

POUČENÍ O GENETICKÉM LABORATORNÍM VYŠETŘENÍ

1. Účel navrhovaného genetického testu TRISOMY testu a jeho variant:

TRISOMY test (TT) a jeho varianty (tabulky 1 a 2) jsou neinvazivní prenatalní screeningové testy z kategorie NIPT (Non Invasive Prenatal Testing), které se provádí z krve těhotné ženy poučené v souladu se zákonem a identifikované na straně 1 této Žadanky („těhotná“) k určení rizika úplné „trizomie“ některého z chromozómů 21,18 nebo 13. Podle druhu testu mohou dále zjišťovat chromozomální pohlavi plodu, poruchy počtu pohlavních a ostatních chromozómů, riziko vbráňaných mikrodeleci (chybí část některého chromozómu) nebo vysoké riziko přítomnosti mikroskopických a submikroskopických chromozomálních aberci na úrovni celého genomu (viz Tab. 1). Vyčít vyšetřovaných poruch pohlavních chromozómů a mikrodelečních syndromů viz. Tab.2.

Tyto NIPT testy provádí společnost SPADIA LAB, a.s., se sídlem Máchova 619/30, 741 01 Nový Jičín (Laboratoř) a ve spolupráci se společností Medirex,a.s., se sídlem Holubovy 35, 902 01 Pezínok, SR (dále jen Medirex, a.s.), TT a jeho varianty je určený na detekci mikroskopických a submikroskopických chromozomálních aberci – viz. tabulka 1

Tabulka 1: Přehled Trisomy testů s vyšetřovanými chromozomálními poruchami

	Trisomy test (TT)	Trisomy test XY (TT XY)	Trisomy test + (TT+)	Trisomy test Complete (TTC)
Downův syndrom (trizomie 21)	+	+	+	+
Edwardsův syndrom (trizomie 18)	+	+	+	+
Patauův syndrom (trizomie 13)	+	+	+	+
Poruchy pohlavních chromozómů ¹	jen urč.pohlaví	+	+	+
Mikrodeleční syndromy ²	-	-	+	+
Všechny chromozomální poruchy	-	-	-	+

Tabulka 2: Přehled typů vyšetřovaných chromozomálních poruch

Poruchy pohlavních chromozómů ¹	Turnerův syndrom, Klinefelterův syndrom, XYY syndrom, XXX syndrom
Mikrodeleční syndromy ²	DiGeorgeův, Prader-Williho a Angelmanův, Cri-du-chat, delece 1p36, Wolfi-Hirschhornův syndrom

Poskytnutí informace o pohlaví plodu se řídí platnou legislativou. Vyšetřuje se celková cirkulující DNA izolovaná z plazmy těhotné, která obsahuje mateřskou DNA i tzv. volnou fetální DNA (cell free fetal DNA, cfDNA). Podíl cfDNA se nazývá fetální frakce. Volná fetální DNA pochází především z placenty a ve velké míře reprezentuje celkovou DNA plodu. Analýze se metodou celenomového sekvenování s nízkým pokrytím (low coverage whole genome sequencing). Získané údaje se vyhodnotí bioinformatickým algoritmem, který umožňuje detekci kvantitativních změn na mikroskopické a submikroskopické chromozomální úrovni. Detekční parametry, rozlišovací schopnost a limítace testů jsou uvedeny v bodech 5 (Tabulka 3), 6 a 7.

2. Preanalytické informace:

a. NIPT test vyžaduje odběr malého množství (10 ml) krve získaného ze žíly těhotné odběrovou soupravou. Odběr je možno provést nejdříve po ukončení 11. týdnu těhotenství. Výsledek vyšetření prvního vzorku může být nehodnotitelný, a proto je v méně než 5 % potřeba odběr krve opakovat. Důvodem může být nízká fetální frakce nebo z technického pohledu nejednoznačný výsledek. Pro vzorky odebrané před ukončením 12. týdne těhotenství, u těhotných léčených nízkomolekulární hepariny (LMWH) a u těhotných s BMI nad 35,0 je pravděpodobnost neinformativního výsledku vyšší. V případě těhotných léčených LMWH se doporučuje provést odběr krve těsně před plánovaným podáním další dávky LMWH. Opakování odběru se může vyžadovat i při nedodržení preanalytických podmínek NIPT.

b. Vzorky krve se odbírají do zkumavek Cell-Free DNA BCT® (Streck) nebo alternativních zkumavek podle doporučení Laboratoře. Vzorky krve, plazmy nebo DNA se odešlou do Laboratoře, která zabezpečí laboratorní vyšetření a vydá interpretovaný výsledek TT nebo jeho varianty.

c. Laboratoř zpracuje jen vzorky doručené spolu se správně vyplněnou Žadankou, s podpisem a razítkem indikujícího lékaře a informovaným souhlasem podepsaným těhotnou.

d. NIPT testy je možno použít i u těhotenství s použitím technik asistované reprodukce (ART) včetně těhotenství s darovanými gametami.

e. TT XY, TT+ a TTC není možno použít u vícečetných těhotenství.

3. Rizika neočekávaných důsledků NIPT testů pro těhotnou a příbuzné osoby:

a. Riziko spojené s odběrem vzorku krve je minimální, v místě vpichu jehly může vzniknout modřina nebo výjimečně zánět.

b. NIPT se označuje jako neinvazivní, protože na získání vzorku na laboratorní vyšetření není potřebný vpich do dělohy. Nehrozí proto riziko potratu, krvácení, úniku plodové vody, nitroděložní infekce. Někdy může být i jiné komplikace invazivního odběru vzorku plodu.

c. Výsledek NIPT může znamenat pro těhotnou, partnera, geneticky příbuzné a sociálně blízké osoby vážné zdravotní a etické výzvy, včetně možnosti ukončit těhotenství ze zdravotní indikace v souladu s platnou legislativou.

4. TT, TT XY, TT+ nebo TTC mají tyto alternativy:

a. Neinvazivní screeningové testování (NIPT), které nabízí jiné laboratorní společnosti.

b. Genetické diagnostické laboratorní vyšetření zaměřené na detekci mikroskopických a / nebo submikroskopických chromozomálních aberci ze vzorku získaného invazivním odběrem buď biopsií choriových klků (CVS) nebo ze vzorku plodové vody získaného amniocentézou (AMC).

c. Jiné screeningové vyšetření (např. kombinovaný test I. trimestru apod.)

5. Výstup NIPT: Za předpokladu, že vzorek bylo možno laboratorně zpracovat v souladu se správnou laboratorní praxí a bylo možno získat výsledek, který na úrovni rozlišovací schopnosti použité metody odpovídá na screeningovou otázku. Laboratoř vydá výsledek NIPT (i) obvykle do 8 pracovních dnů (TT nebo TT XY) nebo 11 pracovních dnů (TT+, TTC), nebo (ii) asi u 10 % vzorků do 13 pracovních dnů z důvodu biologické variability.

Lhůta se počítá ode dne doručení vzorku do Laboratoře nebo následujícího dne po identifikování platby za NIPT (podle toho, co nastane později).

a. Výsledkem NIPT je informace o pozitivním, resp. negativním výsledku analýzy s ohledem na detekci vysokého rizika mikroskopických a submikroskopických chromozomálních aberci na úrovni celého genomu. Rozlišovací schopnost TTC testu s ohledem na velikost detekované aberci je závislá na množství fetální frakce zjištěné v analyzovaném vzorku (tabulka 3).

b. Negativní výsledek TT, TT XY, TT+ nebo TTC znamená, že se zjistilo:

i. nízké riziko, menší než 1:10000, trizomie/monozomie sledovaného celého chromozómu. Vyhodnocuje se zvýšení/snížení výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu.

ii. TT+: nízké riziko, menší než 1:10000, duplikace/delece částí sledovaných chromozómu/chromozómů. Vyhodnocuje se zvýšení/snížení výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu.

iii. TTC: nízké riziko, menší než 1:1000, duplikace/delece částí chromozómu/chromozómů. Vyhodnocuje se zvýšení/snížený výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu.

c. Pozitivní výsledek NIPT znamená, že se zjistí zvýšení/snížení výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu, které náleží celým chromozómům a/nebo jejich částí. Pokud je fetální frakce > 5%, tak TTC test detekuje mikroskopické chromozomální aneuploidie se senzitivitou > 99% a submikroskopické chromozomální aberci se senzitivitou > 80 %, v závislosti na množství fetální frakce a velikosti aberci, jak je uvedeno v Tabulce 3.

fetální frakce	Velikost aberci	Tabulka 3:
5% - 6%	>8 megabází	Detekční parametry u submikroskopických chromozomálních aberci v závislosti na množství fetální frakce a velikosti aberci.
6% - 7%	>7 megabází	Pro každou dvojici hodnot detekčních parametrů je senzitivita> 80 %
7% - 8%	>6 megabází	- proto např. pro detekci aberci o velikosti nad 3 megabáze musí být fetální frakce nad 10% (na úrovni sensitivity nad 80 %).
8% - 9%	>5 megabází	
9% - 10%	>4 megabází	
>10%	>3 megabází	

V případě pozitivního výsledku TTC testu Laboratoř doporučuje provést konfirmační analýzu vzorku plodu získaného odběrem plodové vody. Laboratoř poskytuje testování tohoto vzorku s využitím GenomeScreen Prenatal testu jako standardní součást TTC testu. V případě konfirmační analýzy mimo Laboratoř prosíme o poskytnutí informace o použité laboratorní metodě (dostatečně rozlišovací schopnost testu pro potvrzení nálezu z TTC) a výsledku konfirmační analýzy Laboratoři (viz poskytnutí souhlasu uvedené v závěru Informovaného souhlasu).

d. Vedlejší nálezy (cave additional findings):

V případě TT XY a TT+ znamená, že Laboratoř zjistila jinou, cíleně nehledanou významnou změnu genetické informace, která není součástí vyšetření (neočekávaný nálezy).

Za významnou změnu genetické informace se v tomto případě považuje:

- trizomie nebo monozomie kteréhokoli z chromozómů;
- mozaikové formy trizomií nebo monozomií, které uvádíme jen při podílu patologické linie nad 50% a vždy ve vztahu k podílu fetální frakce;
- parciální trizomie nebo parciální monozomie kteréhokoli z chromozómů, když je nadpočetný nebo chybějící úsek větší než 10 milionů bází;
- mozaikové formy parciálních trizomií nebo monozomií, které uvádíme při podílu patologické linie nad 50 % a vždy ve vztahu k podílu fetální frakce;
- další mikrodelece a mikroduplikace, které jsou metodou určené identifikovány

V případě TTC znamená, že Laboratoř zjistila vysoké riziko významné změny genetické informace, která však nesplňuje detekční parametry (5.c., Tab.3). Za významnou změnu genetické informace se pro tento účel považuje:

i. mozaiková forma mikroskopických a / nebo submikroskopických chromozomálních aberci.

ii. detekovaná submikroskopická chromozomální aberce, která nesplňuje pro TTC test uvedené detekční parametry, ale je podle vyhodnocovacích bioinformatických algoritmů verifikovatelná a zároveň biologicky významná. Laboratoř může tato zjištění oznámit ve výsledku TTC testu pouze za výjimečných okolností, a to na základě písemného souhlasu těhotné s postupem uvedeným v tomto POUČENÍ, a pokud je dostupná interpretace výsledku TTC testu lékařem se specializací v lékařské genetice.

e. **Nehodnotitelný výsledek NIPT** znamená, že daný vzorek nebylo možno laboratorně zpracovat v souladu se správnou laboratorní praxí (např. došlo k selhání laboratorní metody, ve vzorku byl zjištěn nízký podíl DNA plodu).

V takovém případě Laboratoř:

i. bezplatně opakuje NIPT ze stejného vzorku (týká se asi 5% vzorků) v případech, kdy je výsledek z technického pohledu nejednoznačný.

ii. si Laboratoř vyhrazuje právo na ukončení Testu - pokud ve vzorku nebude stanovena fetální frakce >2,5 %. Pokud je Test ukončen Laboratoři, má pacientka nárok na vrácení celé částky za objednaný test, s výjimkou těhotných, které jsou léčeny injekcemi nízkomolekulární hepariny [LMWH], nebo mají BMI 35,0 a víc.

iii. bezplatně nabídne opakování NIPT z nového vzorku (týká se asi 5% vzorků). Nový odběr se doporučuje provést co nejdříve v případě nejednoznačného výsledku analýzy nebo s časovým odstupem nejméně 14 dnů od prvního odběru v případech, ve kterých byla po první analýze stanovena ve vzorku nízká fetální frakce (< 5%). V takových případech se termín sdělení konečného výsledku NIPT přiměřeně prodlouží. Pokud se nepodaří získat hodnotitelný výsledek NIPT opakovaným vyšetřením prvního vzorku ani částečně hodnotitelný výsledek (viz inf. souhlas) vyšetřením druhého vzorku, a to v důsledku selhání testu z technických příčin, Laboratoř těhotné vrátí celou zaplacenou sumu (s výjimkou těhotných, které jsou léčeny injekcemi LMWH, nebo těhotných s BMI ≥ 35,0, případně pokud nebyly dodrženy podmínky uvedené v bodě 8).

Pokud se nepodaří získat hodnotitelný výsledek ani po novém odběru vzorku krve od těhotné, další odběr nemá význam provádět a Laboratoř doporučuje absolvovat alternativní diagnostický test z invazivně získaného vzorku (viz bod 4 b.).

f. Určení pravděpodobného pohlaví plodu:

NIPT zjišťuje pravděpodobné pohlaví plodu (mužské anebo ženské). Laboratoř ho vydá ve výsledku NIPT na základě vyznačené volby těhotné v Žádance v souladu se zákonem č. 373/2011 Sb., o specifických zdravotních službách.

6. Přesnost a prediktivní schopnost NIPT:

a. Přesnost NIPT je číselně vyjádření pravděpodobnosti, že výsledek testu (negativní nebo pozitivní) je stanoven správně.

i. Pravděpodobnost správného výsledku NIPT pro chromozomální aneuploidie, např. pro trizomie 21, 18 a 13 a aneuploidie pohlavních chromozómů X a Y je velmi vysoká (>99,9%), v souladu s výsledky rozsáhlé metanalýzy publikované v roce 2017 sumarizující výsledky studia z celého světa (Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol. 2017 Sep; 50(3):302-314).

ii. Pravděpodobnost správného výsledku TT+ a TTC testů pro submikroskopické chromozomální aberci není možno úplně exaktně stanovit z důvodu velikosti a poziční různorodosti možných nálezu a variability fetálních frakcí stanovených v analyzovaných vzorcích.

b. NIPT má také velkou prediktivní schopnost, která je nejméně 10x větší než prediktivní schopnost standardně používaných biochemických nebo kombinovaných prenatalních screeningových testů v případě nejčastěji detekovaných chromozomálních aneuploidií. Například pro trizomie 21, 18 a 13 je prediktivní schopnost testu hodnocena pomocí pozitivní prediktivní hodnoty vyšší než 95% a negativní prediktivní hodnota převyšuje 99,9%. V případě submikroskopických chromozomálních aberci a na základě výsledků rozsáhlé retrospektivní studie realizované na více než 9500 vzorcích prostřednictvím TRISOMY testu byla v případě pozitivních nálezu detekovaných prostřednictvím detekčních parametrů TRISOMY testu Complete pozitivní prediktivní hodnota > 60% (Sekelská M., Izsáková A., Kubošová K., a kol., Detection and validation of subchromosomal aberrations detected as additional findings in routine noninvasive prenatal testing for common trisomies, Newslab, 2019; roč. 10 (2): 69–71). Negativní prediktivní hodnotu detekce chromozomálních aberci na úrovni celého genomu není možno stanovit z důvodu výše zmíněné rozsáhlé heterogenity možných nálezu a variability fetálních frakcí.

7. Upozornění na limity NIPT testů:

a. NIPT je považován za vysoce efektivní screeningový test, ne však diagnostický. Pozitivní výsledek NIPT jako neinvazivního screeningového testu se proto musí ověřit diagnostickým genetickým laboratorním vyšetřením vzorku plodu získaného invazivně (AMC).

b. Navzdory vysoké přesnosti NIPT je možné, že v ojedinělých případech může být vzorek vyhodnocen jako falešně pozitivní, nebo vzácněji jako falešně negativní, což může být v obou případech způsobeno neznámými nebo nepředvídatelnými biologickými vlastnostmi vzorku (např. syndrom mizejícího dvojčete, placentární mozaicismus, mateřský mozaicismus) nebo technologiickými limity NIPT.

c. NIPT neumožňuje sdělit výsledek v případě, pokud je fetální frakce <5 %. V takových případech je Test nehodnotitelný a požaduje se opakovaný odběr vzorku s odstupem nejméně 14 dnů od prvního odběru. Výjimkou jsou případy, kdy fetální frakce není nad 2,5 % - odběr se neopakuje, test se ukončuje (viz bod 5e ii).

d. Výsledky TTC testu zaměřené na detekci submikroskopických chromozomálních aberci (delece a duplikace) umožňují se senzitivitou > 80 % identifikovat aberce s velikostí determinovanou fetální frakcí stanovenou ve vzorku po její analýze, podrobnější informace je uvedena v Tab.3.

e. Jiné, cíleně nehledané změny genetické informace, se blíže neanalyzují a ve výsledku NIPT testů se neuvádějí. Pokud jsou ve výjimečných případech ve výsledku uvedeny, tak jsou označeny jako Vedlejší nálezy (additional findings) a vyžadují interpretaci ve zvláštním režimu (viz bod 5 d. tohoto POUČENÍ)

f. Použití NIPT testy nejsou primárně určeny pro záchyt:

i. triploidií a/nebo tetraploidií (vícenásobný počet všech chromozómů);

ii. vyvážených translokací chromozómů a/nebo inverzí (výměna úseků genetického materiálu mezi chromozomy a v rámci chromozómu bez toho, že by část genetické informace ubyla nebo přibývala);

iii. mozaikových forem (plod obsahuje zároveň buňky s normálními a patologickými genetickými znaky);

iv. chimerizmu (plod je složen z tkání původně 2 jedinců);

v. jiných geneticky determinovaných patologií plodu, které z technického pohledu tento typ testu nedokáže odhalit (např. monogenní dědičné onemocnění).

8. Laboratoř vylučuje jakoukoli zodpovědnost za chybný výsledek NIPT testů nebo jejich nesprávnou interpretaci, jestliže:

a. se odběr vzorku provedl před ukončením 11. týdne gravidity;

b. se nedodržely preanalytické podmínky;

c. nebylo možno dosáhnout správný výsledek z důvodu nesprávných, neúplných, nebo nejednoznačných anamnestických údajů, např. o délce těhotenství, vícečetné graviditě a/nebo o syndromu mizejícího dvojčete, o zjištěné genetické patologii některého z rodičů plodu, o léčbě LMWH;

d. výsledek ovlivnila přítomnost jiné cizorodé DNA (jiné než DNA plodu) v organismu matky, např. transfuze dárčové krve od alogenní transplantace orgánů nebo kostní dřeně, terapie cizorodými kmenovými buňkami, nádorové onemocnění;

e. plod má poruchu, na jejíž detekci není NIPT určený (viz bod 7 f. tohoto POUČENÍ).

9. Laboratoř se zavazuje, že:

a. při nehodnotitelném výsledku NIPT se pokusí získat hodnotitelný výsledek;

i. opakovaním testu ze stejného vzorku (viz bod 5 e. i. tohoto POUČENÍ);

ii. opakováním testu z nového vzorku (viz bod 5 e. ii. tohoto POUČENÍ), s výjimkou dle bodu 5 e. ii. tohoto poučení;

b. nespolečebaná část vzorku bude zlikvidována/použita v souladu s rozhodnutím těhotné ženy uvedeném v informovaném souhlasu (který je součástí TT Žadanky);

c. po ukončení testu bude zbytek původního a/nebo zpracovaného vzorku krve uskladněn v souladu s příslušnými právními předpisy, aby bylo možno provést další genetické laboratorní vyšetření v zájmu těhotné nebo jejího příbuzenstva. Každému dalšímu genetickému laboratornímu vyšetření bude předcházet informovaný souhlas dotčených osob.

10. Informace o platbě

NIPT se provádí výhradně v režimu samoplátce podle aktuálně platného ceníku uveřejněného na www.trisomytest.cz. Cenu za NIPT je možno Laboratoři uhradit:

a. prostřednictvím zdravotnického zařízení (lékaře) na místě při odběru krve pro NIPT, a pokud lékař potvrdí příjem platby na 1. straně Žadanky, ze strany těhotné není nutná žádná další aktivita;

b. po odběru krve pro NIPT bankovním převodem nebo vkladem na účet společnosti SPADIA LAB, a.s.

Platební údaje: do zprávy pro příjemce zadejte „Trisomy test“ a Vaše příjmení; číslo účtu: 7074942/0800;

IBAN: CZ85 0800 0000 0000 0707 4942; SWIFT (BIC): GIBACZPP; název banky: Česká spořitelna, a.s.

Jako variabilní symbol použijte posledních 7 čísel kódu žadanky – naleznete je v pravém horním rohu žadanky (pod čárovým kódem).

Příklad: V případě, že na žádance uveden kód AC3310070, jako VS použijte číslo 3310070.

Následně bude těhotné vystavena a odeslána faktura na zadanou emailovou adresu těhotné, příp. poštou na adresu uvedenou na první straně žadanky.

Při platbě bankovním převodem je potřeba uvést správné číslo účtu (IBAN) Laboratoře a variabilní symbol (VS). Platby poukázané bez VS nebo s nesprávným VS nemohou být správně identifikovány a přičítány k příslušnému vzorku.

Upozornění: Laboratorní vzorky určené na vyšetření, za které nebývá zrealizována úhrada, budou po uplynutí 14 dní bez náhrady zlikvidovány.

Pomoc při platbě poskytuje klientské centrum Laboratoře na tel. č. 739 680 722 nebo emailu trisomytest@spadia.cz.