

Valkuilen bij niet-invasieve foetale RhD typering



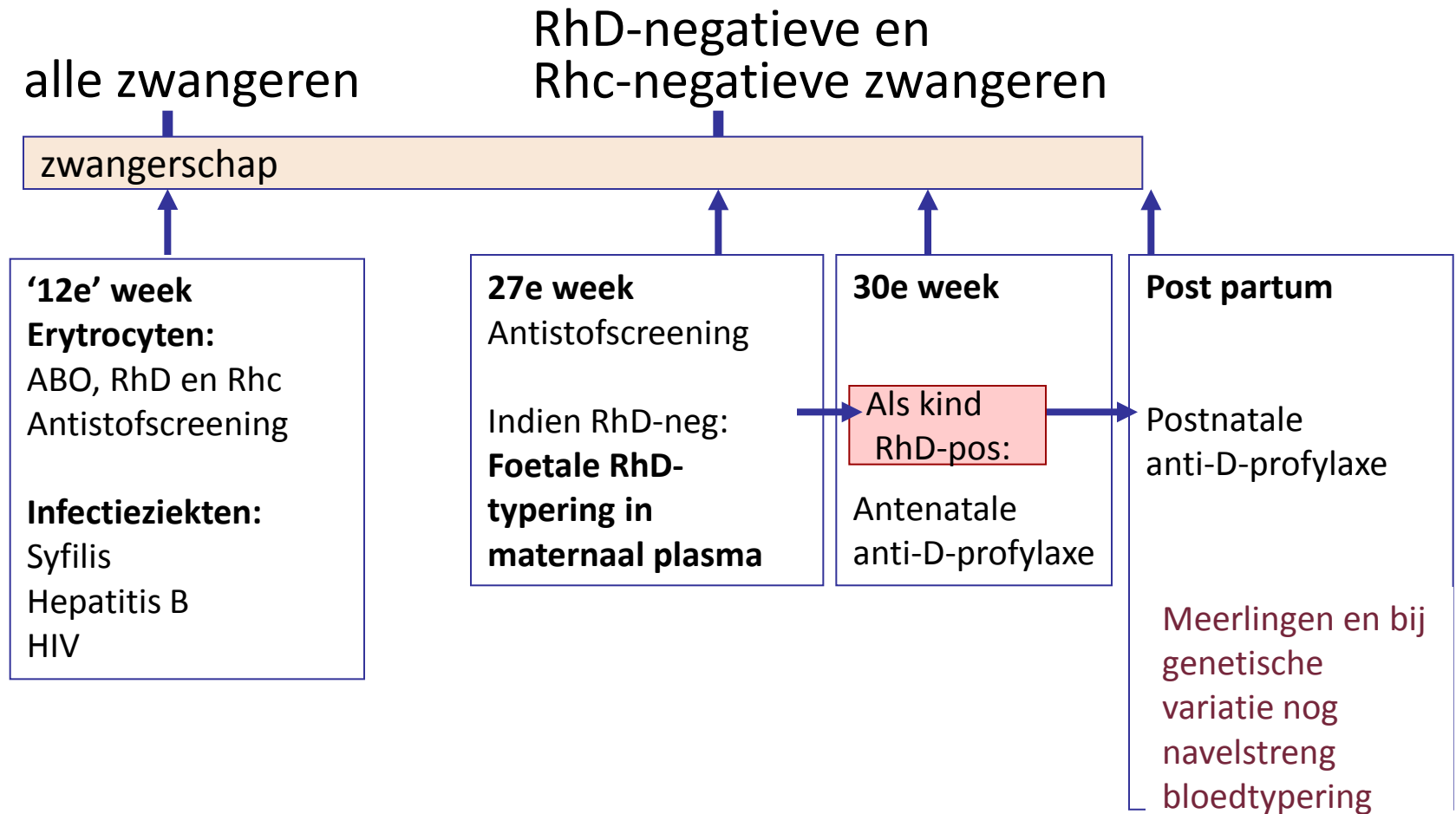
Florentine F. Thurik

Arts onderzoeker

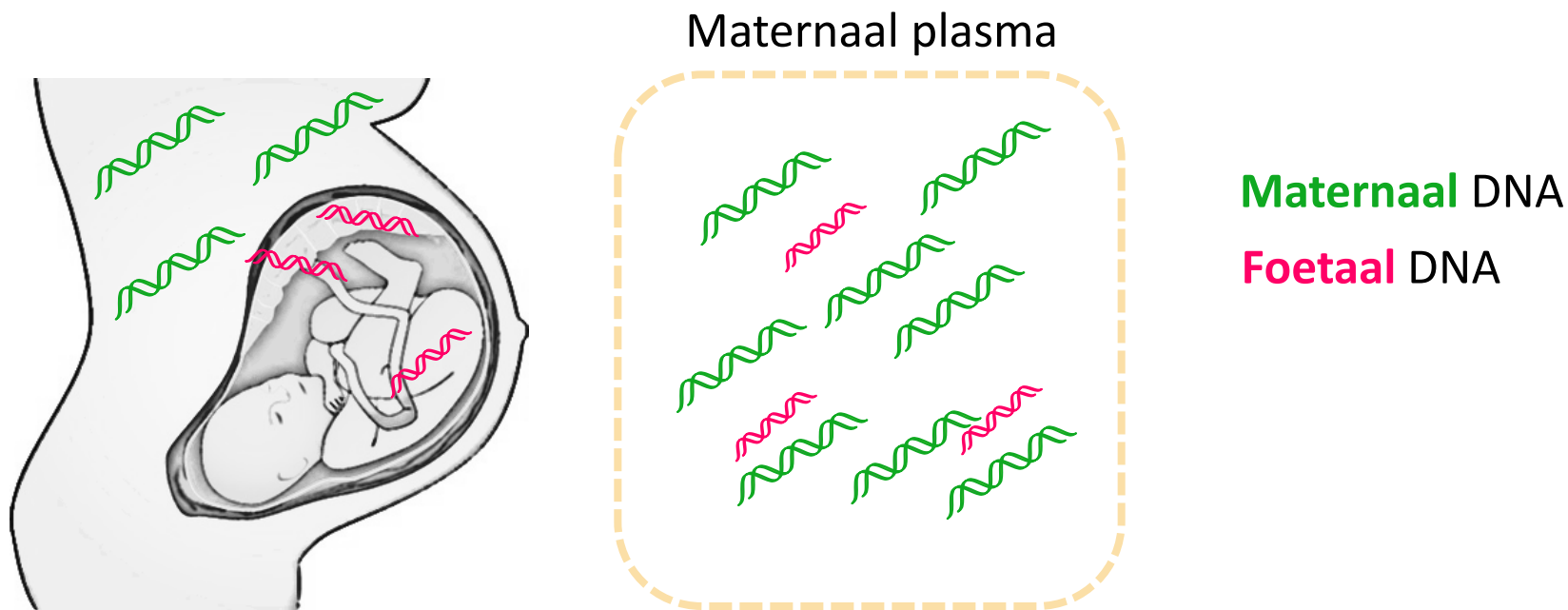
Afdeling Experimentele Immunohematologie
Sanquin Research, Amsterdam, The Netherlands

f.thurik@sanquin.nl

Prenatale Screening Infectieziekten en Erythrocytenimmunisatie (PSIE) programma vanaf 1 januari 2013



Cel-vrij foetaal DNA in maternaal plasma



- kleine DNA fragmenten afkomstig uit apoptotische trofoblasten
- betrouwbare meting vanaf week 7
- klinische toepassing: foetale RhD-status, aneuploidie

Landelijke foetale *RHD* screeningsprogramma

- Aangeboden aan alle RhD-negatieve vrouwen in week 27
- Real-time PCR *RHD* exon 5 en *RHD* exon 7
- Gerichte anti-D profylaxe



Xiril α



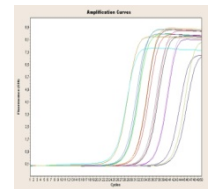
**MagNa
Pure 96**



Xiril γ



StepOnePlus



Verwachte valkuilen foetale RhD-typering

- **Genetisch**

RHD variant genen bij moeder of kind

- **Technisch**

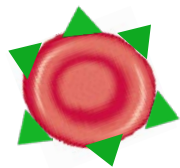
Aspecifieke PCR signalen ivm uitslagalgoritme

- **Logistiek**

Fouten rondom bloedafname of -inzending

Genetische valkuilen: *RHD* variant genen

fenotype



positief



negatief

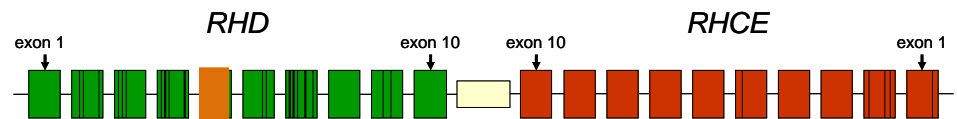
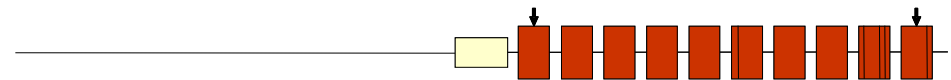
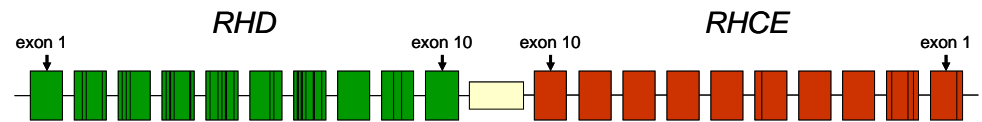


of



variant

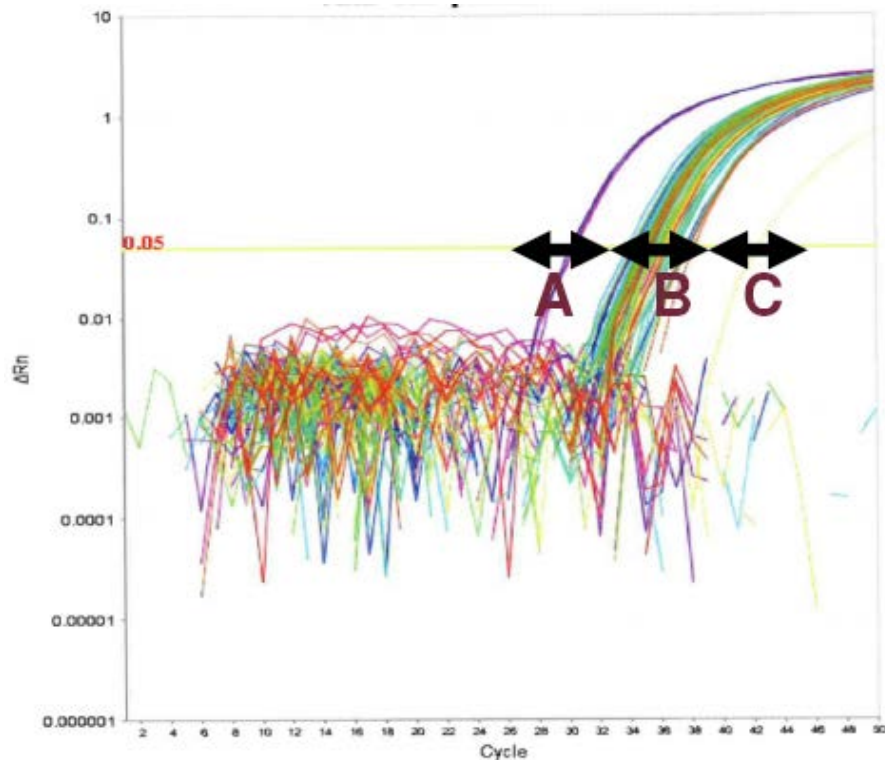
genotype



***RHD* variant gedetecteerd (moeder of kind) bij 100 (44.4%)
zwangerschappen met een “fout-positieve” *RHD* uitslag**

Technische valkuilen: Aspecifieke PCR signalen vs lage foetale DNA levels

- Predictie algoritme
 - Voorkomen van *fout-negatieve* resultaten
 - Positieve foetale *RHD* uitslag bij aspecifieke PCR signalen
- Zwakke PCR signalen
 - Late signalen
 - Weinig positieve signalen



**Aspecifieke PCR signalen bij 70 (31.1%)
zwangerschappen met een “fout-positieve” *RHD* uitslag**

Logistieke valkuilen: Fouten rondom bloedafname/inzending



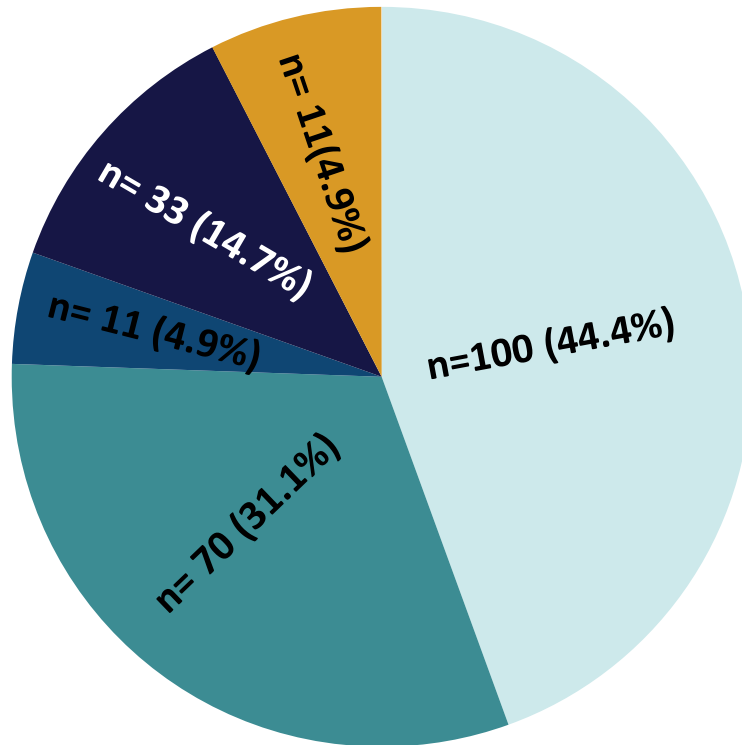
- Sampleverwisseling (**n=2**)
 - DNA profiel in navelstrengbloed heeft geen biologisch verwantschap met DNA profiel van moederlijk bloed
- Insturen van maternaal bloed na de geboorte i.p.v. navelstrengbloed (**n=6**)
 - Moeder is RhD negatief
 - Geen materiaal van het kind
- Vermenging van navelstrengbloed met maternaal bloed (**n=3**)
 - Genetische test detecteert laag percentage *RHD* positief DNA
 - Kleihauer bevestigt mix moederlijke en foetale cellen

Fouten rondom bloedafname/inzending totaal n=11 (4.9%)

Overzicht fout-positieve resultaten

Positieve foetale *RHD* genotypering & negatieve navelstrengbloed D fenotypering

$n_t = 225$



- Genetisch
- Technisch
- Logistiek
- Niet genoeg restmateriaal
- Foutpostieven e.c.i

Andere studies: **Vanishing twins & NIPT**

Initial clinical laboratory experience in noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy from maternal plasma DNA samples

Tracy Futch¹, John Spinosa^{2,3}, Sucheta Bhatt¹, Eileen de Feo², Richard P. Rava⁴ and Amy J. Sehner^{5*}

Prenat Diagn 2013

Vanishing twin in de voorgeschiedenis bij 2/13 foutpositieve NIPT resultaten

Y-chromosoom en trisomie 18 signalen bij een zwangerschap van een euploid meisje

Non-invasive prenatal testing for fetal chromosomal abnormalities by low-coverage whole-genome sequencing of maternal plasma DNA: review of 1982 consecutive cases in a single center

Ultrasound Obstet Gynecol 2014

T. K. LAU*, S. W. CHEUNG†, P. S. S. LO*, A. N. PURSLEY†, M. K. CHAN†, F. JIANG†, H. ZHANG†, W. WANG†, L. F. J. JONG*, O. K. C. YUEN*, H. Y. C. CHAN*, W. S. K. CHAN* and K. W. CHOY§¶

Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism–based noninvasive prenatal test

AJOG 2015

Kirsten J. Curnow, PhD; Louise Wilkins-Haug, PhD, MD; Allison Ryan, PhD; Eser Kirkizlar, PhD; Melissa Stosic, MS; Megan P. Hall, PhD; Styrmir Sigurjonsson, PhD; Zachary Demko, PhD; Matthew Rabinowitz, PhD; Susan J. Gross, MD

Detectie extra haplotype in maternaal plasma van 32 cases met voorgeschiedenis van een vanishing twin

Andere foutpositieve NIPT resultaten worden ook verklaard door vanishing twins

Take home message

- De meeste foutpositieve foetale RhD resultaten worden veroorzaakt door genetische (vaak correct-positief), technische of logistieke valkuilen
- Foutpositieve uitslagen worden mogelijk ook veroorzaakt door vanishing twins
- Indien onze hypothese juist is, ligt de frequentie van vanishing twins op max 0.6%
- Geen grote klinische impact voor de foetale RhD typering
- Voorzichtigheid is geboden bij andere niet-invasieve testen (vb NIPT)

Dankbetuiging

Aicha Ait Soussan¹



Barbera Veldhuisen¹



Heleen Woortmeijer¹



Ellen van der Schoot¹



Lieve Page-Christiaens²



Masja de Haas¹

