

POUČENIE O GENETICKOM LABORÁTORNOM VÝŠETRENÍ

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 aneuploidii a/alebo chromozómových aberácií na úrovni celého genómu a stanovenia pravdepodobného pohľavu plodu. TTC test je vykonávaný spoločnosťou **Trisomy test s.r.o.**, v jej laboratóriách na adrese **Novozámocká 67, 949 05 Nitra („Laboratórium“)** v spolupráci so spoločnosťou Medirex, a.s., so sídlom Holubého 35, 902 01 Pezínok, aj centrálnym laboratóriom na adrese Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava.Medirex, a.s.. TTC test je určený na detekciu chromozómových aneuploidii a chromozómových aberácií. Chromozómová aneuploidia je zmena počtosti ktoréhokoľvek chromozómu, vrátane pohlavných chromozómov (gonozómov), typicky ide o trizómiu alebo monozómiu celého chromozómu. Chromozómová aberácia je subchromozómová zmena a znamená nadytok alebo úbytok len časti chromozómu. Typicky ide o duplikáciu alebo deláciu 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 „delácia“ znamená, že v jadrách buniek plodu chýba na niektorom z vyšetrovaných chromozómov uvedených chromozómová oblasť (je deletovaná). Napríklad, ak je delácia na dlhom ramienku chromozómu 22 v oblasti 11.2, ide o mikrodeleciu 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 Potockého-Lupského syndrómu. Výsledok TTC testu môže v súlade s požiadavkou tehotnej obsahovať aj informácie o pravdepodobnom pohľavi plodu. Pohľadie plodu sa stanovuje na základe prítomnosti a kvantít DNA exkrov zodpovedajúcim pohlavným chromozómom X a Y. Poskytnutie informácie o pohľavi plodu sa riadi legislatívou platnou v štáte, v ktorom bola vzorka odobraná.

Vyšetrje sa celková cirkulujúca DNA izolovaná z plazmy tehotnej, ktorá obsahuje aj maternálnu DNA aj tzv. voľnú fetálnu DNA (cell free fetal DNA, cfDNA). Podiel cfDNA sa nazýva fetálna frakcia. Voľná fetálna DNA pochádza pridesiatky 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 kvantitatívnych 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 ukončením 12. týždňom tehotenstva, u tehotných liečených nízkomolekulárnymi 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 nedodržiati predanalytických podmienok TTC testu.
- Vzorky krvi sa odberajú do skúmaviek EDTA/Cell-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 správnou vyplnenou žiadosťou, s podpisom a pečiatkou indikujúcou lekára a informovaným súhlasom podpísaným tehotnou. Zber vzoriek, ich odoslanie do Laboratória a doručenie výsledkov TTC testu indikujúcemu lekárovi zabezpečuje zmluvné laboratórium v krajine odberu vzorky.
- TTC test je možné využiť aj u tehotenstiev s použitím techník 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 výnimčoe 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, vnútro maternicovej 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 výzvy, 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 aneuploidii a/alebo aberácií zo vzorky získanej invazívnym odberom tzv. biopsii choriových kľov („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 použitej metódy odpovedá na skriningové alebo diagnostické otázky, laboratórium vydá výsledok TTC testu zvyčajne 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 (poďa toho čo nastane neskôr).

O výsledku vyšetrenia informuje tehotnú lekár, ktorý vyšetrenie indikoval. Výsledok vyšetrenia sa za štandardných podmienok z dôvodu možnosti získania informácie o pohľavi plodu nevýdava pred ukončením 12. týždňa tehotenstva, v súlade s uznesením č. 40/46 Etickej komisie MZ SR zo dňa 4. 2. 2013.

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

V prípadoch ak na úrovni rozlišovacej schopnosti použitej 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 ktoréhokoľvek celého chromozómu. Vyhodnocuje sa nadreprezentácia/podreprezentácia molekúl DNA.
 - nízke riziko, menšie ako 1:1000, duplikácie/delácie častí chromozómu/chromozómov. Vyhodnocuje sa nadreprezentácia/podreprezentácia molekúl DNA.
- c. Pozitívny výsledok TTC testu znamená, že sa zistila nadreprezentácia/podreprezentácia molekúl DNA, ktoré prináležia celým chromozómom a/alebo ich častí. Ak je fetálna frakcia >5%, tak TTC test deteguje chromozómove aneuploidie so senzitivitou >99% a chromozómove 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 hodnôt 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 biologickeho 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 použitej 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 aneuploidii a/alebo aberácií
 - detegovaná aberácia, ktorá nespĺňa pre TTC test uvedené 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 pohľadunejednoznačný
 - bezodplatne ponúkne opakovanie TTC testu z novej vzorky (týka sa 5% vzoriek). Nový odber sa odporúča vykonať ak najskôr v prípade získania nejednoznačného výsledku analýzy alebo s časovým odstupom 14 dní od prvého odberu v prípadoch, u ktorých bola po prvotnej analýze zistená vo vzorke nízka fetálna frakcia (< 5%). V takomto prípade sa termín oznámenia definitívneho výsledku TTC testu primerane predlžá.

Ak sa nepodarí 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 nepodarí 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 pohľavu plodu:

TTC test zisťuje pravdepodobné pohľadie 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 číselne vyjadrené pravdepodobnosti, že výsledok testu (negatívny alebo pozitívny) je stanovený správne.
- Pravdepodobnosť správneho výsledku TTC testu pre chromozómove aneuploidie, napr. pre trizómie 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, Plana MN, Nicolaidis 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 chromozómove aberácie nie je možné úplne exaktné stanoviť pre veľkú a pozícnú heterogenitu možných náleзов a variabilitu fetálnych frakcií zistených v analyzovaných vzorkách.
- TTC test má aj veľkú predpovednú schopnosť, ktorá je najmenej 10 v väčšia ako predpovedná schopnosť štandardne používaných biochemických či kombinovaných prenatalných skriningových testov v prípade najčastejšie detegovaných chromozómových aneuploidii. Napríklad pre trizómie 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 delácií 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 detekčných parametrov TRISOMY testu Complete pozitívna prediktívna hodnota >60% (Seketská 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). 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 falošne pozitívna, alebo zriedkavejšie ako falošne negatívna, čo môže byť v oboch prípadoch spôsobené neznámymi alebo nepredvidateľnými biologickými vlastnosťami vzorky (napr. syndróm miznúceho dvojčata, placentárny mozaicizmus, maternálny mozaicizmus) alebo technologickými 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 (delácií a duplikácií) umožňujú so senzitivitou >80% identifikovať aberácie s veľkosťou detegovanou fetálnou frakciou zistenou vo vzorke po jej analýze, podrobnejšia informácia je uvedená v Tab. 1.
- Iné ciele neľhadané zmeny genetickej informácie sa bližšie neanalyzujú a vo výsledku TTC testu sa neuvažujú. 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 e, tohto Poučenia)
- TTC test nie je primárne určený na záchyt:
 - triploidii a/alebo tetraploidii (viacnásobný počet všetkých chromozómov);
 - vyvážených translokácií chromozómov a/alebo inverzií (výmena úsekov genetického materiálu medzi chromozómami a v rámci chromozómov bez toho, že by časť genetickej informácie ubudla alebo pribudla);
 - mozaikových foriem (plod obsahuje zároveň bunky s normálnymi a patologickými genetickými znakmi);
 - chimerizmu (plod je zložený z tkanív pôvodne 2 jedincov);
 - iných geneticky detegovaných patológií plodu, ktoré z technického pohľadu tento typ testu nedokáže odhaliť (napr. monogénové dedičné ochorenia).

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

- a) odber vzorky spravil pred ukončením 10. týždňom gravidity;
- b) sa nedodržiati predanalytické podmienky;
- c) nebolo možné dosiahnuť správny výsledok pre nesprávne, neúplné, alebo mátače anamnestické údaje, napr. o trvaní tehotenstva, viacplodovej gravidite a/alebo o syndróme miznúceho dvojčata, o známej genetickej patológii niektorého z rodičov plodu, o liečbe LMWH;
- d) výsledok ovplyvnila prítomnosť inej cudzorodej DNA (inej ako DNA plodu) v organizme matky, napr. transfúzia darcovskej krvi, alogéna transplantácia orgánov alebo kostnej drene, terapia cudzoročnými kmeňovými bunkami, nádorové ochorenie; e) plod má poruchu, na ktorej detekciu nie je TTC test určený (pozri bod 7. 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. tohto Poučenia);
 - opakovaním TTC testu z novej vzorky (pozri bod 5 e. tohto Poučenia).
- po ukončení TTC testu sa zvyšok pôvodnej a/alebo spracovanej vzorky krvi bude skladovať v súlade s príslušnými právnymi predpismi, aby bolo možné uskutočniť ďalšie geneticke 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 samoplatcu podľa aktuálne platného cenníka uverejneného na www.medirex.sk. Cenu za TTC test možno uhradiť Laboratórium:

- 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 žiadna ďalšia aktivita;
- po odbere krvi pre TTC test prostredníctvom **platby brány www.medirexexpress.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 faktúry** 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.