Published online: 2018-07-12

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 Kozlowski[1], Tilo Burkhardt[2], Ulrich Gembruch[3], Markus Gonser[4], Christiane Kähler[5], Karl-Oliver Kagan[6], Constantin von Kaisenberg[7], Philipp Klaritsch[8], Eberhard Merz[9], Horst Steiner[10], Sevgi Tercanli[11], Klaus Vetter[12], Thomas Schramm[13]

Institute

1 praenatal.de, Prenatal Medicine and Genetics, Düsseldorf, Germany
2 Clinic of Obstetrics, University Hospital Zurich, Switzerland
3 Department of Obstetrics and Perinatal Medicine, Medical University Bonn, Germany
4 Department of Obstetrics and Prenatal Medicine HELIOS Dr. Horst Schmidt Kliniken, Wiesbaden, Germany
5 Prenatal Medicine, Erfurt, Germany
6 Department of Obstetrics and Prenatal Medicine, Medical University Tübingen, Germany
7 Obstetrics and Fetal Medicine, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Hannover Medical School, Hannover, Germany
8 Department of Obstetrics and Gynecology, Medical University Graz, Austria
9 Center for Ultrasound and Prenatal Medicine, Frankfurt, Germany
10 Praenamed, Salzburg, Austria
11 Ultraschallpraxis Freie Strasse, Basel, Switzerland
12 Private, Berlin, Germany
13 Prenatal Medicine and Genetics, München, Germany

Key words

cell-free dna, detailed early ultrasound, diagnostic procedures, chromosomal anomalies, first-trimester screening

eingereicht 20.03.2018
akzeptiert 23.04.2018

Bibliografie

DOI https://doi.org/10.1055/a-0631-8898
Published online: July 12, 2018
Ultraschall in Med 2019; 40: 176–193
© Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart · New York
ISSN 0172-4614

Korrespondenzadresse

Prof. Peter Kozlowski
Pränatal-Medizin und Genetik Düsseldorf, praenatal.de,
Graf-Adolf-Str. 35, D-40210 Duesseldorf, Germany
Tel.: ++ 49/2 11/3 84 57 15
Fax: ++ 49/2 11/3 84 57 33
kozlowski@praenatal.de

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ersttrimester-Screening zwischen 11 + 0 und 13 + 6 Wochen mit qualifizierter Beratung, differenzierter Organdiagnostik sowie maternalen und biochemischen Markern ist die Grundlage der Entscheidung über den Umfang weiterer Untersuchungen. Mehr als die Hälfte relevanter fetaler Fehlbildungen können frühzeitig erkannt werden. Erhöhte Nackentransparenz und/oder auffällige biochemische Parameter weisen auf genetische oder strukturelle Anomalien hin. Durch Einschluss uteriner Dopplerparameter und des PlGF können die Risiken von Präeklampsie und Wachstumsrestriktion bestimmt und mittels der Gabe von ASS der weitere Verlauf zahlreicher Schwangerschaften positiv beeinflusst werden. Schwellenwerte (Cut-offs) und die Bildung von Bereichen hoher, intermediärer oder geringer Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen genetischer Anomalien dienen der Erläuterung der Erkennungs- und der Falsch-positiv-Raten. In der Beratung muss das individuelle Bedürfnisprofil der Schwangeren für entsprechendes Vorgehen (keine weitere Abklärung – Screening an zellfreier DNA – diagnostische Punktion) ermittelt werden. Die Beratung beinhaltet, dass in Kollektiven jüngerer Schwangerer und altersbedingt geringer Prävalenz oder beim Screening auf seltene submikroskopische Strukturanomalien auch bei hoher Spezifität der positive prädiktive Wert des Screenings gering ist. Innerhalb der Gesamtpopulation machen Trisomien und Anomalien der Geschlechtschromosomen etwa 70 % der lichtmikroskopisch erkennbaren Anomalien aus. Nach einem positiven Screening-Befund ist eine Absicherung durch diagnostische Punktion unerlässlich. Bei Testversagen besteht eine höhere Rate pathologischer Befun-

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

de. Die Verlustraten nach diagnostischen Punktionen liegen in Expertenhand um 1 bis 2 auf 1000 über der natürlichen Verlustrate. Die Beratung sollte die Möglichkeiten der Erkennung submikroskopischer Strukturanomalien mittels vergleichender genomischer Hybridisierung (Array-CGH) beinhalten. Belastbare Daten zu Sensitivität, Falsch-positiv-Raten und positiven prädiktiven Werten beim Screening auf Mikrodeletionen und -duplikationen lassen sich aus den bislang vorliegenden Studien nicht berechnen.

ABSTRACT

First-trimester screening between 11 + 0 and 13 + 6 weeks with qualified prenatal counseling, detailed ultrasound, biochemical markers and maternal factors has become the basis for decisions about further examinations. It detects numerous structural and genetic anomalies. The inclusion of uterine artery Doppler and PlGF screens for preeclampsia and fetal growth restriction. Low-dose aspirin significantly reduces the prevalence of severe preterm eclampsia. Cut-off values define groups of high, intermediate and low probability. Prenatal counseling uses detection and false-positive rates to work out the individual need profile and the corresponding decision: no further diagnosis/screening – cell-free DNA screening – diagnostic procedure and genetic analysis. In pre-test counseling it must be recognized that the prevalence of trisomy 21, 18 or 13 is low in younger women, as in submicroscopic anomalies in every maternal age. Even with high specificities, the positive predictive values of screening tests for rare anomalies are low. In the general population trisomies and sex chromosome aneuploidies account for approximately 70 % of anomalies recognizable by conventional genetic analysis. Screen positive results of cfDNA tests have to be proven by diagnostic procedure and genetic diagnosis. In cases of inconclusive results a higher rate of genetic anomalies is detected. Procedure-related fetal loss rates after chorionic biopsy and amniocentesis performed by experts are lower than 1 to 2 in 1000. Counseling should include the possible detection of submicroscopic anomalies by comparative genomic hybridization (array-CGH). At present, existing studies about screening for microdeletions and duplications do not provide reliable data to calculate sensitivities, false-positive rates and positive predictive values.

Einleitung

Ein Jahr nach der Markteinführung in den USA wurde 2012 auch im deutschsprachigen Raum der erste Screening-Test auf die Trisomien 21, 18, 13 und die Gonosomen an zellfreier DNA aus der mütterlichen Zirkulation (cfDNA) eingeführt. Die Entwicklung einfacherer und deutlich kostengünstigerer Testverfahren und intensives Marketing führten zu einer zunehmenden Inanspruchnahme. Empfehlungen für den Einsatz der cfDNA-Tests wurden bereits im Jahr 2015 in „Ultraschall in der Medizin“ [1, 2] publiziert. Die cfDNA in der mütterlichen Zirkulation ist zum weit überwiegenden Teil mütterlichen Ursprungs. Nur der deutlich kleinere Anteil entstammt der Plazenta. Zwecks begrifflicher Abgrenzung der Verfahren wird daher anstelle der Begriffe zellfreie fetale DNA (cffDNA) und zellfreie plazentare DNA (cfpDNA) ausschließlich der Terminus cfDNA verwendet.

Die Untersuchung der cfDNA, oft auch NIPT (nicht invasiver pränataler Test) genannt, ist eine Screening-Methode, die bei auffälligen Befunden immer der Abklärung durch eine diagnostische Punktion bedarf. Schon lange etabliert und weit verbreitet als Screening-Methode ist das kombinierte Ersttrimester-Screening, das mit einer frühen Fehlbildungsdiagnostik und dem Präeklampsie-Screening kombiniert werden kann (▶ **Tab. 1**) und damit weit über das Trisomie-21-Screening hinausgeht [3 – 5]. Im deutschsprachigen Raum erfolgen mittlerweile etwa zwei Drittel der cfDNA-Tests zwischen 11 und 13 Wochen p.m., meist nach einem Ersttrimester-Screening, auch wenn die Untersuchung der cfDNA ab 10 Wochen als First-line-Screening diskutiert wird.

Im Folgenden wird das Spektrum des bestehenden Ersttrimester-Screenings aufgezeigt und der sinnhafte Einsatz von cfDNA-Tests diskutiert. Dabei werden besonders der Aspekt des Screenings und die Abklärung bei auffälligen Befunden betrachtet.

Elemente des Screenings 11 + 0 bis 13 + 6 Wochen

Beratung vor pränatalem Screening

Das Gesetz über genetische Untersuchungen bei Menschen (Gendiagnostikgesetz – GenDG) [6] und die später formulierten Richtlinien regeln den Umgang mit genetischen Analysen und der vorgeburtlichen Risikoabklärung mittels Aneuploidie-Screening im ETS. Die in der Folge eingerichtete Gendiagnostik-Kommission (GEKO) am Robert-Koch-Institut erstellt Richtlinien in Bezug auf den allgemein anerkannten Stand der Wissenschaft und Technik.

Zentral sind auch angesichts des Patientenrechtegesetzes (PRG) 2013 [7] der Arztvorbehalt in § 7 und die Aufklärung in § 9 GenDG: Vor Einholung der Einwilligung hat die verantwortliche ärztliche Person die betroffene Person über Wesen, Bedeutung und Tragweite der genetischen Untersuchung aufzuklären. Der betroffenen Person ist nach der Aufklärung eine angemessene Bedenkzeit bis zur Entscheidung über die Einwilligung einzuräumen.

Die GEKO präzisierte die Einordnung der cfDNA und die entsprechende Beratungsqualifikation: Untersuchungen an zirkulierender plazentarer DNA aus mütterlichem Blut sind – im Gegensatz zur vorgeburtlichen Risikoabklärung – den vorgeburtlichen genetischen Analysen zur Feststellung genetischer Eigenschaften zugeordnet. Damit gelten für die fachgebundene genetische Beratung die entsprechenden Qualifikationsinhalte, deren essenzielle Grundlagen sich in 72 Fortbildungseinheiten und der dazugehörigen Qualifizierungsmaßnahme vermitteln lassen [8].

Der Umfang der Beratung über die verschiedenen Möglichkeiten der Pränataldiagnostik ist bislang nicht umfassend definiert. Die Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA) über die ärztliche Betreuung in der Schwangerschaft und nach

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

▶ **Tab. 1** Nomenklatur der Screening-Untersuchungen im 1. Trimenon.

Untersuchung	Ultraschall-Parameter	Serum-Parameter	Zielsetzung
Ersttrimester-Screening	NT		orientierender Fehlbildungsausschluss Aneuploidie-Screening
kombiniertes Ersttrimester-Screening	NT	free ß-HCG PAPP-A	
kombiniertes Ersttrimester-Screening mit Markern	NT, NB DV, TRI	free ß-HCG PAPP-A	primäre oder sekundäre Präzisierung des ETS-Befundes
contingent Screening	erweitertes Screening in Abhängigkeit vom Befund des kombinierten ETS[1]		
frühe Fehlbildungsdiagnostik	publizierte Qualitätsanforderungen: DEGUM [10], ISUOG [9], FMF [3]		

NT: Nackentransparenz, NB: Nasenbein, DV: Ductus venosus, TRI: Trikuspidalklappenfluss, ETS: Ersttrimester-Screening.
[1] Der Begriff „contingent screening" wird zunehmend auch für den Einsatz des cfDNA-Screenings nach vorheriger Risikoklassifikation mittels kombinierten ETS verwendet.

der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien") definieren die frühzeitige Erkennung von Risikoschwangerschaften und -geburten als vorrangiges Ziel der ärztlichen Schwangerenvorsorge. Im Abschnitt B der Richtlinien ist neben anderen anamnestischen Faktoren von Risikoschwangerschaften das mütterliche Alter unter 18 Jahren oder über 35 Jahren aufgeführt. Ersttrimester-Screening und cfDNA-Screening sind in den Richtlinien nicht erwähnt. Der G-BA hat 2016 ein Beratungsverfahren zur Frage der Einführung des cfDNA-Screenings in Gang gesetzt und das IQWiG beauftragt, eine Informationsbroschüre über die Möglichkeiten der pränatalen genetischen Diagnostik zu erstellen (g-ba.de 16.02.2017).

Die Deutsche Gesellschaft für Humangenetik (GfH) erklärte in einer Stellungnahme zur Analyse fetaler DNA aus dem mütterlichen Blut vom 12.11.2012, dass aufgrund der nicht erforderlichen Abwägung von Eingriffsrisiken diagnostischer Punktionen gegen die Wahrscheinlichkeit für eine Krankheit/gesundheitliche Störung des Kindes in der Folge eine cfDNA-Analyse keiner Schwangeren vorenthalten werden könne bzw. allen Schwangeren verfügbar gemacht werden sollte.

Bei der Beratung über die Möglichkeit eines primären frühzeitigen Screenings unter Verzicht auf die Feindiagnostik ist zu berücksichtigen, dass lediglich die Häufigkeiten der Trisomien 13, 18 und 21 eine deutliche Abhängigkeit vom mütterlichen Alter zeigen, während strukturelle Fehlbildungen und molekulargenetisch erfassbare Anomalien in allen Altersgruppen gleich häufig auftreten.

Nach der Geburt eines Kindes mit einer grundsätzlich pränatal erkennbaren Störung kann die Vollständigkeit der Risikoberatung und der Darstellung der diagnostischen Alternativen infrage gestellt werden. Wenn sich ein Risiko verwirklicht, über das hätte aufgeklärt werden müssen, haftet der Arzt für den Schaden, sofern er nicht beweisen kann, dass er über dieses Risiko und alle Möglichkeiten seiner Erkennung umfassend aufgeklärt hat (§ 630 BGB – Patientenrechtegesetz). Diese Verpflichtung besteht ungeachtet der Tatsache, dass außerhalb der in den Mutterschafts-Richtlinien aufgeführten Indikationen die Kosten des Ersttrimester-Screenings, der cfDNA-Tests und der Ultraschall-Fehlbildungsdiagnostik im Regelfall von den Schwangeren selbst zu tragen sind.

Frühe Fehlbildungsdiagnostik

Die frühe differenzierte sonografische Diagnostik zum Zeitpunkt 11^{+0} – 13^{+6} Wochen mit den Elementen der eingehenden anatomischen Beurteilung des Ungeborenen, der Messung der fetalen Nackentransparenz, der Analyse der fetalen und maternalen Hämodynamik sowie der Untersuchung verschiedener biochemischer Parameter im maternalen Serum stellt eine der Grundlagen für die weitere Betreuung der Schwangerschaft dar. Während über lange Zeit differenzierte sonografische Untersuchungen auf das zweite und dritte Trimenon der Schwangerschaft begrenzt waren, hat die Diagnostik seit den 90er Jahren ihren ersten entscheidenden Schwerpunkt zunehmend im ersten Trimenon. Damit hat das Ersttrimester-Screening eine zentrale Rolle in der Entscheidungsfindung über weitere diagnostische und therapeutische Konzepte erlangt.

Die Standardebenen der frühen Fehlbildungsdiagnostik, entsprechend einem qualifizierten Ultraschall, wurden in Empfehlungen bzw. Leitlinien der Fetal Medicine Foundation (FMF), der International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (ISUOG) und der Deutschen Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin (DEGUM) festgelegt [3, 9, 10].

Die anatomische Beurteilung des Fetus erlaubt es, eine Reihe von Fehlbildungen auszuschließen bzw. zu diagnostizieren: Syngelaki et al. [11] teilten Fehlbildungen zum Zeitpunkt 11^{+0} – 13^{+6} Wochen aus einer Population von 45 191 Schwangerschaften in 3 Kategorien entsprechend ihrer Erkennbarkeit ein (▶ **Tab. 2**).

Die Erkennungsrate der Sonografie mit 11 – 14 Wochen in Bezug auf schwere Fehlbildungen liegt nach dieser Studie insgesamt bei 44 %. In einer deutschen Studie an 6879 Schwangerschaften war die Erkennungsrate für die differenzierte Sonografie in einem Expertenzentrum 83,7 % [12]. Bei einer NT < 2,5 mm (2788/3094 – 90,1 %) war die Häufigkeit schwerer Fehlbildungen 1 % (27/2788), bei einer NT von > 2,5 mm 19,3 % (59/306). Eine Folgestudie derselben Gruppe (n = 6879) zeigte eine Prävalenz von schweren Fehlbildungen einschließlich der Chromosomenanomalien von 3,2 % (220/6858), 50,5 % (111/220) davon mit einer NT < 95. Perzentile und 49,5 % (109/220) mit einer NT > 95. Perzentile [13]. In einer Metaanalyse von 19 Studien mit 78 000

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

▶ **Tab. 2** Kategorien der Erkennbarkeit wichtiger Fehlbildungen bei 11^{+0} – 13^{+6} Wochen.

(fast) immer erkennbar	potentiell erkennbar	selten oder nie erkennbar
An-/Exencephalie Holoprosencephalie Omphalocele Gastroschisis Body-Stalk-Anomalie Megazystis	Hand- und Fußfehlbildungen Zwerchfellhernie letale Skelettdysplasie schwere Herzfehler Spina bifida aperta Gesichtsspalten	Mikrocephalie Balkenfehlanlage Ventrikulomegalie Tumoren Ovarialzysten Lungenläsionen gastrointestinale Obstruktionen

Schwangerschaften (Prävalenz von Fehlbildungen 1,2 %) lag die Erkennungsrate bei 51 % [14]. Die Autoren wiesen darauf hin, dass auch 40 % der schweren Herzfehler früh erkannt wurden und dass die Kombination aus transabdominaler und transvaginaler Sonografie eine wesentlich erhöhte Erkennungsrate ermöglichte (62 % versus 51 %).

Die Beurteilung des 4. Ventrikels, auch als intrakranielle Transparenz (IT) bezeichnet, und die Untersuchung des Hirnstamms können zur frühen Erkennung einer offenen Spina bifida bei der Ersttrimester-Untersuchung führen [15, 16]. In einer Metaanalyse von über 21 000 Feten wurden eine Sensitivität von 53,5 % und eine Spezifität von 99,7 % berechnet [17].

Die Messung der fetalen Nackentransparenz (NT) ist nicht nur für das Aneuploidie-Screening, sondern auch im Rahmen der frühen Fehlbildungsdiagnostik von großer Bedeutung. Sie kann in Kombination mit der anatomischen Beurteilung des Fetus auf eine Vielzahl möglicher Erkrankungen hinweisen, wie chromosomal und nicht chromosomal bedingte Syndrome, sowie strukturelle Fehlbildungen [18 – 22]. Wagner et al. konnten durch die Kombination der differenzierten Beurteilung des Fetus mit der Messung der NT und der Sekundärkriterien für die Erkennung der Trisomien 18 und 13 mit 95 % ähnlich hohe Detektionsraten wie durch cfDNA erreichen [23].

Auch Feten mit Herzfehlern können eine verdickte NT aufweisen [11, 24], gehäuft in Kombination mit einer Trikuspidalklappen-Regurgitation und einer erhöhten Pulsatilität im Ductus venosus [25, 26]. So wird für die Kombination der NT-Messung und des Ductus venosus (einer der beiden Parameter > 95. Perzentile) eine Sensitivität von 57,6 % für schwere Herzfehler angegeben [27]. Allerdings haben Messungen des Ductus venosus und der Trikuspidal-Regurgitation bei normaler NT nur geringe Erkennungsraten. Die Kombination aus einer NT > 95. Perzentile mit auffälligem Ductus venosus und/oder Trikuspidal-Regurgitation kann die Erkennungsrate für schwere Herzfehler auf > 50 % erhöhen [28]. Dieses Marker-Screening auf schwere Herzfehler wird zunehmend durch die Integration der Darstellung von Vier-Kammer-Blick und Drei-Gefäß-Blick in die detaillierte Ersttrimester-Untersuchung verdrängt [29, 30].

Bei monochorialen Mehrlingen ist bei sehr unterschiedlichen Messwerten für die Nackentransparenz die Wahrscheinlichkeit einer Zwillingstransfusions-Sequenz (FFTS) erhöht. In einer Metaanalyse von 13 Studien mit 1991 Schwangerschaften zeigten diskrepante NT-Messungen und pathologische Messungen des Ductus venosus eine Sensitivität von 52,8 bzw. 50 % für die spätere Entwicklung einer FFTS [31]. Auch bei unauffälligem Befund dieser Untersuchung sind bei monochorialen Zwillingen ab 14 – 16 Wochen Kontrolluntersuchungen in 2-wöchigen Abständen indiziert, um rechtzeitig Symptome der FFTS oder Zwillings-Anämie-Polycythämie-Sequenz (TAPS) zu diagnostizieren [32].

Auch die Wahrscheinlichkeit für die Lebendgeburt eines gesunden Kindes kann durch die Messung der NT abgeschätzt werden. So beträgt die Wahrscheinlichkeit 97 % bei einer NT < 95. Perzentile; sie nimmt bei verdickter NT ab, bei einer NT ≥ 6,5 mm ist sie nur noch 15 % [33].

Die Messungen der fetalen Nackentransparenz und der Sekundärkriterien Nasenbein, Ductus venosus sowie Trikuspidal-Regurgitation unterliegen als einzige Ultraschalluntersuchungen einer standardisierten Qualitätskontrolle im Rahmen jährlicher Audits durch die Fetal Medicine Foundation London und die Fetal Medicine Foundation Deutschland. Für Deutschland wurde diese Qualitätskontrolle in die Ausführungsbestimmungen des RKI übernommen [34, 35].

Untersuchungen der cfDNA sollen nur nach bzw. in Verbindung mit einem qualifizierten Ultraschall angeboten werden [1, 10, 36]. Die Bedeutung der frühen Organdiagnostik belegt eine prospektiv randomisierte Studie, in der 1400 Schwangere nach einer Expertenuntersuchung zwischen 11 und 13 Wochen mit unauffälligem Befund entweder einem cfDNA-Screening oder einem kombiniertem ETS nach dem Algorithmus der FMF zugeführt wurden. Die Falsch-positiv-Raten für Trisomie 21 betrugen 0 % für das cfDNA-Screening bzw. 2,5 % für das kombinierte ETS [5]. Limitationen dieser Studie sind die Beschränkung auf die alleinige Risikoberechnung für Trisomie 21 und strukturelle anatomische Anomalien sowie der Verzicht auf biochemische Parameter, die im Screening auf andere Chromosomenanomalien und die Präeklampsie sinnvoll sein können.

Der Verzicht auf die frühe Organdiagnostik und die Beschränkung auf primäres Screening an cfDNA können zur Folge haben, dass strukturelle oder genetische Anomalien erst später entdeckt werden.

Kombiniertes Ersttrimester-Screening (Combined test)

Die Algorithmen des Ersttrimester-Screenings als „combined test“ aus maternalem Alter, Nackentransparenz und den Serum-Parametern fßHCG sowie PAPP-A erlauben eine Berechnung der Wahrscheinlichkeiten der häufigsten Trisomien 21, 13 und 18 [37]. Die

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

Risikoalgorithmen der Fetal Medicine Foundation (FMF) London und der FMF Deutschland sind in zahlreichen Ländern verbreitet und erlauben bei entsprechender Zertifizierung auch den Einschluss der genannten Parameter. Das kombinierte ETS hat sich als sehr gute, kostengünstige und von den meisten Frauenärztinnen und -ärzten durchführbare Untersuchung etabliert. Die Detektionsraten liegen in Zentren bei 90 % für eine Falsch-positiv-Rate von 3 – 5 % [38]. Im Niedrigrisikobereich mit einem ETS-Risiko von 1:1000 oder niedriger findet man 2 – 4 % der Schwangerschaften mit Trisomie 21 [37]. Etwa 85 % der normalen Schwangerschaften haben ein ETS-Risiko in diesem Bereich. Im Hochrisikobereich beschränkt sich das Spektrum möglicher Erkrankungen nicht auf die durch die cfDNA-Untersuchung erkennbaren Chromosomenstörungen [4, 18].

Die Schwellenwerte des intermediären Bereichs werden kontrovers diskutiert; sie sind geprägt durch den Wunsch nach einer optimalen Kombination hoher Detektionsraten sowohl für Trisomien als auch anderer genetischer Anomalien mit niedrigen Falsch-positiv-Raten. Je höher der Schwellenwert zum Hochrisikobereich gesetzt wird, desto geringer ist der Anteil der Schwangerschaften, bei denen eine diagnostische Punktion empfohlen wird. Jeder Zugewinn an Erkennungsrate geht mit einer Erhöhung der Rate positiver Befunde einher. Sie unterliegen damit einerseits gesundheitsökonomischen Überlegungen und andererseits der individuellen Abwägung jeder Schwangeren. Die Entscheidung der Schwangeren sollte nach einer umfassenden Beratung getroffen werden, die das Spektrum der zu erkennenden Aberrationen und die Wahrscheinlichkeit ihrer Erkennung in Abhängigkeit von den Schwellenwerten erläutert und eine Aufklärung über die Sicherheit von diagnostischen Punktionen in Expertenhand beinhaltet.

Beim Ersttrimester-Screening sind die positiven prädiktiven Werte niedrig, die Methode hat jedoch sehr hohe negative prädiktive Werte. So kann aus den neuesten Studiendaten der FMF London für das kombinierte Ersttrimester-Screening bei einem Cut-Off von 1:100 und einer Sensitivität von 92 % sowie einer Spezifität von 95,4 % bezogen auf die Trisomie 21 der positive prädiktive Wert mit 7,34 % berechnet werden, der negative prädiktive Wert mit 99,97 %. Für die Trisomien 13 und 18 gelten ähnliche Werte [39].

Screening an zellfreier DNA

Qualitätsparameter

In den ersten Jahren vor und kurz nach der Markteinführung wurde die überwiegende Zahl von Studien zur Sensitivität und Spezifität des Screenings an cfDNA in Hochrisikokollektiven durchgeführt [40 – 46]. Mittlerweile liegen auch Ergebnisse aus Routinepopulationen vor [47 – 52].

Die zum Teil kleine Gesamtzahl und hohe Prävalenz in den Studienkollektiven macht die Auswertung in Metaanalysen sinnvoll. Die von Gil 2017 publizierte Metaanalyse [53] von 35 Studien erbrachte Detektionsraten für Trisomie 21, 18 und 13 von 99,7 %, 97,9 % und 99,0 % sowie 95,8 % für die Monosomie X bei Falsch-positiv-Raten von jeweils 0,04 % für die Trisomien 21, 18 und 13 und 0,14 % für die Monosomie X (▶ **Tab. 3**). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Iwarsson et al. [52].

▶ **Tab. 3** Parameter des Screenings an cfDNA (nach Gil [53] und Revello [62]).

Aneuploidie	DR %	FPR %	FF %	NR %
Trisomie 21	99,7	0,04	10,7	1,9
Trisomie 18	97,9	0,04	8,6	8,0
Trisomie 13	99,0	0,04	7,0	6,3
Monosomie X	95,8	0,14	10,0	4,1
SCA	100,0	0,04	–	–

DR: Detektionsrate, FÜR: Falsch-positiv-Rate, SCA: gonosomale Aneuploidien außer Monosomie X, FF: Fetal fraction, NR: kein schlüssiges Ergebnis aus der 1. Blutprobe.

In der Metaanalyse von Gil 2017 wurde im Gegensatz zu früheren Arbeiten [54] der differente statistische Ansatz der bivariaten Analyse verfolgt, der bereits in der Metanalyse von Taylor-Phillips [55] gewählt worden war und die Abhängigkeit der Sensitivität-Spezifität-Paare von unterschiedlichen Cut-off-Werten in den einzelnen Studien berücksichtigt. Die aus 41 Studien gepoolten Daten wurden in einer Risikopopulation und einem Normalkollektiv angewandt (▶ **Tab. 4**). Bei einer Prävalenz der Trisomie 21 von 1:230 wurden in einer Normalpopulation Detektionsraten für Trisomie 21 von 95,9 %, für Trisomie 18 und 13 von 86,5 % und 77,5 % (Prävalenz 1:1000 bzw. 1:2000) ermittelt. Zahlreiche Studien beinhalteten auch überproportional viele Tests aus höheren Schwangerschaftswochen.

In der Beratung und Entscheidungsfindung vor einem eventuellen Screening spielen der positive und der negative prädiktive Wert eines Screenings eine entscheidende Rolle. Zu beachten ist, dass auch bei einer hohen Detektionsrate und einer hohen Spezifität eines Tests die Prävalenz der gesuchten Abweichung einen starken Einfluss auf die positive Prädiktion hat [56]. Selbst bei einer vollständigen Detektion aller Betroffenen und einer sehr niedrigen Falsch-positiv-Rate wird, sobald die Prävalenz niedriger als die Häufigkeit falsch positiver Befunde ist, die Mehrzahl der Gescreenten einen „falschen“ Befund erhalten [57]. Dies ist in der Beratung jüngerer Schwangerer mit altersentsprechend geringerer Prävalenz der Trisomien 21, 18 und 13 besonders zu berücksichtigen.

Diskrepante Befunde sind meist der Tatsache geschuldet, dass der weit überwiegende Teil der zellfreien DNA-Fragmente mütterlichen und nur ein kleinerer Teil plazentaren Ursprungs ist. Die cfDNA kann daher Hinweise auf plazentare Mosaike und auf maternale Mosaike bzw. Chromosomenanomalien geben. Auch ein vanishing twin kann ursächlich für einen falsch positiven Befund sein, wenn die cfDNA-Untersuchung zeitlich nah am Abortgeschehen liegt. Die Überprüfung eines positiven Befundes durch eine diagnostische Punktion ist daher obligatorisch [58].

Keines der derzeit angebotenen Testverfahren – sowohl die DNA-Fragmente aller Chromosomen erfassenden Random-Me-

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

▶ **Tab. 4** Studienparameter des Screenings an zellfreier DNA im bivariaten metaanalytischen Verfahren (nach Taylor-Phillips [55]).

Aneuploidie	gepoolte Daten		Hochrisikokollektiv				general population			
	DR %	FPR %	DR %	FPR %	PPV %	NPV %	DR %	FPR %	PPV %	NPV %
Trisomie 21	99,3	0,1	97,3	0,3	91,3	99,9	95,9	0,1	81,6	99,9
Trisomie 18	97,4	0,1	93,0	0,3	84,3	99,9	86,5	0,2	36,6	99,9
Trisomie 13	97,4	0,1	95,0	0,1	87,0	99,7	77,5	0,1	48,8	99,9

DR: Detektionsrate, FPR: Falsch positiv Rate, PPV: positiver prädiktiver Wert, NPV: negativer prädiktiver Wert.

▶ **Tab. 5** Studiendaten über die Anwendung von cfDNA-Analysen auf Trisomie 21 bei Zwillingsschwangerschaften (aus: Gil 2017 [53]).

	Fälle mit Trisomie 21				Fälle ohne Trisomie 21			
Autor	gesamt	als auffällig getestet	%	95 % CI	gesamt	als auffällig getestet	%	95 % CI
Lau (2013)	1	1	100	2,5 – 100	11	0	0	0,0 – 28,5
Huang (2014)	9	9	100	66,4 – 100	180	0	0	0,00 – 2,03
Benachi (2015)	2	2	100	15,8 – 100	5	0	0	0,00 – 52,18
Sarno (2016)	8	8	100	63,1 – 100	409	0	0	0,00 – 0,90
Tan (2016)	4	4	100	39,8 – 100	506	0	0	0,00 – 0,73
gepoolte Analyse			100	95,2 – 100			0	0 – 0,003

thoden als auch die auf einzelne Chromosomen fokussierenden Targeted-Tests – unterscheidet zwischen maternaler und plazentarer DNA. Der differente Ansatz der SNP-basierten Verfahren, zwischen mütterlicher, plazentarer und – sofern verfügbar – paternaler DNA zu differenzieren, hat in den bisher publizierten Studien noch keine Vorteile in Bezug auf Detektions- und Falschpositiv-Raten oder das Spektrum der zu untersuchenden genetischen Anomalien nachweisen können.

Der Anteil der Testversager auch nach wiederholter Untersuchung wird in Studien mit 0,5 – 6,4 % angegeben [59 – 61] (▶ **Tab. 3**). Ursächlich ist oft ein geringer Anteil plazentarer DNA (sog. „fetal fraction“), der mit dem Schwangerschaftsalter und den biochemischen Parametern PAPP-A und PlGF positiv, mit dem maternalen Körpergewicht und Alter sowie reproduktionsmedizinischen Maßnahmen negativ korreliert ist [62 – 64]. Eine Behandlung der Schwangeren mit Heparinen hat ebenfalls häufiger einen reduzierten Anteil plazentarer DNA zur Folge [65]. In der Gruppe der Testversager ist eine deutlich erhöhte Rate von Feten mit einer Trisomie 13, Trisomie 18 oder einer Triploidie, nicht jedoch einer Trisomie 21 zu beobachten [47, 62], sodass eine frühe Feindiagnostik und gegebenenfalls eine diagnostische Punktion in diesen Fällen indiziert sind. In den meisten Studien werden die Testversager nicht einbezogen. Bei Berücksichtigung der Versagerquote aus der ersten Blutprobe liegen die modellierten Detektionsraten für Trisomie 21 im Bereich von 93 – 97 % [66]. Testversager aufgrund einer fetal fraction unter 4 % haben auch bei einer erfolgreichen zweiten Analyse eine schlechte Testperformance. Die Angaben der fetal fraction jeder Analyse und der Gesamthäufigkeit von Analysen ohne Ergebnis sind als Qualitätskriterium von jedem Labor zu fordern. Schwangere mit ausgeprägter Adipositas müssen über eine Testversagerquote von bis zu 10 %, auch im 2. Trimenon, aufgeklärt werden [64]. Eine Verbesserung der diagnostischen Sicherheit ist durch eine größere Sequenzier-Tiefe und durch neue Sequenzier-Techniken wie das „paired-end sequencing“ zu erwarten [67].

cfDNA-Screening bei Mehrlingen

Bei Zwillingsschwangerschaften ist cfDNA-Screening komplexer als bei Einlingsschwangerschaften, da die beiden Feten entweder monozygot und damit genetisch identisch sein könnten, oder dizygot, wobei dann mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit im Falle einer Aneuploidie nur einer der Feten betroffen wäre.

Die fetale Fraktion ist bei monozygoten Zwillingen aufgrund der identischen genetischen Eigenschaften beider Feten meist ausreichend (median 10,1 %) und vergleichbar mit Einlingsschwangerschaften, während bei Dizygoten die fetale Fraktion niedriger ist (Median 7,7 %) [68]. In einer aktuellen Metaanalyse [53] wurden 5 Arbeiten über Zwillingsschwangerschaften untersucht [68 – 72] (Übersicht in ▶ **Tab. 5**). Bei 24 Schwangerschaften mit Trisomie 21 und 1100 Schwangerschaften mit euploiden Feten wurden eine DR von 100 % (95 % CI 95,2 – 100 %) und eine FPR von 0 % (95 % CI 0 – 0,003 %) beschrieben. Darüber hinaus

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

waren 14 Fälle mit Trisomie 18 im Kollektiv, wovon 13 korrekt erkannt wurden und 1 Fall einer Trisomie 13, welcher fälschlicherweise als euploid getestet wurde. Bei 4,87 % der Frauen in dieser Studie konnte nach der ersten Blutabnahme kein Ergebnis gewonnen werden. Ähnliche Ergebnisse erbrachte eine weitere prospektive Studie, in der bei 5,6 % der Zwillingsschwangeren nach der ersten und bei 50 % nach der zweiten Blutabnahme kein Ergebnis erreicht werden konnte, während dies im hiermit verglichenen Einlingskollektiv 1,7 % und 32,1 % ausmachte [73]. Darüber hinaus konnte diese Studie zeigen, dass sich bei Zwillingsschwangerschaften die Testversagerrate mit zunehmendem body-mass-index (BMI) erhöht und nach in-vitro-Fertilisation (IVF) höher ist als nach natürlicher Konzeption.

Bei Vorkommen eines „vanishing twin" soll keine cfDNA-Testung durchgeführt werden, da zu vermuten ist, dass in vielen Fällen eine Aneuploidie für das frühe Absterben der Frucht verantwortlich ist und es in solchen Fällen auch nach mehreren Wochen zu falsch auffälligen Befunden kommen könnte [74]. Bei höhergradigen Mehrlingsschwangerschaften wird eine cfDNA derzeit nicht kommerziell angeboten. Eine primäre diagnostische Punktion sollte auch bei Frauen mit Zwillingsschwangerschaften nach IVF und hohem BMI erwogen werden, da hier die Versagerraten besonders hoch erscheinen [73].

Das Screening auf Trisomie 21 mittels cfDNA aus mütterlichem Blut weist bei Zwillingsschwangerschaften eine vergleichbar hohe Entdeckungsrate bei ebenso niedriger FPR-Rate wie bei Einlingsschwangerschaften auf. Verlässliche Zahlen zur Performance des Screenings auf Trisomie 18 und 13 liegen derzeit noch nicht vor.

Vorgehen nach Befunden des Ultraschall- und Ersttrimester-Screenings

Fetale Fehlbildungen

Werden sonografisch isolierte oder komplexe fetale Fehlbildungen nachgewiesen, ist aufgrund der großen Varianz der zugrunde liegenden genetischen Befunde die Analyse von cfDNA unzureichend und kontraindiziert. Nur bei etwa 60 % der betroffenen Feten ist eine Trisomie 21, 18 oder 13 ursächlich [75, 76]. Neben den zytogenetisch erfassbaren Aneuploidien werden in 7 bis 8 % der Fälle mit unauffälligem Karyogramm ebenfalls mit cfDNA nicht erkennbare strukturelle chromosomale Aberrationen gefunden [77, 78]. Es sollte daher eine diagnostische Punktion (CVS oder Amniozentese) zur mikroskopischen Karyotypisierung und gegebenenfalls chromosomalen Microarray-Analyse zur Erfassung submikroskopischer chromosomaler Aberrationen (Mikrodeletionen und -duplikationen) erfolgen [77, 79]. International wird bei Fehlbildungen aus Zeit- und Kostengründen – unter Verzicht auf eine konventionelle zytogenetische Karyotypisierung – eine rasche Karyotypisierung (z. B. MLPA oder QF-PCR bezüglich der häufigen autosomalen Trisomien 21, 18 und 13 und der gonosomalen Aneuploidien), gefolgt von einer chromosomalen Microarray-Analyse, favorisiert [80]. In Deutschland ist dies bisher nicht Standard. Bei Kombinationsfehlbildungen können im weiteren Schritt auch Next-Generation-Sequencing-Technologien (NGS) wie ein whole exome sequencing (WES) oder whole genome sequencing (WGS) zum Einsatz kommen [81, 82]. Diese Technologien sind derzeit noch auf Studien begrenzt [83].

Das oben beschriebene Vorgehen gilt auch dann, wenn eine zuvor erfolgte cfDNA-Testung zu einem unauffälligen Ergebnis geführt hatte [84].

Hochrisikobereich des kombinierten Ersttrimester-Screenings

Im Hochrisikobereich, der oberhalb von Schwellenwerten von 1:10 bis 1:100 definiert wird, beschränkt sich das Spektrum möglicher Erkrankungen nicht auf die durch die cfDNA-Untersuchung erkennbaren Chromosomenstörungen [18, 36]. Hier muss zur Diagnose der möglichen Erkrankungen eine diagnostische Punktion angeboten werden. Im Durchschnitt aller Altersgruppen machen die Trisomien 13, 18 und 21 etwa 70 % aller durch zytogenetische Analysen erkennbaren chromosomalen Aberrationen aus [85, 86]. Bei auffälligem Ersttrimester-Screening wurden in bis zu 30 % der Fälle andere chromosomale Aberrationen unterschiedlicher klinischer Relevanz gefunden. Alamillo et al. [86] konnten bei über 23 000 Schwangerschaften zeigen, dass dies bei 29,9 % aller auffälligen Karyogramme der Fall war, mit 42 % am häufigsten bei auffälligem Ersttrimester-Screening für die Trisomien 13 und 18. Die „Danish Fetal Medicine Study Group" und die „Danish Clinical Genetics Study Group" [87] konnten anhand eines zentralen landesweiten Registers auf der Basis von etwa 193 000 Schwangerschaften in Dänemark (89 % aller Schwangeren im Berichtszeitraum) nachweisen, dass 23,4 % aller relevanten pathologischen Karyogramme keine Trisomien 13, 18, 21 waren. Die Häufigkeit pathologischer Befunde steigt mit der Dicke der Nackentransparenz: Zwischen 95. und 99. Perzentile der NT-Dicke 10,4 %, bei NT > 99. Perzentile 34,8 %. Eine Studie an 11 315 Schwangerschaften erbrachte bei einer NT zwischen der 95. Perzentile und 3,4 mm 7,1 % Chromosomenanomalien (davon 17 % nicht Trisomie 21, 18 oder 13). Über 3,5 mm bis 11,5 mm nahm der Anteil pathologischer Karyogramme von 20 auf 70 % zu [88]. In 1063 Fällen mit erhöhter NT zwischen der 95. Perzentile und 3,4 mm [89] lagen in 10 % der Fälle (68 von 611 Feten) pathologische Karyogramme vor, oberhalb von 3,4 mm 42 % (▶ **Tab. 6**).

Jede Erhöhung des Schwellenwertes zwischen Hochrisiko- und Intermediärbereich zieht eine Senkung der Detektionsrate nach sich.

Insbesondere bei Triploidie und unüblichen Trisomien liegen die NT-Werte näher an der Normalverteilung, während sie bei unbalancierten Translokationen mäßiggradig erhöht sind [90]. In einer Studie wird die Prävalenz submikroskopischer Chromosomenanomalien in der Gruppe der Feten mit verbreiterter Nackentransparenz ≥ 3,5 mm nicht höher als bei den Feten ohne sonografisch nachweisbare Anomalien beschrieben [91].

Die Prävalenz submikroskopischer, nur mittels Array-CGH erkennbarer chromosomaler Strukturaberrationen (pathologische CNVs) in Kollektiven mit auffälliger NT ist Gegenstand verschiedener weiterer Studien, in denen unterschiedliche Schwellenwerte für die NT verwendet wurden: Lund et al. fanden bei 132 Feten mit NT-Werten > 3,5 mm in 12,8 % pathologische CNVs [92]. Maya et al. [93] verwendeten Absolutwerte der NT und fanden bei NT-Werten < 3,0 mm in 0,9 % pathologische CNV bei unauffäl-

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

▶ **Tab. 6** Häufigkeit chromosomaler Anomalien in Abhängigkeit von ETS-Befund und NT-Breite. (Publikationen ohne Einschluss chromosomaler Microarrays).

Autor	Kriterium	n	Karyotyppathologisch (%)	Anteil aller pathol. Karyotypen (%)	davon Trisomien und SCA (%)	andere Anomalien (%)	Anteil aller anderen Anomalien
Kagan 2006 [88]	NT > 95. Perz.	11 315	2168 (19,2)	100	2014 (92,9)	154 (7,1)	100
	NT ≥ 3,5 mm	4206	1661 (39,4)	76,6	1557 (93,7)	104 (6,3)	67,5
Äyräs 2013 [89]	NT > 95. Perz.	1063	224 (21,5)	100	206 (91,9)	18 (8,0)	100
	NT ≥ 3,5 mm	384	159 (41,4)	71,0	145 (91,2)	14 (8,8)	77,8
Petersen 2014 [87]	NT < 95. Perz.	209 257	682 (0,33)	53,4	429 (62,9)	253 (37,1)	84,9
	NT ≥ 95. Perz.	5966	596 (10,0)	46,6	551 (92,4)	45 (7,6)	15,0
	NT ≥ 99. Perz.	1362	422 (31,0)	33,0	391 (92,6)	31 (7,3)	10,4
	Komb. ETS-Risik ≤ 1:300	185 620	352 (0,19)	31,4	174 (49,4)	178 (50,6)	67,9
	> 1:300	8018	770 (9,6)	68,6	686 (89,1)	84 (10,9)	32,1
	> 1:100	4002	667 (16,7)	59,4	603 (90,4)	64 (9,6)	24,4
	> 1:10	734	378 (51,5)	33,7	365 (96,5)	13 (3,5)	5,0

NT: Nackentransparenz, ETS: Ersttrimester-Screening, SCA: Anomalien der Geschlechtschromosomen. Besonderheiten der Studien: Kagan: Kollektiv nur NT > 95. Perzentile; nur Karyogramme, keine Array-CGH; keine Angabe über Anzahl der Feten mit Fehlbildungen; Äyräs: Kollektiv nur NT > 95. Perzentile; nur Karyogramme, keine Array-CGH; 74 mit Fehlbildungen; Petersen: keine Angabe über Anzahl der Feten mit Fehlbildungen; keine Aufgliederung nach Karyogramm und Array-CGH.

liger Zytogenetik, zwischen 3,0 und 3,4 mm 1,8 % und > 3,4 mm 3,6 % (▶ **Tab. 7**).

Tørring et al. [94] zeigten, dass in der Gruppe der unüblichen Trisomien insbesondere PAPP-A auf 0,2 – 0,5 MoM erniedrigt ist (Median 0,34MoM), während die NT-Werte nur geringfügig erhöht waren. Bei Triploidien waren meist f-ßHCG und PAPP-A deutlich erniedrigt – 0,2 MoM bzw. 0,15 MoM [95].

Die Danish-Fetal-Medicine-Study-Group zeigte, dass bei Indikationsstellung zur diagnostischen Punktion bei Risiken für Trisomie 21 von ≥ 1:300 und ≥ 1:150 für Trisomien 13 und 18 etwa 5 % der Schwangeren die Punktion angeboten und eine Erkennungsrate von > 90 – 95 % für chromosomale Aberrationen erreicht würde [95]. Eine weitere Studie in einem Kollektiv mit niedriger Prävalenz [39] zeigte, dass bei einem ETS-Risiko von > 1:10 in dieser Untergruppe (1,4 % der untersuchten Schwangeren) 75,1 % der Chromosomenanomalien gefunden wurden. Insgesamt 5,3 % der Schwangeren hatten einen Schwellenwert von > 1:100; in dieser Gruppe wurden 88,6 % der durch konventionelle Zytogenetik erfassbaren Anomalien gefunden (▶ **Tab. 8**).

Den Zugang zu diagnostischen Punktionen und genetischer Diagnostik auf Hochrisikogruppen mit NT-Werten ≥ 3,5 mm oder Risiken von ≥ 1:10 im ETS zu limitieren erscheint angesichts der Abortrisiken von 0,2 % für die Chorionzottenbiopsie und 0,1 % für die Amniozentese [96, 97] unter der Zielsetzung maximaler Detektionsraten nicht gerechtfertigt. Die individuelle Beratung der Schwangeren bei auffälligen Befunden im Ersttrimester-Screening ist von zentraler Bedeutung.

Intermediärer und Niedrigrisikobereich des Ersttrimester-Screenings

Das etablierte Spektrum der erkennbaren Erkrankungen des cfDNA-Testverfahrens ist derzeit noch auf die Trisomien 21, 18, 13 und gonosomale Aberrationen beschränkt. Bei unauffälligen Feten und einem intermediären Risiko nach ETS, das zwischen den Schwellenwerten für den Niedrigrisiko- und Hochrisikobereich liegt, kann aus heutiger Sicht der Einsatz der NIPT-Analyse sinnvoll sein. In diesem Kollektiv wurden bisher die zusätzlichen Ultraschallmarker wie das Nasenbein oder der Ductus venosus und der Trikuspidalklappenfluss untersucht. Ein Kombinationsmodell aus dem Ersttrimester-Screening mit einem breiteren Spektrum an erkennbaren Erkrankungen, gefolgt von der cfDNA-Analyse für ein bestimmtes Kollektiv, kann die etablierten und die neuen Screening-Methoden sinnvoll kombinieren [98].

Beschränkte man den Einsatz der NIPT-Analyse auf ein Kollektiv mit einem ETS-Risiko zwischen 1:10 und 1:1000, so käme das sekundäre Testverfahren bei etwa 20 % zur Anwendung. In dieser Risikogruppe findet man 28 % der Schwangerschaften mit Trisomie 21 [36]. Ein oberer Schwellenwert von 1:100 würde den intermediären Bereich auf 16 % verkleinern und das Hochrisikokollektiv auf 5 % vergrößern. Die Rate falsch positiver Befunde würde von 0,8 auf 4,6 %, die Raten erkannter Trisomien 21, 18 und 13 von 86 % auf 93 % und die der erkannten sonstigen Aneuploidien von 44 % auf 65 % steigen [39].

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

▶ **Tab. 7** Häufigkeit chromosomaler Anomalien in Abhängigkeit von ETS-Befund und NT-Breite (Publikationen mit partiellem Einschluss chromosomaler Microarrays).

Autor	Kriterium	n	Karyotyp und CMA pathol. (%)	Anteil aller pathol. Karyotypen und CMA (%)	davon Trisomien 13, 18, 21 und SCA (%)	andere Aneuploidie	auffällige CMA (%)	Anteil aller pathol. CMA (%)
Maya 2017 [93]	NT ≤ 2,9 mm	462	8 (1,7)	21,1	2 (25)	2 (25)	4 (50)	40
	NT ≥ 3 mm	308	30 (9,7)	78,9	20 (66,6)	4 (13,3)	6 (20)	60
	NT ≥ 3,5 mm	138	19 (13,8)	50,0	13 (68,4)	3 (15,8)	3 (15,7)	30
Vogel 2017 [80]	Komb. ETS-Risiko > 1:300	575	51 (8,9)	100	28 (54,9)	8 (28,6)	13 (25,4)	100[1]
	Komb. ETS-Risiko > 1:100	274	35 (12,8)	68,0	23 (65,7)	5 (14,3)	5 (14,2)	38,4
	Komb. ETS-Risiko > 1:50	139	23 (16,5)	45,1	20 (86,9)	2 (8,7)	0 (0)	0

CMA: chromosomal microarray, SCA: Anomalien der Geschlechtschromosomen. Besonderheiten der Studien: Maya: isolierte NT, keine Fehlbildungen, nur pathologische CNVs; Vogel: isolierte NT ≥ 3,5 mm, keine Fehlbildungen, zusätzliche CMA-Befunde 6 „susceptibilty mutations“, 2 „likely pathogenic“.
[1] Keine Daten über das Kollektiv mit ETS-Risiko < 1:300.

▶ **Tab. 8** ETS-Risikogruppen und Prävalenz chromosomaler Pathologie (Daten nach Santorum 2017[39]).

ETS-Risiko 21,18,13	n	%	Patho	Häufigkeit von Chromosomenanomalien (konventionelle Zytogenetik)	Anteil an Gesamtheit aller pathologischen Chromosomenbefunde	Tr 21,18,13
> 1:10	1486	1,4	653	43,9	75,1	526
> 1:50	3699	3,4	742	20,0	85,3	585
> 1:100	5760	5,3	771	13,4	88,6	610

Gesamt-n = 108 982; Chromosomenanomalien-n = 870 (0,8 %); „Zuwachs“ anerkannter Pathol. von > 1:10 auf > 1:50 n = 89 (10,2 % der gesamten Pathologie), von > 1:10 auf > 1:100 n = 118 (13,6 % der gesamten Pathologie).

Diagnostische Punktionen

Bei auffälligen Ergebnissen der Untersuchung von cfDNA muss obligatorisch eine diagnostische Punktion zur Verifizierung oder Falsifizierung des Screening-Befundes erfolgen [99, 100]. Bei der Auswahl der Punktionsmethode muss berücksichtigt werden, dass cfDNA überwiegend aus den Trophoblast-Zellen stammt und nicht fetalen Ursprungs ist. Ähnlich wie bei der Chorionzottenbiopsie (CVS) können auffällige Befunde, insbesondere für Trisomie 18, auf Mosaiken beruhen, die zu etwa 20 % die Feten und zu 80 % die Zytotrophoblastzellen repräsentieren [58, 101]. In der Regel sollte zur genetischen Diagnostik ab 11 + 0 Wochen eine CVS erfolgen. Bei einem in der differenzierten sonografischen Untersuchung unauffälligen Fetus ist ab 15 + 0 Wochen eine Amniozentese die Methode der Wahl, weil hier die Untersuchung rein an fetalen Zellen erfolgt und das Risiko eines Mosaiks minimiert ist. Vor der Entscheidung zur pränatalen Diagnostik muss jede Schwangere die Möglichkeit der umfassenden Information und Beratung über den Informationsgehalt der verschiedenen genetischen Laboratoriums-Untersuchungen und die möglichen Risiken der Punktionsverfahren erhalten. Die Indikationen, bei denen im Rahmen der Beratung eine diagnostische Punktion und eine weitere Abklärung angeboten werden sollte, sind

- fetale Fehlbildungen [76].
- frühe Wachstumsrestriktion [23, 102].
- Nackentransparenz > 95. Perzentile.
  Der Befund einer erhöhten Nackentransportbreite wird häufig im Rahmen eines orientierenden Screenings zwischen 11. und 13. SSW erhoben und sollte Anlass zur Erweiterung des Screenings um anatomische und biochemische Zusatzparameter bzw. der weiterführenden Diagnostik durch Experten sein [23, 80, 87, 88].
- ein erhöhtes Risiko nach Ersttrimester-Screening.
  In den vorliegenden Studien werden unterschiedliche Schwellenwerte (cut-offs) verwendet. Mit jeder Erhöhung des Schwellenwerts sinken die Erkennungsraten sowohl für numerische und strukturelle Chromosomenanomalien als auch für pathologische CNVs, die durch cfDNA nicht erfasst werden.

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

Die resultierenden Positivraten sind abhängig von der Qualität und den eingesetzten Parametern des Ersttrimester-Screenings. Bei einem cut-off von 1:100 für alle Trisomien würden zwischen 2,1 % und 4,6 % [39, 87, 103] aller Schwangeren diagnostische Punktionen angeboten, bei einer Senkung des Schwellenwerts auf 1:300 sind die angegebenen Positivraten 4,1 % [87] und 10,4 % [39]. Die Rate der erkannten „übrigen" Anomalien außer Trisomien und Aneuploidien der Gonosomen würde beim niedrigeren Schwellenwert von 24 % auf 32 % [87] wie auch die der pathologischen CNVs von 14 % auf 25 % [80] steigen. Syngelaki [103] weist darauf hin, dass die meisten retrospektiven Studien mehr als die Hälfte dieser „übrigen" Anomalien nicht erfassen, sodass deren Detektionsraten überschätzt sind.

- auffällige biochemische Befunde.
  PAPP-A < 0,2MoM bzw. fßHCG < 0,2 oder > 5MoM [80, 87, 94].
- auffällige Befunde des cfDNA-Screenings [75, 104].
- Wunsch der Schwangeren.
  Der Wunsch nach dem Ausschluss genetischer Anomalien beim Feten wird auch geäußert, ohne dass ein Aneuploidie-Screening vorausgegangen ist. Unter forensischen Aspekten ist zu beachten, dass die Vorsorge-Richtlinien nach wie vor das mütterliche Alter ab 35 Jahren als Risikofaktor nennen.

Aus den gewonnenen Zellen kann folgende genetische Laboratoriumsdiagnostik erfolgen:

- die klassische mikroskopische Karyotypisierung (G-Banden-Technik mit einer Auflösung von 7 – 10 Mio. Basen),
- Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH),
- quantitative Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (qPCR),
- die molekulargenetische Untersuchung der submikroskopischen Struktur der Chromosomen mittels vergleichender genomischer Hybridisierung (Array-CGH mit einer deutlich höheren Auflösung von 25 000 – 100 000 Basen) sowie
- Einzelgenanalysen.

Bezogen auf alle Schwangerschaften ist die Inzidenz chromosomaler Aberrationen 0,44 % [85]. Bei unauffälligem Ultraschallbefund beträgt die Häufigkeit auffälliger Karyogramme aus Chorionzotten und Amnionzellen 2 %, davon sind 1,8 % klinisch relevant. 72,7 % der pathologischen Karyogramme sind Trisomien 13, 18, 21 sowie Aberrationen der Geschlechtschromosomen. In 27,3 % werden andere Aberrationen gefunden [105]. Die Mehrzahl der über 2100 strukturellen chromosomalen Anomalien (90 %) sind nur durch chromosomale Micro-Arrays (Array-CGH) mit einer Auflösung bis 25 – 100Kb erkennbar [106]. Die klinische Bedeutung pathologischer Strukturveränderungen kann bei weit über 99 % beschrieben werden [75]. Mikrodeletionen und (seltener) -duplikationen (pathologische „copy-number-variations", CNV) werden bei 2,5 % aller Schwangerschaften gefunden, bei sonografisch unauffälligen Feten in etwa 1 %, etwas häufiger bei isoliert auffälliger Serumbiochemie [77, 107].

Bei auffälligem Fetus (Fehlbildung und/oder IUGR) werden in 14 – 30 % der Fälle pathologische Karyogramme gefunden [108, 109]. Ähnlich hoch (22 – 38 %) ist die Häufigkeit bei NT-Werten > 95. Perzentile [89, 91, 110]. Bei normalem Karyogramm und sonografisch auffälligem Fetus muss eine Array-CGH angeboten werden. In 6 bis 10 % der Fälle werden pathologische CNVs gefunden [77, 78, 111]. Bei Feten mit multiplen, insbesondere dysmorphologisch relevanten Symptomen muss, gegebenenfalls anhand von einschlägigen Datenbanken, gezielt nach monogenen Krankheitsbildern gesucht werden. Bei dorsonuchalem Ödem und Fehlbildungen sind über 100 genetische Syndrome mit Einzelgen-Mutationen wie das Noonan-Syndrom bekannt [112]. Insgesamt sind mehr als 5000 Dysmorphiesyndrome beschrieben, von denen vor allem besonders auffällige Entitäten wie Skelettdysplasien sonografisch gut erkennbar sind [113, 114]. Die molekulargenetische Diagnostik kann mit Sanger-Sequenzierung oder NGS-gestützten Panels aus jedem fetalen Material vorgenommen werden.

Der Beratung der Schwangeren sollten hinsichtlich des punktionsbedingten Fehlgeburtsrisikos aktuelle große Studien zugrunde gelegt werden, die gezeigt haben, dass die Abortrate in Expertenzentren 1:1000 für die Amniozentese und 1:500 für die Chorionzottenbiopsie beträgt [115 – 117] bzw. statistisch nicht von der natürlichen Abortrate in der jeweiligen Risikogruppe zu unterscheiden ist [96, 97]. Die Angabe einer Abortrate von 1 % aus einer 1986 publizierten prospektiv randomisierten Studie [118] entspricht nicht mehr den aktuellen Erkenntnissen.

In Kenntnis der umfassenden Möglichkeiten genetischer Diagnostik, des sehr geringen Risikos einer diagnostischen Punktion, der altersunabhängigen Prävalenz pathologischer CNVs sowie der relevant eingeschränkten Aussagekraft des cfDNA-Screenings und der Tatsache, dass nur etwa 80 % der chromosomalen Aberrationen mit auffälligen sonografischen Befunden assoziiert sind, sollte – auch unter forensischen Aspekten – jede Schwangere auf die Möglichkeit einer diagnostischen Punktion und einer Microarray-Analyse hingewiesen werden [119, 120].

Screening auf seltene Aneuploidien, gonosomale Aneuploidien, Mikrodeletionssyndrome und monogene Erkrankungen

Seltene Aneuploidien

Während für die Untersuchung von cfDNA aus mütterlichem Blut etliche Studien für die Erkennung der häufigsten Trisomien vorliegen, gibt es für die Erkennung seltener Aneuploidien sowie von Deletionen und Duplikationen nur wenige Daten.

Seltene Trisomien haben eine Prävalenz von 0,3 – 0,8 % [121, 122]. Ursächlich kann es sich um eine uniparentale Disomie (UPD) handeln, bei der der Fetus beide homologen Chromosomen von einem Elternteil geerbt hat (z. B. Trisomie 6, 7, 14, 15, 16), oder es kann ein plazentares Mosaik vorliegen. Letzteres kann für eine Wachstumsrestriktion des Fetus verantwortlich sein. In 13 % der Fälle sind plazentare Mosaike repräsentativ für ein tatsächliches fetales Mosaik [123]. Erkennungsraten für die Diagnostik seltener Aneuploidien durch cfDNA sind wegen fehlender Daten zum Follow-Up nicht angegeben. Die Falsch-positiv-Raten liegen bei 0,7 % für das gesamte Kollektiv, der positive prädiktive Wert bei lediglich 8 % [122]. Aufgrund ihrer klinischen Bedeutung plädieren einige Autoren dafür, pathologische Befunde seltener Trisomien mitzuteilen [124]. Das American College of Medical Genetics and

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

Genomics (ACMG) empfiehlt dagegen, mit cfDNA nicht auf seltene Aneuploidien zu screenen [125].

Die Erkennung der Triploidie mittels cfDNA ist insbesondere durch die meist niedrige plazentare DNA-Fraktion in maternalem Blut erheblich beeinträchtigt. In der Regel werden deshalb Triploidien nicht erkannt [126 – 128], während sie im Ersttrimester-Screening in bis zu 90 % der Fälle sonografisch und biochemisch auffällig sind [23]. Deshalb sind Triploidien ähnlich wie die Trisomie 18 und andere Aberrationen mit 3 % sehr häufig in der Gruppe der Untersuchungen ohne Ergebnis („no call results") aufgrund niedriger Konzentrationen der plazentaren DNA-Fraktion zu finden [129]. Nach cfDNA ohne Ergebnis wird zu einer differenzierten sonografischen Untersuchung und gegebenenfalls einer diagnostischen Punktion geraten [127].

Aneuploidien der Geschlechtschromosomen, frühzeitige Bestimmung des fetalen Geschlechts

Die häufigsten Aneuploidien der Geschlechtschromosomen (sex chromosome aneuploidies, SCA) sind die Monosomie 45, X (Ullrich-Turner-Syndrom), 47, XXX (Triple-X-Syndrom), 47, XXY (Klinefelter-Syndrom) und 47, XYY (Diplo-Y-Syndrom). Die Prävalenz für SCA ist 0,8 – 1 %, wobei die Monosomie 45, X mit ca. 70 % den höchsten Anteil hat [122, 130]. Die Richtigkeit der Untersuchung von cfDNA in der Ermittlung des normalen Geschlechts liegt deutlich über 99 %. Die diagnostische Wertigkeit für SCA ist wesentlich geringer. Für Monosomie 45, X wird in einer kombinierten Auswertung von 3 zwischen 2013 und 2015 publizierten Arbeiten eine Erkennungsrate von 89 % gefunden, für die anderen 3 SCA zwischen 82 und 90 % [131]. Eine Metaanalyse findet für Monosomie 45, X eine höhere Erkennungsrate (95,8 %) sowie eine FPR von 0,14 %. Für die anderen SCA beträgt in dieser Publikation die Erkennungsrate 100 %, die FPR 0,004 % [53]. Eine nähere Analyse der zugrunde liegenden industriegesponserten Publikationen ergibt allerdings bei einem Teil der Studien eine hohe Rate an „lost to follow-up"-Fällen bis zu 70 % [130]. Die Angaben zur diagnostischen Validität sind daher nur sehr eingeschränkt gültig. Insbesondere der positive prädiktive Wert (PPV) für SCA erscheint niedrig; für die Monosomie 45, X liegt er bei etwa 30 % [131]. Eine neuere, ebenfalls industriegesponserte Studie berechnet einen PPV von 70 % für die Monosomie 45, X [122]. Firmenunabhängige Studien zeigen, dass die PPV für SCA niedriger liegen: Zwischen 38 % und 50 % für Monosomie 45, X und 17 % – 50 % für 47, XXX, 47, XXY und 47, XYY [128, 132, 133]. Diskordante Befunde können auf plazentaren Mosaiken, aber auch auf einem entsprechend auffälligen maternalen Karyotyp beruhen. Grati et al. zeigten an 522 Fällen von SCA, dass in 122 (23,4 %) ein auf die Plazenta beschränktes Mosaik (CPM) vorlag, in 43 (8,2 %) ein echtes fetales Mosaik (TFM). Dies betrifft vor allem die sonografisch unauffälligen Feten mit Monosomie 45, X. Der positive prädiktive Wert einer auffälligen cfDNA-Analyse ist in dieser Gruppe deshalb nur bei etwa 53 %, während bei sonografisch auffälligem Befund wie Nackenödem oder Hygrom der PPV 98,8 % wäre [134]. Sowohl bei normalem Geschlechtsbefund nach cfDNA als auch bei pathologischem Befund sollte eine sonografische Bestimmung des fetalen Genitals zum Ausschluss von Entwicklungsstörungen in diesem Bereich erfolgen [135]. Aufgrund der ethischen Problematik bei der Mitteilung von SCA haben die europäische und amerikanische Gesellschaft für Humangenetik empfohlen, derartige Befunde nach cfDNA derzeit nicht mitzuteilen [136]. Das American College of Medical Genetics and Genomics empfiehlt eine ausführliche Beratung über die Problematik vor cfDNA [125].

Das fetale Geschlecht darf entsprechend dem GenDG nicht vor 14^{+0} Wochen mitgeteilt werden. In Einzelfällen ist die Geschlechtsbestimmung aber bereits vorab von Wichtigkeit. Insbesondere beim adrenogenitalen Syndrom (AGS) ist eine Geschlechtsbestimmung bereits vor 7 Wochen von Bedeutung: Bei weiblichen Feten soll durch die Steroidgabe eine Virilisierung verhindert werden, wobei Nebenwirkungen und Ausmaß der Wirksamkeit kritisch diskutiert werden [137]. Dies kann durch die cfDNA-Analyse bereits zu diesem frühen Zeitpunkt gelingen. Dabei fokussieren die Testsysteme auf die Detektion von SRY oder DYS14 [138]. Sollten diese nicht detektiert werden können, würde mit einer Therapie begonnen werden. Ein weiterer Einsatz liegt in der Bestimmung des Geschlechts bei X-chromosomalen Erkrankungen wie der Muskeldystrophie Duchenne. Auch bei unklarer sonografischer Geschlechtszuordnung und den Differenzialdiagnosen Klitorishypertrophie versus Hypospadie könnte der Einsatz der cfDNA-Analyse an Bedeutung gewinnen.

Mikrodeletionen/ -duplikationen

Bei Mikrodeletionen und -duplikationen (pathologische „copy number variations", CNV) handelt es sich um sehr kleine strukturelle Aberrationen, die in der konventionellen mikroskopischen Chromosomendiagnostik nicht nachgewiesen werden können. Sie werden bei 1 – 1,7 % der Schwangerschaften mit unauffälligen Feten diagnostiziert und sind damit bei jüngeren Schwangeren deutlich häufiger zu finden als eine Trisomie 21 [139]. Eine sichere Diagnose pathologischer CNVs kann nur aus fetalen Proben mittels Array-CGH erfolgen (siehe Abschnitt „Diagnostische Punktionen"). Die einzelnen der über 2100 bekannten Veränderungen sind jeweils extrem selten [106]. So beträgt die Prävalenz der häufigsten Mikrodeletion, der Mikrodeletion 22q11,2 (DiGeorge-Syndrom), 1:4000 bis 1:1000. Weitere Mikrodeletionen wie das Cri-du-Chat-Syndrom (Mikrodeletion 5p15) haben Prävalenzen, die deutlich unter 1:10 000, zum Teil unter 1:100 000 liegen [140]. Im Gegensatz zu den Trisomien ist die Prävalenz der Mikrodeletionen unabhängig vom maternalen Alter. Seit einigen Jahren versuchen die Anbieter von cfDNA mit unterschiedlichen Techniken nicht nur auf die häufigsten Trisomien zu screenen, sondern auch auf pathologische CNVs. Diese Veränderungen sind mittels cfDNA wegen ihrer Größe unter 5 – 7 Megabasen (Mb) schwierig zu erkennen. Derzeit können nur CNVs > 3Mb, wahrscheinlich sogar nur > 6Mb durch cfDNA detektiert werden [140, 141]. Die Mehrzahl der Firmen beschränkt ihr Angebot auf die häufigsten größeren Mikrodeletionen wie 22q11,2 (DiGeorge-Syndrom), 15q (Prader-Willi/Angelman-Syndrom) oder 5p15 (Cri-du-Chat-Syndrom). Somit werden zurzeit bestenfalls 0,1 – 11 % der pathologischen CNVs durch cfDNA erfasst [120, 140, 142, 143].

Die Publikationen verschiedener Anbieter zum Screening auf Mikrodeletionen mit cfDNA basieren zu einem großen Teil auf retrospektiven Auswertungen vorhandener Serumproben postnatal detektierter Erkrankter und erlauben nur partiell eine Kalkulation

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

der echten diagnostischen Wertigkeit, da hohe „lost to follow-up"-Raten bis 70 % bestehen oder gar keine Angaben über die zugrunde liegenden Kollektive gemacht werden [122, 144 – 146]. Zuverlässige Erkennungsraten lassen sich daher aus den vorliegenden Daten nicht berechnen. In einer retrospektiven „proof of concept"-Studie ergab sich für alle untersuchten CNVs eine theoretische Erkennungsrate von 74 % [147]. Eine Zusammenstellung verfügbarer Daten zeigt bei einer Falsch-positiv-Rate für das gesamte untersuchte Kollektiv von > 1 % und den geringen Prävalenzen der Anomalien niedrige positive prädiktive Werte zwischen 4 und 5 % für die meisten pathologischen CNVs [140]. Die Mehrzahl der auffälligen Befunde wäre danach falsch positiv.

Eine unabhängige Studie, die cfDNA-Tests verschiedener Anbieter untersucht, findet für Mikrodeletionen einen positiven prädiktiven Wert von 0 % sowie eine hohe Zahl von Testversagern („non-reportables") von 65 % für diese Veränderungen [148].

Ein relevantes ethisches Problem ist die mögliche Entdeckung maternaler CNVs oder maternaler Tumoren durch cfDNA-Screening auf pathologische CNVs [121, 129]. Bei der direkten Diagnostik mittels Array-CGH aus Chorionzotten oder Fruchtwasser entfällt dieses Problem, weil hier nur plazentare bzw. fetale DNA analysiert wird.

Die Leitlinien mehrerer Fachgesellschaften halten fest, dass ein cfDNA-Screening für pathologische CNVs nicht empfohlen werden kann [125, 136, 149, 150].

Bestimmung der fetalen Blutgruppe

Die fetale Blutgruppenbestimmung ist insbesondere bei positivem Antikörpersuchtest und Rhesus D-negativen Schwangeren von Bedeutung. Sollte der Fetus Rhesus D-negativ sein, kann eine immunologisch bedingte fetale Anämie nicht eintreten. Chitty et al. zeigten, dass ab 12 Wochen die Detektionsrate für das Rhesus-Merkmal-D durch cfDNA bei über 99,7 % liegt [151]. Auch die fetalen Blutgruppenantigene Kell, C, c, E und e lassen sich über die zellfreie DNA bestimmen [152]. Aufgrund dieser Ergebnisse wird diskutiert, ob bei Rhesus-negativen Schwangeren zunächst eine Bestimmung des fetalen Rhesus-D-Faktors erfolgen und die Anti-D-Gabe auf die Schwangeren mit Rhesus D-positiven Feten beschränkt werden soll.

Detektion von monogenen Erkrankungen

Das Spektrum der Untersuchung von cfDNA wurde schon 2007 auf monogene Erkrankungen wie Achondroplasie und thanatophore Dysplasie erweitert. In Großbritannien ist die Detektion dieser beiden Erkrankungen sowie des Apert-Syndroms und paternaler Mutationen der zystischen Fibrose mittels cfDNA bereits vom NHS als Diagnostik zugelassen. Da die Untersuchung von cfDNA schon ab 9 Wochen möglich ist, könnte ein Vorteil der sehr frühe Ausschluss von Wiederholungsfällen sein [138]. Die Anzahl der potentiell erkennbaren Erkrankungen geht weit über die oben erwähnten hinaus und umfasst vor allem weitere autosomal-dominante Erkrankungen wie tuberöse Sklerose, aber auch einige autosomal-rezessive Entitäten wie die autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung [153].

Möglichkeiten des ETS zum Screening auf maternofetale Erkrankungen

Die Nutzung zellfreier DNA plazentaren Ursprungs wurde auch für die Prädiktion plazentar bedingter Erkrankungen untersucht [154, 155]. In Studien, die mit 11^{+0} – 13^{+6} Wochen durchgeführt wurden, konnte allerdings keine relevante Dosisänderung plazentarer cfDNA bei Schwangerschaften gefunden werden, welche später plazentar bedingte Schwangerschaftskomplikationen entwickelten [156 – 159]. Auch die Kombinationen mit biochemischen Markern [160] oder uterinen Dopplermessungen [161] erbrachten keine Verbesserungen der Prädiktionsraten.

Mit der Schlüsselpublikation und dem programmatischen Titel: „Turning the pyramid of prenatal care" [3] erweiterte Nicolaides das genetisch orientierte ETS zu einem frühen Screening auf maternofetale Erkrankungen. Maternofetale Erkrankungen sind etwa um den Faktor 10 häufiger als fetale genetische Anomalien und grundsätzlich einer Prävention zugänglich. Modelle zur frühen Risikoprädiktion wurden für die Schwangerschaftskomplikationen Präeklampsie [162 – 165], fetale Wachstumsrestriktion [166], Fehlgeburt und Totgeburt [167], Gestationsdiabetes [168, 169] und fetale Makrosomie sowie zur Frühgeburt entwickelt [170].

Die vorliegenden Modelle zeigen, dass es prinzipiell möglich ist, bereits zwischen 11^{+0} und 13^{+6} Wochen auf die wesentlichen Probleme der Schwangerschaft zu screenen und auf der Basis von individuellen Risikofaktoren Prädiktionsmodelle für multifaktorielle Erkrankungen zu entwickeln [171, 172]. Allerdings ist die Testperformance der frühen Prädiktion in der Schwangerschaft bisher eher moderat und Validierungsstudien stehen meist aus [173, 174].

Präeklampsie (PE)

Eine erfolgreiche Entwicklung zeigt exemplarisch die frühe Prädiktion der PE [175] mit guter Testperformance [162, 164, 176] und Bestätigung bei der externen Validierung an einer unselektierten Population [177]. Der Durchbruch zur Prävention gelang jetzt mit dem Nachweis der Reduktion der PE-Inzidenz mittels frühzeitiger Gabe von niedrig dosiertem Aspirin: In der ASPRE-Studie wurden Schwangere zum Zeitpunkt 11^{+0} – 13^{+6} Wochen mit dem FMF-Algorithmus für PE gescreent. In der Hochrisikogruppe (Risiko > 1:100) verringerte die Gabe von ASS (150 mg/Tag, ab 11 – 14 Wochen) die Inzidenz der PE < 37 Wo. um 62 % (P = 0,004) und der PE < 34 Wo. um 82 % [178].

Neuere biophysikalische Verfahren ermöglichen eine Bestimmung der Pulswellengeschwindigkeit und des sog. Augmentationsindexes zur differenzierten Beurteilung der maternalen Pulswelle. Dabei steht auch hier die frühe Prädiktion des PE-Risikos im 1. Trimenon im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses [179, 180].

Bei vorausgegangener Sectio ist das frühe Screening zwischen 11 und 14 Wochen auf Hinweise für Narbendefekte [181, 182] und v. a. auf Zeichen des erhöhten Risikos einer Placenta accreta [183] von großer Bedeutung für die frühzeitige Vorstellung im Perinatalzentrum. Aktuelle Studien von Timor-Tritsch zeigen Vorteile der frühen Erkennung der Narbenimplantation bereits zwischen 8

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

und 10 Wochen [184] und eröffnen die Option zur frühen minimal-invasiven Behandlung [185].

ETS ist nicht länger nur auf die Aneuploidie-Suche festgelegt. Die Erweiterung der ET-Untersuchung zur maternofetalen Medizin wird an Bedeutung zunehmen, da die Effektivität präventiver Maßnahmen von einem frühen Beginn und damit von einer frühen Risikoerkennung wesentlich profitieren wird.

Ausblick

Screening-Tests an zellfreier DNA können nach eingehender Ultraschalluntersuchung der Feten am Ende des ersten Trimenons und fachkundiger Beratung über das Spektrum der diagnostischen Möglichkeiten für diejenigen Schwangeren hilfreich sein, die auf den weitgehenden Ausschluss von Trisomien fokussieren.

Primäres cfDNA-Screening zu einem möglichst frühen Zeitpunkt impliziert die Gefahr, dass nach einem unauffälligen Befund des cfDNA-Screenings eventuelle strukturelle oder andere genetische Anomalien erst mit 20 Wochen oder gar nicht entdeckt werden. Das aktualisierte Consensus-Statement der ISUOG äußert die Bedenken, dass ein primäres cfDNA-Screening im Low-risk-Kollektiv einen negativen Einfluss sowohl auf die Qualität der Beratung vor dem cfDNA-Test als auch die Ultraschalldiagnostik in den Folgewochen haben könnte [186].

Die Akzeptanz der cfDNA-Screening-Tests wird zu einem nicht unerheblichen Teil von Ängsten vor eingriffsbedingten Komplikationen diagnostischer Punktionen getragen [187].

Die Erweiterung des Screenings auf weitere Anomalien mit überwiegend niedrigen Prävalenzen führt zu einer höheren Komplexität der Beratung.

Ein Kernproblem der aktuellen cfDNA-Tests ist die Dominanz der maternalen DNA-Fragmente. Alle Zählmethoden können nicht zwischen maternaler und plazentarer DNA unterscheiden. SNP-basierte Methoden basieren auf einem Vergleich maternaler, fetaler und paternaler Nukleotidabfolgen, konnten diesen grundsätzlichen Vorteil jedoch bislang nicht verifizieren.

Methoden zur Isolierung einzelner fetaler Zellen [188, 189] oder Untersuchung von MikroRNA [190, 191] sind in kleinen Studienreihen ebenso wie die Isolierung von Trophoblastzellen aus Zervixabstrichen [187, 192] oder von embryonalen Zellen nach Coelocentese [193] dargestellt worden. Die schnelleren und günstigeren Sequenzierungstechniken könnten neue diagnostische Möglichkeiten auch bei kleinen Zellzahlen oder Fragmenten eröffnen.

Der wissenschaftlich unabdingbare und überfällige Einzug der chromosomalen Microarrays und die Möglichkeit des Whole-Exom-Sequencing (WES) [83] in die pränatale genetische Diagnostik und die neuen Erkenntnisse über die geringen Komplikationsraten diagnostischer Punktionen sollten Anlass zu einer Neubewertung der genetischen Analysen sein.

Interessenkonflikt

U Gembruch hat 2013 – 2015 an einer durch LifeCodexx geförderten klinischen PraenaTest-Studie teilgenommen.
KO Kagan leitet eine von Ariosa geförderte prospektive cfDNA-Studie.
T Schramm gehört dem Wissenschaftlichen Beirat bei GE Healthcare Viewpoint an.

Literatur

[1] Schmid M, Klaritsch P, Arzt W et al. Cell-Free DNA Testing for Fetal Chromosomal Anomalies in clinical practice: Austrian-German-Swiss Recommendations for non-invasive prenatal tests (NIPT). Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany: 1980) 2015; 36: 507 – 510

[2] Advani HV, Barrett AN, Evans MI et al. Challenges in non-invasive prenatal screening for sub-chromosomal copy number variations using cell-free DNA. Prenatal diagnosis 2017; 37: 1067 – 1075

[3] Nicolaides KH. Turning the pyramid of prenatal care. Fetal diagnosis and therapy 2011; 29: 183 – 196

[4] Sonek JD, Kagan KO, Nicolaides KH. Inverted Pyramid of Care. Clinics in laboratory medicine 2016; 36: 305 – 317

[5] Kagan KO, Sroka F, Sonek J et al. First trimester screening based on ultrasound and cfDNA vs. first-trimester combined screening – a randomized controlled study. Ultrasound Obstet Gynecol 2017. doi:10.1002/uog.18905

[6] [Anonym]. http://www.gesetze-im-internet.de/gendg/ doi:

[7] [Anonym] doi: http://www.patienten-rechte-gesetz.de

[8] [Anonym]. http://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/GendiagnostikKommission/Mitteilungen/GEKO_Mitteilungen_08.html doi:

[9] Salomon LJ, Alfirevic Z, Bilardo CM et al. ISUOG practice guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 41: 102 – 113

[10] von Kaisenberg C, Chaoui R, Hausler M et al. Quality Requirements for the early Fetal Ultrasound Assessment at 11–13+6 Weeks of Gestation (DEGUM Levels II and III). Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany: 1980) 2016; 37: 297 – 302

[11] Syngelaki A, Chelemen T, Dagklis T et al. Challenges in the diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities at 11–13 weeks. Prenatal diagnosis 2011; 31: 90 – 102

[12] Becker R, Wegner RD. Detailed screening for fetal anomalies and cardiac defects at the 11–13-week scan. Ultrasound Obstet Gynecol 2006; 27: 613 – 618

[13] Becker R, Schmitz L, Kilavuz S et al. “Normal” nuchal translucency: a justification to refrain from detailed scan? Analysis of 6858 cases with special reference to ethical aspects. Prenatal diagnosis 2012; 32: 550 – 556

[14] Rossi AC, Prefumo F. Accuracy of ultrasonography at 11–14 weeks of gestation for detection of fetal structural anomalies: a systematic review. Obstetrics and gynecology 2013; 122: 1160 – 1167

[15] Chaoui R, Benoit B, Mitkowska-Wozniak H et al. Assessment of intracranial translucency (IT) in the detection of spina bifida at the 11–13-week scan. Ultrasound Obstet Gynecol 2009; 34: 249 – 252

[16] Lachmann R, Chaoui R, Moratalla J et al. Posterior brain in fetuses with open spina bifida at 11 to 13 weeks. Prenatal diagnosis 2011; 31: 103 – 106

[17] Maruotti GM, Saccone G, D’Antonio F et al. Diagnostic accuracy of intracranial translucency in detecting spina bifida: a systematic review and meta-analysis. Prenatal diagnosis 2016; 36: 991 – 996

[18] Kagan KO, Hoopmann M, Hammer R et al. Screening for chromosomal abnormalities by first trimester combined screening and noninvasive prenatal testing. Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany: 1980) 2015; 36: 40 – 46

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

[19] Gasiorek-Wiens A, Tercanli S, Kozlowski P et al. Screening for trisomy 21 by fetal nuchal translucency and maternal age: a multicenter project in Germany, Austria and Switzerland. Ultrasound Obstet Gynecol 2001; 18: 645 – 648

[20] von Kaisenberg CS, Gasiorek-Wiens A, Bielicki M et al. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency and maternal serum biochemistry at 11–14 weeks: a German multicenter study. The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet 2002; 12: 89 – 94

[21] Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA et al. Increased nuchal translucency with normal karyotype. American journal of obstetrics and gynecology 2005; 192: 1005 – 1021

[22] Hyett JA, Perdu M, Sharland GK et al. Increased nuchal translucency at 10–14 weeks of gestation as a marker for major cardiac defects. Ultrasound Obstet Gynecol 1997; 10: 242 – 246

[23] Wagner P, Sonek J, Hoopmann M et al. First-trimester screening for trisomies 18 and 13, triploidy and Turner syndrome by detailed early anomaly scan. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 48: 446 – 451

[24] Jelliffe-Pawlowski LL, Norton ME, Shaw GM et al. Risk of critical congenital heart defects by nuchal translucency norms. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 212: 518.e511-510

[25] Chelemen T, Syngelaki A, Maiz N et al. Contribution of ductus venosus Doppler in first-trimester screening for major cardiac defects. Fetal diagnosis and therapy 2011; 29: 127 – 134

[26] Pereira S, Ganapathy R, Syngelaki A et al. Contribution of fetal tricuspid regurgitation in first-trimester screening for major cardiac defects. Obstetrics and gynecology 2011; 117: 1384 – 1391

[27] Khalil A, Nicolaides KH. Fetal heart defects: potential and pitfalls of first-trimester detection. Seminars in fetal & neonatal medicine 2013; 18: 251 – 260

[28] Geipel A, Gembruch U. Screening performance of first trimester nuchal translucency, ductus venosus blood flow and tricuspid regurgitation for cardiac defects. Zeitschrift fur Geburtshilfe und Neonatologie 2012; 216: 157 – 161

[29] De Robertis V, Rembouskos G, Fanelli T et al. The three-vessel and trachea view (3VTV) in the first trimester of pregnancy: an additional tool in screening for congenital heart defects (CHD) in an unselected population. Prenatal diagnosis 2017; 37: 693 – 698

[30] Quarello E, Lafouge A, Fries N et al. Basic heart examination: feasibility study of first-trimester systematic simplified fetal echocardiography. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 224 – 230

[31] Stagnati V, Zanardini C, Fichera A et al. Early prediction of twin-to-twin transfusion syndrome: systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 573 – 582

[32] Khalil A, Rodgers M, Baschat A et al. ISUOG Practice Guidelines: role of ultrasound in twin pregnancy. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 47: 247 – 263

[33] Souka AP, Krampl E, Bakalis S et al. Outcome of pregnancy in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency in the first trimester. Ultrasound Obstet Gynecol 2001; 18: 9 – 17

[34] Commission on Genetic Testing (GEKO). Guideline on Requirements for Qualification in and Content of Genetic Counseling according to § 23 Genetic Diagnostics Act. Bundesgesundheitsbl 2011; 54: 1248 – 1256 doi:10.1007/s00103-011-1357-3

[35] Commission on Genetic Testing (GEKO). Guideline on Quality Requirements in Prenatal Risk Assessment and Necessary Measures for Quality Assurance according to § 23 Genetic Diagnostics Act. Bundesgesundheitsbl 2013; 56: 1023 – 1027 doi:10.1007/s00103-013-1782-6

[36] Kagan KO, Schmid M, Hoopmann M et al. Screening Performance and Costs of Different Strategies in Prenatal Screening for Trisomy 21. Geburtshilfe und Frauenheilkunde 2015; 75: 244 – 250

[37] Wright D, Syngelaki A, Bradbury I et al. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. Fetal diagnosis and therapy 2014; 35: 118 – 126

[38] Kagan KO, Wright D, Baker A et al. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. Ultrasound Obstet Gynecol 2008; 31: 618 – 624

[39] Santorum M, Wright D, Syngelaki A et al. Accuracy of first-trimester combined test in screening for trisomies 21, 18 and 13. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 714 – 720

[40] Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M et al. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. American journal of obstetrics and gynecology 2012; 206: 322.e321 – 325

[41] Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD et al. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. Obstetrics and gynecology 2012; 119: 890 – 901

[42] Norton ME, Brar H, Weiss J et al. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. American journal of obstetrics and gynecology 2012; 207: 137.e131 – 138

[43] Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics 2012; 14: 296 – 305

[44] Sparks AB, Struble CA, Wang ET et al. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. American journal of obstetrics and gynecology 2012; 206: 319.e1 – 9

[45] Stumm M, Entezami M, Trunk N et al. Noninvasive prenatal detection of chromosomal aneuploidies using different next generation sequencing strategies and algorithms. Prenatal diagnosis 2012; 32: 569 – 577

[46] Zimmermann B, Hill M, Gemelos G et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. Prenatal diagnosis 2012; 32: 1233 – 1241

[47] Norton ME, Wapner RJ. Cell-free DNA Analysis for Noninvasive Examination of Trisomy. The New England journal of medicine 2015; 373: 2582

[48] Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. Obstetrics and gynecology 2014; 124: 210 – 218

[49] Quezada MS, Gil MM, Francisco C et al. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by cell-free DNA analysis of maternal blood at 10–11 weeks' gestation and the combined test at 11–13 weeks. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 36 – 41

[50] Stokowski R, Wang E, White K et al. 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. Prenatal diagnosis 2015; 35: 1243 – 1246

[51] McLennan A, Palma-Dias R, da Silva Costa F et al. Noninvasive prenatal testing in routine clinical practice–an audit of NIPT and combined first-trimester screening in an unselected Australian population. The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology 2016; 56: 22 – 28

[52] Iwarsson E, Jacobsson B, Dagerhamn J et al. Analysis of cell-free fetal DNA in maternal blood for detection of trisomy 21, 18 and 13 in a general pregnant population and in a high risk population – a systematic review and meta-analysis. Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica 2017; 96: 7 – 18

[53] Gil MM, Accurti V, Santacruz B et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 50: 302 – 314

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

[54] Gil MM, Quezada MS, Revello R et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 249 – 266

[55] Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. BMJ open 2016; 6: e010002

[56] Wax JR, Chard R, Litton C et al. Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 213: 879 – 880

[57] Mackie FL, Hemming K, Allen S et al. The accuracy of cell-free fetal DNA-based non-invasive prenatal testing in singleton pregnancies: a systematic review and bivariate meta-analysis. BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology 2017; 124: 32 – 46

[58] Grati FR, Bajaj K, Malvestiti F et al. The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. Prenatal diagnosis 2015; 35: 994 – 998

[59] Taneja PA, Snyder HL, de Feo E et al. Noninvasive prenatal testing in the general obstetric population: clinical performance and counseling considerations in over 85 000 cases. Prenatal diagnosis 2016; 36: 237 – 243

[60] Zhang H, Gao Y, Jiang F et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 530 – 538

[61] Dar P, Gross SJ, Benn P. Positive predictive values and false-positive results in noninvasive prenatal screening. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 213: 595 – 596

[62] Revello R, Sarno L, Ispas A et al. Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of a failed result. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 47: 698 – 704

[63] Scott FP, Menezes M, Palma-Dias R et al. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction and the consequences for test accuracy. The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet 2017;, doi:10.1080/14767058.2017.1330881 1 – 8

[64] Livergood MC, LeChien KA, Trudell AS. Obesity and cell-free DNA "no calls": is there an optimal gestational age at time of sampling? American journal of obstetrics and gynecology 2017; 216: 413.e411 – 413.e419

[65] Ma GC, Wu WJ, Lee MH et al. Low-molecular-weight heparin associated with reduced fetal fraction and subsequent false-negative cell-free DNA test result for trisomy 21. Ultrasound Obstet Gynecol 2018; 51: 276 – 277

[66] Grati FR, Kagan KO. Rate of no result in cell-free DNA testing and its influence on test performance metrics. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 50: 134 – 137

[67] Cirigliano V, Ordonez E, Rueda L et al. Performance of the neoBona test: a new paired-end massively parallel shotgun sequencing approach for cell-free DNA-based aneuploidy screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 460 – 464

[68] Sarno L, Revello R, Hanson E et al. Prospective first-trimester screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood in twin pregnancy. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 47: 705 – 711

[69] Huang X, Zheng J, Chen M et al. Noninvasive prenatal testing of trisomies 21 and 18 by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in twin pregnancies. Prenatal diagnosis 2014; 34: 335 – 340

[70] Le ConteG, Letourneau A, Jani J et al. Cell-free fetal DNA analysis in maternal plasma as a screening test for trisomy 21, 18 and 13 in twin pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2017. doi:10.1002/uog.18838

[71] Lau TK, Jiang F, Chan MK et al. Non-invasive prenatal screening of fetal Down syndrome by maternal plasma DNA sequencing in twin pregnancies. The journal of maternal-fetal & neonatal medicine: the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet 2013; 26: 434 – 437

[72] Tan Y, Gao Y, Lin G et al. Noninvasive prenatal testing (NIPT) in twin pregnancies with treatment of assisted reproductive techniques (ART) in a single center. Prenatal diagnosis 2016; 36: 672 – 679

[73] Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaides KH et al. Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 61 – 66

[74] Gromminger S, Yagmur E, Erkan S et al. Fetal Aneuploidy Detection by Cell-Free DNA Sequencing for Multiple Pregnancies and Quality Issues with Vanishing Twins. Journal of clinical medicine 2014; 3: 679 – 692

[75] Oneda B, Baldinger R, Reissmann R et al. High-resolution chromosomal microarrays in prenatal diagnosis significantly increase diagnostic power. Prenatal diagnosis 2014; 34: 525 – 533

[76] Beulen L, Faas BHW, Feenstra I et al. Clinical utility of non-invasive prenatal testing in pregnancies with ultrasound anomalies. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 721 – 728

[77] Wapner RJ, Martin CL, Levy B et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. The New England journal of medicine 2012; 367: 2175 – 2184

[78] Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP et al. Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. Prenatal diagnosis 2012; 32: 986 – 995

[79] Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 46: 650 – 658

[80] Vogel I, Petersen OB, Christensen R et al. Chromosomal microarray as a primary diagnostic genomic tool for pregnancies defined as being at increased risk within a population based combined first-trimester screening program. Ultrasound Obstet Gynecol 2017. doi:10.1002/uog.17548

[81] Drury S, Williams H, Trump N et al. Exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic abnormalities. Prenatal diagnosis 2015; 35: 1010 – 1017

[82] Hillman SC, Willams D, Carss KJ et al. Prenatal exome sequencing for fetuses with structural abnormalities: the next step. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 4 – 9

[83] Best S, Wou K, Vora N et al. Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing. Prenatal diagnosis 2018; 38: 10 – 19

[84] Oneda B, Steindl K, Masood R et al. Noninvasive prenatal testing: more caution in counseling is needed in high risk pregnancies with ultrasound abnormalities. European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology 2016; 200: 72 – 75

[85] Wellesley D, Dolk H, Boyd PA et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. EJHG 2012; 20: 521 – 526

[86] Alamillo CM, Krantz D, Evans M et al. Nearly a third of abnormalities found after first-trimester screening are different than expected: 10-year experience from a single center. Prenatal diagnosis 2013; 33: 251 – 256

[87] Petersen OB, Vogel I, Ekelund C et al. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2014; 43: 265 – 271

[88] Kagan KO, Avgidou K, Molina FS et al. Relation between increased fetal nuchal translucency thickness and chromosomal defects. Obstetrics and gynecology 2006; 107: 6 – 10

[89] Äyräs O, Tikkanen M, Eronen M et al. Increased nuchal translucency and pregnancy outcome: a retrospective study of 1063 consecutive singleton pregnancies in a single referral institution. Prenatal diagnosis 2013; 33: 856 – 862

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

[90] Christiansen M, Ekelund CK, Petersen OB et al. Nuchal translucency distributions for different chromosomal anomalies in a large unselected population cohort. Prenatal diagnosis 2016; 36: 49 – 55

[91] Srebniak MI, de Wit MC, Diderich KE et al. Enlarged NT (>/=3.5 mm) in the first trimester – not all chromosome aberrations can be detected by NIPT. Molecular cytogenetics 2016; 9: 69

[92] Lund IC, Christensen R, Petersen OB et al. Chromosomal microarray in fetuses with increased nuchal translucency. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 95 – 100

[93] Maya I, Yacobson S, Kahana S et al. Cut-off value of nuchal translucency as indication for chromosomal microarray analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 50: 332 – 335

[94] Tørring N, Petersen OB, Becher N et al. First trimester screening for other trisomies than trisomy 21, 18, and 13. Prenatal diagnosis 2015; 35: 612 – 619

[95] Tørring N, Petersen OB, Uldbjerg N. Ten years of experience with first-trimester screening for fetal aneuploidy employing biochemistry from gestational weeks 6+0 to 13+6. Fetal diagnosis and therapy 2015; 37: 51 – 57

[96] Akolekar R, Beta J, Picciarelli G et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 16 – 26

[97] Wulff CB, Gerds TA, Rode L et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147987 singleton pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 47: 38 – 44

[98] Kagan KO, Eiben B, Kozlowski P. Combined first trimester screening and cell-free fetal DNA – "next generation screening". Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany: 1980) 2014; 35: 229 – 236

[99] Zelig CM, Knutzen DM, Ennen CS et al. Chorionic Villus Sampling, Early Amniocentesis, and Termination of Pregnancy Without Diagnostic Testing: Comparison of Fetal Risk Following Positive Non-invasive Prenatal Testing. Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada: JOGC 2016; 38: 441 – 445. e442

[100] Van Opstal D, Srebniak MI. Cytogenetic confirmation of a positive NIPT result: evidence-based choice between chorionic villus sampling and amniocentesis depending on chromosome aberration. Expert review of molecular diagnostics 2016; 16: 513 – 520

[101] Grati FR. Implications of fetoplacental mosaicism on cell-free DNA testing: a review of a common biological phenomenon. Ultrasound Obstet Gynecol 2016; 48: 415 – 423

[102] Sagi-Dain L, Peleg A, Sagi S. First-Trimester Crown-Rump Length and Risk of Chromosomal Aberrations-A Systematic Review and Meta-analysis. Obstetrical & gynecological survey 2017; 72: 603 – 609

[103] Syngelaki A, Pergament E, Homfray T et al. Replacing the combined test by cell-free DNA testing in screening for trisomies 21, 18 and 13: impact on the diagnosis of other chromosomal abnormalities. Fetal diagnosis and therapy 2014; 35: 174 – 184

[104] Tercanli S, Vial Y, Merz E. Non-invasive chromosome test raises new questions in prenatal diagnosis about the significance of ultrasound and questions about new screening strategies. Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany: 1980) 2013; 34: 417 – 420

[105] Ferreira JC, Grati FR, Bajaj K et al. Frequency of fetal karyotype abnormalities in women undergoing invasive testing in the absence of ultrasound and other high-risk indications. Prenatal diagnosis 2016; 36: 1146 – 1155

[106] Coe BP, Witherspoon K, Rosenfeld JA et al. Refining analyses of copy number variation identifies specific genes associated with developmental delay. Nature genetics 2014; 46: 1063 – 1071

[107] Srebniak MI, Joosten M, Knapen M et al. Frequency of submicroscopic chromosome aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosome aberrations: a systematic review of literature and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2017. doi:10.1002/uog.17533

[108] Hillman SC, McMullan DJ, Hall G et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 41: 610 – 620

[109] Donnelly JC, Platt LD, Rebarber A et al. Association of copy number variants with specific ultrasonographically detected fetal anomalies. Obstetrics and gynecology 2014; 124: 83 – 90

[110] Iuculano A, Pagani G, Stagnati V et al. Pregnancy outcome and long-term follow-up of fetuses with isolated increased NT: a retrospective cohort study. Journal of perinatal medicine 2016; 44: 237 – 242

[111] Lee CN, Lin SY, Lin CH et al. Clinical utility of array comparative genomic hybridisation for prenatal diagnosis: a cohort study of 3171 pregnancies. BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology 2012; 119: 614 – 625

[112] Pergament E, Alamillo C, Sak K et al. Genetic assessment following increased nuchal translucency and normal karyotype. Prenatal diagnosis 2011; 31: 307 – 310

[113] Schramm T, Gloning KP, Minderer S et al. Prenatal sonographic diagnosis of skeletal dysplasias. Ultrasound Obstet Gynecol 2009; 34: 160 – 170

[114] [Anonym]. Online Mendelian Inheritance in Men OMIM. http://www.omim.org In

[115] Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. Obstetrics and gynecology 2006; 108: 1067 – 1072

[116] Odibo AO, Dicke JM, Gray DL et al. Evaluating the rate and risk factors for fetal loss after chorionic villus sampling. Obstetrics and gynecology 2008; 112: 813 – 819

[117] Odibo AO, Gray DL, Dicke JM et al. Revisiting the fetal loss rate after second-trimester genetic amniocentesis: a single center's 16-year experience. Obstetrics and gynecology 2008; 111: 589 – 595

[118] Tabor A, Philip J, Madsen M et al. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. Lancet (London, England) 1986; 1: 1287 – 1293

[119] Simpson JL. Invasive procedures for prenatal diagnosis: any future left? Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology 2012; 26: 625 – 638

[120] Evans MI, Wapner RJ, Berkowitz RL. Noninvasive prenatal screening or advanced diagnostic testing: caveat emptor. American journal of obstetrics and gynecology 2016; 215: 298 – 305

[121] Benn P. Expanding non-invasive prenatal testing beyond chromosomes 21, 18, 13, X and Y. Clinical genetics 2016; 90: 477 – 485

[122] Pescia G, Guex N, Iseli C et al. Cell-free DNA testing of an extended range of chromosomal anomalies: clinical experience with 6388 consecutive cases. Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics 2017; 19: 169 – 175

[123] Malvestiti F, Agrati C, Grimi B et al. Interpreting mosaicism in chorionic villi: results of a monocentric series of 1001 mosaics in chorionic villi with follow-up amniocentesis. Prenatal diagnosis 2015; 35: 1117 – 1127

[124] Bianchi DW. Should we "open the kimono" to release the results of rare autosomal aneuploidies following noninvasive prenatal whole genome sequencing? Prenatal diagnosis 2017; 37: 123 – 125

[125] Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics 2016; 18: 1056 – 1065

[126] Lau TK, Cheung SW, Lo PS et al. Non-invasive prenatal testing for fetal chromosomal abnormalities by low-coverage whole-genome sequen-

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

cing of maternal plasma DNA: review of 1982 consecutive cases in a single center. Ultrasound Obstet Gynecol 2014; 43: 254 – 264

[127] Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM et al. Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative? Prenatal diagnosis 2015; 35: 289 – 293

[128] Meck JM, Kramer DuganE, Matyakhina L et al. Noninvasive prenatal screening for aneuploidy: positive predictive values based on cytogenetic findings. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 213: 214.e211 – 215

[129] Snyder MW, Simmons LE, Kitzman JO et al. Copy-number variation and false positive prenatal aneuploidy screening results. The New England journal of medicine 2015; 372: 1639 – 1645

[130] Bianchi DW, Parsa S, Bhatt S et al. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing: clinical laboratory experience and biology. Obstetrics and gynecology 2015; 125: 375 – 382

[131] Mennuti MT, Chandrasekaran S, Khalek N et al. Cell-free DNA screening and sex chromosome aneuploidies. Prenatal diagnosis 2015; 35: 980 – 985

[132] Cheung SW, Patel A, Leung TY. Accurate description of DNA-based noninvasive prenatal screening. The New England journal of medicine 2015; 372: 1675 – 1677

[133] Neufeld-Kaiser WA, Cheng EY, Liu YJ. Positive predictive value of noninvasive prenatal screening for fetal chromosome disorders using cell-free DNA in maternal serum: independent clinical experience of a tertiary referral center. BMC medicine 2015; 13: 129

[134] Grati FR, Bajaj K, Zanatta V et al. Implications of fetoplacental mosaicism on cell-free DNA testing for sex chromosome aneuploidies. Prenatal diagnosis 2017; 37: 1017 – 1027

[135] Lynch TA, Ruzzo K, Sack V et al. Fetal sex determination using NIPT and ultrasound as a method for diagnosing important fetal sex abnormalities. Prenatal diagnosis 2016; 36: 888 – 890

[136] Dondorp W, de Wert G, Bombard Y et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. European journal of human genetics: EJHG 2015; 23: 1438 – 1450

[137] Kemp MW, Newnham JP, Challis JG et al. The clinical use of corticosteroids in pregnancy. Human reproduction update 2016; 22: 240 – 259

[138] Everett TR, Chitty LS. Cell-free fetal DNA: the new tool in fetal medicine. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 499 – 507

[139] Wapner RJ, Levy B. The impact of new genomic technologies in reproductive medicine. Discovery medicine 2014; 17: 313 – 318

[140] Yaron Y, Jani J, Schmid M et al. Current Status of Testing for Microdeletion Syndromes and Rare Autosomal Trisomies Using Cell-Free DNA Technology. Obstetrics and gynecology 2015; 126: 1095 – 1099

[141] Lo KK, Karampetsou E, Boustred C et al. Limited Clinical Utility of Noninvasive Prenatal Testing for Subchromosomal Abnormalities. American journal of human genetics 2016; 98: 34 – 44

[142] Benn P, Grati FR. Genome-wide non-invasive prenatal screening for all cytogenetically visible imbalances. Ultrasound Obstet Gynecol 2018. doi:10.1002/uog.19014

[143] Grati FR, Benn P. Comment on "The clinical utility of genome-wide non invasive prenatal screening". Prenatal diagnosis 2017; 37: 1050 – 1052

[144] Helgeson J, Wardrop J, Boomer T et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. Prenatal diagnosis 2015; 35: 999 – 1004

[145] Lefkowitz RB, Tynan JA, Liu T et al. Clinical validation of a noninvasive prenatal test for genomewide detection of fetal copy number variants. American journal of obstetrics and gynecology 2016; 215: 227.e221 – 227.e216

[146] Sahoo T, Hovanes K, Strecker MN et al. Expanding noninvasive prenatal testing to include microdeletions and segmental aneuploidy: cause for concern? Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics 2016; 18: 275 – 276

[147] Wapner RJ, Babiarz JE, Levy B et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 212: 332.e331 – 339

[148] Valderramos SG, Rao RR, Scibetta EW et al. Cell-free DNA screening in clinical practice: abnormal autosomal aneuploidy and microdeletion results. American journal of obstetrics and gynecology 2016; 215: 626.e621 – 626.e610

[149] (ACOG) ACoOaG. Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy. Obstetrics and gynecology 2015; 126: e31 – e37

[150] (SMFM) SfM-FM. Consult Series #36: Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 212: 711 – 716

[151] Chitty LS, Finning K, Wade A et al. Diagnostic accuracy of routine antenatal determination of fetal RHD status across gestation: population based cohort study. BMJ (Clinical research ed) 2014; 349: g5243

[152] Scheffer PG, van der Schoot CE, Page-Christiaens GC et al. 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: an international journal of obstetrics and gynaecology 2011; 118: 1340 – 1348

[153] Drury S, Hill M, Chitty LS. Cell-Free Fetal DNA Testing for Prenatal Diagnosis. Advances in clinical chemistry 2016; 76: 1 – 35

[154] Martin A, Krishna I, Badell M et al. Can the quantity of cell-free fetal DNA predict preeclampsia: a systematic review. Prenatal diagnosis 2014; 34: 685 – 691

[155] Hartley JD, Ferguson BJ, Moffett A. The role of shed placental DNA in the systemic inflammatory syndrome of preeclampsia. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 213: 268 – 277

[156] Levine RJ, Qian C, Leshane ES et al. Two-stage elevation of cell-free fetal DNA in maternal sera before onset of preeclampsia. American journal of obstetrics and gynecology 2004; 190: 707 – 713

[157] Poon LC, Musci T, Song K et al. Maternal plasma cell-free fetal and maternal DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to fetal and maternal characteristics and pregnancy outcomes. Fetal diagnosis and therapy 2013; 33: 215 – 223

[158] Rolnik DL, O'Gorman N, Fiolna M et al. Maternal plasma cell-free DNA in the prediction of pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 106 – 111

[159] Thurik FF, Lamain-de Ruiter M, Javadi A et al. Absolute first trimester cell-free DNA levels and their associations with adverse pregnancy outcomes. Prenatal diagnosis 2016; 36: 1104 – 1111

[160] Kim SY, Kim HJ, Park SY et al. Early Prediction of Hypertensive Disorders of Pregnancy Using Cell-Free Fetal DNA, Cell-Free Total DNA, and Biochemical Markers. Fetal diagnosis and therapy 2016; 40: 255 – 262

[161] Sifakis S, Zaravinos A, Maiz N et al. First-trimester maternal plasma cell-free fetal DNA and preeclampsia. American journal of obstetrics and gynecology 2009; 201: 472.e471 – 477

[162] O'Gorman N, Wright D, Syngelaki A et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks gestation. American journal of obstetrics and gynecology 2016; 214: 103.e101 – 103.e112

[163] O'Gorman N, Wright D, Poon LC et al. Accuracy of competing-risks model in screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks' gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 751 – 755

[164] O'Gorman N, Wright D, Poon LC et al. Multicenter screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11–13 weeks' gestation: comparison with NICE guidelines and ACOG recommendations. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 756 – 760

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.

[165] Wright D, Syngelaki A, Akolekar R et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. American journal of obstetrics and gynecology 2015; 213: 62.e61-10

[166] Karagiannis G, Akolekar R, Sarquis R et al. Prediction of small-for-gestation neonates from biophysical and biochemical markers at 11–13 weeks. Fetal diagnosis and therapy 2011; 29: 148 – 154

[167] Akolekar R, Bower S, Flack N et al. Prediction of miscarriage and stillbirth at 11–13 weeks and the contribution of chorionic villus sampling. Prenatal diagnosis 2011; 31: 38 – 45

[168] Syngelaki A, Pastides A, Kotecha R et al. First-Trimester Screening for Gestational Diabetes Mellitus Based on Maternal Characteristics and History. Fetal diagnosis and therapy 2015; 38: 14 – 21

[169] Syngelaki A, Kotecha R, Pastides A et al. First-trimester biochemical markers of placentation in screening for gestational diabetes mellitus. Metabolism: clinical and experimental 2015; 64: 1485 – 1489

[170] Beta J, Akolekar R, Ventura W et al. Prediction of spontaneous preterm delivery from maternal factors, obstetric history and placental perfusion and function at 11–13 weeks. Prenatal diagnosis 2011; 31: 75 – 83

[171] Royston P, Moons KG, Altman DG et al. Prognosis and prognostic research: Developing a prognostic model. BMJ (Clinical research ed) 2009; 338: b604

[172] Altman DG, Vergouwe Y, Royston P et al. Prognosis and prognostic research: validating a prognostic model. BMJ (Clinical research ed) 2009; 338: b605

[173] Yaron Y, Hyett J, Langlois S. Current controversies in prenatal diagnosis 2: for those women screened by NIPT using cell free DNA, maternal serum markers are obsolete. Prenatal diagnosis 2016; 36: 1167 – 1171

[174] Kleinrouweler CE, Cheong-See FM, Collins GS et al. Prognostic models in obstetrics: available, but far from applicable. American journal of obstetrics and gynecology 2016; 214: 79 – 90.e36

[175] Park FJ, Leung CH, Poon LC et al. Clinical evaluation of a first trimester algorithm predicting the risk of hypertensive disease of pregnancy. The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology 2013; 53: 532 – 539

[176] Sonek J, Krantz D, Carmichael J et al. First-trimester screening for early and late preeclampsia using maternal characteristics, biomarkers, and estimated placental volume. American journal of obstetrics and gynecology 2018; 218: 126.e121 – 126.e113

[177] Scazzocchio E, Figueras F, Crispi F et al. Performance of a first-trimester screening of preeclampsia in a routine care low-risk setting. American journal of obstetrics and gynecology 2013; 208: 203.e201 – 203.e210

[178] Rolnik DL, Wright D, Poon LC et al. Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. The New England journal of medicine 2017; 377: 613 – 622

[179] Khalil A, Akolekar R, Syngelaki A et al. Maternal hemodynamics in normal pregnancies at 11–13 weeks' gestation. Fetal diagnosis and therapy 2012; 32: 179 – 185

[180] Khalil A, Garcia-Mandujano R, Maiz N et al. Longitudinal changes in maternal hemodynamics in a population at risk for pre-eclampsia. Ultrasound Obstet Gynecol 2014; 44: 197 – 204

[181] Stirnemann JJ, Chalouhi GE, Forner S et al. First-trimester uterine scar assessment by transvaginal ultrasound. American journal of obstetrics and gynecology 2011; 205: 551.e551 – 556

[182] Naji O, Wynants L, Smith A et al. Predicting successful vaginal birth after Cesarean section using a model based on Cesarean scar features examined by transvaginal sonography. Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 41: 672 – 678

[183] Stirnemann JJ, Mousty E, Chalouhi G et al. Screening for placenta accreta at 11–14 weeks of gestation. American journal of obstetrics and gynecology 2011; 205: 547.e541-546

[184] Timor-Tritsch IE, Khatib N, Monteagudo A et al. Cesarean scar pregnancies: experience of 60 cases. Journal of ultrasound in medicine: official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine 2015; 34: 601 – 610

[185] Timor-Tritsch IE, Monteagudo A, Bennett TA et al. A new minimally invasive treatment for cesarean scar pregnancy and cervical pregnancy. American journal of obstetrics and gynecology 2016; 215: 351.e351 – 358

[186] Salomon LJ, Alfirevic Z, Audibert F et al. ISUOG updated consensus statement on the impact of cfDNA aneuploidy testing on screening policies and prenatal ultrasound practice. Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 49: 815 – 816

[187] Pfeifer I, Benachi A, Saker A et al. Cervical trophoblasts for non-invasive single-cell genotyping and prenatal diagnosis. Placenta 2016; 37: 56 – 60

[188] Breman AM, Chow JC, U'Ren L et al. Evidence for feasibility of fetal trophoblastic cell-based noninvasive prenatal testing. Prenatal diagnosis 2016; 36: 1009 – 1019

[189] Kanda E, Yura H, Kitagawa M. Practicability of prenatal testing using lectin-based enrichment of fetal erythroblasts. The journal of obstetrics and gynaecology research 2016; 42: 918 – 926

[190] Kamhieh-Milz J, Moftah RF, Bal G et al. Differentially expressed microRNAs in maternal plasma for the noninvasive prenatal diagnosis of Down syndrome (trisomy 21). BioMed research international 2014; 2014: 402475

[191] Erturk B, Karaca E, Aykut A et al. Prenatal Evaluation of MicroRNA Expressions in Pregnancies with Down Syndrome. BioMed research international 2016; 2016: 5312674

[192] Bolnick JM, Kilburn BA, Bajpayee S et al. Trophoblast retrieval and isolation from the cervix (TRIC) for noninvasive prenatal screening at 5 to 20 weeks of gestation. Fertility and sterility 2014; 102: 135 – 142.e136

[193] Giambona A, Leto F, Passarello C et al. Fetal aneuploidy diagnosed at celocentesis for early prenatal diagnosis of congenital hemoglobinopathies. Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica 2018; 97: 312 – 321

This document was downloaded for personal use only. Unauthorized distribution is strictly prohibited.