Xét nghiệm trước sinh
Sàng lọc hội chứng Down

Dr Farid Hadi

Regional Medical Affairs

Roche Diagnostics Asia-Pacific, Singapore

Tuyên bố về xung đột lợi ích

Các ý kiến và nội dung trình bày là quan điểm chuyên môn của BS Farid Hadi và không phản ánh ý kiến của nhà tuyển dụng

Harmony là xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT) dựa trên phân tích cell-free DNA và được xem là xét nghiệm sàng lọc trước sinh, không la xét nghiệm chẩn đoán. Harmony không sàng lọc về các điều kiện nhiễm sắc thể hoặc di truyền tiềm năng khác với những gì được xác định rõ ràng trong tài liệu này. Trước khi ra bất cứ quyết định điều trị nào , tất cả thai phụ nên thảo luận kết quả của họ với nhân viên y tế là những người có thể đề nghị các xét nghiệm khẳng định , chẩn đoán phù hợp.

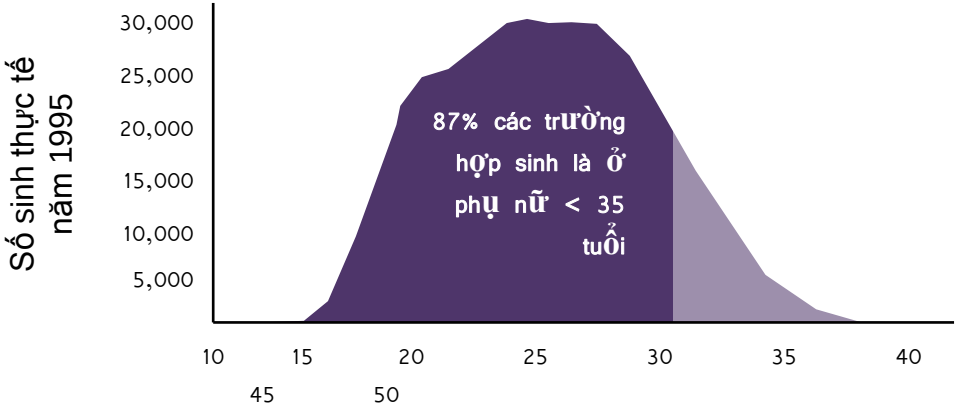
HARMONY và HARMONY và Design là thương hiệu của Ariosa Diagnostics, Inc. ở Mỹ . HARMONY là thương hiệu của Roche ở các nước khác . Tất cả các thương hiệu khác là tài sản của chủ sở hữu tương ứng. .
Xét nghiệm tiền sản Harmony được phát triển, và đặc tính kỹ thuật được xác định bởi Ariosa Diagnostics, Phòng xét nghiệm được công nhận về CLIA và CAP tại San Jose, CA USA. Xét nghiệm này chưa được công nhận tại US.

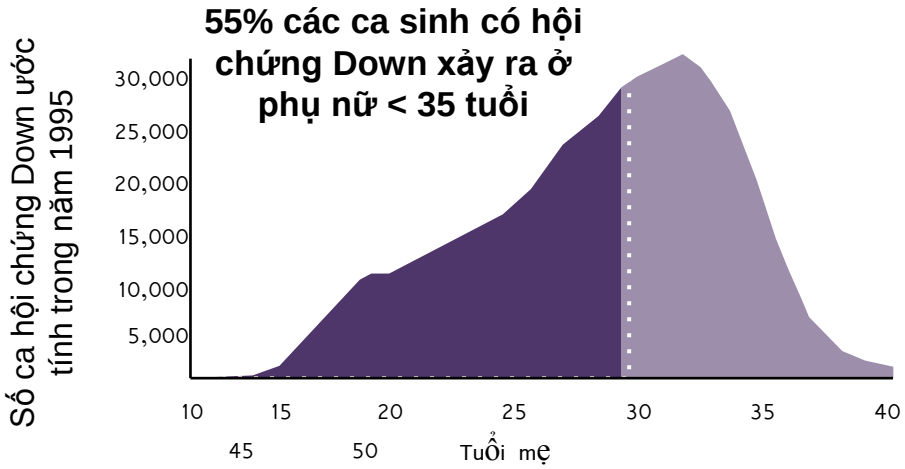
DESPERATE HOUSEWIVES

Eva's heroes

interact • grow • learn • love

Tầm quan trọng của sàng lọc trước sinh





Đa số các trẻ bị Down có mẹ < 35 tuổi

Cần một chiến lược sàng lọc hiệu quả cho **tất cả thai phụ**

The California Prenatal Screening Program. March 2009. *Provider Handbook 2009.* Retrieved from www.cdph.ca.gov/programs/pns

Các hướng dẫn chuyên môn

Đối tượng cần sàng lọc hội chứng Down?

- **Đối tượng cần sàng lọc trước sinh:**
  - Tất cả các thai phụ nên được đề nghị làm sàng lọc thể lệch bội trước tuần thứ 20 của thai kỳ
  - Tất cả các thai phụ nên có lựa chọn làm xét nghiệm xâm lấn, bất kể tuổi mẹ
- **Đối tượng cần chẩn đoán trước sinh:**
  - Bào thai bị Trisomy ở lần mang thai trước
  - Có ít nhất 1 bất thường cấu trúc thai nhi chính hoặc 2 bất thường cấu trúc thai nhi phụ thtrong thai kì hiện tại
  - Chuyển đoạn, đảo đoạn NST hoặc lệch bội ở thai phụ hoặc người thân của thai phụ

American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician–Gynecologist. Number 163, May 2016.

Các phương pháp đánh giá Trisomy tiền sản

Xét nghiệm xâm lấn- chọc ối

- Quý 1: Sinh thiết gai nhau(CVS)
  - Tế bào/ mô từ nhau thai
  - **Nguy cơ xảy thai 0.5 – 2%**, nhiễm trùng và rỉ ối
- Quý 2: Chọc ối (an toàn hơn CVS)
  - Tế bào/ mô từ thai nhi (qua dịch ối)
  - **Nguy cơ xảy thai 0.3 – 1% và rỉ ối**
- Chọc dây rốn
  - Lấy mẫu máu cuốn rốn (PUBS) từ tỉnh mạch rốn
  - **1 – 2% nguy cơ xảy thai**

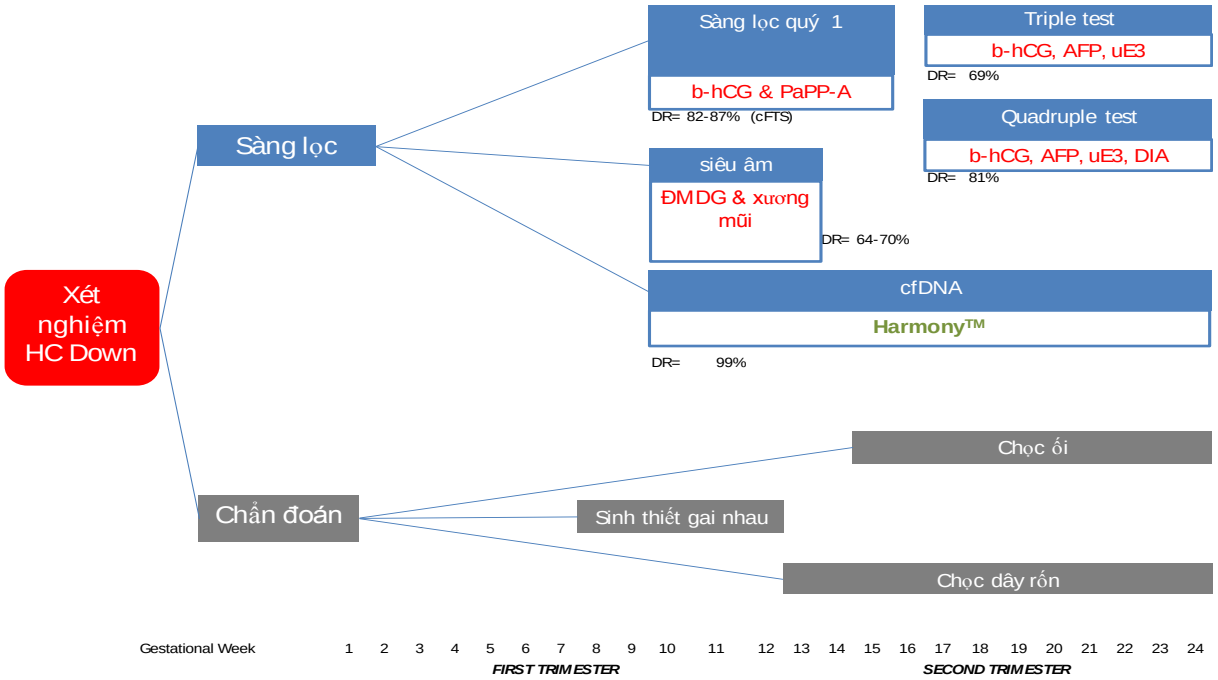
Tất cả mẫu máu đều được karyotype bởi PCR hoặc FISH

Độ nhạy/độ đặc hiệu ≥99%

Khoảng 1% nguy cơ xảy thai

Phương pháp đánh giá Trisomy tiền sản

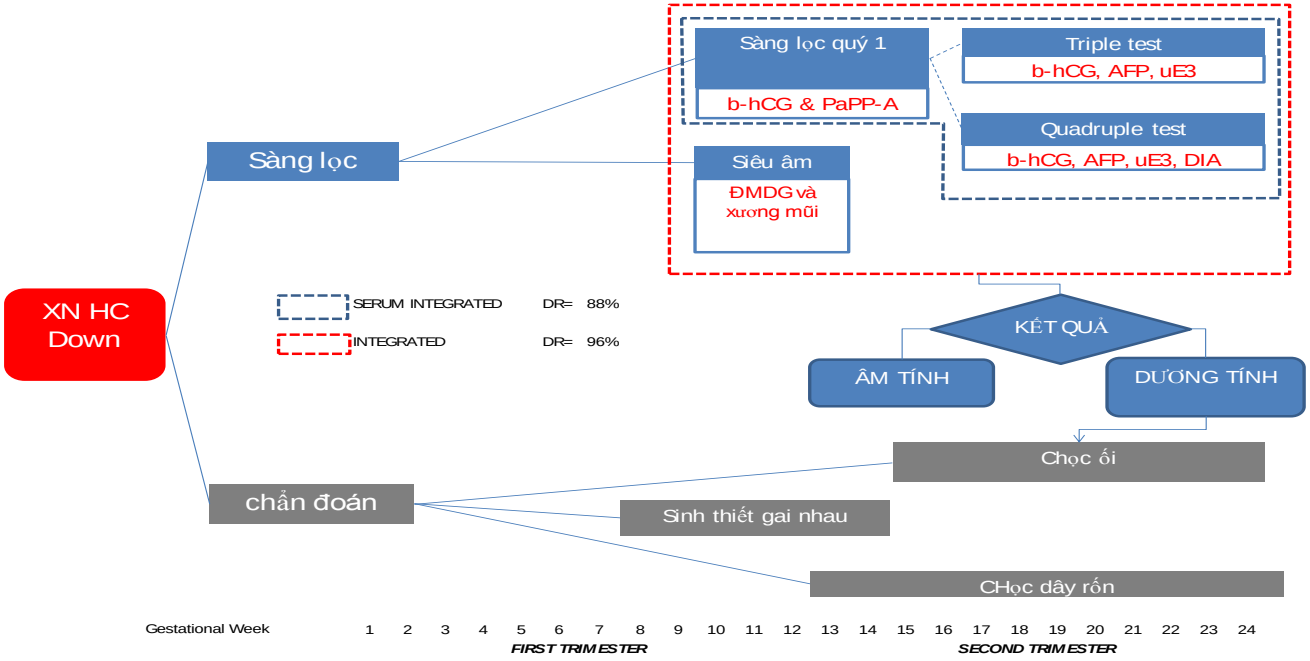
Xét nghiệm đơn



American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician–Gynecologist. Number 163, May 2016.

Phương pháp đánh giá Trisomy tiền sản

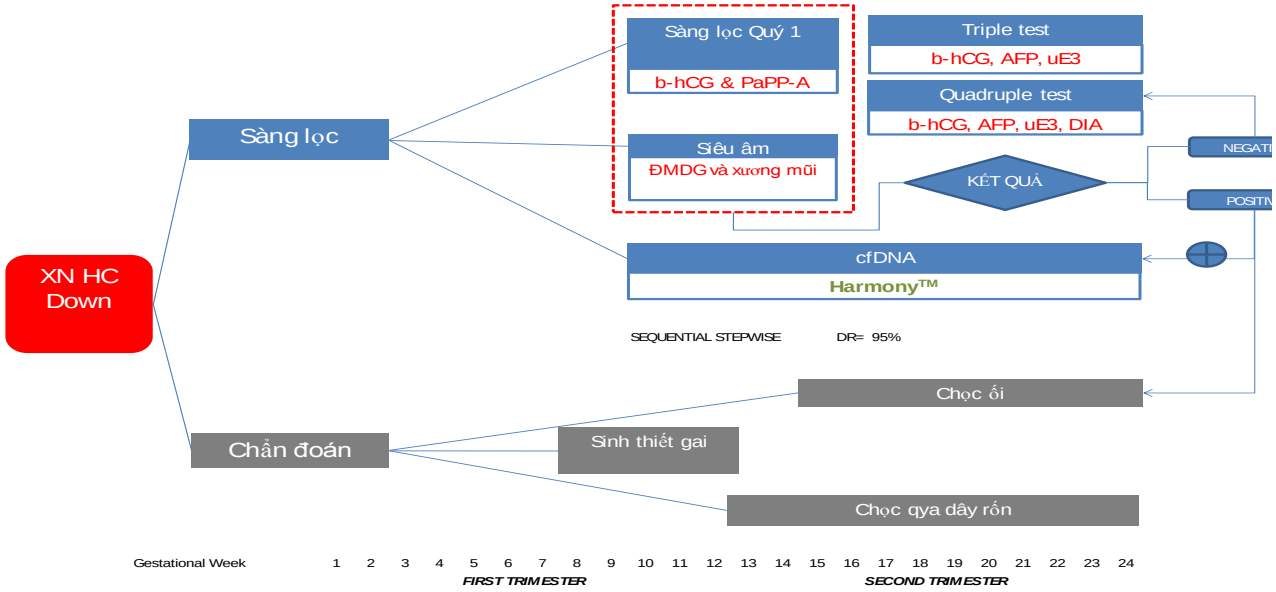
Các xét nghiệm kết hợp



American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician–Gynecologist. Number 163, May 2016.

Phương pháp đánh giá Trisomy tiền sản

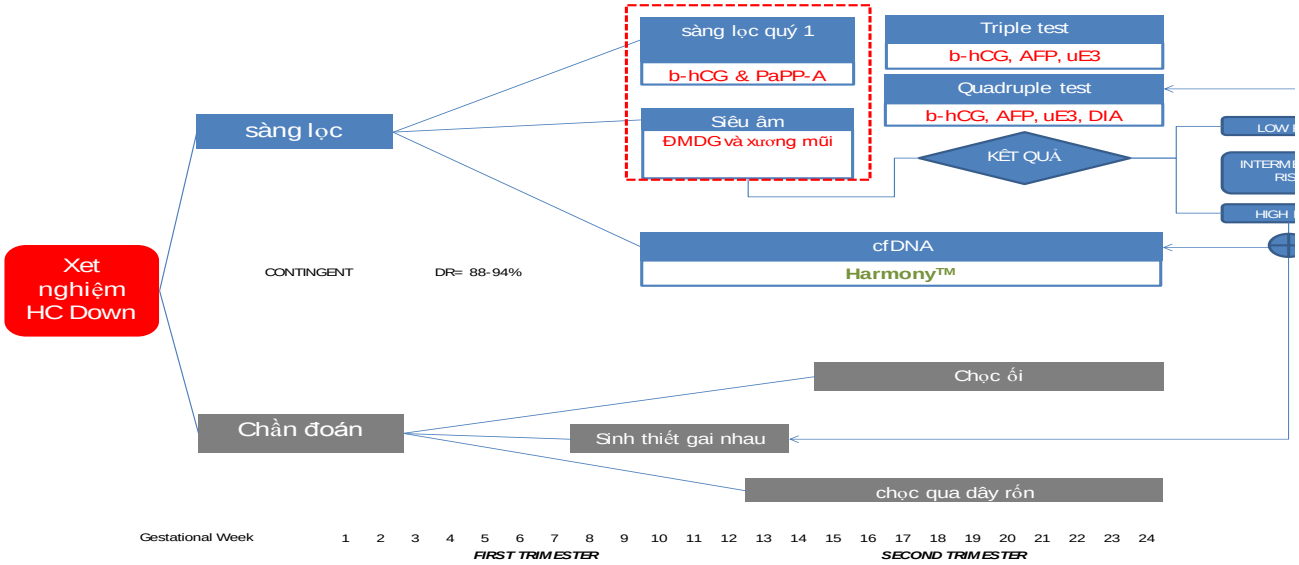
Các xét nghiệm từng bước kết hợp



American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician–Gynecologist. Number 163, May 2016.

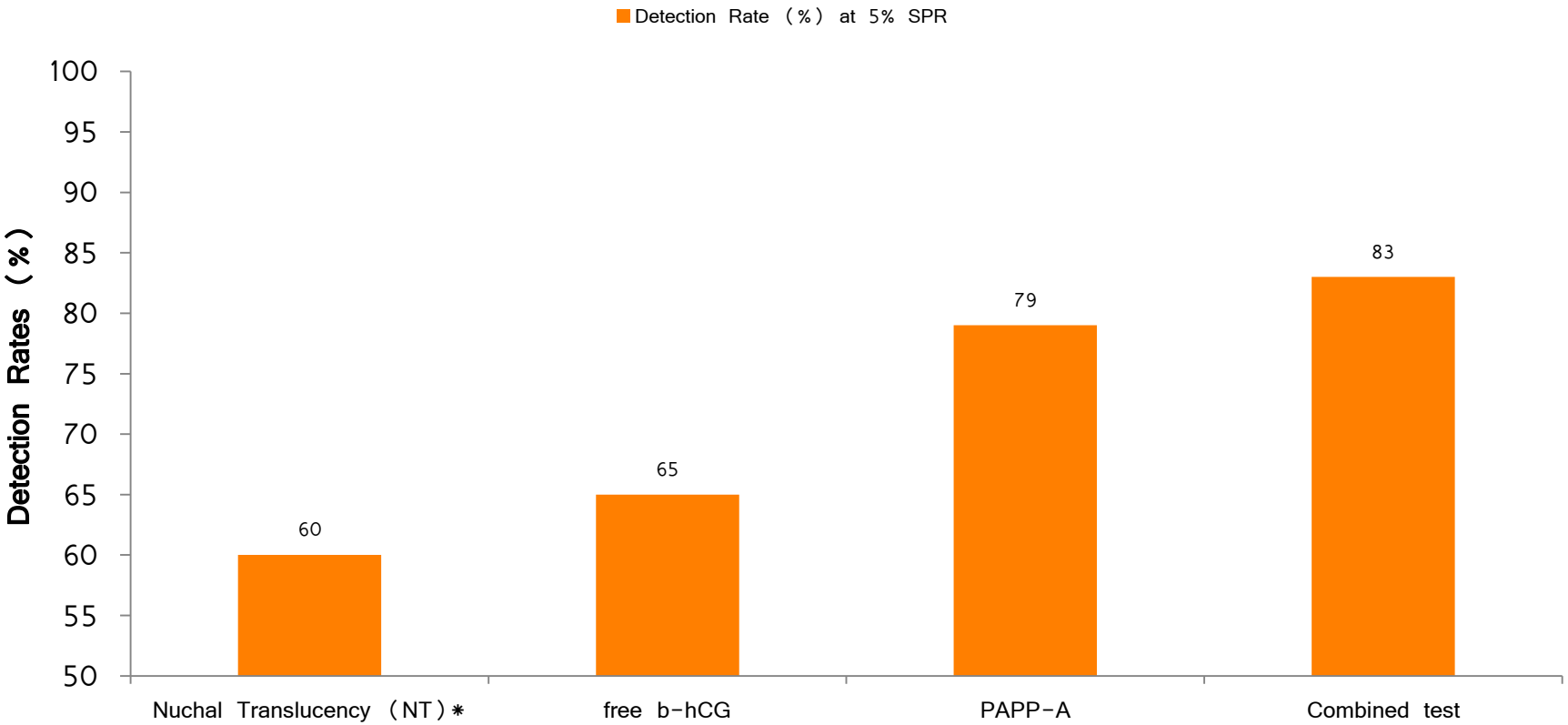
Phương pháp đánh giá Trisomy tiền sản

Các xét nghiệm dự phòng kết hợp



American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician–Gynecologist. Number 163, May 2016.

Biomarkers in First Trimesters



*) 10–13 completed weeks of gestation (without use of maternal age)

SPR= Screen Positive Rates

Wald NJ, et alFirst and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). Health Technology Assessment 2003; Vol. 7: No. 11

Tiến bộ trong sàng lọc Trisomy tiền sản

Maternal Age

1960s

Detection rate 27%

Gestational age N/A

Chromosomes screened: All

MSAFP

1980s

Detection rate 36%

Gestational age 15wk+

Chromosomes screened: T21

Quadruple Screen

1996

Detection rate 70-81%

Gestational age 15wk+

Chromosomes screened: T21, T18

Triple Screen

1988

Detection rate 60-74%

Gestational age 15w+

Chromosomes screened: T21, T18

FTS NT/Serum

1997

Detection rate 80-95%

Gestational age 10-11wk

Chromosomes screened: T21, T18, T13

NIPT Quantitative MPSS

2011

Detection rate 66-99%

Gestational age 10w+

Chromosomes screened: T21, T18, T13, SCA

NIPT SNP Microarray

2012

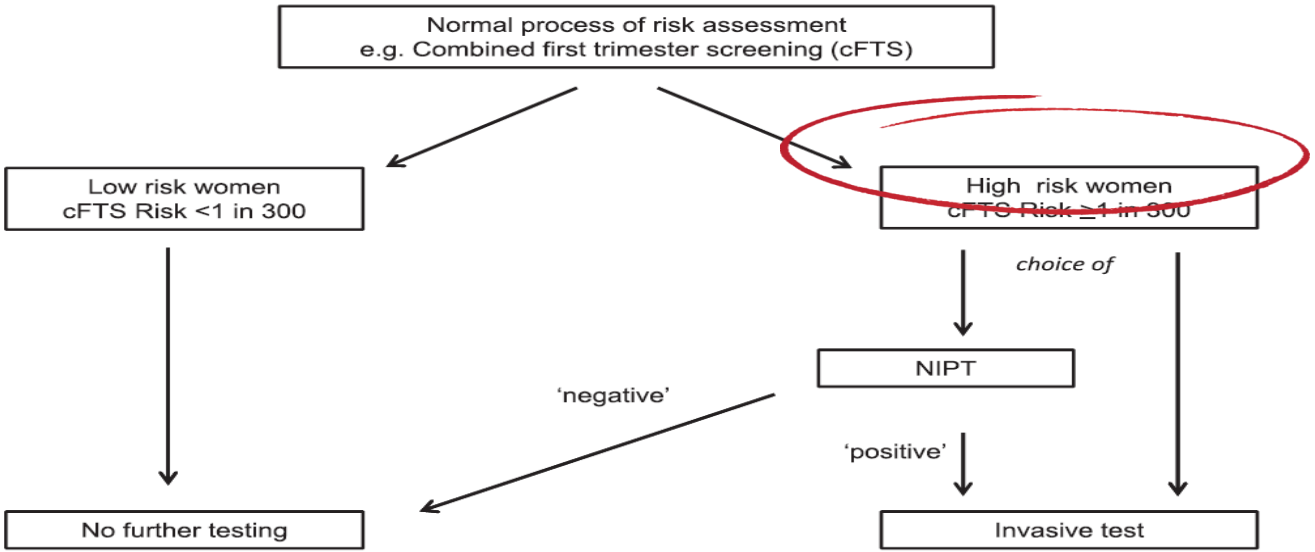
Detection rate 92-99%

Gestational age 9w+

Chromosomes screened: T21, T18, T13, SCA, Microdeletions

Mô hình dự phòng

Sàng lọc quý 1 & NIPT

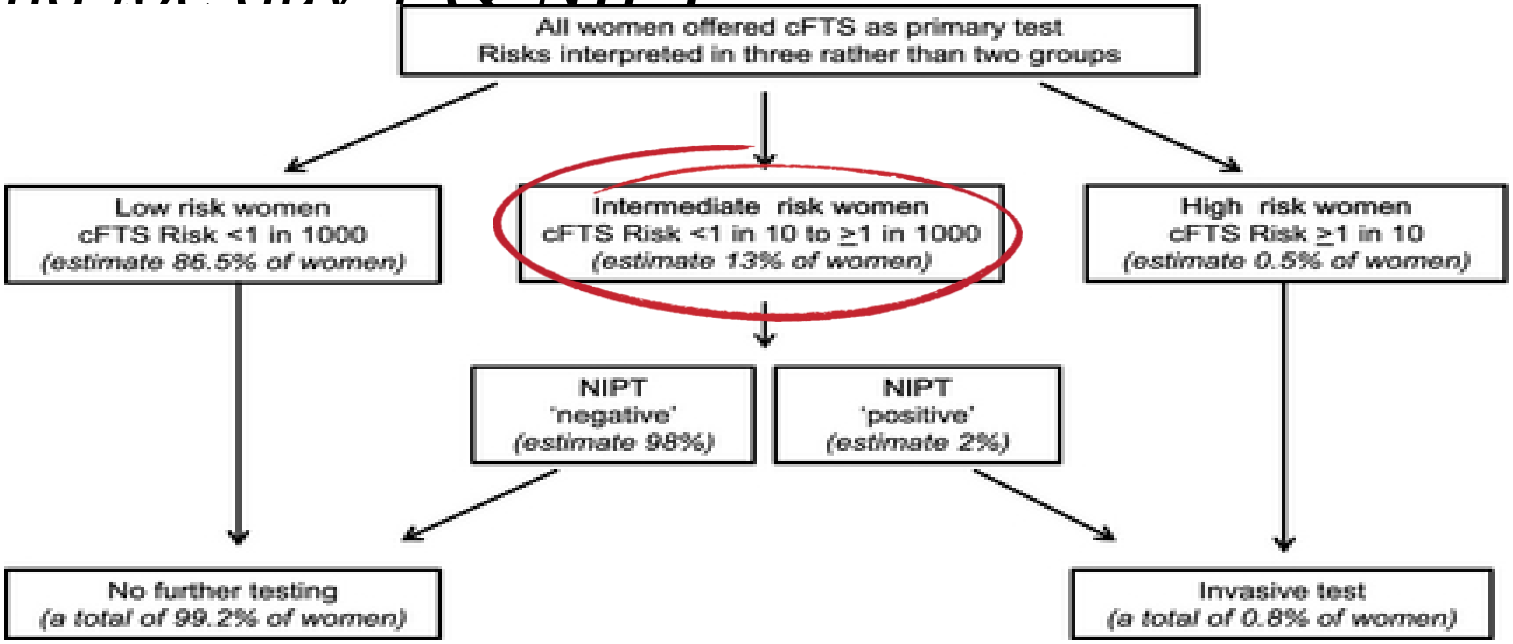


Thai phụ có nguy cơ cao được cung cấp qui trình đến NIPT hoặc chọn luôn phương pháp xâm lấn

Hui L and Hyett J. Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology 2013; 53: 416–424

Mô hình dự phòng

Sàng lọc quý 1 & NIPT



Mô hình dự phòng giúp giảm tỉ lệ làm Phương pháp xâm lấn

Hui L and Hyett J. Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology 2013; 53: 416–424

Các hướng dẫn

Tổng kết thông tin về NIPT

Organization	Policy	Year
ACMG	Khuyến nghị“ thông tin đến tất các các thai phụ rằng NIPT là lựa chọn có độ nhạy cao nhất để sàng lọc các thể lệch bội truyền thống”	2016
ACOG	“Bất kể thai phụ nào cũng có thể lựa chọn phân tích cfDNA như là xét nghiệm sàng lọc để phát hiện các thể lệch bội phổ biến bất kể tình trạng nguy cơ”	2015
ASHG THE AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS	“nhiều kịch bản có thể xảy ra, bao gồm cả NIPT là lựa chọn thay thế bước 1,”	2015
ISPD	“ Hướng dẫn dưới đây có thể được cân nhắc sử dụng hợp lý: 1. sàng lọc bước đầu bằng cfDNA áp dụng cho tất cả các thai phụ”	2015

Những hướng dẫn Chuyên nghiệp

Tổng kết các marker sinh hóa trong sàng lọc Hội chứng Down

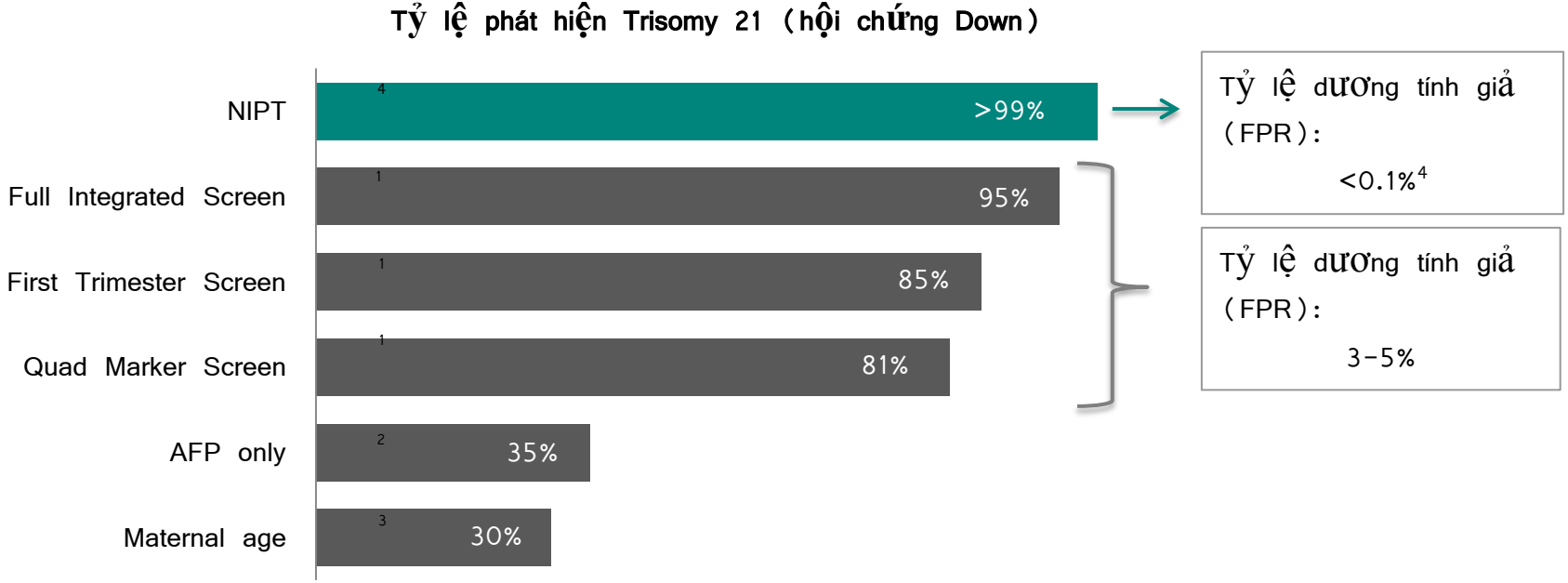
American College of Obstetricians and Gynecologists （ACOG）

- Kết hợp cả marker sinh hóa và đo độ mờ da gáy hiệu quả hơn nhiều so với chỉ đo độ mờ da gáy trong phát hiện Hội chứng Down
- Khi sàng lọc quý 1 dương tính: cung cấp tư vấn về di truyền và hoặc là chọn sinh thiết gai nhau hoặc chọc ối ở quý 2
- Huấn luyện chuyên biệt, chuẩn hóa việc đo NT là rất quan trọng
- Ngay cả khi đã sàng lọc quý 1 , cũng cần phải sàng lọc bất thường ống thần kinh ở quý 2.

The Fetal Medicine Foundation

- Tổ chức Y học bào thai khuyến khích sàng lọc HC Down ở $11-13^{+6}$ tuần bởi độ dày da gáy （NT）hoặc kết hợp NT và marker sinh hóa máu mẹ.
- Sự kết hợp của NT và free ßhCG và PAPP-A cải thiện tỉ lệ phát hiện đến 90%. Bằng chứng cho thấy tỉ lệ phát hiện 90% sẽ giúp giảm tỉ lệ dương tính giả từ 5% xuống 2.5% bởi đánh giá xương mũi.

Khả năng tầm soát mới: xét nghiệm trước sinh không xâm lấn



1. Ball et al. Obstet Gynecol. 2007 Jul;110(1):10-7. 2. Wald et al. BMJ. 1988 Oct 8;297(6653):883-7. 3. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, Sixth Edition. Nussbaum, McInnes, Huntington. Saunders, 2001. 4. Norton M, et al, N Engl J Med. 2015 Apr 23;372(17):1589-97.

Hạn chế của các phương pháp tầm soát truyền thống

1 trong 20 phụ nữ sẽ có kết quả ""dương tính""[1]:

Đại đa số sẽ là ""dương tính giả""[2]

Được chuyển đến BS chuyên khoa với nhiều lần thăm khám

Kéo dài sự lo lắng không cần thiết[3]

Nguy cơ sẩy thai với nhiều lựa chọn xét nghiệm chẩn đoán[4]

1. ACOG Practice Bulletin No. 77. Obstet Gynecol 2007;109:217-27. 2. Benn et al. Prenat Diagn. 2015 May 13. doi: 10.1002/pd.4608. [Epub ahead of print] 3. Acta Obstet Gynecol Scand. 2015 Jan;94(1):15-27.
4. Caughey et al. Obstet Gynecol 2006; 108(3 Pt 1): 612-6.

Hạn chế của các phương pháp tầm soát truyền thống

19 trong 20 thai phụ có kết quả “”âm tính””:

Nhưng một vài thai phụ trong số đó vẫn có nguy cơ thai nhi bị trisomy

(do tỷ lệ phát hiện 80-95%)

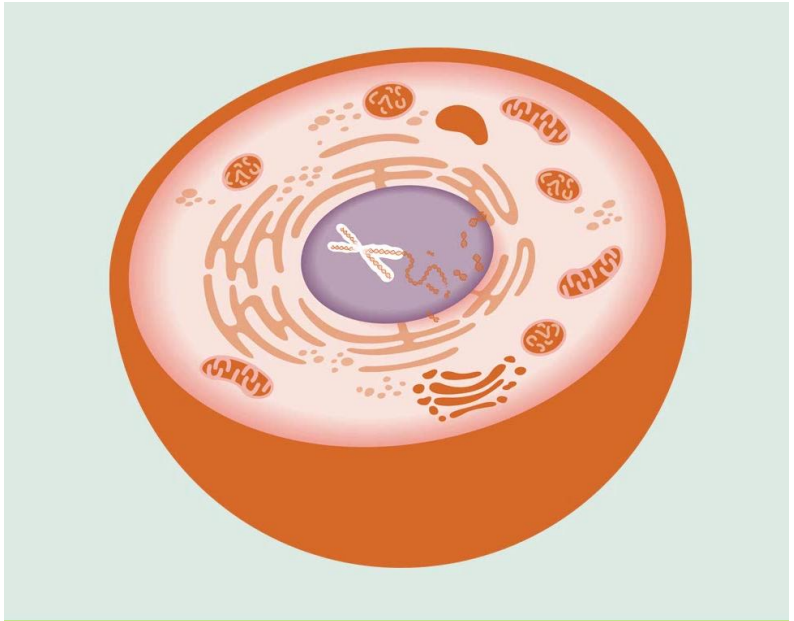
ACOG Practice Bulletin No. 77. Obstet Gynecol 2007;109:217-27.

Chúng đã mang những điều tốt đẹp nhất cho con chưa?

Picture was taken from http://www.ashacarlos.com/blog/2012/04/10/pui-family-portrait-session/ accessed on 18-Oct-16

Xét nghiệm trước sinh: cfDNA

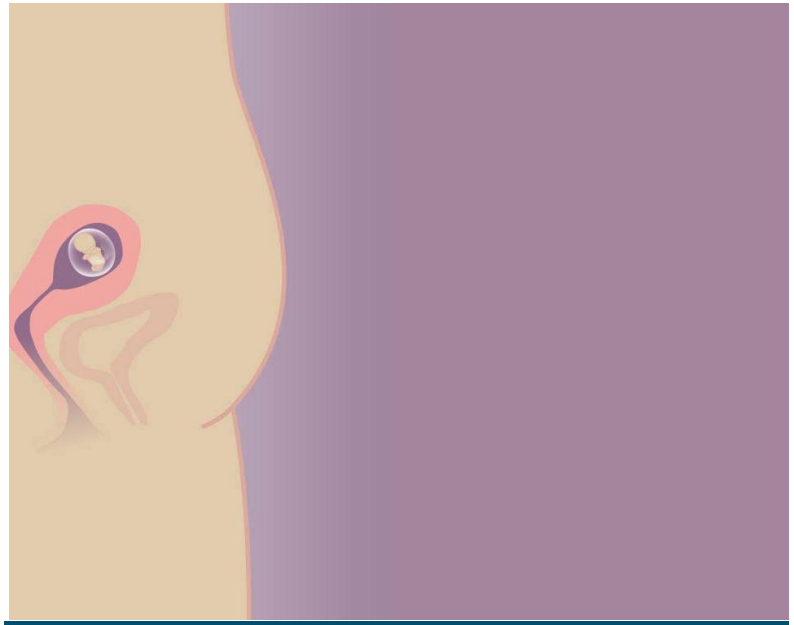
Standard Blood Draw



How it works

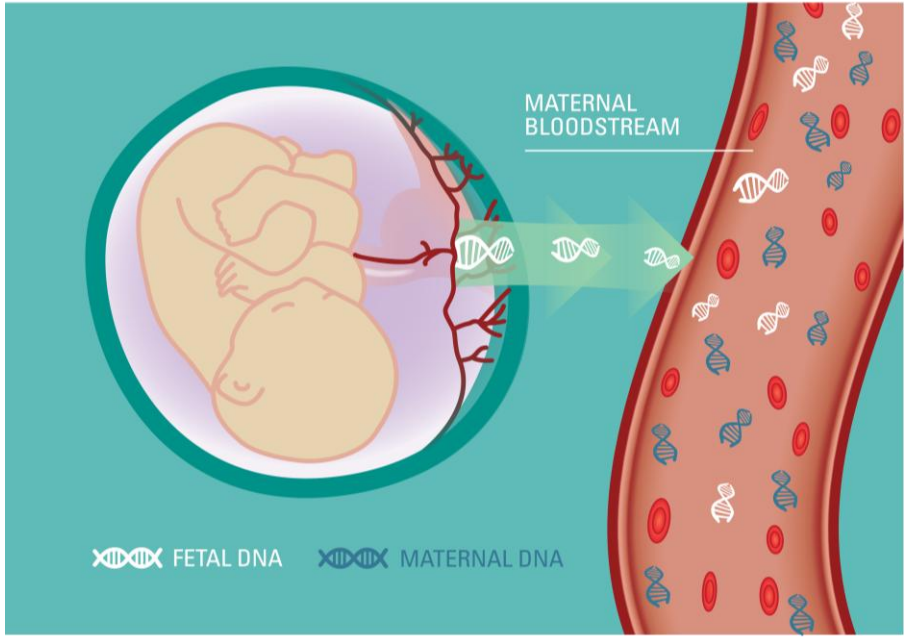
Xét nghiệm trước sinh: cfDNA

Standard Blood Draw



How it works

Xét nghiệm trước sinh không xâm lấn sử dụng DNA tự do (cell-free DNA)



- Cell-free DNA (cfDNA) là những đoạn DNA ngắn
- Trong suốt thai kỳ, cfDNA từ mẹ và bào thai đều hiện diện trong máu mẹ[1]
- Số lượng cfDNA bào thai chiếm một tỷ lệ nhỏ trong tổng cfDNA[2]
- cfDNA bào thai được đào thải nhanh sau khi sinh (<24 giờ)[3]

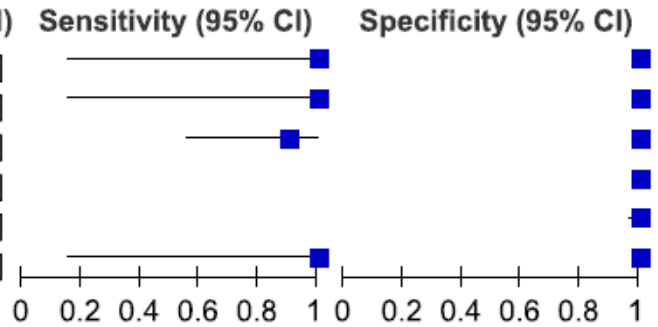
1. Lo et al. Lancet 1997;350:485-87. 2. Lo et al. Am J Hum Genet. 1998 Apr;62(4):768-75. 3. Lo et al. Am J Hum Genet 1999; 64:218-224.

Trisomy	Population Probability ("risk")	Sample size (no. of studies)	Sensitivity, pooled estimates (95% CI)	Specificity, pooled estimates (95% CI)	Quality of evidence	Rating items	True positive (TP) False positive (FP) False negative (FN) True negative (TN)
T21	High	107 474 (26)	0.998 (0.981–0.999)	0.999 (0.99–0.999)	(⊕⊕⊕O)	−1 Study design/quality	1839 TP 52 FP 8 FN 105 575 TN
T21	Average	62 201 (6)	0.993 (0.955–0.999)	0.999 (0.998–0.999)	(⊕⊕⊕O)	−1 Study design/quality	156 TP 37 FP 1 FN 62 107 TN
T18	High	146 465 (22)	0.977 (0.958–0.987)	0.999 (0.998–0.999)	(⊕⊕⊕O)	−1 Study design/quality	566 TP 70 FP 15 FN 146 129 TN
T13	High	137 078 (18)	0.975 (0.819–0.997)	0.999 (0.999–0.999)	(⊕⊕OO)	−1 Study design/quality −1 imprecision	134 TP 56 FP 10 FN 137 499 TN

TP, trisomy is verified; FP, incorrectly classified as trisomy; FN, trisomy is incorrectly classified as normal; TN, absence of trisomy is verified.
⊕⊕⊕O – moderate quality of evidence, ⊕⊕OO – limited quality of evidence.

(a)

Study	TP	FP	FN	TN	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Bianchi 2014	2	3	0	1902	1.00 [0.16, 1.00]	1.00 [1.00, 1.00]
Nicolaides 2012	2	2	0	1945	1.00 [0.16, 1.00]	1.00 [1.00, 1.00]
Norton 2015	9	1	1	15830	0.90 [0.55, 1.00]	1.00 [1.00, 1.00]
Pergament 2014	0	0	0	474	Not estimable	1.00 [0.99, 1.00]
Shaw 2014	0	0	0	100	Not estimable	1.00 [0.96, 1.00]
Song 2013	2	1	0	1738	1.00 [0.16, 1.00]	1.00 [1.00, 1.00]



(b)

Study	TP	FP	FN	TN	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Bianchi 2014	1	1	0	891	1.00 [0.03, 1.00]	1.00 [0.99, 1.00]
Norton 2015	2	2	0	11181	1.00 [0.16, 1.00]	1.00 [1.00, 1.00]
Pergament 2014	2	0	0	472	1.00 [0.16, 1.00]	1.00 [0.99, 1.00]
Shaw 2014	0	0	0	100	Not estimable	1.00 [0.96, 1.00]
Song 2013	1	0	0	1740	1.00 [0.03, 1.00]	1.00 [1.00, 1.00]

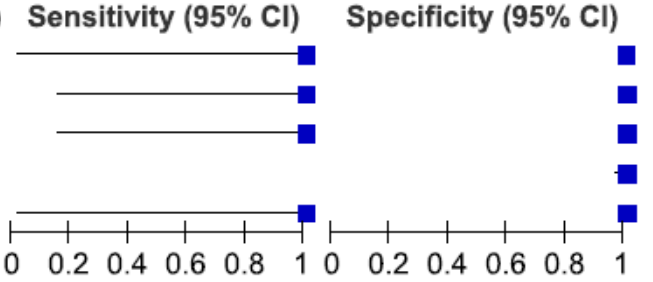


Figure 6. Meta-analysis of sensitivity and specificity of non-invasive prenatal testing (NIPT) in a population at average risk of carrying a fetus with chromosome aberration: (a) trisomy 18 (b) trisomy 13. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Nghiên cứu NEXT

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Cell-free DNA Analysis for Noninvasive Examination of Trisomy

Mary E. Norton, M.D., Bo Jacobsson, M.D., Ph.D., Geeta K. Swamy, M.D., Louise C. Laurent, M.D., Ph.D., Angela C. Ranzini, M.D., Herb Brar, M.D., Mark W. Tomlinson, M.D., Leonardo Pereira, M.D., M.C.R., Jean L. Spitz, M.P.H., Desiree Hollemon, M.S.N., M.P.H., Howard Cuckle, D.Phil., M.B.A., Thomas J. Musci, M.D., and Ronald J. Wapner, M.D.

Nghiên cứu tiền cứu được làm mù lớn nhất về XN trước sinh không xâm lấn được thực hiện ở 35 trung tâm tại 6 quốc gia (Mỹ và Châu Âu)

Norton M, et al, N Engl J Med. 2015 Apr 23;372(17):1589-97.

Nghiên cứu NEXT[1] – Mục tiêu và cơ sở

So sánh hiệu quả của Harmony với các phương pháp tầm soát truyền thống nhằm phát hiện trisomy 21

- Thu thập các dữ liệu kết quả trên các đối tượng

Độ nhạy và độ đặc hiệu đủ mạnh

- Các nghiên cứu trước đây về NIPT trên dân số chung không đủ lớn để đánh gía độ nhạy[2,3]

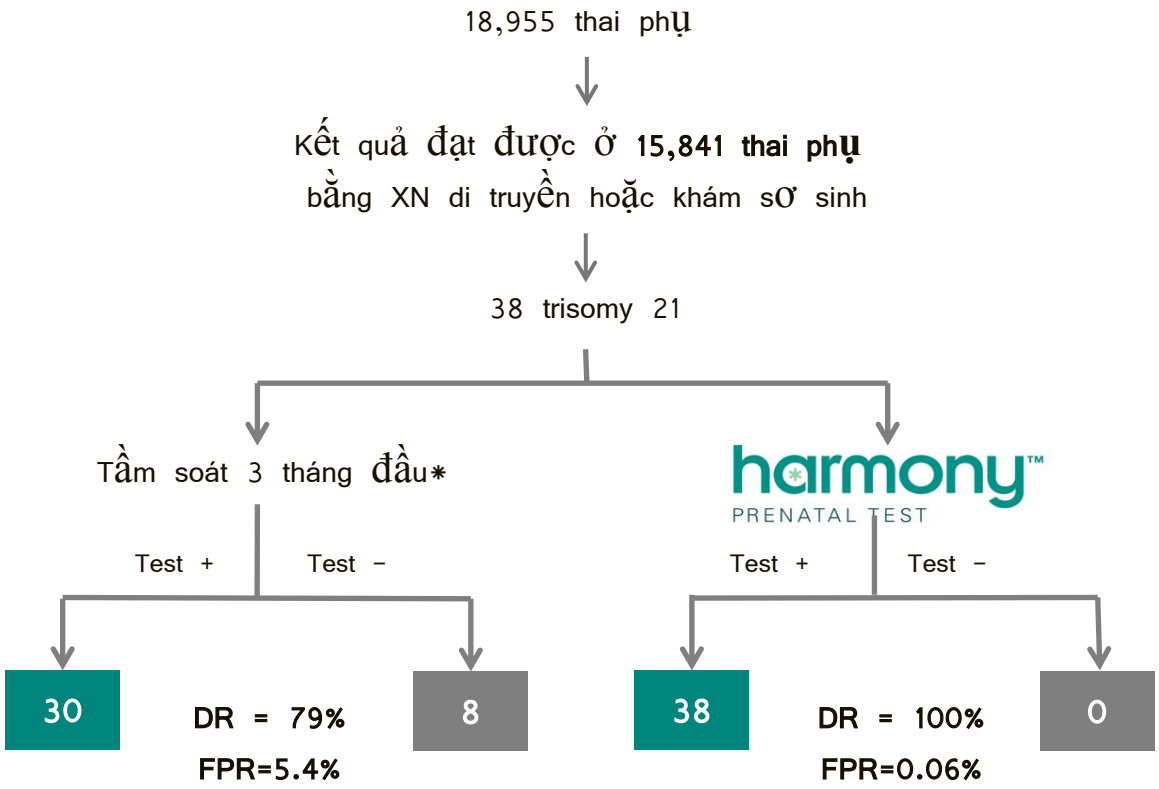
So sánh trực tiếp giữa tầm soát quý 1 (FTS) và Harmony được thực hiện đồng thời

- Trong các nghiên cứu trước đây, NIPT được thực hiện sau 3 tháng đầu thai kỳ khi phân số bào thai cao hơn[2,4]

1. Norton M, et al, N Engl J Med. 2015 Apr 23;372(17):1589-97. 2. Bianchi et al. N Engl J Med. 2014 Feb 27;370(9):799-808. 3. Nicolaides et al. Am J Obstet Gynecol. 2012 Nov;207(5):374.e1-6. 4. Wang et al. Prenat Diagn. 2013 Jul;33(7):662-6.

Nghiên cứu NEXT – Tổng quan

Trung bình tuổi mẹ: 30.7 tuổi
Trung bình tuổi thai: 12.5 tuần
Trung bình cân nặng mẹ: 65.8 kg



Norton M, et al, N Engl J Med. 2015 Apr 23;372(17):1589-97.
*hCG and PAPP-A, nuchal translucency measurement
DR = detection rate; FPR = false positive rate

Phân tích ban đầu – kết quả Trisomy 21

	FTS	Harmony	
Độ nhạy	**79%** (30 of 38)	**100%** (38 of 38)	*p=0.008*
Tỷ lệ dương tính giả	**5.4%** (854 of 15,803)	**0.06%** (9 of 15,803)	*p <0.001*
Gía trị tiên đoán dương	**3.4%**	**81%**	*p <0.001*

Tần suất trisomy 21 trên dân số chung = 38/15,841 (1 trong 417)

Source: Norton M, et al, N Engl J Med. 2015 Apr 23;372(17):1589-97.

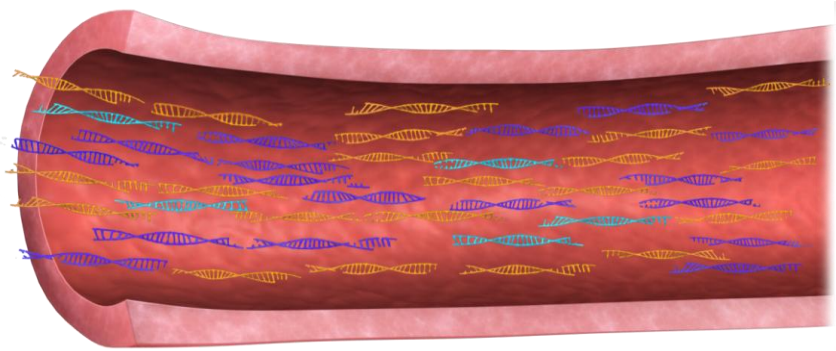
Nghiên cứu Harmony trên NEJM – Kết luận

Harmony có ưu thế về mặt thống kê so với các phương pháp tầm soát quý 1 FTS trong phát hiện trisomy 21 ở dân số thai phụ nói chung

- Tỷ lệ phát hiện cao hơn có ý nghĩa:
  - Harmony: 100%
  - FTS: 79%
- Tỷ lệ dương tính giả thấp hơn 90 lần:
  - Harmony: 1 trong 1,756
  - FTS: 1 trong 19
- Tỷ lệ tiên đoán dương cao hơn 20 lần:
  - Harmony: 81%
  - FTS: 3.4%

Source: Norton M, et al, N Engl J Med. 2015 Apr 23;372(17):1589-97.

Các ưu điểm của phương pháp phân tích trực tiếp (DANSR™)



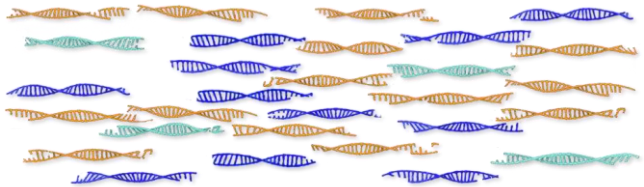
cfDNA trong máu

Chr 21, 18, 13, X, Y cfDNA

Other Chr cfDNA

Unmapped cfDNA

Massively Parallel Shotgun Sequencing (MPSS)

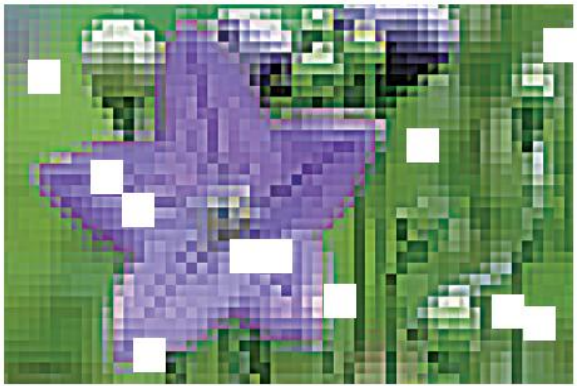


Phân tích trực tiếp (DANSR)

Cách tiếp cận của Harmony – Các ưu điểm của DANSR™

- Harmony phân tích chuyên sâu nhất các nhiễm sắc thể (NST) đích
  - DANSR nhắm vào các NST đích
  - NST 21, 18, và 13 đại diện <10% bộ gen[1]

Tình trạng ban đầu của bộ gen

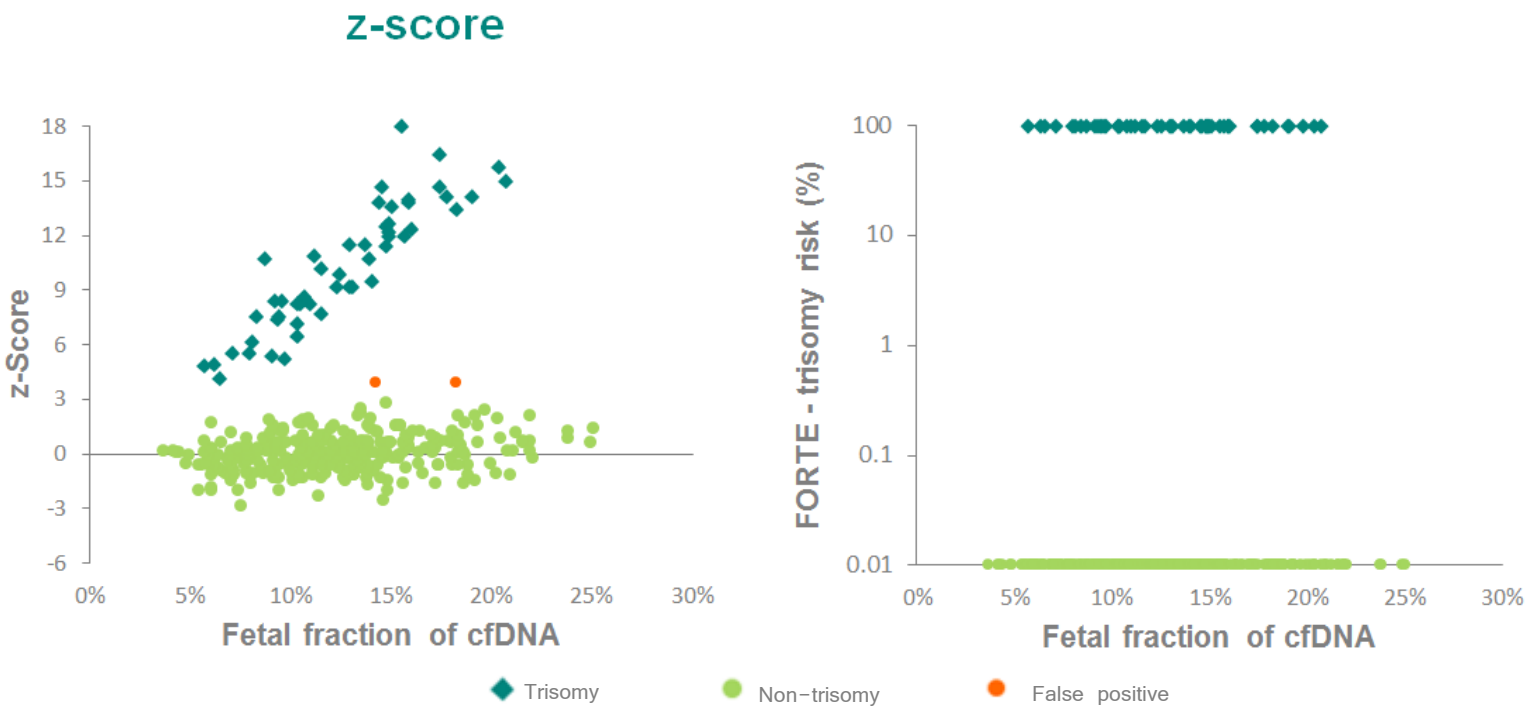


Tiếp cận ngẫu nhiên

Cách tiếp cận của Harmony

1. Lander et al. Nature 409, 860-921 (15 February 2001) doi:10.1038/35057062

Kết quả DANSR được phân tích dựa trên thuật toán đánh giá nguy cơ trisomy tối ưu hóa nồng độ DNA bào thai (FORTE)



Ashoor G et al., Am J Obstet Gynecol. 2012 Apr;206(4):322.e1-5.

Thang điểm xác suất cho từng cá thể là sự kết hợp của DANSR và FORTE

Test Results — **Fetal cfDNA Percentage: 10.5%**

CHROMOSOME	RESULT	PROBABILITY	RECOMMENDATION
Trisomy 21 (T21)	**High Probability**	**Greater than 99/100 (99%)**	**Genetic counseling and additional testing**
Trisomy 18 (T18)	Low Probability	Less than 1/10,000 (0.01%)	Review results with patient
Trisomy 13 (T13)	Low Probability	Less than 1/10,000 (0.01%)	Review results with patient

Lấy máy bất kỳ thời điểm nào sau tuần 10 thai kỳ

DANSR™ Assay

Phân tích NST mục tiêu

Đo lường chính xác phân số bào thai

FORTE™ Analysis

Hợp nhất:

- Định lượng NST
- Phân số bào thai
- Tuổi mẹ
- Tuổi thai

Báo cáo Harmony

Thang điểm xác suất cá thể hóa cho từng thai phụ

Phân số bào thai được báo cáo

1. Sparks et al. Prenat Diagn. 2012 Jan;32(1):3-9. 2. Sparks et al. Am J Obstet Gynecol. 2012 Apr;206(4):319.e1-9.

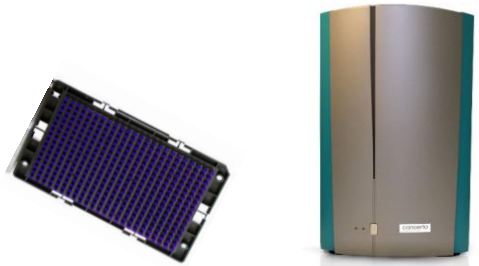
Quá trình phát triển của cfDNA: từ giải trình tự (sequencing) đến microarray

Giải trình tự thế hệ mới (NGS)

HiSeq (Illumina)

"..Sample multiplexing is required to achieve economically efficient use of available sequence capacity.."

Microarray

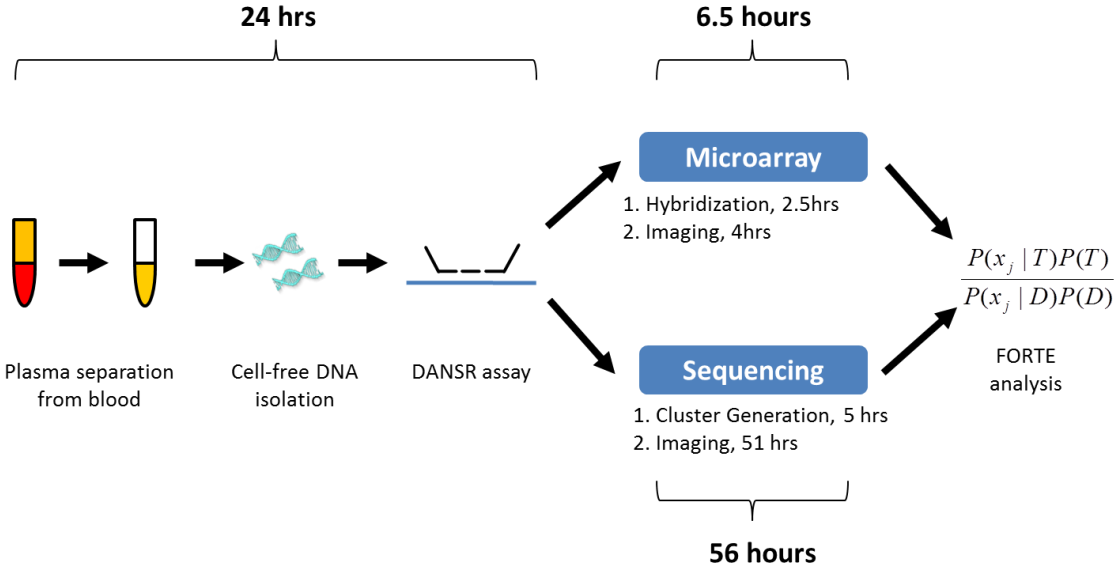


Ariosa Concerto™ Imager
Manufactured by Affymetrix

"..Each sample is hybridized individually to a single microarray.."

Source: Juneau K et.al. Fet Diag Th 2014 (online)

High throughput results with microarray reduces efficiency



Số mẫu trong mỗi giờ

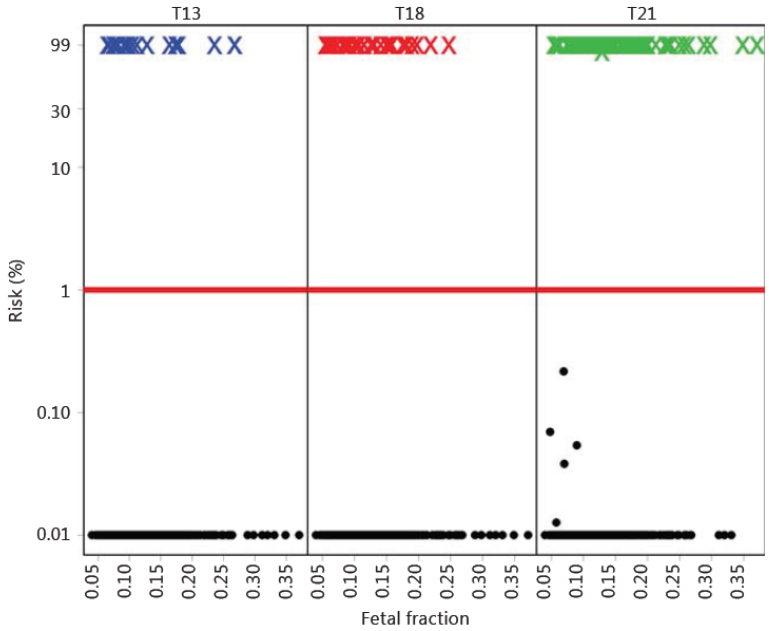
64

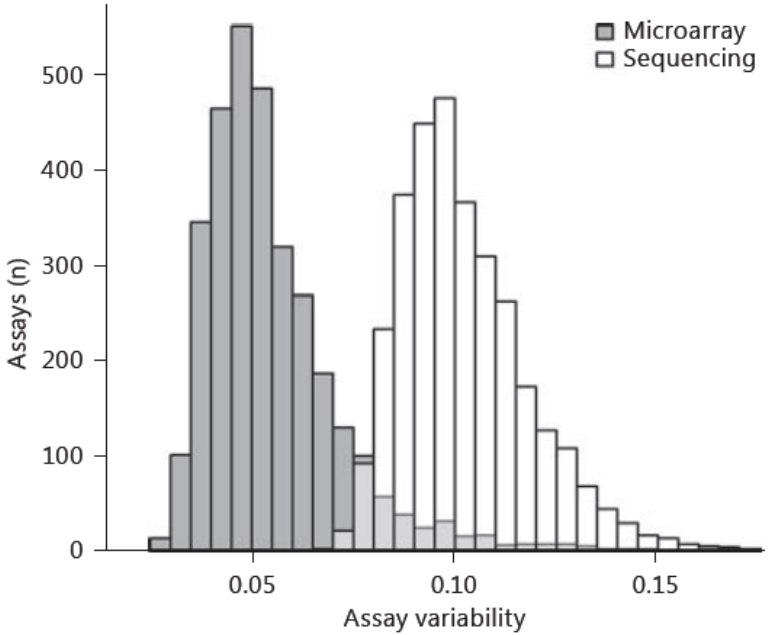
12

"... Cả hai kỹ thuật microarray và sequencing đang tiếp tục được cải thiện. Một số hệ thống sequencing đã tăng tốc chế độ giải trình tự để làm giảm sự khác biệt thời gian quan sát được giữa microarray và sequencing. Tuy nhiên, ở những chế độ này, khi tốc độ giải trình tự tăng lên, công suất sẽ giảm và chi phí cho mỗi mẫu sẽ tăng lên."

Juneau K et al. Fetal Diagn Ther. 2014;36(4):282-6.

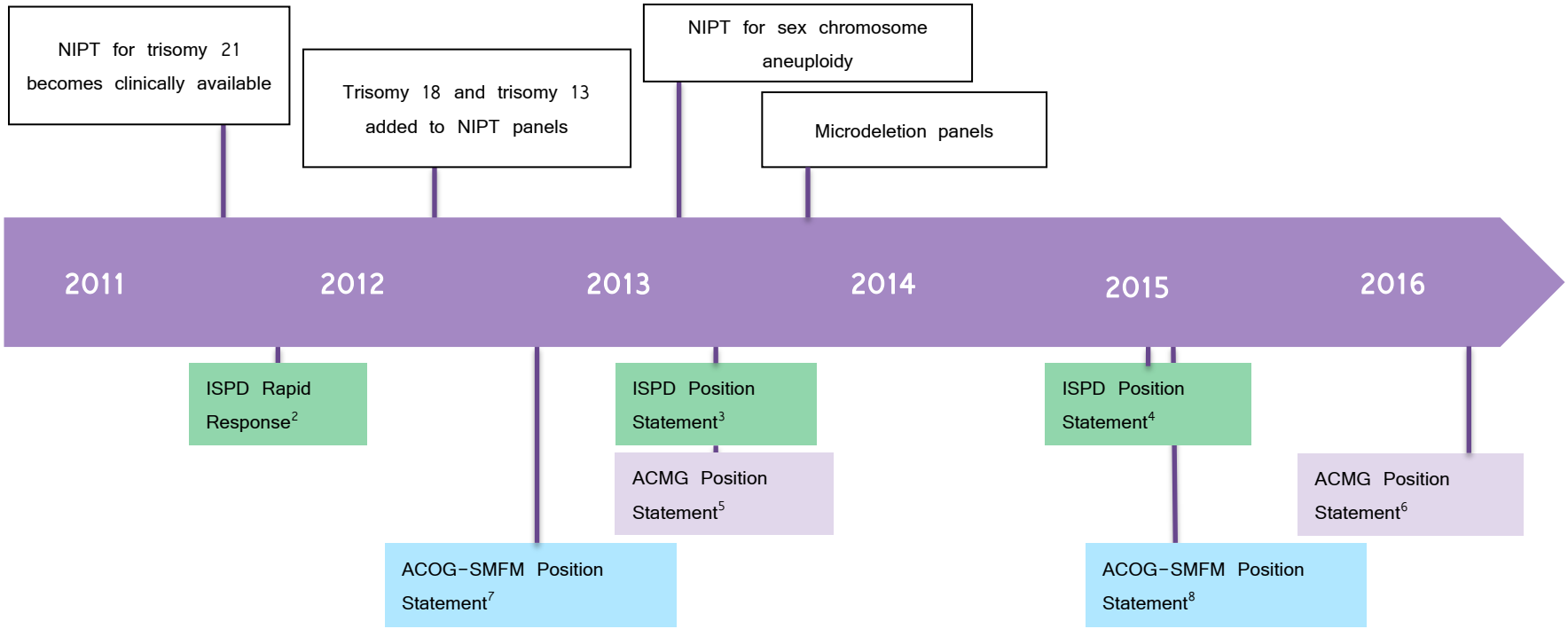
Kỹ thuật microarray cho kết quả ít biến thiên hơn và quan sát được phân số bào thai





Juneau K et al. Fetal Diagn Ther. 2014;36(4):282-6.

NIPT: Quá trình phát triển nhanh



1. Allyse et al. Int J Womens Health. 2015;7:113-126. 2. Benn et al. Prenat Diagn. 2012 Jan;32(1):1-2. 3. Benn et al. Prenat Diagn. 2013 Jul;33(7):622-9. 4. Benn et al. Prenat Diagn. 2015 Aug;35(8):725-34. 5. Gregg et al. Genet Med. 2013 May;15(5):395-8. 6. Gregg et al. Genet Med. 2016 Jul 28. [Epub ahead of print] 7. Obstet Gynecol. 2012 Dec;120(6):1532-4. 8. Obstet Gynecol. 2015 Sep;126(3):e31-7.

Ứng dụng lâm sàng đang mở ra với NIPT

"Với sự tư vấn di truyền thích hợp, MPS có thể hữu ích cho những thai phụ đã được xác định có **nguy cơ cao** bằng một trong những chiến lược sàng lọc trước đây."

-International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), 2011[1]

"Tầm soát cfDNA như là một xét nghiệm đầu tay cho **tất cả thai** phụ [được xem là phù hợp]."

-International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), 2015[2]

1.Benn et al. Prenat Diagn. 2012 Jan;32(1):1-2. 2. Benn et al. Prenat Diagn. 2015 Aug;35(8):725-34.

Các hướng dẫn chuyên môn hiện hành: Thai kỳ nguy cơ thấp

- Hội Chẩn đoán trước sinh quốc tế, 2015[1]:

  NIPT, một XN tầm soát đầu tay, phù hợp cho tất cả các thai phụ

- Các Hiệp Hội Mỹ và Châu Âu về di truyền người, 2015[2]:

  NIPT, một XN tầm soát hàng đầu, là một lựa chọn

- Hội Sản Phụ Khoa Hoa Kỳ/Hội Y khoa Mẹ và Thai nhi, 2015[3]:

  NIPT nên được cung cấp cho tất cả phụ nữ (nhưng các phương pháp truyền thống là lựa chọn phù hợp cho hầu hết các phụ nữ)

- Đại học Y khoa về gen và di truyền Hoa Kỳ, 2016[4]:

  Tất cả thai phụ nên được thông báo rằng NIPT là lựa chọn tầm soát trisomy 21, 18 và 13 có độ nhạy cao nhất

International Society for Prenatal Diagnosis
European and American Societies of Human Genetics
American Congress of Obstetricians and Gynecologists/Society for Maternal Fetal Medicine
American College of Medical Genetics and Genomics

1. Benn et al. Prenat Diagn. 2015 Aug;35(8):725-34. 2. Dondorp et al. Eur J Hum Genet. 2015 Nov;23(11):1592. 3. ACOG Committee Position 640. Obstet Gynecol. 2015 Sep;126(3):e31-7. 4. Gregg et al. Genet Med. 2016 Jul 28. [Epub ahead of print]

DANSR và FORTE được phê chuẩn cho microarray và NGS

DOI: 10.1002/pd.4686

PRENATAL DIAGNOSIS

ORIGINAL ARTICLE

Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies

Renee Stokowski[1], Eric Wang[1], Karen White[1], Annette Batey[1], Bo Jacobsson[2], Herb Brar[3], Madhumitha Balanarasimha[1], Desiree Hollemon[1], Andrew Sparks[1], Kypros Nicolaides[4] and Thomas J. Musci[1]*

Kết quả lâm sàng của NIPT sử dụng phương pháp phân tích DNA tự do mục tiêu ở huyết tương mẹ bằng kỹ thuật microarray hoặc giải trình tự thế hệ mới (NGS) phù hợp với nhiều thử nghiệm lâm sàng có đối chứng

Stokowski R et al. Prenat Diagn. 2015 Dec;35(12):1243-6.

DANSR và FORTE được phê chuẩn cho microarray và NGS

Table 2 **Test Performance of DANSR/FORTE using microarray quantitation**

Diagnostic outcome	Subjects	Test high risk (chr)	Test low risk (chr)
Total subjects with results	791		
Euploid subjects	641	0/0/0 (21/18/13)	641/641/641 (21/18/13)
T21 subjects	108	107 (21)	1 (21)
T18 subjects	30	29 (18)	1[a] (18)
T13 subjects	12	12 (13)	0 (13)

Table 3 **Comprehensive clinical performance of DANSR/FORTE**

Characteristic	T21 test values	T18 test values	T13 test values
Total subjects	23 155	22 399	14 243
True positives	418	147	30
False positives	10	5	3
True negatives	22 724	22 243	14 208
False negatives	3	4	2
Sensitivity (95% CI)	99.3 (97.9–99.8)	97.4 (93.4–99.0)	93.8 (79.9–98.3)
Specificity (95% CI)	99.96 (99.92–99.98)	99.98 (99.95–99.99)	99.98 (99.94–99.99)

Stokowski R et al. Prenat Diagn. 2015 Dec;35(12):1243-6.

42

Các giá trị cộng thêm

- **Thai đôi[1,2]**
  - Một kết quả cho cả hai thai
  - Đánh giá giới tính thai nhi:
    - Kết quả là nam cho biết một hoặc hai bào thai là nam

    *Monosomy X and Sex Chromosome Aneuploidy Panel has not been validated in twin pregnancies

    *Harmony chưa được phê chuẩn trong những trường hợp đa thai (nhiều hơn 2) (higher order multiples)
- **Harmony đã được phê chuẩn sử dụng cho những trường hợp mang thai do thụ tinh trong ống nghiệm[3,4], bao gồm:**
  - Thai đơn hoặc thai đôi
  - Trứng tự thân hoặc cho trứng
  - Mang thai hộ (Surrogate pregnancies)

1. Bevilacqua et al. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015 Jan;45(1):61-6. 2. Gil et al. Fetal Diagn Ther. 2014;35:204-11. 3. Stokowski et al. Prenat Diagn. 2015;35:1-4. 4. Norton ME et al. N Engl J Med. 2015 Apr 1.

Hai nghiên cứu trên thai đôi

	Bevilacqua et al.[1] (tiền cứu)	Gil et al.[2] (hồi cứu)	Gil et al.[2] (tiền cứu)
Trisomy 21	11 of 12	9 of 10	2 of 2
Trisomy 18	5 of 5	–	1 of 1
Trisomy 13	–	1 of 1	–
Euploid	323 of 323	181 of 181	60 of 60

Được nhận biết như "nguy cơ cao":

- 22 trên 24 trường hợp trisomy 21
- 6 trên 6 trường hợp trisomy 18
- 1 trên 1 trường hợp trisomy 13

- Không có "dương tính giả" trong hơn 500 trường hợp euploid

1. Bevilacqua et al. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015 Jan;45(1):61-6. 2. Gil et al. Fetal Diagn Ther. 2014;35:204-11.

Tỷ lệ lệch bội NST giới tính (sex chromosome aneuploidy (SCA))

Tần suất các SCA phổ biến[1]:

- **47,XXY** (Klinefelter syndrome) 1/500-1/1,000 males
- **47,XXX** (Triple X syndrome) 1/1,000 females
- **47,XYY** (Jacobs syndrome) 1/1,000 males
- **45,X** (Turner syndrome) 1/2,500 females

Tỷ lệ SCA nói chung: ~1/500 ca sinh

(tỷ lệ hội chứng Down nói chung: ~ 1/800 ca sinh[2])

1. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, Sixth Edition. Robert L. Nussbaum, Roderick McInnes, Willard Huntington. Saunders, 2001.
2. U.S. National Library of Medicine. Genetics Home Reference. Down Syndrome. http://ghr.nlm.nih.gov/condition/downsyndrome. Accessed Jan 25, 2016.

Hai nghiên cứu trên lệch bội NST giới*

Karyotype	Identified as High Probability	%; 95%CI	False Positive	%; 95%CI
45,X	69/74	93; 85 - 97	2/496	0.4; 0.1-1.5
47,XXX	6/6	100; 61 - 100	3/496	0.6; 0.2-1.8
47,XXY	7/7	100; 65 - 100	0/496	0; 0.0-0.7
47,XYY	3/3	100; 44 - 100	0/496	0; 0.0-0.7

*CLIA laboratory experience

Nicolaides et al, Fetal Diagn Ther. 2014;35(1):1-6.

Hooks et al, Prenat Diagn. 2014 May;34(5):496-9.

Các hướng dẫn chuyên môn hiện hành: Vi mất đoạn

- International Society for Prenatal Diagnosis, 2015[1]:

  Patients should be counseled regarding limitations. Testing should be limited to clinically significant disorders.

- European and American Societies of Human Genetics, 2015[2]:

  Currently not recommended

- American Congress of Obstetricians and Gynecologists/Society for Maternal Fetal Medicine, 2015[3]:

  Routine screening for microdeletions should not be performed

- American College of Medical Genetics and Genomics, 2016[4]:

  Patients should be informed of availability of testing, including limitations

1. Benn et al. Prenat Diagn. 2015 Aug;35(8):725-34. 2. Dondorp et al. Eur J Hum Genet. 2015 Nov;23(11):1592. 3. ACOG Committee Position 640. Obstet Gynecol. 2015 Sep;126(3):e31-7. 4. Gregg et al. Genet Med. 2016 Jul 28. [Epub ahead of print]

Kết luận

- NIPT có thể được sử dụng cho tất cả các thai phụ
- Mục tiêu tếp cận là các NST cụ thể, đó là trisomy 21, 13, 18
- Kết quả sẽ chính xác khi phân số bào thai (Fetal fraction) >4%
- Kỹ thuật microarray được phát triển để cải thiện hệ giải trình tự thế hệ mới (NGS) với hiệu quả tương đương và tính lặp lại cao hơn
- DANSR và FORTE được phê chuẩn để đánh giá thai đôi và thai do thụ tinh ống nghiệm
- Sẽ có những xét nghiệm lựa chọn thêm cho những bất thường trên lâm sàng, như hội chứng DiGeorge

Thank You.