



Doporučený postup č. 1:

PROVÁDĚNÍ VŠEOBECNÉHO PRENATÁLNÍHO SCREENINGU VROZENÝCH VÝVOJOVÝCH VAD

Účinnost k 15. 1. 2014

Stav změn: 1. vydání.

Tento postup navazuje na snahu o vytvoření **Metodického návodu k zajištění a provádění všeobecného těhotenského screeningu vrozených vývojových vad v ČR**, který byl projednáván v minulých letech za účasti zástupců odborných společností genetických, gynekologických i biochemických, včetně Všeobecné zdravotní pojišťovny.

Preambule

„Lékařský screening slouží k vyhledávání osob s významným rizikem určité choroby ještě před jejich klinickou manifestací. Pozitivní výsledek screeningového vyšetření jednoduchou, dostupnou a levnou screeningovou metodou zahajuje sérii specifických a náročnějších diagnostických vyšetření nebo preventivních opatření. Screeningový test je systematicky nabízen v populačním měřítku osobám, které nemají důvod vyhledat lékařskou péči. Falešná pozitivita (**FPR**) screeningového systému by měla být nižší než 4 % a senzitivita (**DR**) vyšší než 90 %.

Každá těhotná má v rámci komplexního prenatálního vyšetření právo na podrobnou informaci o všech současných možnostech provádění screeningu vrozených vývojových vad bez ohledu na způsob jejich úhrady, o výtěžnosti a rizicích jednotlivých postupů a jejich dosažitelnosti v místě bydliště a současně na informaci, který z nabízených testů je na kterém pracovišti hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění, případně u které ZP, a který jí může být proveden na vlastní přání za přímou úhradu.

Programy prenatálního screeningu vrozených vývojových vad

Screening v prvním trimestru (**Kombinovaný test**) – ultrazvukové vyšetření kombinované se stanovením biochemických markerů v séru těhotné. Výsledkem kombinovaného testu je definované riziko častých trisomií (chromosomů 21, 18, 13). Výsledky ultrazvukového vyšetření (zvýšená nuchální translucence, hygroma colli cysticum, nepřítomnost nosní kosti, dopplerometrické nálezy) jsou suspektní pro další genomické mutace (monosomie X neboli syndrom Turnerův), genové mutace (syndrom Noonanové, spinální muskulární atrofie {SMA}, kostní dysplasie, Smith-Lemli-Opitzův syndrom {SLOS}) nebo multifaktoriální vady (srdeční vady). Kombinovaný test také může predikovat riziko porodnických komplikací (spontánní abort, placentopatie, růstové poruchy, diabetes mellitus, případně preeklampsie). Kombinovaný test je při splnění všech odborných požadavků vysoce efektivním všeobecným screeningovým programem.

Sekvenční integrovaný test je screeningový systém, ve kterém jsou těhotné s významným rizikem v Kombinovaném testu neprodleně konzultovány a těhotné s nižším rizikem pokračují ve standardním screeningu ve 2. trimestru (**Triple test**) s **integrací** výsledků obou testů **na pracovišti prenatálního**



screeningu. Sekvenční integrovaný test umožňuje odhad rizik u těhotenství s méně výraznými, ale stabilně odlišnými změnami nezávislých markerů aneuploidií a dalších vrozených vad v prvním i druhém trimestru. Tento test má na některých pracovištích příznivější poměr mezi FPR/DR, než **Kombinovaný test** a umožňuje koncentraci výsledků z obou trimestrů na pracovišti prenatálního screeningu.

Kombinovaný i Sekvenční integrovaný test mohou mít **kontingenční** varianty, při kterých je prováděno následné výběrové vyšetření pouze u určitého kontingentu těhotných podle výše rizika v základním testu.

Sérum integrovaný test je společné hodnocení pouze **biochemických markerů prvního a druhého trimestru**. Je vhodný tam, kde není možné zajistit provedení ultrazvukového vyšetření v 1. trimestru.

Neinvasivní vyšetření častých trisomií **NIPT** založené na přítomnosti chromosom-specifických fragmentů volné fetální DNA v mateřské plasmě je efektivním screeningovým testem častých aneuploidií s FPR nižším než 1 % a DR vyšším než 99 % pro Downův syndrom. **NIPT** není primárně indikován u pozitivních ultrazvukových nálezů.

Indikace a markery prenatálních screeningových programů

a) **Kombinovaný test je základním prenatálním screeningovým programem.** Markery kombinovaného testu jsou: **věk, hmotnost těhotné, těhotenský plasmatický protein A (PAPP-A), volná beta podjednotka lidského choriového gonadotropinu (free β -hCG), ultrazvuková datace těhotenství pomocí temeno-kostrční délky (CRL) a hodnota nuchální translucence (NT).** Novým biochemickým markerem **Kombinovaného testu** je **placentární růstový faktor (PIGF).**

b) **Kontingenční test** v prvním trimestru: v případě hraničního rizika v **Kombinovaném testu** je ve stejném sezení provedeno vyhodnocení dalších UZ markerů: **přítomnost a rozměry nosní kosti (NB), dopplerometrické vyšetření toků v ductus venosus (DV) a průkaz významné trikuspidální regurgitace (TR).**

c) Sekvenční integrovaný test

Kombinovaný test a neprodlená konzultace **pozitivních výsledků** (do 2 % vyšetřených).

Ostatní těhotné ženy pokračují do 2. trimestru k provedení **Triple testu: alfafetoprotein (AFP), celkový choriový gonadotropin (T-hCG) a nekonjugovaný estriol (μ E3).** **Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření** (pozitivní asi další 2 % vyšetřených).

d) **Sérum integrovaný test (PAPP-A, AFP, μ E3, free β -hCG /T-hCG)** – tento test je vhodný tam, kde není dosažitelné validní ultrazvukové vyšetření v 1. trimestru těhotenství.

e) **Samotný triple test (hCG, AFP, μ E3)** ve druhém trimestru – je vyhrazen pouze těhotným s pozdním záchytem těhotenství nebo (nežádoucí) lokální nedostupností testu v prvním trimestru.

f) **NIPT** - screeningová metoda vyšetření chromosomově specifických **fragmentů DNA** v mateřské plasmě je indikována při zvýšeném riziku trisomie chromosomu 21 (Downův syndrom). Jako limitovaná alternativa může být doporučena u těhotných po IVF od 35 let v době porodu, případně



u těhotných po opakované těhotenské ztrátě (2× a více) nebo s aneuploidii u dítěte nebo plodu v předchozích graviditách.

- g) Provedení screeningového testu v prvním i v druhém trimestru v jednom těhotenství a jejich oddělené hodnocení je považováno za postup *non lege artis*.**

Organizace provedení všeobecného těhotenského screeningu VVV plodu

Organizace provedení screeningového testu u těhotné je v kompetenci registrujícího gynekologa, který část vyšetření buď sám provádí (splňuje-li podmínky stanovené profesními standardy), nebo na něj pacientku odesílá do spolupracujících pracovišť prenatálního screeningu.

Screeningový program VVV lze začít v 10. týdnu těhotenství, kdy je možno provádět odběr krve na vyšetření biochemických markerů Kombinovaného testu (PAPP-A, free β -hCG). Optimální gestační stáří pro ultrazvukové vyšetření v rámci kombinovaného testu je 11.–14. týden (při CRL plodu mezi 45–84 mm). Optimální gestační stáří pro biochemický screening ve 2. trimestru je 15.–17. týden.

Výpočet rizika vrozené vývojové vady v rámci standardních screeningových programů je prováděn podle typu testu s použitím validovaných algoritmů: riziko z výsledků kombinovaného testu může stanovit buď přímo registrující gynekolog (splňuje-li podmínky stanovené profesními standardy), nebo spolupracující pracoviště prenatálního screeningu.

Při hodnocení rizika vrozené vývojové vady se vyžaduje k tomu určený výkon dle Sazebníku

- **28105** (Genetické hodnocení rizika vrozených chromosomálních aberací a NTD)

Následná genetická vyšetření v těhotenství jsou indikována a prováděna lékařem se specializovanou způsobilostí v oboru lékařská genetika, dle platné zákonné úpravy. Invazivní metody prenatální diagnostiky sloužící k získání materiálu plodu pro genetické vyšetření provádí na základě genetické indikace lékař se specializovanou způsobilostí v oboru gynekologie a porodnictví.

Pracoviště prenatálního screeningu

Pracoviště prenatálního screeningu provádí nastavení a monitoring screeningových parametrů, udržování dostupnosti, vydávání výsledků, provádění následných vyšetření a epidemiologický audit. Provádí příslušné genetické konzultace v graviditě, provádí nebo zadává diagnostická vyšetření a zpracovává výsledky z invazivních a neinvazivních vyšetření. Pro zajištění kvality péče je vydáván pro jednotlivá pracoviště certifikát SLG (Viz příloha č. 1 – Podmínky pro získání certifikátu Pracoviště prenatálního screeningu). Seznam certifikovaných pracovišť prenatálního screeningu je uveden na stránkách www.slg.cz.

Genetická konzultace v graviditě je prováděna převážně v těchto indikacích:

1. na doporučení registrujícího gynekologa při zjištění suspektní anamnézy (očekáváno až u 10 % gravidních žen)



2. při zvýšeném riziku na základě výsledku standardního screeningového testu (jasná pozitivita je cca u 5 %, atypické výsledky u 3 %)
3. v návaznosti na léčbu neplodnosti
4. při patologickém nebo suspektním ultrazvukovém nálezů v průběhu těhotenství při rutinním UZ vyšetření
5. při žádosti rodiny vzhledem k její anamnéze (starší matky, gravidita po IVF, exogenní noxa, rodinná anamnéza)

První konzultace lékařem genetikem je vykazována výkonem:

- **28022** (Cílené klinicko-genetické vyšetření při dosud neuzavřené klinické diagnóze nebo klinicko-genetická konzultace při prvním vyšetření)

Po ní může následovat výkon:

- **28023** (Klinicko-genetické vyšetření kontrolní)

Pokud je uzavřena diagnóza, je vykazován výkon:

- **28021** (Klinicko-genetické vyšetření komplexní naplněné stanovením klinické diagnózy)

Diagnostické testy v případě positivity screeningu a metody zpracování

Po zvážení anamnestických, klinických a socio-kulturních faktorů je doporučen optimální postup přijatelný pro těhotnou a její rodinu.

Spektrum testů obsahuje:

1. Neinvazivní následná vyšetření:
 - a. Superkonziliární ultrazvukové vyšetření ve 2. trimestru pro vyloučení morfologických vad a jejich minor („soft“) markerů.
 - b. Magnetická rezonance
 - c. NIPT při zvýšeném riziku trizomie 21, 18, 13 nebo opodstatněných obavách z invazivního výkonu.
2. Přímé vyšetření materiálu plodu metodami cytogenetickými, molekulárně-genetickými, případně i dalšími dle závěru genetické konzultace.

Nejčastější diagnostickou metodou je konvenční karyotypizace kultivovaných fetálních buněk různého původu. Tato metoda je velmi spolehlivá jak pro stanovení numerických, tak i strukturálních aberací i mozaicismu. Nevýhodou je dlouhá doba zpracování do 14 dnů. Alternativními metodami jsou QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) a FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation). Tyto metody poskytují výsledky za 24–48 hodin, jsou dostatečně spolehlivé k diagnostice nejčastějších trisomií 21, 18 a 13. Jejich výhodami jsou: rychlost, spolehlivost, nižší náklady, možnost automatizace a jednodušší zpracování. Dosud není konsensus o možnosti úplného nahrazení konvenční karyotypizace těmito metodami, protože tyto nemohou detekovat některé časté



abnormality, jako translokace, delece či mozaicizmus. Pro naši populaci rovněž nebylo dosud stanoveno reziduální riziko abnormalit, které nelze zachytit výše uvedenými alternativními metodami.

Technikou microarray lze detekovat genomické submikroskopické mutace s 5–10× vyšší senzitivitou, než je klasická karyotypizace. Microarray je v současné době považována za metodu druhé volby po vyloučení častých aneuploidií rychlými metodami (QF-PCR, FISH).

NIPT kontinuálně rozšiřuje spektrum neinvazivně vyšetřovaných chromosomálních aberací – od nejčastějších aneuploidií k poruchám pohlavních chromosomů až po submikroskopické varianty počtu kopií (CNV). Její spolehlivost, a to především při diagnóze trisomie 21, je blízká spolehlivosti přímého vyšetření materiálu odebraného z plodu. V dohledné době budou moci být u indikovaných případů s použitím zárodečné DNA od rodičů vyšetřeny jak bodové tak i genomické mutace.

Základním vyšetřením v graviditě je v současné době výkon:

- **94153** (Vyšetření chromosomů z plodové vody)

nebo výkon:

- **94161** (Vyšetření chromosomů z choriové tkáně dlouhodobě kultivované).

Mohou být dále indikována vyšetření molekulární cytogenetiky při níže uvedených indikacích:

- Metoda microarray, hlavně při pozitivním ultrazvukovém nálezu. V budoucnu bude tato metoda první volbou při všech indikacích.
- FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation) při specifikaci strukturální aberace nebo pro průkaz mozaiky.
- Molekulární genetické vyšetření při podezření na monogenní onemocnění: například vyšetření nejčastějších mutací genu *DHRC7* při podezření na Smithův-Lemliho-Opitzův syndrom na základě výsledků triple testu, nebo vyšetření delecí genu *SMN1* nebo mutací genů *PTPN11*, *RAF1*, *SOS1* při vyšší hodnotě nuchální translucence atd.
- Metody sekvenování nové generace (NGS) mohou při invazivním prenatalním vyšetření do budoucna nahradit všechny výše uvedené metody.

Metody odběru materiálu plodu ke genetickým testům

Biopsie choria (CVS) je metodou ke stanovení karyotypu plodu, která se z důvodu bezpečnosti pro plod a kvality získaného vzorku provádí v gestačním stádiu od ukončeného 11. týdne těhotenství do 15. týdne těhotenství. Dle dostupných dat je riziko ztráty těhotenství po transabdominální CVS stejné jako u amniocentézy – tedy 0,5 až 1 %.

Amniocentéza (AMC; odběr plodové vody) je metodou ke stanovení karyotypu plodu, která se provádí od ukončeného 15. týdne těhotenství. Riziko ztráty těhotenství po AMC je všeobecně udávané mezi 0,5–1 %. Diskuze o skutečném riziku této metody stále pokračují a mohou být ovlivněny řadou faktorů (zejména zkušeností lékaře).



Společnost lékařské genetiky
České lékařské společnosti J. E. Purkyně

Society of Medical Genetics
Czech Medical Society of J. E. Purkyně

Sokolská 31, 120 26 Praha 2, Czech Republic, tel.: +420 224 266 201-4, fax: +420 224 266 212, e-mail: cls@cls.cz, www.cls.cz

Kordocentéza (odběr pupečnickové krve) se pro stanovení karyotypu provádí výjimečně v indikovaných případech. Riziko diagnostické kordocentézy je udáváno do 2 %. Riziko všech výše uvedených výkonů je závislé na zkušenosti operátora.



Příloha 1: Podmínky pro získání certifikátu pracoviště prenatalního screeningu

Pracoviště prenatalního screeningu musí mít návaznost na biochemickou laboratoř vyšetřující biochemické analyty, které jsou součástí screeningu, genetickou laboratoř provádějící genetické testy, dále na lékaře se specializovanou způsobilostí v oboru lékařská genetika a lékaře se specializovanou způsobilostí v oboru gynekologie a porodnictví, který splňuje odborné požadavky na provádění ultrazvukových vyšetření v těhotenství a provádění invazivních metod prenatalní diagnostiky, sloužící k získání materiálu plodu pro genetické vyšetření, dle příslušných profesních standardů. Dále musí mít zajištěnou dostupnost prenatalní kardiologie.

Výpočet rizika vrozené vývojové vady v 1. i 2. trimestru musí být prováděn pomocí spolehlivého validovaného počítačového programu, který upozorňuje na zvýšené riziko nejdůležitějších aneuploidií – trisomie 21. chromosomu (Downův syndrom), 18. chromosomu (Edwardsův syndrom) a 13. chromosomu (Patauův syndrom). Ve 2. trimestru těhotenství i na defekt uzávěru neurální trubice (NTD – vzhledem k použitým analytům), případně jiných syndromů. Riziko postižení plodu některou z nejčastějších uvedených chromosomálních poruch je vyjádřeno poměrným číslem. Výsledky biochemických markerů jsou vydávány nejen v absolutních číslech, ale také v násobcích mediánů, které má každá laboratoř stanovené pro vlastní metody a pro každý týden těhotenství.

Všechna pracoviště prenatalního screeningu jsou povinna sestavit do 60 dnů od skončení kalendářního roku jednotnou výroční zprávu (dle předem stanovených požadavků SLG) a provést rozbor provedených screeningových vyšetření a následných invazivních vyšetření, včetně uvedení prenatalně nediodagnostikovaných případů Downova syndromu a ostatních nejčastějších chromosomálních aberací. Výroční zprávu jsou pracoviště povinna zveřejnit na svých webových stránkách.

1) Laboratoře vyšetřující biochemické parametry screeningu

Laboratoře, které vyšetřují biochemické parametry screeningu VVV, musí splňovat požadavky uvedené v **Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství z roku 2010** (dále jen Doporučení pro laboratoře; Příloha). Všechny laboratoře provádějící některý z výše uvedených typů prenatalních screeningových testů jsou povinny mít zajištěn pravidelný interní i externí audit a požadovaný počet vyšetření a splňovat další podmínky stanovené Českou společností klinické biochemie (ČSKB) ČLS JEP ve výše uvedeném Doporučení a Metodickém návodu.

2) Genetická laboratoř

Genetické laboratoře, poskytující požadovaná a indikovaná diagnostická vyšetření musí splňovat požadavky na rozsah nabízených vyšetření (min. krátkodobá a dlouhodobá kultivace fetálních buněk a tkání, karyotypizaci buněk plodové vody a choriových klků, QF-PCR po AMC, CVS či kordocentéze, včetně možnosti provedení vyšetření microarrayí (arrayCGH a/nebo SNP array“). Požadavek akreditace těchto dle normy ISO 15189 vyplývá ze Zákona 373/2011Sb Díl 6 §28–29. Diagnostická vyšetření, která nejsou v dané genetické laboratoři aktuálně prováděna, ale požadavek na ně vyplývá z výsledku screeningového vyšetření, zajistí genetická laboratoř v součinnosti s jinou laboratoří (smluvní či spolupracující) dle požadavků normy ISO 15189.