

# Genetisk Fosterdiagnostik med NIPT (Non-invasive prenatal testing)



Izabella B Körberg

Sjukhusgenetiker, PhD, Klinisk genetik, Akademiska sjukhuset, Region Uppsala/  
Regionsamordnare i Verksamhetschefgruppen Labmedicin Sjukvårdsregionen Mellansverige



# Upplägg

- Prenatal genetisk diagnostik
- Varför NIPT?
- Vad är NIPT? Vilka avvikelser detekteras?
- Hur går NIPT till? Principen
- NIPT svar: vad innebär negativ/positiv NIPT?
- Tvilling graviditet och NIPT
- Vilka erbjuds NIPT?
- Riktlinjer
- Frågor



# Prenatal genetisk diagnostik

## Invasiv

- Vanligen moderkaksprov eller fostervattenprov
- Indikation
  - Strukturell ultraljudsavvikelse
  - Ökad KUB-risk
  - Hög ålder
  - Oro
    - Aneuploidi (numerisk avvikelse)
    - Mikrodeletion/duplikationssyndrom
    - Strukturell kromosomavvikelse
- Riktad
  - Känd genetisk avvikelse i familjen

## Icke invasiv

- NIPT
  - Aneuploidi (numerisk avvikelse)



## Varför NIPT?

3-5% av alla gravida kvinnor genomgår invasiv fosterdiagnostik

- Moderkaksprov
- Fostervattenprov

Ökad missfallsrisk: 0,1-0,5%

NIPT: lika riskfyllt som ett blodprov

## NIPT: Ingen nyhet längre

- Första testen i Kina, tidigt 2011
- Introducerades i USA, okt 2011
- Tillgängligt i många länder i hela världen
- Framförallt kvinnor med högrisk graviditeter prioriteras
- Relativt dyrt TEST

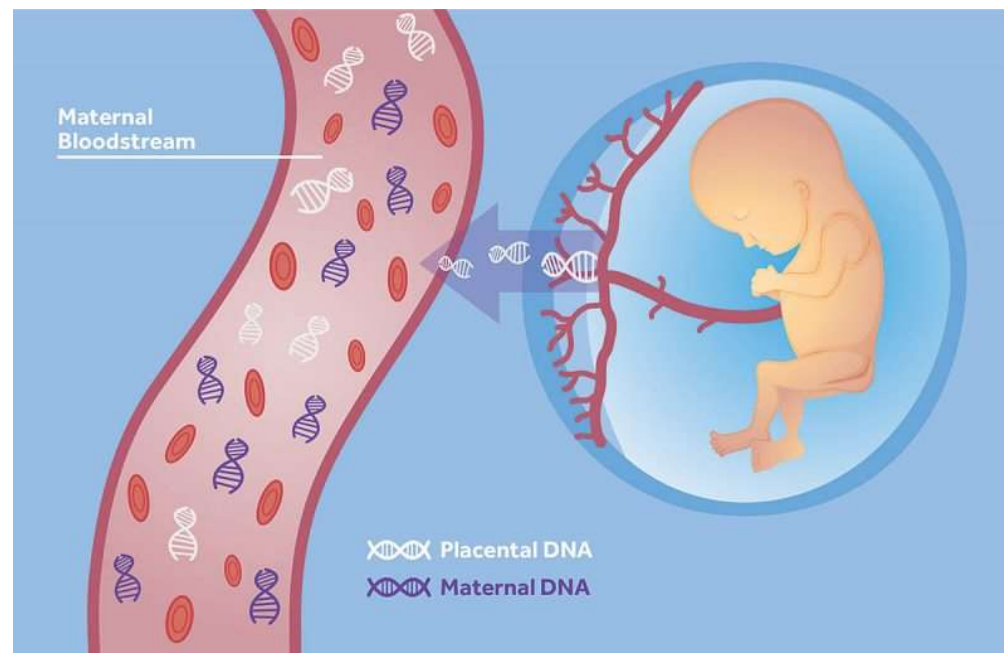
# Vad är NIPT?

## Cell-fritt DNA (cfDNA) i plasma

- Korta DNA fragment
- 80% är <200bp

## Ursprung

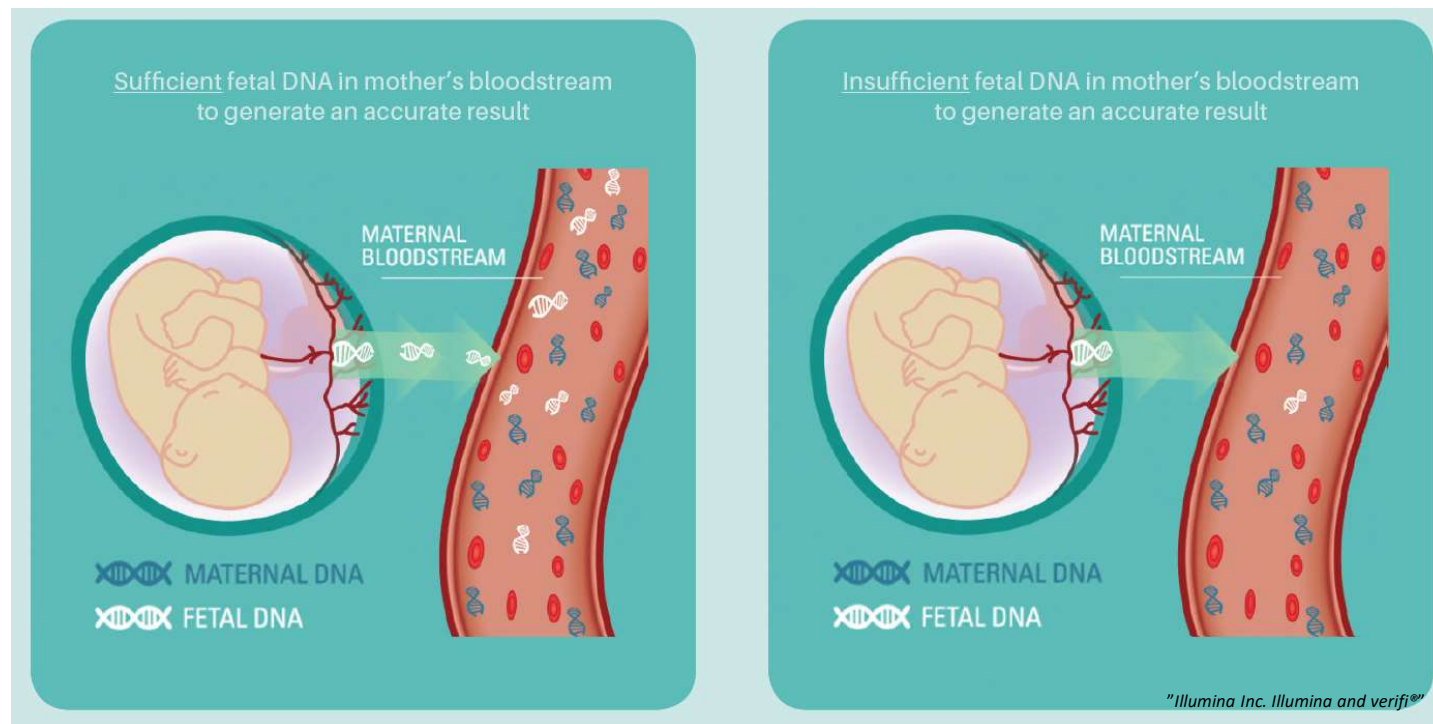
- Mamma (ca 90%)
  - Fettceller
  - Vita blodceller
- Foster (ca 10%)
  - Moderkakan (Trophoblaster)



# Vad är NIPT?

## Cell-fritt foster DNA testas

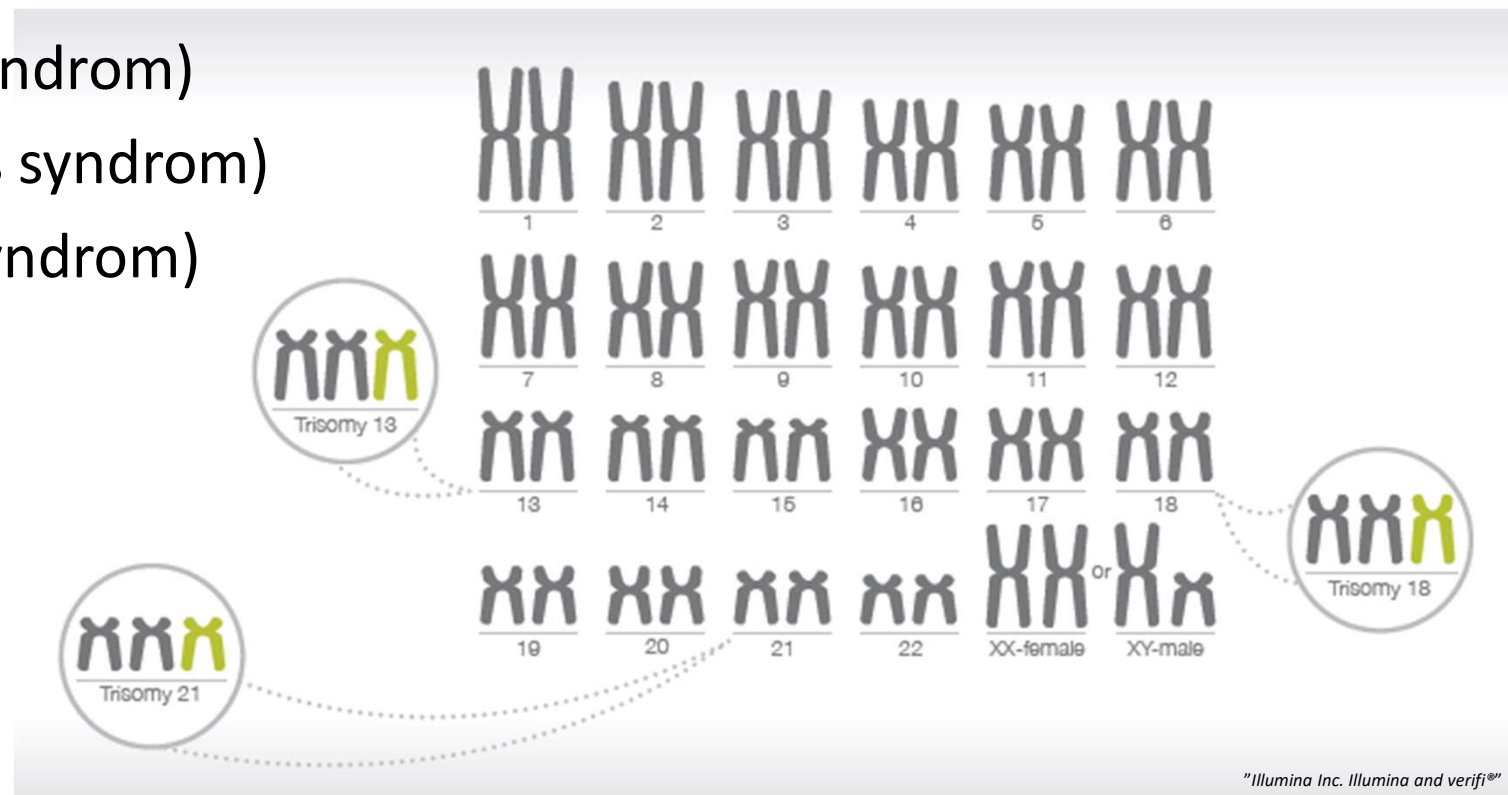
- Utgör ca 10% av den gravida kvinnans cellfria DNA i v 10
- Mängd påverkas bl a av den gravida kvinnans BMI
- Bryts ned efter barnets födsel,  $t(1/2)$ : 16 min
- Cell-fritt foster DNA upptäcktes av Dennis Lo et al 1997



# Vilka avvikelser detekteras?

## NIPT detekterar:

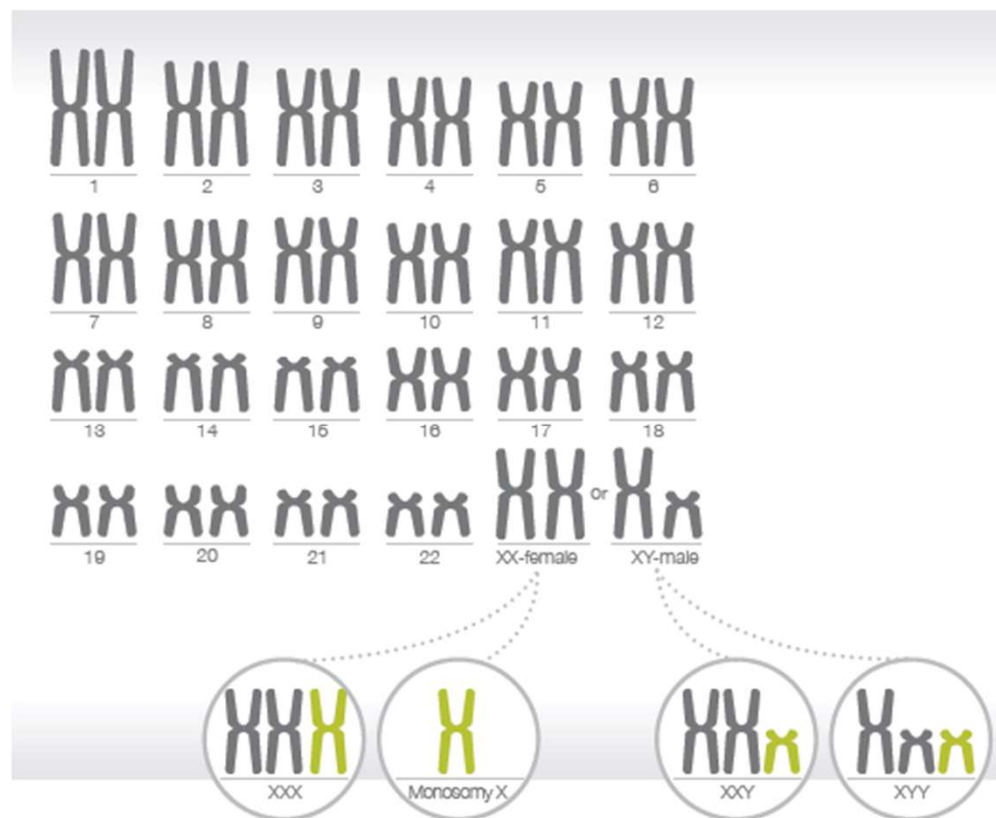
- trisomi 13 (Patau syndrom)
- trisomi 18 (Edwards syndrom)
- trisomi 21 (Down syndrom)



# Vilka avvikelser detekteras?

## NIPT detekterar könskromosomavvikelser:

- Tripple X
- Monosomi X (Turner syndrom)
- XXY (Klinefelter syndrom)
- XYY





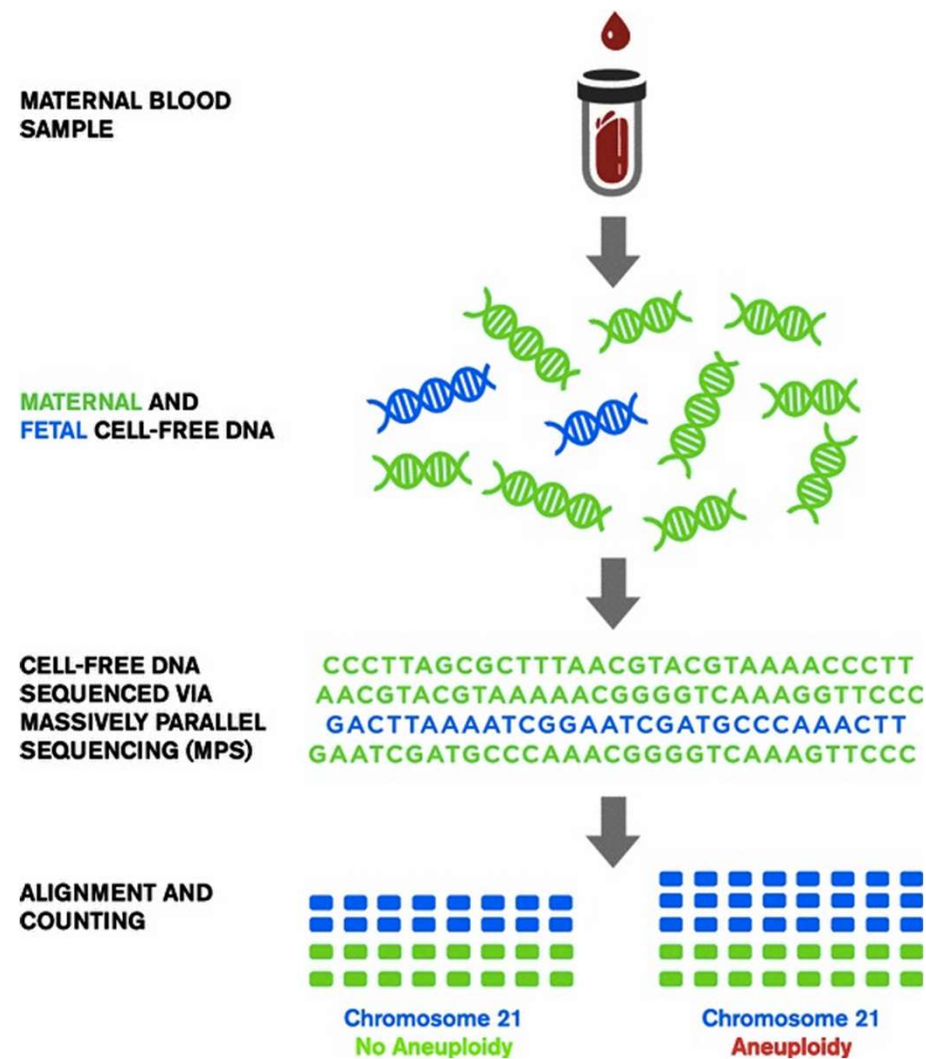
# Metoder

- Massiv parallell shotgun sekvensering (MPSS)
  - Hela genomet sekvenseras
  - Dyrare
  - Lättare att utöka analysen
- Riktad massiv parallell sekvensering (t-MPS)
  - Sekvensering av kromosomer som är av intresse
  - Billigare
- SNP-baserad riktad massiv parallell sekvensering (t-MPS)
  - Ursprung



# NIPT – principen i korthet

1. Plasma isoleras från blodprov
  - Cellfritt DNA med maternell och fetalt ursprung
2. Sekvensbibliotek förbereds och prov sekvenseras
3. Sekvenserat prov mappas mot ett referensgenom
4. Fetal fraktion estimeras och antalet sekvensläsningar över varje kromosom räknas
  - Viktigt att estimeras fetal fraktion, vid normalt antal kromosom 21 representerar kromosom 21 ca 1.36% av totala cellfria DNAt, vid trisomi ökar det till ca 1.42% (0.06% skillnad)
  - A priori antagandet, mamman är diploid. Finns fler läsningar över t.ex kromosom 21, finns det en risk att fostret har Down syndrom (trisomi 21).
5. Resultat rapporteras till inremitterande

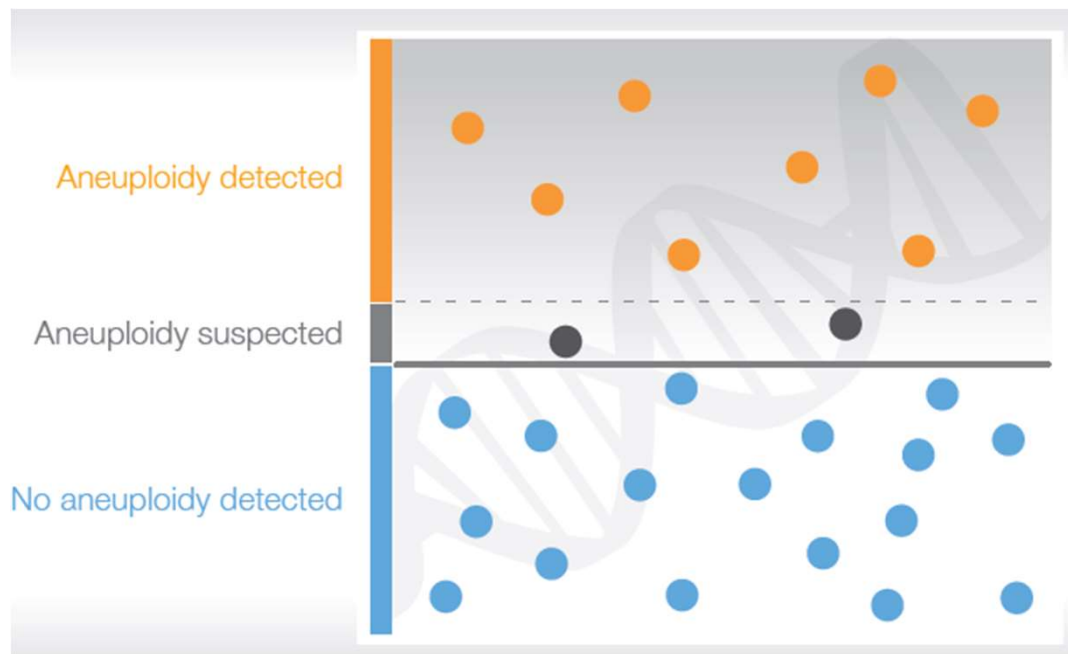


# Hur går NIPT till?

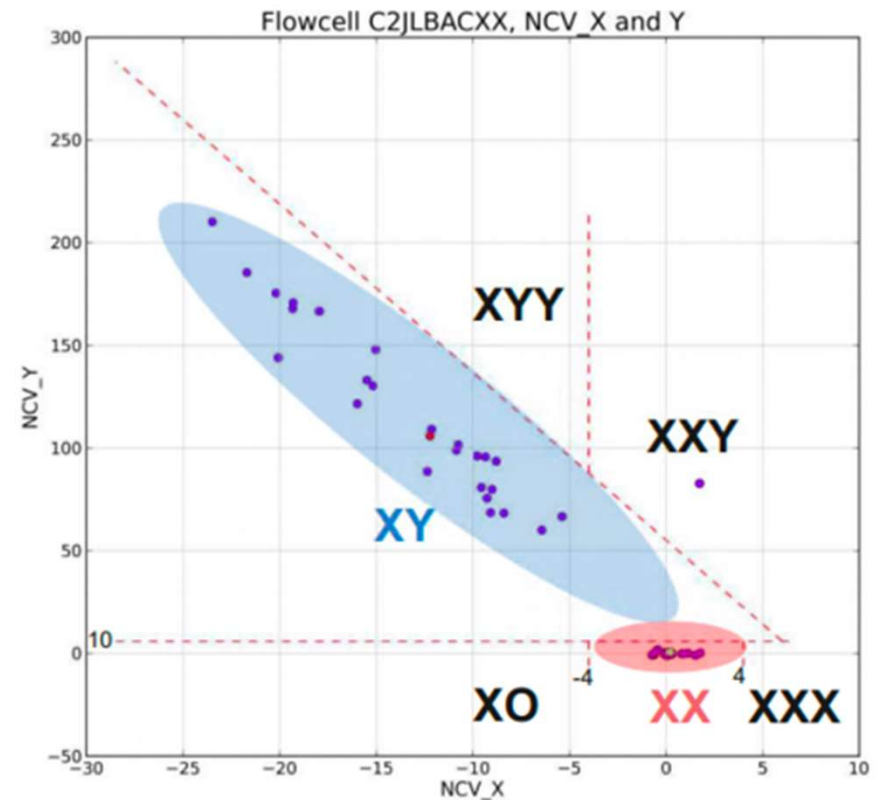
- Genetik vägledning – mödravård
- KUB eller tidigt ultraljud, fastställa antal foster
- Blodprov tas i BCT-rör, oftast från graviditetsvecka 10
- Svar efter ca 10 arbetsdagar
  - Negativt resultat, ingen avvikelse detekterad
  - Positivt resultat, avvikelse detekterad
  - Inkonklusivt resultat



# NIPT svar: vad innebär negativ/positiv NIPT?



*"Illumina Inc. Illumina and veriFi"*



# NIPT svar: vad innebär negativ/positiv NIPT?

- Negativ resultat: negativt prediktivt värde (NPV), sannolikheten att fostret EJ bär på avvikelsen vid negativ NIPT, (sann negativ)
- Positivt resultat: positivt prediktivt värde (PPV), sannolikheten att fostret bär på avvikelsen vid positiv NIPT, (sann positiv)
- Inkonklusivt, kan ha olika orsaker
  - För låg fetal fraktion -> nytt prov
  - Annan avvikelse – kan anas vid helgenom NIPT -> invasiv provtagning och diagnostik
  - Tekniska problem (misslyckad lab)

# NIPT svar: vad innebär negativ/positiv NIPT?

- PPV och NPV beror på flera variabler:
  - Förekomst av avvikelser hos kvinnor i en viss ålder.
    - Dvs. risken är högre för trisomi 21 hos en äldre kvinna mot hos en yngre
  - Sensitiviteten och specificiteten för respektive kromosom.
    - Sensitiviteten, andelen individer med sjukdom vid positivt test, (true positive rate)
    - Specificiteten, andelen individer som är friska vid negativt test, (true negative rate)

Kromosom	Sensitivitet	Specificitet
Trisomi 21	>99,9 %	>99,8 %
Trisomi 18	97,4 %	99,6 %
Trisomi 13	87,5 %	>99,9 %

NIPT status	Positiv (PPV)		Negativ (NPV)	
	30	40	30	40
Ålder				
T21	61 % pos (39 % neg)	93 % pos (7 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
T18	21 % pos (79 % neg)	69 % pos (31 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
T13	10 % pos (90 % neg)	50 % pos (50 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
XXX	27 % pos (73 % neg)	45 % pos (55 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
X	41 % pos (59 % neg)	41 % pos (59 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
XXY	29 % pos (71 % neg)	52 % pos (48 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
XYY	25 % pos (75 % neg)	25 % pos (75 % neg)	>99 % neg (<1 % pos)	>99 % neg (<1 % pos)
Triploidi	-	-	-	-

- Positivt prediktivt värde (PPV), sannolikheten att fostret bär på avvikelsen vid positiv NIPT, (sann positiv)
- Negativt prediktivt värde (NPV), sannolikheten att fostret EJ bär på avvikelsen vid negativ NIPT, (sann negativ)

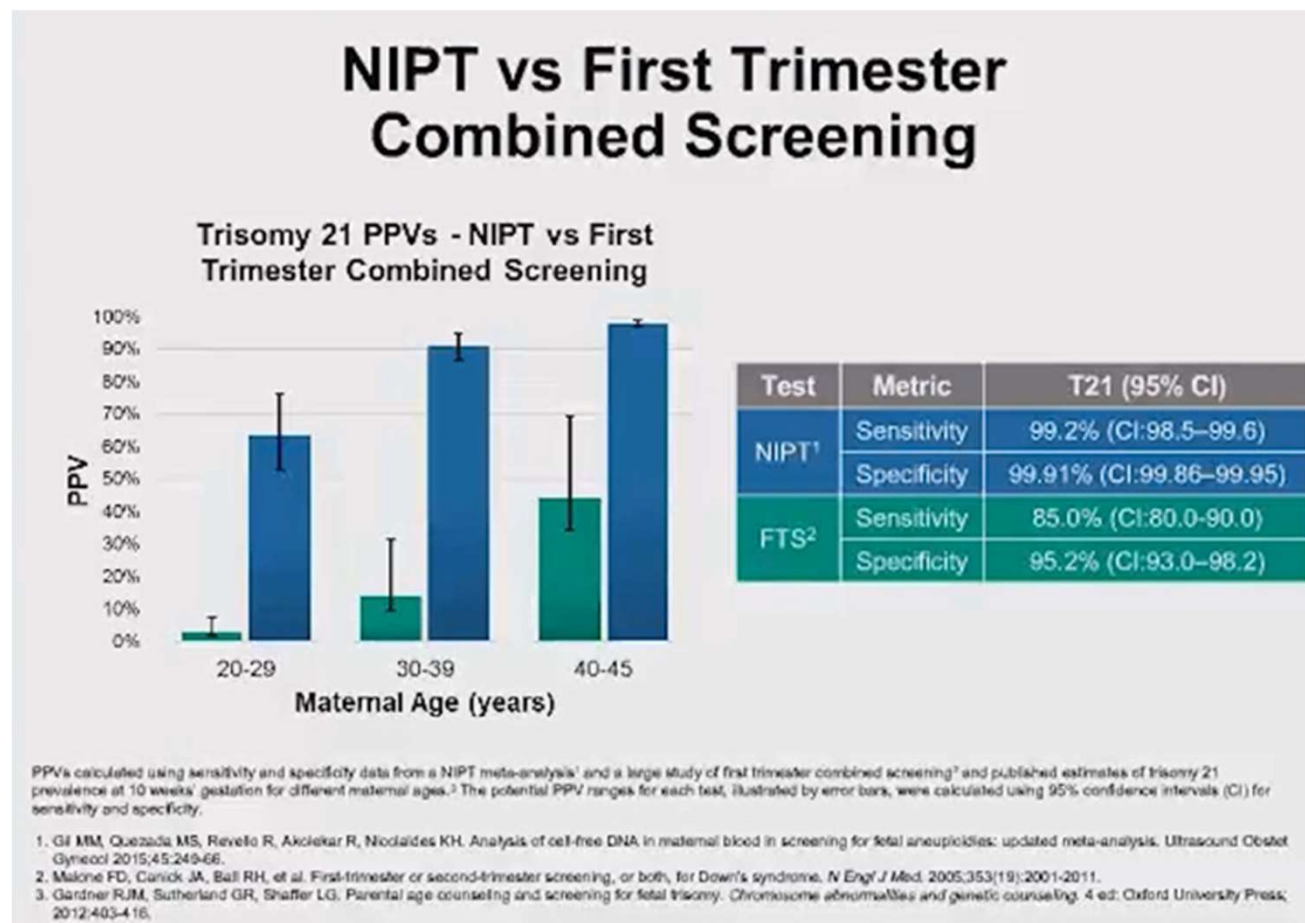
# Sammanfattning av PPV/NPV

- Positiv NIPT bör ALLTID konfirmeras med invasivt prov (fostervattenprov/moderkaksprov) och diagnostik
- Rekommenderad vägledning av patienter med positiv NIPT som ej vill genomgå invasiv diagnostik
- Negativ NIPT innebär att inget (>99 %) indikerar avvikande antal kromosom 13, 18, 21 och könskromosomer
- Negativ NIPT föranleder ingen uppföljande analys



# NIPT vs. KUB (första trimester screening)

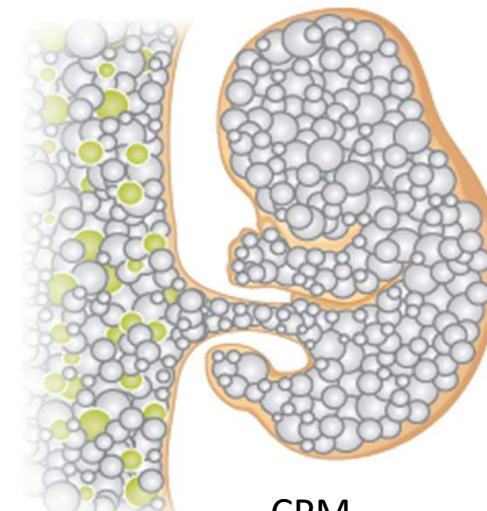
- 20-29 år PPV
  - FTS (KUB): <10%
  - NIPT: ca 60%
- 30-39 år PPV
  - FTS (KUB): 10-20%
  - NIPT: ca 90%
- 40-45 år PPV
  - FTS (KUB): 40-50%
  - NIPT: ca 100%



NIPT är som test överlägset för att prediktera de vanligaste kromosomavvikelserna

# Begränsningar med NIPT

- "Confined placenta mosaicism\*" (CPM)
- Sann fetal mosaicism\*
- "Vanishing twin"
- Maternell malignitet
- Könskromosomavvikelse hos modern
- Större maternell CNV (copy number variations)
- Organtransplanterad kvinna med organ från man kan ge utslag för Y-kromosommaterial (inkl. blodtransfusion senaste månaderna)



CPM

"Illumina Inc. Illumina and veriFi"

\*Mosaicism: flera (minst två) populationer av celler med olika genetisk uppsättning

# NIPT och duplex (tvilling graviditet)

- Fullt möjligt för duplex graviditeter
  - Begränsningar: totala mängden cell fritt DNA (cfDNA) analyseras, oklart vilket foster det kommer ifrån vid positiv NIPT
  - Total mängd cfDNA förväntas vara högre vid duplex, kan vara skev fördelning mellan fostren, totalt lägre andel per foster
  - Kan ej beräkna PPV vid positiv NIPT vid duplex
  - Färre duplex än singletons validerade
    - Falsk positiv frekvens 0,2 %
    - Inga falsk negativa rapporterade

# Vilka erbjuds NIPT?

- För dyrt att erbjuda alla
- Hög risk efter KUB-test
  - Tidigt ultraljud+biokemiskt test
  - Regioner har definierat högrisk olika
- Hög ålder
- Oro (ovanligt att erbjudas NIPT)
- Ultraljudsavvikelse och oro för invasiv provtagning



# Riktlinjer

## Analys av foster-DNA i kvinnans blod: icke-invasiv fosterdiagnostik (NIPT) för trisomi 13, 18 och 21

SFOG riktlinje 2016, framtagen av Ultra ARG tvärprofessionellt

Vid KUB-sannolikhet  $\geq 1/50$  erbjuds invasiv fosterdiagnostik. Analys med fullständig karyotyp eller microarray bör övervägas. I denna grupp identifieras majoriteten av trisomier, men även kromosomavvikelse av klinisk betydelse som inte detekteras med NIPT.

KUB-sannolikhet  $1/51 - 1/1000$  erbjuds NIPT

KUB-sannolikhet  $< 1/1000$ , ingen ytterligare åtgärd utöver basprogram MHV

Om NIPT indikerar kromosomavvikelse skall invasiv provtagning erbjudas

- Enligt rapporten från SFOG (2016) bedöms det rimligt att erbjuda kvinnor NIPT med en KUB-risk upp till  $1/1000$ .



FRÅGOR?