

publiziert bei:

AWMF-Register Nr.	078/014	Klasse:	S1
-------------------	---------	---------	----

Deutsche Gesellschaft für Humangenetik e.V. (GfH)

Berufsverband Deutscher Humangenetiker (BVDH)

S1-Leitlinie

Leitlinien zum „pränatalen Schnelltest“

Ziel des „pränatalen Schnelltests“ an unkultivierten Fruchtwasserzellen

Grundsätzlich ist im Rahmen pränataler Untersuchungen ein möglichst frühzeitig vorliegendes Ergebnis von wesentlicher Bedeutung. Ein so genannter „pränataler Schnelltest“ kann zu diesem Zweck an unkultivierten Fruchtwasserzellen während einer Schwangerschaft durchgeführt werden. Dieser Test dient dem Nachweis bzw. Ausschluss der häufigsten autosomalen Trisomien und möglicher numerischer gonosomaler Aberrationen. Ein hierbei erzielter unauffälliger Befund kann wesentlich zur Beruhigung der Schwangeren beitragen, auffällige Befunde können dagegen zu erheblicher Beunruhigung führen. In beiden Fällen kann der Befund eine Grundlage für eine frühzeitige fachliche Genetische Beratung bieten um über das weitere diagnostische Vorgehen aufzuklären und mit den Eltern die bestehenden Optionen für eine Entscheidungsfindung bis zum Vorliegen des abschließenden Befundes zu besprechen.

Es stehen derzeit verschiedene Techniken zur Verfügung. Zu nennen sind hier insbesondere die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) sowie die Polymerasekettenreaktion (PCR). Die Multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA)-basierenden Verfahren haben sich nicht durchgesetzt und werden, anders als in den vorangegangenen Versionen der Leitlinie, hier nicht besonders behandelt. In einigen Laboren wird der „präinatale Schnelltest“ auch für Chorionzellen angeboten – hierfür gelten prinzipiell ebenfalls die hier aufgeführten Leitlinien, allerdings unter Berücksichtigung der Besonderheiten des Untersuchungsgutes Chorion (Stichwort: erhöhte Gefahr der mütterlichen Kontamination – siehe auch S2K-Leitlinie „Humangenetische Diagnostik und genetische Beratung“ AWMF-Register Nr. 078/015). Bezüglich der gesetzlichen Grundlagen vorgeburtlicher Untersuchungen, insbesondere auch im Hinblick auf die Anforderungen an die Aufklärung und das Einverständnis zur vorgeburtlichen Diagnostik, das genetische Beratungsangebot vor Untersuchung und bei Befundmitteilung sowie die Regelungen zur Geschlechtsmitteilung vor der 12. SSW p.c. bzw. 14. SSW p.m. (zulässig nur bei medizinischer Relevanz, insbesondere geschlechtsgebundenen Erkrankungen), sei hier auf das Gendiagnostikgesetz (z.B. GenDG §15) und die Richtlinie „Vorgeburtliche Untersuchung“ der Gendiagnostikkommission (GEKO) sowie das Gesetz zur Vermeidung und Bewältigung von Schwangerschaftskonflikten (Schwangerschaftskonfliktgesetz – SchKG) verwiesen.

Indikationen zur Durchführung

Ein „pränataler Schnelltest“ ist nur möglich im Rahmen einer invasiven Diagnostik. Er ist u. a. dann einzusetzen, wenn es aus medizinischen Gründen oder aus Gründen der weiteren Diagnostik und Behandlung geboten ist, eine Diagnose zum Nachweis der häufigsten autosomalen Trisomien und möglichen numerischen gonosomalen Aberrationen früher als mit den bänderungszytogenetischen Methoden zu erhalten. Insbesondere bei einem auffälligen Befund der Geschlechtschromosomen oder der Chromosomen 13 und 18 hat das Ergebnis des Schnelltestes erhebliche Relevanz für die weitere Behandlung.

Notwendige klinische Angaben

Für die Beurteilung des Befundes sollten vom Einsender folgende Informationen angegeben werden: Entstehung der Schwangerschaft (evtl. Kinderwunschbehandlung), Schwangerschaftswoche, Zahl der Föten (evtl. ursprüngliche Geminigravidität/vanishing twin), Geschlecht laut Ultraschall, Vorbefunde z.B. aus Nicht-invasiver Pränataldiagnostik (Ersttrimesterscreening, NIPD) sowie Ultraschallbefunde, evtl. Repunktion.

Für den „pränatalen Schnelltest“ gilt allgemein:

Das Labor, das einen „pränatalen Schnelltest“ erbringt, sollte das Angebot einer humangenetischen Beratung sicherstellen und auch eine konventionelle („bänderungs-“) zytogenetische Karyotypisierung durchführen können. Ein Labor sollte vor dem Angebot eines „pränatalen Schnelltestes“ Erfahrung an mindestens 50 Kontrollfällen gesammelt haben und mit der Entwicklung der verschiedenen Gewebe (Chorion, Eihäute, Föt) und der Entstehung und Bedeutung von Mosaiken vertraut sein. Hierunter sollten sich auch auffällige Fälle befinden. Das Labor soll regelmäßig an externen Qualitätskontrollen teilnehmen. Der „pränatale Schnelltest“ ist nur in Verbindung mit einer konventionellen Karyotypisierung durchzuführen. Darüber hinaus sind folgende Punkte zu beachten:

- Ein „pränataler Schnelltest“ führt bei Nutzung geeigneter Sonden bzw. Zielbereiche im menschlichen Genom mit großer Wahrscheinlichkeit zum Nachweis oder Ausschluss einer Trisomie 13, 18, 21, einer Triploidie und möglicher numerischer gonosomaler Aberrationen.
- Über einen „pränatalen Schnelltest“ im 2. Trimenon können die Mehrzahl aller Fälle mit einer Chromosomenanomalie erkannt werden. Bei alleiniger Anwendung eines „pränatalen Schnelltests“ werden nicht alle diagnostischen Möglichkeiten ausgeschöpft, die sich nach dem invasiven Eingriff der Amniozentese routinemäßig über die Karyotypisierung ergeben. Ein „pränataler Schnelltest“ kann somit eine Karyotypisierung nicht ersetzen. Er ist ein Ergänzungsverfahren, dessen Bedeutung ausschließlich im rasch vorliegenden Ergebnis liegt.
- Mit einem „pränatalen Schnelltest“ können in aller Regel keine chromosomalen Strukturano-malien erfasst werden. Bei Mosaiken ist die diagnostische Aussagekraft des Tests eingeschränkt. Zellmosaiken der analysierten Chromosomen können in der Regel nur im FISH-basierenden Test erfasst werden. Im Befund ist darauf hinzuweisen, dass eine Aussage nur über numerische Veränderungen der untersuchten Chromosomen zu treffen ist, dass strukturelle Veränderungen und ggf. Mosaiken nur mit einer konventionellen Chromosomenanalyse erfasst werden können.
- Die Erfassungsrate an chromosomalen Aberrationen durch einen „pränatalen Schnelltest“ kann in den verschiedenen „Indikationsgruppen“ unterschiedlich sein.
- Ein „pränataler Schnelltest“ kann in einem geringen Teil der Fälle zu keinem verwertbaren Ergebnis führen (z.B. mütterliche Kontamination, Hintergrundrauschen bei der Auswertung oder Polymorphismen der Zielregionen der Sonden). Hier ist sicherzustellen, dass eine nicht erfolgreich durchführbare Analyse beim Auftraggeber nicht als auffälliges Ergebnis fehlinterpretiert wird. Grundsätzlich sollten nur makroskopisch unauffällige Fruchtwasserproben für einen Schnelltest verwendet werden. Bei blutiger Kontamination besteht ein hohes Risiko einer Fehldiagnose durch maternale Zellkontamination welche, insbesondere bei weiblichen Testergebnissen, nicht (FISH- / MLPA-basiert) oder nicht sicher (PCR-basiert) erkannt werden können. Dies gilt entsprechend auch bei der Verwendung von Chorionzellen. Hierauf soll im Befundbrief eingegangen werden.
- Das Vorgehen, das sich aus einem pathologischen Befund bei einem „pränatalen Schnelltest“ ergibt, ist sehr weitgehend vom Einzelfall abhängig. In aller Regel ist eine Bestätigung des Ergebnisses über die Karyotypisierung erforderlich.

Speziell für den FISH-basierenden „pränatalen Schnelltest“ gilt:

Der FISH-basierende „pränatale Schnelltest“ an unkultivierten Fruchtwasserzellen ist ein molekularzytogenetisches Untersuchungsverfahren, das der raschen Diagnostik der häufigsten numerischen Chromosomenaberrationen dient. Er kann innerhalb von 5-24 Stunden zu einem Ergebnis führen.

- Pro Sonde sollten mindestens 30 Interphasekerne ausgewertet werden. Wenn dies nicht eingehalten werden kann, muss im Befundbrief darauf eingegangen werden.
- Durch qualitätssichernde Maßnahmen müssen die Grenzwerte für unauffällige und auffällige Ergebnisse laborintern regelmäßig ermittelt bzw. kontrolliert werden. Zwingend wird dies insbesondere bei einem Wechsel der verwendeten FISH-Sonden. Zur Orientierung dienen hierbei folgende Werte, welche ggf. sondenabhängig abweichen können:
 - a) $\geq 90\%$ der Interphasekerne mit unauffälligem Signalmuster – unauffälliges Ergebnis
 - b) $> 60\%$ der Interphasekerne mit auffälligem Signalmuster – auffälliges Ergebnis
 - c) 10-60% der Interphasekerne mit auffälligem Signalmuster – kontrollbedürftiges Ergebnis, eventuell vorliegendes Mosaik

Kontrollbedürftige Ergebnisse können einerseits Anlass für die Erweiterung der Auswertung auf mindestens 100 Interphasekerne für die fragliche Sonde, und/oder für eine erweiterte zytogenetische Analyse sein (z.B. zur Mosaikerkennung) bzw. bei unzureichender Qualität der Hybridisierung für eine Wiederholungsuntersuchung.

- Es ist zu beachten, dass falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse auftreten können. Dies ist möglich durch das Vorliegen von Zentromerheteromorphismen, Signalsplitting, zusätzlichen kleinen Markerchromosomen oder Derivatchromosomen. Hierauf ist ggf. in geeigneter Form im Befund hinzuweisen.

Speziell für den PCR-basierenden „pränatalen Schnelltest“ gilt:

Der PCR-basierende „pränatale Schnelltest“ an unkultivierten Fruchtwasserzellen ist ein molekulargenetisches Untersuchungsverfahren, das der schnellen Diagnostik der häufigsten numerischen Chromosomenstörungen dient. Das Ergebnis liegt in der Regel innerhalb von 4-24 Stunden nach Eingang der Probe im Labor vor. Der Test basiert auf dem qualitativen Nachweis polymorpher Allele von STR-Systemen sowie deren semiquantitativer Dosisabschätzung. In der Regel werden die Chromosomen 13, 18, und 21 sowie die beiden Geschlechtschromosomen untersucht.

- Ein unauffälliger Befund in einem einzelnen STR-Marker kann entweder als eine Homozygotie oder eine Heterozygotie mit 1:1 Ratio vorliegen. Ein auffälliger Befund in einem einzelnen STR-Marker kann sich entweder in Form einer Homozygotie oder einer Heterozygotie mit 2:1 Ratio oder einem x-Allel-Muster ($x \geq 3$) darstellen.
- Bei Single- und Multiplex-PCR-Ansätzen sind die Bedingungen (z.B. Zyklenzahl) so zu wählen, dass eine semiquantitative Dosisabschätzung in der exponentiellen Phase der PCR-Reaktion stattfindet.
- Für jedes zu untersuchende Chromosom (Ausnahme Y-Chromosom) sollten mehrere polymorphe STR-Marker eingesetzt werden. Die Auswahl der STR-Marker muss unter Berücksichtigung von Eignungskriterien wie z.B. dem Repeat-Typ (z.B. Tetranukleotidrepeats), dem Heterozygotiegrad, der Größe der sog. „Stotter-Banden“ und/oder der chromosomalen Lage der Marker auf der genetischen Karte erfolgen.
- Die STR-Analyse muss mit geeigneten Analysesystemen (z.B. Kapillarelektrophoresesystemen) erfolgen, mit denen eine Auftrennung von PCR-Fragmenten bis auf 1bp genau möglich ist. Auswertungen über konventionelle Agarosegele sind für eine 1bp-Trennung und eine Dosisabschätzung nicht ausreichend.

- Auffällige Ergebnisse mit nur einem informativen Marker pro Chromosom sind nicht ausreichend, da bei Abweichungen von der 1:1- Ratio eine Primerbindungsmutation bei einem der beiden Allele in Betracht gezogen werden muss. Ein 3-Allelmuster in einem STR-System ist durch Interpretation der STR-Marker anderer Chromosomen auf eine eventuelle maternale Kontamination bzw. Vorliegen einer Triploidie hin zu prüfen.
- Sind alle STR-Marker für ein Chromosom nicht informativ und/oder liegen durch den Ultraschallbefund besondere Hinweise auf das mögliche Vorliegen einer Trisomie 13, 18, 21, oder eine numerische gonosomale Aberration vor, sollte die Analyse auf weitere Marker ausgedehnt werden. Alternativ dazu kann auch z.B. ein FISH-Test zur Klärung durchgeführt werden. Muss das Ergebnis für ein Chromosom dennoch offenbleiben, muss dies im Befund eindeutig gekennzeichnet sein.
- Bei der Auswertung können bisher nicht beschriebene Allele (außerhalb des Rahmens der kleinsten und größten bisher aufgetretenen Allele) eines STR-Systems auftreten und für ein benachbartes STR-System ein 3-Allelmuster vortäuschen.
- Bei Hinweisen auf eine maternale Kontamination sollte eine mütterliche DNA-Probe vergleichend mitgeführt oder nachuntersucht werden.
- Mosaikbefunde können in Abhängigkeit von der Stärke des Mosaiks nicht immer eindeutig beurteilt werden.
- Eine Monosomie X kann zwar über die Anzahl getesteter Marker statistisch mit hoher Sicherheit erkannt, letztlich jedoch mit dem PCR-basierenden „pränatalen Schnelltest“ nicht sicher bewiesen werden. Dies sollte im Rahmen der Befundbesprechung diskutiert und ggf. über einen FISH-basierenden „pränatalen Schnelltest“ und / oder eine Chromosomenanalyse abgesichert werden, insbesondere dann, wenn sich für eine Monosomie X Hinweise aus dem Ultraschallbefund ergeben (z.B. erhöhte Nackentransparenz, Hydrops fetalis).
- Es ist zu beachten, dass falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse auftreten können. Hierauf sowie auf die möglichen Ursachen ist ggf. in geeigneter Form im Befund hinzuweisen.

Verfahren zur Konsensbildung

Die **Erstellung der vorangegangenen Version dieser Leitlinie** erfolgte 1998 durch die Sprecher der damaligen Kommission:

B. Eiben (Oberhausen) und U. Claussen (Jena) unter Mitwirkung von O. Bartsch (Dresden), W. Engel (Göttingen), J. Epplen (Bochum), F. Gerresheim (Bochum), R. Goebel (Oberhausen), U. Gross (Ingelheim), H. Haas-Andela (Linden), W. Hammans (Oberhausen), C. Held (Hamburg), H. Höhn (Würzburg), K. Miller (Hannover), P. Miny (Basel), I. Nippert (Münster), M. Pruggmayer (Peine), R. Rauskolb (Northeim), A. Schinzel (Zürich), B. Schlegelberger (Kiel), J. Schmidtke (Hannover), M. Stumm (Magdeburg), R. Schubert (Bonn), B. Schulze (Hannover), G. Schwanz (Bonn), E. Schwinger (Lübeck), W. Vogel (Ulm), C. Waldenmaier (München), R. Wegner (Berlin), P. Wieacker (Magdeburg).

Veröffentlichungen

Erstveröffentlichung: medgen 10 (1998) 319

1. Überarbeitung: 2008 durch die GfH-Leitlinienkommission unter Mitwirkung von G. Rettenberger (Neu-Ulm), H. Gabriel (Osnabrück), A. Weise (Jena) und B. Eiben (Essen).

2. Überarbeitung im Online-Review-Verfahren: 30.3.–30.5.2009 durch GfH-Mitglieder

3. Überarbeitung: 2019 durch die GfH-Leitlinienkommission unter Mitwirkung von A. Abicht (München), A. Dufke (Tübingen), K. Eggermann (Aachen), S. Hentze (Heidelberg), K. Hoffmann (Halle), F. Oeffner (Neu-Ulm) und G. Wildhardt (Frankfurt am Main)

Nächste Überarbeitung geplant: 2024

Verabschiedung

Verabschiedung: Prof. Dr. Brigitte Schlegelberger,
stellvertretend für den Vorstand der
Deutschen Gesellschaft für Humangenetik

Verabschiedung: Dr. Nicolai Kohlschmidt,
stellvertretend für den Vorstand des
Berufsverbandes Deutscher Humangenetiker

Erstveröffentlichung:	06/2009
Überarbeitung von:	01/2019
Nächste Überprüfung geplant:	01/2024

Die AWMF erfasst und publiziert die Leitlinien der Fachgesellschaften mit größtmöglicher Sorgfalt - dennoch kann die AWMF für die Richtigkeit des Inhalts keine Verantwortung übernehmen. **Insbesondere bei Dosierungsangaben sind stets die Angaben der Hersteller zu beachten!**

Autorisiert für elektronische Publikation: AWMF online