterlichen Blut nimmt im Durchschnitt mit zunehmendem mütterlichen Gewicht ab. Die Wahrscheinlichkeit einer Nicht-Auswertbarkeit des Harmony® Tests durch eine zu geringe Menge an cfDNA erhöht sich bei höherem Körpergewicht der Schwangeren. Gegebenenfalls ist die erneute Einsendung einer Blutprobe zu einem etwas späteren Zeitpunkt sinnvoll, da der Anteil an fetaler cfDNA im mütterlichen Blut mit zunehmender Schwangerschaftswoche steigt^[2].

Referenzen

- [1] Hochstenbach et al. Clin Case Rep. 2015 Jun;3(6): 489-491.
- [2] Wang et al. Prenat Diagn. 2013 Jul;33(7):662-6.
- [3] Lo YMD, et al. Lancet. 1997;350(9076):485–487.
- [4] Sparks et al. Prenat Diagn. 2012 Jan;32(1):3-9.
- [5] Sparks et al. Am J Obstet Gynecol. 2012 Apr;206(4):319.e1-9.
- [6] Chan KCA, et al. Clin Chem. 2004;50(1):88–92.
- [7] Juneau et al. Fetal Diagn Ther. 2014;36(4):282-6.
- [8] <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome>
- [9] <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/sn> Accessed April 24, 2017
- [10] Bevilacqua et al. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015 Jan;45(1):61-6. doi:10.1002/uog.14690. Epub 2014 Dec 4.



Frühe Sicherheit

bereits ab Schwangerschaftswoche 10+0 durchführbar



Schnelle Befundübermittlung

Ergebnisse in durchschnittlich 3 Arbeitstagen



Präzise und zuverlässig

Erkennungsrate Trisomie 21: 99,3 %

Falsch-Positiv-Rate Trisomie 21: 0,04 %*



Klinisch validiert an über 148.000 Schwangeren jeden Alters

in durchweg verblindet durchgeführten Studien*



Hochqualifiziertes Ärzteteam

Ärzte für Humangenetik, Labormedizin und Gynäkologie für Befundung und Beratung

* Literaturnachweise siehe Homepage www.cenata.de

HARMONY® ist eine Marke von Roche. Alle anderen Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.