

# Aanbevelingen voor vervolgonderzoek bij aanwijzingen voor Trisomie 21, 18 en 13 en nevenbevindingen bij NIPT



## In het kader van de TRIDENT studies

Dit werkdocument is tot stand gekomen met medewerking van laboratoriumspecialisten klinische genetica uit de verschillende UMC's, de Werkgroep Prenatale Genetica (WPG), de Werkgroep Prenatale Diagnostiek en Therapie (WPDT) en de kerngroep NIPT. Dit document is bedoeld als leidraad voor laboratoriumspecialisten klinische genetica, klinisch genetici en gynaecologen/perinatologen bij de uitvoering van de NIPT.

### Gebruikte afkortingen

CPM = confined placental mosaicism  
CTB = cytotrofoblast van chorion villi  
GUO = geavanceerd ultrageluid onderzoek  
LSKG = laboratoriumspecialist klinische genetica  
MC = mesenchymal core van chorion villi  
UPD = uniparentale disomie

## Algemeen

In geval van een afwijkende NIPT zal de zwangere vrouw verwezen worden naar een Centrum voor Prenatale Diagnostiek (PND) waar ook invasieve diagnostiek verricht wordt. De zwangere kan dan, na counseling, kiezen om geen vervolgonderzoek te laten doen of kiezen voor vervolgonderzoek middels een diagnostische test zoals een vlokentest of vruchtwaterpunctie. De keuze van de test wordt bepaald door verschillende factoren zoals de zwangerschapstermijn en persoonlijke wensen van de zwangere, maar is óók afhankelijk van de aard van de chromosoomafwijking.

Indien de zwangere tijdens de zwangerschap geen vervolgonderzoek wenst, kan na de geboorte bloed- en eventueel placentaonderzoek worden uitgevoerd om het karyotype van het kind te achterhalen.

Indien het paar de zwangerschap wenst te beëindigen in een PND-centrum, dan dient de afwijkende NIPT uitslag *altijd* eerst bevestigd te worden door middel van een invasieve test, omdat de NIPT uitslag niet altijd overeenkomt met het karyotype van de foetus.

Indien er sprake is van echoscopische afwijkingen, is er uiteraard sprake van een andere situatie en zullen de echoscopische bevindingen primair als uitgangspunt gelden voor het verdere traject.

## 1. Diagnostisch vervolgonderzoek bij aanwijzingen voor Trisomie 21, 18 en 13

Het diagnostisch vervolgonderzoek bestaat uit een vlokcentest of een vruchtwaterpunctie.

### Opmerkingen:

- 1a. Bij een vlokcentest dient altijd rekening gehouden te worden met een kleine kans dat er eveneens een vruchtwaterpunctie nodig is om tot een definitieve uitslag te komen. Die kans is 3-4% en is het grootst voor Trisomie 13 en het kleinst voor Trisomie 21 (zie Grati et al., 2015; Van Opstal & Srebniak, 2016).
- 1b. In geval van een Trisomie 13 of Trisomie 18 kan een GUO, voorafgaande aan de invasieve ingreep, de keuze tussen een vlokcentest, een vruchtwaterpunctie of geen vervolgonderzoek helpen bepalen. Indien er bij een GUO afwijkingen zijn, is de a priori kans op een afwijkende uitslag van invasieve diagnostiek vele malen groter. Bij een GUO zonder afwijkingen is de kans op een Trisomie 13 heel erg klein.

## 2. Diagnostisch vervolgonderzoek bij aanwijzingen voor andere chromosoomafwijkingen

### 2a. NIPT met aanwijzing voor een Trisomie anders dan Trisomie 21, 18 en 13

Vruchtwaterpunctie of vlokcentest?

- Voorkeur voor vruchtwaterpunctie omdat de a priori kans op CPM is verhoogd. Hierdoor is er, indien gekozen wordt voor een vlokcentest, een verhoogde kans dat de zwangere twee ingrepen (een vlokcentest én een vruchtwaterpunctie) zal moeten ondergaan, alvorens duidelijkheid te krijgen over de betekenis van de nevenbevinding.
- Een uitzondering is Trisomie 8 waarvoor i.p.v. een vruchtwaterpunctie beter een vlokcentest wordt aangeboden: in verband met weefsel-specificiteit van deze chromosoomafwijking kan deze afwijking in vruchtwater worden gemist (zie o.a. Hanna et al., 1995; van Haelst et al., 2001). Bovendien is trisomie 8 meestal betrokken in CPM type 1 (Trisomie 8 beperkt tot CTB met een normale MC, en dus normale foetus), waardoor een vlokcentest in geval van CPM meestal een betrouwbare (normale) uitslag zal leveren. Recente studies hebben gesuggereerd dat FISH/array op ongekweekt vruchtwater in tegenstelling tot karyotypering van gekweekte vruchtwatercellen wel geschikt is voor het opsporen van Trisomie 8 mosaïcisme, maar bewijs hiervoor is nog beperkt (Chen et al., 2011, 2012; Sherer et al., 2017).
- Een vlokcentest kan ook worden aangeboden bij aanwijzingen voor Trisomie 3, 7, 9 of 20. Indien MC afwijkend of mozaïek, dan alsnog een vruchtwaterpunctie adviseren voor een definitief resultaat. Indien MC normaal is, kan een normale uitslag worden gerapporteerd.
- Er is een contra-indicatie voor een vlokcentest bij aanwijzingen Trisomie 15, 16 en 22.

(Zie voor onderbouwing van het beleid bij de verschillende chromosoomafwijkingen: Van Opstal & Srebniak, 2016).

Overig onderzoek:

- In geval van Trisomie 6, 7, 11, 14, 15 en eventueel Trisomie 20 (volgens lokaal beleid) zal naast het cytogenetisch onderzoek in vlokken of vruchtwater ook UPD worden uitgesloten (Eggermann et al., 2015).
- Om uit te sluiten dat de chromosoomafwijking in laag mozaïek bij de moeder aanwezig is en de oorzaak is van de afwijkende NIPT, zal in alle gevallen naast de vlok/vruchtwater eveneens bloed van de moeder worden onderzocht (middels karyotypering, FISH of array).

## 2b. NIPT met aanwijzing voor een structurele chromosoomafwijking

Bij verdenking **foetale** structurele chromosoomafwijking:

- Vervolgonderzoek: vlokentest of vruchtwaterpunctie. De a priori kans op CPM is verhoogd, waardoor er, indien er gekozen wordt voor een vlokentest, wel een kans bestaat dat de zwangere twee ingrepen (een vlokentest én een vruchtwaterpunctie) zal moeten ondergaan, alvorens duidelijkheid te krijgen over de betekenis van de nevenbevinding.
- Test samen met vlok/vruchtwater het bloed van de moeder om uit te sluiten dat zij draagster is van een (laag) mozaïek.

Opmerkingen:

- a. **del(10)(q25)**: wordt veroorzaakt door een klinisch onschuldige maternale Fra10B (Huijsdens-Van Amsterdam et al., 2018). Deze deletie wordt daarom niet gerapporteerd (besluit NIPT Consortium 4 juli 2017).
- b. In geval val een isochromosoom (e.g. i(18)(p10)) GEEN vlokentest maar een vruchtwaterpunctie adviseren.

Bij verdenking **maternale** pathogene structurele chromosoomafwijking:

- Afwijking bevestigen met array op EDTA bloed van moeder. Indien bevestigd, dan vervolgonderzoek in vlokken of vruchtwater aanbieden.

## 2c. NIPT laat complex patroon van meerdere (sub)chromosomale afwijkingen zien verdacht voor een maternale verworven afwijking

Zie lokaal protocol.

### 3. De uitvoering van het cytogenetisch vervolgonderzoek in vlokken en vruchtwater

#### 3a. Vlokkentest

Apart onderzoek van CTB en MC: CTB voor bevestiging van de NIPT en MC voor onderzoek van het foetale karyotype.

**NIPT met aanwijzing voor Trisomie 21, 18 en 13:** onderzoek van minimaal MC met karyotypering/array/ QF-PCR/FISH (volgens lokaal protocol)

- Indien MC 100% Trisomie 21, 18 of 13:
  - T21 en T13 → karyotypering voor onderscheid erfelijke en niet-erfelijke vorm.
  - T18 → eventueel karyotypering voor uitsluiting van een structurele chromosoomafwijking.
- Bij verdenking mosaïcisme in MC: vruchtwaterpunctie adviseren ter uitsluiting CPM.
- Indien MC normaal (geen T21, T18, T13): eventueel nog volledig chromosoomonderzoek van MC (middels array/karyotypering) ter uitsluiting van een andere chromosoomafwijking. Dit is mede afhankelijk van de echo-bevindingen.

**NIPT met aanwijzing voor overige chromosoomafwijkingen:** onderzoek van minimaal MC met array/FISH (op (on)gekweekte MC) en/of karyotypering (van gekweekte MC)(volgens lokaal protocol)

- Indien MC normaal: geen vervolgonderzoek in vruchtwater geïndiceerd. Eventueel nog volledig chromosoomonderzoek van MC (middels array/karyotypering) ter uitsluiting van een andere chromosoomafwijking.
- In geval van Trisomie:
  - Indien 100% of mozaïek trisomie in MC: verder onderzoek in vruchtwater geïndiceerd.
- In geval van structurele chromosoomafwijking:
  - Indien 100% structurele chromosoomafwijking in MC: geen vervolgonderzoek in vruchtwater geïndiceerd. Afhankelijk van de aard van de chromosoomafwijking eventueel nog karyotypering/FISH van de gekweekte cellen (bv. indien resultaat suggestief is voor een ongebalanceerde translocatie, dan karyotypering voor bevestiging)
  - Indien mozaïek structurele chromosoomafwijking in MC: verder onderzoek in vruchtwater geïndiceerd.

### 3b. Vruchtwaterpunctie

**NIPT met aanwijzing voor Trisomie 21, 18 en 13:** onderzoek met\_QF-PCR/ FISH/array op ongekweekt vruchtwater (volgens lokaal protocol)

- Indien ongekweekt vruchtwater T21, T18 of T13:
  - T21 en T13 → karyotypering voor onderscheid erfelijke en niet-erfelijke vorm.
  - T18 → eventueel karyotypering voor uitsluiting structurele afwijking (volgens lokaal beleid).
- Indien ongekweekt vruchtwater normaal: eventueel nog chromosoomonderzoek (middels array/karyotypering/FISH) van de gekweekte cellen volgens lokaal gebruik (bv. ter uitsluiting van een mozaïek in gekweekte cellen en/of ter uitsluiting van een andere chromosoomafwijking).

**NIPT met aanwijzing voor overige chromosoomafwijkingen:** onderzoek met FISH/array op ongekweekt vruchtwater (volgens lokaal protocol)

- Indien ongekweekt vruchtwater afwijkend: afhankelijk van de aard van de chromosoomafwijking eventueel nog array/karyotypering/FISH van de gekweekte cellen (bv. indien ongekweekt vruchtwater suggestief voor een ongebalanceerde translocatie, dan karyotypering voor bevestiging).
- Indien ongekweekt vruchtwater normaal: eventueel nog aanvullen met chromosoomonderzoek middels array/karyotypering/FISH van de gekweekte cellen volgens lokaal gebruik (bv. ter uitsluiting van een mozaïek in gekweekte cellen en/of ter uitsluiting van een andere chromosoomafwijking).

## **4. Echografisch vervolgonderzoek**

### **4a. GUO-2 bij 19-20 weken zwangerschapsduur**

- Indien wordt afgezien van diagnostisch vervolgonderzoek.
- Bij afwijkend vervolgonderzoek in de foetus met onvoldoende duidelijkheid over de prognose (bv. foetaal mozaïek).
- Bij afwijkend vervolgonderzoek in de foetus indien de zwangerschap gecontinueerd wordt.

**GUO eventueel bij eerdere zwangerschapsduur** indien van belang voor keuze vlokcentest of vruchtwaterpunctie.

### **4b. GUO-1 bij 19-20 weken zwangerschapsduur**

- Wanneer sprake is van (verdenking op) CPM.

### **4c. Groei-echo's**

- Bij alle bevestigde afwijkingen, inclusief bij (verdenking op) CPM, elke 4 weken vanaf een zwangerschapsduur van 26 weken.

## **5. Aanbeveling t.a.v. placenta- en navelstrengbloed-onderzoek**

### **5a. placenta en navelstrengbloed onderzoeken**

- Bij discordante T21, T18 en T13
- Bij afwijkingen verdacht voor een maternale maligniteit waarvoor bij moeder geen aanwijzingen zijn gevonden.
- Indien een afwijkend kind na normaal prenataal cytogenetisch vervolgonderzoek wordt geboren
- Indien er geen prenataal cytogenetisch onderzoek plaats vond.

### **5b. Hoe te onderzoeken?**

- Minimaal 4 placentabiopten uit 4 kwadranten (biopten van 1-2 cm<sup>3</sup>, van maternale zijde, in aparte buis/potje in kweekmedium of fysiologisch zout. GEEN formaline).
- Bij voorkeur onderzoek van ongekweekt materiaal (cellen met FISH of DNA met array, of DNA opwerken als NIPT (Shearen, verdunnen, lib-prep, seq, WISECONDOR analyse).

## Referenties

Chen C-P, Chen M, Pan Y-J, Su Y-N, Chern S-R, Tsai F-J, et al. Prenatal diagnosis of mosaic trisomy 8: clinical report and literature review. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2011;50:331-8.

Chen CP, Su YN, Chern SR, Chen YT, Su JW, Pan CW, Wang W. Prenatal diagnosis of trisomy 8 mosaicism. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2012;51:666-8.

Eggermann, Soellner L, Buiting K, Kotzot D. Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis. *Trends in Molecular Medicine.* 2015;21:77-87.

Gezondheidsraad. Nevenbevindingen bij diagnostiek in de patiëntenzorg. Den Haag: Gezondheidsraad, 2014; publicatienr. 2014/13.

Grati FR, Bajaj K, Malvestiti F, Agrati C, Grimi B, Malvestiti B, Pompili E, Maggi F, Gross S, Simoni G, Ferreira JC. The type of fetoplacental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. *Prenat Diagn.* 2015;35:994-8.

Hanna JS, Neu RL, Barton JR. Difficulties in prenatal detection of mosaic trisomy 8. *Prenat Diagn* 1995;15:1196-7.

Huijsdens-van Amsterdam K, Straver R, van Maarle MC, Knegt AC, Van Opstal D, Sleutels F, Smeets D, Sistermans EA. Mosaic maternal 10qter deletions are associated with FRA10B expansions and may cause false positive NIPT results. *Genet Med.* 2018 Mar 1. doi: 10.1038/gim.2018.32

Sherer DM, M. Dalloul, V. Pinard, J. Sheu and O. Abulafia. Fetal trisomy 8 mosaicism associated with truncus arteriosus Type I. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017; 50: 539–542.

van Haelst MM, Van Opstal D, Lindhout D, Los FJ. Management of prenatally detected trisomy 8 mosaicism. *Prenat Diagn* 2001;21: 1075-8.

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 Rev Mol Diagn.* 2016;16:513-20.