# POUČENÍ O GENETICKÉM LABORATORNÍM VYŠETŘENÍ

1. **Účel genetického laboratorního vyšetření TRISOMY test Complete:**
   **TRISOMY test Complete (TTC test) je neinvazivní prenatální screeningový test z kategorie NIPT** (**N**on **I**nvasive **P**renatal **T**esting), který se provádí z krve těhotné ženy poučené v souladu se zákonem a identifikované na straně 1 této Žádanky („**těhotná**") na zjištění vysokého rizika přítomnosti mikroskopických a submikroskopických chromozomálních aberací na úrovni celého genomu a stanovení pravděpodobného pohlaví plodu. TTC test provádí společnost SPADIA LAB, a.s., se sídlem Rožnovská 241, 744 01 Frenštát pod Radhoštěm (Laboratoř) v její laboratoři na adrese Divadelní 2174/27, 741 01 Nový Jičín a ve spolupráci se společností **Medirex,a.s.**, se sídlem Holubyho 35, 902 01 Pezinok, SR. (dále jen Medirex, a.s.)
   TTC test je určený na detekci mikroskopických a submikroskopických chromozomálních aberací. Mikroskopická chromozomální aberace je změna četnosti kteréhokoliv chromozomu, včetně pohlavních chromozomů (gonozomů), typicky jde o trizomii nebo monozomii celého chromozomu. Submikroskopická chromozomální změna znamená nadbytek nebo úbytek pouze části chromozomu. Typicky jde o duplikaci nebo deleci části chromozomu.
   Výraz „trizomie" znamená, že v jádrech buněk plodu se místo 2 obvyklých kopií nachází některý z vyšetřovaných chromozomů ve 3 kopiích, tedy v jádrech buněk se nachází 47 chromozomů (ne 46 = [2x23], jako je tomu za normálních okolností). Například, pokud se ve 3 kopiích vyskytuje chromozom 21, jde o trizomii 21, což odpovídá Downovu syndromu.
   Výraz „monozomie" znamená, že v jádrech buněk plodu se místo 2 obvyklých kopií nachází některý z vyšetřovaných chromozomů pouze v 1 kopii, tedy v jádrech buněk se nachází 45 chromozomů (ne 46 = [2x23], jako je tomu za normálních okolností). Například, pokud se v 1 kopii vyskytuje chromozom X, jde o monozomii X, což odpovídá Turnerovu syndromu.
   Výraz „delece" znamená, že v jádrech buněk plodu chybí na některém z vyšetřovaných chromozomů uvedená chromozomová oblast (je deletována). Například, pokud je delece na dlouhém raménku chromozomu 22 v oblasti 11.2, jde o mikrodeleci 22q11.2, což často odpovídá DiGeorgeovu syndromu (obecně CATCH 22 syndromu).
   Výraz „duplikace" znamená, že v jádrech buněk plodu je část některého z vyšetřovaných chromozomů zdvojená (je duplikovaná). Například, pokud je duplikace na krátkém raménku chromozomu 17 v oblasti 11.2, jde o mikroduplikaci 17p11.2, což odpovídá Potocki-Lupskiho syndromu.
   Výsledek TTC testu může v souladu s požadavkem těhotné obsahovat i informace o pravděpodobném pohlaví plodu. Pohlaví plodu se stanovuje na základě přítomnosti a kvantity DNA úseků odpovídajícím pohlavním chromozomům X a Y. 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, cffDNA). Podíl cffDNA se nazývá fetální frakce. Volná fetální DNA pochází především z placenty a ve velké míře reprezentuje celkovou DNA plodu. Analyzuje se metodou celogenomového 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 limitace testu jsou uvedeny v bodech 5 (Tabulka 1), 6 a 7.
2. **Preanalytické informace:**
   a. TTC test vyžaduje odběr malého množství (10 ml) krve získaného ze žíly těhotné odběrovou soupravou. Odběr je možno provést nejdříve po ukončeném 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 ukončeným 12. týdnem těhotenství, u těhotných léčených nízkomolekulárními heparinyy (LMWH) a u těhotných s hmotností> 90 kg, 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 TTC testu.
   b. Vzorky krve se odebírají do zkumavek Cell-Free DNA BCT® (Streck) nebo alternativních zkumavek podle doporučení Laboratoře. Vzorky krve, plazmy anebo DNA se odešlou do Laboratoře, která zabezpečí laboratorní vyšetření a vydá interpretovaný výsledek TTC testu.
   c. Laboratoř zpracuje jen vzorky doručené spolu se správně vyplněnou Žádankou, s podpisem a razítkem indikujícího lékaře a nformovaným souhlasem podepsaným těhotnou.
   d. TTC test je možno použít i u těhotenství s použitím technik asistované reprodukce (ART) včetně těhotenství s darovanými gametami.
   e. TTC test není možno použít u vícečetných těhotenství.
3. **Rizika neočekávaných důsledků TTC testu 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. TTC test 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, nebo jiné komplikace invazivního odběru vzorku plodu.
   c. Výsledek TTC testu 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. **TTC test má tyto alternativy:**
   a. Jiné dostupné NIPT vyšetření – například TRISOMY test, TRISOMY test XY, TRISOMY test + dostupné prostřednictvím společnosti SPADIA LAB, a.s..
   b. Genetické diagnostické laboratorní vyšetření zaměřené na detekci mikroskopických a / nebo submikroskopických chromozomálních aberací ze vzorku získaným invazivním odběrem tzv. biopsií choriových klků („CVS") nebo ze vzorku plodové vody získané amniocentézou („AMC").
   c. Jiné screeningové vyšetření (např. kombinovaný test I. trimestru a pod.)
5. **Výstup TTC testu:**
   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 TTC testu obvykle do 11 pracovních dnů. Lhůta 11 pracovních dnů se počítá ode dne následujícího po doručení vzorku do Laboratoře nebo následujícího dne po identifikování platby za TTC test (podle toho co nastane později).
   a. **Výsledkem TTC testu je informace o pozitivním, resp. negativním výsledku analýzy s ohledem na** detekci vysokého rizika mikroskopických a submikroskopických chromozomálních aberací na úrovni celého genomu. Rozlišovací schopnost TTC testu s ohledem na velikost detekované aberace je závislá na množství fetální frakce zjištěné v analyzovaném vzorku (uvedeno dále).
   b. **Negativní výsledek TTC testu znamená, že se zjistilo:**
      i. nízké riziko, menší než 1:10000, trizomie/monozomie kteréhokoliv celého chromozomu. Vyhodnocuje se zvýšený/snížený výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu.
      ii. nízké riziko, menší než 1:1000, duplikace/delece částí chromozomu/chromozomů. Vyhodnocuje se zvýšený/snížený výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu.
   c. **Pozitivní výsledek TTC testu znamená, že se zjistil** zvýšený/snížený výskyt molekul DNA předpokládaného fetálního původu, které náleží celým chromozomům a/nebo jejich části. Pokud je fetální frakce > 5%, tak TTC test detekuje mikroskopické chromozomální aneuploidie se senzitivitou > 99% a submikroskopické chromozomální aberace se senzitivitou>80%, v závislosti na množství fetální frakce a velikosti aberace, jak je uvedeno v Tabulce 1.

   ***Tabulka 1**: Detekční parametry u submikroskopických chromozomálních aberací v závislosti na množství fetální frakce a velikosti aberace. Pro každou dvojici hodnot detekčních parametrů je senzitivita > 80%.*

| fetální frakce | Velikost aberace |
|---|---|
| 5% - 6% | >8 megabází |
| 6% - 7% | >7 megabází |
| 7% - 8% | >6 megabází |
| 8% - 9% | >5 megabází |
| 9% - 10% | >4 megabází |
| >10% | >3 megabází |

   Z údajů v tabulce vyplývá: abychom mohli deklarovat pozitivní výsledek TTC testu, u kterého jsme aberaci velkou 3 megabáze detekovali na úrovni >80% senzitivity, musí být současně množství fetální frakce>10%. Se stejnou senzitivitou > 80% je možné při menším množství fetální frakce potvrdit větší submikroskopickou chromozomální aberaci. V případě pozitivního výsledku TTC testu Laboratoř doporučuje provést konfirmační analýzu vzorku plodu získaného odběrem plodové vody. Z důvodu dodržení stejných technických parametrů screeningového a následného konfirmačního testu Laboratoř poskytuje testování tohoto vzorku s využitím GenomeScreen Prenatal testu jako standardní součást TTC testu. Pokud se konzultující lékař rozhodne poslat vzorek plodové vody (získané AMC) na konfirmační analýzu mimo Laboratoř nebo se rozhodne pro konfirmační analýzu z jiného biologického materiálu (získaného odběrem choriových klků - CVS), je důležité, aby se použil test s rozlišovací schopností dostatečnou pro potvrzení nebo vyloučení detekované mikroskopické a/nebo submikroskopické chromozomální aberace. V případě konfirmační analýzy mimo Laboratoř prosíme o poskytnutí informace o použité laboratorní metodě a výsledku konfirmační analýzy Laboratoři (viz poskytnutí souhlasu uvedené v závěru Informovaného souhlasu).
   d. **Vedlejší nálezy (additional findings):**
   V případě TTC testu znamená, že Laboratoř zjistila vysoké riziko významné změny genetické informace, která však nesplňuje detekční parametry (5.c., Tab. 1).
   Za významnou změnu genetické informace se pro tento účel považuje:
   i. mozaiková forma mikroskopických a / nebo submikroskopických chromozomálních aberací
   ii. detekovaná submikroskopická chromozomální aberace, 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 TTC testu** znamená, že dodaný 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, těhotná se léčí LMWH, hmotnost těhotné je >90 kg), nebo výsledek TTC testu neodpovídá na screeningovou otázku.
   V takovém případě Laboratoř:
   i. bezplatně opakuje TTC test ze stejného vzorku (týká se asi 5 % vzorků), v případech, kdy je výsledek z technického pohledu nejednoznačný
   ii. bezplatně nabídne opakování TTC testu 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 prvotní analýze stanovena ve vzorku nízká fetální frakce (< 5%). V takových případech se termín sdělení konečného výsledku TTC testu přiměřeně prodlouží.
   Pokud se nepodaří získat hodnotitelný výsledek TTC testu opakovaným vyšetřením prvního vzorku ani 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 hmotností >90 kg, případně pokud nebyly dodrženy podmínky uvedené v bodě 8).
   Pokud se nepodaří získat hodnotitelný výsledek ani po opakovaném odběru vzorku krve od těhotné, Laboratoř doporučuje absolvovat alternativní diagnostický test z invazivně získaného vzorku (viz bod 4 b.).
   f. **Určení pravděpodobného pohlaví plodu:**
   TTC test zjišťuje pravděpodobné pohlaví plodu (mužské anebo ženské). Laboratoř ho vydá ve výsledku TTC testu na základě vyznačené volby těhotné v Žádance v souladu se zákonem č. 373/2011 Sb., o specifických zdravotních službách.
6. **Přesnost a prediktivní schopnost TTC testu:**
   a. Přesnost TTC testu je číselně vyjádření pravděpodobnosti, že výsledek testu (negativní nebo pozitivní) je stanoven správně.
      i. Pravděpodobnost správného výsledku TTC testu pro chromozomální aneuploidie, např. pro trizomie 21, 18 a 13 a aneuploidie pohlavních chromozomů X a Y je velmi vysoká (>99,9%), v souladu s výsledky rozsáhlé metananalýzy publikované v roce 2017 sumarizující výsledky studií 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 TTC testu pro submikroskopické chromozomální aberace není možno úplně exaktně stanovit z důvodu velikostní a poziční různorodosti možných nálezů a variability fetálních frakcí stanovených v analyzovaných vzorcích.
   b. TTC test má také velkou prediktivní schopnost, která je nejméně 10x větší než prediktivní schopnost standardně používaných biochemických nebo kombinovaných prenatálních screeningových testů v případě nejčastěji detekovaných chromozomálních aneuploidií. Například pro trizomie 21, 18 a 13 je prediktivní schopnost testu hodnocená pomocí pozitivní prediktivní hodnoty vyšší než 95% a negativní prediktivní hodnota převyšuje 99,9%. V případě submikroskopických chromozomálních aberací a na základě výsledků rozsáhlé retrospektivní studie realizované na více než 9500 vzorcích prostřednictvím TRISOMY testu byla v případě pozitivních nálezů 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 aberací na úrovni celého genomu není možno stanovit z důvodu výše zmíněné rozsáhlé heterogenity možných nálezů a variability fetálních frakcí.
7. **Upozornění na limitace TTC testu:**
   a. TTC test je považovaný za vysoce efektivní screeningový test, ne však diagnostický. **Pozitivní výsledek TTC** testu jako neinvazivního screeningového testu **se proto musí ověřit diagnostickým genetickým laboratorním vyšetřením vzorku plodu získaného invazivně (CVS, AMC).**
   b. Navzdory vysoké přesnosti TTC testu 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 mozaicizmus, mateřský mozaicismus) nebo technologickými limity TTC testu.
   c. TTC test neumožňuje sdělit výsledek v případě, pokud je fetální frakce< 5%. V takých případech je Test nehodnotitelný a požaduje se opakovaný odběr vzorku s odstupem nejméně 14 dnů od prvního odběru.
   d. Výsledky TTC testu zaměřené na detekci submikroskopických chromozomálních aberací (delecí a duplikací) umožňují se senzitivitou >80% identifikovat aberace s velikostí determinovanou fetální frakcí stanovenou ve vzorku po její analýze, podrobnější informace je uvedena v Tab. 1.
   e. Jiné, cíleně nehledané změny genetické informace, se blíže neanalyzují a ve výsledku TTC testu se neuvádějí. Pokud jsou ve výjimečných případech ve výsledku TTC testu uvedeny, tak jsou označeny jako Vedlejší nálezy (additional findings) a vyžadují interpretaci ve zvláštním režimu (viz bod 5 d. tohoto Poučení)
   f. TTC test není primárně určen pro záchyt:
      i. triploidií a/nebo tetraploidií (vícenásobný počet všech chromozomů);
      ii. vyvážených translokací chromozomů a/nebo inverzí (výměna úseků genetického materiálu mezi chromozomy a v rámci chromozomů bez toho, že by část genetické informace ubyla nebo přibyla);
      iii. mozaikových forem (plod obsahuje zároveň buňky s normálními a patologickými genetickými znaky);
      iv. chimérizmu (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 jakoukoliv zodpovědnost za chybný výsledek TTC testu nebo jeho nesprávnou interpretaci, jestliže:**
   a. se odběr vzorku provedl před ukončeným 11. týdnem 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 dárcovské krve (v období kratším než 6 měsíců), alogenní transplantace orgánů nebo kostní dřeně, terapie cizorodými kmenovými buňkami, nádorové onemocnění;
   e. plod má poruchu, na jejíž detekci není TTC test určený (viz bod 7 f. tohoto Poučení).
9. **Laboratoř se zavazuje, že:**
   a. při nehodnotitelném výsledku TTC testu se pokusí získat hodnotitelný výsledek
      i. opakováním TTC testu ze stejného vzorku (viz bod 5 e. i tohoto Poučení);
      ii. opakováním TTC testu z nového vzorku (viz bod 5 e. ii tohoto Poučení).
   b. nespotřebovaná část vzorku bude zlikvidována/použita v souladu s rozhodnutím těhotné uvedeném v informovaném souhlasu (který je součástí TTC žádanky).
   c. po ukončení TTC 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. **Údaje o možných omezeních života a práce schopnosti v souvislosti s TTC testem:**
    TTC test je neinvazivní vyšetření, neohrožuje těhotnou potratem ani jinými komplikacemi, které jsou spojeny se CVS nebo AMC.
11. **Poučení o právu těhotné se svobodně rozhodnout o postupu při poskytovaní zdravotní péče:**
    Těhotná má právo se svobodně rozhodnout o postupu při poskytování zdravotní péče.
12. **Informace o platbě**
    **TTC test se provádí výhradně v režimu samoplátce podle aktuálně platného ceníku uveřejněného na www.trisomytest.cz. Cenu za TTC test je možno** Laboratoři uhradit:
    a. prostřednictvím zdravotnického zařízení (lékaře) na místě při odběru krve pro TTC test, a pokud lékař potvrdí příjem platby na 1. straně Žádanky ze strany těhotné není nutná žádná další aktivita;
    b. po odběru krve pro TTC test 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): GIBACZPX
    - název banky: Česká spořitelna, a.s.
    - jako variabilní symbol použijte posledních 7 čísel kódu žádanky - naleznete jej v pravém horním rohu žádanky (pod čarovým kódem)
    Příklad: V případě, že je na žádance uveden kód AC3310070, jako VS použijte číslo 3310070.
    Následně bude těhotné vystavena a odeslána faktura na zadanou e-mailovou adresu těhotné, příp. poštou na adresu uvedenou na první straně žádanky.
    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 přiřazeny k příslušnému vzorku.
    Upozornění:
    Laboratorní vzorky určené na vyšetření, za které nebyla zrealizována úhrada, budou po uplynutí 14 dní bez náhrady zlikvidovány.
    Pomoc při platbě poskytuje klientské centrum Laboratoře na tel. č. 558 900 315.