

Dit werkdocument is een update van het oorspronkelijke protocol *Vervolgonderzoek bij afwijkende NIPT 06-06-2018* ([Protocollen | NVOG](#)). Dit protocol beschrijft het cytogenetisch en klinisch vervolgonderzoek dat geïndiceerd is tijdens de zwangerschap indien de NIPT afwijkend is. Het oorspronkelijke protocol kwam tot stand t.t.v. de Trident 2 studie 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 van het NIPT consortium en was bedoeld als leidraad voor laboratoriumspecialisten klinische genetica, klinisch genetici en gynaecologen/perinatologen bij de uitvoering van de NIPT.

Bij de voorbereidingen voor de uitvoering van NIPT in het kader van de reguliere prenatale screening per 1 april 2023 is een werkgroep "nevenbevindingen" opgericht, die dit protocol "vervolgonderzoek" heeft gereviseerd. De deelnemers van deze werkgroep zijn een ethicus, vertegenwoordigers van VKGN, VKGL, NVOG, NIPT screeningslaboratoria, VSOP, centra voor prenatale diagnostiek, KNOV, platform regionale centra en het Referentiecentrum NIPT (RIVM-GZB).

Algemeen

In geval van een afwijkende NIPT zal de zwangere verwezen worden naar een Centrum voor Prenatale Diagnostiek (PND) waar ook invasieve diagnostiek verricht wordt. De zwangere zal tijdens het counselingsgesprek geïnformeerd worden over de mogelijkheden voor het 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. Uiteraard kan de zwangere er na counseling voor kiezen geen diagnostisch vervolgonderzoek te laten doen tijdens de zwangerschap.

Indien het paar de zwangerschap wenst te beëindigen, dan dient de afwijkende NIPT uitslag eerst bevestigd te worden door middel van een invasieve test, omdat de NIPT uitslag niet altijd overeenkomt met het genotype van de foetus. Als er echoscopische afwijkingen gezien worden op basis waarvan ouders besluiten de zwangerschap te beëindigen, is postnataal bevestigingsonderzoek geïndiceerd.

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

Het diagnostisch vervolgonderzoek bestaat uit een vlokentest of een vruchtwaterpunctie.

- Bij een vlokentest 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 (nl. 8,3-22%) en het kleinst voor trisomie 21 (~2%) (zie Grati *et al.*, 2015; Van Opstal & Srebniak, 2016).
- In geval van een trisomie 13 of trisomie 18 kan een geavanceerd ultrageluidsonderzoek (GUO), voorafgaande aan de invasieve ingreep, de keuze tussen een vlokentest, een vruchtwaterpunctie of geen vervolgonderzoek helpen bepalen. Een normale GUO sluit de aanwezigheid van een foetale trisomie 13 of 18 echter niet uit. Het maakt het wel minder waarschijnlijk (Scott *et al.*, 2023).

2. Diagnostisch vervolgonderzoek bij aanwijzingen voor andere chromosoomafwijkingen

2a. NIPT nevenbevinding met aanwijzing voor een trisomie anders dan trisomie 21, 18 en 13 (rare autosomal trisomy, RAT)

- Indien de zwangere kiest voor vervolgonderzoek, gaat de voorkeur uit naar een vruchtwaterpunctie omdat de kans op confined placental mosaicism (CPM) aanzienlijk is. Hierdoor is er, indien gekozen wordt voor een vlokkentest, een verhoogde kans dat de zwangere twee ingrepen (een vlokkentest én een vruchtwaterpunctie) zal moeten ondergaan, alvorens duidelijkheid te krijgen over de betekenis van de nevenbevinding.
- Echter, in geval van een aanwijzing voor een trisomie 3, 7, 8, 9 of 20 kan ook een vlokkentest worden aangeboden. Deze RATs zijn namelijk meestal betrokken bij CPM type 1 (afwijking beperkt tot de cytotrofoblast met een normale mesenchymale kern van de chorion villi en dus normale foetus), waardoor een vlokkentest met analyse van de mesenchymale kern meestal een betrouwbare normale uitslag voor de foetus zal opleveren. Indien de mesenchymale kern van de chorion villi afwijkend of mozaïek is, dan dient alsnog een vruchtwaterpunctie geadviseerd te worden voor een definitief resultaat (Van Opstal & Srebniak, 2016) (zie tabel onder 3a).
- In verband met weefselspecificiteit van trisomie 8 kan deze afwijking in gekweekt vruchtwater worden gemist (zie o.a. Hanna *et al.*, 1995; van Haelst *et al.*, 2001, Thomsen *et al.*, 2021). Omdat trisomie 8 meestal betrokken is bij CPM type 1, kan een vlokkentest worden aangeboden. Daarnaast zijn er enkele studies (Chen *et al.*, 2011, 2012; Sherer *et al.*, 2017) die laten zien dat onderzoek op DNA uit ongekweekt vruchtwater mogelijk wel geschikt is voor het opsporen van foetaal trisomie 8 mozaïcisme. Daarom dient bij de keuze voor een vruchtwaterpunctie het diagnostisch vervolgonderzoek te worden uitgevoerd op DNA uit ongekweekte cellen.
- Een trisomie 8 kan tevens een moederlijke oorsprong hebben, zowel constitutioneel als verworven bij myeloïde maligniteiten. Zie voor vervolgonderzoek bij een trisomie 8 eveneens de *Leidraad vervolgdagnostiek bij NIPT (niet invasieve prenatale test) verdacht voor maternale maligniteit, 18-01-2023* ([Leidraden | NVOG](#)).

Overig onderzoek:

- In geval van trisomie 6, 7, 11, 14, 15 en 20 dient naast het cytogenetisch onderzoek in vlokken of vruchtwater ook uniparentele disomie (UPD) te worden uitgesloten, omdat UPD voor deze chromosomen geassocieerd is met verschillende imprinting disorders (Eggermann *et al.*, 2015; Kearny *et al.*, 2011; Benn, 2021).
- Om uit te sluiten dat de RAT in mozaïek bij de moeder aanwezig is en de oorzaak is van de afwijkende NIPT, kan naast de vlok/vruchtwater eveneens bloed van de moeder worden onderzocht.

2b. NIPT nevenbevinding met aanwijzing voor een structurele chromosoomafwijking (SA)

- Indien de zwangere na counseling kiest voor vervolgonderzoek dan gaat de voorkeur uit naar een vruchtwaterpunctie. Ook bij een SA is er een kans op CPM, waardoor er, indien er gekozen wordt voor een vlokkentest, een kans bestaat dat de zwangere twee ingrepen (een

vlokkentest én een vruchtwaterpunctie) moet ondergaan, alvorens duidelijkheid te krijgen over de betekenis van de nevenbevinding.

- Onderzoek in het bloed van de zwangere is geïndiceerd om uit te sluiten dat de zwangere zelf draagster is van een (mozaïek) SA (dit kan parallel of voorafgaand aan het prenatale onderzoek).
- Indien de afwijking aanwezig is in de foetus wordt geadviseerd beide ouders te onderzoeken om na te gaan of één van hen drager is van een (on)gebalanceerde chromosomale rearrangement.
- Sommige SA zijn verdacht voor een maternale maligniteit (bv. del5q, del20q). Zie voor het vervolgonderzoek in die gevallen de *Leidraad vervolgdagnostiek bij NIPT (niet invasieve prenatale test) verdacht voor maternale maligniteit, 18-01-2023* ([Leidraden | NVOG](#)).

2c. NIPT nevenbevinding met aanwijzingen voor een complex patroon van meerdere chromosomale afwijkingen verdacht voor een maternale verworven afwijking

Zie de *Leidraad Vervolgdagnostiek bij NIPT (niet invasieve prenatale test) verdacht voor maternale maligniteit, 18-01-2023* ([Leidraden | NVOG](#)), welke advies geeft ten aanzien van het beleid bij afwijkende NIPT profielen die mogelijk passen bij een maternale maligniteit. Dit betreft profielen met multi-pele (≥ 2) afwijkingen, maar ook met single copy number variation (CNV) (del5q, del20q en trisomie 8).

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

3a. Vlokkentest

Cytogenetisch onderzoek dient minimaal uitgevoerd te worden op de ongekweekte mesenchymale kern (MK) van de chorion villi (volgens lokaal protocol). Afhankelijk van het resultaat is eventueel nog vervolgonderzoek in vruchtwater (zie tabel hieronder) nodig.

	MK Normaal	MK afwijkend	MK mozaïek
NIPT T21, T18, T13	Geen amniocentese	Geen amniocentese (wel karyotypering bij T13 en T21, en ev T18)	Amniocentese
NIPT RAT	Geen amniocentese	Amniocentese	Amniocentese
NIPT SA	Geen amniocentese	Geen amniocentese (ev. wel karyotypering)	Amniocentese

3b. Vruchtwaterpunctie: Cytogenetisch onderzoek dient minimaal uitgevoerd te worden op de ongekweekte vruchtwatercellen conform lokale protocollen. Eventueel onderzoek van de gekweekte cellen:

- Voor onderscheid translocatie of losse T21 en T13, en eventueel T18, middels karyotypering
- voor nadere karakterisering van een SA

4. Echografisch vervolgonderzoek

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

- Indien wordt afgezien van diagnostisch invasief vervolgonderzoek.
- Bij afwijkend cytogenetisch vervolgonderzoek in de foetus met onvoldoende duidelijkheid over de prognose (bv. foetaal mozaïek).
- Bij afwijkend vervolgonderzoek in de foetus indien de zwangerschap gecontinueerd wordt.
- Wanneer sprake is van (een verdenking op) confined placental mosaicism vanwege de verhoogde kans op congenitale afwijkingen (11,6%, waarvan 4,2 % ernstig en 7,4 % milder, zie van Prooyen Schuurman et al., 2022).

GUO kan eventueel bij een eerdere zwangerschapsduur gedaan worden indien:

- dit van belang is voor de keuze tussen vlokentest of vruchtwaterpunctie
- geen ETSEO is verricht
- de afwijkende NIPT uitslag bekend wordt voor de uitvoering van het ETSEO

4b. Advies Ascal en groei-echo's bij (verdenking op) confined placental mosaicism

Indien er sprake blijkt te zijn van een bewezen dan wel verdenking op een CPM dan is de kans ca. 53% op zwangerschapscomplicaties, waaronder groeirestrictie (geboortegewicht <p10) (27%) en pre-eclampsie of HELLP (11%) (zie van Prooyen Schuurman et al., 2022). In die situatie worden extra zwangerschapscontroles, groeiecho's en counseling over Ascal en calcium geadviseerd. In samenspraak met de zwangere wordt een aangepast zorgpad ingezet.

Referenties

Benn P (2021). Uniparental disomy: Origin, frequency, and clinical significance, *Prenat Diagn*, 41(5):564-572

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

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

Eggermann, Soellner L, Buiting K, Kotzot D (2015). Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis. *Trends in Molecular Medicine*, 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, Pompilii E, Maggi F, Gross S, Simoni G, Ferreira JC (2015). The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. *Prenat Diagn*, 35(10):994-8

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

Hutton M, Kearney, Joseph B, Kearney, Laura K, Conlin (2011). Diagnostic implications of excessive homozygosity detected by SNP-based microarrays: consanguinity, uniparental disomy, and recessive single-gene mutations. *Clin Lab Med*, 31(4): 595-613.

Leidraad vervolgdagnostiek bij NIPT (niet invasieve prenatale test) verdacht voor maternale maligniteit, 18-01-2023 ([Leidraden | NVOG](#)).

Protocol nevenbevindingen NIPT op <https://www.pns.nl/documenten/protocol-nevenbevindingen>

F. Scott, M.-E. Smet, J. Elhindi, R. Mogra, L. Sunderland, A. Ferreira, M. Menezes, S. Meagher, A. McLennan (2023). Late first-trimester ultrasound findings can alter management after high-risk NIPT result. doi: 10.1002/uog.26272

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

Simon Horsholt Thomsen, Ida Charlotte Bay Lund, Christina Fagerberg Iben Bache, Naja Becher, Ida Vogel (2021). Trisomy 8 mosaicism in the placenta: A Danish cohort study of 37 cases and a literature review. *Prenat Diagn*, 41(4):409-421.

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

Van Opstal D, Srebniak MI (2016). Cytogenetic confirmation of a positive NIPT result: evidence-based choice between chorionic villus sampling and amniocentesis depending on chromosome aberration. *Expert Rev Mol Diagn*, 16:513-20

Van Prooyen Schuurman, Siermans EA, Van Opstal D, Henneman L, Bekker MN, Bax CJ, Pieters MJ, Bouman K, de Munnik S, den Hollander NS, Diderich KEM, Faas BHW, Feenstra I, Go ATJI, Hoffer MJV, Joosten M, Komdeur FL, Lichtenbelt KD, Lombardi MP, Polak MG, Jehee FS, Schuring-Blom H, Stevens SJC, Srebniak MI, Suijkerbuijk RF, Tan-Sindhunata GM, van der Meij KRM, van Maarle MC, Vernimmen V, van Zelderen-Bhola SL, van Ravesteyn NT, Knapen MFCM, Macville MVE, Galjaard RH; Dutch NIPT consortium (2022). Clinical impact of additional findings detected by genome-wide non-invasive prenatal testing: Follow-up results of the TRIDENT-2 study. *Am J Hum Genet*, 7;109(7):1344