

SBU UTVÄRDERAR • RAPPORT 247/2016

Fosterdiagnostik med Next-generation sequencing (NGS)

Rapportserie Denna rapport hör till serien SBU Utvärderar (ISSN 1400-1403). Rapportserien baseras på systematiska litteraturgenomgångar av forskningsartiklar. Rapporten har utarbetats av en grupp sakkunniga inom ämnesområdet. De sakkunniga har bland annat preciserat frågeställningen, bedömt forskningens kvalitet och diskuterat de sammanvägda resultat som framkommit. Frågeställningen belyses även ur ett etiskt perspektiv och rapporten omfattar även en evidensgradering som visar hur starkt det samlade vetenskapliga underlaget är. Rapporten har granskats såväl internt inom SBU som av externa granskare inom området.

Innehållsdeklaration

- Utvärdering av ny/etablerad metod
- Systematisk litteratursökning
- Relevansgranskning
- Kvalitetsgranskning
- Sammanvägning av resultat
- Evidensgradering gjord av SBU
- Framtagen i samarbete med sakkunniga
- Patienter/brukare medverkar
- Etiska perspektiv
- Samhälleliga perspektiv
- Godkänd av SBU:s kvalitets- och prioriteringsgrupp
- Godkänd av SBU:s nämnd

Nyckelord Fosterdiagnostik, Helgenomsekvensering, Könskromosomavvikelser, Mikrodeletioner, Mikroduplikationer, Genetiska avvikelser, Trisomi

Utgiven Februari 2016

Giltighetstid Resultat som bygger på ett starkt vetenskapligt underlag fortsätter vanligen att gälla under en lång tid framåt. Andra resultat kan ha hunnit bli inaktuella. Det gäller främst områden där det vetenskapliga underlaget är otillräckligt eller begränsat

Beställ Denna rapport (nr 247) kan beställas från Strömberg distribution.
Telefon: 08-779 96 85 • Fax: 08-779 96 10 • E-post: sbu@strd.se

Produktion Grafisk produktion av Emma Österman, SBU. Tryckt av Elanders Sverige AB, Mölnlycke, 2016. Omslagsfoto: Shutterstock

Diarienummer UTV2015/300

Citera denna rapport SBU. Fosterdiagnostik med Next-generation sequencing (NGS). Stockholm: Statens beredning för medicinsk och social utvärdering (SBU); 2016. SBU-rapport nr 247. ISBN 978-91-85413-90-4

Innehåll

Sammanfattning och slutsatser	5
1 Inledning	9
NGS för riktad analys	10
— Könskromosomavvikelser	10
— Mikrodeletions- och mikroduplikationssyndrom	10
NGS för helgenomsekvensering	11
2 Bakgrund	13
Sjukvårdens struktur och organisation	13
Beskrivning av den utvärderade metoden	14
— Invasiv provtagning	14
— Icke-invasiv provtagning	14
— NGS för riktad analys	15
— NGS för helgenomsekvensering	16
Relation till andra metoder	16
— KUB-testet	16
— Karyotypering	16
— Mikroarray	17
— Andra metoder	17
Användning av metoden i Sverige	17
— NGS för riktad analys	17
— NGS för helgenomsekvensering	17
3 Metod för den systematiska utvärderingen	19
Frågor och avgränsningar	19
— NGS för riktad analys	19
— NGS för helgenomsekvensering	20
— Frågeställning enligt PICO	20
— Inklusionskriterier	22
— Exklusionskriterier	22
Metodik för den systematiska litteraturgenomgången	22
— Litteratursökning	22
— Relevansgranskning	23
— Kvalitetsgranskning	23
— Statistik	23
4 Resultat	25
NGS för riktad analys	25
— Riktad analys vid NIPT för identifikation av könskromosomavvikelser och trisomier andra än trisomi 13, 18 och 21	25
— Riktad analys vid NIPT för identifikation av mikrodeletioner	36
NGS för helgenomsekvensering	36
— Analys av hela genomet med NGS på icke-invasiva prover	36
— Analys av hela genomet med NGS på invasiva prover	37
Upplevelse och värdering av informationen de blivande föräldrarna får från NGS	37

5	Kostnader	39
	NGS för riktad analys	39
	NGS för helgenomsekvensering	39
6	Etiska och sociala aspekter	41
	Inledning	41
	NGS för riktad analys	42
	— Fördelar med riktad NGS	42
	— Etiska problem med riktad NGS	42
	NGS för helgenomsekvensering	44
	— Fördelar med NSG av hela genomet	44
	— Etiska problem med NSG av hela genomet i dagsläget och på sikt	44
7	Diskussion	47
	NGS för riktad analys	47
	NGS för helgenomsekvensering	49
8	Övervägande för forskning, policy och praktik	51
	Identifierade kunskapsluckor	51
	Pågående studier	52
9	Projektgrupp, externa granskare, råd och nämnd	53
	Projektgrupp	53
	— Sakkunniga	53
	— SBU	53
	Externa granskare	54
	Bindningar och jäv	54
	SBU:s nämnd	54
	SBU:s vetenskapliga råd – Brage	55
	Brukarsamarbete	55
10	Ordlista	57
11	Studier som ligger till grund för resultat och slutsatser	61
12	Referenser	83
	Bilaga 1 Sökstrategier	tillgänglig på www.sbu.se/247
	Bilaga 2 Granskningsmallar	tillgänglig på www.sbu.se/247
	Bilaga 3 Exkluderade studier och studier med låg kvalitet	tillgänglig på www.sbu.se/247

Sammanfattning och slutsatser

Next-generation sequencing (NGS) är en benämning på de nya metoder som har utvecklats under senare år och som gör det möjligt att analysera stora delar av genetiskt material i samma analys. NGS kan användas för att analysera förekomst av ett antal på förhand bestämda kromosomavvikelser, så kallad riktad analys. NGS kan även användas för att analysera en individs hela genom, så kallad helgenomsekvensering, och kan då identifiera genetiska avvikelser utan det att det på förhand bestämts vilken eller vilka avvikelser som eftersöks.

Riktad analys med NGS kan gälla trisomier (en individ har tre kopior av en kromosom istället för som normalt två), könskromosomavvikelser (då det finns en, tre eller fler könskromosomer istället för två), mikrodeletioner (då det saknas en kopia av en kromosomregion) eller mikroduplikationer (då det finns en eller flera extra kopior av en kromosomregion). Analys av fostrets DNA med NGS kan göras från ett blodprov taget från den gravida kvinnan, så kallad icke-invasiv fosterdiagnostik eller NIPT (non-invasive prenatal testing). I Sverige erbjuds NIPT med NGS-analys av trisomi 13, 18, 21 samt könskromosomavvikelser vid ett fåtal platser.

Helgenomsekvensering av fostrets arvs massa med NGS kan göras på både invasiva (fostervattenprov eller moderkaksprov) och icke-invasiva prover (blodprov från den gravida kvinnan).

Slutsatser

NGS för riktad analys

- ▶ Det saknas tillräckligt vetenskapligt underlag för att bedöma tillförlitligheten av NGS vid NIPT för att upptäcka könskromosomavvikelser eller trisomier andra än trisomi 13, 18 eller 21. Studierna omfattar få händelser och för monosomi X varierar metodens känslighet betydligt mellan studierna.
- ▶ På grund av olikheter i studiernas upplägg och populationer går det inte att väga samman resultaten. De studier som identifierats visar dock att falskt positiva svar förekommer i större utsträckning än falskt negativa.
- ▶ Det saknas tillräckligt vetenskapligt underlag för att bedöma tillförlitligheten av NGS vid NIPT för att upptäcka mikrodeletioner eller mikroduplikationer kopplade till kända syndrom.
- ▶ Analys av fostrets hela arvs massa kan ingå i vissa analyspaket, även om den primära frågan gäller en specifik avvikelse. Detta kan bli ett etiskt problem om kvinnan och partnern inte beretts möjlighet att ta ställning till om de önskar dessa analyser.

NGS för helgenomsekvensering

- ▶ Underlaget är otillräckligt för att dra några slutsatser om tillförlitligheten för NGS vid helgenomsekvensering eller om ytterligare genetiska avvikelser som påverkar anatomi, funktion eller utveckling kan upptäckas med metoden.
- ▶ NGS möjliggör detaljerad undersökning av fostrets hela arvs massa utifrån ett blodprov från kvinnan. Eftersom metoden kan gå in på detaljnivå, har den potential att ge mer genetisk information än vad som efterfrågas.
- ▶ Samtidigt som NGS på sikt kan leda till tidig upptäckt och behandling av olika tillstånd, innebär omfattande kartläggning av fostrets alla arvsanlag att integritetskänslig och till stora delar svårtolkad information erhålls. Det medför svårigheter att avgöra vilka avvikelser man ska leta efter och hur resultaten ska förmedlas. Dessutom finns viktiga frågor rörande hantering av genetisk information inom hälso- och sjukvården samt hos kommersiella aktörer. Det finns behov av fördjupad etisk analys avseende samordning och eventuell reglering av hur den information som metoden genererar ska användas.

Frågor

NGS för riktad analys

Denna rapport utvärderar hur tillförlitliga de resultat som erhålls med NGS vid NIPT är, i jämförelse med karyotypering, QF-PCR eller FISH-analys för utfallen trisomier (andra än trisomi 13, 18 eller 21), könskromosomavvikelse, mikrodeletioner och mikroduplikationer.

NGS för helgenomsekvensering

Rapporten utvärderar även hur tillförlitliga de resultat som erhålls med NGS vid helgenomsekvensering är, från både invasiva och icke-invasiva prover. Vidare undersöks hur många ytterligare genetiska avvikelser som kan identifieras utöver de som kan upptäckas med karyotypering eller mikroarray.

Rapporten belyser dessutom etiska aspekter av NGS inom fosterdiagnostik samt hur blivande föräldrar upplever värdet av informationen. Hälsoekonomiska aspekter tas inte upp i denna rapport. Utvärdering av fosterdiagnostik med mikroarray återfinns i SBU-rapporten med titeln Fosterdiagnostik med mikroarray för utökad analys av kromosomer [1].

Metod

Denna utvärdering är genomförd enligt SBU:s metod [2].

Etiska aspekter

Fosterdiagnostik aktualiserar frågor om människovärde, föräldrarnas autonomi samt fostrets och föräldrarnas hälsa. I denna rapport presenteras relevanta etiska frågeställningar med NGS som analysmetod jämfört med karyotypering.

NGS för riktad analys

Den främsta fördelen med NGS vid fosterdiagnostik är att den kan användas för att analysera icke-invasiva prover. Analys av icke-invasiva prover diskuteras utförligare i en rapport från SBU [3] och en annan från Statens medicin-etiska råd [4]. Ytterligare en fördel skulle kunna vara att mikrodeletioner och andra mindre kromosomavvikelse kan upptäckas.

Ett etiskt problem med NGS är att det tillhandahålls i form av på förhand utformade analyser, där alla inte behöver vara efterfrågade. Det har bland annat medfört att NGS redan används för att analysera förekomst av könskromosomavvikelse i samband med analys för trisomi 13, 18 och 21. Då NGS av icke-invasiva prover inte innebär någon ökad risk för missfall kan det för de blivande föräldrarna komma att uppfattas som en undersökning som det är svårt att

avstå från. Beroende på vilka kromosomavvikelser som i framtiden inkluderas i analysen kan användningen av metoden bidra till en indikationsglidning, det vill säga att hälso- och sjukvården successivt börjar leta efter vad som idag uppfattas som mindre allvarliga tillstånd. Det kan också bidra till stigmatisering av personer med de kromosomavvikelser som metoden kan identifiera.

NGS för helgenomsekvensering

Om metoden börjar användas för att kartlägga en individs hela arvsmassa uppstår etiska problem avseende svårigheter kring utformning av information om metoden samt svårigheter med att avgöra vad som ska analyseras och vilken information som ska förmedlas.

1 Inledning

Fosterdiagnostik används rutinmässigt i Sverige. Med fosterdiagnostik menas de medicinska undersökningar av fostrets hälsotillstånd som utförs när det ligger i livmodern. Under 1960-talet började ultraljud användas för att tidigt identifiera tvillinggraviditeter [5] och med tiden kom metoden även i bruk för att datera graviditeten och identifiera missbildningar hos fostret. Ungefär samtidigt introducerades invasiv provtagning i form av fostervattenprov eller moderkaksprov för vidare analys av fostrets arvs massa. I Sverige genomgår ungefär 3–5 procent av alla gravida kvinnor invasiv fosterdiagnostik [6,7]. Dessa prov tas genom att en nål förs in i kvinnans livmoder vilket medför en något ökad risk för missfall.

Under senare år har en metod utvecklats som gör att fostrets arvs massa kan analyseras från ett blodprov taget från den gravida kvinnan. Metoden kallas icke-invasiv fosterdiagnostik eller Non-invasive prenatal testing (NIPT) och bygger på analys av de små delar av fostrets DNA som läcker ut i moderns blod. Sekvensering är en metod för att bestämma ordningen av baserna i arvs massans DNA. Med en teknik som kallas Next-generation sequencing (NGS) är det nu möjligt att analysera fostrets hela arvs massa både från invasiva och icke-invasiva prover.

Med NGS kan ett stort antal gener analyseras samtidigt. Det kan innebära att föräldrar i framtiden kan få snabbare diagnos av foster med misstänkta kromosomavvikelser. NGS kan användas för att analysera förekomst av ett antal på förhand bestämda kromosomavvikelser, så kallad riktad analys. NGS kan även användas för att analysera en individs hela genom, så kallad helgenomsekvensering. Helgenomsekvensering identifierar genetiska avvikelser utan det att det på förhand bestämts vilken eller vilka avvikelser som eftersöks.

Kunskapsläget för analys av icke-invasiva prover för blodgruppsbestämning och könsbestämning i samband med diagnostik av könskromosombundna sjukdomar, har redovisats i en SBU-rapport från 2011 [8]. Ytterligare en SBU-rapport som utvärderar NGS för att diagnostisera trisomi 13, 18 och 21 i icke-invasiva prover (NIPT) utkom 2015 [3]. Dessa utfallsmått kommer därför inte att utvärderas här.

NGS för riktad analys

Denna rapport utvärderar tillförlitligheten hos riktad NGS för att upptäcka förekomst av könskromosomavvikelse, trisomier andra än trisomi 13, 18 och 21, mikrodeletioner eller mikroduplikationer.

Könskromosomavvikelse

En könskromosomavvikelse innebär att det finns en eller tre kopior av en könskromosom istället för två. I sällsynta fall kan även fler än tre kopior förekomma. Generellt medför könskromosomavvikelse inte lika allvarliga symtom som trisomi 13, 18 eller 21. För flickor som endast har en X-kromosom (Turners syndrom) ger det i normalfallet upphov till kortvuxenhet och infertilitet [9,10]. En del av symtomen vid Turners syndrom kan idag behandlas vid de regionala Turnercentra i Sverige. Pojkar eller flickor med en extra X- eller Y-kromosom, XXX, XXY eller XYY, har en ökad benägenhet för att få vissa psykosociala problem [8,9]. Precis som flickor med Turners syndrom är pojkar med Klinefelters syndrom (XXY) infertila. Liksom till flickor med Turners syndrom erbjuds symptomatisk behandling till pojkar med Klinefelters syndrom, framför allt i form av hormonbehandling.

Mikrodeletions- och mikroduplikationssyndrom

En individ kan även ha mindre kromosomavvikelse som kan påverka anatomi, utveckling eller funktion. Vissa av dessa avvikelser kallas mikrodeletioner (vid förlust av kromosomfragment) eller mikroduplikationer (vid tillkomst av extra kromosomfragment) eftersom de är så små att de oftast inte kan identifieras med kromosomanalys i ljusmikroskop (karyotypering) utan kräver andra metoder. Denna typ av kromosomavvikelse kan vara kopplade till syndrom och dessa kallas då mikrodeletionssyndrom eller mikroduplikationssyndrom. Exempel på sex förekommande mikrodeletionssyndrom är:

- 1p36-deletionssyndromet (kopplad till deletioner i kromosomregion 1p36)
- Wolf-Hirschhorn syndrom (kopplad till deletioner i kromosomregion 4p16, också kallad 4p16-deletionssyndrom eller monosomi-4p syndrom)
- Cri du Chat syndrom (kopplad till deletioner i kromosomregion 5p15 också kallad 5p-deletionssyndrom)
- William syndrom (kopplad till deletioner i kromosomregion 7q11.23)

- Prader-Willi/Angelman syndrom (kopplad till deletioner i kromosomregion 15q11-q13)
- 22q11.2-deletionssyndrom (kopplad till deletioner i kromosomregion 22q11.2, tidigare kallad DiGeorge syndrom och CATCH22).

Ungefär 25 av 100 000 barn föds med 22q11.2-deletionssyndrom vilket betyder att det föds ungefär 25 barn årligen med detta syndrom i Sverige. För 1p36-deletionssyndromet är motsvarande siffror mellan 10–20 barn per 100 000 födda [11].

NGS för helgenomsekvensering

Rapporten utvärderar även tillförlitligheten av NGS vid helgenomsekvensering för att identifiera genetiska avvikelser på både invasiva och icke-invasiva prover.

NGS av hela genomet innebär att DNA-koden för hela genomet analyseras och kan förutom att påvisa mikrodeletioner och mikroduplikationer även påvisa avvikelser på basparsnivå. Med denna metod kan genetiska avvikelser identifieras utan att det på förhand är bestämt vilken eller vilka avvikelser som eftersöks. Detta kan ge omfattande information om fostrets arvs massa.

2 Bakgrund

Sjukvårdens struktur och organisation

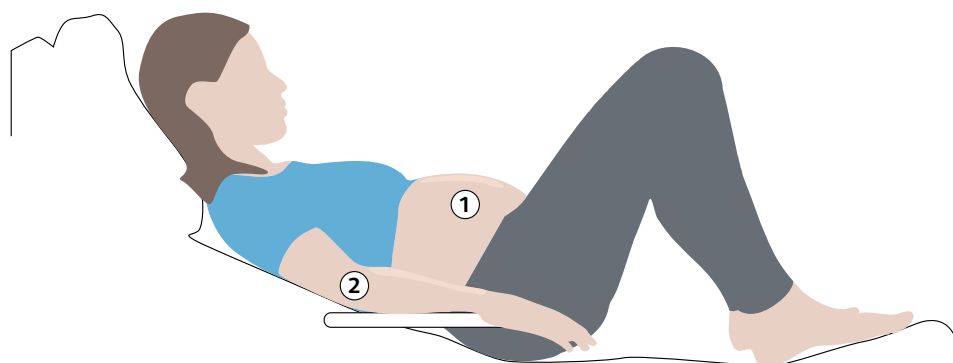
Den fosterdiagnostik som erbjuds gravida kvinnor i Sverige kan variera eftersom landsting och regioner självständigt tar ställning till de metoder som används. Alla landsting erbjuder dock ett frivilligt ultraljud runt graviditetsvecka 18 för att identifiera flerbörd, datera graviditeten och diagnostisera större missbildningar. Vissa landsting erbjuder kombinerat ultraljud och biokemiskt test av blod (KUB) till kvinnor över en viss ålder. Åldersgränsen varierar mellan de olika landstingen [12]. KUB-testet är utformat för att uppskatta sannolikheten för att ett foster har trisomi 13, 18 eller 21, men har även visat sig indikera ökad sannolikhet för andra kromosomavvikelse [13]. Vidare utredning med invasiv diagnostik erbjuds om KUB påvisar en hög sannolikhet för trisomi eller om ultraljudsundersökningen identifierat en avvikelse hos fostret. Vad som anses som hög sannolikhet för trisomi hos fostret vid KUB är vanligtvis värden högre än 1 på 200 eller 1 på 250. Omfattande genetisk analys av invasiva prover erbjuds främst vid Sveriges sex kliniska genetiska mottagningar. Samtliga erbjuder kvantitativ fluorescent polymeraskedjereaktion (QF-PCR), karyotypering och fluorescent in situ hybridisering (FISH-analyser). Vid de fem kan även analys med mikroarray erbjudas.

Beskrivning av den utvärderade metoden

Invasiv provtagning

Innan införandet av NIPT användes endast invasiva prover från fostervatten, moderkaka och i vissa fall navelsträngsblod för att analysera förekomsten av könskromosomavvikelse, mikrodeletioner eller mikroduplikationer. Vid moderkaksprov tas en mindre mängd moderkaksvävnad för analys, med hjälp av en tunn nål genom bukväggen in i livmodern. Provtagningen tar endast ett par minuter och kan upplevas som obehaglig men vanligtvis inte smärtsam. Provet kan tas från graviditetsvecka 10. Fostervattenprov går till på ungefär samma sätt men analysen görs istället på celler från fostervattnet. Provet tas vanligen från graviditetsvecka 15. Moderkaksprov liksom fostervattenprov kan leda till oro och medför en viss ökad risk för missfall motsvarande 0,1–0,5 procent [14,15].

Figur 2.1
För fosterdiagnostik tas ett invasivt prov från fostervatten eller moderkaka med en nål genom bukväggen (1) medan ett icke-invasivt prov tas som ett blodprov från kvinnans arm (2).



ILLUSTRATOR: MATTIAS KARLÉN

Platser för provtagning

- ① Fostervattenprov, invasiv provtagning
- ② Blodprov i armen, icke-invasiv provtagning

Icke-invasiv provtagning

För att komma ifrån det obehag, oro och begränsade risk för missfall som invasiv provtagning medför har en annan metod utvecklats som gör att fostrets arvs massa kan analyseras från ett blodprov taget på den gravida kvinnan. Blodplasma innehåller cellfritt DNA (cfDNA) det vill säga DNA som inte är bundet till cellkärnan. Hos gravida kvinnor härstammar en del av detta DNA från fostret, så kallat cellfritt foster-DNA (cffDNA) och denna del utgör den så kallade fetala fraktionen av allt cellfritt DNA i blodbanan. CffDNA har sitt ursprung i celler från moderkakan och kan upptäckas redan från graviditetsvecka 4, det vill säga två veckor efter befruktningen [3].

Mängden cffDNA stiger med graviditetslängden och i genomsnitt utgör den fetala fraktionen mellan 10 och 20 procent av allt cellfritt DNA i blodet under graviditeten. Från graviditetsvecka 10 beräknas den fetala fraktionen ha nått cirka 10 procent hos en stor andel gravida. Även i graviditeter med en lägre fetal DNA-fraktion har den i de flesta fall nått en nivå av mer än 4 procent vilket brukar räknas som den lägre gränsen för en NIPT-analys. Därför rekommenderas NIPT vanligen tidigast efter 9–10 graviditetsveckor. Mängden cffDNA beror på flera faktorer och i många fall har 4 procent cffDNA nåtts betydligt tidigare i graviditeten. En av faktorerna som påverkar den fetala fraktionen är den gravida kvinnans vikt. Överviktiga kvinnor har ofta en lägre fetal fraktion än normalviktiga kvinnor.

CffDNA består av relativt korta DNA-fragment men hela det fetala genomet finns representerat. Det har en kort halveringstid och är kort tid efter förlossningen inte spårbart, vilket säkerställer att analysen gjorts på DNA från fostret i den aktuella graviditeten och inte på DNA från foster från en tidigare graviditet [3].

NGS för riktad analys

Vid riktad analys undersöks förekomst av ett antal på förhand bestämda kromosomavvikelser. Tre olika metoder ingår i begreppet NGS:

- Massive parallel shotgun sequencing (MPSS)
- Riktad (targeted) Massive parallel sequencing (t-MPS)
- SNP-based massive parallel sequencing (Single nucleotide polymorphisms, SNP).

MPSS

Med MPSS bestäms sekvensen för miljontals DNA-fragment samtidigt från hela genomet och fragmenten matchas därefter mot en etablerad referenssekvens för det humana genomet. Varje fragment kan knytas till dess specifika kromosom. Antalet fragment från respektive kromosom/kromosomregion jämförs sedan mot antal fragment från flera referensregioner i hela genomet för att få ett mått på över- eller underskottet. Vid riktad analys görs denna jämförelse enbart i vissa förbestämda regioner av genomet även om hela genomet sekvenseras.

t-MPS

Med hjälp av ett urvalssteg innan analysen med t-MPS bestäms endast sekvensen hos fragment från de kromosomer som är av intresse. Flera hundra regioner som är extra lämpade för sekvensbestämning från varje kromosom har då valts ut i förväg. Liksom med MPSS jämförs antalet fragment med referensregioner för att vid en avvikelse identifiera tillskott eller förlust av fragment från den kromosomen.

SNP

En annan form av riktad NGS använder förekomsten av enbaspolymorfier i genomet, så kallade SNP. Vid SNP-baserad analys väljs fragment från dessa polymorfa regioner på de kromosomer som är av intresse. Sekvensen för flera tusen regioner per kromosom bestäms och jämförs sedan med sekvensen för motsvarande regioner i genomiskt DNA från kvinnan.

De ovan nämnda metoderna har olika för- och nackdelar, till exempel vid graviditeter med speciella förutsättningar såsom vid tvillingar och äggdonationer. I de allra flesta fall är dock metoderna i stort sett likvärdiga.

NGS för helgenomsekvensering

För NGS av hela genomet används enbart Massive parallel shotgun sequencing (MPSS).

Relation till andra metoder

Inom fosterdiagnostiken används NGS i första hand för riktad genetisk analys på icke-invasiva prover, NIPT. Metoden används för analys av trisomi 13, 18, 21, samt könskromosomavvikelse vid ett fåtal platser i Sverige. NGS kan också användas för analys av invasiva prover.

KUB-testet

KUB-testet erbjuds för beräkning av sannolikheten för att ett foster har trisomi 13, 18 eller 21. Alla foster har i början av graviditeten en liten spalt av vätska i nackregionen. Denna vätskespalt mäts med ultraljud i graviditetsvecka 11–14 och undersökningen benämns nackkuppklarning (NUPP). Ju bredare vätskespalten är desto större är sannolikheten för en kromosomavvikelse. Under graviditetsvecka 9–14 finns också ett samband mellan trisomi och nivåer av graviditetshormonet beta-hCG och placenta-hormonet PAPP-A i blodet. Genom att väga samman kvinnans ålder och resultatet från KUB-testet kan sannolikheten för en kromosomavvikelse hos fostret beräknas. Om sannolikheten överstiger ett bestämt gränsvärde exempelvis 1 på 200, 1 på 250 eller 1 på 300 (gränsvärdet skiljer sig mellan olika landsting) erbjuds kvinnan en genetisk analys på ett invasivt prov från moderkaka eller fostervatten.

Karyotypering

Karyotypering används för att undersöka om det saknas eller finns extra kopior av en kromosom eller större delar av en kromosom. Med denna metod undersöks individens kromosomuppsättning (karyotyp) visuellt med hjälp av ljusmikroskop. Karyotypering har hög diagnostisk tillförlitlighet för att upptäcka större avvikelser såsom könskromosomavvikelse, men kan däremot inte upptäcka mindre avvikelser såsom mikrodeletioner.

Mikroarray

Mikroarray är en molekylärgenetisk metod. Vid fosterdiagnostik med denna metod undersöks fostrets arvs massa och både kromosomavvikelse som innefattar tillkomst eller förlust av en hel kromosom, såväl som mindre avvikelser som mikrodeletioner och mikroduplikationer, kan identifieras [1].

Andra metoder

Andra metoder med vilka det går att identifiera kromosomavvikelse är Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), QF-PCR och FISH-analys. QF-PCR används oftast enbart för att påvisa förekomst av trisomi 13, 18 och 21 samt könskromosomavvikelse till skillnad från karyotypering och mikroarray som analyserar hela arvs massan. För vissa mikrodeletioner och mikroduplikationer kan även riktade analyser göras med MLPA eller FISH-analys. Med MLPA kan även vissa monogena sjukdomar påvisas. MLPA, QF-PCR och FISH-analys har fördelen att de går att utföra på två till tre dagar till skillnad från karyotypering och mikroarray som är mer tidskrävande. En karyotypering tar mellan två till tre veckor och mikroarray en till två veckor.

Användning av metoden i Sverige

NGS för riktad analys

Inom fosterdiagnostiken används NGS för riktad analys vid NIPT. I dagsläget erbjuds inte NIPT för identifikation av kromosomavvikelse generellt i svensk sjukvård, men det kan komma att erbjudas inom en snar framtid som en del av en fosterdiagnostisk vårdkedja. Det som diskuteras är att riktad NGS-analys vid NIPT för trisomi 13, 18 och 21 samt könskromosomavvikelse ska erbjudas till gravida i de fall KUB visar att fostret har hög sannolikhet (1 på 50 till 1 på 1 000) för trisomi. Till gruppen kvinnor med sannolikhetsvärden högre än 1 på 50 (1 på 1 till 1 på 50) kommer troligen invasiv provtagning att erbjudas direkt [16].

NIPT för analys av trisomi 13, 18 och 21 samt könskromosomavvikelse har redan börjat erbjudas i vissa delar av Sverige. När det gäller NIPT för analys av mikrodeletioner kopplade till syndrom förekommer detta i dagsläget endast vid privata kliniker, som skickar proverna på analys till företag som erbjuder denna typ av tjänst.

NGS för helgenomsekvensering

NGS för analys av fostrets hela genom, från invasiva eller icke-invasiva prover, är inget som i dagsläget erbjuds inom fosterdiagnostik i Sverige.

3 Metod för den systematiska utvärderingen

Frågor och avgränsningar

Utvärderingen har syftat till att besvara följande frågor:

NGS för riktad analys

- Vilken diagnostisk tillförlitlighet har riktad NGS vid NIPT jämfört med karyotypering, mikroarray, QF-PCR eller FISH-analys avseende upptäckten av könskromosomavvikelser samt mikrodeletioner eller mikroduplikationer kopplade till syndrom?
- Hur upplever de blivande föräldrarna värdet av informationen de får från NGS?
- Vilka etiska och sociala aspekter bör beaktas?
- Vilka kunskapsluckor (områden där studier saknas eller visar på osäkerhet) finns?

NGS för helgenomsekvensering

- Vilken diagnostisk tillförlitlighet har NGS av hela genomet vid NIPT jämfört med karyotypering/mikroarray/QF-PCR/FISH-analys avseende upptäckten av genetiska avvikelser?
- Vilken diagnostisk tillförlitlighet har NGS av hela genomet på invasiva prover jämfört med karyotypering/mikroarray/QF-PCR/FISH-analys avseende upptäckten av genetiska avvikelser?
- Vilka ytterligare genetiska avvikelser kan identifieras vid användning av NGS av hela genomet jämfört med karyotypering/mikroarray/QF-PCR/FISH-analys?
- Finns en risk att genetiska avvikelser inte upptäcks vid användning av NGS av hela genomet jämfört med karyotypering/mikroarray/QF-PCR/FISH-analys?
- Hur upplever de blivande föräldrarna värdet av informationen de får från NGS?
- Vilka etiska och sociala aspekter bör beaktas?
- Vilka kunskapsluckor (områden där studier saknas eller visar på osäkerhet) finns?

Frågeställning enligt PICO

I denna rapport har projektgruppen valt att precisera frågorna om NGS till två PICO och en SPICE. De två PICO-frågeställningarna har ställts upp för diagnostisk tillförlitlighet av metoden där den ena avser riktad analys med NGS, och den andra NGS av hela genomet. Upplägget enligt SPICE avser föräldrarnas upplevelse av värdet av informationen.

Diagnostisk tillförlitlighet och informationsmängd med NGS

NGS för riktad analys

P (Population):

Foster hos gravida kvinnor som genomgår icke-invasiv fosterdiagnostik.

I (Intervention):

Riktad NGS.

C (Kontrollgrupp):

Karyotypering, mikroarray från invasivt prov, QF-PCR (för 13, 18, 21 och X + Y) eller FISH-analys (för 13, 18, 21, X, Y och deletioner inom region 22q11).

- O** (Effektmått, utfallsmått):
- Skillnad i antal foster/barn som får behandling innan eller i samband med födseln.
 - Sensitivitet och specificitet för könskromosomavvikelser, trisomier andra än T13, T18, T21, mikrodeletioner samt mikroduplikationer.
 - Diagnostisk tillförlitlighet och reproducerbarhet.

NGS för helgenomsekvensering

- P** (Population):
Foster hos gravida kvinnor som genomgår invasiv eller icke-invasiv fosterdiagnostik.

- I** (Intervention):
NGS av hela genomet.

- C** (Kontrollgrupp):
Karyotypering, mikroarray från invasivt prov.

- O** (Effektmått, utfallsmått):
- Skillnad i antal foster/barn som får behandling innan eller i samband med födseln.
 - Skillnad i andel foster som erhåller diagnos.
 - Skillnad i andel foster där oväntade fynd upptäcks.
 - Sensitivitet och specificitet, för de diagnoser där tillräckligt många händelser finns.
 - Diagnostisk tillförlitlighet och reproducerbarhet.

Hur upplever de blivande föräldrarna värdet av informationen

- S** (Sammanhang):
Samtliga länder som använder metoden.

- P** (Perspektiv):
Gravida kvinnor och deras partner, som genomgår invasiv eller icke-invasiv fosterdiagnostik.

- I** (Intervention):
NGS för identifiering av könskromosomavvikelser, mikrodeletioner- eller mikroduplikationer eller NGS av hela genomet.

- C1** (Jämförelse 1):
Karyotypering, QF-PCR (för 13, 18, 21, X och Y),
FISH-analys (för 13, 18, 21, X, Y och deletioner inom region 22q11).

- C2** (Jämförelse 2):
Inget test.

E (Utvärdering):

- Livskvalitet
- Nöjdhet
- Ökad möjlighet till att göra ett informerat val
- Patientupplevelse.

Inklusionskriterier

Studier i fulltext på svenska, norska, danska, engelska eller tyska publicerade från 2008 och framåt har inkluderats i denna rapport. Systematiska översikter, kontrollerade studier och kohortstudier har också inkluderats, liksom fallkontrollstudier och tvärsnittstudier. För frågeställningarna kring upplevd nytta/risk av informationen hos de blivande föräldrarna inkluderades även kvalitativa studier.

Exklusionskriterier

Detta projekt har exkluderat fallbeskrivningar, icke-systematiska översikter, djurstudier, *in vitro*-studier, abstrakt enbart, brev, editorials och studier som enbart utvärderar trisomi 13, 18, 21. Vidare har inte studier tagits med som handlar om könsbestämning eller blodgruppstillhörighet, studier som undersöker preimplantatorisk diagnostik eller studier där provtagning sker på ett avlidet foster. Slutligen har sådana studier exkluderats som beskriver kvinnor som genomgår fosterdiagnostik med riktad frågeställning på grund av tidigare känd genetisk avvikelse i familjen.

NGS för att bestämma kön eller blodgrupp hos fostret finns utvärderat i en SBU-rapport från 2011 [8]. Projektet inkluderade inte heller studier som använder NSG för att enbart titta på förekomst av trisomi 13, 18 och 21 hos fostret, då detta finns utvärderat i en SBU-rapport från 2015 [3].

Metodik för den systematiska litteraturgenomgången

Litteratursökning

Litteratursökningen utfördes i databaserna PubMed, Embase, Cinahl och Cochrane Library till och med 2015-08-09. För en mer detaljerad beskrivning av vilka söktermer och begränsningar som använts, se Bilaga 1. Litteratursökningen till denna rapport gjordes tillsammans med litteratursökningen till SBU-rapporten "Fosterdiagnostik med mikroarray för utökad analys av kromosomer" [1] varför termer som täcker upp mikroarrayanalys och andra områden som den rapporten tar upp även återfinns i sökstrategin.

Relevansgranskning

Abstraktlistor som genererades vid litteratursökningen granskades av två sakkunniga oberoende av varandra, se Bilaga 2. Studier som bedömdes relevanta för projektets frågeställningar av minst en av de sakkunniga granskades i fulltext. Fulltextartiklar granskades av två sakkunniga oberoende av varandra med hänsyn till inklusionskriterierna. Studier som vid granskning i fulltext inte uppfyllde inklusionskriterierna exkluderades med angivande av huvudsakligt skäl till exklusion, se Bilaga 3. Vid meningsskiljaktigheter rörande artiklar som granskades i fulltext bedömdes relevansen av ytterligare en person ur projektgruppen.

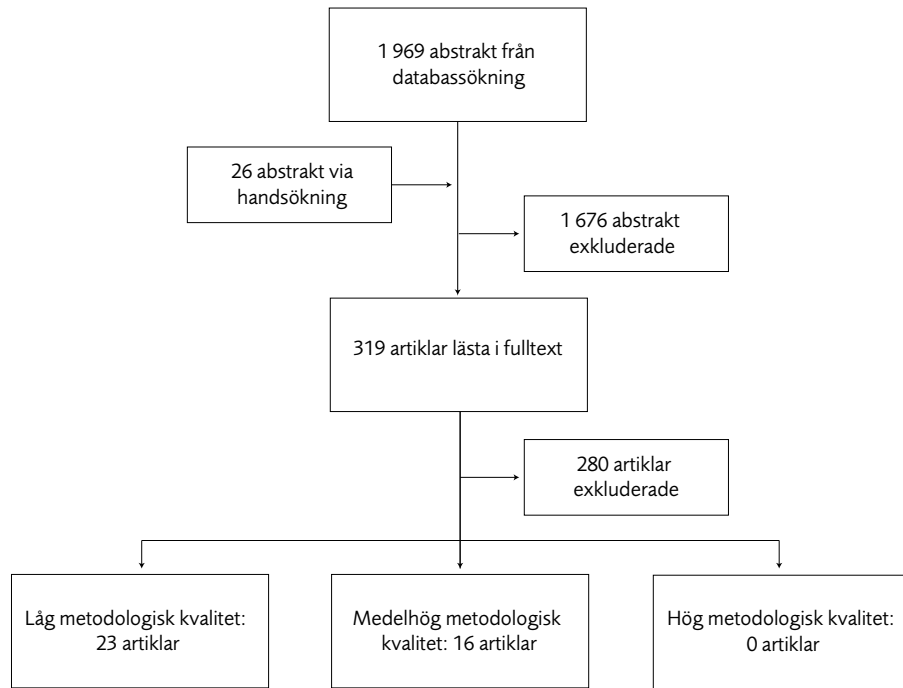
Kvalitetsgranskning

De inkluderade studierna kvalitetsgranskades och bedömdes ha hög, medelhög eller låg kvalitet. Som stöd för bedömningen användes en mall för kvalitetsgranskning av diagnostiska studier, QUADAS, se Bilaga 2, en mall för kvalitetsgranskning av kvalitativa studier och en mall för kvalitetsgranskning av systematiska översikter, AMSTAR se Bilaga 5 och 6 i Utvärdering av metoder i hälso- och sjukvården: En handbok [2]. Endast studier av medelhög kvalitet som finns i Tabell 11.1 och 11.2 ligger till grund för resultaten i rapporten. För de frågeställningar där inga eller enbart ett fåtal studier av medelhög kvalitet identifierades tabellerades även studier av låg kvalitet, se Tabell 11.3. Flödesschema över litteraturgranskning, urval av studier och de inkluderade studiernas kvalitet visas i Figur 3.1.

Statistik

I de studier där det saknats uppgifter om sensitivitet, specificitet och/eller konfidensintervall, har SBU räknat fram dessa data i de fall där det varit möjligt, med RevMan version 5.2.

Figur 3.1
Flödesschema över
litteraturgranskning
och urval av studier.



4 Resultat

Denna utvärdering omfattar en genomgång av sammanfattningar (abstrakt) till 1 969 vetenskapliga artiklar, varav 319 artiklar granskades i fulltext se Figur 3.1). Av de 319 artiklarna inkluderades 16 studier av medelhög kvalitet som ligger till grund för resultaten se Tabell 11.1 och 11.2. Ytterligare 23 studier bedömdes vara relevanta men exkluderades på grund av låg kvalitet utifrån projektets frågeställningar se Tabell 11.3 och Bilaga 3.

En sammanfattning av antal studier som identifierades för respektive frågeställning samt begränsningar i de inkluderade studierna finns i Tabell 4.1.

NGS för riktad analys

Riktad analys vid NIPT för identifikation av könskromosomavvikelser och trisomier andra än trisomi 13, 18 och 21

Metodologiska begränsningar

Tretton studier inkluderades avseende diagnostisk träffsäkerhet för trisomier (andra än T13, T18, T21) och könskromosomavvikelser med NGS vid NIPT. I nio av de inkluderade studierna har resultatet jämförts mot ett referenstest, vanligtvis karyotypering efter invasiv provtagning [17–25].

Table 4.1
Summary of findings.

Type of samples	Outcome	Number of included studies with low or moderate risk of bias	Comments
NGS for targeted analysis			
NIPT	Monosomy X	9	Few events, inconsistency in data, differences in study design, population and sequencing method applied
NIPT	XXX	4	Few events, inconsistency in data, differences in study design, population and sequencing method applied
NIPT	XXY	5	Few events, inconsistency in data, differences in study design, population and sequencing method applied
NIPT	XYY	4	Few events, inconsistency in data, differences in study design, population and sequencing method applied
NIPT	Trisomies other than T13, T18, T21	3	8 cases of other autosomal trisomies
NIPT	Microdeletions associated with known microdeletion syndromes	1 (2 studies with high risk of bias)	Only cases identified with NGS underwent invasive sampling for confirmation
NIPT	Microduplications associated with known microduplication syndromes	0 (0 studies with high risk of bias)	No studies identified
NGS for whole genome sequencing/whole exome sequencing			
NIPT		2 (0 studies with high risk of bias)	Few events with different genetic abbreviations. Different methods applied in the two studies
Invasive		0 (3 studies with high risk of bias)	Highly selected populations. Only studies with high risk of bias identified.

NGS = Next-generation sequencing; **NIPT** = Non-invasive prenatal testing

I de övriga fyra studierna [25–28] har enbart ett selekterat urval, oftast de fall som identifierats som positiva med NGS vid NIPT, konfirmerats med karyotypering, medan undersökning av barnet efter förlossningen (fenotypen) har använts som referenstest för övriga. Dessa studier finns tabellerade men har inte ingått i analyserna av sensitivitet och specificitet då projektgruppen bedömde att barnets fenotyp inte var tillräckligt tillförlitlig för att beräkna antalet sant och falskt negativa fall för utfallsmått könskromosomavvikelse. Majoriteten av de ingående studierna är genomförda tillsammans med en kommersiell partner, se Tabell 11.1.

Vid genomgång av studierna konstaterades att de skiljer sig åt i många avseenden, se Tabell 4.2 och Tabell 11.1. Olika typer av studiedesign har använts och vissa studier har använt frysta prover. Även den undersökta populationen varierar. En del av studierna inkluderar enbart kvinnor med hög sannolikhet för kromosomavvikelse medan andra inkluderar en blandning av de som har hög och låg sannolikhet. Vad som räknas som hög sannolikhet för kromosomavvikelse kan även det variera mellan studierna, men i de flesta fall inkluderas graviditeter med hög sannolikhet vid ett KUB-test, hög ålder hos modern eller funnen missbildning hos fostret vid en ultraljudsundersökning. De analyserade proverna är tagna både under första, andra och tredje trimestern. Även kvinnornas ålder varierar. Exempelvis finns det en studie som enbart inkluderar kvinnor över 35 år [24] medan en annan endast inkluderar kvinnor yngre än 35 år [25].

I 4 av de 13 inkluderade studierna ingår fler än 1 000 gravida kvinnor [25–27,29] men endast i 1 av dessa studier analyseras hela populationen både med NIPT och ett referenstest [29]. Av studierna som har en population på färre än 1 000 gravida kvinnor så analyserar 7 studier hela populationen både med NIPT och med ett referenstest [17,24,30–34]. I en av studierna har en analys med referenstest endast gjorts på de individer som haft ett positivt NGS/NIPT-svar [28] och i studien av Bianchi och medförfattare har en subgrupp valts ur den totala kohorten där proverna analyserats med bägge metoderna [22].

Redovisningen av bortfall, omkörning och omtagning av prover är komplex och i en del fall bristfälligt beskrivet i studierna. I flera studier anges att ett visst antal prover är ”non reportable” det vill säga att de inte ger ett konklusivt resultat och de räknar inte med dessa prover när sensitivitet och specificitet räknas ut. En viktig faktor vid klinisk användning av ett test är i hur stor andel av proverna analysen inte genererar ett slutgiltigt svar och där provet måste tas om. Bortfall kan även ske på grund av att prover inte uppfyller preanalytiska kvalitetsparametrar (till exempel för lite blod/plasmavolym, felmärkt/felaktigt provrör eller för lång tid från provtagning till ankomst till laboratoriet). Även analytiska kvalitetsparametrar (till exempel för lågt DNA-innehåll, för låg fetal fraktion) kan ge bortfall. I medeltal hade fyra procent av proverna bortfall som beror på att NGS-analysen misslyckats på grund av för lågt DNA-innehåll, omtagning av prover eller ett icke-konklusivt resultat.

Table 4.2 Included studies investigating NIPT with NGS for identification of sex chromosomal aneuploidies (SCA).

Author, year Reference Country	Study design	Sequencing method	Time of study	Population Risk for aneuploidy Mean maternal age (years) Mean gestational age (weeks)	Outcome	Number of included samples Number of samples lost to follow-up
Jiang, 2012 [30] China	Prospective, multicenter (biobanked samples)	MPSS	2009–2010	High risk 20–45 10–34	SCA	903 1
Liang, 2013 [31] China	Prospective, multicenter (biobanked samples)	Not specified	2009–2011	High risk 31 21	SCA and T9	435 23
Porreco, 2014 [29] USA	Prospective, multicenter, (biobanked samples)	MPSS	2009–2011	High risk 35 16	SCA	4 170 969 (892) (different number of non- reportable result for different outcomes)
Bianchi, 2012 [22] USA	Prospective, multicenter, nested case control (biobanked samples)	MPSS	2010–2011	High risk 35 15	Monosomy X	532 (selected from 2 882 samples) 2
Song, 2013 [25] China	Prospective cohort (not biobanked samples)	Not specified	2011	High and low risk 29 (all less than 35) 17	SCA (not all samples underwent invasive reference test)	1 916 184
Yao, 2014 [27] China	Prospective cohort, (not biobanked samples)	Not specified	2011–2012	High and low risk 30 19	SCA (not all samples underwent invasive reference test)	5 950 484
Lau, 2014 [26] China	Prospective cohort, (not biobanked samples)	Not specified	2011–2013	High and low risk 36 14,5 (median)	SCA + other trisomies, deletions and duplications (not all samples underwent invasive reference test)	1 982 1

The table continues on the next page

Table 4.2 continued

Author, year Reference Country	Study design	Sequencing method	Time of study	Population Risk for aneuploidy Mean maternal age (years) Mean gestational age (weeks)	Outcome	Number of included samples Number of samples lost to follow-up
Song, 2015 [24] China	Prospective cohort (not biobanked samples)	Not specified	2012–2013	High risk 37 (all over 35) 10 (only first trimester)	SCA	213 35
Shaw, 2014 [34] China	Prospective, multicenter cohort (not biobanked samples)	MPSS	2012	High and low risk 35 17	SCA and T16	201 1
Comas, 2015 [28] Spain	Prospective cohort (not biobanked samples)	SNP/ t-MPS	2013	High and low risk 37 15	SCA (only high risk pregnancies at NIPT underwent the invasive reference test)	333 (217 analysed for SCA) 22
Mazloom, 2013 [32] USA	Prospective cohort (biobanked samples)	MPSS	ns	High risk 36 (median) 17 (median)	SCA	411 21
Nicolaides, 2013 [33] United Kingdom	Prospective cohort (biobanked samples)	SNP	ns	High risk 36 (median) 13 (median)	SCA	242 13
Pergament, 2014 [17] USA	Prospective, multicenter cohort, (not biobanked samples)	SNP	ns	High and low risk 30 14	SCA	1 064 98

ns = Not stated; MPSS = Massive parallel shotgun sequencing; SCA = Sex chromosome aneuploidy; SNP = Single nucleotide polymorphism; T = Trisomi; t-MPS = Targeted massive parallel sequencing

Antal foster och barn som får behandling

De kromosomavvikelser som kan upptäckas med NGS går i nuläget inte att behandla, men däremot kan sjukvården erbjuda behandling som skapar gynnsammare förutsättningar för graviditet och förlossning. Det kan innefatta extra övervakning under graviditeten, förlossning genom kejsarsnitt eller på specialistklinik utifrån det förväntade behovet hos barnet.

Vi har inte identifierat några studier som undersöker om fosterdiagnostik med NGS leder till att fler eller färre barn får behandling innan eller i samband med födseln.

Sensitivitet och specificitet

Då de flesta studierna endast identifierar ett fåtal fall av könskromosomavvikelser med NGS vid NIPT resulterar en uträkning av sensitiviteten i mycket heterogena resultat (stor variation mellan studierna) och vida konfidensintervall. Spridningen beror troligen också på att de ingående studierna har olika studieupplägg samt att olika analysmetoder och populationer har ingått. Då studierna i flera avseenden är olika och resultaten skiljer sig åt betydligt, bör resultaten från de enskilda studierna inte vägas samman. För utfallsmåttet monosomi X går sensitivitet och specificitet att beräkna i nio av de inkluderade studierna, se Faktaruta 4.1 [17,22,24,29–34]. Det är däremot bara fyra studier som redovisar data för utfallsmåttet XXX och fem för utfallsmåtten XXY och XYY [24,29–32,34]. Endast de prover som har genererat ett resultat har inkluderats i beräkningarna. I Figur 4.1–4.4 visas sensitiviteten och specificiteten som beräknats från de enskilda studierna. Uträkningarna har gjorts i RevMan version 5.2. I programmet korrigeras celler med nollvärde med 0,5.

En studie inkluderar fall av trisomi 9 [31], en annan fall av trisomi 16 [34] och ytterligare en fall av andra trisomier samt deletioner och duplikationer [26]. Det var däremot så få fall som upptäcktes, att en beräkning av sensitivitet och specificitet inte skulle bli meningsfull.

Falskt positiva och negativa resultat

Både kvinnan och sjukvårdspersonalen kan uppfatta NGS vid NIPT som ett sätt att fastställa diagnos, vilket det inte är i sin nuvarande form. Det kan också vara svårt att förstå att ett och samma test kan vara tillförlitligt för ett visst utfallsmått men kanske mindre tillförlitligt för ett annat. NGS vid NIPT är tillförlitlig avseende förekomst av trisomi 13, 18 och 21 hos en population med hög sannolikhet för kromosomavvikelse [3]. Däremot finns det i dagsläget inte tillräckligt vetenskapligt underlag för att bedöma om det är tillförlitligt eller inte för könskromosomavvikelser. I de inkluderade studierna återfinns både falskt positiva och falskt negativa provsvar. Ett falskt positivt resultat innebär att NIPT-svaret visar att fostret har en kromosomavvikelse fast det i själva verket inte har det. Ett falskt negativt resultat innebär att analysen visar att fostret inte har en kromosomavvikelse trots att det har det.

I Tabell 4.3 redovisas hur många studier som inkluderats för de olika utfallsmåtten, hur många analyser som genomförts och hur många positiva fall som identifierats med NGS vid NIPT. Tabell 4.3 och 4.4 inkluderar även de studier där enbart prover som var positiva med NGS vid NIPT analyserades med referenstest. Projektgruppen har valt att inte kan väga samman data i en metaanalys och redovisar därför enbart ett medianvärde samt minsta respektive högsta värde för studierna. Detta innebär att vi inte kan slå fast något positivt prediktivt värde, det vill säga hur stor andel av dem som identifieras som positiva med metoden som är sant positiva, avseende dessa utfallsmått. Tabell 4.4 visar en mer detaljerad beskrivning av resultaten från de studier där både sant och falskt positiva resultat förekom.

I Tabell 4.5 redovisas hur många studier som inkluderats för de olika utfallsmåtten, hur många analyser som genomförts och hur många negativa fall som identifieras med NGS vid NIPT. Sammantaget förekommer falskt positiva svar i större utsträckning än falskt negativa i detta material. Vidare ses tydligt att för utfallsmåtten monosomi X, XXX och XXY har det gjorts fler analyser och identifierats fler fall i de studier som rapporterat både sant positiva och falskt negativa. Detta indikerar att dessa resultat i större utsträckning återspeglar vad som kan förväntas vid ett klinisk införande av detta test, än de som kommer från studier som enbart har sant positiva eller falskt positiva.

		Referenstest (Karyotypering)	
		Kromosomavvikelse finns	Kromosomavvikelse saknas
Indextest (Next-generation sequencing)	Positivt testresultat	A Sant positiv (fastställer korrekta avvikelser)	B Falskt positiv (falskt alarm)
	Negativt testresultat	C Falskt negativ (avvikelser missas)	D Sant negativ (utesluter avvikelser korrekt)

Testmetodens tillförlitlighet kan bedömas med hjälp av effektmåtten sensitivitet och specificitet. Testmetoden ska vara känslig, det vill säga påvisa befintliga fynd, och specifik, det vill säga bara påvisa sanna fynd. Sensitivitet uttrycker sannolikheten att metoden detekterar ett sant fynd, medan specificitet uttrycker sannolikheten för att metoden inte detekterar falska fynd.

Dessa räknas ut genom:
 Sensitivitet = Sant positiva/alla positiva fynd detekterade med referenstestet = $A/(A+C)$
 Specificitet = Sant negativa/alla negativa med referenstestet = $D/(B+D)$

Faktaruta 4.1
 Diagnostiska begrepp.

Figur 4.1-4.4 Sensitivitet och specificitet för NIPT med NGS för att identifiera könskromosomavvikelser.

Figure 4.1 Sensitivitet och specificitet för identifikation av monosomi X.

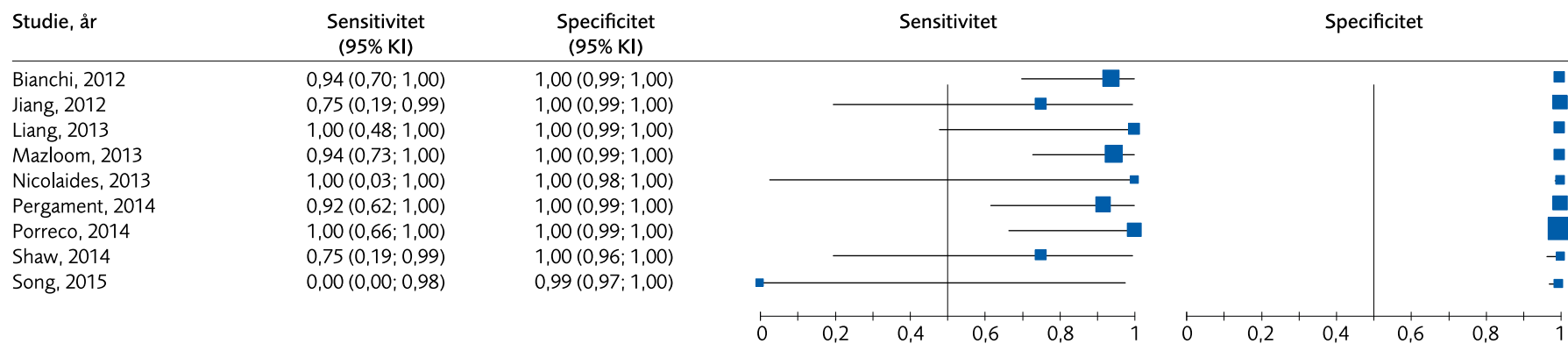


Figure 4.2 Sensitivitet och specificitet för identifikation av XXX.

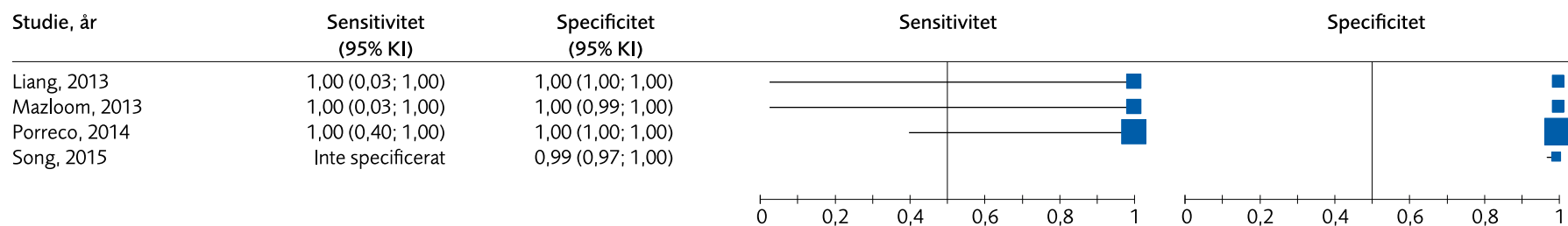


Figure 4.3 Sensitivitet och specificitet för identifikation av XXY.

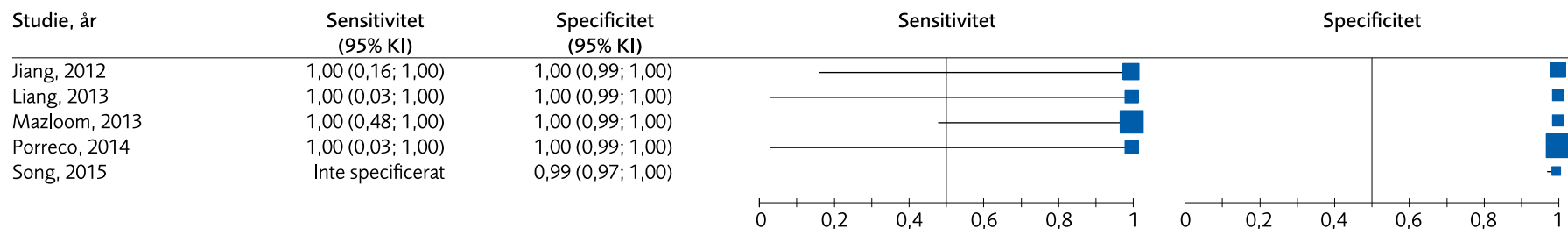


Figure 4.4 Sensitivitet och specificitet för identifikation av XYY.

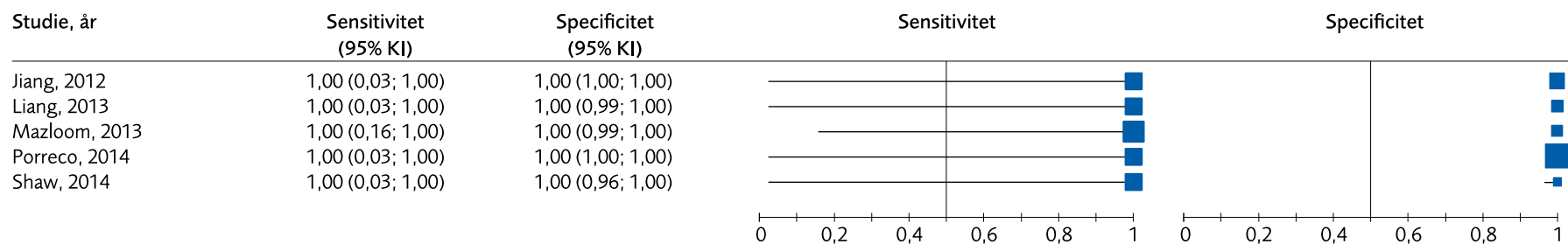


Table 4.3 Distribution of positive events in studies using NGS and non-invasive samples (NIPT).

Outcome	Number of included studies	Only true positive events: Number of studies Number of events (number of successful analyses)	Only false positive events: Number of studies Number of events (number of successful analyses)	Both true and false positive events: Number of studies Number of events (number of successful analyses)
Monosomy X	13	4 7 (332)	2 2 (179)	7 81 (6 379)
XXX	6	3 4 (804)	1 1 (178)	2 17 (3 280)
XXY	7	3 8 (1 705)	2 2 (179)	2 10 (3 208)
YY	6	5 6 (5 006)	0	1 1 (2*)

* Only cases with positive NIPT results underwent confirmation from invasive sampling.

Table 4.4 Number of analyses, true and false positive events, and the proportion of false positive events in the studies where both true and false positive event were identified.

Outcome	Number of Studies	Total number of successful analyses	Number of true positive events Median (range)	Number of false positive events Median (range)	Proportion of false positive events Median (range)
Monosomy X	7	6 379	9 (3–17)	1 (1–11)	16.7% (6.3–55%)
XXX	2	3 280	5.5 (4–7)	3 (3–3)	36.4% (30.0–42.9%)
XXY	2	3 208	2 (1–3)	3 (2–4)	61.9% (57.1–66.7%)
YY	1	2	1	1	50%

Table 4.5 Distribution of negative events in studies using NGS and non-invasive samples (NIPT).

Outcome	Number of included studies	Only true negative events: Number of studies (Total number of successful analyses)	Only false negative events	Both true and false negative events: Number of studies Number of false negative events (Number of successful analyses)
Monosomy X	9	3 (3 911)	0	6 5 (2 870)
XXX	4	4 (4 250)	0	0
XXY	5	5 (5 084)	0	0
XYY	5	5 (5 006)	0	0

Riktad analys vid NIPT för identifikation av mikrodeletioner

En studie av medelhög kvalitet [35] (Tabell 11.2) och två av låg kvalitet [21,23] (Tabell 11.3) identifierades som utvärderade NGS vid NIPT för detektion av mikrodeletioner. I studien av Helgeson och medförfattare utvärderas tillförlitlighet för att identifiera sju specifika mikrodeletioner i totalt 175 393 prover [35]. De sju mikrodeletioner som analyserades är kopplade till följande syndrom: 1p36-deletionssyndrom, 22q11.2-deletionssyndrom, Wolf-Hirschhorn syndrom, cri du chat-syndrom, Jacobsen syndrom, Langer-Giedion syndrom och Prader-Willi/Angelman syndrom. Totalt påvisade NGS av NIPT-proverna 55 positiva fall. Av dessa kunde 50 konfirmeras som sant positiva med referenstestet medan 3 var falskt positiva och 2 inte kunde analyseras. Denna studie kan inte användas för en beräkning av metodens sensitivitet och specificitet då samtliga prover inte har analyserats med både NGS vid NIPT och referenstest [35]. Studierna av Jensen och medförfattare samt Wapner och medförfattare bedömdes ha låg kvalitet framförallt på grund av att de prover som analyserats var få och/eller väldigt selekterade [21,23], till exempel användes artificiellt DNA i studien av Wapner och medförfattare. Resultaten kan därför inte användas för att göra en uppskattning av sensitivitet eller specificitet för NGS vid NIPT i en klinisk vardag.

NGS för helgenomsekvensering

Analys av hela genomet med NGS på icke-invasiva prover

Två studier av medelhög kvalitet har utvärderat NGS av hela genomet för att identifiera kromosomavvikelser i icke-invasiva prover [19,36]. De referenstester som använts är karyotypering respektive mikroarray på invasiva prover.

En av studierna har en prospektiv kohortdesign där svar från icke-invasiva prover som visar på förlust eller tillägg av genetiskt material verifieras genom karyotypering eller mikroarray av invasiva prover från fostervatten eller moderkakan [19]. I denna studie med 1 451 gravida kvinnor upptäckte författarna fyra positiva fall med NGS varav tre kunde bekräftas med referenstestet (sant positiva) samt ett fall som inte kunde bekräftas (falskt positiv) [19].

Den andra studien är en retrospektiv fall-kontrollstudie baserad på resultaten från tidigare mikroarrayanalyser av invasiva prover [36]. Totalt undersöktes prover från 117 gravida kvinnor där 18 prover visade på kromosomavvikelser med mikroarray och 99 var utan. I NGS-analysen upptäcktes 10 av 11 stora avvikelser (>5 Mbp) medan endast en av sju mindre avvikelser (<5 Mbp) upptäcktes. NGS-analysen visade även på falskt positiva resultat i fyra fall.

Analys av hela genomet med NGS på invasiva prover

För denna frågeställning identifierades enbart studier av låg kvalitet (Tabell 11.3). I en studie av Drury och medförfattare analyseras invasiva prover från foster där avvikelser upptäckts vid ultraljudsundersökning utan att kromosomavvikelser identifierats med mikroarray/karyotypering [37]. Syftet var att undersöka om ytterligare genetiska avvikelser av klinisk relevans kunde identifieras med NGS. Av de 24 foster som analyserades identifierades ytterligare avvikelser kopplade till diagnoser hos fem, samt en möjlig diagnos hos ytterligare ett foster. Då studien baserar sig på ett begränsat och väldigt selekterat material, vilket författarna själva framhåller, gjordes bedömningen att den inte kan användas som underlag för några slutsatser i frågeställningen [37]. Vidare identifierade projektgruppen ytterligare två studier av låg kvalitet [18,20]. Dessa studier kan mer ses som ”proof of principle”-studier där enbart ett fåtal väldigt selekterade prover har analyserats. Projektgruppen har inte identifierat några studier som undersöker vilka möjliga kromosomavvikelser som det finns risk att missa, om NGS används för analys av hela genomet istället för en alternativ metod.

Upplevelse och värdering av informationen de blivande föräldrarna får från NGS

Det vetenskapliga underlaget är otillräckligt för att bedöma hur blivande föräldrar upplever värdet av informationen som de får med NGS för utfallsmåttan könskromosomavvikelse eller mikrodeletioner kopplade till kända syndrom, eller NGS vid helgenomsekvensering. Därmed behövs fler studier.

För denna frågeställning inkluderades en studie med kvalitativ metodik där forskarna med hjälp av fokusgrupper frågat 31 kvinnor om deras uppfattning kring att analysera för förekomst av och rapportera könskromosomavvikelser och mikrodeletioner kopplade till kända syndrom vid användning av NIPT [38]. Studien bedömdes vara av låg kvalitet och har inte tabellerats.

5 Kostnader

Denna rapport inkluderar inte någon hälsoekonomisk analys.

NGS för riktad analys

NGS vid NIPT kostar mer än en KUB-undersökning men har däremot en något lägre kostnad än invasiv provtagning med efterföljande karyotypering. NGS vid NIPT utförs endast i begränsad omfattning i Sverige och kostnaden är för närvarande cirka 6 000 kronor per undersökning [3]. Priset förväntas dock sjunka i framtiden i takt med att metoden utvecklas och blir vanligare. Om testet köps via privat mödravård ligger den på mellan 8 000 och 11 000 kronor. Kostnaden för en KUB-undersökning är omkring 1 500 kronor och för en invasiv provtagning och karyotypering beräknas kostnaden vara 6 000–9 000 kronor [3].

NGS för helgenomsekvensering

NGS av hela genomet ligger på en kostnad av cirka 20 000 kronor. I dagsläget behöver i regel även de blivande föräldrarnas arvs massa analyseras tillsammans med fostrets arvs massa vid helgenomsekvensering. Kostnaden blir då högre.

6 Etiska och sociala aspekter

Inledning

Den huvudsakliga målsättningen med fosterdiagnostiska metoder är att ge de blivande föräldrarna förutsättningar för att kunna fatta ett informerat beslut samt att värna om kvinnans reproduktiva autonomi [39–41].

En annan målsättning, som anses mer kontroversiell, är barnets och familjens framtida hälsa och livskvalitet [7]. Detta eftersom många av de kromosomavvikelser som identifieras inte är behandlingsbara och att informationen snarare fungerar som ett underlag för parets beslut om att fullfölja eller avbryta graviditeten [42]. Det finns en konflikt mellan autonomi- och hälsomålen inom fosterdiagnostik. Det är inte uppenbart att det sätt som fosterdiagnostik erbjuds och organiseras för att minimera förekomsten av födslar med vissa skador och sjukdomar också är det sätt som ger föräldrarna störst möjligheter att bestämma själva [43,44].

Oavsett målsättning bör metoden vara förenlig med de etiska principer som gäller för all vård, såsom respekt för kvinnans självbestämmande (autonomi-principen) och vård på lika villkor, enligt rättvisepincipen.

Fosterdiagnostik har kritiserats som ett instrument för att ”sortera bort” vissa individer på grund av skada eller sjukdom [45]. Denna kritik är giltig endast om fosterdiagnostik motiveras av och utformas för att undvika på förhand bestämda tillstånd, det vill säga om ett så kallat preventivt mål sätts i centrum istället för autonomimålet [45].

Fosterdiagnostik värderas väldigt olika av olika individer och grupper [44]. Det är många personer inblandade: den gravida kvinnan och hennes partner, fostret, släktingar och anhöriga, hälso- och sjukvårdspersonal, de som lever med tillstånden som kan identifieras, försäkringsbolag och samhället i stort. I denna rapport kommer de etiska fördelar och problem med NGS jämfört med befintliga standardmetoder, i första hand karyotypering, att beröras. För en allmän diskussion om etiska aspekter av fosterdiagnostik, se rapport från Statens medicin-etiska råd 2011 [45].

I dagsläget används NGS för att analysera ett antal på förhand bestämda kromosomavvikelser, så kallad riktad analys.

NGS för riktad analys

Fördelar med riktad NGS

En fördel med NGS är att den kan användas vid icke-invasiv fosterdiagnostik (NIPT) som, till skillnad från invasiv fosterdiagnostik, inte medför ökad missfallsrisk. Etiska aspekter av NIPT i förhållande till invasiv fosterdiagnostik diskuteras i SBU Alert-rapport nr 2015-03 samt i SMER:s rapport och kommer inte att ytterligare beröras här [3,4].

Etiska problem med riktad NGS

Som konstaterats i SBU:s rapport om NIPT bör NGS av ett icke-invasivt prov inte betraktas som ett diagnostisk test, utan som en metod som alltid bör följas upp med invasivt prov om NIPT visar en kromosomavvikelse hos fostret [3]. I rapporten om NGS vid NIPT för att identifiera trisomi 13, 18 och 21 konstaterades vidare att det fanns tillräckligt med data för att bestämma testets tillförlitlighet för kvinnor med ökad sannolikhet för kromosomavvikelse hos fostret [3].

Projektgruppen har inte identifierat tillräckligt omfattande och samstämmig data för att kunna bestämma testets diagnostiska tillförlitlighet avseende könskromosomavvikelser eller mikrodeletioner. Det faktum att testets tillförlitlighet kan skilja sig åt mellan olika utfall samt att det för vissa utfall inte med säkerhet går att bestämma tillförlitligheten, försvårar informationen till de blivande föräldrarna. Detta innebär att hälso- och sjukvården inte enbart ska förklara de olika fynd som görs, utan också informera om att säkerheten varierar beroende på vilket fyndet är. Detta försvårar det informerade samtycket [1].

Problem med stigmatisering av barnen brukar tas upp i samband med etiska diskussioner av fosterdiagnostik. Om vissa tillstånd eftersöks och identifieras i ökad utsträckning och graviditeter avbryts på grund av dem kan de individer som lever med tillstånden i fråga bli stigmatiserade [1]. Det är av stor etisk betydelse att det finns ett bra samhälleligt stöd för personer med funktionsnedsättning [3].

Det finns även etiska problem kring forskning på detta område och med att fortsätta med viss typ av studiedesign avseende NIPT med NGS, se Kapitel 8. Eftersom många av tillstånden är så ovanliga krävs det undersökning av många gravida kvinnor för att upptäcka ett fåtal fall. Dessutom behövs karyotypering eller mikroarray på invasiva prover som referenstest för en del av utfallen vilket medför en något ökad missfallsrisk.

Ytterligare ett etiskt problem med NGS på NIPT-prover är att företagen som säljer testerna i stor utsträckning styr vilka tillstånd som analyseras genom att sälja på förhand utformade analyser. Det innebär att vilka analyser som ska göras bestäms vid upphandlingen snarare än vid provtagning och att man på plats inte kan styra vad som ska testas för utifrån vad vårdpersonalen anser vara etiskt motiverat. Exempelvis säljs ofta analyser där test av könskromosomer automatiskt läggs till analys av kromosom 13, 18 och 21.

Redan i dagsläget används alltså NGS för analys av könskromosomavvikelser. Könskromosomavvikelser kan även identifieras med metoder som används i samband med invasiv fosterdiagnostik, som karyotypering, mikroarrayanalys och QF-PCR. Frågan uppkommer då om NGS ska erbjudas för att identifiera könskromosomavvikelser vid graviditeter där fostret inte varit föremål för en invasiv fosterdiagnostik. Det skulle kunna anses motiverat om det fanns särskilda skäl att identifiera könskromosomavvikelser utöver de som redan identifieras med idag etablerade metoder.

Det är mer problematiskt ur ett etiskt perspektiv att identifiera och informera om könskromosomavvikelser än andra trisomier [46]. Även om variationen i penetrans och expressivitet är mycket stor vad gäller könskromosomavvikelser, så är generellt symtomen milda i jämförelse med trisomi 13, 18 och 21. Den nedsatta penetransen och relativa mildheten i symtomen styrks av att en majoritet av dem som har könskromosomavvikelser förmodligen aldrig ens får en sådan diagnos [46]. Vidare medför den varierande penetransen och expressiviteten en stor osäkerhet om vad kromosomavvikelsen kommer att medföra för det framtida barnets hälsa och livskvalitet, vilket gör det svårt att informera om vad ett beslut om fortsatt graviditet innebär [46]. Detta försvårar också för kvinnan att fatta välgrundade beslut utifrån information om könskromosomavvikelser, med andra ord att utöva sin autonomi. Skälen att erbjuda NGS för könskromosomavvikelser ter sig sammantaget svaga.

Ytterligare ett problem med NGS, då det används vid NIPT, är att testet kan säljas till privatpersoner av kommersiella företag, så kallade ”direct-to-consumer testing” (DTC). Detta förenklas av att provet som analyseras kan tas med ett enkelt blodprov, till skillnad från de analysmetoder som kräver invasiv fosterdiagnostik (som karyotypering och mikroarrayanalys). Svårigheten att tolka resultaten ökar givetvis om det inte sker med stöd av professionell vårdpersonal, liksom risken för kommersiella påtryckningar att utan tillräcklig eftertanke rekommendera blivande föräldrar att göra genetiska analyser av sitt foster. Även jämlikheten i tillgång riskeras. Den etiska litteraturen om problemen med DTC är omfattande [43,44].

NGS för helgenomsekvensering

Fördelar med NSG av hela genomet

En fördel med NSG av hela genomet jämfört med karyotypering är att denna metod har potential att identifiera mindre genetiska avvikelser och därför har möjlighet att upptäcka sådana avvikelser som inte kan upptäckas med karyotypering. Dock bör det framhållas att kunskapsunderlaget idag är otillräckligt för att säga att NGS av hela genomet vid invasiv eller icke invasiv fosterdiagnostik ger mer detaljerade och tillförlitliga svar, se Kapitel 4.

Etiska problem med NSG av hela genomet i dagsläget och på sikt

Användning av NGS för analys av hela genomet ger i likhet med användning av mikroarray en mer detaljerad information om individens arvs massa jämfört med karyotypering. Etiska problem som är förknippade med en mer detaljerad analys av kromosomer diskuteras utförligt i SBU:s rapport om mikroarray vid fosterdiagnostik [1] och kommer därmed bara övergripande att beröras i denna rapport. Att NGS ger mer detaljerad information om arvs massan leder till etiska problem kring det informerade samtycket, problem som kan förstärkas ytterligare eftersom metoden har potential att upptäcka än mer än mikroarray [47]. Vidare kan NGS leda till att oväntade eller oklara fynd identifieras som kommer att vara svåra att informera om och svåra för föräldrar att använda som underlag för beslut.

Ett problem med NGS av hela genomet är att avgöra vad man ska leta efter. I princip kan alla möjliga kromosomavvikelser och monogena mutationer hittas med metoden, vilket sammantaget utgör tusentals tillstånd. Ett annat problem som även gäller analys med mikroarray är att ett stort antal oklara fynd kommer att identifieras som vi idag inte vet hur vi ska tolka. Dessutom kommer analysen göra att oväntade fynd, alltså fynd som inte relaterar till syftet med undersökningen, identifieras. Det bör poängteras att kunskapsunderlaget för att metoden skulle vara tillförlitlig i detta avseende än så länge är otillräcklig. Detta kan dock ändra sig på sikt. Då uppstår frågan om gränsdragning med två vägar att välja.

Å ena sidan kan en gräns dras så att endast en begränsad uppsättning på förhand bestämda tillstånd ska eftersökas. Det kan dock ses som problematiskt utifrån autonomisynpunkt, då föräldrars valmöjligheter begränsas. Dessutom kvarstår invändningen från människovärdessynpunkt det vill säga att detta kan uppfattas som ett instrument för att ”sortera bort” vissa individer på grund av ett visst tillstånd eller diagnos. När de tillstånd som får eftersökas på förhand är bestämda, kan det uppfattas som en tydlig signal för att dessa blivande individer är mindre skyddsvärda och det är mer angeläget att upptäcka dessa foster. Denna signal blir särskilt stark om alla kvinnor ges samma erbjudande om fosterdiagnostik. I ett sådant läge har screening i praktiken införts för tillstånden i fråga, med alla problem ur autonomisynpunkt som detta medför.

Å andra sidan kan man bestämma sig för att låta föräldrarna själva bestämma vilka tillstånd just de vill eftersöka. Då uppstår dock problemet med att ge ett adekvat informerat samtycke. Eftersom de möjliga tillstånd som kan komma att identifieras med NGS är så många och av så olika slag är ett informerat samtycke om var och en av dessa tillstånd i praktiken omöjligt. Eftersom det är genom informerat samtycke föräldrarna kan utöva sin autonomi är alltså även detta alternativ problematiskt ur autonomisynpunkt.

Ett förslag för att lösa problemet med informerat samtycke är någon form av så kallat generiskt samtycke. Det skulle innebära att kvinnan eller paret får ta ställning till om de vill ha reda på vissa breda kategorier av information (utöver de som ingår i det uttalade diagnostiska syftet med testet). Förslag till sådana kategorier är [48,49]: dödliga/inte dödliga, tidigt debuterande/sent debuterande, vårdkrävande/mindre vårdkrävande, lindriga/icke-lindriga, samt klara/oklara [42]. Även dessa kategorier kan dock vara svåra att ta ställning till, i synnerhet som samtliga utgör gradfrågor snarare än binära kategorier. Vidare kan exempelvis lindrigt uppfattas olika av olika par [42,50]. Den varierande expressiviteten och penetransen som många tillstånd har försvårar också ställningstagandet om vad som ska anses vårdkrävande eller lindrigt.

På sikt kan alltså NGS för analys av hela genomet ställa vården inför ett dilemma där alla alternativ innebär problem ur autonomisynpunkt.

Med tanke på den stora mängd information om individens genom som NGS ger så blir integritetsfrågorna aktuella [4]. Vidare kan risken för indikationsglidning också öka med NGS. Med det menas en utveckling mot att alltmer triviala tillstånd betraktas som grund för analys och medicinska åtgärder, inklusive abort [1]. Denna risk är särskilt stor med NGS kombinerat med NIPT. NIPT har just beskrivits som ”ett erbjudande man inte kan tacka nej till” delvis på grund av frånvaron av missfallsrisk, men också på grund av den stora mängd potentiellt relevant information NIPT kan ge om den kombineras med NGS av hela genomet [41,51]. Det finns därför också en risk att NGS bidrar till att öka den upplevda pressen om vikten av att skaffa sig så mycket hälsoinformation om sitt framtida barn som möjligt [1]. Det bör dock påpekas att det är ytterst svårt att finna belägg för denna typ av samhällsliga värdeförändringar och subtila påtryckningar.

Karaktären av screening ökar ytterligare när NGS används för helgenomanalys jämfört med mikroarray. Alla genetiska avvikelser, inklusive mutationer på enskilda gener, kan potentiellt identifieras med NGS [40]. NGS undergräver därmed skillnaden mellan diagnos och screening och blir alltså mer svår motive-rad utifrån autonomimålet [1].

7 Diskussion

NGS för riktad analys

Genomgång av litteraturen avseende NGS vid NIPT för upptäckt av könskromosomavvikelser samt mikrodeletioner visar att det ännu inte går att säga hur tillförlitligt testet är. Detta beror på att studierna som identifierats skiljer sig åt avseende population, NGS-metod och upplägg. Det beror också till stor del på att utfallsmåtten, könskromosomavvikelser samt mikrodeletioner är så ovanligt förekommande.

Eftersom NGS vid NIPT är icke-invasivt är risken för komplikationer liten. I de delar av världen där analysen redan används har både gravida kvinnor och vårdgivare i vissa fall uppfattat NGS vid NIPT som diagnostiskt och ett uppföljande invasivt prov görs inte för att bekräfta fyndet. I en studie från England beskrivs att ingen uppföljande invasiv analys gjordes i 4 av 13 fall, även när analysen visade positivt fynd för trisomi 21 [52]. Studien visar vidare att i en tredjedel av de fall där trisomi 21 påvisades valde kvinnorna att fortsätta graviditeten. Då det inte med säkerhet går att avgöra hur tillförlitlig analysen är för utfallsmåtten könskromosomavvikelse eller mikrodeletioner, finns det en risk för att kvinnan avbryter sin graviditet baserat på ett felaktigt beslutsunderlag. Ett fynd behöver, av den anledningen, bekräftats med analys av ett invasivt prov. Beroende på hur NGS vid NIPT kommer att erbjudas i hälso- och sjukvården, kan det komma att utföras ett stort antal analyser som resulterar i uppföljande invasiva prover i de fall testet indikerar att en avvikelse föreligger. Detta kan i sin tur, återigen beroende på hur många som genomgår NGS vid NIPT, göra att antalet invasiva prover inte minskar utan istället ökar, jämfört med idag. Det kan därför vara önskvärt att de gravida kvinnor som erbjuds NGS vid NIPT är de med en högre sannolikhet för tillstånden som kan identifieras, till exempel de

som har en hög sannolikhet efter KUB-test. Beräkningar visar att den invasiva provtagningen troligen minskar med 43 procent om NGS vid NIPT införs i kombination med KUB-testet [52].

För att kunna erbjuda NGS vid NIPT på kvinnokliniker och mödravårdscentraler, behövs en stor utbildningsinsats så att alla har den baskunskap som krävs. En sådan utbildningsinsats bör innehålla både kunskap om fosterdiagnostik och NIPT och de genetiska avvikelser som är aktuella. De gravida kvinnorna och deras partners som vill genomgå fosterdiagnostik behöver få information om bland annat vilka genetiska avvikelser testet kan påvisa och att ett uppföljande invasivt test behövs efter att en avvikelse påvisats. De bör även få möjlighet att ställa frågor och diskutera vilken typ av undersökning som är mest relevant, samt få tydlig information och stöd från personal som är utbildad inom genetisk vägledning, när de får testresultaten.

Idag registreras de flesta KUB-undersökningar i en nationell fostermedicinsk databas vid namn Nationellt kvalitetsregister för graviditets- och fosterdiagnostik. Det gör att kvaliteten avseende KUB kan följas upp. Om hälso- och sjukvården väljer att införa NGS på NIPT-prover för utfallen könskromosomavvikelser/mikrodeletioner eller mikroduplikationer, vore det lämpligt att alla analyser följs upp på ett motsvarande sätt oavsett om proverna tas på en offentlig eller privat mottagning. Detta är extra viktigt då det i dagsläget inte finns tillräckligt med data för att avgöra tillförlitligheten för dessa utfall.

De icke-invasiva prover som tas i framtiden kan komma att analyseras med NGS för utfallen avvikande antal könskromosomer eller mikrodeletioner kopplade till syndrom även om detta inte är den primära frågeställningen. I dagsläget erbjuds denna typ av utökad analys för mikrodeletioner enbart privat och kvinnan som undersöks står själv för kostnaden. Kvinnan kan själv välja om hon vill få information om alla de utfall som analyseras eller enbart något/några av dem.

Redan idag finns svårigheter med att informera kvinnan och partnern om metoden på ett korrekt sätt. Även att avgöra vilka kromosomavvikelser som ska ingå i analysen och hur resultaten ska förmedlas är svårt.

Sammanfattningsvis är det mycket viktigt att en kvinna som genomgår NGS vid NIPT är införstådd med att det inte är ett diagnostiskt test och att testet kan ha olika tillförlitlighet beroende på utfallsmått.

NGS för helgenomsekvensering

Genomgång av litteraturen avseende NGS för analys av hela genomet visar att det ännu inte går att säga hur tillförlitligt testet är. Det går heller inte att säga vad det kan identifiera ytterligare jämfört med andra fosterdiagnostiska metoder eller hur blivande föräldrar upplever värdet av informationen. Vid en genomgång av litteraturen identifierades endast ett fåtal studier där ett väldigt selekterat material analyserats.

Användningen av NSG inom fosterdiagnostik aktualiserar flera viktiga etiska aspekter. Tekniken möjliggör detaljerad undersökning av fostrets arvs massa enbart utifrån ett blodprov från kvinnan. Samtidigt som tekniken på sikt kan leda till tidig upptäckt och behandling av olika hälsoproblem, innebär omfattande kartläggning av fostrets arvsanlag att ytterst integritetskänslig och en till stora delar svårtolkad information erhålls. Den svårtolkade informationen som erhålls kan i värsta fall kan leda till oro, svåra etiska problem och beslut på felaktiga grunder.

8 Övervägande för forskning, policy och praktik

Identifierade kunskapsluckor

Ett flertal vetenskapliga kunskapsluckor har identifierats inom ramen för detta projekt eftersom ingen av frågorna har kunnat besvaras. Det beror på att det vetenskapliga underlaget är otillräckligt för att bedöma den diagnostiska tillförlitligheten av NGS vid NIPT för att identifiera könskromosomavvikelse, mikrodeletioner och mikroduplikationer och andra kromosomavvikelse. Det vetenskapliga underlaget är även otillräckligt för att bedöma hur de blivande föräldrarna upplever kunskapen de får med denna metod avseende dessa utfallsmått.

I den här delen har projektgruppen valt att lyfta fram orsakerna till kunskapsläget samt några metodologiska problem kopplat till denna typ av forskningsfrågor.

En av orsakerna till att det är svårt att få fram underlag för att besvara dessa frågor är att tillstånden är så ovanliga och att det krävs studier på väldigt stora populationer för att få tillräckligt med data. Det krävs också för vissa av denna rapport's utfallsmått (framför allt könskromosomavvikelse) att kontrollen är gjord på invasiva prover och inte baserar sig på fenotypen hos födda barn, då det helt enkelt inte är en tillräckligt tillförlitlig kontroll för dessa utfallsmått. Då invasiv provtagning av foster innebär en något ökad missfallsrisk kan det anses etiskt tveksamt att genomföra studier med invasiv provtagning som kontroll på stora populationer. Ett alternativ till att använda fenotyp eller invasiv prov som kontroll skulle då kunna vara att ett blodprov tas på födda barn efter

förlossning och analyseras med karyotypering, FISH-analys eller mikroarray. Ett problem med detta upplägg är att risken för bortfall ökar på grund av att studien pågår en längre tidsperiod. När provtagningen görs i diagnostiskt syfte kan resultaten även användas i forskningssyfte.

Man kan också tänka sig studier som enbart syftar till att kunna fastställa testets positiva prediktiva värde. I detta fall krävs det enbart att de som får ett positivt svar går vidare med invasiv provtagning och karyotypering, FISH- eller mikroarrayanalys. Det skulle på sikt kunna besvara frågan hur stor sannolikhet det är att testsvaret är sant om ett svar från NIPT som indikerar kromosomavvikelse erhålls (positivt prediktivt värde).

Det är också mycket angeläget att studera hur blivande föräldrar upplever metoden. Förstår de vad testet och testresultaten innebär och känner de att resultaten är av värde för dem?

Om dessa analyser införs i vården och resultat av NGS analyser vid NIPT för könskromosomavvikelse eller mikrodeletioner förmedlas vidare till blivande föräldrar är det av mycket stor vikt att följa upp resultaten.

Pågående studier

SBU identifierade fem pågående studier som använder NGS för att undersöka en eller flera av könskromosomavvikelse i NIPT-prover, i databasen clinicaltrials.gov (NCT01545674, NCT01966991, NCT01852708, NCT02278536, NCT02278874). Projektgruppen hittade tre studier (NCT01852708, NCT02381457, NCT02109770) som använder NGS och NIPT-prover för att upptäcka mikrodeletioner.

9 Projektgrupp, externa granskare, råd och nämnd

Projektgrupp

Sakkunniga

MARIA SOLLER
docent, överläkare, Labmedicin,
Medicinsk service, Region Skåne

NIKLAS JUTH
docent, universitetslektor,
Karolinska Institutet, Stockholm

ANN-CHARLOTTE THURESSON
docent, sjukhusgenetiker,
Akademiska sjukhuset, Uppsala

SBU

CHRISTEL HELLBERG
projektledare

IRENE EDEBERT
biträdande projektledare

MIRIAM ENTESARIAN MATSSON
biträdande projektledare

AGNETA BROLUND
informationsspecialist

REBECCA SILVERSTEIN
biträdande projektledare

ANNA ATTERGREN GRANATH
projektadministratör

Externa granskare

SBU anlitar externa granskare av sina rapporter. Dessa har kommit med värdefulla kommentarer, som i hög grad bidragit till att förbättra rapporten. I slutversionen av rapporten är det möjligt att SBU inte kunnat tillgodose alla ändrings- eller tilläggsförslag från de externa granskarna, bland annat därför att de inte alltid varit samstämmiga. De externa granskarna står därför inte nödvändigtvis bakom samtliga slutsatser eller andra texter i rapporten.

Externa granskare har varit:

JON JONASSON

docent, överläkare, Klinisk genetik, Diagnostikcentrum, Region Östergötland

ERIK IWARSSON

docent, överläkare vid Karolinska Universitetssjukhuset, Solna

GÖRAN LINGMAN

professor vid avdelningen för Obstetrik och Gynekologi på institutionen för Kliniska Vetenskaper, Medicinska fakulteten, Lunds universitet

Bindningar och jäv

Sakkunniga och granskare har i enlighet med SBU:s krav inlämnat deklARATION rörande bindningar och jäv. Dessa dokument finns tillgängliga på SBU:s kansli. SBU har bedömt att de förhållanden som redovisas där är förenliga med kraven på saklighet och opartiskhet.

SBU:s nämnd

SBU:s nämnd har fattat beslut om slutsatserna i rapporten.

NINA REHNQVIST

ordförande, professor, Karolinska Institutet

SUSANNA AXELSSON

tf generaldirektör, SBU

ÅSA HIMMELSKÖLD

sektionschef, Sveriges Kommuner och Landsting

BJÖRN KLINGE

professor, Odontologiska fakulteten, Malmö högskola, och Karolinska Institutet

KERSTIN NILSSON

universitetslektor, ordförande, Svenska Läkaresällskapet

SVEN OHLMAN

med dr, Socialstyrelsen

SINEVA RIBEIRO
förbundsordförande, Vårdförbundet

HEIDI STENSMYREN
ordförande, Sveriges läkarförbund

ANDERS SYLVAN
landstingsdirektör,
Västerbottens läns landsting

HÅKAN SÖRMAN
verkställande direktör,
Sveriges Kommuner och Landsting

MATS ULFENDAHL
professor, huvudsekreterare
för ämnesrådet för medicin,
Vetenskapsrådet

SBU:s vetenskapliga råd – Brage

SBU:s vetenskapliga råd har granskat det vetenskapliga underlaget i rapporten.

LARS HANSSON
ordförande, professor,
vårdvetenskap, Lunds universitet

CHRISTEL BAHTSEVANI
leg sjuksköterska, med dr,
vårdvetenskap, Malmö Högskola

PER CARLSSON
professor, hälsoekonomi,
Linköpings universitet

BJÖRN-ERIK ERLANDSSON
professor, medicinteknik, KTH,
Stockholm

ARNE GERDNER
professor, socialt arbete,
Hälsöhögskolan i Jönköping

LENNART ISELIUS
docent, Hälso- och sjukvårdsdirektör,
Landstinget Västmanland

MUSSIE MSGHINA
docent, överläkare, psykiatri,
Karolinska Universitetssjukhuset

LARS SANDMAN
professor, vårdetik, Högskolan i Borås

BRITT-MARIE STÅLNACKE
professor/överläkare, rehabiliterings-
medicin, Umeå Universitet

SVANTE TWETMAN
professor, tandvård, Halmstad samt
Köpenhamns Universitet

Brukarsamarbete

För att identifiera viktiga frågeställningar träffade SBU inledningsvis föreningen FUB (För barn, unga och vuxna med utvecklingsstörning). Dessutom fick föreningen rekommendera en av de tre granskarna och de har även fått lämna synpunkter på rapporten.

10 Ordlista

Amniocentesis (eng)	Fostervattenprov
Amniotic fluid (eng)	Fostervatten
Aneuploidi (eng aneuploidy)	En avvikelse av antalet kromosomer från det normala hos en individ, vilket i regel orsakar sjukdom. Människan har 46 stycken kromosomer, varje avvikelse från detta innebär aneuploidi, till exempel att det istället finns 47 kromosomer
Arvsanlag	Gen/gener
Autosomal	De 22 kromosompar, totalt 44 kromosomer, som inte är könskromosomer kallas autosomer. Om arvsanlaget för sjukdomen sitter på autosomerna, är sjukdomen autosomal
Blodplasma (eller enbart plasma)	Det som återstår av blodet när alla celler har avlägsnats. Blodplasma består till 90 procent av vatten och innehåller bland annat speciella plasmaproteiner med olika funktioner
cffDNA (eng cell-free fetal DNA)	Fritt cirkulerande DNA som under graviditeten avges från moderkakan till mammans blodplasma
CNV (eng copy number variation)	Kopietalsvariation i genomet
CVS (eng chorionic villus sampling)	Moderkaksprov
DNA (eng deoxyribonucleic acid)	Deoxiribonukleinsyra är det kemiska ämne som arvsmassan består av
Duplikation	Extra kopia av en del av en kromosom
Enbaspolymorfi (eng single nucleotide polymorphism, SNP)	En bas i arvsmassan som kan skilja mellan olika individer

Expressivitet	Om ett sjukdomsanlag har varierande expressivitet innebär det att svårighetsgraden skiljer mellan olika individer
Falskt negativ	Falskt negativ betyder att testet utföll negativt, trots att referenstestet visar att individen bär på sjukdomen/egenskapen
Falskt positiv	Falskt positiv betyder att testet utföll positivt trots att referenstestet visar att individen inte bär på sjukdomen/egenskapen
Fenotyp	Egenskaper uppkomna genom samverkan mellan arvsanlag och miljö
FISH (eng fluorescent in situ hybridization)	En molekylärbioologisk teknik som utnyttjar fluorescensprober, som binder till specifika platser på kromosomerna
Genom	En individs totala arvs massa
Karyotyp	En organiserad profil av en individs kromosomer
Karyotypering	Cellernas fullständiga kromosomuppsättning fastställs
Kromosom	Mikroskopiskt synliga strukturer i cellkärnan där arvs massan finns lagrad i form av DNA
KUB	Kombinerat ultraljud och biokemiskt test
Mikrodeletionssyndrom	Syndrom som är kopplat till avsaknad av en mindre del av kromosomen
Mikroduplikationssyndrom	Syndrom som är kopplat till fler än två kopior av en mindre del av kromosomen
MLPA (eng multiplex Ligation dependent Probe Amplification)	En ligeringsbaserad metod för FISH
Monogena sjukdomar	Sjukdomar som beror på avvikelser i en enda gen
Monosomi	En form av kromosomavvikelse som innebär att en individ har en kopia av en kromosom istället för som normalt två
Mosaicism	Kromosomsekvenserna skiljer sig åt i olika cellpopulationer från en och samma individ
NIPT (eng non-invasive prenatal test)	Icke-invasiv fosterdiagnostik som görs på ett blodprov från modern
Oklara fynd (eng variant of uncertain significance, VOUS)	Avvikelsen innefattar en gen eller gener där väldigt lite är rapporterat i databaser och litteratur om genens funktion, men där den till exempel kan associeras till hjärnans eller andra organs utveckling
Oväntade fynd (eng secondary findings)	Ett fynd som inte relaterar till den avvikelse som undersökningen primärt avser, men som är sjukdomsorsakande. Kan till exempel vara att en avvikelse påvisas i BRCA1-genen som är en vanlig orsak till ärftlig bröstcancer
Penetrans	När det är skillnad i penetrans uppvisar vissa individer med en specifik genetisk avvikelse en särskild fenotyp, medan andra inte gör det
QF-PCR	Kvantitativt fluorescenspolymerkedjereaktion
Screening	En undersökning av en stor grupp individer som syftar till att fånga upp risk för hälsoproblem utan att det på förhand finns misstanke om eller symtom på sjukdom
Sekvensering	Metod för att bestämma ordningen av baserna i arvs massans DNA

Sensitivitet	Andelen sjuka/positiva som metoden identifierar korrekt
SFOG	Svensk förening för Obstetrik och Gynekologi
Specificitet	Andelen friska/negativa som metoden identifierar korrekt
Trimester	En tidsperiod på cirka tre månader. En graviditet består av första, andra och tredje trimestern
Trisomi	En form av kromosomavvikelse där en individ har tre kopior av en kromosom istället för som normalt två

11 Studier som ligger till grund för resultat och slutsatser

Table 11.1 Next-generation sequencing from NIPT sample to detect sex chromosome aneuploidies and trisomies other than T13, T18 and T21.

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Bianchi 2012 [22] USA	<p>Study design Nested case control study within a prospective multicenter, observational cohort</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study June 2010 to August 2011</p>	<p>Population High risk for fetal aneuploidy n=2 882 (cohort) n=534 (selected) Successful samples n=433</p> <p>Samples Biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria Age 38 years or older Prior aneuploid pregnancy Anomaly detected by USS Positive maternal serum screen</p> <p>Exclusion criteria Ineligible samples, no karyotype recorded or multiple gestation</p> <p>Gestational age at sampling 10–23 weeks</p> <p>Maternal age Mean 35 years</p> <p>Drop-outs Did not pass quality control n=2 No fetal DNA detected n=16 Censored complex karyotype n=37 Unclassified =49 (when checked number should read 46)</p>	<p>Platform NIPT MPSS</p> <p>Reference test Karyotype</p>	<p>Monosomy X TP 15 FP 1 FN 1 TN 416</p> <p>Sensitivity: 93.8 (95% CI, 69.8; 99.8) Specificity: 99.8 (95% CI, 98.7; 99.9)</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Verinata</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Comas 2015 [28] Spain	<p>Study design Prospective cohort study</p> <p>Not blinded</p> <p>Time of study January to December 2013</p>	<p>Population Mainly low risk for fetal aneuploidy (84%) n=333 (total) n=311 (analysed)</p> <p>Samples</p> <p>Not biobanked</p> <p>Inclusion criteria Singleton pregnancies Pregnancies referred by anxiety or high risk in maternal serum screen combined with nuchal translucency</p> <p>Exclusion criteria Anomaly detected by USS Pregnancies at high risk of other genetic conditions</p> <p>Gestational age at sampling 9–23 weeks</p> <p>Maternal age Mean 37 years (21–46)</p> <p>Drop-outs No test result n=4 Repeated sampling and analysis n=6 Lost to follow up n=18 (pregnancies that were still in progress)</p>	<p>Platform NIPT SNP/T-MPS</p> <p>Reference test Karyotype or neonatal data</p> <p>Karyotyping only in patients with high risk in NIPT analysis</p>	<p>Monosomy X (1 identified with NIPT, 1 analysed with karyotype) TP 0 FP 1 Lost to follow-up: 0</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Natera</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Jiang 2012 [30] China	<p>Study design Multicenter prospective cohort study</p> <p>Blinding unclear</p> <p>Time of study June 2009 to August 2010</p>	<p>Population High risk for fetal aneuploidy n=903 (total) n=903 (analysed)</p> <p>Samples Biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria Pregnant women undergoing invasive test</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Gestational age at sampling 10–34 weeks</p> <p>Maternal age Range 20–45 years</p> <p>Drop-outs 1 due to failure in gender classification (calculated as ITT)</p>	<p>Platform NIPT MPSS</p> <p>Reference test Karyotype</p>	<p>Monosomy X TP 3 FP 1 FN 1 TN 898</p> <p>Sensitivity: 75% Specificity: 99.9%</p> <p>XXY TP 2 FP 0 FN 0 TN 901</p> <p>Sensitivity: 100% Specificity: 100%</p> <p>XYY TP 1 FP 0 FN 0 TN 902</p> <p>Sensitivity: 100% Specificity: 100%</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner BGI</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Lau 2014 [26] Hong Kong	<p>Study design Prospective cohort single center study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study August 2011 to February 2013</p>	<p>Population n=1 982 (total) n=1 981 (analysed)</p> <p>Samples Not biobanked samples 1 929 singleton, 30 twin fetuses, 23 internal controls (anomaly detected by USS)</p> <p>Inclusion criteria Physician request of NIPT, pregnancy >12 weeks</p> <p>Exclusion criteria Major anomaly detected by USS</p> <p>Gestational age at sampling Median 14.5 weeks</p> <p>Maternal age Mean 36 years (20–46)</p> <p>Drop-outs Failed analysis n=1 Repeat blood sample n=23 Lost to follow-up 14.4%</p>	<p>Platform NIPT Not specified</p> <p>Reference test Karyotype, QF-PCR or CMA (only NIPT positive & on 23 internal controls)</p> <p>NIPT negative cases were contacted within 3 months after expected delivery for a clinical outcome follow up</p>	<p>Monosomy X (1 identified with NIPT, 1 analysed with karyotype) TP 1 FP 0 Lost to follow-up: 0</p> <p>XXX (4 identified with NIPT, 2 analysed with karyotype) TP 2 FP 0 Lost to follow-up: 2</p> <p>XXY/XXY (3 identified with NIPT, 2 analysed for karyotype) TP 2 FP 0 Lost to follow-up: 1</p> <p>Autosomal trisomy 4/6 detected trisomies with NIPT were analysed with karyotyping TP 0 FP 4</p> <p>Triple trisomy 1 detected with NIPT but confirmed confined to placental mosaicism</p> <p>Deletion/duplication 1 partial trisomy 18 1 partial monosomy 18 Confirmed for fetal or maternal origin</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial interests BGI</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Liang 2013 [31] China	Study design Multicenter prospective cohort study Blinded Time of study March 2009 to June 2011	Population High risk for fetal aneuploidy n=435 (total) n=412 (analysed) Samples Biobanked samples Inclusion criteria Positive maternal serum screen n=217 Anomaly detected by USS n=67 Prior aneuploidy pregnancy n=4 AMA ≥ 35 n=84 More than one indication n=63 Exclusion criteria Not specified Gestational age at sampling Median 21 weeks (11–39 weeks) Maternal age Mean 31 years Drop-outs n=11 karyotypes missing n=12 failed sequencing	Platform NIPT Not specified Reference test Karyotype	Monosomy X (3 mosaic 0X treated as diploid: 1 detected and 2 mosaic missed in sequencing) TP 5 FP 1 FN 0 TN 406 Sensitivity: 100% Specificity 99.8% XXX TP 1 FP 0 FN 0 TN 411 Sensitivity and Specificity: 100% XXY TP 1 FP 0 FN 0 TN 411 Sensitivity and Specificity: 100% XYY TP 1 FP 0 FN 0 TN 411 Sensitivity and Specificity: 100% Trisomy 9 TP 1 FP 0 FN 0 TN 411 Sensitivity and Specificity: 100%	Moderate Commercial partner Berry Genomics

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Mazloom 2013 [32] USA	Study design Prospective cohort study Blinded Time of study Not reported	Population High risk for fetal aneuploidy Validation set only population n=411 Successful samples n=390 Samples Biobanked samples Inclusion criteria Invasive sampling for karyotyping due to high risk for fetal aneuploidy Exclusion criteria Multiple gestation, mosaicism for sex chromosomes; no documented karyotype reported Gestational age at sampling 8–29 weeks Maternal age Median 36 years (19 to 47) Drop-outs Non reportable results n=21 (5%)	Platform NIPT MPSS Reference test Karyotype/FISH or both	Monosomy X TP 17 FP 1 FN 1 TN 371 XXX TP 1 FP 0 FN 0 TN 389 XXY TP 5 FP 0 FN 0 TN 385 XYY TP 2 FP 0 FN 0 TN 388	Moderate Commercial partner Sequenom Inc

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Nicolaidis 2013 [33] United Kingdom	Study design Prospective cohort study Blinded Time of study Not reported	Population High risk for fetal aneuploidy n=242 (total) n=229 (analysed) Samples Biobanked samples Inclusion criteria AMA Prior aneuploid pregnancy Positive maternal serum screen Exclusion criteria Not specified Gestational age at sampling 11–14 weeks Maternal age Median 36 years (18–47) Drop-outs n=13 failed quality control	Platform NIPT SNP Reference test Karyotype	Monosomy X TP 2 FP 0 FN 0 TN 227 Triploidy TP 1 FP 0 FN 0 TN 228	Moderate Commercial partner None reported (personal communication)

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Pergament 2014 [17] USA	<p>Study design Prospective cohort multicenter study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study Not reported</p>	<p>Population n=1 064 (total) n=966 (analysed)</p> <p>High risk for fetal aneuploidy n=543 (total) n=492 (analysed, mosaic monosomy X cases included)</p> <p>Low risk for fetal aneuploidy n=521 (total) n=474 (analysed, mosaic monosomy X cases included)</p> <p>Samples Not biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria >18 years Singleton pregnancy >7 weeks</p> <p>Exclusion criteria Confirmed sex chromosome aneuploidy, triploidy or fetal mosaicism</p> <p>Gestational age at sampling Median 14 weeks (7–40)</p> <p>Maternal age Median 30 years (18–47)</p> <p>Drop-outs Did not pass quality control n=85 Fetal mosaicism monosomy X n=2</p>	<p>Platform NIPT SNP</p> <p>Reference test Karyotype or FISH</p>	<p>Monosomy X TP 9 FP 1 FN 1 TN 953</p> <p>Sensitivity: 90 (95% CI, 55.5; 99.8) Specificity: 99.9 (95% CI, 99.4; 100)</p> <p>Monosomy X including mosaic karyotypes TP 11 FP 1 FN 1 TN 953</p> <p>Sensitivity: 91.7 (95% CI, 61.5; 99.8) Specificity: 99.9 (95% CI, 99.4; 100)</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Natera</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Porreco 2014 [29] USA	<p>Study design Prospective multicenter observational study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study September 2009 to April 2011</p>	<p>Population High risk for fetal aneuploidy n=4 170 (total), n= 3 430 (selected) Successful samples for outcome of X or XXX n=3 278 Successful samples for outcome of XXY or XYY n=3 201</p> <p>Samples Biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria AMA, Personal or family history Positive maternal serum screen Anomaly detected by USS , Singleton pregnancy ≥18 years of age</p> <p>Exclusion criteria Inability to give written informed consent, multiple gestation, fetal demise of additional embryo during current pregnancy Insufficient sample volume Outside time window for laboratory processing</p> <p>Gestational age at sampling Mean 16 weeks (9–37)</p> <p>Maternal age Mean 35 years (18–50)</p> <p>Drop-outs Low quantity of fetal DNA or complex karyotypes: Outcome X or XXX n=152 (4.6%) Outcome XXY or XYY n=229 (7.1%)</p>	<p>Platform NIPT MPSS</p> <p>Reference test Karyotyping</p>	<p>Monosomy X TP 9 FP 11 FN 0 TN 3 258</p> <p>Sensitivity: 100 (95% CI, 66.4; 100) Specificity: 99.7 (95% CI, 99.4; 99.8)</p> <p>XXX TP 4 FP 3 FN 0 TN 3 271</p> <p>Sensitivity: 100 (95% CI, 39.8; 100) Specificity: 99.9 (95% CI, 99.7; 100)</p> <p>XXY TP 1 FP 2 FN 0 TN 3 198</p> <p>Sensitivity: 100 (95% CI, 2.50; 100) Specificity: 99.9 (95% CI, 99.8; 100)</p> <p>XYY TP 1 FP 0 FN 0 TN 3 200</p> <p>Sensitivity: 100 (95% CI, 2.5; 100) Specificity: 100 (95% CI, 99.9; 100)</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Sequenom</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Shaw 2014 [34] Taiwan	<p>Study design Prospective multi-center cohort study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study June to December 2012</p>	<p>Population n=201 (total) n=200 (analysed)</p> <p>High risk n=100 (total and analysed)</p> <p>Low risk n=101 (total) n=100 (analysed)</p> <p>Samples Not biobanked samples</p> <p>Gestational age at sampling High risk: Mean 17 weeks Low risk: Mean 16 weeks</p> <p>Inclusion criteria High risk: Risk of 1:30, NT >3.0 mm Low risk: Risk of 1:1 500</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Maternal age High risk: Mean 35 years Low risk: Mean 35 years</p> <p>Drop-outs Due to early gestational age n=1</p>	<p>Platform NIPT MPSS</p> <p>Reference test Karyotype and phenotype at birth</p> <p>In the high risk group all samples were analysed with karyotype</p>	<p>High risk group Monosomy X TP 3 FP 0 FN 1 TN 96</p> <p>XYY TP 1 FP 0 FN 0 TN 99</p> <p>Trisomi 16 TP 1 FP 0 FN 0 TN 99</p> <p>Low risk group 45X, 47XYY or Trisomi 16 TP 0 FP 0 FN 0 TN 100</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Berry genomics</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Song 2013 [25] China	<p>Study design Prospective cohort study</p> <p>Not Blinded</p> <p>Time of study April to December 2011</p>	<p>Population High risk for fetal aneuploidy n=1 916 (total) n=1 741 (analysed by DNA sequencing) n=202 (karyotype)</p> <p>Samples Not biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria Singleton pregnancies Maternal age less than 35 years Positive maternal serum screen</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Gestational age at sampling Mean 17 weeks (11–21)</p> <p>Maternal age Mean 29 years</p> <p>Drop-outs Failed sequencing quality control n=73 Lost to follow-up, birth outcome n=111</p>	<p>Platform NIPT Not specified</p> <p>Reference test Karyotyping</p>	<p>Monosomy X (2 identified with NIPT, 2 analysed with karyotype) TP 2 FP 0 Lost to follow-up: 0</p> <p>XXY (1 identified with NIPT, 1 analysed with karyotype) TP 0 FP 1 Lost to follow-up: 0</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner None reported</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Song 2015 [24] China	<p>Study design Prospective cohort study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study May 2012 to August 2013</p>	<p>Population High risk for fetal aneuploidy n=213 (total) n=178 (analysed by both methods)</p> <p>Samples Not biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria AMA >35 years Singleton pregnancy</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Gestational age at sampling 8–12 weeks</p> <p>Maternal age Mean 37 years (35–45)</p> <p>Drop-outs Failed quality control n=1 No karyotype results n=34</p>	<p>Platform NIPT Not specified</p> <p>Reference test Karyotype</p>	<p>Monosomy X TP 0 FP 1 FN 1 (mosaic 45X/47XXX) TN 176</p> <p>XXY TP 0 FP 0 FN 1 (mosaic 45X/47XXX) TN 177</p> <p>XXX TP 0 FP 0 FN 1 TN 177</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Berry Genomics Co, Ltd</p>

The table continues on the next page

Table 11.1 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test	Results for diagnosed trisomy or sex chromosome aneuploidies	Study quality Comments
Yao 2014 [27] China	<p>Study design Retrospective analysis, cohort study</p> <p>Not blinded</p> <p>Time of study June 2011 to December 2012</p>	<p>Population High risk for fetal aneuploidy n=5 950 (analysed by DNA sequencing) n=24 (karyotyping) n=5 466 (pregnancy outcome)</p> <p>Samples Not biobanked samples</p> <p>Inclusion criteria Singleton pregnancy Pre-test counseling</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Gestational age at sampling Mean 19 weeks</p> <p>Maternal age Mean 30 years</p> <p>Drop-outs Lost to follow-up, pregnancy outcome n=408 Of the 33 with a positive NIPT result for SCA 8 declined invasive confirmatory test One karyotype which was indicated as monosomy X failed</p>	<p>Platform NIPT Not specified</p> <p>Reference test Karyotyping or pregnancy outcome</p>	<p>Monosomy X (7 identified with NIPT, 5 analysed with karyotype) TP 2 FP 3 Lost to follow-up: 2</p> <p>XXX (14 identified with NIPT, 10 analysed with karyotype) TP 7 FP 3 Lost to follow-up: 4</p> <p>XXY (9 identified with NIPT, 7 analysed with karyotype) TP 3 FP 4 Lost to follow-up: 2</p> <p>XYY (3 identified with NIPT, 2 analysed with karyotype) TP 1 FP 1 Lost to follow-up: 1</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner BGI-Shenzhen</p>

AMA = Advanced maternal age; **CI** = Confidence interval; **CMA** = Chromosomal microarray analysis; **CNV** = Copy number variations; **DNA** = Deoxyribonucleic acid; **FISH** = Fluorescent in situ hybridization; **FN** = False negative; **FP** = False positive; **ITT** = Intention to treat; **MPSS** = Massive parallel shotgun sequencing; **n** = Number; **NIPT** = Non-invasive prenatal testing; **QF-PCR** = Quantitative fluorescence polymerase chain reaction; **SCA** = Sex chromosome; **SNP** = Single nucleotide polymorphism; **T-MPS** = Targeted massive parallel sequencing; **TN** = True negative; **TP** = True positive; **USS** = Ultrasound screening

Table 11.2 Studies with moderate risk of bias investigating Next-generation sequencing on microdeletion/duplications or whole genome coverage.

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Chen 2013 [19] China	<p>Study design Cohort study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study Not reported</p>	<p>Population Total n=1 451 140 control samples with normal karyotype to develop algorithm Tested n=1 311</p> <p>Samples Biobanked NIPT</p> <p>Gestational age at sampling Mean 21 weeks (10–28)</p> <p>Inclusion criteria Women undergoing invasive prenatal diagnosis after maternal blood samples had been collected</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Maternal age Mean 32 years</p> <p>Drop-outs Not specified</p>	<p>Platform FCAPS</p> <p>Reference test Karyotype</p>	<p>Diagnosed CNV of >10 kb TP 3 FP 1</p> <p>Sensitivity: 100% Specificity: 99.92%</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner BGI-Shenzhen</p>

The table continues on the next page

Table 11.2 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Helgeson 2015 [35] USA	<p>Study design Prospective cohort study Not Blinded</p> <p>Time of study October 2013 to October 2014</p>	<p>Population n=175 393</p> <p>n=123 096 analysed for deletions associated with 22q11.2 deletion syndrome, Cri du chat syndrome, Prader Willi and Angelman syndrome only</p> <p>Samples High risk for fetal aneuploidy (NIPT)</p> <p>Inclusion criteria High risk pregnancies including AMA, anomaly detected by USS, positive maternal serum screening, personal or family history</p> <p>Exclusion criteria Not specified</p> <p>Gestational age at sampling Not specified</p> <p>Maternal age Not specified</p> <p>Drop-outs Of the 55 that received a diagnosis based on the NIPT test, 2 were lost to follow-up. The number of dropouts and analysis failures from the entire cohort is not reported</p>	<p>Platform Not specified</p> <p>Verification CMA or FISH, clinical findings</p>	<p>Diagnoses n=55 1p36 deletion n=5 (TP 3, FP 1, 1 lost to follow-up)</p> <p>Wolf-Hirschhorn (4p16.3) n=1 (TP 1) Cri du chat (5p15) n=6 (TP 4, FP 2)</p> <p>Prader Willi/Angelman (15q11.2–q13) n=9 (TP 8, 1 positive based on clinical findings)</p> <p>22q11.2 deletion n=32 (both of maternal and fetal origin) (TP 23, 8 positive based on clinical findings 1 lost to follow-up)</p> <p>Jacobsen (11qter) n=1 (TP 1)</p> <p>Langer-Giedion (8q24.1) n=1 (1 positive based on clinical findings)</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner Authors employees at Sequenom laboratories</p>

The table continues on the next page

Table 11.2 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Li 2016 [36] China	<p>Study design Retrospective cohort study</p> <p>Blinded</p> <p>Time of study September to December 2014</p>	<p>Population n=117 (total) n=117 (analysed)</p> <p>Samples NIPT on biobanked samples CMA on invasive samples CVS n=20 AF n=67 Cord blood n=38</p> <p>Inclusion criteria Women where invasive samples were analysed using CMA Anomaly detected by USS AMA Maternal anxiety</p> <p>Exclusion criteria Twin pregnancies Fetuses with common trisomies or SCA</p> <p>Gestational age at sampling Mean 21.3 weeks (12–34)</p> <p>Maternal age Mean 30 years (19–40)</p> <p>Drop-outs n=0</p>	<p>Platform Ion Proton sequencer (Life Technologies)</p> <p>Library Ion Plus Fragment Library Kit (Life Technologies)</p> <p>Reference CMA Cytoscan 750K Affymetrix reporting threshold 100kb</p>	<p>Diagnosed CNV ≥1 Mb TP 11 FP 4 TN 95 FN 7</p> <p>Sensitivity: 61.1% Specificity: 95%</p> <p>False positive rate 5%</p>	<p>Moderate</p> <p>Commercial partner None reported</p>

AMA = Advanced maternal age; AF = Amniotic fluid; CMA= Chromosomal microarray analysis; CNV = Copy number variations; CVS = Chorionic villus sampling; FCAPS = Fetal copy number analysis through maternal plasma sequencing; FISH = Fluorescent in situ hybridization; FN= False negative; FP = False positive; n = number; NIPT=Non-invasive prenatal testing; SCA = Sex chromosome aneuploidies; TN= True negative; TP = True positive; USS = Ultrasound screening

Table 11.3 Studies with high risk of bias investigating Next-generation sequencing on microdeletion/duplications or whole genome coverage.

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Drury 2015 United kingdom [37]	Study design Proof of principle cohort study Blinded	Population n=24 (total) n=24 (analysed) Samples Invasive samples AF or CVS Inclusion criteria Anomaly detected by USS, including NT >3.5 Exclusion criteria Not sufficient DNA, abnormal karyotype, fetuses were CNVs had been identified by CMA Gestational age at sampling Not specified Maternal age Not specified Drop-outs Outcome of pregnancy: 2 cases lost to follow-up	Platform HiSeq 1 000 or HiSeq 2 500 (Illumina) or outsourcing to BGI Genomics Library TruSeq Exome (Illumina), Nextera Rapid exome kit (Illumina) or SureSelect All exon V (Agilent Biosystems) Reference Karyotype, CMA Verification Sanger sequencing	Diagnoses 5 definitive diagnoses (Milroy disease, hypophosphatasia, achondrogenesis type 2, Freeman-Sheldon syndrome and Baraitser- Winter Syndrome) 1 plausible diagnosis (orofacioidigital syndrome type 6)	Low Commercial partner Not reported

The table continues on the next page

Table 11.3 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Fan 2012 [20] USA	Study design Proof of principle case control study	Population Case 1 Normal karyotype Case 2 22q11.2 microdeletion Maternal plasma and cord blood Gestational age at sampling Patient 1: First, second and third trimester Patient 2: Third trimester	Platform GAII and Hiseq (Illumina) Library SeqCap EZ Human Exome Kit v2.0 (Roche) Reference test Karyotype	Diagnoses 22q11.2 microdeletion	Low Commercial partner BGI-Shenzhen
Jensen 2012 [21] USA	Study design Proof of principle case control study Not Blinded Time of study Not reported	Population Cases 2 fetuses with known 22q11.2 microdeletions Control 14 fetuses low risk for chromosomal aberration Samples NIPT Gestational age at sampling Not specified Maternal age Not specified Drop-outs Not reported	Platform Hiseq 2 000 (Illumina) Library TruSeq (Illumina) Coverage 3.1-fold, 4.4-fold Repeated 15.87-fold, 16.77-fold Reference test Karyotype one of the two cases only	Diagnoses 22q11.2 microdeletion Both affected fetuses were detected	Low Commercial partner Sequenom laboratories

The table continues on the next page

Table 11.3 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Wapner 2014 [23] USA	Study design Proof of principle case control study Blinded	Population n=469 (total) Cases n=6 Control n=352 Artificial DNA n=111 (both cases and controls) Samples Biobanked maternal plasma or artificial DNA Drop-outs Did not pass quality control n=23	Platform PCR based, using SNPs, NATUS algorithm	Diagnoses 1p36 microdeletion n=1 TP 1, FP 0 Cri du chat (5p15) n=24 TP 24, FP 1 Prader Willi/Angelman (15q11.2–q13) n=36 TP 36, FP 0 22q11.2 deletion n=46 TP 45, FP 3	Low Commercial partner Natera

The table continues on the next page

Table 11.3 continued

First author Year Reference Country	Study design	Population	Index test platform Reference test Verification test	Results	Study quality Comments
Yu 2013 [18] Hong Kong	<p>Study design Proof of principle case control study</p> <p>Not blinded</p>	<p>Samples 6 cases (3 post-invasive, 3 pre-invasive)</p> <p>Case 1 Post-invasive, cordocentesis 22q11.2 microdeletion, FISH</p> <p>Case 2 Post-invasive, cordocentesis 22q11.2 microdeletion, FISH</p> <p>Case 3 Post-invasive amniocentesis 22q11.2 microdeletion, QF-PCR and FISH</p> <p>Case 4 Pre-invasive Chorionic villus sampling 22q11.2 microduplication (2.4 Mb) Array CGH</p> <p>Case 5 Pre-invasive Amniocentesis 22q11.2 microduplication (2.4 Mb) Array CGH</p> <p>Case 6 Pre-invasive amniocentesis 3q29 microduplication (5.1 Mb); 4q32.1-q35.2 microdeletion (32.9 Mb) Array CGH</p> <p>8 controls</p>	<p>Platform HiSeq 2 000 (Illumina)</p> <p>Library TruSeq (Illumina)</p> <p>Coverage 3 Mb Resolution</p> <p>Reference test Karyotype CMA FISH QF-PCR</p>	<p>Diagnoses All 6 cases detected</p>	<p>Low</p> <p>Commercial partner None reported</p>

AF = Amniotic fluid; **CGH** = Comparative genomic hybridization; **CMA** = Chromosomal microarray analysis; **CNV** = Copy number variations; **CVS** = Chorionic villus sampling; **DNA** = Deoxyribonucleic acid; **FISH** = Fluorescent in situ hybridization; **FP** = False positive; **Mb** = Megabases; **n** = Number; **NIPT** = Non-invasive prenatal testing; **NT** = Nuchal translucency; **PCR** = Polymerase chain reaction; **QF-PCR** = Quantitative fluorescence-polymerase chain reaction; **SNP** = Single nucleotide polymorphism; **TP** = True positive; **USS** = Ultrasound screening

12 Referenser

1. SBU. Fosterdiagnostik med mikroarray för ökad analys av kromosomer. Stockholm: Statens beredning för medicinsk och social utvärdering (SBU); 2016. SBU-rapport nr 246. ISBN 978-91-85413-89-8.
2. SBU. Utvärdering av metoder i hälso- och sjukvården: En handbok. Andra upplagan 2014. Stockholm: Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU). Hämtad från <http://www.sbu.se/metodbok>. 2015-12-30.
3. SBU. Analys av foster-DNA i kvinnans blod: icke-invasiv fosterdiagnostik (NIPT) för trisomi 13, 18 och 21. Stockholm: Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU); 2015. SBU Alert-rapport nr 2015-03. ISSN 1652-7151. <http://www.sbu.se>
4. SMER. Rapport 2015:1. Analys av foster-DNA i kvinnans blod: Icke invasiv fosterdiagnostik (NIPT) för trisomi 13, 18 och 21 – etiska aspekter. 2015.
5. Sunden B. Obstetric diagnosis with ultrasound. *Ultrasonics* 1967;5:67-71.
6. SFOG Sffog. Summarisk rapport för verksamhetsåret 2013. Hämtad från: https://www.sfog.se/media/193032/summarisk_rapport_sfog_2013.pdf. 2015-11-12. 2013.
7. SFOG Sffog. Årsrapport 2013. Graviditetsregistret. Hämtat från: <https://www.medscinet.com/GR/dokumentarkiv.aspx> 2015-11-12. 2013.
8. SBU. Analys av foster-DNA i kvinnans blod: icke-invasiv fosterdiagnostik för blodgrupps- eller könsbestämning. Stockholm: Statens beredning för medicinsk utvärdering (SBU); 2011. SBU Alert-rapport nr 2011-07. ISSN 1652-7151. <http://www.sbu.se>.
9. Orphanet. The portal for rare diseases and orphan drugs. Hämtat från <http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>. 2015-12-03. 2015.
10. Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean L, et al. GeneReviews. Hämtad från <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>. 2015-12-03. 2015.
11. Socialstyrelsen. Kunskapsdatabas om ovanliga diagnoser. Hämtat från: <http://www.socialstyrelsen.se/ovanligadiagnoser>. 2015-11-19.
12. Socialstyrelsen. Fosterskador och kromosomavvikelser 2012. Hämtad från

- <http://www.socialstyrelsen.se/publikationer2013/2013-11-25>. 2013.
13. Petersen OB, Vogel I, Ekelund C, Hyett J, Tabor A. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;43:265-71.
 14. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:16-26.
 15. Simpson JL. Invasive procedures for prenatal diagnosis: any future left? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2012;26:625-38.
 16. SFOG Sffog. Förslag till SFOG riktlinjer för fosterdiagnostik med NIPT, non invasive prenatal test. Preliminär version som presenterades under SFOG-veckan i Varberg 2015 av ULTRA-ARG. Hämtat från <https://www.sfog.se/start/rad-riktlinjer/sfog-riktlinjer/> 2015-11-24.
 17. Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B, Banjevic M, Sigurjonsson S, Ryan A, et al. Single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet Gynecol* 2014;124:210-8.
 18. Yu SC, Jiang P, Choy KW, Chan KC, Won HS, Leung WC, et al. Noninvasive prenatal molecular karyotyping from maternal plasma. *PLoS One* 2013;8:e60968.
 19. Chen S, Lau TK, Zhang C, Xu C, Xu Z, Hu P, et al. A method for noninvasive detection of fetal large deletions/duplications by low coverage massively parallel sequencing. *Prenat Diagn* 2013;33:584-90.
 20. Fan HC, Gu W, Wang J, Blumenfeld YJ, El-Sayed YY, Quake SR. Non-invasive prenatal measurement of the fetal genome. *Nature*. 2012;487:320-4.
 21. Jensen TJ, Dzakula Z, Deciu C, van den Boom D, Ehrich M. Detection of microdeletion 22q11.2 in a fetus by next-generation sequencing of maternal plasma. *Clin Chem* 2012;58:1148-51.
 22. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 2012;119:890-901.
 23. Wapner RJ, Babiarz JE, Levy B, et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212 (3) 332.e1-332.e9.
 24. Song Y, Huang S, Zhou X, Jiang Y, Qi Q, Bian X, et al. Non-invasive prenatal testing for fetal aneuploidies in the first trimester of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:55-60.
 25. Song Y, Liu C, Qi H, Zhang Y, Bian X, Liu J. Noninvasive prenatal testing of fetal aneuploidies by massively parallel sequencing in a prospective Chinese population. *Prenat Diagn* 2013;33:700-6.
 26. Lau TK, Cheung SW, Lo PS, Pursley AN, Chan MK, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for fetal chromosomal abnormalities by low-coverage whole-genome sequencing of maternal plasma DNA: review of 1982 consecutive cases in a single center. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;43:254-64.
 27. Yao H, Jiang F, Hu H, Gao Y, Zhu Z, Zhang H, et al. Detection of fetal sex chromosome aneuploidy by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA: initial experience in a Chinese hospital. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:17-24.
 28. Comas C, Echevarria M, Rodriguez MA, Prats P, Rodriguez I, Serra B. Initial experience with non-invasive prenatal testing of cell-free DNA for major chromosomal anomalies in a clinical setting. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015;28:1196-201.
 29. Porreco RP, Garite TJ, Maurel K, Marusiak B, Obstetrix Collaborative Research N, Ehrich M, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal trisomies 21, 18, 13 and the common sex chromosome aneuploidies from maternal blood using

- massively parallel genomic sequencing of DNA. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(4):365 e1-12.
30. Jiang F, Ren J, Chen F, Zhou Y, Xie J, Dan S, et al. Noninvasive Fetal Trisomy (NIFTY) test: an advanced noninvasive prenatal diagnosis methodology for fetal autosomal and sex chromosomal aneuploidies. *BMC Med Genomics* 2012;5:57.
 31. Liang D, Lv W, Wang H, Xu L, Liu J, Li H, et al. Non-invasive prenatal testing of fetal whole chromosome aneuploidy by massively parallel sequencing. *Prenat Diagn* 2013;33:409-15.
 32. Mazloom AR, Dzakula Z, Oeth P, Wang H, Jensen T, Tynan J, et al. Noninvasive prenatal detection of sex chromosomal aneuploidies by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013;33:591-7.
 33. Nicolaidis KH, Syngelaki A, Gil M, Atanasova V, Markova D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenat Diagn* 2013;33:575-9.
 34. Shaw SW, Hsiao CH, Chen CY, Ren Y, Tian F, Tsai C, et al. Noninvasive prenatal testing for whole fetal chromosomal aneuploidies: a multicenter prospective cohort trial in Taiwan. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:13-7.
 35. Hume JH, Wardrop J, Boomer T, et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome non-invasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):999–1004.
 36. Li R, Wan J, Zhang Y, Fu F, Ou Y, Jing X, et al. Detection of fetal copy number variations by noninvasive prenatal testing for common aneuploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:53–7.
 37. Drury S, Williams H, Trump N, Boustred C, Lench N, Scott RH, et al. Exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic abnormalities. *Prenat Diagn* 2015;35:1010-7.
 38. Agatisa PK, Mercer MB, Leek AC, Smith MB, Philipson E, Farrell RM. A first look at women's perspectives on noninvasive prenatal testing to detect sex chromosome aneuploidies and microdeletion syndromes. *Prenat Diagn* 2015;35:692-8.
 39. Bunnik EM, de Jong A, Nijssingh N, de Wert GM. The new genetics and informed consent: differentiating choice to preserve autonomy. *Bioethics* 2013;27:348-55.
 40. Dondorp WJ, de Wert GM. The 'thousand-dollar genome': an ethical exploration. *Eur J Hum Genet* 2013;21 Suppl 1:S6-26.
 41. Netzer C, Schmitz D, Henn W. To know or not to know the genomic sequence of a fetus. *Nat Rev Genet* 2012;13:676-7.
 42. Dondorp W, Sikkema-Raddatz B, de Die-Smulders C, de Wert G. Arrays in postnatal and prenatal diagnosis: An exploration of the ethics of consent. *Hum Mutat* 2012;33:916-22.
 43. Juth N. Genetic Information-Values and Rights. The morality of presymptomatic genetic testing. *Acta philosophica Gothoburgensia/Acta Universitatis Gothoburgensis*; 2005. ISBN 91-7346-534-8.
 44. Munthe C. The Moral Roots of Prenatal Diagnosis: Ethical Aspects of the Early Introduction and Presentation of Prenatal Diagnosis in Sweden, Hämtad från: <http://bit.ly/1CbsFnx> Studies in Research Ethics, Gothenburg. 1996.
 45. SMER. Rapport: Fosterdiagnostik – Etisk analys för diagnostik med foster-DNA, hämtad från: <http://www.smer.se/wp-content/uploads/2012/05/Rapport-Fosterdiagnostik-Etisk-analys-for-diagnostik-med-foster-DNA.pdf>. 2011.
 46. Lalatta F, Tint GS. Counseling parents before prenatal diagnosis: do we need

- to say more about the sex chromosome aneuploidies? *Am J Med Genet A* 2013;161a:2873-9.
47. Blackburn HL, Schroeder B, Turner C, Shriver CD, Ellsworth DL, Ellsworth RE. Management of incidental findings in the era of next-generation sequencing. *Curr Genomics* 2015;16:159-74.
 48. Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, Korf BR, Martin CL, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 2013;15:565-74.
 49. ACMG policy statement: updated recommendations regarding analysis and reporting of secondary findings in clinical genome-scale sequencing. *Genet Med* 2015;17:68-9.
 50. Riedijk S, Diderich KEM, van der Steen SL, Govaerts LCP, Joosten M, Knapen MFCM, et al. The psychological challenges of replacing conventional karyotyping with genomic SNP array analysis in prenatal testing. *J Clin Med* 2014;3:713-23.
 51. Simonato L, Niklas Juth, Christian Munthe: The ethics of screening in healthcare and medicine: serving society or serving the patient? *Theor Med and Bioeth* 2015;36:243-5.
 52. Gil MM, Revello R, Poon LC, Akolekar R, Nicolaides KH. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:45-52.

SBU – Statens beredning för medicinsk och social utvärdering

webbplats: www.sbu.se • twitter: @SBU_se • telefon: 08-412 32 00