

STANOVENÍ DÁRCOVSKÉ VOLNÉ DNA PO TRANSPLANTACI SOLIDNÍCH ORGÁNŮ

DNA

Číslo výkonu:

94299

Autorská odbornost:

(816) laboratoř lékařské genetiky

Popis:

(Pokud má výkon jednoznačné indikace, uveďte je.)

Princip detekce dárcovské volné DNA (dd-cfDNA) spočívá v detekci a kvantifikaci fragmentů DNA, které pocházejí z transplantovaného orgánu, a které se nacházejí v krvi příjemce. V případě rejekce štěpu dochází k vyšší produkci dd-cfDNA z transplantovaného orgánu, protože imunitní systém příjemce začne rozpoznávat štěp jako cizí a napadá ho, což vede k uvolnění většího množství DNA do krevního oběhu. Pomocí speciálních molekulárních technik, jako je PCR nebo NGS, je možné tento dd-cfDNA detekovat a kvantifikovat. To umožňuje včasnou diagnostiku a následnou úpravu léčby, čímž se zvyšuje pravděpodobnost úspěšné léčby rejekce. Indikace: Výkon indikuje lékař transplantačního centra se specializací nefrologie, kardiologie, pneumologie a chirurgie u pacientů po transplantaci ledviny, srdce a plic v případech: 1) kdy výkon nahrazuje protokolární biopsii, 2) follow-up biopsii u transplantací ledvin u sensibilovaných nemocných, 3) kdy biopsii nelze provést. Vyšetření se provádí nejdříve po 2 týdnech po transplantaci ledviny, po 4 týdnech po transplantaci srdce a po 6 týdnech po transplantaci plic.

Poznámka:

Čím výkon začíná:

Separaci séra s obsahem volné cfDNA. Navazuje na výkon izolace DNA 94235

Obsah a rozsah výkonu:

Kvantifikace volné DNA, rozlišení od volné DNA pocházející z buněk dárce a příjemce pomocí NGS sekvenování a následného bioinformatického zpracování dat. Po dodání plné krve do laboratoře je separována volná DNA z plné krve (nutnost použití speciálních odběrových zkumavek pro stabilizaci volné DNA). Po izolaci je zpracována a přečištěna knihovna volné DNA, která je připravena k provedení amplifikace specifických lokusů (pomocí PCR reakce se specifickými oligonukleotidy), které jsou polymorfní a umožňují stanovení velikosti frakce štěpu a jeho monitoring. Po amplifikaci a přečištění specifických lokusů je DNA pacienta označena specifickými barcody pomocí následné PCR reakce a následně sekvenována. Po samotné sekvenaci dochází k bioinformatickému zpracování dat a následnému hodnocení výsledků.

Čím výkon končí:

Vydáním zprávy a archivací výsledku

Kategorie: P - hrazen plně;

Omezení místem: S - pouze na specializovaném pracovišti

Omezení frekvencí: 2x ročně

Obvyklá doba trvání celého výkonu v minutách: 600

Podmínky:

(Pokud je omezení místem "S",

popište, čím je pracoviště specializované.)

Akreditovaná laboratoř, uzpůsobená pro zpracování volné DNA, disponující kapacitně dostatečně velkým NGS přístrojem a možností analýzy získaných NGS dat. Transplantační centra

Důvod změnového řízení:

(V případě, že výkon nahrazuje staré metody, doplňte čísla původních výkonů.)

Krátkodobý a dlouhodobý úspěch transplantací orgánů závisí na bezpečné a účinné prevenci rejekce alogenního štěpu. Sledování aloimunitní odpovědi se dosud provádí v případě transplantací ledvin pomocí sledování renální funkce (hodnot sérového kreatininu), monitorací hladin inhibitorů kalcineurinu a prováděním biopsií, které jsou indikovány kvůli zhoršení funkce štěpu anebo podle protokolu. Bylo prokázáno, že monitorování hladin sérového kreatininu má nízkou sensitivitu, a navíc se jeho zvýšení objevuje v případě rejekce pozdě. Monitorování hladin imunosupresiv není vhodné pro vyloučení rejekce. V případě transplantací srdce a plic takový neinvazivní test dosud není k dispozici a diagnostika rejekce se opírá o provádění biopsií. Endomyokardiální biopsie a transbronchiální biopsie jsou tudíž zásadní pro diagnostiku rejekce, ovšem tyto biopsie mají další limitace, jakými jsou invazivita výkonu, špatná shoda interpretace histologického nálezu v biopsii mezi patologi. V posledních letech se objevily nové molekulární nástroje pro monitorování rejekce po transplantacích orgánů (4,5). Poškozený štěp uvolňuje volnou DNA, kterou lze stanovit v plasmě příjemce. Stanovení frakce dárcovské volné DNA (dd-cfDNA: donor-derived cell-free DNA) z celkové volné DNA v plasmě příjemců recentně nabízí několik komerčních subjektů v centrálních laboratořích, ale existují i řešení provádění vyšetření přímo v HLA laboratoři transplantačních center. Tyto testy využívají metody molekulární genetiky, především metody NGS (sekvenování příští generace). Metoda se vyznačuje vysokou negativní prediktivní hodnotou >95%, lze tak s vysokou mírou spolehlivosti rejekci vyloučit na základě neinvazivního testu z periferní krve. To je důležité především v případech opakovaných, tzv. follow-up biopsií a protokolárních biopsií, kdy vyloučení přítomnosti rejekce pomocí neinvazivního testu nahradí provedení biopsie, která je spojena s hospitalizací pacientů, riziky invazivního výkonu a také s vyššími ekonomickými náklady. Stanovení cirkulující dárcovské volné DNA (dd-cfDNA) v krvi je inovativní neinvazivní metodou, jejichž využití k diagnostice rejekce bylo testováno v desítkách studií. V případě transplantací ledvin bylo ve studii s 2882 nemocnými ze 14 transplantačních center v Evropě a v USA ověřeno, že hladiny dd-cfDNA silně korelovaly s rejekcí štěpu, včetně humorální rejekce, T-buňkami zprostředkované rejekce a smíšené rejekce. Zvýšení dd-cfDNA vykazovalo vysokou prediktivní hodnotu pro detekci subklinické rejekce u stabilních pacientů (1). V případě prospektivní monitorace bylo zjištěno, že zvýšení hladin dd-cfDNA předchází o mnoho týdnů zvýšení hodnot sérového kreatininu a histologickému průkazu rejekce (2). Podobně bylo zjištěno, že prospektivní monitorování zvýšení frakcí dd-cfDNA v krvi pacientů předchází detekci dárcovsky specifických anti-HLA protilátek a rejekčnímu poškození (3). Tato pozorování jsou také důvodem, proč odborné společnosti v USA i v Evropě doporučují testování dd-cfDNA u nemocných po transplantacích ledvin, srdce a plic (4-6). Doporučení jsou založena na výsledcích rozsáhlých studií, ve kterých byly stanovovány frakce dd-cfDNA v centrálních laboratořích: V případě transplantací ledvin (4,6): • Monitorování frakcí dd-cfDNA může být použito k vyloučení subklinické protilátkami zprostředkované rejekce u stabilních pacientů s anti HLA protilátkami • V případě zhoršení funkce štěpu je možno vyšetřit frakci dd-cfDNA k vyloučení přítomné rejekce, především protilátkami zprostředkované rejekce V případě transplantací srdce (5,6): • od 4. týdne po transplantaci může být měření dd-cfDNA použito mimo standardní péči pro vyloučení klinické a subklinické rejekce a to díky vysoké negativní prediktivní hodnotě testu V případě transplantací plic (5,6): • od 6. týdne po transplantaci může být měření dd-cfDNA použito mimo standardní péči k vyloučení klinické a subklinické rejekce a to díky vysoké negativní prediktivní hodnotě testu

Posouzení medicínské efektivity: Zavedení vyšetřování frakcí dd-cfDNA pro posuzování efektu imunosupresivní terapie místo protokolárních a follow-up biopsií u rizikových nemocných bude znamenat omezení indikací biopsií u pacientů s negativním výsledkem testu. Vedle ekonomických dopadů a vyloučení hospitalizace bude metoda znamenat snížení rizika vyplývající z invazivního zákroku.

Ekonomický dopad:

(Doplňte odhadovaný počet pacientů za rok)

Maximální počty za rok: Transplantace ledviny: 500 Transplantace srdce: 200 Transplantace plic: 100

Porovnání s prokázaným léčebným přínosem: Zkrácení doby hospitalizace, omezení antirejekční léčby naslepo v případech, kdy není možno biopsii provádět, redukce komplikací vyplývajících z invazivní biopsie.

Způsob úhrady v dalších zemích: Metoda stanovení dd-cfDNA je proplácena pojišťovnami v USA (Medicare) a soukromé pojišťovny, v Evropě v některých centrech hradí poskytovatelé z paušálních plateb.

Další odbornosti:

Kód Název

Režie

208	lékařská genetika	4,47
818	laboratoř hematologická	4,04
813	laboratoř alergologická a imunologická	4,04

Nositelé:

Pořadí	Kategorie	Funkce	Praxe	Čas	Poznámka	Aktuální body
10	K2	JVŠ	5	120		1 057,18
Celkem:						1 057,18

Přímo spotřebovaný materiál - PMAT:

Kód	Název	Doplňek	Množství	Jednotka	Cena	Body
A002356	Paušál PMAT k výkonu 94363		0,7		27 326,00	23 145,12
Celkem: 27 326,00						23 145,12

Přímo spotřebované léčivé přípravky - PLP:

Kód	Název	Doplňek ATC	Omezení	Množství	Jednotka	Cena	Body
Celkem: 0,00							0,00

Přístroje:

Kód	Název	D.Ž. N.Ú.	D.P.	Procento z výkonu	Cena	Body
A001800	Analyzátor genetický pro sekvenaci příští generace (NGS)	6 375000	12		1,00 7 500 000,00	5 642,36
A001801	Zařízení pro přípravu templátu pro sekvenaci příští generace (NGS)	6 62500	6		1,00 1 250 000,00	1 880,79
Celkem: 8 750 000,00						7 523,15

ZUM:

Kód Název

Položky mimo číselník

Název Popis

ZULP:

Kód Název

Položky mimo číselník

Název Popis

**Bodová
hodnota**

Přímé
30 668,27

Osobní
1 057,18

Režijní
2 424,00

Celkem
34 149