



DSMG
Dansk Selskab for Medicinsk Genetik

Guideline

Test for maternal kontaminering ved prænatal diagnostik

Dansk Selskab for Medicinsk Genetik (DSMG)

Godkendt 06.04.19 Revurderet okt. 2022

Versions 1

Indhold

Forord	2
Kommissorium	2
Forkortelser	2
Baggrund	2
Eksisterende guidelines omhandlende MCC	3
Afgrænsninger	3
Hvad forstår vi ved MCC og hvornår er det betydende	3
Hvordan får man mistanke om MCC og hvor hyppigt er MCC?	4
Analyser til påvisning af MCC	6
Betragtninger vedr. analysemetoders følsomhed overfor MCC	7
Betragtninger vedr. vurdering og sortering for MCC i laboratoriet	8
Arbejdsgruppens anbefalinger	8
Anbefalinger vedr. indikation for MCC test	8
Anbefalinger vedr. prøvetagning / håndtering	8
Anbefalinger til hvornår undersøgelse for MCC kan undlades	9
Anbefalinger vedr. tekniske aspekter ved MCC	9
Anbefalinger vedr. svarafgivelse	9
Lokale forhold	9
Referencer	10

Guidelinen er udarbejdet i 2017 - 2018 af en arbejdsgruppe nedsat af Dansk Selskab for medicinsk Genetik og fremlægges på DSMG's årsmøde, april 2019.

Godkendt 06.04.2019

Guidelinen er revurderet af Morten Dunø, Christina Fagerberg, Sara Markholt, og Pernille Tørring oktober 2022, og der findes ikke behov for revision. Fornyet revurdering om 3 år.

Arbejdsgruppens medlemmer er

Pernille Tørring, afdelingslæge, PhD, Klinisk Genetisk afdeling, Odense Universitetshospital

Christina Fagerberg, overlæge, Klinisk Genetisk afdeling, Odense Universitetshospital

Morten Dunø, laboratorieleder, PhD, Klinisk Genetisk Klinik, Rigshospitalet

Maria Kirchhoff, seniorforsker, dr. med. Klinisk Genetisk Klinik, Rigshospitalet

Sara Markholt, reservelæge, Klinisk Genetisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital

Dorthe V Pedersen, afdelingsbioanalytiker, Klinisk Genetisk afdeling, Odense Universitetshospital

Forord

I takt med den stigende kortlægning af genetiske sygdomme er der sket en stigning af gravide, der efterspørger prænatal diagnostik for monogene sygdomme. Endvidere foretages der i stigende grad prænatale analyser uden forudgående kendt genetisk disposition i familien, fx kromosom mikroarray. Prænatal diagnostik foretages i dag på både dyrkede og udyrkede celler, både tidligt og sent i graviditeten, samt ved anvendelse af forskelligartede teknikker. Disse faktorer stiller særlige krav til opmærksomhed om risikoen for maternel kontaminering og udredning herfor, hvor det findes relevant.

Der ønskes en specifik guideline for test for maternel kontaminering (Maternal Cell Contamination, MCC) ifm. prænatal diagnostik. Guidelinen skal fungere som "anerkendt faglig standard" på området i Danmark, og have tilslutning fra de forskellige faggrupper inden for specialet Klinisk Genetik.

Kommissorium

Arbejdsgruppens kommissorium er

- at afgrænse de kliniske situationer, der omfattes af denne guideline
- at belyse prøvekvaliteten som selvstændig indikation for test af MCC
- at udarbejde rekommandationer for hvornår test for MCC skal udføres
- at udarbejde rekommandationer vedr. minimumskrav til MCC analysen, herunder sensitivitet
- at udarbejde rekommandationer for hvornår en specifik test for MCC evt. kan udelades
- at udarbejde rekommandationer for hvornår evt. påvisning af MCC bør medføre ny prøvetagning
- at fremsætte forslag til hvem der er ansvarlig for udførelsen af test for MCC

Der ønskes en vægtning af de enkelte faktoreres betydning for testning af MCC (fx arvegang, prøveoprindelse, tidspunkt for prøvetagning etc.), en samlet konklusion og anbefaling. Alle rekommandationer ønskes afgivet under hensyntagen til økonomiske implikationer. Problemstillinger vedr. evt. prænatal diagnostik ved NIPT prøver skal ikke inddrages.

Forkortelser

MCC: Maternal Cell Contamination, maternel kontaminering

PND: Prenatal diagnosis, prænatal diagnostik

PCR: Polymerase chain reaction

CVS: Chorion villus sample, moderkageprøve **AC:** Amniocentese, fostervandsprøve

SNV: Single nucleotide variant

SNP: Single nucleotide polymorphism

MLPA: Multiplex ligation-dependent probe amplification **NGS:** Next generation sequencing

Baggrund

Maternel kontaminering er en velkendt udfordring ved prænatal diagnostik [1]. Risikoen for en fejlagtig diagnostisk konklusion på baggrund af MCC afhænger af en række uafhængige faktorer, der strækker sig fra selve prøvetagningen, prøvetype, prøvestørrelse og prøvehåndtering, til den specifikke analysesensitivitet for både den diagnostiske analyse og selve MCC testen. Der er over tid foretaget en del internationale opgørelser over forekomsten og niveauet af MCC i forskellige situationer, men en direkte sammenligning mellem de enkelte opgørelser er vanskelig, da de ofte har baggrund i forskellige tekniske analyser og prøvehåndteringer.

Eksisterende guidelines omhandlende MCC

- Guideline fra Storbritannien (ACGS) fra 2008 omfatter undersøgelse for MCC ved prænatale prøver hvor der skal udføres undersøgelse for monogen lidelse [2]. Guidelinen er under revision (2017).
- Guideline fra Association for Molecular Pathology, USA fra 2011, som har særligt fokus på de analyse-mæssige aspekter. Det fremgår, selv om guideline ikke specifikt omhandler indikationer, at der bør undersøges for MCC i alle prænatale prøver [3].
- "ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis" giver retningslinjer for selve prøvetagningen [4]

De to guidelines fra hhv. Storbritannien og USA er begge af ældre dato og fra en tid hvor undersøgelse af dyrkede celler var den primære procedure. De tager begge udgangspunkt i at udelukke MCC, men forholder sig ikke til den reelle risiko for betydende MCC ved forskellige kliniske scenarier [2, 3].

I praksis er det indtrykket, at disse guidelines, ikke følges slavisk, hvilket også er konklusionen på en undersøgelse fra 2007 af håndtering af emnet i 35 amerikanske laboratorier [5]. I et studie af Vanakker et al, fra 2014 [6] omhandlende prænatal kromosom mikroarray i Belgien, anføres det, at man har planer om systematisk undersøgelse for maternel kontaminering gennem 1 år for derefter at fastlægge nationale retningslinjer på området. Så vidt vi er orienteret, er der ikke fulgt op på dette.

Afgrænsninger

Guidelinen omfatter MCC ved chorion villus biopsier og amnionvæske.

Guidelinen omfatter ikke problematikker vedr. MCC i forhold til navlestrengsblod, abortvæv, føtal blodprøve, NIPT, eller biokemiske analyser på prænatale prøver.

Hvad forstår vi ved MCC og hvornår er det betydende

Maternel kontaminering, MCC, er et begreb som knytter sig til prænatale invasive prøver (fortrinsvis CVS og AC) og betegner tilblanding af maternelt væv i det føtale prøvemateriale. CVS-væv vurderes og sorteres i laboratoriet netop for at belyse kvaliteten af vævet og sikre selektion af føtalt væv til analyse.

Amnionvæske vurderes visuelt. Mængden af maternelt væv i føtale prøver kan strække sig fra intet/ikke betydende over alle grader af tilblanding til udelukkende at være rent maternelt (komplet MCC).

Komplet MCC betegner det forhold at den prænatale prøve udelukkende udgøres af maternelle celler. Det kan forekomme på udyrkede celler, eller være resultat af et dyrkningsartefakt, hvor maternelle celler overgror kulturen (se senere). Det er et definitionsspørgsmål, om det skal klassificeres som MCC eller forkert prøveidentitet, idet der er tale om en prøve fra den gravide selv og ikke graviditetsproduktet. Risikoen for fejlagnostik på baggrund af komplet MCC på CVS væv må, ved korrekt prøvehåndtering og sortering, empirisk være ekstremt lille. Molekylærgenetisk kan komplet MCC kun identificeres ved samtidig analyse af DNA fra den gravide selv med anvendelse af tilstrækkelige antal højpolymorfe markører, eller ved analyse af både paternelt og maternelt DNA. Analyse for komplet MCC indebærer således i nogle tilfælde mulighed for at bestemme paternitet.

Hvornår er MCC betydende?

Mængden af MCC kan have betydning for den diagnostiske analyse, men i de fleste tilfælde skal niveauet af MCC være ganske betragtelig for at kunne resultere i en fejldiagnose. I litteraturen opereres med klinisk signifikante MCC niveauer fra 5% til 20% [7] [8] men der er meget få eksempler på studier der systematisk evaluerer hvor højt niveauet af MCC skal være, for at kompromittere den diagnostiske analyse.

Ved kromosom mikroarray analyse (135K) skal niveauet af MCC være højere end hhv. ca. 20% og 50% før større duplikationer og deletioner ikke kan påvises mere [9]. Disse grænser er i sagens natur afhængige af platform og størrelsen af kromosomale ubalancer. Et enkelt studie fra 2004 viser at 10% MCC ikke har afgørende indflydelse på biokemisk analyse for peroximale sygdomme på dyrket CVS, men det anføres at denne grænse kan være lavere ved andre analyser [10].

De fleste PND analyser for monogene sygdomme foretages ved PCR og efterfølgende direkte Sangersekventering. Sensitiviteten af Sangersekventering overfor mosaikke SNV alleler angives empirisk til 10-15% men er afhængig af den specifikke kontekst. Med andre ord vil MCC på <10-20 % være vanskelig at identificere ved Sangersekventering, men heller ikke påvirke analyseudfaldet, såfremt der er un-biased allel amplifikation.

Der er fundet et enkelt studie der forsøger at estimere hvor høj graden af MCC skal være for at kompromittere en Sangersekventering, og således medføre en fejldiagnose. Graden af MCC der skal til for at medføre en diagnostisk usikkerhed er afhængig af den specifikke sekvenskontekst, men oftest skal niveauet af MCC være >10-30% for at påvirke analysen [11]. Det er arbejdsgruppen opfattelse at, sådanne MCC niveauer med største sandsynlighed ikke kan være til stede i udyrkede prøver uden at dette kan ses enten mikroskopisk på CVS eller makroskopisk på AC i form af kraftig blodtilblanding.

Ved analyser hvor der benyttes selektiv allel-amplifikation / detektion (fx TaqMan assay, deletioner på x-kromosomet) kan selv meget små niveauer af MCC påvirke analyseresultatet fatalt. Det frarådes at sådanne analyser anvendes til PND.

Hvordan får man mistanke om MCC og hvor hyppigt er MCC?

Systematiske studier er sjældne (tabel 1). Tilgængelige studier er primært foretaget på dyrkede celler og tager ikke stilling til i hvilket omfang påvist MCC har en klinisk betydning. Med stigende brug af DNA-baserede prænatale analyser (primært kromosom mikroarray og undersøgelser for monogene lidelser), er maternel kontaminering af udyrkede celler mere relevant, men der findes kun få studier der belyser dette.

CVS

Ved CVS af rimelig størrelse (>10mg) og kvalitet (mikroskopisk bedømt) er det generelt muligt at undgå betydende MCC ved korrekt prøvesortering. Således kan mængden af maternelt materiale i CVS reduceres og sædvanligvis elimineres ved fjernelse af maternelt decidua [12]. Er prøven derimod lille eller af dårlig kvalitet øges risikoen for betydende MCC. Litteraturen om hyppigheden af MCC ved CVS er begrænset (tabel 1). Signifikant MCC angives at optræde i op til 4% af CVS prøver [8] om end flere studier ikke finder betydende MCC på ikke-dyrket CVS [13, 14]. Ved dyrkning af CVS vil ikke-fjernede maternelle celler potentielt kunne overgro CVS kulturen, om end maternelle celler oftest vil kunne detekteres i form af "envelope/convolute cells" i kulturen. Fravær af disse celler er dog ingen garanti mod maternel kontaminering [15]. Et mindre studie viser at der i ca. 4% (6/139) af dyrkede CVS kan påvises MCC [16].

Grati et al. 2013 [17] fandt MCC i 1,8 % af langtidskulturer fra CVS (135/15025). Dette beregnes at give risiko for falskt negativt resultat i 1:103.907 cases.

Et studie af 460 prøver med normal hunlig karyotype, hvor sygdomsspecifikke analyser ikke kunne udelukke MCC, blev undersøgt for MCC (bloddråbe på filterpapir fra den gravide). MCC blev set i 1,7 % af prøverne [18].

Amnion

Selve prøvetagningen er vigtig for risikoen for MCC i amnion, således angiver forskellige retningslinjer/studier, at de første 2-3 ml væske bør smides bort [7]. Ydermere er hyppigheden af MCC korreleret til prøvetagningsekspertise [19].

Der er rapporteret adskillige studier af omfanget af maternel kontaminering ved amniocentese, hvor de fleste beror på en cytogenetisk analyse eller QF-PCR af dyrkede/udyrkede præparationer. Forekomsten af MCC er rapporteret lige fra 0,3 % til >20 % i udyrkede præparationer (se [7] for referencer, tabel 1). Et større studie af >6000 udyrkede AC, finder tegn på betydelig MCC i ca. 1,7 % hvor forekomsten korrelerer med synlig blodtilblanding [12, 20] om end fraværet af synlig blodtilblanding på ingen måde udelukker MCC [14]. I prøver med udelukkende synligt blod i cellepellet viste tilblandingen sig som en "low-level second genotype", hvor der i de fleste tilfælde godt kunne afgives et svar. Ved dyrkning af celler forsvandt det maternelle bidrag i stort set alle tilfælde [12], idet amniocytter ved dyrkning favoriseres over maternelle blodceller, hvilket reducerer forekomsten af MCC betydeligt om end risikoen ikke elimineres fuldstændigt [7, 21]. Evt. maternelle fibroblaster kan ved dyrkning proliferere og specielt ved længere tids dyrkning overgro amniocytter og resultere i betydelig MCC [16, 20]. Oligohydramnios øger risikoen for MCC betydeligt [22].

Table 1: Udvalgt litteratur vedrørende maternel kontaminering i prænatale prøver

Studie	Væv (# prøver)	Dyrkede / udyrkede celler	MCC	Metode	Klinisk betydnende MCC	Note
Winsor et al, 2010 [8]	CVS (#148)	Ikke specificeret	4% (6/148)	Mikrosatellitter	Ved >5% ny prøve	To komplette MCC. En dyrket og en udyrket CVS
Mann et al, 2004 [12]	AC/CVS (#7699)	Ikke specificeret. Angiver primært blodig AC).	1,68%	Mikrosatellitter er 99,95% af prøver er informative.	Angiver "significant level"	Finder komplet MCC men angiver ikke andelen. Ikke verificeret ved paternel prøve.
Jorge et al, 2014 [18]	CVS (#460)	Primært udyrket, men ikke specificeret	1,7% (8/460)	Mikrosatellitter	Ikke specificeret	Finder tilsyneladende en komplet MCC.
Grati et al, 2013 [17]	CVS (#15025)	Sammenligning mellem kort og langtidsdyrkede celler.	1,8% (135/15025)	Cytogenetisk. Efterfulgt af mikrosatellitter	Ikke specificeret	2 af 135 viser komplet MCC (ren decidua). Identificeret ved at korttidsdyrkning mislykkedes. Angiver risikoen for betydnende MCC til 1/104.000
Tojilkovic-Mikic et al, 2005 [14]	AC/CVS (#254/53)	Udyrket	11% (28/254 AM)	Mikrosatellitter	Ikke specificeret	5 AC uden synligt blod viste MCC.
Weida et al, 2017 [7]	AC (#47)	Udyrket	68% har MCC 26% >5% MCC	Mikrosatellitter	>5% (ref til [8])	Us de første 2 ml af AC der normalt kasseres.
Lamb et al 2011 [16]	AC/CVS (#327/139)	Dyrket	0,9% / 4,3% (3/327, 6/139)	Ikke specificeret	Ikke specificeret	

Analyser til påvisning af MCC

Påvisning af MCC i prænatale prøver er direkte afhængig af sensitiviteten af det specifikke assay. Historisk blev MCC vurderet ved cytogenetiske markører i form af kønskromosomer ved kromosomanalysen. Med implementering af PCR-baserede analyser foretages MCC bestemmelse fortrinsvis på udyrket væv med en højere følsomhed end tidligere. Specifik bestemmelse af MCC baserer sig fortrinsvis på mikrosatellit analyser (kommercielt kit eller in-house) på DNA fra den prænatale prøve overfor DNA fra den gravide. MCC ses da som overtallige alleler eller biased allel-intensitet. I de fleste tilfælde vil MCC på 5 % kunne detekteres konfident.

Anvendes mikrosatellitter på kromosom 13, 18 og/eller 21 bør den gravide være informeret om dette og laboratoriet bør have klare retningslinjer for svarafgivelse. Det har været anført at MCC testen skal indeholde min. to informative markører [2] men det er arbejdsgruppens opfattelse at dette må bero på lokale retningslinjer.

I mange tilfælde vil evt. MCC kunne afsløres direkte af den diagnostiske test (fx qf-PCR, mikroarray/cytogenetiske analyser eller repeat-sygdom), og der vil være tilfælde hvor en specifik målrettet analyse for MCC ikke er nødvendig (se senere).

Hvis der udføres test for MCC, bør sensitiviteten af MCC analysen være højere end den diagnostiske PND analyse, for at sikre at et evt. lavt niveau af MCC ikke påvirker den diagnostiske analyse [2].

Betragtninger vedr. analysemetoders følsomhed overfor MCC

Der findes kun sparsom litteratur om følsomhed af de enkelte teknikker overfor MCC.

QF-PCR

QF-PCR ville kunne afsløre MCC med en høj sensitivitet i alle prøver, såfremt der benyttes et tilstrækkeligt antal markører.

Kromosom mikroarray

Array-CGH vil kunne indikere MCC såfremt fosteret har et Y-kromosom, dog med empirisk lav sensitivitet. Kromosom mikroarray der helt eller delvist baserer sig på SNPs, kan detektere MCC uafhængigt af fosterets køn, dog erfaringsmæssigt med mindre sensitivitet end QF-PCR. Sensitiviteten øges hvis både mor og graviditetsprodukt analyseres. Niveaueet af MCC skal være >20-50% for at kompromittere en diagnostisk kromosom mikroarray analyse, afhængig af størrelsen af abnormiteten [9] [16].

MLPA

MLPA vil kunne indikere MCC såfremt fosteret har et Y-kromosom, men metoden er ikke særlig egnet hertil. Empirisk skal der forekomme nær komplet MCC før Y-signalet ikke kan detekteres længere. Et enkelt studie finder at MCC graden skal være >30% for at medføre en diagnostisk usikkerhed ved detektion af en normal-allel tilblandet en DNA prøve heterozygot for en deletion. I et tilsvarende blandingsforsøg med en DNA prøve heterozygot for en duplikation, viste 40% tilblending ingen betydende usikkerhed [11].

Fragmentanalyser

Såfremt der undersøges med PCR og fragmentanalyse i form af mikrosatellitter (fx ved repeatsygdomme), vil analysen i mange tilfælde kunne afsløre både delvis og komplet MCC, afhængig af hvordan allellerne fordeler sig blandt forældrene.

Sangersekventering

Sangersekventering har typisk en sensitivitet over for mosaik SVN på ca.10-15 % afhængig af den specifikke nukleotidsekvens [23]. Der skal derfor empirisk forekomme >20% MCC for at det kan identificeres med Sangersekventering, forudsat analysen indeholder en informativ SNV som mor og foster har forskellig genotype for. Ved en dominant sygdom, hvor mor er heterozygot for mutationen, og fosteret ikke har arvet denne, vil risikoallellen teoretisk kun udgøre 25% af allellerne ved 50% MCC. Risikoallellen vil da ses ved Sangersekventering, hvor den abnorme allelbias bør blive bemærket, sammenlignet med en sand heterozygot kontrol. I den omvendte situation hvor far bærer risikoallellen og videregiver denne til fosteret vil risikoallellen ligeledes udgøre 25% af allellerne ved 50% MCC. Begge situationer bør udløse specifik test for MCC. Empirisk vurderes det således, at graden af MCC skal være ganske betydeligt (>10-30%) før man risikerer en fejldiagnose. Dette underbygges af en nyligt publiceret blandingsstudie [11].

NGS

NGS vil kunne afsløre MCC såfremt analysen indeholder en informativ SNV som mor og foster har forskellig genotype for. Teknikken kan potentielt afsløre selv meget små mængder af MCC, men oftest vil der være et bioinformatisk cut-off på 10-20% allelfrekvens for variant kald, svarende til et MCC niveau på 20-40%.

Empirisk skal der nær komplet MCC for at medføre en fejldiagnose.

Betragtninger vedr. vurdering og sortering for MCC i laboratoriet

Risiko for betydende MCC har udelukkende baggrund i prøvetagning og prøvehåndtering præanalytisk. Alle invasive prøver skal derfor nøje vurderes ved modtagelsen. Ved CVS-prøver sorteres vævet ved positiv selektion for føtalt væv, således at betydende mængder af maternelt decidua ikke indgår i det materiale der anvendes til selve analysen. Det selekterede væv til analyse vurderes visuelt.

MCC kan mistænkes ved

- Atypisk væv
- Lille prøve (særlig opmærksomhed)

Amnion

- Synlig blodtilblanding
- Grumset

Ved dyrkning

- Envelope/convolute celler i kultur

Hvis der på rekvisitionen er anført forbehold vedr. prøvetagning, skal der være særlig opmærksom på materialets beskaffenhed.

Arbejdsgruppens anbefalinger

Generelt anbefales specifik undersøgelse for MCC udført såfremt der er mistanke om MCC ud fra vurderingen af materialet. Dette gælder alle analyser uanset indikation. Atypisk udseende, lille biopsi eller vanskelig prøvetagning, fordrer særlig opmærksomhed om evt. betydende MCC.

Anbefalinger baserer sig på tilliden til, at vurdering af vævet ved prøvemodtagelse og dyrkning, vil give mistanke om betydende MCC.

Anbefalinger vedr. indikation for MCC test

- Mistanke om MCC ud fra vurdering af vævet.
- Kendt familiær genetisk risiko (fx monogen sygdom), kan, afhængig af lokale retningslinjer, udløse test for MCC.
- Udførende laboratorie kan selvstændig initiere test for MCC, hvis den diagnostiske analyse giver anledning hertil.

Iværksættelse af analyser for monogene sygdomme på grund af abnorme ultralydsfund, er ikke selvstændig indikation for MCC test.

Anbefalinger vedr. prøvetagning / håndtering

- Laboratoriet skal have en entydig procedure for at hver CVS evalueres mikroskopisk mhp. at sikre at der er tale om chorion villi. Ved tilstedeværelse af maternelle celler skal der foretages en positiv selektion af CVS væv, således at de maternelle celler ikke indgår i det materiale, der anvendes til analyse. Sorteringen bør dokumenteres og afvigelse fra normalen bør registreres og information herom skal følge prøven videre.
 - Prøver med abnormt udseende bør undersøges for MCC eller afvises
 - Ved prøver med lille mængde bør undersøgelse for MCC overvejes
 - Prøver der vurderes som udelukkende maternelle skal afvises

- Ved AC skal evt. synlig blodtilblanding noteres og information herom skal følge prøven videre. Ved synlig blodtilblanding/grumset fostervand kan prøven afvises eller bør som minimum undersøges for MCC. Røde blodlegemer i cellepellet efter centrifugering er ikke selvstændig indikation for at undersøge for MCC. AC kan evt. dyrkes hvorved der selekteres for føtalt materiale.
- Ønsker rekvirenten specifik test for MCC, er det rekvirentens ansvar at indhente en DNA prøve fra den gravide, der følger den prænatale prøve, samt oplyse det udførende laboratorie herom.
- Som udgangspunkt bør PND for monogene sygdomme udføres på udyrket væv.

Anbefalinger til hvornår undersøgelse for MCC kan undlades

- Hvis resultatet af den diagnostiske undersøgelse i praksis udelukker betydende MCC (fx tilstedeværelse af entydig paternel allel ved monogen sygdom).
- Hvis den primære analyse viser hanlig kønskromosombesætning og i øvrigt ikke giver mistanke om MCC.

Anbefalinger vedr. tekniske aspekter ved MCC

- Den diagnostiske analyse og test for MCC skal foretages på samme prøve / DNA oprensning.
- Den diagnostiske test og MCC test kan med fordel udføres af samme laboratorie, men dette er ikke et krav.
- MCC analysen bør indeholde et antal markører der sikrer en høj sensitivitet. Det er det enkelte laboratoriums ansvar at sikre den fornødne testsensitivitet evt. ved inddragelse af en paternel prøve.
- Sensitiviteten af evt. MCC analyse skal være højere end sensitiviteten af den diagnostiske analyse.
- Specifik analyse for MCC skal kunne påvise min. 10% maternel tilblanding.
- Hvis graden af påvist MCC vurderes at kunne påvirke resultatet af den diagnostiske analyse, bør analysen gentages på en ny prøve. Ved blodtilblandet amnion kan der dog evt. tilbydes dyrkning med efterfølgende analyse.
- Der bør ikke anvendes analyser der beror på selektiv allel detektion til prænatal diagnostik.

Anbefalinger vedr. svarafgivelse

Ved PND analyse for monogen sygdom bør det af analysesvaret entydigt fremgå i hvilket omfang og hvem der har udført test for MCC.

Hvis der i anden sammenhæng er udført analyse for MCC, bør dette fremgå af svaret.

Påvisning af et lavt niveau af MCC, der ikke influerer den diagnostiske analyse, behøver ikke nævnes specifikt i analysesvaret.

Lokale forhold

- Det enkelte laboratorium bør have retningslinjer for håndtering af problematikker vedr. MCC.

Referencer

1. Mulcahy, M.T. and J. Jenkyn, *Maternal cell contamination: a problem in amniocentesis*. Hum Genet, 1976. **34**(1): p. 115-6.
2. CMGS and R.M. Stephanie Allen, A.B., Kathy Mann, Becky Treacy, Practice guidelines for the Testing for maternal cell contamination (MCC) in prenatal samples for molecular studies. CMGS website, 2008.
3. Nagan, N., et al., Laboratory guidelines for detection, interpretation, and reporting of maternal cell contamination in prenatal analyses a report of the association for molecular pathology. J Mol Diagn, 2011. **13**(1): p. 7-11.
4. Ghi, T., et al., ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis. Ultrasound Obstet Gynecol, 2016. **48**(2): p. 256-68.
5. Schrijver, I., S.C. Cherny, and J.L. Zehnder, Testing for maternal cell contamination in prenatal samples: a comprehensive survey of current diagnostic practices in 35 molecular diagnostic laboratories. J Mol Diagn, 2007. **9**(3): p. 394-400.
6. Vanakker, O., et al., Implementation of genomic arrays in prenatal diagnosis: the Belgian approach to meet the challenges. Eur J Med Genet, 2014. **57**(4): p. 151-6.
7. Weida, J., et al., *Prevalence of maternal cell contamination in amniotic fluid samples*. Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2017. **30**(17): p. 2133-2137.
8. Winsor, E.J., et al., The role of molecular microsatellite identity testing to detect sampling errors in prenatal diagnosis. Prenat Diagn, 2010. **30**(8): p. 746-52.
9. Lamb, A.N., et al., Defining the impact of maternal cell contamination on the interpretation of prenatal microarray analysis. Genet Med, 2012. **14**(11): p. 914-21.
10. Steinberg, S., et al., Biochemical analysis of cultured chorionic villi for the prenatal diagnosis of peroxisomal disorders: biochemical thresholds and molecular sensitivity for maternal cell contamination detection. J Med Genet, 2005. **42**(1): p. 38-44.
11. Koczok, K., et al., Interfering effect of maternal cell contamination on invasive prenatal molecular genetic testing. Prenat Diagn, 2018.
12. Mann, K., et al., Strategies for the rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidy. Eur J Hum Genet, 2004. **12**(11): p. 907-15.
13. Mann, K., et al., Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service within the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis. Lancet, 2001. **358**(9287): p. 1057-61.
14. Stojilkovic-Mikic, T., et al., Maternal cell contamination of prenatal samples assessed by QF-PCR genotyping. Prenat Diagn, 2005. **25**(1): p. 79-83.
15. Hertz, J.M., P.K. Jensen, and A.J. Therkelsen, *Convuluted cells as a marker for maternal cell contamination in CVS cultures*. Clin Genet, 1987. **31**(6): p. 410-2.
16. Lamb, A.N., *Laboratory aspects of prenatal microarray analysis*. Clin Lab Med, 2011. **31**(4): p. 615- 30, ix.
17. Grati, F.R., et al., QF-PCR as a substitute for karyotyping of cytotrophoblast for the analysis of chorionic villi: advantages and limitations from a cytogenetic retrospective audit of 44,727 first- trimester prenatal diagnoses. Prenat Diagn, 2013. **33**(5): p. 502-8.
18. Jorge, P., et al., A 26-Year Experience in Chorionic Villus Sampling Prenatal Genetic Diagnosis. J Clin Med, 2014. **3**(3): p. 838-48.
19. Welch, R.A., et al., *Operator experience and sample quality in genetic amniocentesis*. Am J Obstet Gynecol, 2006. **194**(1): p. 189-91.
20. CMGS, *Professional guidelines for clinical cytogenetics and clinical genetics. QF-PCR for the diagnosis of aneuploidy*. Best Practice guidelines (web) http://www.acgs.uk.com/media/774784/mcc_08.pdf, 2012. **v3.01. 2012.**
21. Winsor, E.J., et al., *Maternal cell contamination in uncultured amniotic fluid*. Prenat Diagn, 1996. **16**(1): p. 49-54.
22. Estabrooks, L.L., J.S. Hanna, and A.N. Lamb, Overwhelming maternal cell contamination in amniotic fluid samples from patients with oligohydramnios can lead to false prenatal interphase FISH results. Prenat Diagn, 1999. **19**(2): p. 179-81.
23. Tsiatis, A.C., et al., Comparison of Sanger sequencing, pyrosequencing, and melting curve analysis for the detection of KRAS mutations: diagnostic and clinical implications. J Mol Diagn, 2010. **12**(4): p. 425-32.