

Neonatal screeningsalgoritme for cystisk fibrose

Forslag til dansk screeningsalgoritme for CF

- 1. First tier: Alle nyfødte får målt immunoreaktiv trypsinogen (IRT) i den etablerede filterpapirblodprøve, der tages 48-72 timer efter fødslen (65.000 prøver årligt). Prøver hvor IRT koncentrationen ligger over 99,0 percentilen for den samlede population går videre til genetisk undersøgelse for $\Delta F508$. Alternativt lægges IRT cut-off ved 98,0 percentilen.**
- 2. Second tier: Genetisk undersøgelse for $\Delta F508$.** Filterpapirblodprøver, der ved den genetiske undersøgelse indeholder 2 eller 1 $\Delta F508$ mutationer sendes til Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet for videre genetiske analyser. Der udsendes i disse tilfælde et midlertidigt screeningssvar fra SSI, der lyder henholdsvis ”Homozygot $\Delta F508$, obs Cystisk Fibrose. Resultatet er meddelt Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet, der via den lokale pædiatriske afdeling står for den videre genetiske udredning” og ”Cystisk Fibrose kan ikke udelukkes. Udvidet genetisk undersøgelse af blodprøven bestående af en direkte analyse for 50 relativt hyppige kaukasiske CFTR mutationer finder nu sted på Klinisk Genetisk Afdeling Rigshospitalet, hvorfra det endelige resultat rapporteres”.
- 3. Fail safe: Alle filterpapirblodprøver, i hvilke IRT koncentration ligger over 99,9 percentilen, sendes uanset $\Delta F508$ status til Klinisk Genetisk afdeling Rigshospitalet med henblik på genetiske analyser. Der udsendes i disse tilfælde et midlertidigt screeningssvar fra SSI, der lyder ”Cystisk Fibrose kan ikke udelukkes. Udvidet genetisk undersøgelse af blodprøven finder nu sted på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet, hvorfra det endelige resultat rapporteres”.**

Samlet screenings effektivitet:

Anvendes cut-off for IRT på 99 percentilen i first tier vil 12,4 børn med CF identificeres ud af de 13,4, der årligt fødes i Danmark (screenings sensitivitet 92,5 %). Der vil tillige identificeres 40 raske bærere af CF sygdomsgener. 64.948 neonatal prøver årligt vil være screen negative for CF, hvoraf en nyfødt alligevel vil have sygdommen (falsk negativ rate 7,5 %). Den ene nyfødte med CF, der ikke detekteres, vil for 1/3 vedkommende være alvorlige tilfælde med lavt IRT niveau (ofte mekonium ileus) og 2/3 af tilfældene vil have CFTR mutationer associeret med initialt milde symptomer. Hos 47 uafficerede børn årligt vil CF ikke kunne udelukkes før der er foretaget udvidet genetisk undersøgelse på filterpapirblodprøven som følge af fail safe proceduren. Anslåede omkostninger for screeningslaboratoriet i forbindelse med CF screeningen vil være ca. 2,5 mio. årligt eller 39 kr. pr nyfødt. Udgiften til den udvidede genetiske undersøgelse vil anslået beløbe sig til ca. kr. 0,3 mio. årligt.

Anvendes i stedet 98 percentilen som cut-off for IRT ved first tier vil 12,9 nyfødte med CF blive identificeret ud af de 13,4, der årligt fødes med sygdommen (screenings sensitivitet 96,3 %) – altså identificeres yderligere 0,5 nyfødte årligt med CF i forhold til situationen med anvendelse af 99 percentilen. Der vil tillige identificeres 78 raske bærere af CF sygdomsgener. 64.909 neonatal prøver årligt vil være screen negative for CF, hvoraf 0,5 nyfødte alligevel vil have sygdommen (falsk negativ rate 3,7 %). Den 0,5 nyfødte med CF, der ikke detekteres, vil for 2/3 vedkommende være alvorlige tilfælde med lavt IRT niveau (ofte mekonium ileus) og 1/3 af tilfældene vil have sygdomsgener associeret med initialt milde symptomer. Hos 47 uafficerede børn årligt vil CF ikke kunne udelukkes før der er foretaget udvidet genetisk undersøgelse på filterpapirblodprøven som følge af fail safe proceduren. Anslåede årlige omkostninger for screeningslaboratoriet i forbindelse med CF screeningen vil være ca. 2,7 mio. årligt eller 42 kr. pr nyfødte og ca. kr. 0,4 mio. for den udvidede genetiske udredning årligt.

Baggrund for forslaget

Neonatal screening for cystisk fibrose (CF) er etableret i en lang række lande. Primærmarkøren er i alle screeningsprogrammer immunoreaktiv trypsinogen (IRT), der hos CF patienter er til stede i øgede mængder i den neonatale filterpapirblodprøve. Cut-off værdien for IRT er typisk etableret mellem 95 og 99 percentilen for normale nyfødte. IRT bestemmelsen er dog ikke alene tilstrækkelig til at identificere børn med CF, idet der er mange raske nyfødte, der har IRT niveauer på samme høje niveau som flere CF børn. Omvendt vil der også være et begrænset antal CF børn, der har IRT niveauer et godt stykke under praktisk operative cut-off niveauer. Mange af disse IRT falsk negative tilfælde er imidlertid ifølge flere rapporter CF børn med mekonium ileus, som derfor er under udredning og har stor sandsynlighed for at få stillet diagnosen ad den vej.

Nærmere identifikation af CF patienterne blandt IRT screenpositive børn varierer globalt fra screeningscenter til screeningscenter. I de fleste vestlige lande undersøges samme neonatale filterpapirblodprøve efterfølgende i en såkaldt second tier for de hyppigste CF mutationer i pågældende befolkning; dette vil også være hensigtsmæssigt i Danmark pga den genetisk homogene CF population. Alternativt gentages IRT bestemmelsen på en ny filterpapirblodprøve taget 3-4 uger senere.

Den endelige udredning efter screeningen foregår ved en mere omfattende genetisk undersøgelse og/eller svedtest.

Screening for CF under danske forhold

Nærværende forslag tager udgangspunkt i en afbalanceret screening og har mange lighedspunkter med screeningsprotokollen i United Kingdom 2011. Der tages sigte på at maksimere diagnosen, således at flest muligt nyfødte med CF kommer hurtigt i behandling, og samtidigt på at begrænse ubehag og bekymring hos raske nyfødte og deres forældre. Forslaget lægger således vægt på, at minimere antallet af kontakter med de nyfødte og minimere antallet af bærere af CF sygdomsgener, der identificeres.

Anførte data og beregninger er baseret på danske undersøgelser og data anført i bilag 1.

Analyse af filterpapir blodprøven taget 48-72 timer efter fødslen

1. First tier:

IRT koncentrationen bestemmes af screeningslaboratoriet med immunofluorescens teknik.

Prøver hvor IRT niveauet ligger over 98 eller 99 percentilen for den neonatale population (50/57 ng/ml) betegnes som IRT screenpositive (1300/650 prøver pr år) og går videre til second tier.

Prøver med IRT niveau under 98 / 99 percentilen rapporteres til fødestedet som screennegative, og der foretages ikke yderligere (63.700/64.350 prøver pr år).

Dette vil ifølge data fra bilag 1 medføre, at ud af 13,4 nyfødte pr år med CF vil henholdsvis 12,9/12,4 være IRT screenpositive og vil gå videre til second tier. 0,5/1,0 nyfødt pr år med CF vil være IRT screennegative og vil ikke gå videre til second tier og vil dermed ikke blive detekteret ved neonatal screening. Herudover vil henholdsvis 91/45,5 bærere og 1196/592 uafficerede gå videre til second tier.

2. Second tier:

IRT screenpositive filterpapirblodprøver undersøges efterfølgende af screeningslaboratoriet for $\Delta F508$ mutationen.

Hvis der ved second tier undersøgelsen detekteres mindst en $\Delta F508$ mutation rapporteres resultatet til Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet (RH) med henblik på en udvidet genetisk analyse for de 50 hyppigste CFTR mutationer i den kaukasiske befolkning (ved 98 og 99 IRT percentil henholdsvis 89 / 50 prøver pr. år). Hvis $\Delta F508$ ikke detekteres, rapporteres prøven til fødestedet som screennegativ (med mindre IRT niveauet >99,9 percentilen, jf fail safe).

Dette vil ifølge data fra bilag 1 medføre, at ud af de 12,9 / 12,4 CF-børn pr. år, der er IRT positive med henholdsvis 98 / 99 percentilen i first tier, vil 9,2 børn have $\Delta F508$ i to alleller og 3,4 / 2,9 børn vil have $\Delta F508$ mutation i et allel og vil dermed gå videre til analyse på RH. Direkte undersøgelse for de 50 hyppigste kaukasiske CFTR mutationer vil påvise mutationen på den anden allel i 96% af de reelle etnisk danske patienter og således føre til endelig afklaring af 3,3 / 2,7 $\Delta F508$ heterozygote børn. 0,3 børn med CF vil ikke have $\Delta F508$ i nogen af allellerne, men vil ved implementeringen af fail safe (se nedenstående) alligevel sikres videre genetiske analyser på RH.

Ud af de 91 / 45,5 IRT positive børn, der er raske bærere af et sygdoms allel vil 76 / 38 børn have $\Delta F508$ i et allel. De resterende 15 / 7,5 børn, der er bærere vil ikke have $\Delta F508$ og vil derfor sammen med 1196 / 592 uafficerede børn rapporteres ud til fødestedet som screennegative for CF.

3. Fail safe:

Da der i mange tilfælde er en proportionalitet mellem IRT niveau og sværhedsgrad af CF, er der i flere screeningsprogrammer indført den bestemmelse, at alle nyfødte, hvis filterpapirblodprøver har et IRT niveau > 99,9 percentilen skal undersøges nærmere for CF, uanset resultatet af second tier genetisk test for hyppigste mutationer. I Danmark vil der være 65 børn årligt med disse høje IRT værdier, hvoraf anslået 47 nyfødte ikke har $\Delta F508$ mutationen og derfor vil blive yderligere udredt. Undersøgelserne kan som i UK være IRT analyse af en ny filterpapirblodprøve taget 3-4 uger senere, hvor IRT niveauet som regel har normaliseret sig hos børn, der ikke har CF. Er IRT niveauet fortsat højt (50 ng/ml) gennemføres videre genetiske analyser på RH.

Alternativet kan være at gå direkte til den udvidede genetiske undersøgelse på den først indsendte filterpapirblodprøve således, at familien ikke behøves kontaktet og skal vente ca. 4 uger på det endelige screeningssvar. Dette vil imidlertid indebære, at der skal udføres yderligere ca. 47 udvidede genetiske undersøgelser årligt.

Fail safe proceduren forventes ifølge data fra kendte CF patienter i Danmark at kunne reducere antallet af falsk negative med 0,3 barn årligt.

Samlet resultat af first og second tier med fail safe:

A. Der henvises ved anvendelse af 98 henholdsvis 99 percentilen 138 / 99 børn årligt til RH for videre genetisk udredning, og af disse vil 12,9 / 12,4 børn have CF. Heraf vil 9,2 CF børn have to $\Delta F508$ mutationer og 3,4 / 2,9 CF børn vil have en $\Delta F508$ mutation samt en mere sjældne mutation. Denne vil i 96% af reelle etnisk danske patienter identificeres ved direkte test for 50 hyppige kaukasiske CFTR mutationer foretaget på RH. 0,3 CF børn vil ikke have $\Delta F508$ mutation, men vil blive henvist på grund af meget høj IRT over 99,9 percentilen (fail safe). Af de resterende 125 / 87 børn vil ca. 78 / 40 være raske bærere af en CF mutation.

B. Henholdsvis 64.909 / 64.948 børn vil blive rapporteret ud til fødestederne som screennegative - altså normale. Heraf vil 0,5 / 1 barn have CF og således være falsk negativ i neonatal screening. De falsk negative vil ifølge data fra kendte CF patienter og fra biobanken være 0,33 barn med alvorlige CF symptomer og lavt IRT niveau (mekonium ileus?) og henholdsvis 0,17 / 0,67 barn med mutationer, der initialt giver milde symptomer.

Dette giver en screenings sensitivitet på henholdsvis 96,3 % / 92,5 %, en prediktiv værdi af et screen positivt resultat på 100 % og prediktiv værdi af et screen negativt resultat på 99,999 % / 99,998 %.

Økonomi:

Årlige omkostninger i screeningslaboratoriet ved anvendelse af 99 IRT percentil cut-off:

IRT bestemmelse af filterpapir blodprøver fra 65.000 nyfødte	2,1 mio kr	
<u>$\Delta F508$ analyse af 650 filterpapir blodprøver</u>	<u>0,4 mio kr</u>	
I alt	2,5 mio kr	39 kr/prøve

Årlige omkostninger i screeningslaboratoriet ved anvendelse af 98 IRT percentil cut-off:

IRT bestemmelse af filterpapir blodprøver fra 65.000	2,1 mio kr	
<u>$\Delta F508$ analyse af 1300 filterpapir blodprøver</u>	<u>0,6 mio kr</u>	
I alt	2,7 mio kr	42 kr/prøve

Årlige omkostninger for den genetiske udredning efter second tier og fail safe ved: 99 IRT percentil cut-off:

Heterozygote F508del,	ca. 52 prøver	
Fail-safe	ca. 47 prøver	
<u>Test for 50 CFTR mutationer inkl. opfølgning</u>		<u>0,3 mio kr</u>

98 IRT percentil cut-off:

Heterozygote F508del,	ca. 89 prøver	
Fail-safe	ca. 47 prøver	
<u>Test for 50 CFTR mutationer inkl. opfølgning</u>		<u>0,4 mio kr</u>

12.maj 2012

David Hougaard
Overlæge dr.med.
Område for Neonatal Screening og Hormoner
Statens Serum Institut

Bilag 1:

Beregningerne af screenings performance er foretaget ud fra følgende undersøgelser og data:

Undersøgelse af friske filterpapirblodprøver og prøver fra den Neonatale Screening Biobank:

- IRT niveauer i prøver opbevaret i biobanken fra år 2000 og senere er de samme som i friske prøver. (Baseret på målinger af tilfældige 453 friske prøver og 435 prøver fra år 2000). IRT niveauerne i prøver fra CF patienter i biobanken kan altså sammenlignes direkte med niveauerne i friske prøver.
- IRT koncentrationen ved 99,9, 99,0 og 98,0 percentilen er henholdsvis 145 ng/ml, 57,3 ng/ml og 50 ng/ml.
- Måling af IRT i 79 filterpapir blodprøver fra CF-børn med kendte CF-mutationer født efter år 2000 viser, at hos 52 børn (65,8 %) ligger koncentrationen over 99,9 percentilen, hos 73 børn (92,4 %) over 99,0 percentilen og hos 76 børn (96,2 %) over 98,0 percentilen. Dette betyder således, at ved IRT cut-off på 99,9, 99,0 og 98,0 percentilen vil henholdsvis 34,2 %, 7,6 % og 3,8 % af CF patienterne ikke detekteres.
- Genotyper hos de 3 CF tilfælde, der har IRT koncentrationer mellem 98 og 99 percentilen er $\Delta F508/3056delGA$, $\Delta F508/L206W$ og $\Delta F508/I148T$.
- Hos 2 CF-børn ($\Delta F508/\Delta F508$ og $\Delta F508/394delTT$) ligger IRT niveauerne langt under 98 % percentilen (hhv 25,9 ng/ml og 35,4 ng/ml), og disse børn vil ikke kunne fanges ved IRT screeningen. Et barn med CF ($\Delta F508/R117H$) har IRT niveau umiddelbart under 98 % percentilen (49,2 ng/ml).
- 74 % CF-børn (54 af 73) med kendte CF-mutationer og med IRT koncentration >99 percentilen har 2 $\Delta F508$ mutationer.
- 23,3 % CF-børn (17 af 73) med kendte CF-mutationer og med IRT koncentration >99 percentilen har 1 $\Delta F508$ mutation.
- 2,7 % CF-børn (2 af 73) med kendte CF-mutationer og med IRT koncentration >99 percentilen har ikke en $\Delta F508$ mutation.
- 71,1 % CF-børn (54 af 76) med kendte CF-mutationer og med IRT koncentration >98 percentilen har 2 $\Delta F508$ mutationer.
- 26,3 % CF-børn (20 af 76) med kendte CF-mutationer og med IRT koncentration >98 percentilen har 1 $\Delta F508$ mutation.
- 2,6 % CF-børn (2 af 76) med kendte CF-mutationer og med IRT koncentration >98 percentilen har ikke en $\Delta F508$ mutation.
- 2 CF børn af 79 har ingen af de 4 hyppigste mutationer (IRT niveau langt over 99,9 percentilen)

Antal screenede nyfødte pr år i Danmark er 65.000 (Ref SSI 2010).

Stort set alle CF-patienter i Danmark siden år 2000 er udredt genetisk af Klinisk Genetisk Afdeling, RH, i alt 134 svarende til 13,4 pr år (Ref RH). Svarer til CF incidens 1:4850.

Af de 134 CF-patienter har 129 (96,3 %) mindst en af de 4 hyppigste mutationer i Danmark: $\Delta F508$, $394delTT$, $3659delC$ og $N1303K$ (Ref RH).

Allel frekvens hos CF patienter i Danmark af $\Delta F508$ 84 % (Ref RH)

96% af etnisk danske CF patienter vil blive fuldt genetisk udredt ved us. for 50 relativt hyppige kaukasiske CF mutationer. Af de resterende patienter har halvdelen en relativt mild anden mutation (diagnose alder 7-12 år). Ikke-kauasiere har ofte private mutationer i homozygot form og udgør ca. 3% af konfirmerede patienter. (Ref RH)

Bærer frekvens af CF-gener i Danmark er 3 % (Ref RH).

Bærer frekvens af CF-gener i Danmark hos børn med IRT over 99 % percentilen i neonatal filterpapir blodprøve anslås til 7 % (Ref SSI)