

# Nichtinvasive Pränataldiagnostik

## ETS und NGS-basierte Tests

### Einleitung

In den vergangenen 40 Jahren hat sich das pränatale Screening auf Chromosomenstörungen drastisch verändert: Während anfänglich nur das erhöhte maternale Alter mit einem Schwellenwert ab 35 Jahren eine Indikation für eine invasive Diagnostik darstellte, gewannen in der weiteren Zeit biochemische Testsysteme und Ultraschalluntersuchungen zunehmend an Bedeutung. In den vergangenen Dekaden hat sich die Prävalenz bestimmter altersabhängiger Aneuploidien, v. a. die der Trisomie 21 aufgrund eines stetig gestiegenen Anteils älterer Schwangerer erhöht. Würde gegenwärtig das Screening auf Trisomie 21 ausschließlich auf der maternalen Altersindikation mit einem Schwellenwert von 35 Jahren basieren, müssten sich annähernd 25 % aller Schwangeren mit einer invasiven diagnostischen Maßnahme, wie der Amniozentese oder der Chorionzottenbiopsie, auseinandersetzen. Gleichzeitig würde aber auch die Detektionsrate für die entsprechenden Chromosomenstörungen ansteigen und läge damit heute bei ca. 50 % für die Trisomie 21. Aufgrund der hohen Falsch-positiv-Rate läge der positive prädiktive Wert, d. h. die Wahrscheinlichkeit, dass bei einem auffälligen Testergebnis wirklich eine Trisomie 21 vorliegt, jedoch nur bei 0,4 %. Deshalb ist die maternale Altersindikation heute nur noch als „historisch bedingte Indikation“ zu verstehen.

In den vergangenen 30 Jahren hatten sich daher alternative Screeningverfahren, wie der Triple- und Quadruple-Test oder die sonographische Beurteilung von Softmarkern im 2. Trimenon etabliert. Diese wurden aber durch das kombinierte Erst-

trimesterscreening (ETS) – bestehend aus der Untersuchung biochemischer und sonographischer Parameter in Kombination mit dem mütterlichen Altersrisiko – weitgehend verdrängt.

Beim Screening auf Chromosomenstörungen deutet sich durch den Einsatz der sog. zellfreien fetalen DNA (cffDNA) im Sinne eines „non-invasive prenatal testing“ (NIPT) ein Paradigmenwechsel an. In dieser Übersicht soll das heute mögliche pränatale Aneuploidiescreening beleuchtet werden.

### Das kombinierte Ersttrimesterscreening

Das ETS dient der individuellen Risikobestimmung einer Schwangeren für das mögliche Auftreten einer Trisomie 21, 18 oder 13 in der jeweiligen Schwangerschaft.

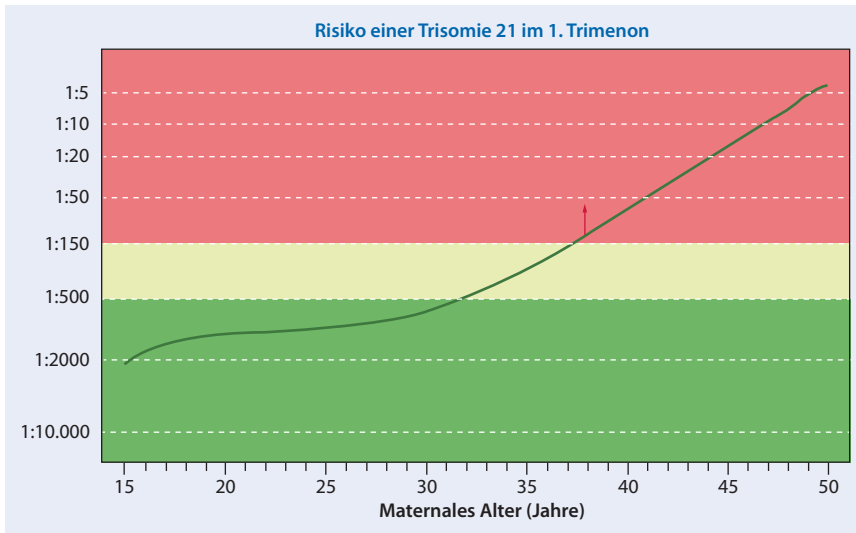
Hiermit kann die Schwangere ihre persönlichen Schlüsse für oder gegen die Inanspruchnahme einer invasiven Diagnostik ziehen, indem sie ihr persönliches Risiko einer Trisomie mit dem Fehlgeburtsrisiko einer invasiven Abklärung in Höhe von etwa 0,5 % vergleicht [1]. Meist wird ab einem Risikoschwellenwert, der einer Falsch-positiv-Rate von 3–5 % entspricht, zu einer invasiven Abklärung geraten.

Eine vorangehende qualifizierte Beratung nach dem Gendiagnostikgesetz unter Berücksichtigung des „Rechts auf Nichtwissen“ und bei Bedarf eine psychosoziale Beratung sowie eine qualifizierte Ultraschall- und biochemische Untersuchung, eine korrekte Risikoberechnung und eine Beratung zur Einschätzung des Testergebnisses sind von höchster Bedeutung [2].

Die Ultraschalluntersuchung im Rahmen des ETS beinhaltet die Messung der Nackentransparenz (NT) und der Scheitel-Steiß-Länge sowie die Beurteilung der fetalen Sonomorphologie. Diese sollte von erfahrenen und speziell ausgebildeten Gynäkologen durchgeführt werden, welche ihre Messungen jährlich im Rahmen eines unabhängigen Audits überprüfen lassen. Bei Abweichungen von der erwarteten Messwertverteilung der fetalen NT wird zu einem erneuten Training aufgefordert. Sollte im Verlauf keine Besserung beobachtet werden, wird die Berechtigung für die Durchführung der Risikoanalyse entzogen [3].

Die Fetal Medicine Foundation Deutschland (FMF-D) und die Fetal Medicine Foundation UK (FMF-UK) haben in der vergangenen Dekade mehr als die Hälfte der in Deutschland, Österreich und der Schweiz tätigen Gynäkologinnen und Gynäkologen ausgebildet. Hierdurch entstand ein Qualitätsnetzwerk in den einzelnen Ländern, das mehreren Hunderttausend Schwangeren pro Jahr den Zugang zu einer validierten individuellen Risikoanalyse für Aneuploidien ermöglichte.

In die Berechnung fließen das maternale Alter, die Anamnese, die Scheitel-Steiß-Länge als Basis für das Gestationsalter, die Nackentransparenz sowie die biochemischen Parameter freies  $\beta$ -hCG (Humanchoriongonadotropin) und PAPP-A („pregnancy-associated plasma protein-A“) ein. Bei entsprechender Expertise können zudem Angaben zur Ossifikation des Nasenbeins und zum Blutfluss im Ductus venosus und über der Trikuspidalklappe in der Berechnung berücksichtigt werden [4–6].



**Abb. 1** ▲ Ampelgrafik im PRC-3.0-Programm zur Darstellung des individuellen Risikos. *Roter Bereich* hohes Risiko; *gelber Bereich* intermediäres Risiko; *grüner Bereich* niedriges Risiko. In dieser Grafik ist aufgrund eines auffälligen ETS ein erhöhtes Risiko bei einer 38-jährigen Schwangeren dargestellt

Der Risikoalgorithmus der FMF-UK basiert auf zahlreichen Studien aus den vergangenen 20 Jahren und basiert in seiner derzeit gültigen Form auf 222.475 normalen und 886 Trisomie-21-Schwangerschaften. Er beinhaltet neben der eigentlichen Risikoberechnung für die Trisomien 21, 18 und 13 auch die Möglichkeit, das Risiko zahlreicher anderer Schwangerschaftskomplikationen zu ermitteln [7].

Seit Ende 2013 steht der neu adaptierte Algorithmus der PRC Software (PRC 3.0) der FMF-D zur Verfügung. Diese basiert auf der Auswertung von 186.215 Schwangerschaften mit gesunden Kindern und einer Gruppe von 925 Schwangerschaften mit gesicherten Chromosomenstörungen (726 Fälle mit Trisomie 21 und 199 Fälle mit Trisomie 13 oder 18) und hat das Basiscreening erneut verbessert [8].

Beide Algorithmen, der der FMF-D und der FMF-UK, bieten Detektionsraten von etwa 85–90 % bei einer Falsch-positiv-Rate von 3–5 % [7–9].

Die FMF-Deutschland verwendet ein Ampelschema (■ **Abb. 1**), dem bestimmte „Cut-off“-Werte zugeordnet sind, um den Schwangeren ihre Risikosituation zu verdeutlichen. Als Hochrisikobereichergebnisse gelten Risikowerte von 1:2 bis 1:150 (*roter Bereich*). Hier sollten die Möglichkeiten invasiver Diagnostik diskutiert werden.

Der Cut-off-Wert für den intermediären Bereich (*gelber Bereich*), in dem weiterführende sonographische Untersuchungen empfohlen werden, liegt zwischen 1:151 und 1:500. Bei der FMF-UK ist dieser Bereich zwischen den Risiken 1:50 und 1:1000 definiert. Die FMF-D definiert den „grünen“ Niedrigrisikobereich ab einem Schwellenwert unter 1:500. In dieser Gruppe ist die Prävalenz der Trisomien zu gering für weitere Abklärungsmaßnahmen.

Auch im Algorithmus der FMF-D können die Ergebnisse der zusätzlichen Auswertung des Nasenbeins sowie des Ductus-venosus- und des Trikuspidalklappenflusses Berücksichtigung finden. Diese Marker sollten v. a. bei intermediären Risikokonstellationen eingesetzt werden [10–12]. Hierdurch lassen sich die Detektionsraten bis 95 % steigern bzw. die Falsch-positiv-Raten halbieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das ETS das Screening auf Chromosomenstörungen in den deutschsprachigen Ländern nachhaltig verbessert hat.

Entsprechend den Veröffentlichungen der FMF-D liegt der positive prädiktive Wert bei einer Detektionsrate für die Trisomie 21 von 86,8 %, einer Falsch-positiv-Rate von 3,4 % und einer Prävalenz der Trisomie 21 von 1:500 bei einem ETS bei 4,9 % und damit fast 12-mal besser als bei der mütterlichen Altersindikation (■ **Tab. 1**).

## Methodik der NIPT

Schon seit langer Zeit werden Ansätze verfolgt, fetale Zellen aus dem mütterlichen Blut zu analysieren [13]. Da die Konzentration aber etwa bei 1:100.000 mütterlicher Zellen liegt, erwiesen sich einerseits die Extraktion als schwierig, und andererseits stellten die Ergebnisse mit einer Detektionsrate von 75 % und einer Falsch-positiv-Rate von 0,6 und 4,1 % bei männlichen und weiblichen Feten trotz hohem Aufwand keine diagnostische Verbesserung dar [14].

Lo et al. verfolgten einen alternativen Ansatz und konnten 1997 [15] zeigen, dass neben einem sehr großen Anteil von mütterlichen zellfreien DNA-Fragmenten sich im Plasma von Schwangeren auch stark fragmentierte DNA befindet, die der jeweils aktuellen Schwangerschaft zuzuordnen und Stunden nach der Entbindung nicht mehr nachweisbar ist [15, 16]. Daher ist davon auszugehen, dass die cfDNA bei einer nächsten Schwangerschaft komplett abgebaut worden ist und keinen Einfluss auf eine Untersuchung in einer erneuten Schwangerschaft hat [16]. Der schwangerschaftsspezifische Anteil der DNA liegt bei etwa 5–15 % an der Gesamtheit der freien DNA im mütterlichen Plasma und ist zwischen der 10. und 20. Schwangerschaftswoche relativ konstant [17].

Die hierbei relevante DNA wird als „zellfreie fetale DNA“ (cffDNA) bezeichnet, obwohl es sich tatsächlich um zellfreie plazentare DNA handelt. Aufgrund dieser Herkunft ist eine absolut sichere fetale Beurteilung durch die cffDNA-Auswertung nicht möglich. Diskrepanzen zwischen Embryoblast und Trophoblast, aber auch aneuploide „vanishing twins“ und fetale Mosaik können die Aussagekraft der cffDNA-Auswertung beeinträchtigen. Diese Phänomene und Diskrepanzen betreffen etwa 1–2 % aller Karyotypisierungen aus der Plazenta und sind seit Langem aus der Analyse von Choriongewebe bekannt [18, 19].

Obwohl die ersten Studien zur cffDNA Ende der 1990er Jahre veröffentlicht wurden, gelang es erst in den vergangenen Jahren, die Methode klinisch einzusetzen. Dies ist v. a. der deutlich verbesserten Rechnerkapazität im Rahmen des

„next generation sequencing“ (NGS) zu verdanken [20, 21].

## Mindestkonzentration an cffDNA

Bei allen gegenwärtigen Methoden der cffDNA-Auswertung ist eine Mindestkonzentration an cffDNA von etwa 4 % notwendig. Bei etwa 5 % der Untersuchungen wird diese Schwelle unterschritten, sodass zunächst keine Auswertung möglich ist. Hierbei ergibt sich ein direkter Zusammenhang zwischen der Konzentration der cffDNA und dem mütterlichen Gewicht: Während bei einem mütterlichen Gewicht von 100 kg bei etwa 7 % der Untersuchungen keine ausreichende cffDNA-Konzentration vorliegt, geht dieser Anteil auf 0,3 % bei einem Körpergewicht von 50 kg zurück [22]. Auch beeinflussen die Ethnizität, der Raucherstatus, der Karyotyp sowie die PAPP-A und  $\beta$ -hCG-Konzentration die cffDNA-Konzentration [21]. Das Gestationsalter scheint nur einen kleinen Einfluss zu haben, da die Menge an cffDNA zwischen der 10. und 21. SSW nur etwa 0,1 % pro Woche ansteigt [23, 24].

Bei Unterschreiten der Mindestkonzentration kann eine aufwendige Reanalyse derselben Probe erfolgen. In etwa 3 % der Fälle ist eine neue Blutentnahme notwendig.

Der Anteil der Untersuchungen, der auch nach Reanalyse und Reblutabnahme ergebnislos bleibt, liegt nach unseren Erfahrungen bei 2 % („paper in preparation“).

Zur Analytik der Aneuploidien werden momentan 2 Ansätze genutzt.

Die ersten kommerziell erhältlichen Testsysteme benutzen das „massively“ oder „targeted parallel sequencing“. Hierbei werden entweder alle DNA-Fragmente („massively“) oder bestimmte Fragmente untersucht. Beim letztgenannten Verfahren werden in einer „digital analysis of selected regions“ (DANSR) selektiv nur die Fragmente der interessierenden Chromosomen durch eine zielgerichtete (Targeted) Amplifikation untersucht, wodurch es zu einer signifikanten Verbesserung der Effizienz der Methode kam [25–28].

Grundsätzlich wird dabei die gesamte zellfreie DNA des Plasmas ausgewertet. Die Extraktion der fetalen DNA für

medgen 2014 · 26:382–390 DOI 10.1007/s11825-014-0021-3  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

B. Eiben · R. Glaubitz · K. O. Kagan

## Nichtinvasive Pränataldiagnostik. ETS und NGS-basierte Tests

### Zusammenfassung

Das Ersttrimesterscreening zur Risikobestimmung für die Trisomien 21, 18 und 13 hat sich in den letzten 15 Jahren in Deutschland etabliert. Die optimale Durchführung setzt die Einhaltung bestimmter Messkriterien beim Ultraschall und bei der biochemischen Analyse voraus sowie die Benutzung evaluierter Risikoberechnungsprogramme wie dem Berechnungsprogramm PRC der Fetal Medicine Foundation Deutschland (FMF-D). Durch die neue Version des Berechnungsprogramms PRC konnten die Trisomie-21-, -18- und -13-Detektionsraten erhöht werden bei gleichzeitiger Senkung der Falsch-positiv-Raten, was einen großen Fortschritt verglichen mit der mütterlichen Altersindikation darstellt.

Durch die Analyse der zellfreien fetalen DNA aus dem mütterlichen Plasma können seit 2 Jahren aber wesentlich bessere Screeningvorhersagen getroffen werden. Über 99 % aller Trisomie-21-Schwangerschaften können mit dieser Methodik als Risikogruppe beschrieben werden. Die Falsch-positiv-Rate liegt unter 1 %. Durch diese Methode ist ein Paradigmenwechsel in der Pränataldiagnostik zu erwarten.

### Schlüsselwörter

Ersttrimesterscreening · Nackentransparenz · Sonographische Untersuchung · NIPT · Zellfreie fetale DNA · Detektionsraten · Trisomie 21, 18, 13 · Monosomie X

## Non-invasive prenatal diagnostics. ETS and NGS-based tests

### Abstract

First trimester screening for the risk evaluation of trisomy 21, 18 and 13 has become established in Germany over the last 15 years. Optimal implementation requires the use of certain measurement criteria in ultrasound and biochemical analyses as well as the use of an evaluated risk calculation program. In Germany individual risk calculation is mostly performed using the PRC calculation program from the Fetal Medicine Foundation Germany (FMF-D). By using a new version trisomy 21, 18 and 13 detection rates could be increased while reducing false positive rates which represents significant progress compared to the maternal age indications.

By analyzing cell-free fetal DNA from maternal plasma significantly better prediction

rates could be achieved in screening within the last 2 years. Approximately 99 % of trisomy 21 pregnancies can be described as a risk group with this methodology. The false positive rate is below 1 %. By using this method a paradigm shift in the prenatal diagnostics can be expected.

### Keywords

First trimester screening · Nuchal translucency · Sonography · Non-invasive prenatal testing · Cell-free fetal DNA · Detection rate · Trisomy 21, 18, 13 · Monosomy X

eine getrennte Auswertung wurde aufgrund des enormen Aufwands nicht weiter verfolgt.

Die Unterschiede zwischen einer fetalen Trisomie und einem normalen Befund sind relativ gering, denn ein Chromosom 21 umfasst etwa 0,75 % des humanen Genoms. Bei einem unauffälligen fetalen Karyotyp beträgt der Anteil somit 1,5 %, bei einer Trisomie 21 entsprechend 2,25 %. Dadurch dass der fetale Anteil nur etwa 5–15 % der gesamten freien DNA ausmacht, wird die Differenzierung umso schwieriger: Sind beispielsweise 10 % der freien DNA im mütterlichen Blut ei-

ner Schwangerschaft mit Trisomie 21 zuzuordnen, so ergibt sich rechnerisch folgendes Bild:

1,5 % (Anteil der Chromosomen 21 am mat. Genom)  $\times$  0,9 (90 % maternale DNA) + 2,25 % (fetaler Anteil des Chromosom 21 bei Trisomie 21)  $\times$  0,1 (10 % fetale DNA) = 1,575 % vs. 1,5 % (bei Normalschwangerschaften).

Der verwendete Algorithmus muss also zwischen 1,5 und 1,575 % unterscheiden können. Mit zunehmend geringer werdendem Anteil der fetalen DNA-Konzentration im mütterlichen Blut wird dieser Abstand geringer, wodurch die

**Tab. 1** Prävalenz und Rechenbeispiele für den positiven prädiktiven Wert beim Screening von 100.000 Schwangeren am Beispiel der maternalen Altersindikation, ETS und NIPT für Trisomie 21. Exemplarisch sind die Ergebnisse des Panorama-Tests auf DiGeorge-Syndrom und Cri-du-Chat-Syndrom aufgezeigt. Die Versagerquoten wurden bei den hier aufgezeigten Ergebnissen der NIPT-Analysen nicht berücksichtigt

Methode	Maternale Altersindikation	ETS	NIPT	DiGeorge-Syndrom	Cri-du-Chat-Syndrom
Detektionsrate Falsch-positiv-Rate	50 % 25 %	86,8 % 3,4 %	99 % 0,1 %	99 % 0,75 %	99 % 0,75 %
Prävalenz	1:500	1:500	1:500	1:2.500	1:50.000
Betroffene	200	200	200	40	2
Richtig-positiv	100	174	198	39,6	2
Falsch-positiv	25.000	3.400	100	750	750
Gesamtzahl Test positiv	25.100	3.574	298	789,6	752
Positiver prädiktiver Wert	0,4 %	4,9 %	66,4 %	5 %	0,27 %

Trennschärfe des Tests abnimmt. Daher kann der Anteil an cfDNA an der gesamten zellfreien DNA auch als Qualitätskriterium für die Testgüte der Analyse betrachtet werden.

Die weitere statistische Auswertung erfolgt über „z-scores“, wobei die Abweichung vom Erwartungswert als Mehrfaches der Standardabweichung angegeben wird. In der Regel wird ein Schwellenwert von 3,0 verwendet. Bei Verwendung dieses Grenzwertes liegen 99,9% der Werte euploider Feten unterhalb des Schwellenwerts, d. h. im Normalbereich, wodurch sich eine Falsch-positiv-Rate von 0,1% ergibt [29].

Die DNA-Fragmente, die den zu untersuchenden Chromosomen zugeordnet werden, werden mit den DNA-Fragmenten eines Referenzchromosoms verglichen, von dem angenommen wird, dass hier mit höchster Wahrscheinlichkeit zum Untersuchungszeitpunkt der Schwangerschaft keine numerische Veränderung mehr existiert. In der Regel wird hierzu das Chromosom 3 als Referenz verwendet.

Wie schon abgeleitet, kann die cfDNA-Konzentration im mütterlichen Blut auch als Qualitätsparameter für die Aussagekraft der NIPT gewertet werden, da bei abnehmender Konzentration an cfDNA die Messgenauigkeit besonders bei den Massively- oder Targeted-parallel-sequencing-Verfahren abnimmt. Ursächlich ist eine zunehmende Streuung der Messwerte mit konsekutiver Erhöhung der Standardabweichung. Da die z-Scores ein Mehrfaches der Standardabweichung darstellen, werden diese bei

niedriger cfDNA-Konzentration geringer ausfallen, wodurch die Diskriminierungsfähigkeit des Tests abfällt.

Über den Zusammenhang zwischen den z-Scores und der cfDNA-Konzentration als Qualitätsparameter berichteten Carnick et al. [30]. Sie fanden bei 4 von 212 Fällen mit Trisomie 21 z-Werte unter 3,0. In diesen falsch-negativen Fällen lag die cfDNA-Konzentration zwischen 4 und 7%.

Da diese Generation an Tests auf der statistischen Verschiebung innerhalb bestimmter DNA-Fraktionen beruht, können Triploidien nicht erkannt werden.

Mit diesen Testsystemen arbeiten Firmen wie Sequenom bzw. LifeCodexx, Verinata, BGI und Ariosa.

Bei einem alternativen Testsystem, das auf der Auswertung von Einzelnukleotidpolymorphismen („single nucleotide polymorphisms“ bzw. „snips“ oder SNP) beruht, wird die fetale und maternale DNA voneinander unterschieden. Dieser Ansatz wird von der Fa. Natera verfolgt [31].

Hierbei wird nicht die gesamte zellfreie DNA amplifiziert und sequenziert, sondern das Muster von 19.500 SNP ausgewertet, die auf den Chromosomen 21, 18, 13, X und Y liegen. Für die Beurteilung sind 2 Analyseschritte aus der gleichen Blutprobe notwendig: die Analyse der SNP-Muster der gesamten fetalen und maternalen zellfreien DNA und die Analyse der reinen maternalen SNP-Konstellation aus den Leukozyten. Durch den Vergleich beider Analysen kann auf die fetale SNP-Konstellation und somit auf den partiellen fetalen Karyotyp geschlossen werden [32]. Diese Analyse und

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

die weitere statistische Auswertung erfolgen mit dem NATUS-Algorithmus, der von Natera entwickelt worden ist. In etwa 2–3 % der untersuchten Fälle kann die Kenntnis der paternalen SNP-Konzentration für die weitere Analyse hilfreich sein. Nach unseren Erfahrungen konnte auch bei dieser Methode in 2 % kein Ergebnis erzielt werden, da entweder die Konzentration der fetalen DNA zu gering war oder durch eine nichtinformativ SNP-Konstellation („paper in preparation“).

Zusammenfassend fokussieren sich gegenwärtig die meisten NIPT-Verfahren auf die Trisomien 21, 18, 13 und auf bestimmte gonosomale Chromosomenstörungen. Triploidien können nur mit dem auf SNP-Analyse beruhenden Testverfahren bestimmt werden.

### Beratung bei Screening auf Chromosomenstörungen

Alle NIPT-Untersuchungen in Deutschland unterliegen den Bestimmungen des Gendiagnostikgesetzes und sind demnach als genetische Analysen im Rahmen einer vorgeburtlichen genetischen Untersuchung und nicht als vorgeburtliche Risikoabklärung mit Rahmen eines Screenings zu betrachten. Entgegen der medizinischen Vorstellung einer Screeninguntersuchung orientiert sich der deutsche Gesetzgeber nicht an der Testgüte der angewendeten Untersuchung, sondern an der Art des untersuchten Materials. Als genetische Probe wird das biologische Material beschrieben, das zur Verwendung für genetische Analysen vorgesehen ist. Gleichzeitig wird die genetische Analyse definiert als eine auf die Feststellung genetischer Eigenschaften gerichtete Analyse der molekularen Struktur der Desoxyribonukleinsäure [33]. Damit erfährt das NIPT in Deutschland eine andere Bedeutung, da die Methode weltweit als Screening im eigentlichen medizinischen Sinne angesehen wird [34: s. auch 8. Mitteilung der GEKO „Zur Einordnung der nicht-invasiven Pränataldiagnostik (NIPD)“ vom 12.03.2014].

Das Ergebnis muss an die verantwortliche ärztliche Person übermittelt werden, wobei diese über die Testgüte der NIPT-Untersuchung und das Ergebnis aufzuklären und zu beraten hat. Besonders be-

tont werden sollte, dass im Durchschnitt aller mütterlichen Altersgruppen nur die Hälfte aller Feten mit einer Chromosomenstörung eine Trisomie 21 hat und dass Chromosomenstörungen nur für etwa 10 % aller Entwicklungsstörungen verantwortlich sind [35].

Zur Beratung sei es angeraten, auf eine Trisomie-21-Detektionsrate (DR) von 99 % bei einer Falsch-positiv-Rate (FPR) von 0,1 % zu verweisen.

Bisher wurden v. a. Patientinnen mit einem erhöhten Risiko für Trisomie 21 mittels NIPT untersucht. Zunehmend werden nun aber auch Studien veröffentlicht, die die cfDNA-Analyse im Niedrigrisikokollektiv untersuchen. An dieser Stelle seien noch exemplarisch 2 Studien erwähnt: Bianchi berichteten von 1914 Schwangerschaften bei einem mittleren mütterlichen Alter von 29,6 Jahren und von einer Falsch-positiv-Rate von 0,3 %. Die höhere Falsch-positiv-Rate ist darauf zurückzuführen, dass die „fetal fraction“ in dieser Studie nicht bestimmt wurde, sodass bei einem eigentlich zu niedrigen cfDNA-Anteil dennoch eine Auswertung erfolgte. Nicolaidis et al. verglichen die cfDNA-Analyse direkt mit dem ETS und untersuchten 2049 Frauen. Die Falsch-positiv-Raten lagen bei 0,1 und 3 % [36, 37]

Bei einer Falsch-positiv-Rate von 0,1 % und einer Detektionsrate von 99 % bedeutet das, dass von 100.000 untersuchten Schwangerschaften 100 durch ein falsch-positives Ergebnis auffallen werden. Bei einer altersunabhängigen Trisomie-21-Prävalenz von ca. 1 in 500 Fällen wären bei 100.000 Schwangerschaften 200 Feten mit Trisomie 21 zu erwarten. Hiervon können über NIPT 198 detektiert werden. Insgesamt käme es bei der NIPT zu 298 testpositiven Schwangerschaften. Der positive prädiktive Wert liegt also bei 66,4 % und übersteigt damit den pos. prädiktiven Wert von 4,9 % beim Ersttrimesterscreening um das fast 14-Fache (■ Tab. 1). Da sich auch beim NIPT falsch-positive und wenige falsch-negative Befunde ergeben können, ist diese Methode grundsätzlich als sehr guter Screeningtest aufzufassen. Er sollte momentan aber nicht als diagnostischer Test verstanden werden, denn bei auffälligen Ergebnissen ist eine weitere invasive Abklärung erforderlich.

Im Screening auf die Trisomien 18 und 13 mittels NIPT muss berücksichtigt werden, dass der sonographischen Beurteilung des Fetus eine besondere Bedeutung zukommt, da fast jeder Fetus mit einer entsprechenden Chromosomenstörung bereits im 1. Trimenon größere Fehlbildungen aufweist [38]. Palomaki, Ashoor und Norton et al. untersuchten insgesamt 147 Feten mit Trisomie 18. Die Detektionsrate lag bei 98,6 % bei einer zum Screening auf Trisomie 21 zusätzlichen Falsch-positiv-Rate von 0,1 % [23, 39, 40]. Im Screening auf Trisomie 13 berichteten Palomaki und Ashoor et al. von insgesamt 22 Fällen, von denen 19 (86,4 %) korrekt identifiziert wurden. Die Falsch-positiv-Rate lag jedoch bei etwa 0,5 % [23, 41]. Die geringere Testgüte könnte u. a. durch die niedrigere cfDNA-Konzentration im mütterlichen Kreislauf bei Fetus mit einer Trisomie 18 und 13 bedingt sein.

Wie beim Serumscreening gibt es auch beim Einsatz der cfDNA bei Mehrlingsschwangerschaften Befürchtungen, dass die Methode nicht über die Trennschärfe wie bei Einlingsschwangerschaften verfügt. Deshalb ist auch der Einsatz der cfDNA bei Mehrlingsschwangerschaften umstritten. Dennoch ist NIPT bei Gemini bereits heute kommerziell verfügbar. Aussagekräftige Studien liegen jedoch noch nicht vor. In einer Serie von 189 Zwillingschwangerschaften, darunter 9 Schwangerschaften mit Trisomie 21, berichteten Huang et al., dass sie alle euploiden und aneuploiden Schwangerschaften korrekt klassifizieren konnten [42].

Besonders problematisch ist die cfDNA-Analyse bei ehemals dichorialen Gemini mit einer Vanishing-twin-Situation. Der Embryo könnte aufgrund einer Chromosomenstörung abgestorben sein, die ein auffälliges Ergebnis der cfDNA-Analyse bedingen würde.

### NIPT in der klinischen Anwendung

Alle gängigen NIPT-Systeme ermöglichen eine Blutabnahme ab der Schwangerschaftswoche 9 + 0. Kritisch anzumerken ist hierbei, dass bei einer sehr frühen Testung auch aneuploide Schwangerschaften entdeckt werden, die in den

kommenden Wochen natürlicherweise mit einer Fehlgeburt geendet hätten.

Nach den ersten Erfahrungen wird die NIPT v. a. im 1. Trimenon die höchste Anwendung finden [43–44]. Dabei könnte die Methode auch im 2. Trimenon bei Vorliegen von sonographischen Softmarkern für Trisomie 21 zum Einsatz kommen.

Die FMF-D spricht sich dabei für einen indikationsbezogenen Einsatz der NIPT-Untersuchung aus [45–48]. Die Deutsche Gesellschaft für Humangenetik weist in der Stellungnahme vom 12.11.2012 ausdrücklich darauf hin, „dass die Untersuchung keiner Schwangeren vorenthalten werden kann bzw. allen Schwangeren verfügbar gemacht werden sollte“ [49].

Da das NIPT momentan noch je nach Anbieter und Testverfahren zwischen 500 und 825 € kostet, sehen sich die meisten Schwangeren nicht in der Lage, diese Kosten privat zu übernehmen. Jedoch sind nach Rücksprache viele gesetzliche und private Krankenkassen bereit, die Kosten zu übernehmen, wenn eine entsprechende Indikation besteht.

Es bietet sich daher eine zweistufiges Screeningmodell mit dem kombinierten ETS an, da dieses weitgehend flächendeckend verfügbar ist und deutlich günstiger angeboten wird: Dabei wird zunächst ein ETS durchgeführt. Bei besonders hohen oder niedrigen Risiken für Trisomie 21 erfolgt eine invasive Diagnostik oder keine weitere Untersuchung. Bei einem intermediären Risiko nach ETS wird die cffDNA-Analyse angeboten. Diese Gruppe umfasst je nach Definition der Schwellenwerte etwa 20 % der untersuchten Bevölkerung. Dadurch lassen sich die Detektionsraten auf Trisomie 21 auf ein ähnliches Niveau wie bei der alleinigen Anwendung der cffDNA-Analyse anheben, ohne die Vorteile des ETS zu verlieren. Zudem lassen sich auch Hinweiszeichen auf andere Chromosomenstörungen finden, die derzeit nicht durch eine cffDNA-Analyse erkannt werden können.

Ein zusätzlicher Vorteil, einen weiteren Test vor der cffDNA-Analyse vorzuschalten, besteht darin, dass die Anzahl ergebnisloser cffDNA-Analysen reduziert wird. Bei direkter Anwendung der NIPT-Analyse im Grundkollektiv wäre bei einer 3%igen Versagerquote die Anzahl weiter

abklärungsbedürftiger Fälle zu hoch. Da sich die meisten Patientinnen nach ergebnisloser cffDNA-Analyse für eine invasive Diagnostik entscheiden, läge der Anteil invasiv abzuklärender Schwangerschaften nur geringgradig unter dem Stand, der sich durch das ETS erreichen lässt. Sollte jedoch durch eine vorgeschaltete Triage-Untersuchung bei nur 20 % eine NIPT-Untersuchung erfolgen, läge der Anteil an ergebnislosen cffDNA-Analysen bei nur noch  $20\% \times 3\% = 0,6\%$ .

### Sinnvoller Einsatz der cffDNA-Analyse nach ETS

In der Hochrisikogruppe nach ETS oder bei sonographischen Auffälligkeiten (z. B. bei Fehlbildungen) scheint die NIPT-Untersuchung nicht ausreichend, da in dieser Gruppe das Risiko für andere klinisch relevante, aber nicht durch NIPT erkennbare Chromosomenstörungen relativ hoch ist. Petersen et al. (nichtpublizierte Daten, präsentiert auf dem FMF-Weltkongress 2013) zeigten, dass von 1122 Chromosomenstörungen, die nach 193.638 ETS-Untersuchungen zwischen 2008 und 2011 in Dänemark gefunden wurden, bei 72,6 % eine Trisomie 21, 18, 13 oder eine geschlechtschromosomale Aberration vorlag. Atypische, aber klinisch relevante Chromosomenstörungen wurden bei 262 Untersuchungen gefunden. Bei einem Risiko nach ETS für Trisomie 21 von 1:50 oder höher wurde bei 1,7 % der Fälle – bzw. 7,4 % der aneuploiden Fälle – eine atypische Chromosomenstörung gefunden. Daher sollte in Hochrisikofällen eher eine invasive Diagnostik erwogen werden.

Ähnliche Ergebnisse zeigten auch Kagan et al., die bei 21.052 ETS-Untersuchungen, 212 klinisch relevante Chromosomenstörungen fanden. Von diesen Chromosomenstörungen hätten 23 (10,9 %) nicht durch eine cffDNA-Analyse in der derzeitigen Form erkannt werden können. Bei etwa 70 % dieser Fälle lag das Risiko nach ETS bei über 1:50 [50].

Zudem resultiert durch die hohe Prävalenz an Trisomien in der Hochrisikogruppe aus den cffDNA-Analysen ein entsprechend hoher Anteil an auffälligen Ergebnissen, die anschließend erneut invasiv abgeklärt werden müssen.

In einer Screeningstudie von Kagan et al. an 56.711 Schwangerschaften lag nach einem durch ETS berechneten Risiko von über 1:10 in der Hälfte der Fälle eine Trisomie 21 vor [51].

Um zusätzliche Kosten und eine verlängerte Abklärungszeit eines auffälligen Befundes zu vermeiden, sollte in diesen Fällen eine direkte invasive Abklärung erwogen werden.

Im Niedrigrisikokollektiv erscheint die Prävalenz der Trisomie 21 zu gering, um ein weiteres Screening zu rechtfertigen. In der bereits erwähnten Studie von Kagan et al. [50] lag das Risiko nach ETS bei 44.525 (78,5 %) der 56.711 untersuchten Patientinnen bei unter 1:1000. In diesem Kollektiv befanden sich nur noch 12 (3,0 %) der 395 Fälle mit Trisomie 21 [51], sodass der positive prädiktive Wert einer cffDNA-Analyse in diesem Kollektiv auf 21,1 % abfallen würde. Dieser läge weiterhin über der des ETS – die geringe Anzahl der Feten mit Trisomie 21 würde jedoch die Sinnhaftigkeit eines weiteren Screenings infrage stellen.

In der intermediären Risikogruppe ist eine weiterführende NIPT-Untersuchung sinnvoll. Die FMF-D verwendet die Schwellenwerte 1: 150 und 1: 500, die Werte der FMF-UK liegen bei 1: 50 und 1:1000 [11, 12]. Diese Gruppe umfasst beispielsweise die Patientinnen, bei denen aufgrund des erhöhten mütterlichen Alters trotz unauffälliger ETS-Ergebnisse ein Risiko im Intermediärbereich ermittelt wurde oder bei denen grenzwertige Risikomarker auffielen. Bisher wurde in dieser Gruppe die Überprüfung des Nasenbeins, des Ductus-venosus- und des Trikuspidalklappenflusses [4, 5, 52] empfohlen. Jedoch könnte hier auch anstelle dieser sehr aufwendigen Ultraschalluntersuchungen, die eine hohe Expertise erfordern, eine NIPT-Untersuchung erfolgen [53, 54]. Welche Schwellenwerte zukünftig Anwendung finden werden, ist von den finanziellen Möglichkeiten, der Logistik der NIPT-anbietenden Firmen und der gewünschten Testgüte abhängig.

Mittelfristig kann erwartet werden, dass trotz der aufgezeigten offenen Fragen und Nachteile aufgrund der hohen Testgüte und der Simplizität der Durchführung das Screening auf Trisomie 21

die biochemische Komponente des ETS durch die cffDNA-Analyse abgelöst wird.

Dies wird jedoch den betreuenden Frauenarzt nicht aus der Verantwortung entlassen, Fehlbildungen oder Marker auf Chromosomenstörungen sonographisch zu erkennen. Bei Vorliegen typischer Fehlbildungen, wie einem Herzfehler, würde eine alleinige cffDNA-Analyse dem möglichen Spektrum an Chromosomenstörungen nicht gerecht werden. Deshalb ist hier auch weiterhin die Karyotypisierung ggf. mit einer Array-CGH-Untersuchung indiziert. Aus diesen Gründen ist eine NIPT-Untersuchung ohne eine qualifizierte Ultraschallbeurteilung abzulehnen [55].

Zudem gilt es, Alternativen bei ergebnislosen cffDNA-Auswertungen aufzuzeigen [22].

Es besteht die Gefahr, dass durch die hervorragende Testgüte der cffDNA-Analyse der Patientin vermittelt wird, dass sich die vorgeburtliche Detektionsrate aller Chromosomenstörungen, syndromaler Erkrankungen und struktureller Fehlbildungen auf diesem Niveau bewegt. Hier ist eine eingehende Beratung besonders wichtig.

Obwohl NIPT auf die gängigen Trisomien und gonosomalen Aberrationen fokussiert, kann die Methodik auch zum Screening auf andere numerische und strukturelle Chromosomenstörungen verwendet werden. Grundsätzlich ist auch die Aufschlüsselung des gesamten fetalen Genoms in der Frühschwangerschaft möglich, was jedoch viele ethisch-moralische Fragen aufwirft [56].

Seit Anfang 2014 sind erste Tests, die über das alleinige Trisomiescreening hinausgehen, durch Natera in Deutschland kommerziell verfügbar. Das hierbei angebotene Panel umfasst das DiGeorge-Syndrom, das 1p36-Syndrom sowie das Angelman-, Prader-Willi- und Cri-du-Chat-Syndrom. Größere Studien, die die Testgüte der entsprechenden Tests untersuchen, sind noch nicht verfügbar, und die zugrunde liegenden Daten beruhen auf vorläufigen Angaben.

In jedem Fall kritisch anzumerken ist, dass die Prävalenz einiger dieser Erkrankungen (z. B. Cri-du-Chat-Syndrom 1:50.000) so niedrig ist, dass mit einer hohen Anzahl an falsch-positiven Test-

ergebnissen zu rechnen ist (■ Tab. 1). Dies steht im direkten Widerspruch zur Intention aller bisheriger Screeningprogramme, neben einer hohen Detektionsrate und einer niedrigen falsch-positiven Rate auch eine hohe prädiktive Wertigkeit eines Tests zu gewährleisten.

Als Messlatte muss die Prävalenz der Erkrankung dienen. Vergleicht man bei einer 99%igen Detektions- und einer geschätzten 0,75% Falsch-positiv-Rate mittels cffDNA die Prävalenz des DiGeorge-Syndroms (1:2.500) mit der des Cri-du-Chat-Syndroms (1:50.000), so ergibt sich, dass der positive prädiktive Wert beim DiGeorge-Syndrom bei 5% liegt, der des Cri-du-Chat-Syndroms aber nur bei 0,27% anzusetzen ist.

Damit liegt die Wertigkeit des Tests beim Cri-du-Chat-Syndrom deutlich unter dem der maternalen Altersindikation, während das DiGeorge-Syndrom-Ergebnis in einem Bereich zu finden ist, den wir auch beim herkömmlichen ETS finden. Ob dies als Goldstandard für den positiven prädiktiven Wert eines pränatalen Screeningtests akzeptiert wird, bleibt abzuwarten.

In jedem Fall muss betont werden, dass nicht alles technisch Machbare auch in der Praxis zu einer Verbesserung der klinischen Versorgung führt.

### Screening auf sonstige Schwangerschaftskomplikationen

Momentan sind zahlreiche weitere Screeningalgorithmen zur Risikobewertung einer späteren Präeklampsie, einer Wachstumsretardierung oder einer Frühgeburt im Rahmen des des ETS verfügbar. Diese Erkrankungen haben teilweise eine deutlich höhere Prävalenz als die der Trisomie 21 [57, 58]. Bei den hierzu notwendigen Screeninguntersuchungen gewinnen andere Serumparameter wie PIGF, AFP und Adiponektin anstelle oder in Ergänzung des freien  $\beta$ -hCG und PAPP-A an Bedeutung [59]. Ob die Konzentration der cffDNA auch ein Hinweis auf ein adverses Schwangerschaft-Outcome sein könnte, wird kontrovers diskutiert [60, 61].

Obwohl die vorgestellten Methoden enorme Möglichkeiten bieten und aufgrund des weiteren technischen Fortschritts immer weiter ausgebaut werden,

sollte immer die Anwendung bei Schwangeren individuell hinterfragt werden. Begrüßenswert ist es auf jeden Fall, dass invasive Eingriffe mit entsprechendem Fehlgeburtsrisiko auf ein Minimum reduziert werden. Jedoch könnte es durch die Globalisierung der Medizin auch zu einer unreflektierten Verwendung dieser Methoden durch die Schwangere selbst kommen. Durch das Gendiagnostikgesetz in Deutschland mit der Beratungsverpflichtung ist eine gewisse Hürde für die unkontrollierte Verwendung von NIPT-Untersuchungen aufgebaut. Da sich aber die neuen Verfahren für eine Schwangere nur als eine Blutabnahme mit Versand der Probe in ein anderes Land mit anderen gesetzlichen und ethischen Voraussetzungen anbieten, ist es mehr als fraglich, ob solche privaten Aufträge von den entsprechenden ausländischen Anbietern zurückgewiesen werden.

De facto wird die aufgeklärte Patientin selbst entscheiden, ob sie die Analysemöglichkeiten, die ihr vor Ort angeboten werden, annehmen möchte, oder ob sie die Probe selbst zu einem Anbieter im Ausland sendet, der sich durch eine spezielle Analyse oder durch einen besonders niedrigen Preis auszeichnet.

Der betreuende Arzt hat die Verpflichtung, seine Patientin über die Möglichkeiten und Grenzen der verfügbaren Screeninguntersuchungen neutral aufzuklären, sodass sie für sich selbst entscheiden kann, welche Untersuchung sie in Anspruch nehmen möchte.

---

### Korrespondenzadresse

#### B. Eiben

amedes genetics  
amedes Institut Labormedizin und  
Klinische Genetik Rhein/Ruhr  
45127 Essen  
bernd.eiben@amedes-group.com

---

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** Potenzieller Interessenkonflikt: B. Eiben und R. Glaubitz sind Mitarbeiter der amedes Laborgruppe, die den Panoramatest in Deutschland vertreibt. K.O. Kagan gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

## Literatur

1. Tabor A, Alfirevic Z (2010) Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. *Fetal Diagn Ther* 27(1):1–7
2. Gendiagnostik-Kommission am Robert Koch-Institut 2013: Richtlinie der Gendiagnostik-Kommission (GEKO) für die Anforderungen an die Durchführung der vorgeburtlichen Risikoabklärung sowie an die insoweit erforderlichen Maßnahmen zur Qualitätssicherung gemäß § 23 Abs. 2 Nr. 5 GenDG in der Fassung vom 12.04.2013 veröffentlicht und in Kraft getreten am 22.04.2013
3. Kagan KO, Wright D, Etchegaray A, Zhou Y, Nicolaides KH (2009) Effect of deviation of nuchal translucency measurements on the performance of screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 33(6):657–664
4. Kagan KO, Cicero S, Staboulidou I, Wright D, Nicolaides KH (2009) Fetal nasal bone in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11–13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 33(3):259–264
5. Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaides KH (2009) Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 33(1):18–22
6. Maiz N, Wright D, Ferreira AFA, Syngelaki A, Nicolaides KH (2012) A mixture model of ductus venosus pulsatility index in screening for aneuploidies at 11–13 weeks' gestation. *Fetal Diagn Ther* 31(4):221–229
7. Wright D, Spencer K, Kagan K K, Tørring N, Petersen OB, Christou A et al (2010) First-trimester combined screening for trisomy 21 at 7–14 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 36(4):404–411
8. Merz E, Eiben B, Thode C (2014) Die neue Ersttrimestersoftware PRC 3.0 der FMF-Deutschland. *Frauenarzt* 55:2
9. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH (2008) Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod* 23(9):1968–1975
10. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K et al (2005) Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 25:221–226
11. Merz E, Thode C, Eiben B et al (2011) Individualized correction for maternal weight in calculating the risk of chromosomal abnormalities with first-trimester screening data. *Ultraschall Med* 32:33–39
12. Eiben B, Thode C, Merz E (2011) Das Ersttrimester-screening und die neue Risikoberechnungssoftware der Fetal Medicine Foundation Deutschland. *Medgen Springer-Verlag* 23:453–456
13. Holzgreve W, Garritsen HS, Ganshirt-Ahlert D (1992) Fetal cells in the maternal circulation. *J Reprod Med* 37:410–418
14. Bianchi DW, Simpson JL, Jackson LG et al (2002) Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. National Institute of Child Health and Development Fetal Cell Isolation Study. *Prenat Diagn* 22:609–615
15. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF et al (1997) Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 350:485–487
16. Lo YM, Chan KC, Sun H et al (2010) Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2:61ra91
17. Lo YM, Tein MS, Lau TK et al (1998) Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 62:768–775
18. Wegner RD, Stumm M (2011) Zytogenetische Methoden in der Pränataldiagnostik. *Medgen* 23:457–462
19. Mennuti TM, Cherry AM, Morrisette JJ, Lorraine D (2013) Is it time to sound an alarm about false-positive cell-free DNA testing for fetal aneuploidy? *Am J Obstet Gynecol* 209(5):415–419
20. Fan HC, GuW, Wang J et al (2012) Non-invasive prenatal measurement of the fetal genome. *Nature* 487:320–324
21. Metzker ML (2010) Sequencing technologies – the next generation. *Nat Rev Genet* 11:31–46
22. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC et al (2013) Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 41:26–32
23. Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM et al (2012) DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med* 14:296–305
24. Wang E, Batey A, Struble C et al (2013) Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn* 33:662–666
25. Stumm M, Entezami M, Trunk N et al (2012) Noninvasive prenatal detection of chromosomal aneuploidies using different next generation sequencing strategies and algorithms. *Prenat Diagn* 32:569–577
26. Sparks AB, Wang ET, Struble CA et al (2012) Selective analysis of cell-free DNA in maternal blood for evaluation of fetal trisomy. *Prenat Diagn* 32:3–9
27. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM et al (2011) DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* 13:913–920
28. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD et al (2012) Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 119:890–901
29. Chiu RW, Chan KC, Gao Y et al (2008) Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:20458–20463
30. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE (2013) The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 33:667–674
31. Zimmermann B, Hill M, Gemelos G et al (2012) Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn* 32:1233–1241
32. Dhallan R, Guo X, Emche S et al (2007) A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study. *Lancet* 369:474–481
33. Gesetz über genetische Untersuchungen bei Menschen (Gendiagnostikgesetz – GenDG). <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/gendg/gesamt.pdf>. Zugegriffen: 7. Dez. 2013
34. Gendiagnostik-Kommission am Robert Koch-Institut (2014) „Zur Einordnung der nicht-invasiven Pränataldiagnostik (NIPD)“ vom 12.3.2014
35. Grati FR, Barlocco A, Grimi B et al (2010) Chromosome abnormalities investigated by non-invasive prenatal testing account for approximately 50 % of fetal unbalances associated with relevant clinical phenotypes. *Am J Med Genet* 152A:1434–1442
36. Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, Birdir C, Touzet G (2012) Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 207(5):374.e1–e6
37. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, Madankumar R, Saffer C, Das AF et al (2014) DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 370(9):799–808
38. Kagan KO, Staboulidou I, Syngelaki A et al (2010) The 11–13-week scan: diagnosis and outcome of holoprosencephaly, exomphalos and megacystis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 36:10–14
39. Norton ME, Brar H, Weiss J et al (2012) Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 207:137.e1–8
40. Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M et al (2012) Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 206:322.e1–5
41. Ashoor G, Syngelaki A, Wang E et al (2013) Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 41:21–25
42. Huang X, Zheng J, Chen M et al (2014) Noninvasive prenatal testing of trisomies 21 and 18 by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in twin pregnancies. *Prenat Diagn* 34:335
43. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ et al (2013) Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn* 33:580–583
44. Mulvey S, Wallace EM (2000) Women's knowledge of and attitudes to first and second trimester screening for Down's syndrome. *BJOG* 107:1302–1305
45. Eiben B, Hall M, Ludwig M et al (2013) Ein neuer nichtinvasiver Pränataltest. *Frauenarzt* 54:768–770
46. Eiben B, Thode C, Merz E (2013) Nichtinvasive Pränataldiagnostik – Serumtestsysteme zur Erfassung von Chromosomenanomalien. *Gynakol Geburtsh* 18:34–37
47. Eiben B, Glaubitz R, Merz E (2012) Trisomie-21-Analyse aus mütterlichem Blut. *Frauenarzt* 53:834–835
48. Terçanlı S, Vial Y, Merz E (2013) Nicht invasiver Chromosomentest wirft neue Fragen in der Pränataldiagnostik nach der Bedeutung des Ultraschalls und Fragen nach neuen Screeningstrategien auf. *Ultraschall Med* 34:417–420
49. Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik (GfH) zur Analyse fetaler DNA aus dem mütterlichen Blut. [http://www.gfhev.de/de/leitlinien/LL\\_und\\_Stellungnahmen/2012\\_11\\_12\\_GfH\\_Stellungnahme\\_Analyse\\_fetale\\_DNA.pdf](http://www.gfhev.de/de/leitlinien/LL_und_Stellungnahmen/2012_11_12_GfH_Stellungnahme_Analyse_fetale_DNA.pdf). Zugegriffen: 7. Dez. 2013
50. Kagan KO, Hoopmann M, Hammer R, Stressig R, Kozłowski P (2014) Screening for chromosomal abnormalities by first trimester combined screening and non-invasive prenatal testing. *Ultraschall Med (In press)*



51. Kagan KO, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides KH (2008) 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* 31(6):618–624
52. Maiz N, Valencia C, Kagan KO et al (2009) Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11–13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 33:512–517
53. Kagan KO, Eiben B, Kozlowski P (2014) Combined first trimester screening and cell-free fetal DNA – “next generation screening”. *Ultraschall Med* 35(3):229–236
54. Kagan K, Hoopmann M, Kozlowski P (2012) Assessment of foetal DNA in maternal blood – a useful tool in the hands of prenatal specialists. *Geburtsh Frauenheilkd* 72(11):998–1003
55. Salomon LJ, Alfirevic Z, Bilardo CM et al (2013) ISUOG practice guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 41:102–113
56. Kitzman JO, Snyder MW, Ventura M et al (2012) Noninvasive whole-genome sequencing of a human fetus. *Sci Transl Med* 4:137ra76
57. Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH (2011) Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11–13 weeks. *Prenat Diagn* 31:66–74
58. Nanda S, Akolekar R, Sarquis R et al (2011) Maternal serum adiponectin at 11 to 13 weeks of gestation in the prediction of macrosomia. *Prenat Diagn* 31:479–483
59. Kagan KO, Hoopmann M, Abele H et al (2012) First-trimester combined screening for trisomy 21 with different combinations of placental growth factor, free  $\beta$ -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 40:530–535
60. Poon LC, Musci T, Song K et al (2013) Maternal plasma cell-free fetal and maternal DNA at 11–13 weeks’ gestation: relation to fetal and maternal characteristics and pregnancy outcomes. *Fetal Diagn Ther* 33:215–223
61. Papantoniou N, Bagiokos V, Agiannitopoulos K et al (2013) RASSF1A in maternal plasma as a molecular marker of preeclampsia. *Prenat Diagn* 33:682–687

Hier steht eine Anzeige.