

# Analys av foster-DNA i kvinnans blod: icke-invasiv fosterdiagnostik för blodgrupps- eller könsbestämning

SBU ALERT-RAPPORT NR 2011-07 • 2011-11-16 • WWW.SBU.SE/ALERT

PRELIMINÄR VERSION WEBBPUBLICERAD 2011-10-12



## Sammanfattning och slutsatser

Idag finns en metod för fosterdiagnostik som innebär att ett blodprov från en gravid kvinna kan analyseras avseende genetiska egenskaper hos fostret. Metoden, NIPD – "non-invasive prenatal diagnosis", bygger på att små delar av fostrets DNA finns i kvinnans blod under graviditeten. När NIPD används kan en så kallad invasiv provtagning, t ex moderkaks- eller fostervattenprov, ofta undvikas.

Syftet med denna utvärdering har varit att bedöma metodens precision när det gäller att bestämma fostrets blodgrupp eller kön på medicinsk indikation, samt att diskutera ekonomiska och etiska aspekter. Könsbestämning av foster utan medicinsk indikation (t ex för familjeplanering) har inte utvärderats här. Att använda metoden på detta sätt har i andra sammanhang bedömts vara oetiskt.

I utvärderingen har mer än 200 vetenskapliga artiklar granskats, varav 30 i detalj. Vi har fokuserat på tre målgrupper för metoden:

### Blodgruppsbestämning

- Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen
- RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering, dvs screening

### Könsbestämning

- Gravida kvinnor med medicinsk indikation för könsbestämning av foster som t ex vid X-kromosombundna sjukdomar

Det pågår forskning och utveckling om att använda NIPD, genom analys av foster-DNA, för olika kliniska frågor och för screening av fostrets blodgrupp.

### SBU:s bedömning av kunskapsläget

- En del gravida kvinnor har antikroppar (har immuniserats) mot fostrets blodgrupp, vilket innebär en risk för fostret. NIPD för att bestämma fostrets blodgrupp kan bidra till en säkrare vård av dessa kvinnor och deras foster.

- Screening av fostrets blodgrupp med NIPD, i kombination med särskilda förebyggande åtgärder (riktad Rh-profylax) före förlossningen, skulle kunna leda till att färre RhD-negativa gravida kvinnor bildar antikroppar mot RhD. De organisatoriska och hälsoekonomiska konsekvenserna av att införa sådan screening är inte klarlagda.

- NIPD för att bestämma fostrets kön när detta är motiverat av medicinska skäl (på medicinsk indikation) skulle kunna bidra till en säkrare vård genom att minska behovet av invasiv fosterdiagnostik. Metoden används inte på detta sätt i Sverige idag.

- Det saknas studier av kostnadseffektivitet rörande NIPD för bestämning av kön eller blodgrupp hos foster.

## Sammanfattning

### Blodgruppsbestämning

#### Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen

En gravid kvinna som är immuniserad, mot RhD eller annan blodgrupp, har under den aktuella graviditeten eller tidigare havandeskap bildat antikroppar mot fostrets blodgruppsantigen. Detta gäller cirka 1 000 gravida kvinnor per år i Sverige. Kvinnans antikroppar kan förstöra röda blodkroppar hos fostret, vilket kan vara livshotande för fostret. I vissa fall ger det en allvarlig påverkan på barnet som kräver blodtransfusioner, antingen under graviditeten eller efter att barnet har fötts. I ett fåtal fall kan fostrets liv inte räddas.

NIPD är sedan några år introducerat i Sverige för blodgruppsbestämning av foster hos gravida kvinnor som är immuniserade mot RhD eller Rhc. Genom att bestämma fostrets blodgrupp kan man avgöra om det föreligger en risk för fostret eller inte. Om fostret bär på blodgruppsantigen som den gravida kvinnan har antikroppar mot så

behöver kvinnan övervakas med kontroller och eventuellt behandlas under graviditeten. Om fostret inte bär på dessa blodgruppsantigen kan provtagningar undvikas och eventuellt oro hos föräldrarna kring dessa frågor minska under den fortsatta graviditeten. NIPD kan därmed bidra till en säkrare vård av immuniserade kvinnor och deras foster. I detta avseende anses metoden inte innebära några betydande etiska problem.

### **RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)**

NIPD kan också användas för undersökning av alla RhD-negativa gravida kvinnor (screening) och möjliggöra en tidigare bestämning av fostrets blodgrupp. I Sverige har ungefär 85 procent av befolkningen RhD-positiv blodgrupp. De 15 procent av befolkningen som har RhD-negativ blodgrupp saknar RhD-proteinet. Detta gäller cirka 16 500 gravida kvinnor per år. Cirka 60 procent av de RhD-negativa kvinnorna får ett RhD-positivt barn. I Sverige ges idag Rh-profylax till dessa kvinnor efter förlossningen, för att minska risken för RhD-immunisering.

En diskussion om att införa screening för att bestämma fostrets RhD-typ hos alla RhD-negativa kvinnor pågår i Sverige och internationellt. Detta skulle innebära ett stort antal prover och ställer nya krav på tekniska plattformar. Metoden har nyligen införts i Danmark och Nederländerna och testas idag i en studie inom Stockholms läns landsting som beräknas vara klar år 2012.

Om NIPD i framtiden erbjuds alla RhD-negativa gravida kvinnor är syftet att Rh-profylax ska ges till dem som bär på ett RhD-positivt foster för att minska risken för RhD-immunisering. NIPD som screening för dessa kvinnor i kombination med riktad Rh-profylax har potentialen att sänka antalet nya fall av RhD-immuniserade kvinnor. Metoden skulle kunna ersätta dagens förfarande med kontroller under graviditeten och blodgruppsbestämning av fostret efter förlossningen. NIPD för detta ändamål innebär fördelar för kvinnorna och fostren jämfört med dagens metod, och detta bedöms inte som etiskt kontroversiellt.

### **Könsbestämning**

NIPD för könsbestämning på medicinsk indikation görs inte i Sverige idag, men ett införande planeras. Metoden har potential att minska behovet av invasiv fosterdiagnostik. Används NIPD i detta syfte kan invasiv diagnostik och en sen abort i vissa fall undvikas. Detta kan innebära lägre medicinska och psykologiska risker för kvinnan.

Att använda könsbestämning som en del i en familjeplanering har bedömts vara oetiskt. Grundläggande vär-

den som människosyn och människovärde kan hotas om metoden används på detta sätt. Frågan har belysts av Statens medicinsk-etiska råd (SMER).

### **Patientnytta / evidensgraderade resultat**

- Det finns måttligt starkt vetenskapligt stöd för att *RHD*-bestämning hos foster med NIPD har en sensitivitet och specificitet nära 99 procent (⊕⊕⊕○). Resultaten baseras huvudsakligen på studier av RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering. De studier som även har inkluderat gravida kvinnor immuniserade mot RhD visar liknande resultat.
- Det vetenskapliga underlaget är otillräckligt för att bedöma sensitivitet och specificitet för blodgruppsbestämning med NIPD av *RHC*, *RHc*, *RHE* och *KEL1* hos foster (⊕○○○). Det bör dock noteras att dessa analyser endast gäller ett fåtal kvinnor och där det är kliniskt viktigt kan analysen vid behov upprepas.
- Det finns begränsat vetenskapligt stöd för att könsbestämning hos foster med NIPD har en sensitivitet och specificitet nära 99 procent (⊕⊕○○).

### **Ekonomiska aspekter**

Kostnaden för en blodgruppsbestämning av fostret med NIPD var cirka 2 900 kronor år 2010. Analyskostnaden utgjorde drygt 90 procent av kostnaden. NIPD för immuniserade gravida kvinnor är idag billigare och ger mindre risk för biverkningar än invasiv fosterdiagnostik.

De hälsoekonomiska konsekvenserna av att införa NIPD som screening av RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering är inte klarlagda. Kostnaden per analys i svensk hälso- och sjukvård är ännu inte känd.

Det saknas kostnadseffektivitetsstudier om NIPD för bestämning av kön eller blodgrupp hos foster.

#### **Gradering av styrkan i det vetenskapliga underlag som en slutsats grundas på görs i fyra nivåer enligt GRADE:**

Starkt vetenskapligt underlag (⊕⊕⊕⊕). Bygger på studier med hög eller medelhög kvalitet utan försvagande faktorer vid en samlad bedömning.

Måttligt starkt vetenskapligt underlag (⊕⊕⊕○). Bygger på studier med hög eller medelhög kvalitet med förekomst av enstaka försvagande faktorer vid en samlad bedömning.

Begränsat vetenskapligt underlag (⊕⊕○○). Bygger på studier med hög eller medelhög kvalitet med flera försvagande faktorer vid en samlad bedömning.

Otillräckligt vetenskapligt underlag (⊕○○○). När vetenskapligt underlag saknas, tillgängliga studier har låg kvalitet eller där studier av likartad kvalitet är motsägande anges det vetenskapliga underlaget som otillräckligt.

## Analys av foster-DNA i kvinnans blod: icke-invasiv fosterdiagnostik för blodgrupps- eller könsbestämning

### Projektgrupp

- **Erik Iwarsson**, med dr, bitr överläkare, Avdelningen för klinisk genetik, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm
- **Martin L Olsson**, professor, överläkare, Avdelningen för hematologi och transfusionsmedicin, Institutionen för laboriemedicin, Lunds universitet, Lund, samt Avdelningen för klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Labmedicin Skåne
- **Agneta Taune Wikman**, med dr, överläkare, Avdelningen för klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Karolinska Universitetssjukhuset, Stockholm
- **Susanne Vilhelmsdotter Allander**, med dr, specialistläkare i klinisk genetik, projektledare, SBU
- **Marianne Heibert Arnlin**d, med dr, hälsoekonom, bitr projektledare, SBU, heibert.arnlind@sbu.se
- Övriga medverkande från SBU: Laura Lintamo, litteratursökning, Lars-Åke Marké, hälsoekonom, Lena Wallgren, projektassistent

### Övriga författare

- **Nils-Eric Sahl**in, professor, Avdelningen för medicinsk etik, Lunds universitet, Lund, samt sakkunnig i Statens medicinsk-etiska råd
- **Jan Wahlström**, professor emeritus i klinisk genetik, Göteborg, samt sakkunnig i Statens medicinsk-etiska råd

### Granskare

- **Ove Axelsson**, professor, överläkare, Institutionen för kvinnors och barns hälsa, Uppsala universitet, Uppsala
- **Kerstin Hagenfeldt**, professor i gynekologi och obstetrik, Stockholm
- **Morten Hanefeld Dziegiel**, med dr, överläkare, Blodbanken, Rikshospitalet, Köpenhamn
- **Norbert Lubenow**, docent, överläkare, Klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Akademiska sjukhuset, Uppsala
- **Rut Norda**, med dr, överläkare, Klinisk immunologi och transfusionsmedicin, Akademiska sjukhuset, Uppsala

### Problembeskrivning

Tidig fosterdiagnostik är en allmän benämning både för de rutinundersökningar som erbjuds alla gravida kvinnor och för de specifika diagnostiska undersökningar som erbjuds utvalda grupper av gravida.

Genetiska fosteranalyser görs idag huvudsakligen efter invasiv provtagning, dvs fostervatten- eller moderkaksprov. Dessa provtagningar är förenade med en viss ökad risk för missfall och missbildningar. Nu finns en icke-invasiv metod som innebär att fosterdiagnostik görs på foster-DNA som cirkulerar i den gravida kvinnans blod. Metoden förkortas ofta NIPD – "non-invasive prenatal diagnosis". När NIPD används kan en invasiv provtagning ofta undvikas.

ABO och Rh är de två mest välkända och kliniskt betydelsefulla av våra blodgruppsystem (Faktaruta 1). Det finns över 50 olika Rh-antigen, varav RhD är det viktigaste. I Sverige har ungefär 85 procent av befolkningen RhD-positiv blodgrupp. Cirka 15 procent av befolkningen har RhD-negativ blodgrupp och saknar RhD-proteinet. Rh-immunisering innebär att immunförsvaret bildar antikroppar mot sådana Rh-antigen som individen saknar. Den vanligaste typen av immunisering gäller RhD. Men även andra blodgrupper kan ge immunisering.

En kvinna som är RhD-immuniserad har under en tidigare eller aktuell graviditet bildat antikroppar mot ett RhD-positivt fosters blodgruppsantigen. Kvinnans antikroppar kan förstöra röda blodkroppar hos ett RhD-positivt foster, vilket kan vara livshotande för fostret, oftast med ökande allvarlighetsgrad efter fler graviditeter.

I Sverige påvisas RhD-antikroppar hos cirka 1 procent av de RhD-negativa gravida kvinnorna, dvs vid cirka 150–170 graviditeter per år. I en tredjedel av dessa fall ger det en allvarlig påverkan på barnet som kräver blodtransfusioner, antingen under graviditeten via navelsträngen, eller efter att barnet har fötts. Ett fåtal fall leder till att fostret dör. För att förhindra RhD-immunisering ges i Sverige Rh-profylax till alla RhD-negativa kvinnor som just har fött ett RhD-positivt barn (se avsnittet "Relation till andra metoder" och Faktaruta 2).

NIPD är introducerat i Sverige för analys av fostrets blodgruppsantigen hos de gravida kvinnor som är immuniserade sedan en tidigare graviditet. Genom att bestämma

**Faktaruta 1** Om blodgrupper och immunisering.

Blodgrupper är variabla delar av molekyler på röda blodkroppar och andra kroppsceller. ABO och Rh är de två mest välkända av våra 30 blodgruppssystem och de mest kliniskt betydelsefulla.

Blodgrupperna A, B, AB och O utgörs av mer eller mindre förgrenade kolhydratstrukturer (så kallade glykoprotein och glykolipider) på utsidan av röda blodkroppar och andra kroppsceller. Rh utgörs av proteiner i de röda blodkropparnas cellmembran. Det finns över 50 olika Rh-antigen, varav RhD-antigenet är det absolut viktigaste som förekommer på en särskild molekyl, RhD-proteinet. Inom Rh-systemet finns många andra blodgruppsantigen. De viktigaste efter RhD är RhC, Rhc, RhE och Rhe, som förekommer på RhCE-proteinet.

Det finns också ett hundratal andra blodgruppsmarkörer men det är mindre vanligt att kvinnan immuniseras mot någon av dessa så att fostret utsätts för risker. ABO-immunisering ger sällan upphov till svår sjukdom hos fostret. Ett undantag bland de övriga blodgrupperna är K (benämns även KEL1, förr Kell) som kan ge upphov till K-immunisering och resultera i en ovanligt aggressiv form av sjukdom hos fostret.

fostrets blodgrupp kan man avgöra om det föreligger en risk för fostret eller inte, och därigenom få en bättre möjlighet att ta ställning till om det finns ett behov av fortsatta kontroller och behandling under graviditeten. Prov för att bestämma fostrets RhD-typ med NIPD kan tas så tidigt som graviditetsvecka 5–7.

Metoden testas idag för screening av gravida RhD-negativa kvinnor utan RhD-immunisering. Syftet är att ge Rh-profylax redan under graviditeten till dem som löper risk att bli immuniserade. Även introduktion av NIPD för könsbestämning vid diagnostik av X-kromosombundna sjukdomar planeras i Sverige.

Internationell forskning pågår inriktad på att kunna använda NIPD vid diagnostik av förändringar i antalet kromosomer (aneuploidier) och ärftliga (monogena) sjukdomar. NIPD för diagnostik av dessa sjukdomar används inte i Sverige idag.

Denna rapport fokuserar på att utvärdera NIPD för blodgrupps- respektive könsbestämning.

**Målgrupper****Blodgruppsbestämning av foster med NIPD*****Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen***

En specifik målgrupp för blodgruppsbestämning av foster med NIPD är kvinnor som tidigare blivit immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen (t ex RhC, Rhc, RhE och K). Denna grupp motsvarar cirka 1 000 gravida kvinnor per år.

För de kvinnor som är immuniserade mot RhD eller Rhc erbjuds NIPD i Sverige redan idag. Denna grupp uppskattas till cirka 200 gravida kvinnor per år i Sverige. Vid vissa referenslaboratorier finns även NIPD-analys för andra blodgruppsantigen (RhC, RhE och K). Fostrets blodgrupp undersöks för att man vid positivt utfall ska kunna optimera handläggningen under graviditeten, och vid negativt utfall minska provtagning och oro hos de kvinnor som bär på ett foster negativt för det (eller de) blodgruppsantigen som den gravida kvinnan bildat antikroppar mot (se även avsnittet "Relation till andra metoder").

***RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)***

En större målgrupp för blodgruppsbestämning av foster med NIPD är alla RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering. I Sverige har cirka 15 procent av befolkningen RhD-negativ blodgrupp, vilket motsvarar cirka 16 500 gravida kvinnor årligen.

Undersökningen syftar till att bestämma fostrets blodgrupp för att avgöra om den gravida kvinnan behöver behandlas med så kallad Rh-profylax. Behandlingen behöver bara ges till de kvinnor som bär på ett RhD-positivt foster för att minska risken för att kvinnan immuniseras under graviditeten. Idag bestäms barnets blodgrupp först vid förlossningen med hjälp av ett blodprov från navelsträngen. Om barnet är RhD-positivt ges Rh-profylax till modern inom tre dygn.

**Könsbestämning av foster med NIPD**

Målgruppen för könsbestämning av foster med NIPD är gravida kvinnor som är bärare av ett anlag för en X-kromosombunden sjukdom, samt vid sjukdomar där könet på fostret avgör behovet av behandling under graviditeten.

**Frågor och avgränsningar**

Utvärderingen har avgränsats till studier avseende NIPD för blodgruppsbestämning respektive könsbestämning.

**Generella inklusionskriterier**

- Publikation på engelska, svenska, norska eller danska
- Studien publicerad 1997 eller senare

- Originalstudie eller systematisk översikt
- Humanstudie
- Antal analyserade foster i studien fler än 100
- Metoden avser icke-invasiv detektion av foster-DNA från den gravida kvinnans plasma

För att besvara projektets frågor har population (patient-grupp), indextest, referenstest respektive effektmått definierats på följande sätt:

### Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

#### Population

- Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annan blodgrupp (RhC, Rhc, RhE, K)

#### eller

- RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)

#### Indextest

- Blodgruppsbestämning av foster-DNA isolerat från den gravida kvinnans plasma

#### Referenstest

- Blodgruppsbestämning av foster-DNA isolerat från moderkaksprov alternativt fostervattenprov och/eller blodgruppsbestämning på röda blodkroppar från det nyfödda barnet

#### Effektmått

- Sensitivitet och specificitet
- Överensstämmelse (absoluta tal eller procent) mellan den undersökta gruppen och kontrollgruppen

### Könsbestämning av foster med NIPD

#### Population

- Gravida kvinnor med medicinsk indikation för könsbestämning av fostret

#### Indextest

- Könsbestämning av foster-DNA isolerat från den gravida kvinnans plasma

#### Referenstest

- Könsbestämning av foster-DNA isolerat från moderkaksprov alternativt fostervattenprov, kontroll av det nyfödda barnet eller annan kontroll, t ex ultraljud under graviditet

#### Effektmått

- Sensitivitet och specificitet
- Överensstämmelse (absoluta tal eller procent) mellan den undersökta gruppen och kontrollgruppen

### Beskrivning av NIPD

Att fritt foster-DNA cirkulerar i gravida kvinnors blodplasma och kan användas för könsbestämning rapporterades redan 1997 [1]. Upptäckten ledde snabbt till studier om bl a bestämning av fostrets RhD-typ [2]. I båda dessa fall letar man efter genetiskt material som bara finns hos fostret. Ett pojkfoster har en Y-kromosom som modern saknar och ett RhD-positivt foster har en *RHD*-gen som den RhD-negativa kvinnan i allmänhet saknar (se nedan). Detta underlättar diagnostiken då provmaterialet består av en blandning av DNA från fostret och den gravida kvinnan.

Vid NIPD används ett blodprov från den gravida kvinnan som utgångsmaterial. Genom centrifugering eller filtrering utvinns fritt DNA ur plasma, varav 3–10 procent är DNA från fostret, cellfritt foster-DNA ("cell-free fetal DNA", cff-DNA). Tillräckligt stor provvolym av plasma och rätt preparationsmetod av cff-DNA är viktigt för säkra resultat. Detta har studerats i ett EU-övergripande konsortium och lett fram till rekommendationer för laboratorier som bedriver NIPD [3]. Därefter används en särskilt känslig PCR-metod som kallas realtids-PCR på cff-DNA för blodgrupps- respektive könsbestämning.

Polymeraskedjereaktion ("polymerase chain reaction", PCR) är en genteknologisk metod som uppfanns på 1980-talet och belönades med Nobelpriset 1993. PCR tillåter att man genom cyklisk uppvärmning och nedkylning av ett DNA-prov på ett relativt enkelt och snabbt sätt kan tillverka ett mycket stort antal kopior av ett visst genfragment [4]. På detta sätt kan en del av *RHD*-genen eller en genetisk markör på Y-kromosomen förstärkas (amplifieras) och påvisas (detekteras).

### Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

Sekvensen för generna *RHD* och *RHCE*, som kodar för Rh-proteinerna RhD och RhCE klarlades i början av 1990-talet. År 1993 gjordes den första DNA-baserade blodgruppsbestämningen på foster [5]. I den NIPD-metod som sedan år 2004 används vid Nordiska referenslaboratoriet för genetisk blodgruppstypning i Lund (vid indikationen RhD-immuniserade gravida kvinnor) analyseras tre delar av *RHD*-genen (exon 4, 5 och 10) [6].

Det stora flertalet RhD-negativa individer saknar helt *RHD*-gener. Undantagna från denna regel är en del personer av afrikanskt ursprung som har så kallade *RHD*-pseudogener vilka kan ge falskt positiva utfall [7]. En sådan pseudogen uttrycks inte och ger inte upphov till något RhD-protein. NIPD-testet signalerar då att *RHD*-genpositivt material har hittats i provet. Om det är den gravida kvinnan som bär *RHD*-pseudogenen syns detta i testresultatet. Om det däremot är fadern som bidragit

med *RHD*-pseudogenen kan resultatet bli ett falskt positivt provsvar. Det går dock att designa testet på ett sådant sätt att pseudogenen påvisas eller inte påvisas, beroende på vilka exoner i *RHD*-genen som undersöks. Det är bl a därför man rekommenderar att mer än en exon analyseras [8].

Även hos personer av asiatiskt och i mindre omfattning europeiskt ursprung finns *RHD*-genvarianter som ger upphov till inget eller knappt påvisbart uttryck av RhD. I dessa fall är det fortfarande svårt att vid NIPD skilja dem från en vanlig *RHD*-gen.

### Könsbestämning av foster med NIPD

Vid könsbestämning detekteras närvaro/frånvaro av DNA-sekvenser från Y-kromosomen hos ett pojkfoster. *SRY*-genen är den genetiska markör som vanligen undersöks, men även andra genetiska markörer som *DYS14*, *DBY* och *TTY2* används.

Ett problem vid könsbestämning är förekomsten av en "vanishing twin" av manligt kön, vilket uppskattas kunna orsaka falskt positiva svar vid cirka 0,3–0,7 procent av analyserna [9]. Motsvarande problem finns naturligtvis också vid NIPD för blodgruppsbestämning. Det har därför föreslagits att NIPD vid könsdiagnostik ska kombineras med ett ultraljud i tidig graviditet [9]. Problemet med "vanishing twin" är inte ett problem enbart vid NIPD utan är en ovanlig men välkänd felkälla även vid invasiv fosterdiagnostik.

### Relation till andra metoder

#### Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

##### *Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen*

Vid första besöket på mödravårdsmottagningen, vanligen i graviditetsvecka 10–13, tas blodprov på alla gravida kvinnor för blodgruppering och antikropsundersökning. Blodgrupperingen visar om den gravida kvinnan är RhD-positiv eller RhD-negativ. Antikropsundersökning görs för att ta reda på om kvinnan är immuniserad mot RhD eller andra blodgruppsantigen. Hos cirka 1 000 gravida kvinnor påvisas antikroppar mot RhD eller andra blodgruppsantigen som kan ha klinisk betydelse. Dessa kvinnor remitteras för fortsatt utredning till specialistmödravård.

NIPD för bestämning av fostrets blodgruppsantigen kan användas då den gravida kvinnan har antikroppar mot RhD eller Rhc. Idag används metoden huvudsakligen för de kvinnor som har höga titrar av blodgruppsantikroppar. Om kvinnan är immuniserad mot andra blodgruppsantigen, där metoder för NIPD inte finns tillgängliga, ombeds

#### Faktaruta 2 Behandling med Rh-profylax.

Sannolikheten för att fostrets blodkroppar ska passera över till modern och orsaka immunisering är störst under förlossning och vid ingrepp under graviditeten, t ex fostervattenprov, moderkaksprov och fostervändning. I Sverige behandlas alla RhD-negativa kvinnor vid sådana ingrepp med immunglobulin för att förhindra immunisering, så kallad Rh-profylax, som är framställd av plasma från RhD-immuniserade blodgivare. Mekanismen bakom behandlingen är ännu oklar.

Cirka 60 procent av de RhD-negativa kvinnorna får ett RhD-positivt barn. Efter förlossningen ges Rh-profylax till dessa kvinnor om de inte redan är RhD-immuniserade. Immunisering kan ske även utan yttre orsak under hela graviditeten. Ungefär en tredjedel av RhD-immuniseringarna sker före förlossningen, framför allt i sista trimestern. I Sverige ges inte rutinmässigt Rh-profylax i sista trimestern, vilket görs i många andra länder [10].

ofta den blivande fadern att lämna blodprov för bestämning av de blodgruppsantigen som kvinnan har antikroppar mot. En sannolikhetsbedömning görs av fostrets blodgrupp baserat på den blivande faderns blodgrupp:

- i. *Om den blivande fadern bedöms ha anlaget för blodgruppsantigenet i dubbel uppsättning (homozygot), antas fostret också ha anlaget och risk för skada finns. Den gravida kvinnan kontrolleras då under hela graviditeten. Intervallet på provtagningar och läkarbesök varierar från några extra besök till kontroller varje vecka, beroende på hur allvarlig immuniseringen bedöms vara. I kontrollerna ingår bl a titerbestämning och eventuell koncentrationsbestämning av antikroppar, ultraljudsundersökning och blodflödesmätning. Om dessa kontroller tyder på att fostret behöver blodtransfusion görs ett navelsträngsprov för att kontrollera hemoglobinnivån (Hb). Då kan även blodgruppering utföras på navelsträngsprovet.*
- ii. *Om den blivande fadern saknar anlaget för motsvarande blodgruppsantigen är det ingen risk för fostret. I dessa fall är kvinnan sannolikt immuniserad sedan en tidigare graviditet med en annan partner eller efter blodtransfusion. I dessa fall kan fortsatta kontroller ske inom vanlig mödravård.*
- iii. *Om den blivande fadern har anlaget för blodgruppsantigenet i enkel uppsättning (heterozygot), är det 50 procents sannolikhet att fostret har ärvt anlaget. I dessa fall finns behov av att kunna fastställa fostrets*

blodgruppsantigen. Fostervattenprov och moderkaksprov kan förvärra en immunisering genom att stimulera antikroppsbildningen och är även förenade med en viss risk för missfall. Därför används invasiva metoder för blodgruppsbestämning hos foster vanligen bara om annan medicinsk indikation samtidigt föreligger.

När barnet är fött utförs blodgruppsbestämning med blodgruppsserologisk rutinmetod. De nyfödda barn som uttrycker blodgruppsantigenen svagt och de som uttrycker varianter av antigenen kan tolkas som falskt negativa.

### *RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)*

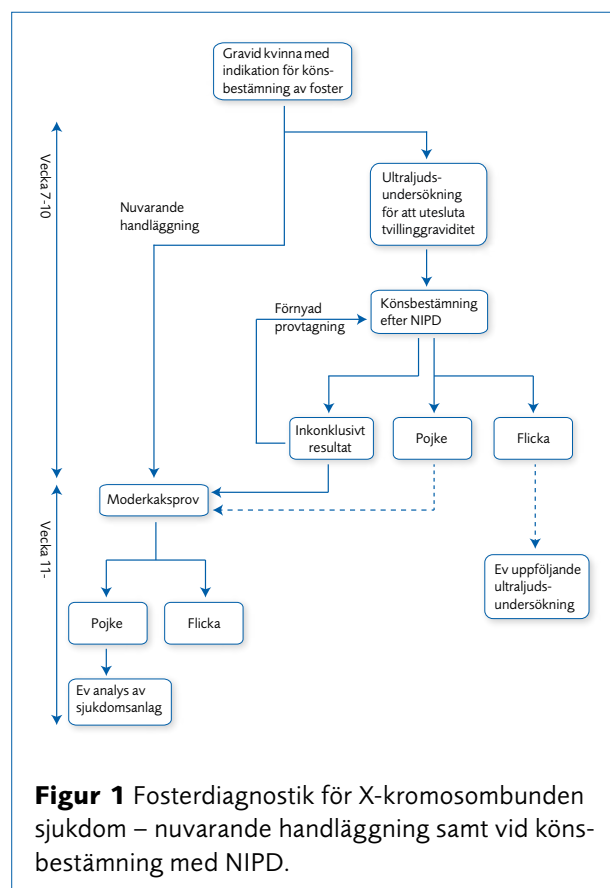
RhD-antigenet är det mest immunogena av blodgruppsantigenen och den immunisering som oftast ger allvarlig skada hos fostret. Därför undersöks RhD-negativa kvinnor minst tre gånger under graviditeten för förekomst av blodgruppsantikroppar, vanligen vid första besöket samt i graviditetsvecka 25 och 35. Provtagnings schemat varierar något inom landet. Om antikroppar påvisas hos kvinnan görs utredningar i enlighet med vad som beskrivits ovan.

### **Könsbestämning av foster med NIPD**

Vid medicinsk indikation för könsbestämning av foster kan genetisk diagnostik göras efter moderkaks- eller fostervattenprov. Moderkaksprov görs från 10 fullbordade graviditetsveckor (Figur 1) medan fostervattenprov görs från 15 fullbordade graviditetsveckor. Den genetiska analysen är oftast PCR-baserad, men andra metoder förekommer.

Sjukdomar som är X-kromosombundna drabbar som regel endast pojkar, men flickor kan vara friska anlagsbärare. Sannolikheten att en kvinna som är anlagsbärare för anlaget vidare till ett foster är 50 procent. Fosterdiagnostik kan erbjudas när man vet att den gravida kvinnan är bärare av en X-kromosombunden sjukdom. Om fosterdiagnostik efterfrågas görs först en könsbestämning av fostret. Om det är ett flickfoster görs ingen ytterligare analys, eftersom fostret inte kommer att drabbas av sjukdomen. Om det är ett pojkfoster går man vidare med analys av sjukdoms genen för att avgöra om fostret ärvt anlaget. Detta gäller under förutsättning att en specifik diagnostik finns tillgänglig, vilket inte alltid är fallet.

Könsbestämning av foster kan också användas vid vissa sjukdomar för att optimera omhändertagandet eller behandlingen av fostret. Exempel på detta är bedömning av behov av behandling under graviditeten vid exempelvis kongenital binjurebarkshyperplasi ("congenital adrenal hyperplasia", CAH).



**Figur 1** Fosterdiagnostik för X-kromosombunden sjukdom – nuvarande handläggning samt vid könsbestämning med NIPD.

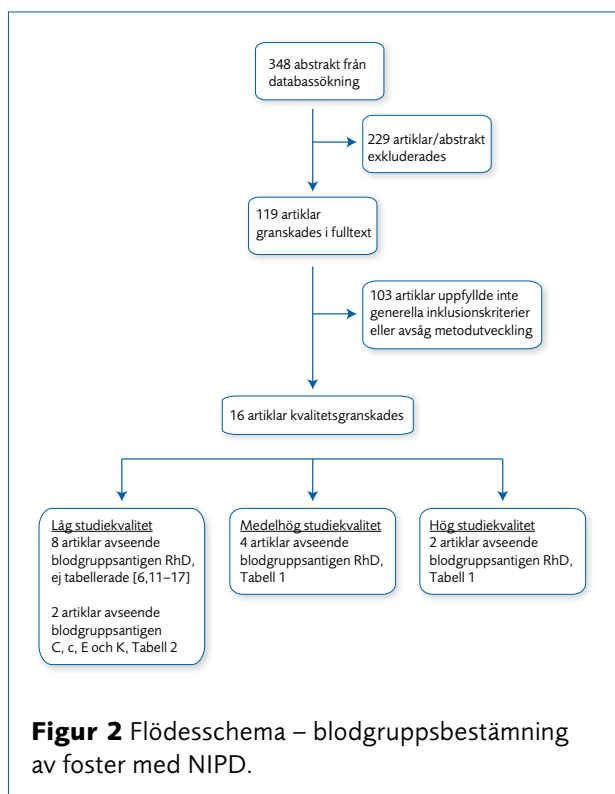
## **Resultat**

### **Blodgruppsbestämning av foster med NIPD**

- Det finns måttligt starkt vetenskapligt stöd för att *RHD*-bestämning hos foster med NIPD har en sensitivitet och specificitet nära 99 procent (⊕⊕⊕○). Resultaten baseras huvudsakligen på studier av RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering. Studier som även har inkluderat gravida kvinnor immuniserade mot RhD visar liknande resultat.
- Det vetenskapliga underlaget är otillräckligt för att bedöma sensitivitet och specificitet för blodgruppsbestämning med NIPD av *RHC*, *Rhc*, *RHE* och *KEL1* hos foster (⊕○○○). *Rhc*-analysen erbjuds kliniskt i Sverige (se "Användning av metoden i Sverige").

Denna utvärdering omfattar en genomgång av abstrakt till 348 vetenskapliga artiklar, varav 119 artiklar granskades i sin helhet (Figur 2). Många studier publicerade före år 2004 har karaktären av metodutveckling och har ofta undersökt ett litet antal kvinnor, och har därför exkluderats. Vi fann inga publicerade randomiserade prospektiva studier.

Sexton studier uppfyllde de uppsatta inklusionskriterierna (se avsnittet "Frågor och avgränsningar"). Alla dessa



**Figur 2** Flödesschema – blodgruppsbestämning av foster med NIPD.

studier har angivits vara eller bedömts som prospektiva studier. Sex artiklar om NIPD för *RHD*-bestämning bedömdes vara av hög eller medelhög kvalitet (Tabell 1a och 1b) [18–23]. Två av studierna bedömdes ha hög kvalitet [19,22]. Dessa studier är utförda i klinisk miljö, avser screening av RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering och har flöden och svarstolkningar beskrivna. Övriga studier, av medelhög kvalitet, saknar lika detaljerad information om provflöden, svarstolkningar och oanalyser, vilket försvårar fastställande av sensitivitet och specificitet [18,20,21,23].

Graviditetsvecka vid provtagningen är relativt väl angivet i studierna, men resultaten är oftast inte redovisade separat så att betydelsen av provtagningstiden framgår. I studierna är provtagningen inte begränsad till tidig graviditet utan kan ha gjorts under nästan hela graviditeten. Metoder för DNA-preparation och PCR-analys är väl beskrivna. Preparationsmetoden är manuell i några av studierna [20,22,23] och mer automatiserad i andra [18,19,21]. I de flesta studierna görs PCR-analysen i duplikat eller triplikat. Två av studierna baserar *RHD*-detektionen på exon 5 och 7 [19,22], två på exon 7 och 10 [18,23], två på exon 4, 5 och 10 [20,21].

Sensitivitet och specificitet anges i studierna som generellt höga, 99–100 procent, men ofta är det inte i detalj beskrivet hur inkonklusiva resultat och oanalyser har hanterats. Ibland är beräkningarna gjorda efter att de inkonklusiva analyserna har exkluderats. Det är inte hel-

ler beskrivet i alla studier hur svarsalgoritmer ser ut eller hur resultattolkningen har gjorts. Detta är särskilt viktigt när flera exoner används i duplikat eller triplikat och när DNA-preparationen kan ha gjorts i två omgångar.

För bestämning av blodgruppsantigenen C, c, E och K med NIPD identifierades två studier med fler än 100 analyser redovisade [24,25]. Båda studierna bedömdes vara av låg kvalitet, men har tabellerats eftersom det saknas studier av medelhög eller hög kvalitet (Tabell 2).

### **Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen**

#### **Blodgruppsantigenet RhD**

Vi fann inga studier som enbart inkluderade RhD-immuniserade gravida kvinnor eller särredovisade resultat för denna grupp. I tre studier för *RHD*-bestämning ingår RhD-immuniserade gravida kvinnor (Tabell 1a) [18,21,23]. Totalt ingår cirka 900 RhD-immuniserade gravida kvinnor i dessa studier. Studierna visar att NIPD vid *RHD*-bestämning har hög överensstämmelse med barnets RhD-typ. Det bör noteras att resultaten baseras på både gravida kvinnor immuniserade mot RhD och gravida kvinnor utan immunisering, där antalet oanalyser inte har angivits. Det är rimligt att anta att sensitivitet och specificitet inte är lägre för de RhD-immuniserade kvinnorna, där oanalyser ofta utförs rutinmässigt.

#### **Blodgruppsantigenen C, c, E och K**

Endast två studier som handlar om bestämning av *RHC*, *RHc*, *RHE* och *KEL1* uppfyllde inklusionskriterierna (Tabell 2) [24,25]. I en prospektiv studie från Tyskland med 233 analyser på icke-immuniserade gravida kvinnor analyserades *RHC*, *RHc* och *RHE* [25]. Initialt var resultaten för bestämning av *RHc* respektive *RHE* dåliga, men efter modifiering av protokollet rapporterades 100 procent överensstämmande resultat med kontrollmetoden. I en studie från Storbritannien med 151 immuniserade gravida kvinnor remitterade till ett specialistcenter analyserades *RHC*, *RHc*, *RHE* och *KEL1* [24]. Fyra av 70 *KEL1*-analyser och 3 av 44 *RHc*-analyser gav avvikande resultat eller var inkonklusiva. Dessa prover var i genomsnitt tagna i graviditetsvecka 21 respektive 26.

#### **RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)**

Tre av de sex RhD-studierna omfattade enbart RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering, dvs screening (Tabell 1b) [19,20,22]. Här finns de två största studierna med hög kvalitet [19,22]. Studierna inkluderar cirka 2 000 [19] respektive 1 000 RhD-negativa kvinnor [22] och prov har tagits vid rutinbesök i mödrahälsovården i graviditetsvecka 8–38 (median 28) respektive 6–32 (median 25).



**Tabell 1a** Diagnostiska studier om RhD-blodgruppsbestämning av foster med NIPD. Studierna inkluderar både RhD-immuniserade gravida kvinnor och RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering. Analysmetod: realtids-PCR.

Författare År, referens Land	Studiedesign	Population	Resultat	Studiekvalitet Kommentar
Chinen et al 2010 [18] Brasilien	Kvinnor med enkelbördsgraviditet vid en klinik  <i>Studietid</i> Januari 2006 till december 2007  <i>Genetisk markör</i> RHD exon 7 och 10  <i>Kontroll</i> Blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet	n=113 kvinnor Graviditetsvecka 7–36 (medel 21,5)  41% RhD-immuniserade 59% icke-immuniserade  <i>Bortfall</i> 2 missfall 2 intrauterin fosterdöd 7 saknade resultat för blodgruppering	<i>Överensstämmelse (n=102)</i> 98%, 2 pseudogen  <i>Sensitivitet</i> 100% (77/77)  <i>Specificitet</i> 92% (23/25)	Medelhög  Tolkning av resultat inte beskrivet. Antal omanalyser anges inte
Minon et al 2008 [21] Belgien	Kvinnor remitterade till specialistcenter  <i>Studietid</i> November 2002 till december 2006  <i>Genetisk markör</i> RHD exon 4, 5 och 10  <i>Kontroll</i> Blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet	n=563 kvinnor Graviditetsvecka 10–38 (medel 19,7)  545 enkelbörds- graviditeter 18 tvillinggraviditeter  En majoritet av kvinnorna var RhD-immuniserade  <i>Bortfall</i> 5 misstänkt maternell RHD-gen exkluderade	<i>Överensstämmelse Enkelbördsgraviditeter (n=544)</i> 100%, när 1 kvinna exkluderades som var njurtransplanterad med RhD- positivt organ  <i>Tvillinggraviditeter (n=18)</i> 100%  <i>Sensitivitet (totala antalet analyser)</i> Exon 4: 86,8% Exon 5: 97,1% Exon 10: 96,9%	Medelhög  Oklar tolkning av resultat, oklar beräkning. Antal omanalyser anges inte
Rouillac-Le Sciellour et al 2004 [23] Frankrike	Kvinnor rekryterades vid rutinkontroll eller inför fostervattenprov  <i>Studietid</i> Inte angivet  <i>Genetisk markör</i> RHD exon 7 och 10  <i>Kontroll</i> PCR-analys på fostervattenprov och/eller blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet	n=893 kvinnor Graviditetsvecka 7–40 (majoriteten i graviditets- vecka 12–24)  61% RhD-immuniserade 39% icke-immuniserade  <i>Bortfall</i> 34 tyst RHD-gen (26 pseudogen) och 8 inkonklusiva (diskre- panta resultat exon 7 och 10) exkluderade	<i>Överensstämmelse (n=851)</i> 99,5%  <i>RHD-positiva (n=654)</i> Falskt positiva: 5  <i>RHD-negativa (n=197)</i> Falskt negativa: 4	Medelhög  Antal omanalyser anges inte

NIPD = "Non-invasive prenatal diagnosis"; PCR = "Polymerase chain reaction"

**Tabell 1b** Diagnostiska studier om RhD-blodgruppsbestämning av foster med NIPD. RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening). Analysmetod: realtids-PCR.

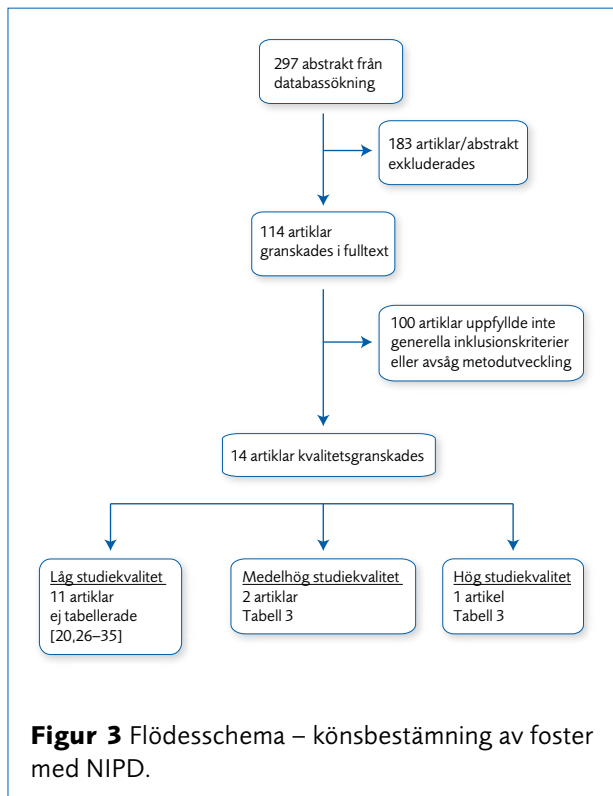
Författare År, referens Land	Studiedesign	Population	Resultat	Studiekvalitet Kommentar
Hyland et al 2009 [20] Australien	<p>Rekrytering vid besök i mödrahälsovården</p> <p><u>Studietid</u> November 2006 till april 2008</p> <p><u>Genetisk markör</u> RHD exon 4, 5 och 10</p> <p><u>Kontroll</u> Blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet</p>	<p>n=140 kvinnor Graviditetsvecka 12 till <math>\geq 28</math> (medel eller median inte angivet)</p> <p><u>Bortfall</u> Inga bortfall</p>	<p>135 av 140 (96%) analyser informativa efter första analysomgången</p> <p><u>Överensstämmelse (n=135)</u> 100%</p> <p>Kompletterande analyser gav konklusiva resultat i ytterligare 2 fall</p> <p>Inkonklusiva: 3 (2%)</p>	<p>Medelhög</p> <p>Flöden och beslutsträd angivet</p>
Finning et al 2008 [19] Storbritannien	<p>Rekrytering vid besök i mödrahälsovården</p> <p><u>Studietid</u> Inte angivet</p> <p><u>Genetisk markör</u> RHD exon 5 och 7</p> <p><u>Kontroll</u> Blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet</p>	<p>n=1 997 kvinnor Graviditetsvecka 8–38 (medel 27,9, median 28)</p> <p><u>Bortfall</u> 124 ej spårbara 4 fosterdöd</p>	<p><u>Överensstämmelse (n=1 869)</u> 95,7%</p> <p>Falskt positiva: 14 (0,8%) Falskt negativa: 3 (0,2%) Inkonklusiva: 64 (3,4%)</p>	<p>Hög</p> <p>Detaljerad information om analyser och uppföljning. Antal omanalyser anges inte</p>
Müller et al 2008 [22] Tyskland	<p>Rekrytering vid besök i mödrahälsovården</p> <p>Två olika metoder för att rena fram DNA: 1) Centrifugeringsmetod 2) Magnetmetod</p> <p><u>Studietid</u> Inte angivet</p> <p><u>Genetisk markör</u> RHD exon 5 och 7</p> <p><u>Kontroll</u> Blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet</p>	<p>n=1 113 kvinnor Graviditetsvecka 6–32 (median 25)</p> <p><u>Bortfall</u> 28 prover exkluderades 63 saknade serologiresultat</p>	<p>Resultat avseende två olika DNA-extraktionsmetoder</p> <p><u>Överensstämmelse (n=1 022)</u> 1) 99,5% 2) 99,2%</p> <p><u>Sensitivitet</u> 1) 99,7% 2) 99,8%</p> <p><u>Specificitet</u> 1) 99,2% 2) 98,1%</p> <p><u>Omanalyser</u> 1) 5,4% 2) 1,4%</p>	<p>Hög</p> <p>Detaljerad information om analyser och uppföljning. Svarsalgoritm angivet. Antal omanalyser angivet</p>

DNA = "Deoxyribonucleic acid"; NIPD = "Non-invasive prenatal diagnosis"; PCR = "Polymerase chain reaction"

**Tabell 2** Diagnostiska studier om blodgruppsbestämning av foster med NIPD avseende blodgruppsantigenen RhC, Rhc, RhE och K. Studierna inkluderar både immuniserade gravida kvinnor och gravida kvinnor utan känd immunisering. Analysmetod: realtids-PCR.

Författare År, referens Land	Studiedesign	Population	Resultat	Studiekvalitet Kommentar
Gutensohn et al 2010 [25] Tyskland	Icke-immuniserade kvinnor rekryterades vid besök på specialistcenter  <u>Studietid</u> <i>Period 1</i> Augusti 2005 till februari 2007  <i>Period 2</i> Mars 2007 till april 2008  <u>Genetisk markör</u> <i>RHCE</i>  <u>Kontroll</u> PCR-analys på fostervattenprov	<u>Period 1</u> n=105 kvinnor  <u>Period 2</u> n=181 kvinnor Graviditetsvecka 12–28 (median 16)  Genotypning för: RhC=46 Rhc=87 RhE=100	<u>Överensstämmelse</u> <i>Period 1 (n=105)</i> RhC: 100% Rhc: 38% RhE: 59% Omanalyser: 6–10%  <i>Period 2 (n=181)</i> 100% för alla analyser	Låg  Metodutveckling. Provflöde och bedömning av resultat saknas. Antal omanalyser inte angivet i period 2
Finning et al 2007 [24] Storbritannien	Immuniserade kvinnor remitterade till specialistcenter  <u>Studietid</u> Inte angivet  <u>Genetisk markör</u> <i>RHCE och KEL1</i>  <u>Kontroll</u> PCR-analys på fostervattenprov och/eller blodgruppsbestämning av det nyfödda barnet	n=151 kvinnor Graviditetsvecka 10–36 (medel 23 (RhC och RhE), medel 26 (Rhc), medel 21 (K))  Genotypning för: RhC=13 Rhc=44 RhE=46 K=70	<u>Överensstämmelse</u> RhC: 13 analyser, alla korrekta Rhc: 44 analyser, varav 3 inkonklusiva RhE: 46 analyser, alla korrekta K: 70 analyser, varav 1 falskt negativ och 3 inkonklusiva	Låg  Metodutveckling. Provflöde och bedömning av resultat saknas. Antal omanalyser inte angivet

NIPD = "Non-invasive prenatal diagnosis"; PCR = "Polymerase chain reaction"



### Könsbestämning av foster med NIPD

- Det finns begränsat vetenskapligt stöd för att könsbestämning hos foster med NIPD har en sensitivitet och specificitet nära 99 procent (⊕⊕○○).

Denna utvärdering omfattar en genomgång av abstrakt till 297 vetenskapliga artiklar, varav 114 artiklar granskades i sin helhet (Figur 3). Vi fann inga publicerade randomiserade prospektiva studier.

Tre studier har inkluderats i denna sammanställning och presenteras i Tabell 3 [36–38]. Två studier har genomförts i Storbritannien och en i Nederländerna. En studie har bedömts vara av hög kvalitet [37] och två studier av medelhög kvalitet [36,38]. Två av studierna är sammanställningar av resultat från centra som erbjuder könsdiagnostik med NIPD inom den kliniska verksamheten [37,38]. I den tredje studien analyseras blodprover från gravida kvinnor som hade lämnat prov för NIPD i studiesyfte [36].

I samtliga studier har NIPD-resultatet jämförts mot ett referenstest (kontrollprov). De kontroller som används är bestämning av fostrets kön efter invasiv fosterdiagnostik eller med hjälp av ultraljudsundersökning, samt könet på barnet efter förlossningen (fenotyp). Olika markörer eller kombinationer av markörer har använts för att påvisa Y-kromosommaterial; *SRY*, *DYS14*, *DBY* eller *TTY2*.

Majoriteten av provtagningar för NIPD görs i graviditetens första trimester, men i klinisk verksamhet kan provtagningsveckan variera och enstaka prov kan komma att tas betydligt senare. Detta framgår av de två studier som redovisar könsbestämning med NIPD för kliniskt bruk [37,38].

Studierna visade att cirka 10–20 procent av analyserna inte gav ett konklusivt resultat eller att foster-DNA inte kunde påvisas i provet. I dessa fall begärdes ett nytt blodprov, vilket i majoriteten av fallen gav ett konklusivt resultat. Endast i ett fåtal fall kunde inte ett resultat lämnas.

Sammanfattningsvis varierar sensitiviteten i studierna mellan 97,0 och 100 procent och specificiteten varierar mellan 95,7 och 100 procent [36–38]. Men ingen av studierna har beräknat sensitivitet och specificitet på alla i studien ingående prover/graviditeter. Anledningen till detta varierar. I den största studien, av Hill och medarbetare, ändrades betingelserna under studien mellan fas 1 och 2 [37]. I den andra delen av studien accepterades bara prover från graviditetsvecka 7 och framåt. Även striktare kriterier för resultatbedömningen av provsvaren infördes. Detta resulterade i att både sensitivitet och specificitet förbättrades. I studien av Scheffer och medarbetare exkluderades de prover där foster-DNA inte hade påvisats eller där analysen gett inkonklusivt resultat [38]. På samma sätt inkluderade Akolekar och medarbetare bara de analyser som gett konklusivt resultat [36].

I studien av Scheffer och medarbetare kunde invasiva provtagningar undvikas i 41 procent av fallen av blödar-sjuka [38]. För gravida kvinnor, där fostret hade risk för kongenital binjurebarkshyperplasi, kunde antalet veckor med högdos-steroidbehandling reduceras i 69 procent av fallen.

**Tabell 3** Diagnostiska studier om könsbestämning av foster med NIPD.  
Analysmetod: realtids-PCR eller masspektrometri.

Författare År, referens Land	Studiedesign	Population	Resultat	Studiekvalitet Kommentar
Hill et al 2011 [37] Storbritannien	Gravida kvinnor remitterade för könsdiagnostik med NIPD till två centra  <u>Studietid</u> April 2006 till mars 2009  <u>Genetisk markör</u> SRY eller DYS14  <u>Kontroll</u> Könsbestämning med ultraljud, fostervattenprov, moderkaksprov, eller hos det nyfödda barnet (fenotyp)	n=672 kvinnor Studien delades in i två faser. Efter ett år utfördes en audit och i den andra fasen togs prover huvudsakligen från graviditetsvecka 7  538 foster eller nyfödda barn med känt kön  <u>Bortfall</u> Det anges att svar inte kunde lämnas i 4% av fallen	Fas 1: april 2006 till mars 2007 (n=161):  <u>Sensitivitet</u> 97,0% (64/66)  <u>Specificitet</u> 95,7% (66/69)  Fas 2: april 2007 till mars 2009 (n=511):  <u>Sensitivitet</u> 99,0% (207/209)  <u>Specificitet</u> 100% (194/194)	Hög  Studien gjord i klinisk miljö. Sensitivitet och specificitet är beräknat på de 538 fall som även har resultat från en kontroll
Scheffer et al 2010 [38] Nederländerna	Gravida kvinnor remitterade för könsdiagnostik med NIPD  <u>Studietid</u> 2003 till 2009  <u>Genetisk markör</u> SRY + DYS14  <u>Kontroll</u> Könsbestämning med ultraljud, fostervattenprov, moderkaksprov, eller hos det nyfödda barnet (fenotyp)	n=201 kvinnor (enkelbördsgraviditeter) Graviditetsvecka 6–31 (median 9)  <u>Bortfall (6%)</u> 10 där foster-DNA inte kunde påvisas 2 med inkonklusiva resultat, visade sig vara missfall	<u>Sensitivitet</u> 100% (105/105) (95% KI, 96,6; 100%)  <u>Specificitet</u> 100% (81/81) (95% KI, 95,6; 100%)	Medelhög  Studien gjord i klinisk miljö. Sensitivitet och specificitet är beräknat på 186 av 201 analyser
Akolekar et al 2010 [36] Storbritannien	Studien baseras på tidigare insamlade prover från gravida kvinnor som fött barn och där uppgift finns om barnets kön  <u>Genetisk markör</u> SRY + DBY + TTTY2  <u>Kontroll</u> Information om barnets kön inhämtades från databas	n=236 kvinnor (enkelbördsgraviditeter) Graviditetsvecka 11–13 (median 12,4)  <u>Bortfall</u> 3 där foster-DNA inte kunde påvisas 22 med inkonklusiva resultat	<u>Överensstämmelse</u> 99,1%  <u>Sensitivitet</u> 98,9% (90/91)  <u>Specificitet</u> 99,2% (119/120)	Medelhög  Sensitivitet och specificitet är beräknat på 211 av 236 analyser

DNA = "Deoxyribonucleic acid"; KI = Konfidensintervall; NIPD = "Non-invasive prenatal diagnosis"; PCR = "Polymerase chain reaction"

## Användning av metoden i Sverige

### Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

I mitten av 1990-talet började DNA-baserad bestämning av RHD-status på fostermaterial, dvs fostervatten- eller moderkaksprov, utföras i Lund. År 2001 beslutades att ett nordiskt referenslaboratorium för DNA-baserad blodgruppsdiagnostik skulle inrättas i Lund. NIPD introducerades vid det nordiska referenslaboratoriet år 2003. Antalet prover är ännu litet. Idag används metoden huvudsakligen för de gravida kvinnor som har höga titrar av blodgruppsantikroppar. I slutet av år 2006 utgjordes majoriteten av fosterproverna för RHD-bestämning av NIPD. Enstaka fostervattenprov för RHD-bestämning görs fortfarande, i regel då provet har tagits på annan medicinsk indikation än blodgruppsbestämning.

### Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen

I Lund utförs blodgruppsbestämning efter NIPD för analys av RhD och Rhc. Analyser för RhC, RhE och K kan för närvarande remitteras till International Blood Group Reference Laboratory i Bristol eller till det nationella laboratoriet i Amsterdam. Målgruppen är idag immuniserade gravida kvinnor.

### RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)

NIPD som screening har hittills inte utförts som kliniskt prov i Sverige. En svensk studie pågår (se avsnittet "Pågående studier").

### Könsbestämning av foster med NIPD

NIPD för könsbestämning används inte idag. Könsbestämning av foster vid medicinsk indikation görs idag efter provtagning från fostervatten eller moderkaka. Könsdiagnostik efter invasiv provtagning kan utföras på samtliga sex kliniskt genetiska avdelningar i Sverige.

## Sjukvårdens framtida struktur och organisation

### Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

#### Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen

Se avsnittet "Användning av metoden i Sverige".

#### RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)

Nyutvecklade laboratoriesystem för DNA-baserad blodgruppsdiagnostik har nyligen CE-märkts<sup>1</sup> [39]. Detta

<sup>1</sup> CE-märket betyder att tillverkaren eller importören lovar att varan uppfyller de säkerhetskrav som EU ställer för just den produktgruppen.

kommer sannolikt att leda till att metoderna inom kort sprids till flera centra i Sverige. Så har trenden varit i övriga Europa. Om NIPD-screening av alla RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering skulle införas i Sverige kommer det att generera cirka 16 500 prover per år. Detta kräver omställningar av de laboratorier som idag hanterar screening för blodgruppsantikroppar från gravida kvinnor.

Antingen kan den nya analysen införas på flera större laboratorier i landet, eller så kan det leda till en koncentration av högspecialiserad diagnostik vid ett fåtal laboratorier. Det finns internationella exempel på båda modellerna. De organisatoriska förändringarna gäller såväl ombyggnation och investering i ny utrustning som utbildning av personal, alternativt rekrytering av personal med rätt kompetens. Idag har personalen vid transfusionsmedicinska blodgruppslaboratorier huvudsakligen blodgruppsserologisk utbildning och vana. De nya laboratoriesystemen kräver molekylärbiologiskt utbildad personal. Oavsett hur utvecklingen drivs så innebär det nya rutiner för mödravårdsenheter och transfusionsmedicinska laboratorier. Antingen ska proverna sorteras, frysas och skickas vidare för analys, eller analyseras lokalt avseende foster-RHD.

I Finland görs alla analyser avseende blodgruppscreening av gravida kvinnor enbart i Helsingfors. I Nederländerna och Storbritannien har förberedelser för ett införande av screening baserad på NIPD lett till centraliserade laboratoriefunktioner. I dessa länder finns sedan tidigare en nationell organisation inom transfusionsmedicin, vilket inte finns i Sverige.

### Könsbestämning av foster med NIPD

I Sverige görs cirka 20–30 könsbestämningar per år med invasiv fosterdiagnostik. Om NIPD för könsbestämning vid medicinsk indikation införs kan man förvänta sig ett relativt litet antal analyser per år. Dessa analyser kan sannolikt centraliseras till ett laboratorium utan några betydande personella omställningar eller investeringar i ny utrustning.

## Ekonomiska aspekter

### Kostnad

#### Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

#### Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen

I Sverige finns NIPD för bestämning av RhD och Rhc. Indikationen är idag immuniserade gravida kvinnor och analysen görs vid Nordiska referenslaboratoriet för genetisk blodgruppstypning vid Labmedicin Skåne i Lund. År 2010 gjordes NIPD-analyser på cirka 30 kvinnor. Kostnaden

för blodgruppsbestämning med NIPD var år 2010 cirka 2 900 kronor, varav analyskostnaden utgjorde knappt 95 procent (Region Skåne<sup>2</sup>). NIPD för immuniserade gravida kvinnor är både billigare och ger mindre risk för biverkningar än invasiv fosterdiagnostik, som är associerat med en ökad risk för missfall och förvärrad immunisering.

Hos ett fåtal immuniserade kvinnor görs fortfarande invasiv fosterdiagnostik om annan medicinsk indikation samtidigt föreligger. Det kan också gälla för analys av blodgruppsantigen för vilka NIPD inte finns tillgänglig. Kostnaden för invasiv provtagning och blodgruppsbestämning av foster var år 2010 cirka 6 200 kronor, analyskostnaden utgjorde 15 procent (Region Skåne).

#### *RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)*

I Stockholm pågår en studie från 1 september 2009, där RHD-fosterbestämning med NIPD erbjuds alla RhD-negativa kvinnor. Resultat från studien har ännu inte publicerats. I Danmark är screening baserat på NIPD infört sedan 1 januari 2010. I Nederländerna införs metoden under 2011. Laboratoriet i Köpenhamn debiterar 374 danska kronor för sin RHD-screeninganalys och det är rimligt att tro att priset i Nederländerna kommer att bli likartat.

Om NIPD-screening skulle införas i Sverige är målgruppen cirka 15 procent av gravida kvinnor, dvs cirka 16 500 analyser per år. Detta kommer att generera stora provolymer, vilket troligen innebär att analyskostnaderna reduceras och behovet av uppföljning och kontroller hos de kvinnor som har RhD-negativa foster minskar. Detta skulle innebära nya krav på de laboratorier som idag hanterar analyser för blodgruppsbestämning av gravida kvinnor. Men analyserna skulle också kunna koncentreras till högspecialiserade laboratorier. Logistiken har lösts på olika sätt i de länder som har infört eller planerar att införa NIPD-screeningen för foster-RHD. I Danmark görs analysen på ett laboratorium i varje region medan alla nederländska prover kommer att analyseras i ett laboratorium i Amsterdam.

Ett alternativ till screening är att ge alla RhD-negativa kvinnor Rh-profylax under graviditeten, detta görs exempelvis i Kanada, USA, Storbritannien och Nederländerna. Studier har visat att Rh-profylax i graviditetsvecka 28–30 sannolikt kan minska andelen immuniserade från drygt 1 procent till 0,2–0,4 procent [40]. En systematisk litteraturoversikt med hälsoekonomisk analys visade att införande av profylax, jämfört med att inte ge profylax, var kostnadseffektivt vid ett tröskelvärde på 30 000 brittiska pund per kvalitetsjusterat levnadsår (QALY) [10].

<sup>2</sup> Källa: Personlig kommunikation.

#### **Könsbestämning av foster med NIPD**

NIPD för könsbestämning används inte i Sverige. Könsbestämning av foster vid medicinsk indikation görs idag efter provtagning från fostervatten eller moderkaka. Analysen kan utföras på samtliga kliniskt genetiska avdelningar i Sverige. I de fall könsdiagnostiken behöver kompletteras med annan specifik diagnostik för en X-kromosombunden sjukdom görs ibland all diagnostik på det laboratorium som erbjuder den specifika sjukdomsdiagnostiken. Cirka 20–30 analyser per år görs vid medicinsk indikation för könsbestämning av foster.

Priset för könsbestämning efter invasiv fosterdiagnostik varierar mellan 6 400 och 8 600 kronor, i det senare ingår ultraljudsundersökningen (Karolinska Universitetssjukhuset år 2011 och Region Skåne år 2010<sup>3</sup>). Laboratorieanalysen utgör cirka 50 procent av priset. Vid ett införande av NIPD kan provtagningskostnaden troligen minska till ett par hundra kronor. Priset för könsbestämning med NIPD är inte känt, då metoden ännu inte är införd i Sverige, men det borde ligga i nivå med priset för blodgruppsbestämning.

#### **Kostnadseffektivitet**

Vi fann inga kostnadseffektivitetsstudier om NIPD för könsbestämning eller blodgruppering av fostret. För beräkning av kostnadseffektivitet bör ekonomiska konsekvenser av falskt positiva och falskt negativa fall beaktas. I en pågående svensk studie om blodgruppsbestämning av foster hos RhD-negativa gravida kvinnor ingår vissa hälsoekonomiska aspekter (se avsnittet "Pågående studier").

#### **Behov av framtida forskning**

NIPD för blodgruppsbestämning och könsbestämning är fortfarande under utveckling. Det är oklart vilken mängd plasma som är optimalt utgångsmaterial för att påvisa cellfritt foster-DNA (cff-DNA). Det saknas konsensus om vilken metod som är den mest effektiva för att preparera DNA från plasma, särskilt vid undersökning av ett stort antal prover.

En generell fråga vid all NIPD är hur man bäst kontrollerar att cff-DNA finns i provet. Detta är viktigt för att undvika falskt negativa resultat pga att endast den gravida kvinnans DNA analyseras. Hittills finns ingen samsyn om vilken typ av genetisk markör som ska användas. Både fosterspecifik metylering och paternella markörer som saknas hos modern har föreslagits, men det saknas generella rekommendationer och fler studier behövs. Att använda Y-kromosommarkörer som kontroll för foster-DNA fungerar bara på pojkfoster, dvs i 50 procent av fallen, vilket kan medföra etiska risker (se avsnittet "Etiska aspekter").

<sup>3</sup> Källa: Personlig kommunikation och gällande prislister.

## Blodgruppsbestämning av foster med NIPD

### *Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen*

Det saknas kunskap från större studier om vilken exon eller kombination av exoner för bestämning av *RHD*-status som ger högst sensitivitet och specificitet. Även om man i princip bara kan använda en viss exon för bestämning av de flesta andra blodgruppsantigen, t ex RhC, Rhc, RhE och K, så finns andra analys-specifika parametrar och metodologiska varianter att utvärdera. Det behövs fler uppföljande studier från kliniker eller länder där NIPD har börjat användas.

### *RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)*

Det saknas resultat från större studier som jämför NIPD för bestämning av *RHD*-status hos foster och eventuell behandling med Rh-profylax till den gravida kvinnan, med dagens handläggning med kontroller under graviditeten och eventuell Rh-profylax.

De hälsoekonomiska konsekvenserna av ett införande av NIPD som screening av RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering är inte klarlagda. Kostnaden för analysen i Sverige är ännu inte känd, men priser kring 40–50 euro diskuteras i Europa.

### **Könsbestämning av foster med NIPD**

Det saknas kunskap från större studier om vilken kombination av markörer för könsbestämning som ger högst sensitivitet och specificitet. Det behövs fler uppföljande studier från kliniker och laboratorier där NIPD har börjat användas för könsbestämning.

De etiska och sociala konsekvenserna av tillgång till ett icke-invasivt test för könsbestämning av foster är inte klarlagda.

### **Pågående studier**

I flera andra europeiska länder pågår studier och diskussion om införande av screening för RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering. I Danmark infördes fetal *RHD*-screening 1 januari 2010 efter beslut från Sundhetsstyrelsen [41]. Syftet är att alla RhD-negativa kvinnor med RhD-positivt foster ska få Rh-profylax i vecka 29.

I Stockholm pågår sedan september 2009 en studie där alla RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering erbjuds bestämning av fostrets RhD-typ vid det första mödravårdsbesöket. I studien utvärderas NIPD som screeningmetod avseende logistik, sensitivitet och specificitet jämfört med dagens rutiner då barnet blodgrupperas vid födelsen. Om fostret är RhD-positivt

erbjuds rutinmässig Rh-profylax i graviditetsvecka 29. Antikroppsundersökning görs innan Rh-profylax ges, vid förlossningen och sex månader efter förlossningen. Studien beräknas fortsätta under 2011. Den kliniska effekten – dvs antal immuniseringar, antal behandlade, sjuka och döda barn – samt provtagnings- och behandlingskostnader, jämförs med en historisk kontrollgrupp från åren 2006–2008.

Det pågår också forskning inriktad på att kunna använda NIPD för diagnostik av förändringar i antalet kromosomer (aneuploidier) och för diagnostik av andra ärftliga (monogena) sjukdomar än de X-kromosombundna [42–47].

### **Etiska aspekter**

Den medicinska målsättningen med fosterdiagnostik är att upptäcka en sjukdom eller i vissa fall en egenskap som kan leda till sjukdom eller skada hos ett foster under graviditeten. I vissa fall kan en upptäckt skada inte behandlas och den gravida kvinnan och hennes partner ställs då inför valet att fullfölja eller avbryta graviditeten.

Samhällets mål är att erbjuda fosterdiagnostik till gravida kvinnor inom de ramar samhället anger och på ett sådant sätt att kvinnans självbestämmande kan tillgodoses. En utgångspunkt för en etisk analys vid introduktion av nya metoder inom fosterdiagnostiken är att identifiera och precisera målsättningen med den fosterdiagnostiska verksamheten och sedan ta ställning till om de nya metoderna ryms inom den accepterade målsättningen. En sådan analys bör utgöra underlaget för ställningstagande till om nya metoder kan inkluderas i samhällets erbjudande avseende fosterdiagnostik [48,49].

Människovärdesprincipen är en etisk princip som är viktig vid en analys av vilken fosterdiagnostik som ska erbjudas en gravid kvinna. Andra värden eller etiska principer att ta hänsyn till är människosyn, integritet, självbestämmande (autonomi), informerat samtycke, livskvalitet och rättvisa, samt kostnadseffektivitetsprincipen.

Den gravida kvinnan och hennes partner behöver ha tillgång till information som ger dem tillräcklig kunskap för att kunna fatta ett självständigt och välinformerat beslut. Om inte tydlig och saklig information ges kan den enkla provtagningen vid NIPD bidra till att den gravida kvinnan och hennes partner inte upplever skäl att stanna upp och fundera över eventuella konsekvenser av att genomgå fosterdiagnostik.

### **Blodgruppsbestämning av foster med NIPD**

Vid blodgruppsbestämningar, både med dagens metod och med NIPD, kan det ibland vara av värde att bestämma RhD-typ hos den blivande fadern. Detta kan innebära risk



för oavsiktliga faderskapsbestämningar. Valet av analyskontroller vid NIPD kan innebära att man oavsiktligt gör en könsbestämning och resultaten kan komma att användas på ett etiskt tveksamt sätt. Det kan därför finnas skäl att inte använda gener som är kopplade till könskromosomer som analyskontroller, om detta är tekniskt möjligt.

#### ***Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen***

NIPD kan användas för att bestämma fostrets RhD-typ hos RhD-immuniserade gravida kvinnor. Bara de kvinnor vars foster är RhD-positivt behöver särskilt övervakas och eventuellt behandlas. NIPD kan således bidra till en säkrare vård av immuniserade kvinnor och deras foster. Den nya metoden kan i detta avseende anses etiskt okontroversiell.

#### ***RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)***

NIPD kan också användas för undersökning av alla RhD-negativa gravida kvinnor och därigenom på ett enkelt sätt möjliggöra en tidig bestämning av fostrets blodgrupp. Metoden skulle kunna ersätta dagens förfarande i Sverige med kontroller under graviditeten och blodgruppsbestämning av fostret efter förlossningen.

Om NIPD i framtiden erbjuds alla RhD-negativa gravida kvinnor är syftet att ge Rh-profylax till dem som bär på ett RhD-positivt foster för att minska risken för RhD-immunisering. En fördel jämfört med att ge Rh-profylax till alla RhD-negativa (vilket görs i vissa länder) skulle vara att de kvinnor som väntar ett RhD-negativt barn inte behöver få Rh-profylax, och därmed inte utsätts för de eventuella risker behandlingen kan innebära. NIPD för detta ändamål innebär fördelar för kvinnorna och bedöms således inte vara etiskt kontroversiell.

Ett fåtal kvinnor kan få ett falskt negativt resultat, dvs att analysen visar att barnet är RhD-negativt fast det egentligen är RhD-positivt. Hos dessa kvinnor finns en risk för immunisering och att situationen inte uppmärksammas, varvid fostret till följd av detta får blodbrist som kan skada dess utveckling.

Det finns två områden där kommersiella aktörer verkar: dels utveckling av nya tester med NIPD, dels produktion av Rh-profylax. Tillgången på tester påverkas av patentstridigheter och en pågående konflikt kan hindra att effektiva och ändamålsenliga tester görs tillgängliga för sjukvården. Beträffande Rh-profylax finns flera konkurrerande aktörer, vilket gynnar användarna genom att det pressar priserna. Rh-profylax framställs huvudsakligen av plasma från RhD-immuniserade blodgivare, vilket innebär att tillgången är begränsad. I ett globalt solidaritetsper-

spektiv finns det därför skäl att använda behandlingen endast i de fall där den kan antas ha effekt, dvs ges till de RhD-negativa gravida kvinnor som med NIPD visats ha RhD-positiva foster.

#### **Könsbestämning av foster med NIPD**

Den medicinska målsättningen för könsbestämning av foster med NIPD är oftast att ta reda på könet hos foster där den gravida kvinnan är bärare av ett anlag för en X-kromosombunden sjukdom. I de flesta fall kan en upptäckt skada inte behandlas, och den gravida kvinnan och hennes partner ställs därför inför valet att fullfölja eller avbryta graviditeten. Används NIPD för könsbestämning kan invasiv fosterdiagnostik och en sen abort i vissa fall undvikas. Detta kan innebära lägre medicinska och psykologiska risker för kvinnan.

Det kan finnas flera och varierande skäl till att föräldrarna på förhand vill veta det väntade barnets kön. Redan idag erbjuds könsbestämning via privata företag på internet. Detta innebär att den gravida kvinnan skulle kunna använda sig av information om fostret som hon erhållit via en internettjänst, och sedan vända sig till sjukvården för att få en abort om hon anser att fostret inte har önskat kön. Enligt svensk lag behöver kvinnan inte redovisa motiven för en abort om den sker före utgången av den artonde graviditetsveckan. Om könsbestämning skulle ingå som en del i en familjeplanering blir frågan etiskt kontroversiell. Grundläggande värden som människosyn och människovärde kan hotas om metoden används på detta sätt.

Den fortsatta utvecklingen av diagnostiska möjligheter med NIPD leder till en rad nya etiska frågor. Statens medicinsk-etiska råd (SMER) har i en genomgång analyserat dessa etiska aspekter [49].

## **Diskussion**

### **Blodgruppsbestämning av foster med NIPD**

#### ***Gravida kvinnor immuniserade mot RhD eller annat blodgruppsantigen***

Vid fosterdiagnostik hos immuniserade gravida kvinnor är det önskvärt med en sensitivitet och specificitet nära 100 procent. Eftersom det gäller ett begränsat antal fall kan analysen upprepas i laboratoriet vid behov. Vid oklart resultat kan hänsyn dessutom tas till föräldrarnas fenotyp och/eller genotyp. Syftet är att ge rätt handläggning av kvinnan under graviditeten och eventuell behandling av fostret.

Bestämning av fostrets RhD-typ samt RhC och K vid allvarliga immuniseringar är kliniskt indicerat. I dessa fall,

som är få, kan man vid behov upprepa analyserna för att nå nära 100 procent sensitivitet. Metoder för fosterbestämning av RhC och RhE finns också utvecklade och i de två genomgångna studierna har de hög sensitivitet. De kan vara kliniskt indicerade vid höga antikropps nivåer men allvarliga immuniseringar mot dessa antigen är ovanliga. Det är ett stöd vid den fortsatta handläggningen av graviditeten att veta fostrets blodgrupp. I de fall fostret saknar motsvarande antigen besparar det kvinnan extra kontroller och oro.

Idag saknas det en bra kontrollmetod för att säkerställa att man har påvisat foster-DNA om analysen utfaller negativt. En kontroll som används är en markör för Y-kromosomen, men den fungerar bara i de fall det är ett manligt foster. Det gör att falskt negativa resultat är metodens svaghet.

Helt nyligen, efter avslutad inklusion av artiklar i vår utvärdering, publicerades en sammanställning av NIPD-analyser hos 362 immuniserade gravida kvinnor. Studien baserades på sju års erfarenheter vid det nederländska referenslaboratoriet och inkluderade bestämning av fyra olika blodgruppsantigen. Slutsatsen blev att bestämning av RhD, Rhc, RhE och K med NIPD är säkra metoder som framgångsrikt har kunnat implementeras i klinisk praxis [50].

*Konsekvenser av falskt positivt eller falskt negativt resultat*  
Ett falskt positivt resultat hos en immuniserad kvinna innebär att fostret bedöms vara positivt men egentligen är negativt avseende det undersökta antigenet. Detta medför täta kontroller och oro i onödan. Det finns således en risk för att åtgärder vidtas trots att barnet inte är i riskzonen.

Ett falskt negativt resultat hos en immuniserad kvinna innebär att fostret bedöms vara negativt men egentligen är positivt avseende det undersökta antigenet. Detta skulle kunna innebära att kvinnan skickas tillbaka till den vanliga mödrahälsovården och att kontroller och uppföljningar av graviditeten inom specialismödravården uteblir. Risken finns då att en allvarlig blodbrist hos fostret missas.

#### ***RhD-negativa gravida kvinnor utan RhD-immunisering (screening)***

När det gäller screening av alla RhD-negativa gravida kvinnor för bestämning av foster-RHD ställs andra krav än vid analys av enstaka prov från immuniserade gravida kvinnor. Det rör sig om stora volymer, antalet oanalyser måste begränsas och kostnaden per analys får inte bli för stor. Det är viktigt med en hög sensitivitet för att inte missa att ge Rh-profylax till en kvinna med ett RhD-positivt foster. Sensitiviteten vid RHD-bestämning med

NIPD måste motsvara sensitiviteten vid den nuvarande metoden med blodgruppsserologisk RhD-bestämning på navelsträngsblod efter förlossningen.

Syftet med NIPD-screening är att kunna ge Rh-profylax under graviditeten enbart till de kvinnor som löper risk att bli immuniserade och att minska antalet immuniseringar som sker under den sista delen av graviditeten. Studier har visat att Rh-profylax i graviditetsvecka 28–30 sannolikt kan minska antalet RhD-immuniseringar till cirka en tredjedel [40]. Rh-profylax som ges omkring graviditetsvecka 30 räcker inte över förlossningen, utan en ny dos måste ges vid förlossningen.

I många andra länder ges Rh-profylax rutinmässigt en gång under de sista tre månaderna av graviditeten. Dessa länder har en lägre immuniseringsfrekvens än Sverige. De RhD-negativa kvinnor som bär på ett RhD-negativt foster (cirka 40 procent) får dock Rh-profylax i onödan. Syftet med NIPD-screening i dessa länder, bl a Storbritannien och Nederländerna, är att minska onödigt användning av immunglobulin och de eventuella risker behandlingen kan innebära [51].

#### *Konsekvenser av falskt positivt resultat, falskt negativt resultat eller inkonklusivt resultat*

Vid screening av RhD-negativa, icke-immuniserade, gravida kvinnor kan ett falskt positivt resultat innebära att en kvinna får Rh-profylax trots att hon egentligen inte behöver det. Det kan också medföra sociala konsekvenser om kvinnans partner är RhD-negativ och riskerar att tro att han inte kan vara den blivande fadern.

Falskt negativa resultat kan bero på misslyckad DNA-preparation, för mycket maternellt fritt DNA eller för lite cff-DNA i provet. Vid screening av RhD-negativa, icke-immuniserade, gravida kvinnor innebär ett falskt negativt resultat att en gravid kvinna inte behandlas med Rh-profylax trots att det är motiverat. Risken ökar då att kvinnan blir RhD-immuniserad. Denna risk är dock inte större än vad den är i Sverige idag för alla RhD-negativa gravida kvinnor som bär på RhD-positivt foster.

Inkonklusivt resultat kan ses när kvinnan har en RHD-gen som inte påvisats vid rutinmässig blodgruppering. Det kan bero på mycket svagt uttryck av RhD-antigenet eller att det inte uttrycks alls på de röda blodkropparna, så kallad icke-funktionell RHD-gen. I dessa fall går det inte att bestämma RHD-status hos fostret. Sannolikt är risken för immunisering liten men rutinen bör vara att Rh-profylax rekommenderas för säkerhets skull, vilket är rutin i Storbritannien och Nederländerna. En icke-funktionell RHD-gen som är vanlig i afrikansk befolkning är den så kallade pseudogenen [7]. NIPD-analysen kan designas så

att man påvisar eller inte påvisar pseudogenen. Vid screening är det en fördel att inte påvisa pseudogenen, vare sig hos kvinnan eller fostret.

### **Könsbestämning av foster med NIPD**

De utvärderade studierna visar en sensitivitet mellan 98,9 och 100 procent för könsbestämning med NIPD. Sensitiviteten avspeglar andelen korrekt identifierade pojkfoster. Det kan vara av värde att ett foster med kvinnligt kön bekräftas med ultraljud senare under graviditeten (Figur 1). Specificiteten visar andelen korrekt identifierade flickfoster. Specificiteten är genomgående nära 100 procent i de ingående studierna.

I de utvärderade studierna förekommer att analyserna inte gav ett konklusivt svar. Då begärdes ett nytt blodprov, vilket i majoriteten av fallen gav ett konklusivt resultat. Vid ett eventuellt införande av NIPD rör det sig om ett begränsat antal fall som är aktuella för könsbestämning på medicinsk indikation. I dessa fall kommer det sannolikt att vara möjligt att begära ett nytt blodprov. I de enstaka fall där NIPD trots en ny provtagning inte leder till ett konklusivt resultat, kan könsbestämning fortfarande göras efter invasiv provtagning (Figur 1).

### **Konsekvenser av falskt positivt resultat, falskt negativt resultat eller inkonklusivt resultat**

Ett falskt positivt resultat innebär att NIPD-svaret visar att fostret har ett manligt kön fast det i själva verket är ett flickfoster. Ett falskt positivt resultat vid en X-kromosombunden sjukdom (som drabbar pojkar) skulle kunna leda till abort av ett friskt flickfoster. I de fall där utredningen fortsätter med invasiv fosterdiagnostik kommer en felaktig könsbestämning att upptäckas. Ultraljudsundersökning tidigt i graviditeten för att utesluta flerbörd kan sannolikt också bidra till hög specificitet.

Ett falskt negativt resultat innebär att analysen visar att fostret har ett kvinnligt kön fast det är ett pojkfoster. Ett falskt negativt resultat vid X-kromosombunden sjukdom kan leda till att det föds en sjuk pojke.

### **Utveckling av diagnostik av ärftliga sjukdomar och förändringar i antalet kromosomer**

Det som gör att det är just blodgrupps- och könsbestämning som tidigt har etablerats beror på att man i dessa fall letar efter en DNA-sekvens som finns hos fostret men inte hos den gravida kvinnan. Att analysera en kromosomavvikelse eller en monogen sjukdom är tekniskt mer komplicerat. Eftersom det är en begränsad mängd foster-DNA och relativt korta DNA-bitar, som finns i den

gravida kvinnans blod, så krävs mer avancerad teknik för att avgöra om ett foster har en extra kromosom (t ex trisomi 13, 18 eller 21) och att kunna skilja dessa från moderns kromosomer. Den första beskrivningen av att diagnosticera kromosomavvikelse hos foster med NIPD publicerades år 2007 [52].

På samma sätt är det svårare att analysera en monogen sjukdom där kvinnan är bärare av samma sjukdomsanlag som man vill veta om fostret har. Det finns fall där man framgångsrikt har använt NIPD för specifik diagnostik av monogent nedärvda sjukdomar. Analysen inriktas då på att påvisa eventuell förekomst av pappans anlag i provet för att kunna utesluta sjukdom hos fostret.

Metoden har använts för autosomt recessiva sjukdomar som kongenital binjurebarkshyperplasi,  $\beta$ -thalassemi, cystisk fibros, Lebers kongenitala amauros och propionsyra-acidemi [53–57]. Den har även använts för autosomt dominant nedärvda sjukdomar som Huntingtons sjukdom, akondroplasi och dystrofia myotonica [58–60], samt för X-kromosombunden sjukdom som X-bunden retinitis pigmentosa [61].

### **Framtiden**

Framtidens fosterdiagnostik kommer att präglas av flera utvecklingslinjer. Analyserna kommer att utföras tidigare under graviditeten, mängden biologiskt material som behövs för analysen kommer att minska och upplösningen av detaljer kommer att öka. Förutom blodgrupps- och könsbestämning kommer annan sjukdomsdiagnostik baserad på NIPD för enstaka gener eller större kromosomavvikelse att kunna införas. I en nära framtid kommer det foster-DNA som finns i den gravida kvinnans blod att kunna ge information om fostrets hela DNA-uppsättning. Detta är tekniskt möjligt redan idag [62] men steget till klinisk användning kommer att ta tid.

Provtagningen vid NIPD är enkel eftersom det endast är fråga om ett blodprov och de volymer som krävs för analysen är små. Det kan för vissa analyser eventuellt räcka med att den gravida kvinnan droppar lite blod på ett läskapper och skickar det till ett laboratorium. Redan idag erbjuds könsbestämning via privata företag på internet. Beslutet om att avstå från eller göra fosterdiagnostik ska byggas på ett självständigt beslut fattat av den gravida kvinnan i samråd med hennes partner. Detta förutsätter att de får saklig information som ger dem tillräcklig kunskap för att fatta ett välinformerat beslut, oavsett om analysen utförs av offentliga eller privata aktörer. Se även analysen från Statens medicinsk-etiska råd (SMER) [49].

**Tabell 4** Evidensgradering enligt GRADE av resultat för RhD-blodgruppsbestämning och könsbestämning med NIPD, analys av foster-DNA.

Effektmått	Antal studier, antal analyser	Kommentar	Vetenskapligt underlag
Överensstämmelse och/eller sensitivitet och specificitet	<i>RhD-blodgruppsbestämning</i> 6 diagnostiska studier Cirka 4 500 analyser	-1 för studiekvalitet	Måttligt starkt (⊕⊕⊕○)
Sensitivitet och specificitet	<i>Könsbestämning</i> 3 diagnostiska studier Cirka 1 100 analyser	-2 för studiekvalitet	Begränsat (⊕⊕○○)

## Metod för den systematiska litteraturgenomgången

### Litteratursökning och urval av studier

Litteratursökning har utförts i databaserna PubMed, Cochrane Library och Embase t o m november 2010. För en mer detaljerad beskrivning av vilka söktermer och begränsningar som använts, se Bilaga 1 på [www.sbu.se/201107](http://www.sbu.se/201107). Förutom sökningar i databaser har referenslistor granskats i relevanta arbeten.

I enlighet med SBU:s metodik granskades de abstraktlistor som genererades vid databassökningen i detta projekt av de sakkunniga oberoende av varandra. De studier som minst en av de sakkunniga bedömde som relevanta för frågeställningarna rekvirerades i fulltext. De studier som vid granskning i fulltext inte visade sig uppfylla inklusionskriterierna eller bedömdes ha låg studiekvalitet exkluderades. För de frågor där inga studier av medelhög eller hög kvalitet kunde identifieras inkluderades även studier av låg kvalitet.

### Kvalitetsgranskning

Studiekvalitet avser den vetenskapliga kvaliteten hos en enskild studie och dess förmåga att besvara en viss fråga på ett tillförlitligt sätt. Som stöd för bedömningen användes granskningsmallar och studierna graderades med måtten hög, medelhög eller låg studiekvalitet. Data från studierna infördes i en tabell tillsammans med bedömd studiekvalitet samt eventuella kommentarer.

En studie av medelhög eller hög kvalitet uppfyller följande kriterier:

- är prospektiv
- har konsekutivt rekryterade patienter
- har flödet av prover angivet
- har redovisat bortfall; t ex inkonklusiva analyser, maternella *RHD*-gener, saknar referensprov
- har besvarat QUADAS fråga 8 och 9 med "Ja" (Q8. "Was the execution of the index test described in sufficient detail to permit its replication?", Q9. "Was the execution of the reference standard described in sufficient detail to permit its replication?")
- har en beslutsmall för tolkning av resultat
- har sensitivitet och specificitet beräknat på ursprungspopulationen, eller detta kan beräknas med uppgifter från artikeln.

### Evidensgradering

Evidensstyrkan är en bedömning av hur starkt det sammanlagda vetenskapliga underlaget är för att besvara en viss fråga på ett tillförlitligt sätt. SBU tillämpar det internationellt utarbetade evidensgraderingssystemet GRADE [63]. Evidensstyrkan graderas i fyra nivåer (se sidan 2). Ju starkare evidens desto mindre sannolikt är det att redovisade resultat kommer att påverkas av nya forskningsrön inom överblickbar framtid.

### 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 och kan rekvireras från SBU (Box 3657, 103 59 Stockholm, eller e-post: [registrator@sbu.se](mailto:registrator@sbu.se)). SBU har på detta underlag bedömt att jäv inte föreligger.

## Ordlista

### Aneuploidi

Aneuploidi innebär en avvikelse av antalet kromosomer från det normala hos en individ, vilket i regel orsakar sjukdom. Människan är diploid, dvs har dubbla kromosomuppsättningar, och varje avvikelse från detta innebär aneuploidi.

### Arvsanlag

Gen.

### Autosomal

De 22 kromosompar, totalt 44 kromosomer, som inte är könskromosomer kallas autosomer. Om arvsanlaget för sjukdomen sitter på dessa kromosomer, autosomerna, är sjukdomen *autosomal*.

### Autosomalt dominant

Ett dominant anlag innebär att det för vissa egenskaper/sjukdomar räcker med att en individ har ärvt arvsanlaget från den ena föräldern för att egenskapen ska visa sig.

### Autosomalt recessivt

Ett recessivt anlag innebär att en individ behöver ha fått arvsanlaget från båda föräldrarna för att egenskapen/sjukdomen ska visa sig.

### Blodplasma

Blodplasma, eller enbart *plasma*, är det som återstår av blodet när alla celler har avlägsnats. Blodplasma består till 90 procent av vatten. I blodplasman finns även speciella plasmaproteiner med olika funktioner.

### cff-DNA

cff-DNA, förkortning av engelskans *cell-free fetal DNA*, cellfritt foster-DNA. Hos den gravida kvinnan finns fritt DNA i blodplasman, varav 3–10 procent är DNA från fostret.

### DNA

DNA, förkortning av engelskans *deoxyribonucleic acid*, deoxiribonukleinsyra är det kemiska ämne som bär den genetiska informationen.

### Exon

De delar av arvsanlaget (genen) som utgör koden för det slutgiltiga proteinet.

### Falskt negativ

Felaktigt utfall av ett diagnostiskt test för en viss sjukdom eller egenskap. Falskt negativ betyder att testet utföll normalt/negativt, trots att individen hade sjukdomen/egenskapen.

### Falskt positiv

Felaktigt utfall av ett diagnostiskt test för en viss sjukdom eller egenskap. Falskt positiv betyder att testet utföll onormalt/positivt trots att individen inte hade sjukdomen/egenskapen.

### Fenotyp

Fenotypen är vilken egenskap som helst hos en organism som är lätt att observera (till exempel fysiologisk eller beteendemässig) och som bestäms av ett samspel mellan genotyp och miljö. Såväl könet som blodgruppsegenskaper är dock så gott som helt genetiskt styrda.

### Genetisk markör

Ett avsnitt av arvsmassan som används för att identifiera t ex en gen eller kromosom.

### Genotyp

Genotypen är en individs exakta genetiska egenskaper (dess genom).

### Monogen

Sjukdomar som beror på en enda gen kallas monogena avvikelser.

### NIPD

NIPD, förkortning av engelskans *non-invasive prenatal diagnosis*, dvs icke-invasiv fosterdiagnostik. Analys av foster-DNA i gravida kvinnors blod eller plasma är en sådan metod.

### Rh-antigen

Inom Rh-systemet finns över 50 olika Rh-antigen. RhD-antigenet är det absolut viktigaste. I Sverige har ungefär 85 procent av befolkningen RhD-positiv blodgrupp. Cirka 15 procent av befolkningen har RhD-negativ blodgrupp och saknar RhD-proteinet. De viktigaste Rh-antigenen efter RhD är RhC, Rhc, RhE och Rhe, som förekommer på RhCE-proteinet.

### RhD-immuniserad

En RhD-immuniserad kvinna har, under en tidigare eller aktuell graviditet eller en blodtransfusion, bildat antikroppar mot ett RhD-positivt fosters blodgruppsantigen. Kvinnans antikroppar kan under en graviditet förstöra röda blodkroppar hos ett RhD-positivt foster, vilket kan vara livshotande för fostret, oftast med ökande allvarlighetsgrad efter fler graviditeter.

### Sensitivitet

Andelen sjuka/positiva som metoden identifierar korrekt.

### Specificitet

Andelen friska/negativa som metoden identifierar korrekt.

### Trimester

Trimester, en tidsperiod om cirka tre månader som traditionellt används i samband med kvinnans graviditet. En graviditet består av första, andra och tredje trimestern.

### Vanishing twin

Ett av fostren i en tvillinggraviditet som har dött mycket tidigt i graviditeten och kan ha lämnat genetiska spår, vilka ibland kan påvisas vid fosterdiagnostik.

### X-kromosombunden sjukdom

När den gen som orsakar sjukdomen sitter på X-kromosomen.

### Referenser

- Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350(9076):485-7.
- Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med* 1998;339(24):1734-8.
- Legler TJ, Liu Z, Mavrou A, Finning K, Hromadnikova I, Galbiati S, et al. Workshop report on the extraction of foetal DNA from maternal plasma. *Prenat Diagn* 2007;27(9):824-9.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985;230(4732):1350-4.
- Bennett PR, Le Van Kim C, Colin Y, Warwick RM, Chérif-Zahar B, Fisk NM, et al. Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. *N Engl J Med* 1993;329(9):607-10.
- Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusion* 2002;42(8):1079-85.
- Singleton BK, Green CA, Avent ND, Martin PG, Smart E, Daka A, et al. The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in africans with the Rh D-negative blood group phenotype. *Blood* 2000;95(1):12-8.
- Daniels G, van der Schoot CE, Olsson ML. Report of the First International Workshop on molecular blood group genotyping. *Vox Sang* 2005;88(2):136-42.
- Wright CF, Burton H. The use of cell-free fetal nucleic acids in maternal blood for non-invasive prenatal diagnosis. *Hum Reprod Update* 2009;15(1):139-51.
- Pilgrim H, Lloyd-Jones M, Rees A. Routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2009;13(10):iii, ix-xi, 1-103.
- Brojer E, Zupanska B, Guz K, Orzińska A, Kalińska A. Noninvasive determination of fetal RHD status by examination of cell-free DNA in maternal plasma. *Transfusion* 2005;45(9):1473-80.
- Cardo L, García BP, Alvarez FV. Non-invasive fetal RHD genotyping in the first trimester of pregnancy. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(8):1121-6.
- Costa JM, Giovangrandi Y, Ernault P, Lohmann L, Nataf V, El Halali N, et al. Fetal RHD genotyping in maternal serum during the first trimester of pregnancy. *Br J Haematol* 2002;119(1):255-60.
- Gautier E, Benachi A, Giovangrandi Y, Ernault P, Olivi M, Gaillon T, et al. Fetal RhD genotyping by maternal serum analysis: A two-year experience. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192(3):666-9.
- Grill S, Banzola I, Li Y, Rekhviashvili T, Legler TJ, Müller SP, et al. High throughput non-invasive determination of foetal Rhesus D status using automated extraction of cell-free foetal DNA in maternal plasma and mass spectrometry. *Arch Gynecol Obstet* 2009;279(4):533-7.
- Randen I, Hauge R, Kjeldsen-Kragh J, Fagerhol MK. Prenatal genotyping of RHD and SRY using maternal blood. *Vox Sang* 2003;85(4):300-6.
- Rouillac-Le Sciellour C, Sérazin V, Brossard Y, Oudin O, Le Van Kim C, Colin Y, et al. Noninvasive fetal RHD genotyping from maternal plasma. Use of a new developed Free DNA Fetal Kit RhD. *Transfus Clin Biol* 2007;14(6):572-7.
- Chinen PA, Nardoza LM, Martinhago CD, Camano L, Daher S, Pares DB, et al. Noninvasive determination of fetal rh blood group, D antigen status by cell-free DNA analysis in maternal plasma: experience in a Brazilian population. *Am J Perinatol* 2010;27(10):759-62.
- Finning K, Martin P, Summers J, Massey E, Poole G, Daniels G. Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant women: prospective feasibility study. *BMJ* 2008;336(7648):816-8.

20. Hyland CA, Gardener GJ, Davies H, Ahvenainen M, Flower RL, Irwin D, et al. Evaluation of non-invasive prenatal RHD genotyping of the fetus. *Med J Aust* 2009;191(1):21-5.
21. Minon JM, Gerard C, Senterre JM, Schaaps JP, Foidart JM. Routine fetal RHD genotyping with maternal plasma: a four-year experience in Belgium. *Transfusion* 2008;48(2):373-81.
22. Müller SP, Bartels I, Stein W, Emons G, Gutensohn K, Köhler M, et al. The determination of the fetal D status from maternal plasma for decision making on Rh prophylaxis is feasible. *Transfusion* 2008;48(11):2292-301.
23. Rouillac-Le Sciellour C, Puillandre P, Gillot R, Baulard C, Metral S, Le Van Kim C, et al. Large-scale pre-diagnosis study of fetal RHD genotyping by PCR on plasma DNA from RhD-negative pregnant women. *Mol Diagn* 2004;8(1):23-31.
24. Finning K, Martin P, Summers J, Daniels G. Fetal genotyping for the K (Kell) and Rh C, c, and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Transfusion* 2007;47(11):2126-33.
25. Gutensohn K, Müller SP, Thomann K, Stein W, Suren A, Körtge-Jung S, et al. Diagnostic accuracy of noninvasive polymerase chain reaction testing for the determination of fetal rhesus C, c and E status in early pregnancy. *BJOG* 2010;117(6):722-9.
26. Bustamante-Aragones A, Rodriguez de Alba M, Gonzalez-Gonzalez C, Trujillo-Tiebas MJ, Diego-Alvarez D, Vallespin E, et al. Foetal sex determination in maternal blood from the seventh week of gestation and its role in diagnosing haemophilia in the fetuses of female carriers. *Haemophilia* 2008;14(3):593-8.
27. Costa JM, Benachi A, Gautier E, Jouannic JM, Ernault P, Dumez Y. First-trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR. *Prenat Diagn* 2001;21(12):1070-4.
28. Cremonesi L, Galbiati S, Foglieni B, Smid M, Gambini D, Ferrari A, et al. Feasibility study for a microchip-based approach for noninvasive prenatal diagnosis of genetic diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1022:105-12.
29. Galbiati S, Smid M, Gambini D, Ferrari A, Restagno G, Viora E, et al. Fetal DNA detection in maternal plasma throughout gestation. *Hum Genet* 2005;117(2-3):243-8.
30. Lapaire O, Volgmann T, Huang D, Hahn S, Holzgreve W, Zhong XY. Maternal smoking: effect on circulating cell-free fetal and total DNA levels in maternal plasma from the second trimester. *Obstet Gynecol* 2007;110(6):1358-63.
31. Nygren AO, Dean J, Jensen TJ, Kruse S, Kwong W, van den Boom D, et al. Quantification of fetal DNA by use of methylation-based DNA discrimination. *Clin Chem* 2010;56(10):1627-35.
32. Picchiassi E, Coata G, Fanetti A, Centra M, Pennacchi L, Di Renzo GC. The best approach for early prediction of fetal gender by using free fetal DNA from maternal plasma. *Prenat Diagn* 2008;28(6):525-30.
33. Ren CC, Miao XH, Cheng H, Chen L, Song WQ. Detection of fetal sex in the peripheral blood of pregnant women. *Fetal Diagn Ther* 2007;22(5):377-82.
34. Sekizawa A, Kondo T, Iwasaki M, Watanabe A, Jimbo M, Saito H, et al. Accuracy of fetal gender determination by analysis of DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2001;47(10):1856-8.
35. Tungwiwat W, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya K. Accuracy of fetal gender detection using a conventional nested PCR assay of maternal plasma in daily practice. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2008;48(5):501-4.
36. Akolekar R, Farkas DH, VanAgtmael AL, Bombard AT, Nicolaides KH. Fetal sex determination using circulating cell-free fetal DNA (ccffDNA) at 11 to 13 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2010;30(10):918-23.
37. Hill M, Finning K, Martin P, Hogg J, Meaney C, Norbury G, et al. Non-invasive prenatal determination of fetal sex: translating research into clinical practice. *Clin Genet* 2011;80(1):68-75.
38. Scheffer PG, van der Schoot CE, Page-Christiaens GC, Bossers B, van Erp F, de Haas M. Reliability of fetal sex determination using maternal plasma. *Obstet Gynecol* 2010;115(1):117-26.
39. Quill E. Blood-matching goes genetic. *Science* 2008;319(5869):1478-9.
40. Crowther CA, Middleton P. Anti-D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 1999, Issue 2. Art. No.: CD000020. DOI: 10.1002/14651858.CD000020.
41. Sundhedsstyrelsen. Anbefalinger for svangreomsorgen. København: Sundhedsstyrelsen; 2009.
42. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(42):16266-71.
43. Tong YK, Jin S, Chiu RW, Ding C, Chan KC, Leung TY, et al. Noninvasive prenatal detection of trisomy 21 by an epigenetic-genetic chromosome-dosage approach. *Clin Chem* 2010;56(1):90-8.
44. Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, Leung TY, Sun H, Chan KC, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *BMJ* 2011;342:c7401.
45. Tsui NB, Kadir RA, Chan KC, Chi C, Mellars G, Tuddenham EG, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of hemophilia by microfluidics digital PCR analysis of maternal plasma DNA. *Blood* 2011;117(13):3684-91.
46. Chiu RW, Chan KC, Gao Y, Lau VY, Zheng W, Leung TY, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(51):20458-63.
47. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Analysis of the size distributions of fetal and maternal cell-free DNA by paired-end sequencing. *Clin Chem* 2010;56(8):1279-86.
48. Statens medicinsk-etiska råd (SMER). Yttrande om etiska frågor kring fosterdiagnostik, 2006-11-06. [www.smer.se](http://www.smer.se)
49. Statens medicinsk-etiska råd (SMER). Fosterdiagnostik – Etisk analys för diagnostik med foster-DNA, september 2011. [www.smer.se](http://www.smer.se)
50. Scheffer P, van der Schoot C, Page-Christiaens G, de Haas M. Noninvasive fetal blood group genotyping of rhesus D, c, E and of K in alloimmunised pregnant women: evaluation of a 7-year clinical experience. *BJOG* 2011;118(11):1340-8.
51. Foster PR, McIntosh RV, Welch AG. Hepatitis C infection from anti-D immunoglobulin. *Lancet* 1995;346(8971):372.
52. Dhallan R, Guo X, Emche S, Damewood M, Bayliss P, Cronin M, et al. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study. *Lancet* 2007;369(9560):474-81.
53. Bustamante-Aragones A, Pérez-Cerdá C, Pérez B, de Alba MR, Ugarte M, Ramos C. Prenatal diagnosis in maternal plasma of a fetal mutation causing propionic acidemia. *Mol Genet Metab* 2008;95(1-2):101-3.
54. Bustamante-Aragones A, Vallespin E, Rodriguez de Alba M, Trujillo-Tiebas MJ, Gonzalez-Gonzalez C, Diego-Alvarez D, et al. Early noninvasive prenatal detection of a fetal CRB1 mutation causing Leber congenital amaurosis. *Mol Vis* 2008;14:1388-94.
55. Chiu RW, Lau TK, Cheung PT, Gong ZQ, Leung TN, Lo YM. Noninvasive prenatal exclusion of congenital adrenal hyperplasia by maternal plasma analysis: a feasibility study. *Clin Chem* 2002;48(5):778-80.
56. Chiu RW, Lau TK, Leung TN, Chow KC, Chui DH, Lo YM. Prenatal exclusion of beta thalassaemia major by examination of maternal plasma. *Lancet* 2002;360(9338):998-1000.
57. González-González MC, García-Hoyos M, Trujillo MJ, Rodríguez de Alba M, Lorda-Sánchez I, Díaz-Recasens J, et al. Prenatal detection of a cystic fibrosis mutation in fetal DNA from maternal plasma. *Prenat Diagn* 2002;22(10):946-8.
58. Amicucci P, Gennarelli M, Novelli G, Dallapiccola B. Prenatal diagnosis of myotonic dystrophy using fetal DNA obtained from maternal plasma. *Clin Chem* 2000;46(2):301-2.
59. González-González MC, Trujillo MJ, Rodríguez de Alba M, Ramos C. Early Huntington disease prenatal diagnosis by maternal semiquantitative fluorescent-PCR. *Neurology* 2003;60(7):1214-5.

60. Saito H, Sekizawa A, Morimoto T, Suzuki M, Yanaiharu T. Prenatal DNA diagnosis of a single-gene disorder from maternal plasma. *Lancet* 2000;356(9236):1170.
61. Bustamante-Aragones A, Garcia-Hoyos M, Rodriguez De Alba M, Gonzalez-Gonzalez C, Lorda-Sanchez I, Diego-Alvarez D, et al. Detection of a paternally inherited fetal mutation in maternal plasma by the use of automated sequencing. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1075:108-17.
62. Lo YM, Chan KC, Sun H, Chen EZ, Jiang P, Lun FM, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2010;2(61):61ra91.
63. Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, et al. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008;336(7650):924-6.

### SBU utvärderar sjukvårdens metoder

SBU, Statens beredning för medicinsk utvärdering, är en statlig myndighet som utvärderar hälso- och sjukvårdens metoder. SBU analyserar metodernas nytta, risker och kostnader och jämför vetenskapliga fakta med svensk vårdpraxis. Målet är att ge ett bättre beslutsunderlag för alla som avgör hur vården ska utformas.

SBU Alert-rapporterna tas fram i samarbete med sakkunniga inom respektive ämnesområde, Socialstyrelsen, Läkemiddelsverket och Sveriges Kommuner och Landsting samt med en särskild rådsgrupp (Alerträdet).

Denna utvärdering publicerades år 2011. 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, begränsat eller motstridigt.

SBU Alert-rapport 2011-07 • ISSN 1652-7151 (webb)  
 Rapporten kan beställas från SBU:  
 Internet: [www.sbu.se](http://www.sbu.se) • Telefon: 08-412 32 00

### Alerträdet

Jan-Erik Johansson, Ordförande, Professor, Urologi  
 Christel Bahtsevani, Dr Med Vet, Omvårdnad  
 Lars Borgquist, Professor, Allmänmed, Hälsoekonomi  
 Bo Carlberg, Docent, Internmedicin  
 Jane Carlsson, Professor, Sjukgymnastik  
 Per Carlsson, Professor, Hälsoekonomi  
 Björn-Erik Erlandsson, Professor, Medicinsk teknik  
 Mårten Fernö, Professor, Experimentell onkologi  
 Lennart Iselius, Docent, Allmänkirurgi, Klinisk genetik (repr SKL)  
 Viveca Odling, Professor, Gynekologi (repr LV)  
 Anders Rydh, Docent, Med radiologi, Nuklearmedicin  
 Anders Tegnell, Med dr, Infektionssjukdomar (repr SoS)  
 Jan Wahlström, Professor emeritus, Klinisk genetik  
 Anna Åberg Wistedt, Professor, Psykiatri

### SBU:s nämnds arbetsutskott

Susanna Axelsson, David Bergqvist, Håkan Ceder,  
 Tove Livered, Jan Liliemark, Nina Rehnqvist,  
 Måns Rosén, Ewalotte Ränzlöv och Sofia Tranæus.

Ansvarig utgivare: Måns Rosén, Direktör SBU  
 Programchef: Sofia Tranæus, SBU  
 Grafisk produktion: Anna Edling, SBU