

POUČENIE O GENETICKOM LABORATÓRNYM VYŠETRENÍ

1. Účel genetického laboratorného vyšetrenia TRISOMY test Complete:

TRISOMY test Complete (TTC) je neinvazívny prenatalný skriningový test z kategórie NIPT (Non Invasive Prenatal Testing), ktorý sa robí z krvi tehotnej ženy poučenej v súlade so zákonom a identifikovanej na strane 1 tejto Žiadanky (**„tehotná“**) na zistenie vysokého rizika prítomnosti chromozómových aneuploidíí a/alebo chromozómových aberácií na úrovni celého genómu a stanovenia pravdepodobného pohľavia plodu. TTC test sa robí spoločnosťou **Medirex, a.s.**, so sídlom Holubových 35, 902 01 Pezínok, IČO: 35 766 450, v jej centrálnej laboratóriu na adrese Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava („**Laboratórium**“) a jej **spolupracujúcimi dozvedateľmi**.

TTC test je určený na detekciu chromozómových aneuploidíí a chromozómových aberácií. Chromozómová aneuploidia je zmena počtosti ktoréhokolvek chromozómu, vrátane pohlavných chromozómov (gonozómov), typicky ide o trizómiu alebo monozómiu celého chromozómu. Chromozómová aberácia je subchromozómová zmena a znamená nadbytok alebo úbytok len časti chromozómu. Typicky ide o duplikáciu alebo deléciu časti chromozómu. Výraz „trizómia“ znamená, že v jadrách buniek plodu sa namiesto v obvyklých 2 kópiách nachádza niektorý z vyšetrovaných chromozómov v 3 kópiách, teda v jadrách buniek sa nachádza 47 chromozómov (nie 46 = [2x23], ako je to za fyziologických okolností). Napríklad, ak sa v 3 kópiách vyskytuje chromozóm 21, ide o trizómiu 21, čo zodpovedá Downovmu syndrómu. Výraz „monozómia“ znamená, že v jadrách buniek plodu sa namiesto v obvyklých 2 kópiách nachádza niektorý z vyšetrovaných chromozómov v 1 kópii, teda v jadrách buniek sa nachádza 45 chromozómov (nie 46 = [2x23], ako je to za fyziologických okolností). Napríklad, ak sa v 1 kópii vyskytuje chromozóm X, ide o monozómiu X, čo zodpovedá Turnerovmu syndrómu. Výraz „delécia“ znamená, že v jadrách buniek plodu chýba na niektorom z vyšetrovaných chromozómov uvedená chromozómová oblasť (je deletovaná). Napríklad, ak je delécia na dlhom ramienku chromozómu 22 v oblasti 11.2, ide o mikrodéléciu 22q11.2, čo zodpovedá DiGeorgeovmu syndrómu. Výraz „duplikácia“ znamená, že v jadrách buniek plodu je časť niektorého z vyšetrovaných chromozómov zdvojená (je duplikovaná). Napríklad, ak je duplikácia na krátkom ramienku chromozómu 17 v oblasti 11.2, ide o mikroduplikáciu 17p11.2, čo zodpovedá Potockiho-Lupskeho syndrómu. Výsledok TTC testu môže v súlade s požiadavkou tehotnej obsahovať aj informácie o pravdepodobnom pohlaví plodu. Pohlavie plodu sa stanovuje na základe prítomnosti a kvantity DNA úsekov zodpovedajúcim pohlavným chromozómom X a Y. Poskytnutie informácie o pohlaví plodu sa riadi legislatívou platnou v štáte, v ktorom bola vzorka odobraná.

Vyšetruje sa celková cirkulujúca DNA izolovaná z plazmy tehotnej, ktorá obsahuje aj maternálnu DNA aj tzv. voľnú fetálnu DNA (celľ free fetal DNA, cfDNA). Podiel cfDNA sa nazýva fetálna frakcia. Voľná fetálna DNA pochádza predovšetkým z placenty a vo veľkej miere reprezentuje celkovú DNA plodu. Analyzuje sa metódou celogenómového resekvenovania s nízkym pokrytím (low coverage whole genome sequencing). Získané údaje sa vyhodnotia bioinformatickým algoritmom, ktorý umožňuje detekciu kvalitatívnych zmien na chromozómovej a subchromozómovej úrovni. Detekčné parametre, rozlišovacia schopnosť a limitácie testu sú uvedené v bodoch 5 (Tabuľka 1), 6 a 7.

2. Predanalytické informácie:

- TTC test vyžaduje odber malého množstva (10 ml) krvi získaného zo žily tehotnej odberovou súpravou. Odber je možné spraviť od 11. týždňa tehotenstva. Výsledok vyšetrenia prvej vzorky môže byť neinformatívny a preto je v menej ako 5% prípadov potrebné odber krvi opakovať. Dôvodom môže byť nízka fetálna frakcia alebo z technického pohľadu nejednoznačný výsledok. Pre vzorky odobrané pred ukončeným 12. týždňom tehotenstva, u tehotných liečených nízkomolekulovými heparínmi (LMWH) a u tehotných s váhou >90 kg je pravdepodobnosť neinformatívneho výsledku vyššia. V prípade tehotných liečených LMWH sa odporúča vykonať odber krvi tesne pred plánovaným podaním ďalšej dávky LMWH. Opakovanie odberu sa môže vyžadovať aj pre neodporúčané predanalytických podmienok TTC testu.
- Vzorky krvi sa odoberajú do skúmaviek EDTA/CeII-Free DNA BCT® (Streck) alebo alternatívnych skúmaviek podľa odporúčania Laboratória. Vzorky krvi, plazmy alebo DNA sa odošlú do Laboratória, ktoré zabezpečí laboratorné vyšetrenie a vydá interpretovaný výsledok TTC testu v elektronickej forme.
- Laboratórium spracuje len vzorky doručené spolu so správne vyplnenou Žiadankou, s podpisom a pečiatkou indikujúcou lekára a informovaným súhlasom podpísaným tehotnou. Zber vzoriek, ich odoslanie do Laboratória a doručenie výsledkov TTC testu indikujúcou lekárkou zabezpečuje zmluvné laboratórium v krajine odberu vzorky.
- TTC test je možné využiť aj u tehotenstiev s použitím technik asistovanej reprodukcie (ART) vrátane prípadov s darovanými gamétami.
- TTC test nie je možné využiť pri viacplodových tehotenstvách.

3. Riziká neočakávaných dôsledkov TTC testu pre tehotnú a príbuzné osoby:

- Riziko spojené s odberom vzorky krvi je minimálne, v mieste vpichu ihly môže vzniknúť modrina alebo výnimočne zápal.
- TTC test sa označuje ako neinvazívny, pretože na získanie vzorky na laboratorné vyšetrenie nie je potrebný vpich do maternice. Nehrozí preto riziko potratu, krvácania, úniku plodovej vody, vnútromaternicovej infekcie, alebo inej komplikácie invazívneho odberu vzorky plodu.
- Výsledok TTC testu môže znamenať pre tehotnú, partnera, geneticky príbuzné a sociálne blízke osoby vážne zdravotné a etické vplyvy, vrátane možnosti ukončiť tehotenstvo zo zdravotnej indikácie v súlade s legislatívou platnou v štáte, v ktorom bola vzorka odobraná.

4. TTC test má tieto alternatívy:

- Iné dostupné NIPT vyšetrenia - TRISOMY test, TRISOMY test XY, TRISOMY test + dostupné prostredníctvom spoločnosti Medirex a.s., prípadne iné alternatívy.
- Genetické diagnostické laboratorné vyšetrenia zamerané na detekciu chromozómových aneuploidíí a/alebo aberácií zo vzorky získanej invazívnym odberom tzv. biopsiou choriových klkov („CVS“) alebo zo vzorky plodovej vody získanej amniocentézou („AMC“).

5. Výstup TTC testu:

Za predpokladu, že vzorku bolo možné laboratorne spracovať v súlade so správnou laboratornou praxou, a bolo možné získať výsledok, ktorý na úrovni rozlišovacej schopnosti použiteľ metódy odpovedá na skriningovú alebo diagnostickú otázku, laboratórium vydá výsledok TTC testu zvyšujúce do 5 pracovných dní, alebo asi u 10% vzoriek do 8 pracovných dní (z dôvodu biologickej variability a neočakávaných technických príčin súvisiacich s analyzovanou vzorkou). Lehota 5 resp. 8 pracovných dní sa počíta od dňa nasledujúceho po doručení vzorky do Laboratória alebo dňa identifikovania platby za TTC test (podľa toho čo nastane neskôr).

a. **Výsledkom TTC testu je informácia o pozitívnom, resp. negatívnom výsledku analýzy s ohľadom na detekciu vysokého rizika chromozómových aneuploidíí a/alebo aberácií na úrovni celého genómu, pričom rozlišovacia schopnosť TTC testu s ohľadom na veľkosť detegovanej aberácie je závislá na fetálnej frakcii zistennej v analyzovanej vzorke (uvedené ďalej).**

V prípadoch ak na úrovni rozlišovacej schopnosti použiteľ metódy výsledok neodpovedá na diagnostickú otázku laboratórium vydá čiastočne informatívny výsledok Testu. Laboratórium bezodplatne ponúkne opakovanie Testu z novej vzorky. Ak výsledok ani po opakovanej analýze neodpovedá na diagnostickú otázku je opätovne a definitívne vydaný čiastočne informatívny výsledok, Test sa v tomto prípade považuje za riadne vykonaný.

b. Negatívny výsledok TTC testu znamená, že sa zistilo:

- nízke riziko, menšie ako 1:10000, trizómie/monozómie ktoréhokolvek celého chromozómu. Vyhodnocuje sa nadreprezentácia/podreprezentácia molekúl DNA,
- nízke riziko, menšie ako 1:1000, duplikácie/delécie časti chromozómu/chromozómov. Vyhodnocuje sa nadreprezentácia/podreprezentácia molekúl DNA.

c. **Pozitívny výsledok TTC testu znamená, že sa zistila nadreprezentácia/podreprezentácia molekúl DNA, ktoré prínaležia celým chromozómom a/alebo ich častí. Ak je fetálna frakcia >5%, tak TTC test deteguje chromozómové aneuploidie so senzitivitou >99% a chromozómové aberácie so senzitivitou >80%, v závislosti na fetálnej frakcii a veľkosti aberácie, ako je uvedené v Tabuľke 1.**

Tabuľka 1: Detekčné parametre pri chromozómových aberáciách v závislosti na fetálnej frakcii a veľkosti aberácie. Pre každú dvojicu hodnotí detekčných parametrov je senzitivita >80%.

fetálna frakcia	Veľkosť aberácie
5% - 6%	>8 megabáz
6% - 7%	>7 megabáz
7% - 8%	>6 megabáz
8% - 9%	>5 megabáz
9% - 10%	>4 megabáz
>10%	>3 megabáz

Z údajov v tabuľke vyplýva: aby sme mohli deklarovať pozitívny výsledok TTC testu, pri ktorom sme aberáciu veľkú 3 megabázy detegovali na úrovni >80% senzitivity, musí byť súčasne fetálna frakcia >10%. S rovnakou senzitivitou >80% je možné pri menšej fetálnej frakcii potvrdiť väčšiu aberáciu.

V prípade pozitívneho výsledku TTC testu Laboratórium odporúča spraviť konfirmačnú analýzu vzorky plodu získanej AMC. Z dôvodu dodržania rovnakých technických parametrov skriningového a následného konfirmačného testu Laboratórium poskytuje testovanie tejto vzorky s využitím GenomeScreen Prenatal testu ako štandardnú súčasť TTC testu. Ak sa konzultujúci lekár rozhodne poslať vzorku plodovej vody (získanej AMC) na konfirmačnú analýzu mimo Laboratórium alebo sa rozhodne pre konfirmačnú analýzu z iného biologického materiálu (získaného CVS) je dôležité aby sa použil test s rozlišovacou schopnosťou dostatočnou na potvrdenie alebo vylúčenie, detegovanej aneuploidie a/alebo aberácie. V prípade konfirmačnej analýzy mimo Laboratórium prosíme o poskytnutie informácie o použiteľ laboratornej metóde a výsledku konfirmačnej analýzy Laboratória (viď poskytnutie súhlasu uvedené v závere Informovaného súhlasu).

d. Doplnkové zistenia (*additional findings*):

V prípade TTC testu znamená, že Laboratórium zistilo vysoké riziko významnej zmeny genetickej informácie, ktorá však nespĺňa detekčné parametre (5.c., Tab. 1). Za významnú zmenu genetickej informácie sa pre tento účel považuje:

- mozaiková forma chromozómových aneuploidíí/a/alebo aberácií
- detegovaná aberácia, ktorá nespĺňa pre TTC test určené detekčné parametre, ale je podľa vyhodnocovacích bioinformatických algoritmov verifikovateľná a zároveň biologicky významná.

Laboratórium smie tieto zistenia oznámiť vo výsledku TTC testu len za výnimočných okolností, a to na základe písomného súhlasu tehotnej s postupom uvedeným v tomto Poučení, a ak je dostupná interpretácia výsledku TTC testu špecialistom v lekárskej genetike. V prípade, že konzultujúci lekár nemá zabezpečenú spoluprácu s regionálnym pracoviskom lekárskej genetiky, konzultáciu sprostredkuje Laboratórium.

e. **Neinformatívny výsledok TTC testu** znamená, že dodanú vzorku nebolo možné laboratorne spracovať v súlade so správnou laboratornou praxou (napr. došlo k zlyhaniu laboratornej metódy, vo vzorke bol zistený nízky podiel DNA plodu, tehotná sa lieči LMWH, váha tehotnej je >90kg), alebo výsledok TTC testu neodpovedá na diagnostickú otázku. V takom prípade Laboratórium:

- bezodplatne opakuje TTC test z tej istej vzorky (týka sa asi 5% vzoriek), v prípadoch, kedy je výsledok z technického pohľadu nejednoznačný
- bezodplatne ponúkne opakovanie TTC testu z novej vzorky (týka sa 5% vzoriek). Nový odber sa odporúča vykonať čo najskôr v prípade získania nejednoznačného výsledku analýzy alebo s časovým odstupom 14 dní od prvého odberu v prípadoch, v ktorých bola po prvej analýze zistená vo vzorke nízka fetálna frakcia (< 5%). V takomto prípade sa termín oznámenia definitívneho výsledku TTC testu primerane predlži.

Ak sa nepodari získať informatívny výsledok TTC testu opakovaným vyšetrením prvej vzorky ani vyšetrením druhej vzorky a to v dôsledku zlyhania testu z technických príčin, Laboratórium tehotnej vráti celú zaplatenú sumu (s výnimkou tehotných, ktoré sú liečené injekciami LMWH, alebo tehotných s váhou >90 kg, prípadne ak neboli dodržané podmienky uvedené v bode 8).

Ak sa nepodari získať informatívny výsledok ani po opakovanom odbere vzorky krvi od tehotnej Laboratórium odporúča absolvovať alternatívny diagnostický test z invazívne získanej vzorky (pozri bod 4 b.).

f. Určenie pravdepodobného pohlavia plodu:

TTC test zisťuje pravdepodobné pohlavie plodu (mužské alebo ženské). Laboratórium ho vydá vo výsledku TTC testu na základe vyznačenej voľby tehotnej v Žiadanke.

6. Presnosť a predpovedná schopnosť TTC testu:

- Presnosť TTC testu je číselné vyjadrenie pravdepodobnosti, že výsledok testu (negatívny alebo pozitívny) je stanovený správne.
 - Pravdepodobnosť správneho výsledku TTC testu pre chromozómové aneuploidie, napr. pre trizómiu 21, 18 a 13 a aneuploidie pohlavných chromozómov X a Y je veľmi vysoká (>99.9%), v súlade s výsledkami rozsiahlej metanalýzy publikovanej v roku 2017 sumarizujúcej výsledky štúdií z celého sveta (Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plans M, 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).
 - Pravdepodobnosť správneho výsledku TTC testu pre chromozómové aberácie nie je možné úplne exaktne stanoviť pre veľkosťnú a pozíciu heterogenitu možných náleзов a variabilitu fetálnych frakcií zistených v analyzovaných vzorkách.
- TTC test má aj veľkú predpovednú schopnosť, ktorá je najmenej 10 x väčšia ako predpovedná schopnosť štandardne používaných biochemických či kombinovaných prenatalných skriningových testov v prípade najčastejšie detegovaných chromozómových aneuploidíí. Napríklad pre trizómiu 21, 18 a 13 je predpovedná schopnosť testu hodnotená pomocou pozitívnej prediktívnej hodnoty vyššia ako 95% a negatívna prediktívna hodnota prevyšuje 99.9%. V prípade chromozómových aberácií typu parciálnych chromozómových delécií a duplikácií a na základe výsledkov rozsiahlej retrospektívnej štúdie realizovanej na viac ako 9500 vzorkách prostredníctvom TRISOMY testu bola v prípade pozitívnych náleзов detegovaných prostredníctvom delekčných parametrov TRISOMY testu Complete pozitívna prediktívna hodnota >60% (Selekská 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. Newsbl 2019; roč. 10 (2): 69 – 71). Negatívnu prediktívnu hodnotu detekcie chromozómových aberácií na úrovni celého genómu nie je možné stanoviť z dôvodu vyššie spomenutej rozsiahlej heterogenity možných náleзов a variability fetálnych frakcií.

7. Upozornenie na limitácie TTC testu:

- TTC test je považovaný za vysoko efektívny skriningový test, nie je však diagnostický. Pozitívny výsledok TTC testu ako neinvazívneho skriningového testu sa preto musí overiť diagnostickým genetickým laboratorným vyšetrením vzorky plodu získanej invazívne (CVS, AMC).
- Napriek vysokej presnosti TTC testu je možné, že v ojedinelých prípadoch môže byť vzorka vyhodnotená ako falšne pozitívna, alebo zriedkavejšie ako falšne negatívna, čo môže byť v oboch prípadoch spôsobené neznámymi alebo nepredvídateľnými biologickými vlastnosťami vzorky (napr. syndróm miznúceho dvojčata, placentárny mozaicismus, maternálny mozaicismus) alebo technologicými limitmi TTC testu.
- TTC test neumožňuje oznámiť výsledok v prípade, ak je fetálna frakcia < 5%. V takýchto prípadoch je Test neinformatívny a požaduje sa opakovaný odber vzorky s odstupom 14 dní od prvého odberu.
- Výsledky TTC testu zamerané na detekciu chromozómových aberácií (delécií a duplikácií) umožňujú so senzitivitou >80% identifikovať aberácie s veľkosťou určenovanou fetálnou frakciou zistenou vo vzorke po jej analýze, podrobnejšia informácia je uvedená v Tab. 1.
- Iné ciele neľahké zamerané výmou genetickej informácie sa bližšie neanalyzujú a vo výsledku TTC testu sa neuvádzajú. Ak sú vo výnimočných prípadoch vo výsledku TTC testu uvedené, tak sú označené ako Doplnkové zistenia (*additional findings*) a vyžadujú interpretáciu v osobitnom režime (pozri bod 5 d. tohto Poučenia)
- TTC test nie je priamne určený na záchty:
 - triploidii a/alebo tetraploidii (viacnásobný počet všetkých chromozómov);
 - vyvážených translokácií chromozómov a/alebo inverzií (výmena úsekov genetickeho materiálu medzi chromozómami a v rámci chromozómov bez toho, že by časť genetickej informácie ušla alebo pribudla);
 - mozaikových foniem (plod obsahuje zároveň bunky s normálnymi a patologickými genetickými znakmi);
 - chimerizmu (plod je zložený z tkanív pôvodne 2 jedincov);
 - iných geneticky determinovaných patológií plodu, ktoré z technického pohľadu tento typ testu nedokáže odhaliť (napr. monogénové dedičné ochorenia).

8. Laboratórium vylučuje akikoľvek zodpovednosť za nesprávny výsledok TTC testu alebo jeho nesprávnu interpretáciu, ak:

- a sa odber vzorky spravil pred ukončeným 10. týždňom gravidity;
- a sa nedodržiali predanalytické podmienky;
- a nebolo možné dosiahnuť správny výsledok pre nesprávne, neúplné, alebo máľúce anamnestické údaje, napr. o trvaní tehotenstva, viacplodovej gravidite a/alebo o syndróme miznúceho dvojčata, o ňzname genetickej patológiej niektorého z rodičov plodu, o liečbe LMWH;
- a výsledok ovplyvnila prítomnosť inej cudzorodej DNA (nie ako DNA plodu) v organizme matky, napr. transfúzia darovcovskej, alogénna transplantácia orgánov alebo kostnej drene, terapia cudzoroďými kmeňovými bunkami, nádorové ochorenie;
- a plod má poruchu, na ktorej detekciu nie je TTC test určený (pozri bod 7 f. tohto Poučenia).

9. Laboratórium sa zaväzuje, že:

- pri neinformatívnom výsledku TTC testu sa pokúsi získať informatívny výsledok
 - opakovaním TTC testu z tej istej vzorky (pozri bod 5 e. i. tohto Poučenia);
 - opakovaním TTC testu z novej vzorky (pozri bod 5 e. ii. tohto Poučenia).
- po ukončení TTC testu sa zvyšok pôvodnej a/alebo spracovanej vzorky krvi bude sMadovať v súlade s príslušnými právnymi predpismi, aby bolo možné uskutočniť ďalšie genetické laboratorné vyšetrenia v prospech tehotnej alebo jej príbuzenstva. Každému ďalšiemu genetickému laboratornému vyšetreniu bude predchádzať genetická konzultácia, pri ktorej lekársky genetik zabezpečí informovaný súhlas dotknutých osôb.
- nespotrebovaná časť vzorky bude zlikvidovaná/použitá v súlade so súhlasom tehotnej udeleným v tomto Poučení.

10. Údaje o možnom obmedzení v spôsobe života a práceschopnosti v súvislosti s TTC testom:

TTC test je neinvazívne vyšetrenie, neohrozuje tehotnú potratom ani inými komplikáciami, ktoré sú spojené s CVS alebo AMC.

11. Poučenie o práve tehotnej slobodne sa rozhodnúť o postupe pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti:

Tehotná má právo sa slobodne rozhodnúť o postupe pri poskytovaní zdravotnej starostlivosti.

12. Informácie o platbe

TTC test sa vykonáva výlučne v režime samoplatky podľa aktuálne platného cenníka uverejneného na www.laboratoriadiagnosticka.sk. Cenu za TTC test možno uhradiť Laboratóriu:

- prostredníctvom zdravotníckeho zariadenia (lekára) na mieste pri odbere krvi pre TTC test, a ak lekár potvrdí príjem platby na 1. strane Žiadanky, zo strany tehotnej nie je potrebná žiada ďalšia aktivita;
 - po odbere krvi pre TTC test prostredníctvom **platobernej brány www.medirexplatby.sk**, kde tehotná zadá identifikačné údaje (uvedené na Žiadanke), zvolí druh testu a spôsob platby **kartou** alebo **bankovým prevodom** a úhradu môže ihneď realizovať prostredníctvom zabezpečeného pripojenia. Identifikačné údaje budú platbe priradené automaticky.
 - po odbere krvi pre TTC test **na základe údajov** a to bankovým prevodom alebo vkladom na účet. Faktúra bude tehotnej vygenerovaná systémom po zadaní identifikačných údajov a odoslaná na zadanú e-mailovú adresu tehotnej. Pri prevode na faktúru je potrebné uviesť správne č. účtu (IBAN) Laboratória a variabilný symbol (VS). Platby poukázane bez VS/s nesprávnym VS nemôžu byť správne identifikované a priradené k príslušnej vzorke.
- Pomoc pri platbe poskytuje klientske centrum Laboratória na tel.č. 0800 400 800.