

Česká společnost klinické biochemie (ČSKB ČLS JEP)  
Česká společnost nukleární medicíny (ČSNM ČLS JEP) -sekce imunoanalytických metod  
Společnost lékařské genetiky ČLS JEP (SLG ČLS JEP)  
Referenční laboratoř MZ ČR pro klinickou biochemii

Novelizace doporučení schválená výše uvedenými odbornými společnostmi 10.11.2014

## **Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství**

**Systém provádění screeningu v 1. a 2. trimestru je dán dohodou mezi laboratořmi, gynekology a genetiky.**

### **I. Požadavky na laboratoře**

1. Podmínkou pro zařazení laboratoře do sítě laboratoří provádějících laboratorní screening vrozených vývojových vad (VWV) je doložitelné provádění minimálně 1 000 screeningových vyšetření ročně pro každý analyt, což platí pro biochemické markery 1. nebo 2. trimestru, aby byly spolehlivě určeny mediány pro daný gestační den.
2. Laboratoř musí mít pracovníka odpovědného za provádění laboratorních screeningových vyšetření a za systém jeho vnitřní i externí kontroly kvality (vysokoškolsky vzdělaný pracovník se specializovanou způsobilostí v klinickém laboratorním oboru).
3. Laboratoř používá účinný systém vnitřní kontroly kvality, zúčastňuje se externího hodnocení kvality nejméně ve 2 kontrolních cyklech ročně pro každý z užívaných systémů screeningu a vlastní platné příslušné certifikáty/osvědčení.
4. Laboratoř má vypracovaný postup pro odběr, transport a skladování vzorků, které provádí v souladu s požadavky na preanalytickou fázi.
5. Laboratoř musí spolupracovat s ošetřujícím gynekologem a genetickým pracovištěm. Výsledky stanovení jednotlivých analytů musí být laboratoří vydány nejpozději do tří pracovních dnů od přijetí vzorku. Výsledek je vydáván ve formě rizika vypočítaného validovaným softwarem (obvykle screening ve 2. trimestru) nebo v přímo v absolutních hodnotách naměřených biochemických markerů, přičemž riziko je vypočítáno genetickým nebo gynekologickým pracovištěm (obvykle screening v 1. trimestru). Výsledek je předáván požadujícímu gynekologickému pracovišti, které je odpovědné za další postup. Přehled pracovišť provádějící laboratorní screening VWV je veden při RL MZ ČR pro KB v Praze. Tyto informace jsou uvedeny na webové stránce - <http://www1.lf1.cuni.cz/screeningDS>
6. K hodnocení výsledků screeningu a informování o nových trendech se každý rok koná setkání odpovědných pracovníků všech laboratoří v rámci pravidelné odborné akce.

### **II. Sledované parametry**

#### **1. Biochemické markery screeningu VWV**

Doporučené laboratorní markery pro 1. trimestr – PAPP-A, volný  $\beta$  hCG (optimální odběr 9+1 až 11+3 týden těhotenství), PIGF (optimální odběr 11+0 až 13+6 týden těhotenství)

Doporučené laboratorní markery pro 2. trimestr – hCG (ev. volný  $\beta$  hCG), AFP, uE3, (optimální odběr 15. až 17. týden těhotenství)

**Požadavky na preanalytické i analytické parametry metod, stejně jako na verifikaci, výpočty nejistot a externí kontrolu kvality jsou uvedeny v příloze č. 1.**

## 2. Ultrazvukové markery

Pro provádění screeningu v 1. trimestru těhotenství je nutné změření NT (nuchální translucence) dle metodiky Fetal Medicine Foundation (FMF) – London. Vyšetření může provádět sonografista po absolvování příslušného školení s vydáním osvědčení k tomuto vyšetření ve spolupráci s FMF Londýn. Toto osvědčení je potřeba pravidelně obnovovat, aby byla zajištěna dlouhodobá kvalita měřených parametrů.

Pro spolehlivé stanovení gestačního stáří pro screening je nutné ultrazvukové vyšetření plodu. Referenční měření pro určení gestačního stáří je ultrazvukové měření CRL v 11+0 – 13+6 týdnu gravidity.

Možnost vyšetření dalších UZ markerů trizomie 21 – nosní kosti, trikuspidální regurgitace, průtoku ductus venosus (ev. dalších) během UZ vyšetření na stanovení NT a morfologie plodu – tato varianta má vyšší DR při stejné, nebo nižší FPR. Certifikace a pravidelný audit pro obnovování licence je prováděn pro každý marker (NT, NB, TR, DV) zvlášť. Sonografista je ve screeningu oprávněn použít pouze ty markery, pro něž má platnou licenci.

## III. Vydávání výsledků - výpočet rizika

Výpočet rizika vrozené vývojové vady musí být prováděn pomocí spolehlivého validovaného počítačového programu, který upozorňuje na zvýšené riziko nejdůležitějších aneuploidií – trizomie 21. chromozomu (Downův syndrom), 18. chromozomu (Edwardsův syndrom) a 13. chromozomu (Patauův syndrom). Ve 2. trimestru na defekt neurální trubice (NTD).

## IV. Možnosti provádění screeningu Downova syndromu

### 1. Sekvenční varianta integrovaného testu

Sekvenční varianta integrovaného testu vychází z teoretického modelu integrovaného testu, který má nejvyšší výtěžnost, ale v praxi se nepoužívá.

10+0 -11+3: PAPP-A, resp. volný  $\beta$  hCG , ev. PIGF

11+3 - 13+6: měření NT sonografistou certifikovaným a pravidelně auditovaným u FMF Londýn

Předběžné vyhodnocení testu, vysoce pozitivní screening (obvykle riziko vyšší než 1:30) řešit okamžitě.

Ostatní těhotné ženy pokračují do 2. trimestru

15+0 – 20+0: AFP, hCG, uE3

Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření.

V místech, kde není možné nabídnout spolehlivé měření NT je doporučován **sérum integrovaný test**, který vyhodnocuje pouze biochemické markery stanovené v krvi v obou trimestrech.

**Oddělené vyhodnocování screeningu v 1. a 2. trimestru není doporučováno a je považováno za postup non lege artis!**

## 2. Kombinovaný test

10+0-13+6: PAPP-A, volný  $\beta$  HCG, ev. PIGF

11+3 – 13+6: změření NT sonografistou certifikovaným a pravidelně auditovaným u FMF Londýn

Výtěžnost tohoto testu je vyšší při odběru biochemických markerů v 10. – 11. týdnu než při odběru ve 13. týdnu.

## 3. Biochemický screening v 2. trimestru – (triple nebo double test)

15+0 – 20+0: AFP, hCG, resp. uE3

Samostatně prováděný je vhodný pro ženy, které se dostaví pozdě na vyšetření v 1. trimestru, nebo při později zjištěné graviditě.

### Falešná pozitivita a výtěžnost

	Falešná pozitivita při 85% výtěžnosti	Výtěžnost při 5% falešné pozitivitě
<b>Integrovaný/sekvenční test</b>	<b>0,8 - 1,2 %</b>	<b>94%</b>
<b>Sérum integrovaný test</b>	<b>2,7 - 5,2 %</b>	<b>85%</b>
<b>Kombinovaný test</b>	<b>3,8 - 6,8 %</b>	<b>85%</b>
<b>Triple nebo double test</b>	<b>9,3 - 14 %</b>	<b>69%</b>

Rozmezí u FP záleží na týdnu těhotenství, ve kterém je test prováděn

## V. Neinvazivní prenatální testování (NIPT)

Neinvazivní prenatální testování (NIPT) je novou, moderní technikou využívající masivní paralelní, nebo cílené sekvenování volné DNA (cfDNA) v krvi matky pro přesnou detekci chromozomálních vad plodu. Základním rozdílem z pohledu získávané informace je skutečnost, že NIPT vyhodnocuje přímo genetickou výbavu plodu, kdežto standardní screening pro hodnocení využívá surogátních parametrů asociovaných s hledaným onemocněním. Tento nový způsob testování chromozomálních vad plodu byl zaveden do praxe roku 2011. Zavedením NIPT došlo k výraznému zlepšení parametrů screeningu u těhotné populace. NIPT přináší těhotným ženám velmi přesné informace v brzkém stádiu těhotenství, ale v současné době jej stále nemůžeme považovat za diagnostickou metodu. NIPT nabízí jednoduchost provedení a vysokou přesnost bez obavy z invazivního zákroku. Jednotlivé neinvazivní testy se od sebe mohou odlišovat způsobem vyjádření výsledku, přesností, spektrem vyšetřovaných onemocnění a možnostmi použití.

### 1. Vlastnosti mimobuněčné DNA (cfDNA) v maternální cirkulaci

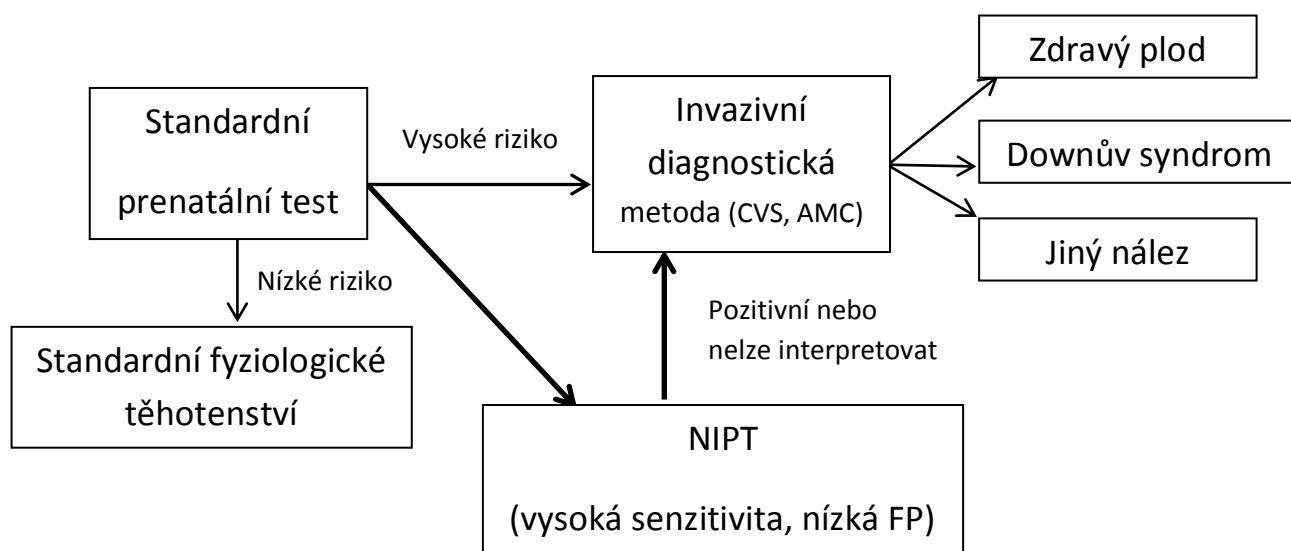
V plazmě matky lze identifikovat jak mateřskou mimobuněčnou DNA, která pochází z bílých krvinek nebo jiných mateřských tkání, tak mimobuněčnou DNA fetálního původu, která pochází z placenty.

Mimobuněčná DNA je tvořena relativně malými fragmenty (150-200 bp), které reprezentují kompletní genetickou informaci. Fetální DNA tvoří 4-25% z celkové mimobuněčné DNA (průměrně ~10%).

### 3. Provádění NIPT

NIPT je možno provádět od 10. týdne těhotenství, při čemž pro validní výsledek se doporučuje stanovení fetální frakce (obsahu cffDNA plodu), které by měla být vyšší než 4%. V současné době je možné test provádět buď jako základní screeningový test také u nízkorizikové populace, nebo může být proveden v kontingenčním režimu pro ověření pozitivních výsledků získaných standardním způsobem screeningu.

#### NIPT v režimu kontingenčního testu při provádění standardního screeningu



#### Efektivita standardního screeningu versus NIPT

Předpoklad: 100.000 těhotných žen, prevalence Downova syndromu 1:500

Typ screeningu	senzitivita (%)	FPR (%)	Počet identifikovaných plodů s DS	Počet FP výsledků	PPV testu
<b>Kombinovaný test</b>	90	5	180	4,991	1 z 28 (3,57 %)
<b>Integrovaný test</b>	90	2	180	1,996	1 z 12 (8,33 %)
<b>cfDNA test</b>	99	0,2	198	0,4	1 ze 2 ( 50 %)

**Toto doporučení je v souladu s doporučením České gynekologické a porodnické společnosti (ČGPS) a Společnosti lékařské genetiky (SLG) ČLS JEP. (viz Přílohy č. 2 a 3)**

## Zkratky

hCG – lidský choriový gonadotropin

volný  $\beta$  hCG – volná beta podjednotka choriového gonadotropinu

AFP - alfa 1 fetoprotein

uE3 – volný estriol

PAPP-A – specifický těhotenský protein A

PIGF – placentární růstový faktor

RIA – kompetitivní radioimunoanalýza

IRMA – sendvičová radioimunoanalýza

TRACE – fluorescenční imunoanalýza patentovaná B.R.A.H.M.S.

DR – Detection rate – výtěžnost

PPV – Positive predictive value

FPR – False positive rate – falešná pozitivita

CRL – temeno-kostrční vzdálenost

UZ markery - ultrazvukové markery

NT - nuchální translucence

NB – Nose bone – nosní kost

TR – Trikuspidální regurgitace

DV – Ductus venosus

FMF - Fetal Medicine Foundation – Nadace fetální medicíny z Londýna

cfDNA – cell free DNA – mimobuněčná DNA

cffDNA – cell free fetal DNA – mimobuněčná DNA fetálního původu

CVS – Odběr choriových klků

AMS – aminocentéza

RfB - Referenzinstitut für Bioanalytik

UK NEQAS - United Kingdom National External Quality Assessment Schemes

SEKK – Systém externí kontroly kvality

## Literatura

Driscoll DA, Gross S.: Prenatal Screening for Aneuploidy. *N Engl J Med* 2009;360:2556-2562.

Loucký J, Springer D, Zima T: Možnosti screeningu Downova syndromu v České republice, *Česká gynekologie*, 73, 2008, 3, 160-162

Malone F, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Buckowski R, et al. First- trimester or second-trimester screening, or both, for Down´s syndrome. First and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. *N Engl J Med* 2005;353:2001-11.

Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, Board of the Canadian College of Medical Geneticists. SOGC Clinical Practice Guideline No. 187, February 2007. Prenatal Screening for Fetal Aneuploidy. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;29(2):146-161.

Spencer K, Cowans NJ, Molina F, Kagan KO, Nicolaides KH. First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of preterm or early preterm delivery. *Obstet Gynecol* 2008;31:147-52.

Screening for Down´s syndrome: UK NSC Policy recommendations 2011–2014 Model of Best Practice Available online at <http://anr-dpn.vjf.cnrs.fr/sites/default/files/NSCModel-of-Best-Practice-DS%20screening2011-2014Sept2011.pdf>

Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:45-67.

Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down´s syndrome: the results of Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technology Assessment* 2003;7:24-27

Peter Benn et al: Position Statement from the Aneuploidy Screening Committee on Behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis, April 2013. Available online at [www.ispdhome.org](http://www.ispdhome.org)

## Příloha č. 1

### 1. Závazná preanalytika a analytika

#### 1.1. Preanalytické požadavky

Analyt	Odebíraný materiál (*)	Stabilita séra (plazmy) +20 až 25 ° C	Stabilita séra (plazmy) při +4 až +8 ° C	Stabilita séra (plazmy) při -20 ° C	Změna hladiny při nedodržení preanalytiky
Volný β hCG	Plná krev	6 h	1 d	1 r	↑↑
hCG	Plná krev	12 h	3 d	1 r	-
AFP	Plná krev	12 h	7 d	1 r	-
Volný estriol (uE3)	Plná krev	6 h	1 d	1 r	↓↓
PAPP-A	Plná krev	12 h	3 d	1 r	-
PIGF	Plná krev	12 h	1 d	1 r	-

\*Vlastní stanovení se provádí v krevním séru nebo plazmě.

Plnou krev je vhodné doručit do laboratoře do 3. h po odběru, nejpozději však do 8 h. Po odběru je potřeba co nejdříve separovat sérum pro stanovení volného β hCG a uE3.

#### 1.2. Analytické požadavky I.

Pro všechny používané biochemické parametry (volný β hCG, hCG, AFP, uE3, PAPP-A, PIGF) je vyžadována každoroční verifikace metody.

Analyt	Návaznost*	Doporučené metody
Volný β hCG	WHO 4th IS NIBSC (WHO, 1st IRP 75/551)	TRACE, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
hCG	WHO 4th IS NIBSC (WHO, 1st IRP 75/537)	RIA, IRMA, TRACE, chemiluminiscenční, fluorescenční a elektrochemiluminiscenční metody
AFP	WHO 1th IS NIBSC	IRMA, TRACE, fluorescenční, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
Volný estriol (uE3)	Ref. metoda: Siekmann et al., J.Steroid Biochem. 11 (1979) 117-123 RIFB Bonn (G)	RIA, chemiluminiscenční metody
PAPP-A	WHO IRP 78/610	TRACE, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody
PIGF	Placental growth factor Ala 21 - Arg 149, human, rDNA-derived (PIGF, PIGF-1) NIBSC 09/272	TRACE, ILMA, IRMA, chemiluminiscenční a elektrochemiluminiscenční metody

*\*Podrobné a průběžně aktualizované informace o referenčních metodách a referenčních materiálech lze nalézt např. na webové adrese <http://www.bipm.org> (konkrétně např. dokument [http://www.bipm.org/utis/en/xls/jctlm\\_listI.xls](http://www.bipm.org/utis/en/xls/jctlm_listI.xls), dostupné též z [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz) a [www.cmi.cz](http://www.cmi.cz)) nebo jen o referenčních materiálech na webové adrese: <http://www.nibsc.ac.uk/>*

### **1.3. Analytické požadavky II.**

**Pro všechny používané biochemické parametry (volný  $\beta$  hCG, hCG, AFP, uE3, PAPP-A, PlGF) musí být opakovatelnost\* do 6 % a reprodukovatelnost\*\* do 10 %**

*Průměrná hodnota získaná z měření tří kontrolních vzorků s různými koncentracemi analytu (volenými v rozmezí celého pracovního rozsahu metody - každý v jeho jiné třetině). Měření je prováděno: \*) minimálně 6x za podmínek opakovatelnosti, \*\*) minimálně 10x za podmínek reprodukovatelnosti (pokaždé v jiném dni)*

### **2. Verifikace a nejistota měření**

Pro měření sledovaných parametrů používá laboratoř pouze validované metody. Validaci in vitro diagnostik (s CE značkou) provádí jejich výrobce. Nejsou přípustné jakékoliv změny metodiky. Laboratoř má provedenu verifikaci metod a stanovenou rozšířenou nejistotu měření v souladu s doporučením odborných společností např. [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz) Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků měření/ klinických testů v klinických laboratořích.

### **3. Doporučené systémy externí kontroly kvality**

Pro 1. trimestr – RfB, INSTAND, SEKK, UK NEQAS

Pro 2. trimestr - RfB, SEKK, UK NEQAS





## 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, placentopathie, 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 prenatalního 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 prenatalních screeningových programů**

a) **Kombinovaný test je základním prenatalním screeningovým programem.** Markery kombinovaného testu jsou: **věk, hmotnost těhotné, těhotenský plasmatický protein A (PAPP-A), volná beta podjednotka lidského choriového gonadotropinu (free $\beta$ -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 ( $\mu$ E3).** **Společné vyhodnocení po dokončení všech vyšetření** (pozitivní asi další 2 % vyšetřených).

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

e) **Samotný triple test (hCG, AFP,  $\mu$ 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  $\beta$ -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 genetik, 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](http://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 nálezu 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 pozitivivity 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 aneuploidii rychlými metodami (QF-PCR, FISH).

**NIPT** kontinuálně rozšiřuje spektrum neinvazivně vyšetřovaných chromosomálních aberací – od nejčastějších aneuploidii 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](mailto:cls@cls.cz), [www.cls.cz](http://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.

# ZÁSADY DISPENZÁRNÍ PÉČE VE FYZIOLOGICKÉM TĚHOTENSTVÍ

Čes. Gynek.  
2012, 77, č. 3  
s. 265-266

## Doporučený postup

České gynekologické a porodnické společnosti (ČGPS)

České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně (ČLS)

Pracovní skupina: Vít Unzeitig, Alena Měchurová, Marek Lubušský

Materiál je konsenzuálním stanoviskem sekcí ČGPS ČLS JEP

Oponenti:

výbor Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP výbor Sekce ultrazvukové diagnostiky ČGPS ČLS JEP

výbor Sekce ambulantních gynekologů ČGPS ČLS JEP

výbor České gynekologicko-porodnické společnosti ČLS JEP

*Schváleno výborem ČGPS ČLS JEP dne 17. 5. 2012*

## Následující přehled vymezuje základní frekvenci kontrol a rozsah péče u žen s fyziologicky probíhajícími těhotenstvími.

Při prvním vyšetření v těhotenské poradně rozhodne ošetřující lékař na základě získaných anamnestických údajů a aktuálního klinického nálezu o míře případného rizika a těhotnou ženu zařadí do některé ze tří následujících skupin:

**Těhotné s malým rizikem** jsou pacientky bez rizikových faktorů v anamnéze a výsledky všech klinických i laboratorních vyšetření v průběhu gravidity jsou normální. Takové těhotenství označujeme jako fyziologické a dispenzární prenatální péče je poskytována:

- do 36. týdne gravidity včetně v intervalu 4–6 týdnů (optimálně 1x měsíčně),
- od 37. týdne gravidity do termínu porodu jedenkrát týdně.

Těhotná může být předána do ambulantní péče zdravotnického zařízení, které povede porod, po vzájemné dohodě – nejpozději však v termínu porodu. Péče o potermínové těhotenství (*blíže viz doporučený postup Péče o potermínové těhotenství*) v ambulanci registrujícího gynekologa je možná na základě jeho dohody se zdravotnickým zařízením ústavní péče, kde bude žena rodit.

**Těhotné se středním rizikem** mají svoji anamnézu zatíženu rizikovými faktory. Výsledky jejich vyšetření jsou normální, ale vyžadují opakování. Takové těhotenství označujeme jako rizikové. Frekvence návštěv je závislá na aktuálním vývoji zdravotního stavu ženy. Objeví-li se ve sledování rizikových těhotných žen laboratorní výsledky mimo hranice fyziologie, musí být převedeny do třetí skupiny. O rozsahu a frekvenci laboratorních či konziliárních vyšetření rozhoduje ošetřující gynekolog podle charakteru a závažnosti rizikového faktoru.

**Těhotné s vysokým rizikem** mohou (ale nemusí) mít v anamnéze rizikové faktory. Charakteristická je pro ně přítomnost patologických klinických či laboratorních výsledků, které definují konkrétní riziko. Do této skupiny patří i ženy, jejichž specifický medicínský problém definuje riziko již na počátku gravidity. Takové těhotenství označujeme jako patologické. Frekvence návštěv i rozsah laboratorních či konziliárních vyšetření jsou zcela individuální a rozhoduje o nich ošetřující gynekolog podle charakteru a závažnosti klinického stavu těhotné.

Klinická a laboratorní vyšetření při poskytování prenatální péče rozdělujeme na:

- **pravidelná** (provádějí se při každé návštěvě těhotenské poradny),
- **nepravidelná** (provádějí se pouze v určeném týdnu těhotenství).

### Pravidelná vyšetření:

- sběr anamnestických údajů a určení míry rizika,
- zevní vyšetření těhotné s určením hmotnosti a krevního tlaku,
- chemická analýza moči,
- bimanuální vaginální vyšetření se stanovením cervix-skóre (podle zvažení lékaře),
- detekce známek vitality plodu.

### Nepravidelná vyšetření:

#### Komplexní prenatální vyšetření do 14. týdne (14+0):

Jeho nedílnou součástí je kromě pravidelně prováděných vyšetření i vystavení těhotenské průkazky s podrobnou informací o dalším průběhu prenatální péče.

Těhotné ženě by měl být nabídnut screening nejčastějších morfologických a chromozomálních vrozených



vývojových vad plodu a poskytnuta informace o metodách screeningu, poskytovateli i formě úhrady. Preferován by měl být kombinovaný (biochemický a ultrazvukový) screening v I. trimestru těhotenství, zatím však není hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

Invazivní metody prenatální diagnostiky na základě vyhodnocení výsledku screeningu indikuje a provádí pouze gynekolog.

#### **Laboratorní vyšetření do 14. týdne (14+0):**

- stanovení krevní skupiny AB0 + RhD,
- screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek,
- stanovení hematokritu a počtu erytrocytů, leukocytů i trombocytů, hladiny hemoglobinu,
- sérologické vyšetření HIV, HBsAg a protilátek proti syfilis,
- glykémie na lačno.

#### **Ultrazvukové vyšetření do 14. týdne (14+0):**

Písemná zpráva musí zhodnotit:

- počet plodů, u vícečetného těhotenství chorionicitu a amnionicitu (*blíže viz doporučený postup Ultrazvuková vyšetření v průběhu prenatální péče o vícečetná těhotenství*),
- vitalitu,
- biometrii, při které je měřen parametr CRL (obrazová dokumentace je podmínkou výkonu) – naměřenou hodnotu je nutno uvést i v milimetrech, podle ní je určen termín porodu = DATACE těhotenství.

#### **Ultrazvukové vyšetření (20+0 – 22+0):**

Písemná zpráva musí zhodnotit:

- počet plodů, u vícečetného těhotenství *viz doporučený postup Ultrazvuková vyšetření v průběhu prenatální péče o vícečetná těhotenství*,
- vitalitu,
- biometrii, při které jsou měřeny parametry BPD, HC, AC a FL, (při diskrepanci mezi výsledky biometrie plodu a datací gravidity podle CRL v I. trimestru je nutné zajistit adekvátní konzultaci pacientky se stanovením dalšího postupu na pracovišti s odborností „gynekologie a porodnictví“ – 603),
- morfologii plodu (se zápisem „bez zjištěných morfologických abnormalit plodu“),
- lokalizaci placenty (zasahuje-li placenta do dolního děložního segmentu, nutno změřit vzdálenost dolního pólu od vnitřní branky, event. přesah vnitřní branky),
- množství plodové vody.

#### **Orální glukózo-toleranční test (24+0 – 28+0):**

(*blíže viz Doporučení k provádění screeningu poruch glukózy tolerance v graviditě*).

#### **Profylaxe RhD aloimunizace u RhD negativních žen (27+1 – 28+0):**

Měla by být zajištěna např. aplikací anti-D imunoglobulinu RhD negativním těhotným (*blíže viz Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen*).

#### **Laboratorní vyšetření (27+1 – 32+0):**

- stanovení hematokritu a počtu erytrocytů, leukocytů i trombocytů, hladiny hemoglobinu (sérologické vyšetření HIV, HBsAg a protilátek proti syfilis se provádí pouze výběrově).

#### **Ultrazvukové vyšetření (30+0 – 32+0):**

Písemná zpráva musí zhodnotit:

- počet plodů, u vícečetného těhotenství *viz doporučený postup Ultrazvuková vyšetření v průběhu prenatální péče o vícečetná těhotenství*,
- vitalitu,
- polohu plodu,
- biometrii, při které jsou měřeny parametry BPD, HC, AC a FL, (při poloze plodu koncem pánevním je nutné měřit obvod hlavičky, při diskrepanci mezi výsledky biometrie plodu a datací gravidity podle CRL v I. trimestru je nutné zajistit adekvátní konzultaci pacientky se stanovením dalšího postupu na pracovišti s odborností „gynekologie a porodnictví“ – 603),
- lokalizaci placenty (zasahuje-li do dolního děložního segmentu, nutno změřit vzdálenost dolního pólu od vnitřní branky, event. přesah vnitřní branky),
- množství plodové vody.

#### **Vaginorektální detekce streptokoků skupiny B (35+0 – 38+0):**

(*blíže viz doporučený postup Diagnostika a léčba streptokoků skupiny B v těhotenství a za porodu*).

#### **Kardiotokografický non–stress test (od 38. týdne)**

(*blíže viz Interpretace fetálního kardiotokogramu dle FIGO*)

- do termínu porodu 1x týdně, po termínu porodu *viz doporučený postup Péče o potermínové těhotenství*.

**Ostatní vyšetření zde neuvedená překračují rámec dispenzární péče o fyziologické těhotenství.**