



ETS und NIPT

Peter Kozlowski
praenatal.de

19. Kongress der DGPGM 2020
10.-11. Dezember 2020

Program

DEGUM
zertifiziert

19. Kongress
Deutsche Gesellschaft
für Pränatal- und Geburtsmedizin

ALS WEB-KONGRESS

10.-11. Dezember 2020
Vorprogramm: 9. Dezember 2020

The poster features a central illustration of various laboratory glassware and bottles in a colorful, artistic style. The text is arranged in a clear, hierarchical layout, with the title 'Program' at the top, followed by the DEGUM certification logo, the congress title and society name, the 'ALS WEB-KONGRESS' banner, and the dates at the bottom.



Pränatale Tests **4.0**

„every pregnant woman is at risk“

Prae-
eklampsie

IUGR

An-
euploidien

Fehlbildung

Struktur-
anomalien

Molekular-
genetische
Anomalien



Pränatale Tests 4.0

Disversifikation nach kombiniertem ETS

Biochemie

β-HCG
PAPP-A
PIGF

Doppler
Mat. Faktor

Screening
an
zellfreier
DNA

Frühe
Organ-
Diagnostik
11⁺⁰ bis 13⁺⁶

Zytogenetik

FISH

CMA
Array-CGH
SNP
Genpanels
Exom



Screening nach Richtlinien G-BA

- MuRiLi fokussieren **nicht** auf **frühzeitige** Erkennung fetaler Fehlbildungen und Identifizierung von Risikograviditäten
- Auch bei 20 Wochen ist Feindiagnostik nicht generell vorgesehen
- EBM und GOÄ schließen primäre Identifizierung molekulargenetisch erfassbarer Anomalien aus
- Viele Anomalien werden im Graubereich erfasst



cfDNA 2021 de facto Freigabe

Methodenbewertung

Nicht-invasiver Test zum Vorliegen von Trisomien als mögliche Alternative zu invasivem Eingriff

Berlin, 19. September 2019 – Der Gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) hat in seiner öffentlichen Sitzung am Donnerstag in Berlin die Anwendungsmöglichkeiten und -grenzen nicht-invasiver molekulargenetischer Tests (NIPT) zulasten der gesetzlichen Krankenversicherung (GKV) abschließend beraten. Der Beschluss sieht vor, dass ein NIPT in begründeten Einzelfällen und nach ärztlicher Beratung unter Verwendung einer Versicherteninformation eingesetzt werden kann. Ziel ist es, die zur Klärung der Frage des Vorliegens einer Trisomie 13, 18 oder 21 erforderlichen invasiven Untersuchungen – Chorionzottenbiopsie (Biopsie der Plazenta) oder Amniozentese (Fruchtwasseruntersuchung) – und das damit verbundene Risiko einer Fehlgeburt nach Möglichkeit zu vermeiden. Die Inanspruchnahme eines NIPT zulasten der GKV ist erst möglich, wenn die verpflichtend vorgesehene Versicherteninformation entwickelt und vom G-BA beschlossen wurde. Der Beschluss wird dazu voraussichtlich Ende 2020 gefasst. Voraussetzung ist zudem, dass das Bundesministerium für Gesundheit (BMG) die Beschlüsse nicht beanstandet.



Wann ist cfDNA indiziert?

NIPT als Leistung der GKV im begründeten Einzelfall

Bei NIPT handelt es sich um seit 2012 auf dem Markt verfügbare Tests, mit denen in der Schwangerschaft das Risiko einer fetalen Trisomie 13, 18 oder 21 bestimmt werden kann. Hierbei wird die im Blut der Schwangeren vorhandene zellfreie fetale DNA molekulargenetisch analysiert.

Ein NIPT kann zukünftig zulasten der GKV angewendet werden, wenn im Rahmen der ärztlichen Schwangerenbetreuung die Frage entsteht, ob eine fetale Trisomie vorliegen könnte, und dies für die Schwangere eine unzumutbare Belastung darstellt. Ziel ist es, sie in dieser Situation möglichst nicht dem mit einer invasiven Untersuchung einhergehenden Risiko einer Fehlgeburt auszusetzen. Nur wenn ein Befund auffällig ist, bedarf es für eine gesicherte Diagnosestellung der Abklärung mittels eines invasiven Verfahrens. Liegen bereits Befunde vor, die eine Amniozentese oder Chorionzottenbiopsie erforderlich machen, kann der Test nicht zulasten der GKV erbracht werden.

Es dürfen nur NIPT-Verfahren verwendet werden, deren Testgüte nachweislich sehr hoch ist.



„informed consent“

Beratung und Aufklärung zu vorgeburtlichen genetischen Untersuchungen

Frauen sollen dabei unterstützt werden, eine eigenständige, informierte Entscheidung darüber zu treffen, ob sie diese vorgeburtliche genetische Untersuchung für erforderlich halten. Die ärztliche Aufklärung und Beratung über das Wesen, die Bedeutung und Tragweite der genetischen Untersuchung und deren mögliche Befunde hat ausdrücklich ergebnisoffen und in verständlicher Form stattzufinden. Insbesondere ist von Seiten der Ärztin oder des Arztes auch das jederzeitige Recht der Schwangeren auf Nichtwissen, auch für Teilergebnisse des NIPT, zu betonen.

Im Zusammenhang mit der Fragestellung Trisomie ist von der Ärztin oder dem Arzt auf Kontaktmöglichkeiten mit betroffenen Familien hinzuweisen.

Ärztinnen und Ärzte, die Schwangere vor und nach Durchführung des Tests aufklären und beraten, müssen über eine Qualifikation gemäß dem Gendiagnostikgesetz und den Richtlinien der Gendiagnostik-Kommission verfügen.



Gemeinsame Aufgabe in der PGM

Pränatale Beratung und Aufklärung

Was können wir über den Feten erfahren

- und wieviel will die Schwangere wissen?

- Nur zeitentsprechendes Wachstum, IUGR
- Frühe Organdiagnostik
- Maternofetale Erkrankungen (PE)
- Genetische Anomalien differenzieren
 - ? Ausschluss letaler Anomalien
 - ? nur Trisomien ausgeschlossen
 - ? oder auch seltene schwerwiegende Erkrankungen



Anomalien pro 10.000 Graviditäten

ACOG 2020, DEGUM 2019

Alter	Trisomie 21	Trisomie 18,13	SCA	Seltene oder Array	Genetik gesamt	Ultra- schall
20	8 1:1250	3 1:3300	34 1:300	37 1:270	82 1:122	150 1:67
25	10 1:1000	3 1:3300	34 1:300	37 1:270	84 1:119	150 1:67
30	14 1:714	6 1:1600	34 1:300	37 1:270	91 1:110	150 1:67
35	34 1:294	13 1:770	35 1:290	37 1:270	119 1:84	150 1:67
40	116 1:86	44 1:230	51 1:200	37 1:270	248 1:40	150 1:67



Was ist das Ziel unseres Screenings?

ACOG 2020, DEGUM 2019

Alter	Trisomie 21,18,13	SCA	Seltene oder Array	Genetik gesamt	Ultra- schall
20	5%	15%	16%	35%	65%
25	6%	15%	16%	36%	64%
30	8%	14%	15%	38%	62%
35	17%	13%	14%	44%	56%
40	40%	13%	9%	62%	38%



KONSENSPAPIER NIPT

Aufnahme des „nicht-invasiven Pränataltests“ (NIPT) in den Leistungskatalog der gesetzlichen Krankenversicherung – Thesen

Das Konsensus-Treffen zwischen Vertretern des Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V., Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V., Berufsverband niedergelassener Pränatalmediziner e.V., Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V., Deutsche Gesellschaft für Pränatal- und Geburtsmedizin e.V., Deutsche Gesellschaft für Humangenetik e.V. und Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin e.V. am 20. Mai 2019 in Bonn hat sich auf folgende Thesen zum „nicht-invasiven Pränataltest“ verständigt:

Ein nicht-invasiver Pränataltest (NIPT) ermöglicht eine Analyse von zellfreier fetaler DNA im mütterlichen Blut, aktuell mit hoher bzw. akzeptabler Sensitivität und Spezifität für die Erkennung von Veränderungen der Chromosomenzahl. Vor einer Überführung in die Patientenversorgung als einer von verschiedenen diagnostischen Bausteinen in der Mutterschaftsvorsorge sind folgende Aspekte zu berücksichtigen:

„ ... besonders bei altersunabhängiger Inanspruchnahme des NIPT besteht zusammengenommen eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine fetale Fehlbildung, früh nach Geburt manifeste Krankheit oder strukturelle Chromosomenveränderung als für eine Trisomie der Chromosomen 13, 18 oder 21.

„Durch adäquate Beratung muss bei unauffälligem NIPT der Eindruck einer **scheinbaren Garantie von Gesundheit** verhindert werden.“



Positive und negative Prädiktion

	Prävalenz	DR	falsch positiv	PPV	NPV
Trisomie 21 38 Jahre	1:100	99%	0,2%	83%	99,9%
Trisomie 21 28 Jahre	1:1.000	99%	0,2%	33%	99,7%
22q11.2	1:1.000	70%	0,2%	26%	99,9%
microdel	1:10.000	90%	1%	0,9%	99,9%
PE < 32 w	1:200	80%	5%	7,4%	99,9%
Fetales Echo	1:200	50%	5%	4,8%	99,7%



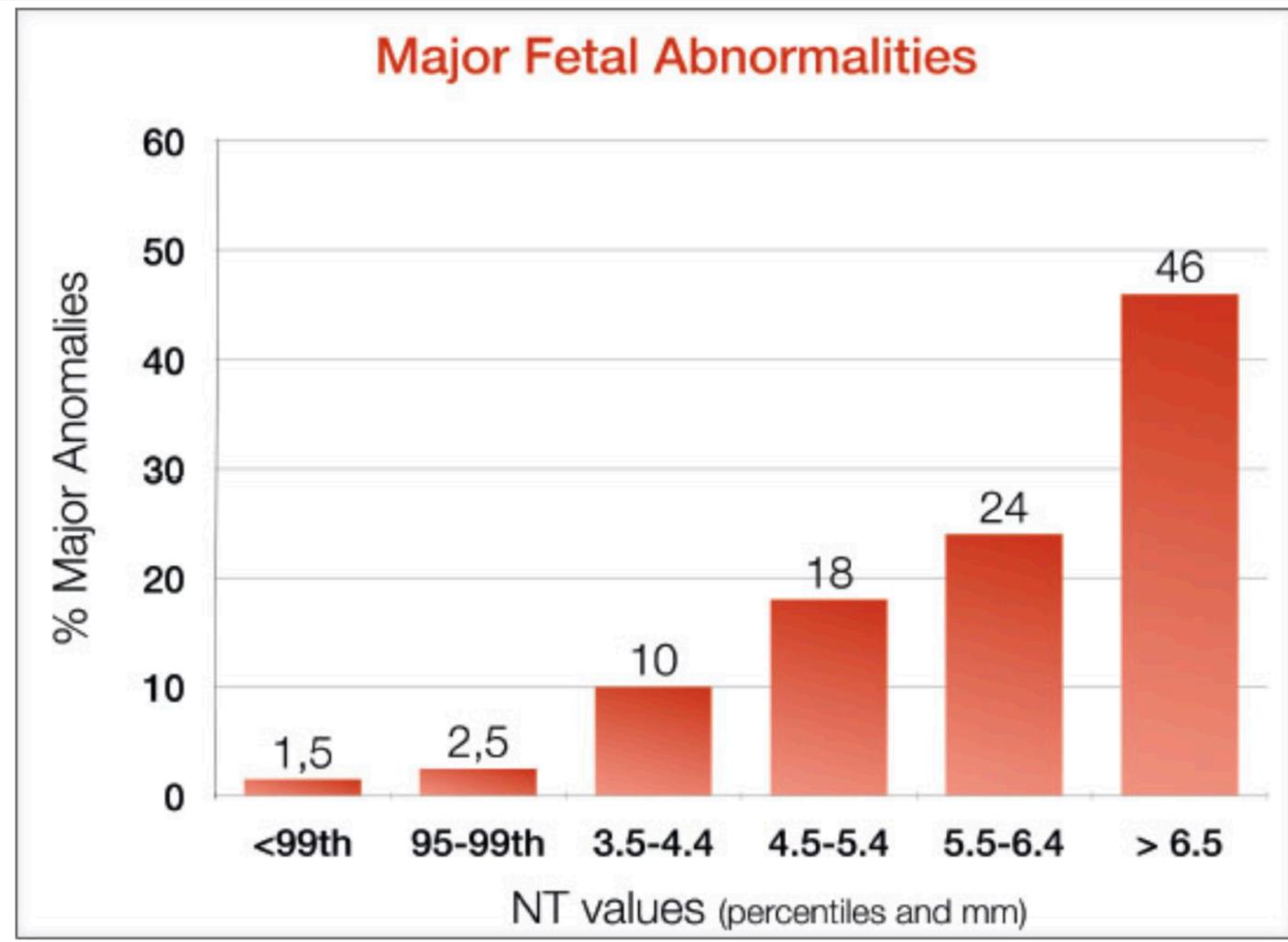
Wann NIPT einsetzen?

Die Mehrzahl der Anbieter in D empfiehlt mittlerweile einen cfDNA-Test erst nach einem differenzierten Ultraschall 11-13 Wochen.





Prognoseparameter NT

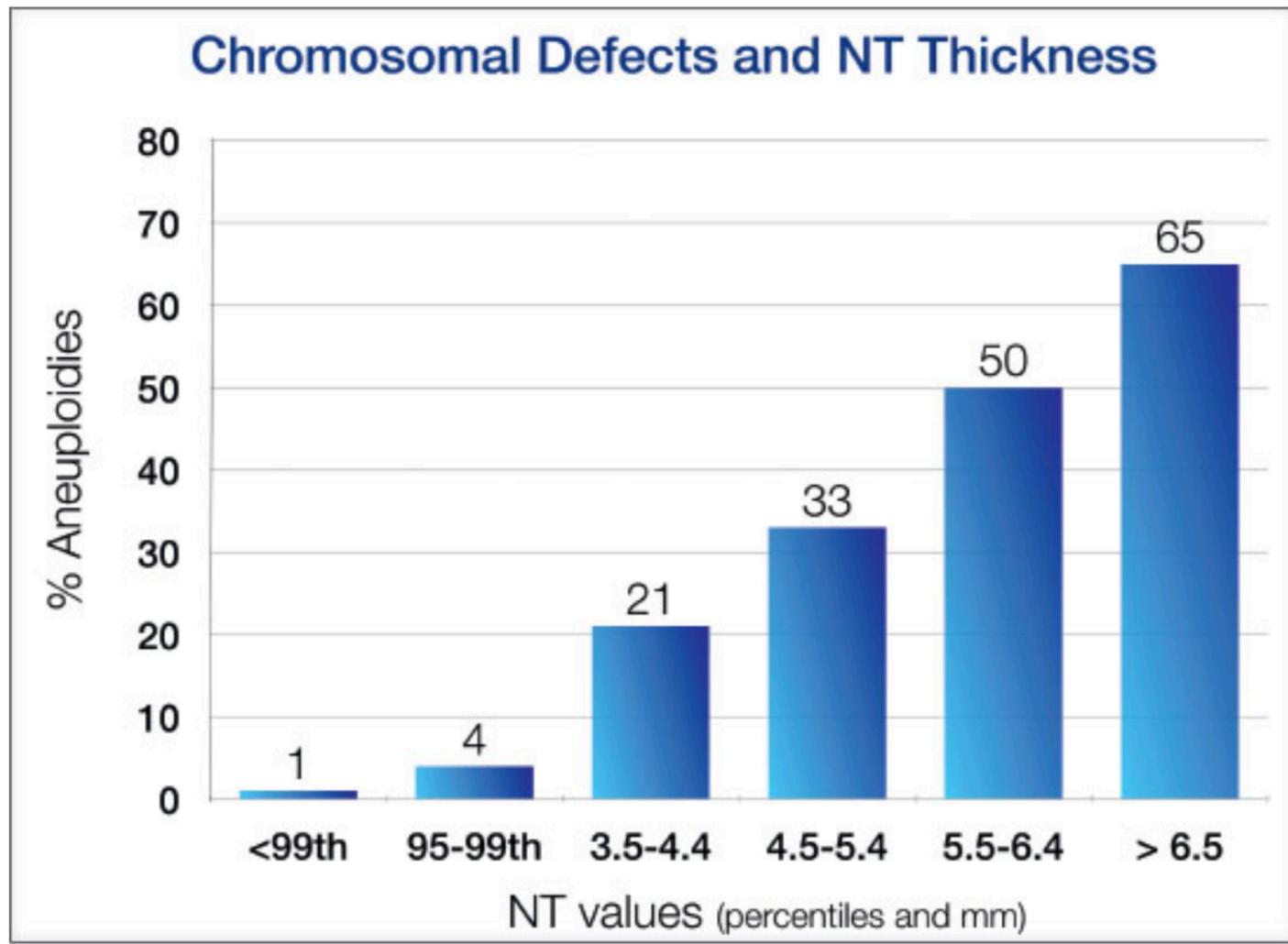


Abuhamad &
Chaoui

Daten
Souka 2005
AJOG



Prognoseparameter NT

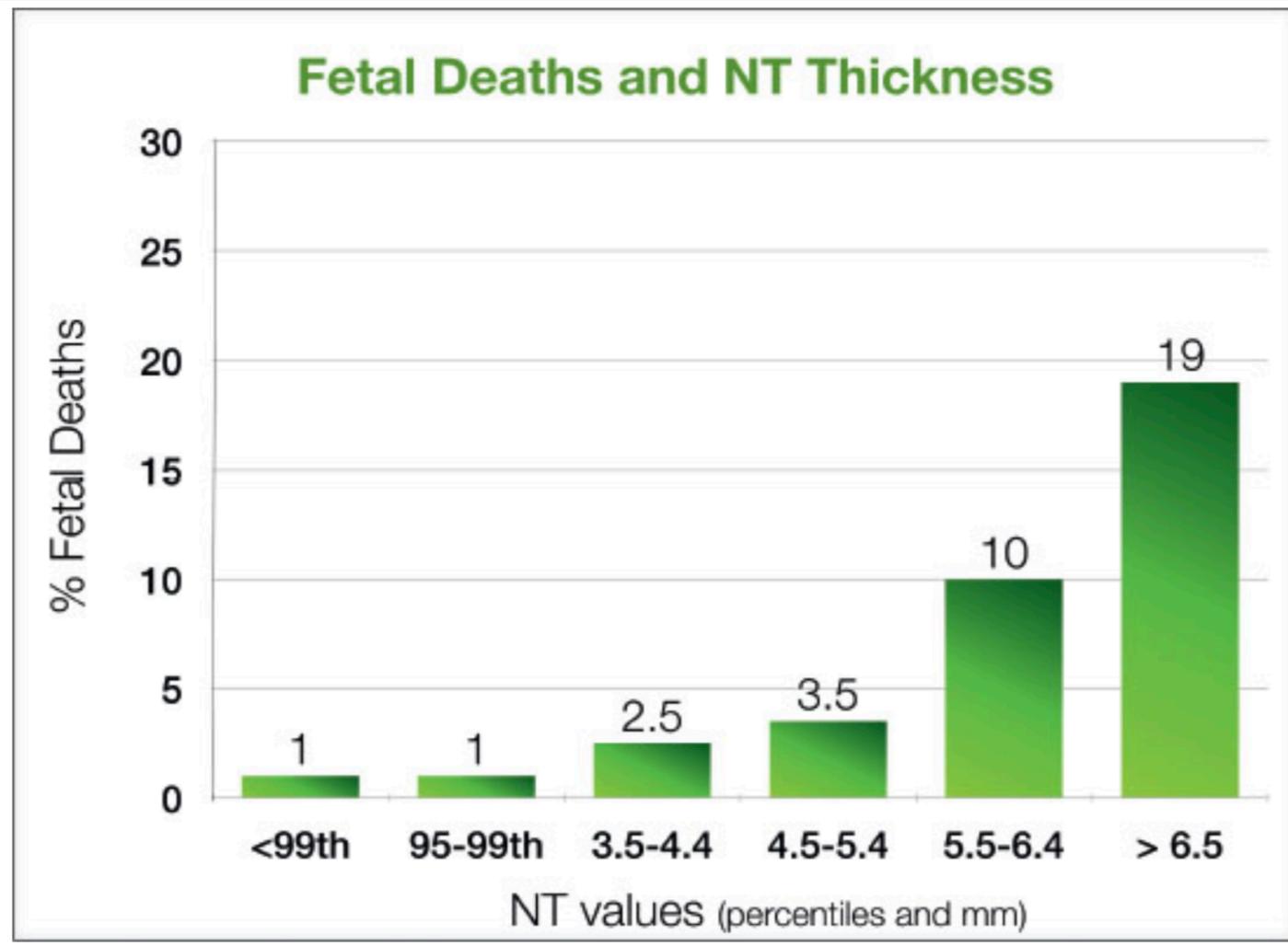


Abuhamad &
Chaoui

Daten
Souka 2005
AJOG



Prognoseparameter NT

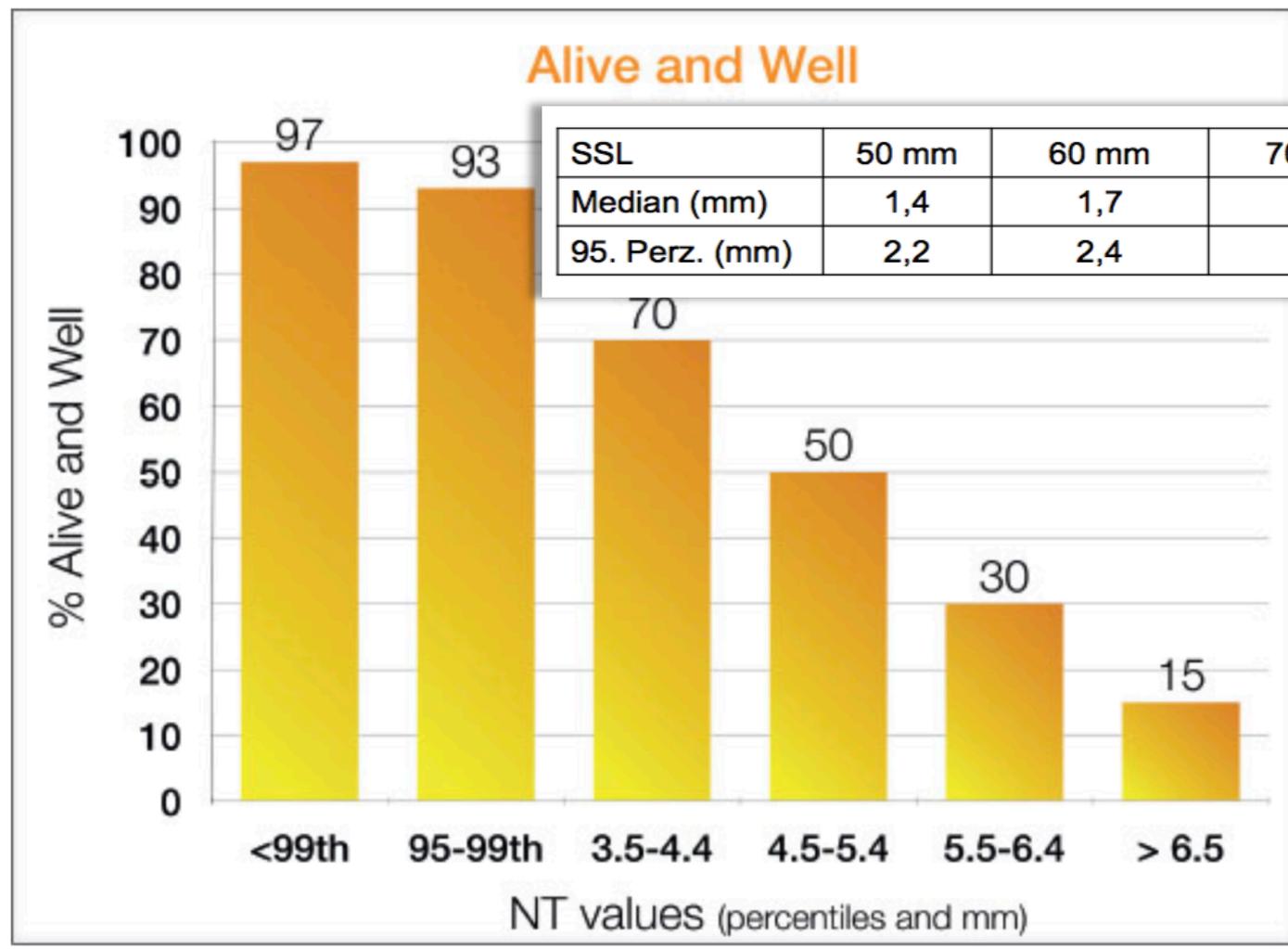


Abuhamad &
Chaoui

Daten
Souka 2005
AJOG



Prognoseparameter NT



SSL	50 mm	60 mm	70 mm	80 mm
Median (mm)	1,4	1,7	1,9	2,0
95. Perz. (mm)	2,2	2,4	2,6	2,8

Abuhamad &
Chaoui

Daten
Souka 2005
AJOG



Diagnostik bei NT-Verbreiterung

NT 95.-99. Perzentile

10,4% chromosomale Pathologie

NT > 99. Perzentile

34,8%

Petersen 2014

NT < 3,0mm

1,7% Mikroarray positiv

NT 3,0-3,4mm

7,1%

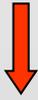
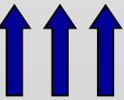
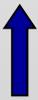
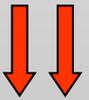
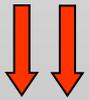
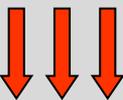
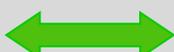
NT > 3,4mm

13%

Maya 2017



Prädiktion Biochemie und NT

PAPP-A	β -HCG	NT >95 P.	Erhöhte Wahrscheinlichkeit von
			Trisomie 21
			Trisomie 13,18
			Triploidie 69,XYY
			Triploidie 69,XXX/XXY DNA-Defekte
			Praeeklampsie (additiv PI GF)



Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening

O. B. PETERSEN*#, I. VOGEL†#, C. EKELUND‡, J. HYETT§, A. TABOR ‡, the Danish Fetal Medicine Study Group and the Danish Clinical Genetics Study Group

*Fetal Medicine Unit, Department of Obstetrics, Aarhus University Hospital, Aarhus, Denmark; †Department of Clinical Genetics, Aarhus University Hospital, Aarhus, Denmark; ‡Fetal Medicine Unit, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark; §Department of High Risk Obstetrics, Royal Prince Alfred Hospital, Sydney, Australia

193.638 ETS in DK 2008-2010

1.122 Aneuploidien (Prävalenz 0,6%)

23,4% nicht mittels cfDNA erkennbar

1,6% Aneuploidien

- PAPP-A < 0,2 MoM
- β -HCG < 0,2 MoM oder > 5 MoM
- Alter > 45
- NT > 95. Perzentile

Petersen 2014 UOG

Conclusions A significant proportion of karyotypic abnormalities will be missed by targeted NIPT. Women of advanced maternal age, or with increased fetal NT or abnormal biochemistry, have a higher risk of having a fetus affected by an atypical abnormal karyotype and need to be counseled accordingly when considering NIPT.



Prävalenz atypischer Anomalien

Ultrasound Obstet Gynecol 2018; 51: 487–492
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.18979



Prenatal diagnostic testing and atypical chromosome abnormalities following combined first-trimester screening: implications for contingent models of non-invasive prenatal testing

A. LINDQUIST^{1,2,3}, A. POULTON¹, J. HALLIDAY^{1,4} and L. HUI^{1,2,3}

¹Public Health Genetics, Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australia; ²Mercy Perinatal, Mercy Hospital for Women, Melbourne, Australia; ³Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Melbourne, Melbourne, Australia; ⁴Department of Paediatrics, University of Melbourne, Melbourne, Australia

KEYWORDS: aneuploidy; combined first-trimester screening; NIPT; non-invasive prenatal testing; PAPP-A; serum screening

2014-2015
n=103.319 komb. ETS
>1:300 als „high risk“

Atypische Anomalien 4,6% bei cETS >1: 10
1,4% bei >1:300

90% der atypischen Anomalien sind in der Gruppe
cETS >1:100, β -HCG u/o PAPP-A <0,2 MoM
u/o **US** Struktur-anomalie

 Individuelle Serummarker separat betrachten!

Empfehlungen der DEGUM, der ÖGUM, der SGUM und der FMF Deutschland zum Einsatz von Ersttrimester-Screening, früher Fehlbildungsdiagnostik, Screening an zellfreier DNA (NIPT) und diagnostischen Punktionen

DEGUM, ÖGUM, SGUM and FMF Germany Recommendations for the Implementation of First-Trimester Screening, Detailed Ultrasound, Cell-Free DNA Screening and Diagnostic Procedures

Autoren

Peter Kozlowski¹, Tilo Burkhardt², Ulrich Gembruch³, Markus Gonser⁴, Christiane Kähler⁵, Karl-Oliver Kagan⁶, Constantin von Kaisenberg⁷, Philipp Klaritsch⁸, Eberhard Merz⁹, Horst Steiner¹⁰, Sevgi Tercanli¹¹, Klaus Vetter¹², Thomas Schramm¹³

Diagnostische Punktion anbieten bei

- Fehlbildungen
- Frühe Wachstumsrestriktion
- NT > 95. Perzentile
- Erhöhtem ETS-Risiko
- PAPP-A <0,2 MoM
u/o fβHCG <0,2 MoM (> 5MoM)
- cfDNA auffällig oder Testversager
- Mütterlicher Wunsch



Diagnostische Punktionen

Verlustrisiko ist **mit oder ohne** Punktion korreliert mit

- Alter
- Hypertensive Erkrankung
- BMI
- β -HCG
- PAPP-A
- Blutung
- Abortanamnese
- Nikotinabusus
- Variable: Erfahrung der Punkteure

Akolekar 2015
Wulff 2016
Beta 2019



TABLE 2 - Chromosomal abnormalities reported in apparently isolated FGR²⁴

Numeric chromosomal abnormalities

Trisomy 21, Trisomy 18, Trisomy 13, Trisomy 16, Trisomy 7

69,XXX or 69,XXY **90% der Molen**

47,XXX and 47,XXY

45,X

Mosaic trisomy 21

Trisomy 16 confined to the placenta **IUGR 50%, Fehlbildung 20%, PE 20%, 20-30% unauffällig**

Structural chromosomal abnormalities

47,XY,4p-

46,XY,+16q

46,XX,-14,+rob(14;21)

46,XY,del 12(p12)

46,XY,t(2;14)(q23;q32)

TABLE 8 Summary of the main categories of genetic disorders associated with isolated FGR

Known prevalence in FGR	Common anomalies	Testing type	Tissue
CHROMOSOMAL ABNORMALITIES			
Pure (all cells affected)			
In: • FGR: 19% • Isolated FGR: 6.4% • Early FGR (<third centile): 18%	Triploidy, Trisomy 18	Karyotype, CMA, FISH, QF-PCR	CVS, AF, cord blood
Confined placental mosaicism			
In FGR: 9–16% (unknown rate in isolated FGR)	CPM16, Tetraploidy	Karyotype, CMA, FISH	CVS, placental biopsy
SUBMICROSCOPIC CHROMOSOMAL ABNORMALITIES			
In: • Isolated FGR with normal karyotype: 4.8-5.6% • Isolated FGR with nonstructural anomalies and normal karyotype: 10%	dup22q11.1, delXp22.3, del7q11.23	CMA, FISH	CVS, AF, cord blood

MONOGENIC DISORDERS

Unknown rate

EPIGENETIC CHANGES

- In:
- Unknown rate
 - CPM: 2%

REVIEW

Genetic syndromes associated with isolated fetal growth restriction

Eva Meler¹ | Silvina Sisterna² | Antoni Borrell¹

Mikroarray (CMA):
Diagnostischer Zugewinn bei unauffälligem Karyotyp etwa 5%



Erst NIPT, Ultraschall ?

36 J, G2P1

11+0 cfDNA unauffällig

12+2 NT 3,1 mm

CVS: V.a. Strukturanomalie Chr. 8

15+1 AZ + Chromosomen der Eltern

18+2 Partielle Monosomie 8p und
zwei partielle Trisomien 8q

18+6 Abbruch aus medizinischer Indikation



Test	Prinzip	Screeningparameter außer 21,18,13,X,Y	vanish. twin	Eizell- spende	€
fetalis	targeted paired-end	45,X	nein	ja	269
harmony	targeted SNP für FF	nur 21 +18,13 +SCA 22q11.2	nein	ja	199 229 299 +35
NIPT	targeted paired-end	nur 21 +18,13 +SCA +>7Mb+RAT	FPR höher	ja	269 269 299 /349
Panorama	SNP	Triploidie SCA, Triploidie, mo/di 22q11 1p36, 5p, PWS/AS	ja	ja	269 329 379 479
PraenaTest	qPCR oder random MPS	nur 21 +18,13 +RAT +18,13,SCA +RAT 22q11.2	ja	ja	129 228 /378 268 /418 +39
Previa	MPS PCR	SCA microdel	FPR höher	ja	199 249 349
Veracity	Target capture enrichment	SCA 22q11,1p36, 17p11.2, 4p16.3	ja	ja	229 269 299

7. Dezember 2020



Bewertung der „failed results“

The **NEW ENGLAND**
JOURNAL *of* **MEDICINE**

ESTABLISHED IN 1812

APRIL 23, 2015

VOL. 372 NO. 17

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.

3% Versager

Rate pathol. Befunde bis 10x höher

BMI höher

Plazenta kleiner



Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of a failed result

R. REVELLO*, L. SARNO*, A. ISPAS*, R. AKOLEKAR*† and K. H. NICOLAIDES*

*Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK; †Department of Fetal Medicine, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK

KEYWORDS: cell-free DNA; fetal fraction; first-trimester screening; non-invasive prenatal testing; trisomy 21

	Anzahl	Median FF (%)	Testversager (%)
unauffällig	10.689	11,0	2,9
Trisomie 21	160	10,7	1,9
Trisomie 18	50	8,6	8,0
Trisomie 13	13	7,0	6,3

Tab. 3: Anteil plazentarer DNA (FF) und Testversager in euploiden und trisomen Schwangerschaften 10-14 SSW (Daten nach Revello 2016)

Conclusions In cases of a failed cfDNA test, the rate of trisomies 18 and 13, but not trisomy 21, is higher than in those with a successful test. In the management of such cases, the decision in favor of invasive testing should depend on the risk of prior screening and the results of detailed ultrasound examination. Copyright © 2016 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.



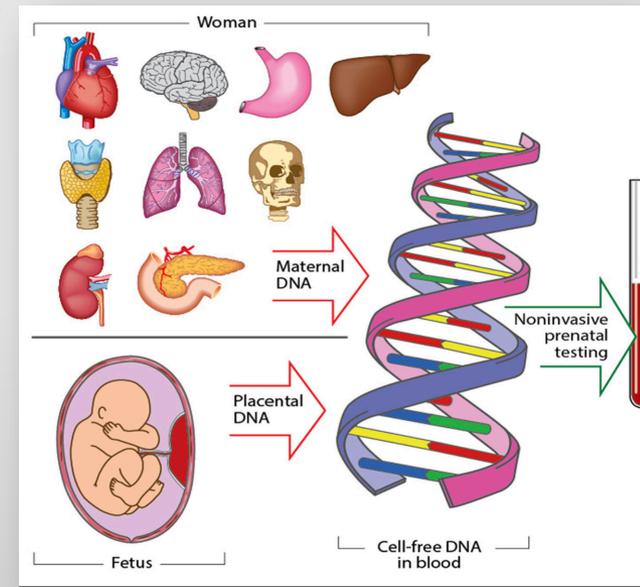
Diskrepante Befunde

niedrige placentare (fetale) Fraktion

begrenzte placentare Mosaik

fetoplacentare Mosaik

Sequenziertiefe



vanishing twin

maternale Anomalie des Karyotyps

okkultes maternales Malignom

Mutter und Plazenta werden gescreeent



Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of The Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis

M. M. GIL^{1,2,3}, S. GALEVA^{1,4}, J. JANÍ⁵, L. KONSTANTINIDOU¹, R. AKOLEKAR^{4,6},
M. N. PLANA^{7,8} and K. H. NICOLAIDES¹

1.122 Zwillinge

4,6%

kein Ergebnis

6,5%

kein Karyotyp (Verlust oder lost to follow up)

16 von 17 Trisomie 21 korrekt

9 von 10 Trisomie 18 korrekt

1 von 2 Trisomie 13 korrekt

0,6% falsch positiv (6 von 997)

Gil 2019 UOG



Sex Chromosome Anomalies: PPV

SCA	Anzahl	PPV	PPV nach CVS	PPV nach AC
45,X	62	39%	55%	17%
47,XXX	37	30%		
47,XXY	40	58%		
47,XYY	5	80%		

Lüthgens et al 2020
Prenat Diagn



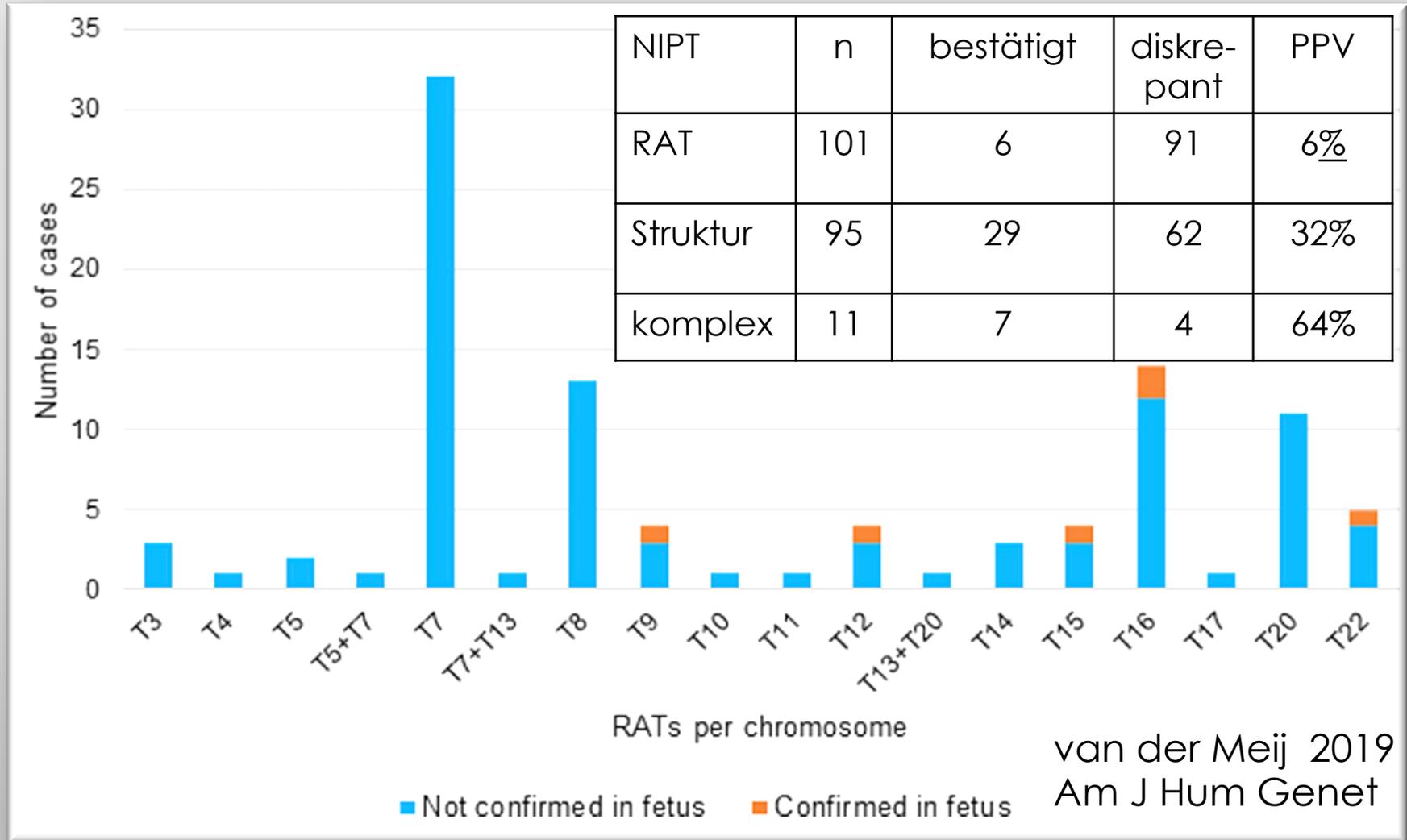
NIPT und Mikrodeletionen

Syndrom	Prävalenz* (1 auf)	Größe (Mb)	Auswirkungen
22q11.2 DiGeorge	1-2.000	3,0 (85%)	Herz (conotruncal), Gaumen, Immunsystem, Sprache, milder Entwicklungsrückstand
1p36	10.000	3,5 (40%)	ID
Angelman	12-20.000	3 (70%) 7% UPD 10% UBE3A	ID, Krämpfe
Prader-Willi	10-30.000	3 (70%) 25% UPD	Hypotonie, Adipositas, ID Hypogonadismus
Cri-du-chat	20-50.000	9-11	Schwere ID, Mikrocephalie
Wolf-Hirschhorn	20-50.000	2-30 Mb	Schwere ID, Skelett, Herz

* bei Lebendgeborenen



RATs und Strukturanomalien





NIPT-Befunde außer Trisomien

The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine

ISSN: 1476-7058 (Print) 1476-4954 (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/ijmf20>

Cell-free DNA analysis in maternal blood:
comparing genome-wide versus targeted
approach as a first-line screening test

Sidonie de Wergifosse, Elisa Bevilacqua, Iris Mezela, Sarah El Haddad,
Caroline Gounongbe, Jérôme de Marchin, Valeria Maggi, Stéphanie Conotte,
Dominique A. Badr, Jean-François Fils, Meriem Guizani & Jacques C. Jani

de Wergifosse 2019 JMFNM
Brüssel

3.373 MPS-NIPT
97,5% follow up

HBcfDNA – n= 3.373 – davon 28 (0,8%) rare incidental findings

Anomalie	entdeckt	bestätigt	Besonderheit
Seltene Trisomien	6	0	
Seltene Monosomien	1	0	
Strukturanomalien	17	3	8 von 14 maternal
Gonosomen	4	0	3 von 4 maternal



Kongenitale Anomalien bei 12 SSW

Numerische
Anomalien

Trisomien, X,Y
1 : 500

Zyto-
genetik

Zytogenetik
1 : 250

Deletionen
Duplikationen
Monogene
Defekte

Molekulargenetik
1 : 120

Fetale
Struktur-
anomalien

Ultraschall
1 : 80