

# Wann braucht es welche invasive Diagnostik?

## Screening versus Diagnostik

Joachim Kohl  
Schwangerschafts-  
Ultraschallkurs  
Luzern  
24.02.2018

# Das Problem der Definition

## **Screening-Test**

Ziel ist die Detektion eines frühen Stadiums einer Erkrankung oder von Risikofaktoren für eine Erkrankung in grossen Kollektiven von Individuen

## **Diagnostischer Test**

Ziel ist der Beweis des Vorliegens (oder Fehlens) einer Erkrankung als Basis eines Behandlungsentscheids in symptomatischen oder positiv gescreenten Individuen.

	Screening tests	Diagnostic tests
<b>Purpose</b>	To detect potential disease indicators	To establish presence/absence of disease
<b>Target population</b>	Large numbers of asymptomatic, but potentially at risk individuals	Symptomatic individuals to establish diagnosis, or asymptomatic individuals with a positive screening test
<b>Test method</b>	Simple, acceptable to patients and staff	maybe invasive, expensive but justifiable as necessary to establish diagnosis
<b>Positive result threshold</b>	generally chosen towards high sensitivity not to miss potential disease	Chosen towards high specificity (true negatives). More weight given to accuracy and precision than to patient acceptability
<b>Positive result</b>	Essentially indicates suspicion of disease (often used in combination with other risk factors) that warrants confirmation	Result provides a definite diagnosis
<b>Cost</b>	Cheap, benefits should justify the costs since large numbers of people will need to be screened to identify a small number of potential cases	Higher costs associated with diagnostic test maybe justified to establish diagnosis.

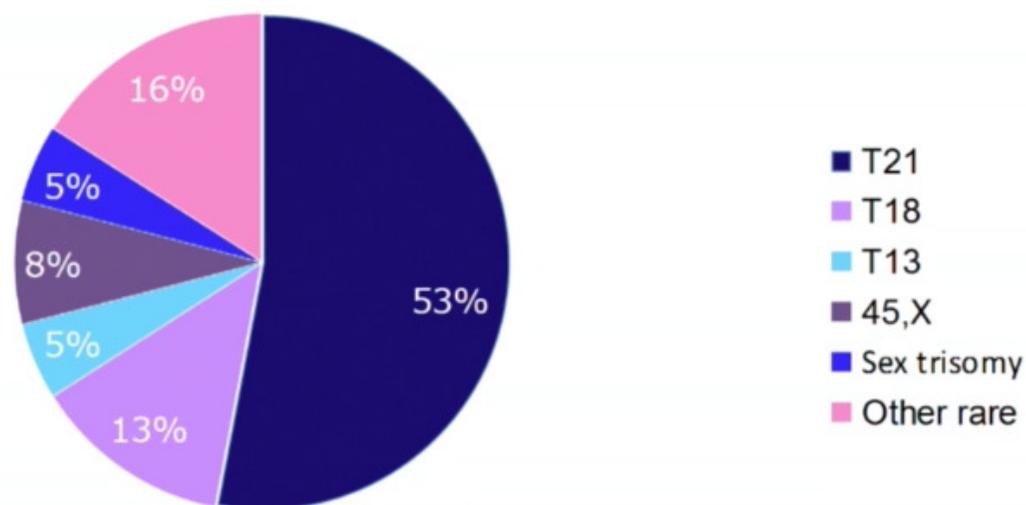
Ruf und Morgan 2008, in:  
healthknowledge.org.uk

# Diagnostische Probleme bei NIPT / Punktion

- Falscher Focus
- Zu schmale Bandbreite der Diagnostik
  - bei NIPT
  - bei Punktion
- Fehlgeburt durch Diagnostik
- Falsch negativer Befund
- Falsch positiver Befund

# Um was geht es? Verteilung der Chromosomenanomalien

## Prenatal prevalence of chromosome anomalies



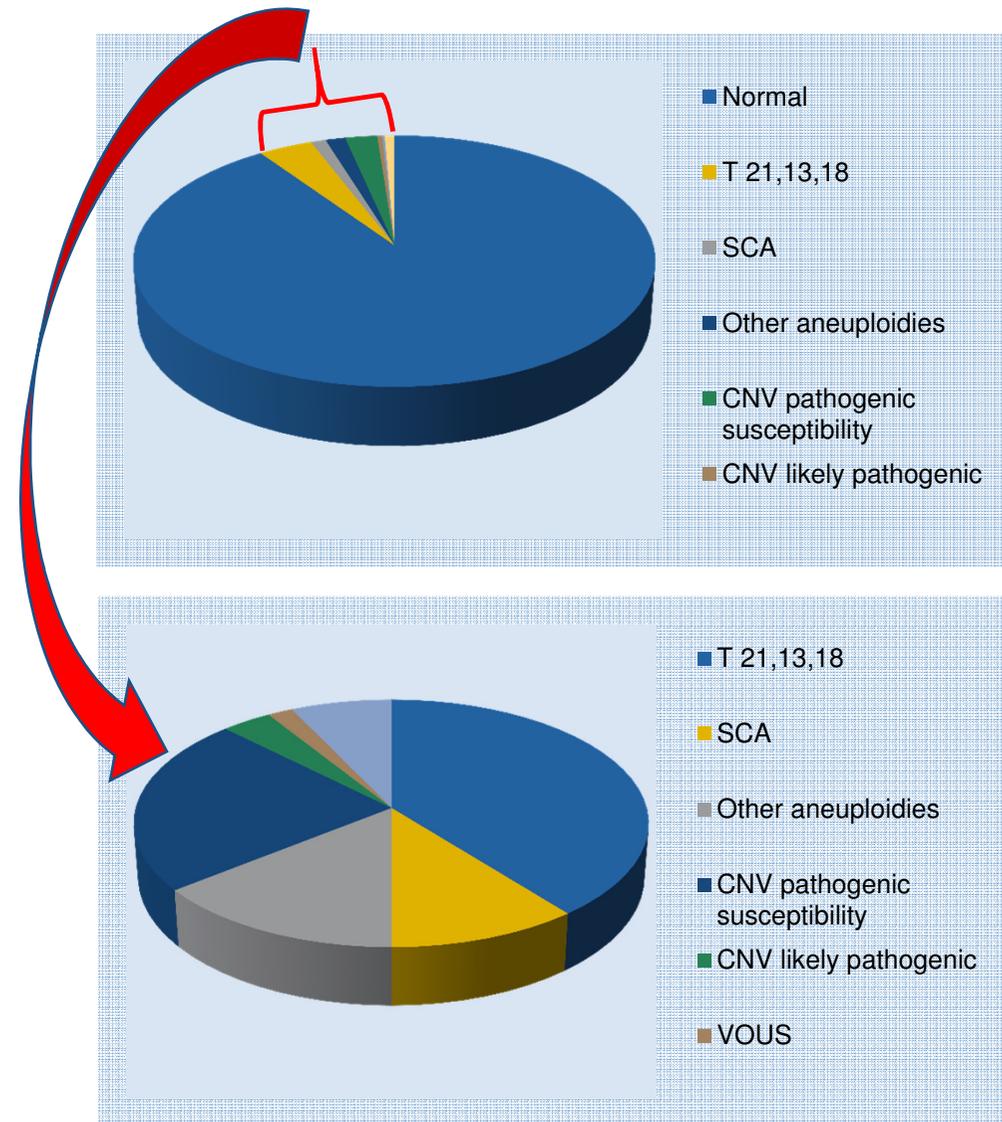
Wellesley Eur J Hum Genet 2012

575 Schwangerschaften mit ETT-  
Risiko  $\geq 1:300$  oder PAPP-A  
<0.2 MoM  
(keine nt >3.5mm)

⇒ Array-CGH (180k)

⇒ 51 / 575 patholog. Resultate  
(8.9%)

Anm.:  
mit (Basis-)NIPT wären 23/51 der  
relevanten Befunde nicht erkannt  
worden



Vogel | UOG 2017

# Welche Chromosomenanomalien sind nicht per cfDNA detektierbar? Beispiel Dänemark 2008-2011

193.638 Einlingsschwangerschaften mit ETT (FMF UK) = low-risk Kollektiv

10.205 (5.3%) Chromosomenanalyse

1.124 (11%) auffälliges Ergebnis

Trisomie 21,18,13, X, Y (Basis-NIPT)	Translokationen, Deletionen w «affecting phenotype»	Balancierte Rearrangements / «not affecting phenotype»
815 (73%)	264 (23%)	45 (3%)

*Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43: 265–271  
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.13270

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

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

## Bsp.: Panoramatest - Mikrodeletionscreening

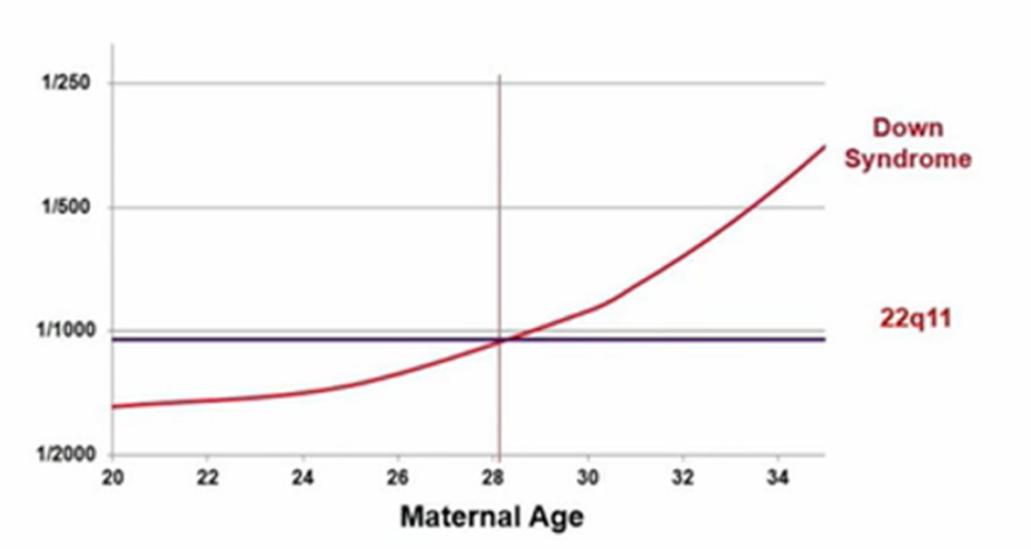
Screening for 5 clinically significant microdeletions  
– revised protocol

Deletion syndrome	22q11.2	1p36	CdC	PWS	AS	All
n	68,307	37,350	38,358	38,673	32,095	
Screen positive, n (%)	87 (0.13)	7 (0.02)	7 (0.02)	4 (0.01)	17 (0.05)	
True positive, n	23	2	4	0	1	
False positive, n	29	2	2	1	9	
FPR, %	0.07 (0.04-0.09)	0.01 (0.005-0.01)	0.01 (0.005-0.01)	0.01 (0.003-0.01)	0.05 (0.03-0.05)	0.14 (0.08-0.18)
PPV, %	44.2	50.0	66.7	0	10.0	38.7

Prävalenz	unbekannt	1/5.000- 1/10.000	1-9/100.000	1-9/100.000	1-2/20.000	

Martin K Prenat Diagnosis 2017  
www.orpha.net

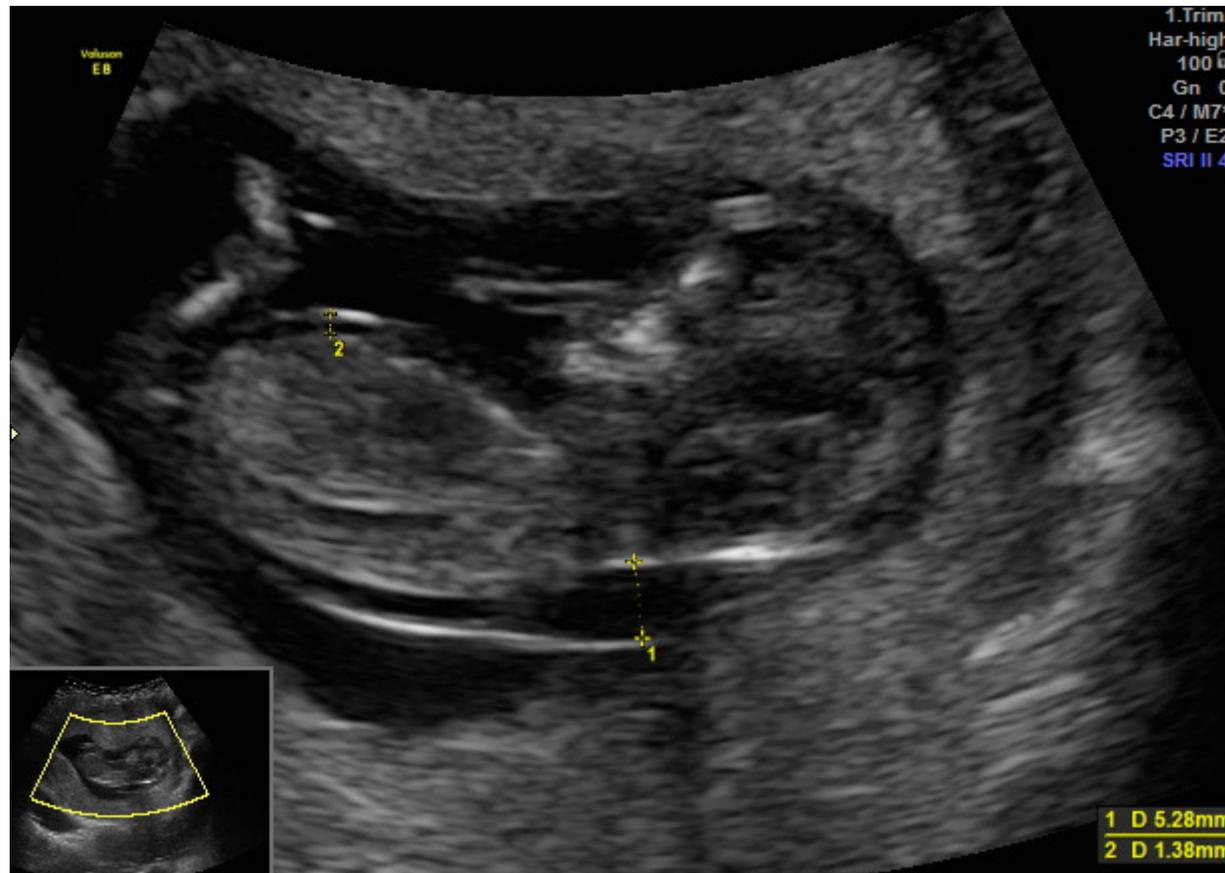
# Prävalenz von 22q11 und Down-Syndrom Altersabhängigkeiten



Was tun?

12+4 SSW nt 5,3mm

NIPT keine Aussage möglich



# cfDNA: tiefe fetale Fraktion und «no call»

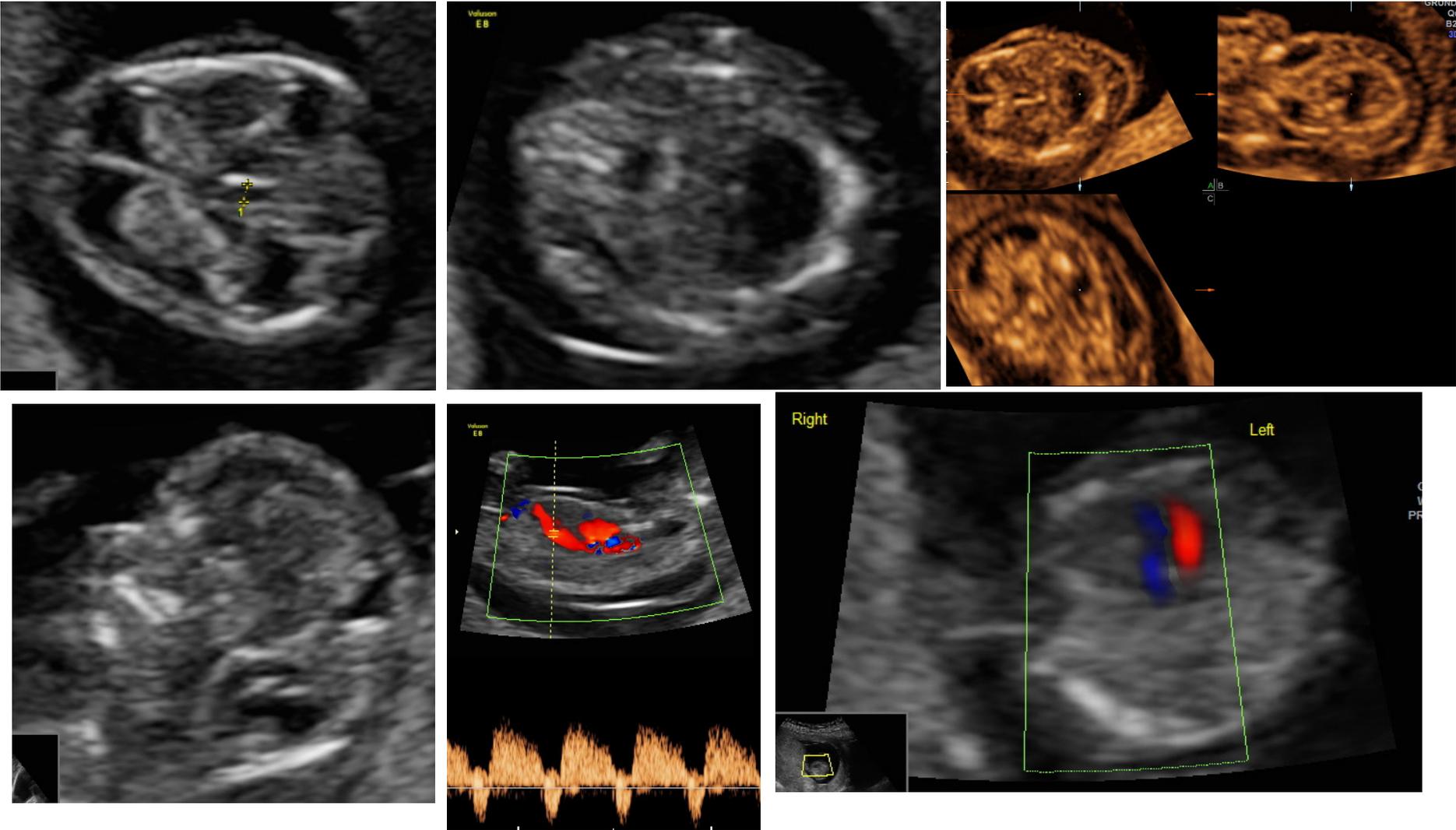
- Wahrscheinlichkeit «no call» 0,9-8,1%
- Wahrscheinlichkeit höher in früher SSW
- Wiederholung => Aussage in 50-80% der Fälle möglich
- Aber: OR für Aneuploidie 9,2

Pergament E Obstet Gynecol 2014

Sago Prenat Diagn 2015

Willems Facts Views Vis Obgyn 2014

# Fortsetzung: 12+4 SSW nt 5,3mm



12+4 SSW nt 5,3mm



⇒ CVS: Deletion 4p16.3 region  
= Wolff-Hirschhorn-Region

# CVS oder AC = egal ? SMFM 2015

## SMFM CONSULT SERIES

ajog.org

*Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Consult Series*

### #36: Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA

Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Publications Committee

- 6 Chorionic villous sampling or amniocentesis should be offered after a positive cfDNA screen to confirm the diagnosis. Best practice
-

# Diagnostische Punktionen

## Chorionzottenbiopsie / Amniocentese

	Chorionzottenbiopsie (CVS)	Amniocentese (AC)
Wann	≥ 11+0 (10+0) SSW	≥ 15+0 SSW
Was wird untersucht	Mesenchymzellen Cytotrophoblast	Amniozyten - embryonales Ektoderm - amniotisches Ektoderm - amniotisches Mesoderm
Technik	1. Mesenchym ⇒ Kurzzeit-Gewebekultur ⇒ Zytogenetik ⇒ Karyotyp 2. Trophoblast ⇒ Molekulargenetik ⇒ «Array»	1. «Schnelltest» =>Aneu-PCR/FISH 2. Zellkultur ⇒ Mitosen ⇒ Karyotyp ⇒ Array
Zeitbedarf	-8d	-14d
Mosaik	1-2%	0,1-0,3%

# Abortrisiko der Punktion?

...die typische Aufklärung gemäss  
SGGG-Protokoll...

**Risiken und Komplikationen:** Bei ca. 0,3-1% der Amniozentesen kommt es trotz einwandfrei durchgeführtem Eingriff zu Komplikationen, selten auch zu einer Fehlgeburt oder (nach 24 Schwangerschaftswochen) zu einer Frühgeburt. Selten kommt es zu einem Fruchtwasseraustritt, der in der Regel über ein paar Tage wieder abnimmt, und die Schwangerschaft verläuft danach meistens normal. In sehr seltenen Fällen kann eine stark verminderte Fruchtwassermenge die Entwicklung der kindlichen Lungen und Gelenke beeinträchtigen.

**Risiken und Komplikationen:** Bei ca. 1% der Chorionzottenbiopsien kommt es trotz einwandfrei durchgeführtem Eingriff zu Komplikationen, selten auch zu einer Fehlgeburt. Selten kommt es zu einem Fruchtwasseraustritt, der in der Regel über ein paar Tage wieder abnimmt, und die Schwangerschaft verläuft danach meistens normal.

# Abortrisiko der Punktion – Metaanalyse bei grosser Fallzahl

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 16–26  
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14636

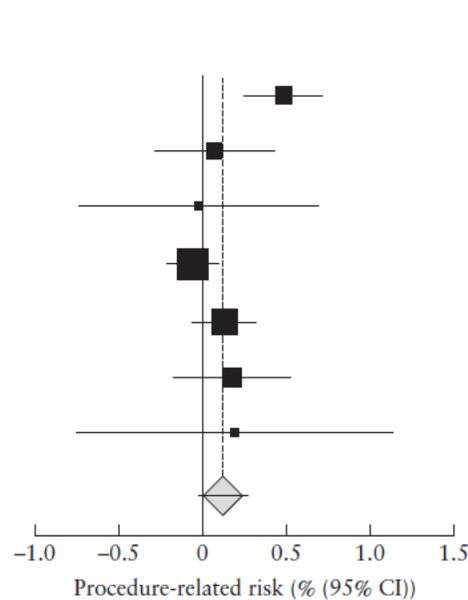


## Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis

R. AKOLEKAR\*†, J. BETA\*, G. PICCIARELLI\*, C. OGILVIE‡ and F. D'ANTONIO§

\*Fetal Medicine Unit, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK; †Harris Birthright Research Centre, King's College Hospital, London, UK; ‡Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust and King's College, London, UK; §Fetal Medicine Unit, St George's Hospital, London, UK

Procedure-related risk  
Verlust <24+0 SSW  
**AC +0.11%**  
**CVS +0.22%**



Procedure-related risk  
(% (95% CI))

0.47 (0.24 to 0.71)

0.06 (-0.30 to 0.42)

-0.03 (-0.75 to 0.68)

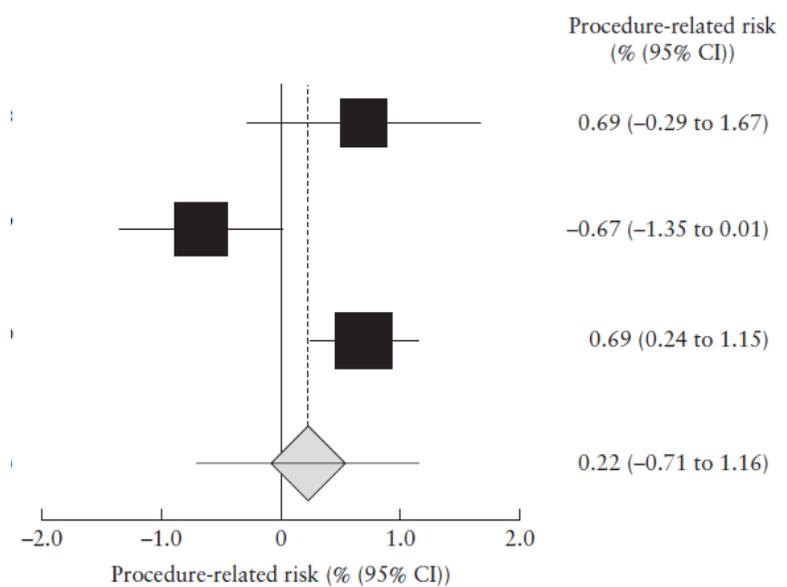
-0.07 (-0.22 to 0.09)

0.12 (-0.07 to 0.31)

0.17 (-0.18 to 0.51)

0.18 (-0.77 to 1.13)

0.11 (-0.04 to 0.26)



Procedure-related risk  
(% (95% CI))

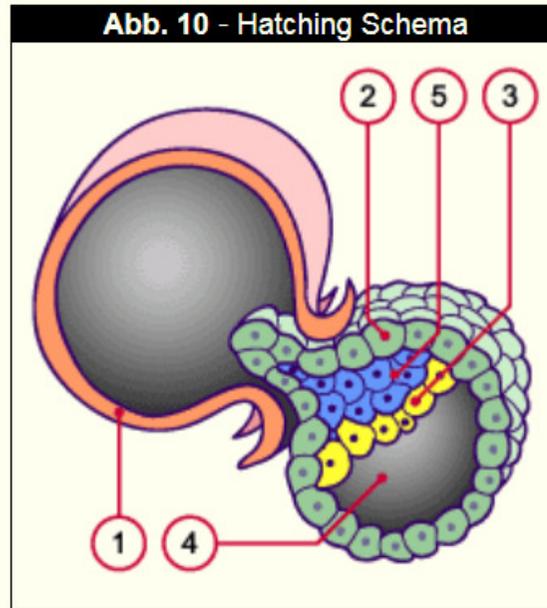
0.69 (-0.29 to 1.67)

-0.67 (-1.35 to 0.01)

0.69 (0.24 to 1.15)

0.22 (-0.71 to 1.16)

# Was untersuchen wir eigentlich?

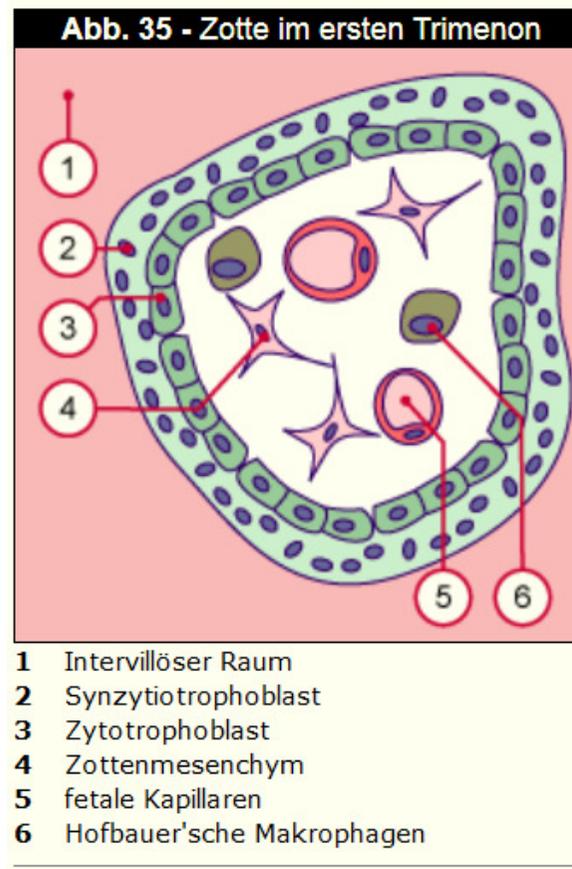


- 1 Zona pellucida
- 2 Trophoblast (äussere Zellmasse)
- 3 Hypoblast (Teil der inneren Zellmasse)
- 4 Blastozystenöhle
- 5 Epiblast (Teil der inneren Zellmasse)

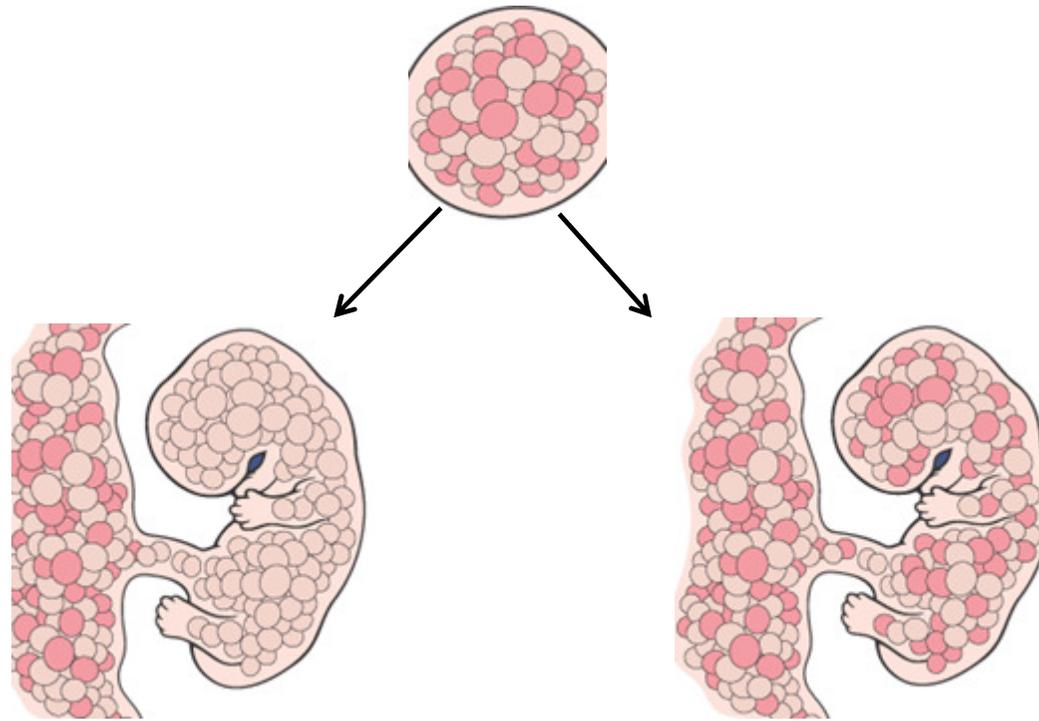


Quelle: embryology.ch

# Chorionzottenbiopsie – Aufbau einer Zotte im 1. Trimenon



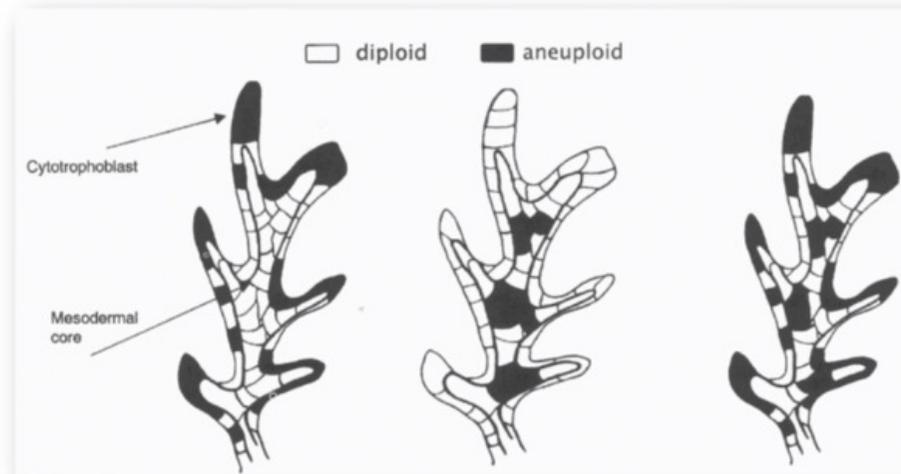
Quelle: embryology.ch



**Confined  
placental  
mosaicism  
(CPM)**

**True fetal  
Mosaicism  
(TFM)**

## MOSAICISMS IN CHORIONIC VILLI



**CV mosaic Type**      **1**                      **2**                      **3**

---

**Abn. Plac. Tissue**      **Cytotrophoblast**              **Mesenchyme**              **Cytotrophoblast & Mesenchyme**

*Simoni and Sirchia, Prenatal Diagnosis, 14:1185-1189 (1994)*



<b>Trophoblast (direct)</b>	<b>Mesenchyme (culture)</b>
Abnormal	Normal
Normal	Abnormal
Abnormal	Abnormal

Quelle: Grati F.  
J Clin Med 2014 / ISUOG 2016

# Mosaizismus in der Plazenta

## Bestätigung per Amniocentese?

52.673 CVS

⇒ 886 Amniocentesen

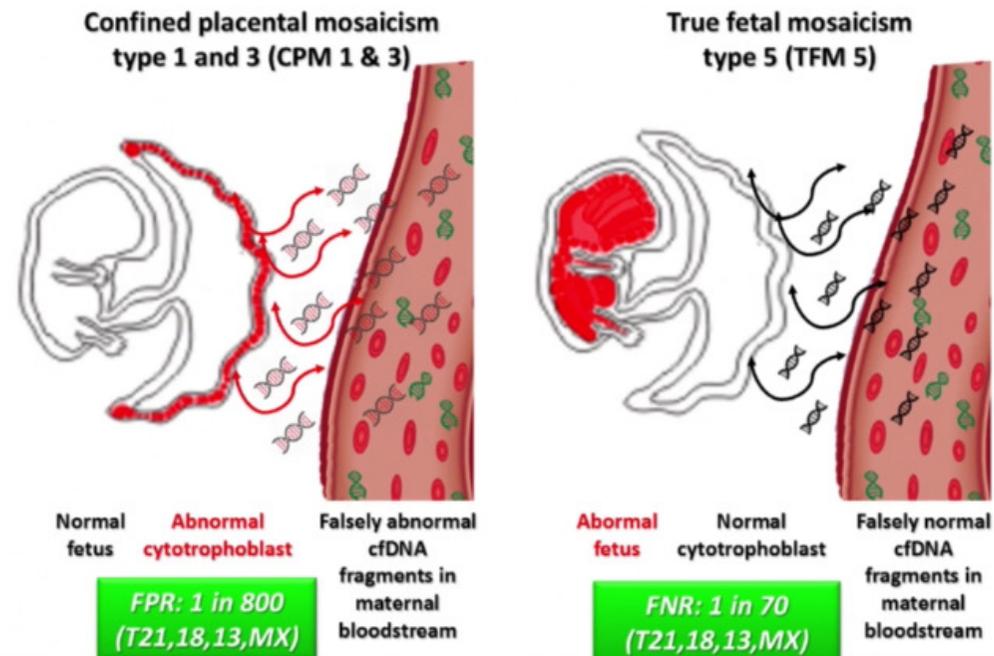
⇒ 1,81 % Mosaik

**Table 2.** Incidences of the different types of mosaicisms (CPM and TFM) found after chorionic villous and amniocytes karyotyping.

Type	Nature	Trophoblast (direct)	Mesenchyme (culture)	Amniocytes	Relative frequencies
I	CPM	Abnormal	Normal	Normal	34.76% (308/886)
II	CPM	<b>CPM</b> <b>87.2%</b> Normal	Abnormal	Normal	42.32% (375/886)
III	CPM	Abnormal	Abnormal	Normal	10.16% (90/886)
IV	TFM	Abnormal	Normal	Abnormal	1.58% (14/886)
V	TFM	<b>TFM</b> <b>12.8%</b> Normal	Abnormal	Abnormal	5.76% (51/886)
VI	TFM	Abnormal	Abnormal	Abnormal	5.42% (48/886)

Grati F. J. Clin. Med. 2014

## FETOPLACENTAL MOSAICISMS: CYTOTROPHOBLAST DOES NOT ALWAYS MATCH THE FETAL KARYOTYPE



Grati et al, *Genet Med.* 2014 Aug;16(8):620-4; Grati FR, *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 May 31. doi: 10.1002/uog.15975



Quelle: Grati F., ISUOG 2016

## CVS oder AC nach positivem cfDNA-Test?

cfDNA positiv für	Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13	Monosomie X
Wahrscheinlichkeit eines Mosaiks in CVS <sup>(1)(3)</sup>	2%	4%	22%	59%
Wahrscheinlichkeit der Bestätigung in AC bei mindestens 1 Mosaik <sup>(2)(3)</sup>	44%	14%	4%	26%

(1) mindestens ein Teil der Zellen Cytotrophoblast oder Mesenchym auffällig (keine Aufschlüsselung nach Cytotrophoblast oder Mesenchym)

(2) entweder alle fetalen Zellen auffällig oder Mosaik

(3) unabhängig vom Ultraschallbefund !!

**T 21/18** entspricht etwa Basiswahrscheinlichkeit eines Mosaiks

**T 13** rel. hohe Wahrscheinlichkeit eines plazentaren Mosaiks  
=> bei unauffälligem Sono => AC vorzuziehen  
=> bei auffälligem Sono => CVS möglich

**Monosomie X** => CVS eher nicht zu empfehlen

Grati F., Prenatal Diagn Ther 2015

# Häufige Aneuploidien

## - wie häufig wird der Ultraschall auffällig sein?

Fehlbildung srate in %	Euploid n=4550	T 18 n=40	T 13 N=13	Triploidie N=13	45,X0 N=25
<b>Multiple FB</b>	0.1	<b>40.0</b>	<b>76.9</b>	<b>53.8</b>	12.0
<b>Mind. 1 FB</b>	1.3	<b>82.5</b>	<b>100.0</b>	<b>84.6</b>	<b>76.0</b>
ZNS	-	5.0	<b>38.5</b>	<b>61.5</b>	-
Neuralrohr	0.1	2.5	-	-	-
Facies	0.2	5.0	<b>46.2</b>	15.4	-
Cor	0.3	<b>50.0</b>	<b>69.2</b>	<b>46.2</b>	<b>72.0</b>
Zwerchfell	0.02	-	7.7	-	-
Bauchwand	0.4	<b>42.5</b>	<b>61.5</b>	7.7	8.0
Megacystis	0.2	7.5	7.7	-	-
Extremitäten	0.2	15.0	<b>53.8</b>	30.8	-

Wagner P UOG 2016 ; 48:446-451

# Beispiel Monosomie X

## Ultraschall hilft bei der Interpretation

### Confirmatory CVS after a positive cfDNA testing result

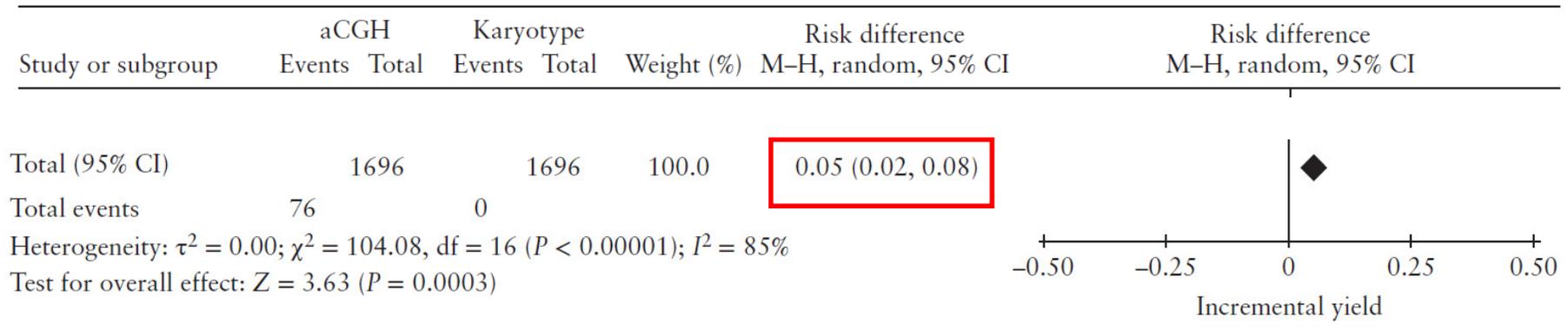
Indication	PPV	Risk of mosaic if confirmatory CVS
<b>CH/IncNT/US abn</b>	<b>98.2%</b> (95%CI 94.8-99.4)	3.6% (95%CI: 1.7-7.7)
All but CH/IncNT/US abn	50.0% (95%CI:39.9-60.1)	69.0% (95%CI 59-78)

CH = Cystic Hygroma  
 IncNT= Increased nt  
 USabn = sonographisch Fehlbildung

Quelle: Grati F., ISUOG 2016

# nt $\geq$ 3.5mm / Sono opB / Karyotyp opB

=> 5% auffälliger Microarray



**Figure 3** Forest plot of incremental yield by microarray over karyotyping in fetuses with isolated increased nuchal translucency with or without associated ultrasound abnormalities. Only first author of each study is given. aCGH, array comparative genomic hybridization; M-H, Mantel-Haenszel.

# nt $\geq$ 3.5mm / auffälliges Sono / Karyotyp opB

Microarray and increased nuchal translucency

=> 7% auffälliger Microarray

655

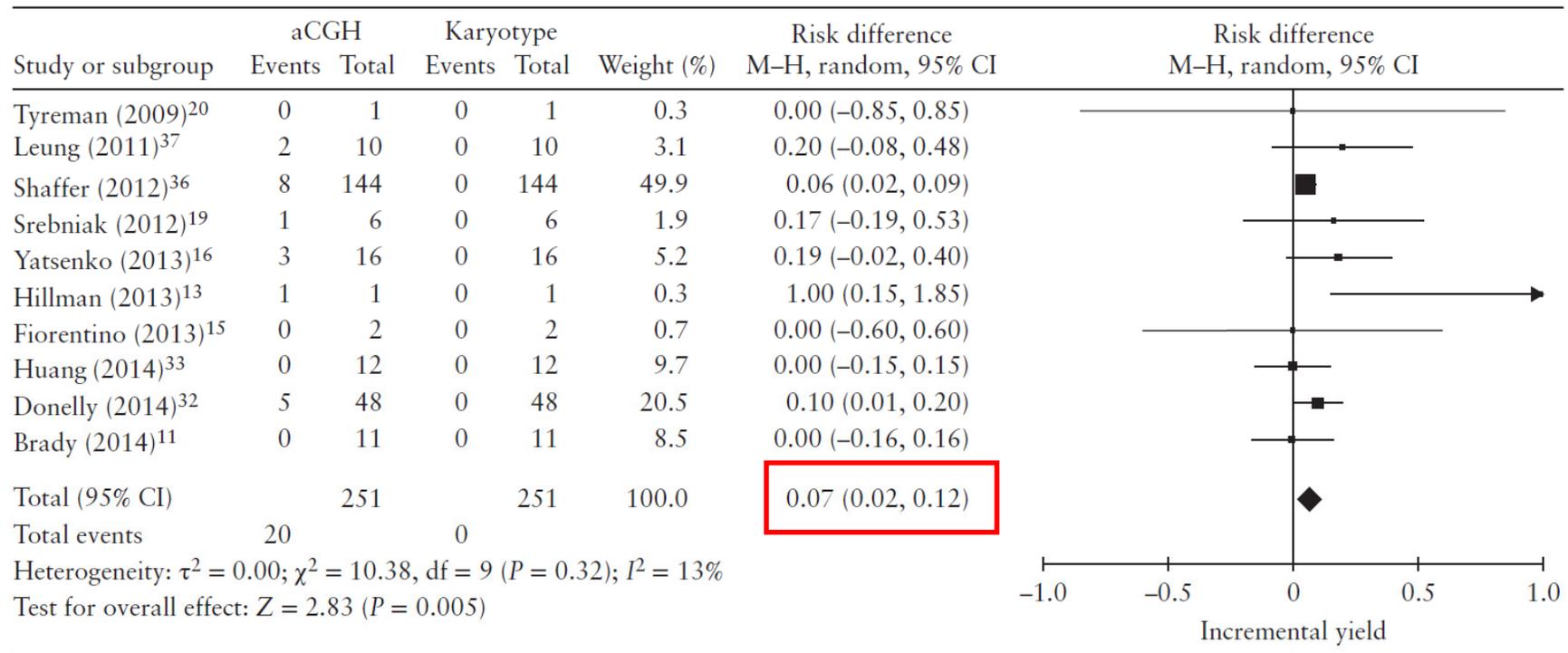


Figure 5 Forest plot of incremental yield by microarray over karyotyping in fetuses with increased nuchal translucency and associated ultrasound abnormalities. Only first author of each study is given. aCGH, array comparative genomic hybridization; M-H, Mantel-Haenszel.

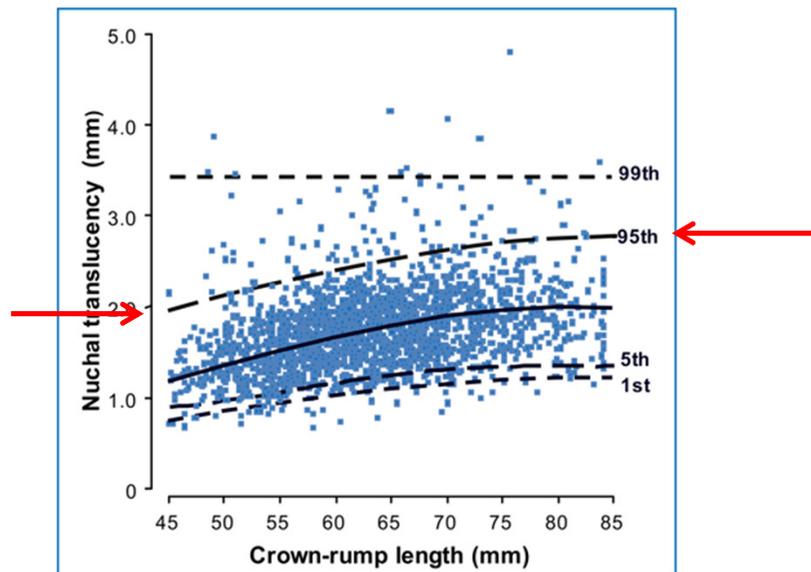
Grande UOG 2015

# Analysenliste – CGH-Array

2018.05 | 1800 | Chromosomale Microarray-Analyse, konstitutioneller Karyotyp, pauschal

Invasive Abklärung (CVS/AC)  
Bei Fehlbildungen und/oder NT  $\geq$  95. Perzentile mit Microarray

Quelle: BAG



Quelle: FMF UK

1. nur bei folgenden Indikationen:
  - a. Unklare Entwicklungs- und/oder neuropsychiatrische Störung und/oder angeborene Anomalien ohne hinreichend konkreten Verdacht auf eine bestimmte chromosomale oder monogene Erkrankung, oder
  - b. Auffälliger Befund in der konventionellen Chromosomenanalyse, der einer Klärung bedarf oder
  - c. Verdacht auf eine genetische Erkrankung, bei der die Deletion oder Duplikation mehrerer, nicht genau vorhersagbarer Gene in Frage kommt, oder
  - d. Erhöhte Nackentransparenz ( $> 95.$  Perzentile) oder anderweitige fetale Ultraschallanomalien nach Ausschluss der klassischen Trisomien an fetalem Material.

# ISUOG Guideline 2014

**In the presence of a fetal structural anomaly**, the indications for fetal karyotyping and/or microarray testing should not be modified by a normal NIPT result obtained previously.

.....

The so-called 'genetic sonogram', which includes **looking for soft markers of trisomy 21**, should not be performed in women with a normal NIPT result due to its high false-positive rate and poor positive predictive value.

**d.h. wenn die NIPT unauffällig war, gilt für die Indikation zur diagnostischen Punktion:**

⇒ «hard markers» = Fehlbildungen sind relevant

⇒ «soft markers» sind nicht (weniger?) relevant

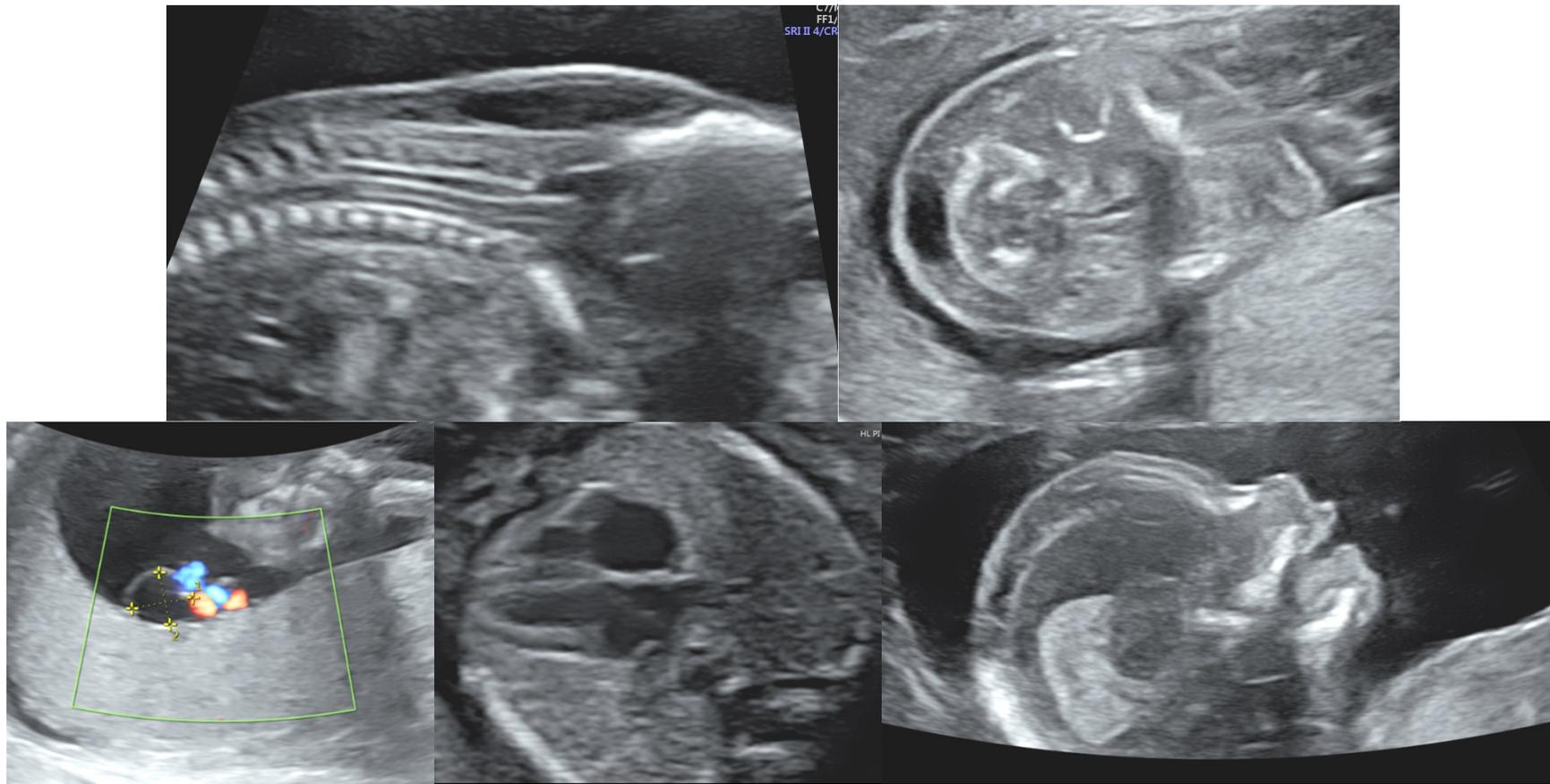
## ISUOG Guideline 2014

The role of **NIPT** as an alternative to standard invasive testing in women considered to be at very high risk (>1:10) after combined screening but **with no ultrasound anomaly** should be evaluated in prospective studies. Expert opinion currently suggests that **NIPT should not replace invasive testing in this group.**

**This is based on the fact that only 70% of chromosomal abnormalities in this population are trisomy 21, 18 or 13.** Furthermore, emerging microarray techniques may provide additional, clinically relevant information in some cases.

Beispiel **16+0** CVS 46,XX, Array 100kB opB, TORCH  
opB

Persistierendes Nackenoedem/-zyste  
Sehr besorgtes Paar – will «alles» wissen



# Zum Beispiel ein Noonan-Syndrom ?

- Kleinwuchs, typische Facies, Herzfehler, Ohren tief und rotiert, neurologische Entwicklungsverzögerung aber meist durchschnittliche Intelligenz
- überlappende Krankheitsbilder aus der Gruppe der Rasopathien
- Chr 12, PTPN-11-Gen
- 1-1.500-2000 Lebendgeburten
- in der Schweiz / Jahr ca. 40 Kinder
- Noonan-Screening an Amniocyten oder CVS:  
=> 37,5-ca. 90% der Mutationen nachweisbar

**Nicht** Bestandteil der Standardauswertung einer CVS/AC

# Monogene Erkrankungen – Diagnostik oder Screening?

## Thanatophore Dysplasie / Achondroplasie

Mutationen im FGFR-3 Gen

autosomal dominant / meist de novo

**cf-DNA-Testing** akkurat in 89-96%

Chitty L Prenatal Diagnosis 2015

Confirmed postnatal diagnosis	Mutation	Prenatal test result					
		PCR-RED			NGS panel		
		True positive	False negative	Inconclusive	True positive	False negative	Inconclusive
Total		66	1	5	46	1	0
Sensitivity		88.6% (95% CI 71–96) taking inconclusive that were positive as false negative			96.2% (81–99)		
Specificity		100% (92–100)			100% (85–100)		
Positive predictive value		100% (86–100)			100% (87–100)		
Negative predictive value		93.9 (83.5–97.9) taking inconclusive that were positive as false negative			95.5% (78.2–99.2)		
Inconclusive rate		7%			0		

# Monogene Erkrankungen und NIPT Zukunftsmusik?



[Home](#) [Mission Statement](#) [Tests](#) [Downloads](#) [GENDIA Websites](#) [GENDIA](#) [Contact](#) 

## Non Invasive Prenatal Diagnosis for Monogenic Disorders (NIPD)

### Description

**Non-Invasive Prenatal Diagnosis (NIPD)** is a DNA test on maternal blood to diagnose prenatally a limited number of monogenic disorders in the fetus:

1. Cystic fibrosis
2. Achondroplasia and thanatophoric dysplasia due to specific FGFR3 mutations
3. Craniosynostosis due to specific FGFR2 mutations
4. Apert syndrome
5. Crouzon syndrome with acanthosis nigricans

### Price

The price of the NIPD tests varies between **1400-1800 Euro**.

### Price List

More details on NIPD tests can be found in the different NIPD brochures.

 [Non Invasive Prenatal Diagnosis for Monogenic Disorders \(NIPD\)](#)

Die Zukunft ist jetzt...

## Addressing an unmet clinical need? Really?

# Natera, Inc. Announces Launch of Vistara Single-Gene Mutation NIPT

SAN CARLOS, Calif., May 8, 2017 /PRNewswire/ -- **Natera** (NASDAQ: NTRA), a leader in genetic testing, announced the launch of Vistara, a non-invasive prenatal test (NIPT) to screen single-gene disorders. Vistara is a complement to Natera's market-leading Panorama® non-invasive prenatal test (NIPT) and screens for new mutations in 30 genes that have a combined incidence rate of nearly 1 in 600, which is higher than that of Down syndrome.<sup>1,2</sup> These mutations can cause severe conditions that affect skeletal, cardiac, and neurological systems, and often go undetected with routine prenatal screening. Natera will offer Vistara through its leading direct sales channel in the United States.

### **Addressing an Unmet Clinical Need**

Vistara screens for common single-gene disorders such as Noonan syndrome, osteogenesis imperfecta, craniosynostosis syndromes, achondroplasia, and Rett syndrome. Noonan syndrome, for example, has non-specific ultrasound findings and may not be detected prenatally without single-gene testing. Noonan syndrome is characterized by short stature, cardiac defects, bleeding problems and mild intellectual disabilities in some cases. It affects 1 in 1,000 to 1 in 2,500 births.

# Zusammenfassung

- NIPT = Screening. NIPT = keine Diagnostik.
- Diagnostische Punktion: niedriges eingriffsassoziertem Risiko
- NIPT mit Hinweis auf Trisomie 21, 18: CVS empfohlen
- NIPT mit Hinweis auf Trisomie 13 ohne sonographische Pathologie: cave CVS! Mosaik wahrscheinlich
- NIPT mit Hinweis auf Monosomie X, seltene Aneuploidie, Del/Dupl: AC empfohlen, keine CVS
- bei nt >3.5mm oder Risiko <1:10 oder sonographischer Auffälligkeit: CGH-Array (hohe Auflösung) empfohlen
- Detaillierter Ultraschall erlaubt gezielte Diagnostik auf monogene Erkrankungen
- NIPT zur Diagnostik monogener Erkrankungen: noch unklare Wertigkeit