

## DFMS guideline / DFMS arbejdsgruppe 2024:

### Titel

Anvendelse af exom-sekventering (WES) og helgenom-sekventering (WGS) i prænatal diagnostik

### Forfattere:

Navn:	Stilling:	Arbejdssted:
Balslev-Harder, Marie	Molekylærbiolog	Klinisk Genetisk Afd, RH
Becher, Naja	Overlæge, PhD	Klinisk Genetisk Afd, AUH
Hjortshøj, Tina D.	Overlæge, PhD	Klinisk Genetisk Afd, RH
Hoseth, Eva	Overlæge	Obstetrisk afd, Aalborg UH
Hvidbjerg, Marie Skov	Afd.læge	KGA, Aalborg UH
Karstensen, Helena G.	Molekylærbiolog, PhD	Klinisk Genetisk Afd, RH
Lou, Stina	Antropolog, seniorforsker, PhD	DEFACTUM, Region Midt
Pedersen, Lars H.	Overlæge, Professor, PhD	Obstetrisk afd, AUH
Petersen, Olav Bjørn	Overlæge, Professor, PhD	Obstetrisk afd, RH (tovholder)
Roos, Laura	Overlæge, PhD	Klinisk Genetisk Afd, RH
Sperling, Lene	Overlæge, PhD	Obstetrisk afd, OUH
Tørring, Pernille M.	Overlæge, PhD	Klinisk Genetisk Afd, OUH
Vogel, Ida	Overlæge, Professor, Dr Med, PhD	Obstetrisk afd, AUH

### Øvrige medlemmer af arbejdsgruppen:

Barken, Sidsel	Overlæge	Obstetrisk afd, Roskilde
Gadsbøll, Kasper	Læge, PhD-studerende	Obstetrisk afd, RH
Miltoft, Caroline B.	Læge, PhD	Obstetrisk afd, RH
Vedel, Cathrine	Læge, PhD, Post Doc	Obstetrisk afd, RH

COI for arbejdsgruppens medlemmer: Se appendiks 1

### Korrespondance:

Olav Bjørn Petersen: [olav.bennike.bjoern.petersen@regionh.dk](mailto:olav.bennike.bjoern.petersen@regionh.dk)

### Status

Dette er en mindre revision af DFMS guideline fra maj 2023, udarbejdet af samme arbejdsgruppe

DFMS guideline 2023 var en større revision af den tidligere DFMS guideline fra 2021:  
Anvendelse af exom-sekventering (WES) og helgenom-sekventering (WGS) i prænatal diagnostik,  
med følgende forfattere:

Becher, Naja; Gadsbøll, Kasper; Hjortshøj, Tina D.; Lou, Stina; Miltoft, Caroline B.; Pedersen, Lars H.; Petersen, Olav Bjørn (tovholder); Sperling, Lene; Tørring, Pernille M.; Østergaard, Elsebet

Første udkast: 15/1/2024

Diskuteret på føtalmedicinsk årsmøde (Vejlefjord) : 17/1/2024

Korrigeret udkast dato: 3/3/2024

Endelig guideline dato: 31/3/2024

Guideline skal revideres seneste dato: 17/1/2027

## Indholdsfortegnelse:

<b>DFMS guideline og permanent arbejdsgruppe</b> .....	3
<b>Vigtige forudsætninger for denne guideline og de nedenstående rekommandationer</b> .....	3
<b>Resume af evidens: Diagnostisk udbytte</b> .....	4
<b>Resume af evidens: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse</b> .....	8
<b>Klinisk anbefaling</b> .....	9
<b>Forkortelser:</b> .....	9
<b>Indledning</b> .....	11
<b>Litteratursøgningsmetode:</b> .....	12
<b>A: Indikationer og diagnostisk udbytte ved WES/WGS:</b> .....	12
<b>B: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse</b> .....	12
<b>Evidensgradering</b> .....	12
<b>Sektion A: Diagnostisk udbytte ved WES/WGS</b> .....	13
<b>Problemstilling</b> .....	13
<b>Evidens</b> .....	13
<b>De føtale NGC-indikationer:</b> .....	15
1) Gravid, hvor der hos fosteret i 1. trimester/tidlig 2. trimester er påvist.....	15
nakkefold på $\geq 3,5$ mm og, hvor der ved tidlig misdannelsesskanning i .....	15
uge ca. 16 fortsat ses nakkeødem eller der påvises yderligere UL-anomalier. ....	15
3) Gravid, hvor der hos fosteret er påvist svær væksthæmning før uge 32.....	17
4) Dødt foster/barn (intrauterin/perinatal død eller pga. spontan- eller provokeret abort), og hvor der er fundet misdannelse/anomali, eller andre fund der giver mistanke om genetisk betinget sygdom. ....	19
5) Gravid, hvor der hos fosteret er påvist misdannelser herunder:.....	20

Skeletanomalier, neuromuskulære sygdomme/føtal akinesi-hypokinesi deformationssekvens (FADS), non-immun hydrops fetal (NIHF), CNS-misdannelser, diafragma hernie (CDH) eller multiple anomalier – evt. andre udvalgte misdannelser (hjertemisdannelser, udvalgte nyremisdannelser (CAKUT), omfalocele) .....	20
<b>Sektion B: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse .....</b>	<b>21</b>
<b>Problemstilling .....</b>	<b>21</b>
<b>Evidens .....</b>	<b>21</b>
<b>Kodning og registrering .....</b>	<b>24</b>
<b>Referenceliste .....</b>	<b>26</b>
<b>Appendiks 1: COI for forfattere og reviewere .....</b>	<b>31</b>
<b>Appendiks 2: Søgeprofiler og link til excel-ark med referencer .....</b>	<b>32</b>
<b>Appendiks 3: Forest plots vedr diagn udbytte pr organsystem. ....</b>	<b>33</b>

## Resume af kliniske rekommandationer:

### DFMS guideline og permanent arbejdsgruppe

På grund af den tiltagende betydning, som molekylærgenetiske undersøgelser har fået indenfor prænatal diagnostik, og den hastighed, hvormed teknologi, muligheder og udfordringer ændrer sig indenfor dette felt, er det på FøtoSandbjergmødet den 18. Juni 2021 besluttet, at guidelinegruppen fortsætter som en permanent DFMS arbejdsgruppe med følgende navn: *Anvendelse af exom-sekventering (WES) og helgenom-sekventering (WGS) i prænatal diagnostik.*

Udviklingen går så hurtigt, at det er besluttet, at erfaringerne med WES/WGS i klinisk praksis aktuelt bør drøftes i regi af arbejdsgruppen ca. hvert kvartal, og guideline evt. justeres. Opdateringer fremlægges og diskuteres årligt ved et DFMS møde.

### Vigtige forudsætninger for denne guideline og de nedenstående rekommandationer

<p>Dette er en opdatering af DFMS guideline fra 2021<sup>1</sup>. Det er ikke en gennemgribende revision af hele området, men primært tilføjelse af indikationer for analyse i regi af NGC samt en opdatering af evidensen for diagnostisk gevinst.</p> <p>Da den diagnostiske gevinst har vist sig at være stor for en række indikationer, herunder CNS-misdannelser, skeletdysplasier, føtal akinesi sekvens, non-immun hydrops og multiple misdannelser, har vi for disse indikationer nu tilføjet, at der som hovedregel bør tilbydes WES/WGS ved fund af disse tilstande - såfremt nedenstående forudsætninger er opfyldt.</p> <p>For øvrige indikationer foreslår vi, at der i prioriteringen af tilbud om evt WES/WGS indgår både tilstandens prævalens og diagnostisk gevinst.</p> <p>En væsentlig aktuel udfordring i tilbud om WES/WGS er ubalancen mellem det tiltagende antal gravide, hvor der er indikation for WES/WGS, og ressourcer til variantfortolkning og rådgivning i de klinisk genetiske afdelinger.</p> <p>Vi håber, at regionerne er opmærksomme på dette, og får sikret, at de kliniske anbefalinger kan gennemføres.</p> <p>Anvendelse af exom (WES) og helgenom (WGS) sekventering indebærer en række forudsætninger, der er en væsentlig kontekst for forståelsen og anvendelsen af</p>	
---	--

<p>anbefalingerne. Om der skal tilbydes WES/WGS vil derfor i hvert enkelt tilfælde også afhænge af følgende faktorer:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Den diagnostiske gevinst ved WES/WGS øges ved at tilbyde WES/WGS ved fostre med multiple misdannelser eller fostre med misdannelser, som ud fra en klinisk-genetisk og føtalmedicinsk ekspertvurdering sandsynligvis skyldes monogen sygdom. En sådan MDT-vurdering af den specifikke indikation er derfor essentiel hos hver enkelt patient. Der er meget stor forskel på diagnostisk gevinst afhængig af organsystem.</li> <li>• Anbefalingernes inddeling i organ/sygdomsgrupper kan ikke laves dækkende for alle de forskellige undertyper af misdannelser, bl.a. kan indikationen og diagnostisk gevinst være afhængig af de(n) specifikke misdannelse(r) (f.eks. undertype af medfødt hjerte- eller nyremisdannelse).</li> <li>• Den aktuelle evidens er heterogen hvad angår inddeling i undertyper af misdannelser, om misdannelsen er isoleret/ikke isoleret, og der kommer hele tiden ny evidens indenfor mange områder.</li> <li>• Den diagnostiske gevinst ved mange CNS- og skeletmisdannelser, non-immun hydrops, føtal akinesi sekvens og multiple misdannelser er nu så stor at vi anbefaler, at der som hovedregel tilbydes WES/WGS ved fund af disse tilstande</li> <li>• Beslutningen om, hvorvidt der skal tilbydes prænatal WES/WGS som akut undersøgelse, vil altid inkludere en vurdering af graviditetslængde ved prøvetagning, forventet analysetid og om svaret vil have afgørende betydning for parrets reproduktive autonomi.</li> <li>• Gestationsalder bør dog <i>ikke i sig selv</i> være en absolut begrænsende faktor for tilbud om føtal WES i en igangværende graviditet. Henvissende føtalmedicinere kender til svartid (aktuelt ca. 10 hverdage), og må vurdere, om analysen skal iværksættes. Patienterne skal kende til denne præmis, og at der, afhængig af GA, i nogle tilfælde vil foreligge et resultat tæt på- eller efter GA 23+0.</li> <li>• I tilfælde, hvor evt. WES/WGS-resultat ikke akut ændrer reproduktive valg, bør man overveje, om der er fordele ved at lave analysen senere og dermed generere mere tid til analysen.</li> <li>• De nedenstående anbefalinger er angivet separat for NGC-indikationerne (stor NF, små biometrier eller dødt foster/nyfødt/ab pro), samt for de øvrige indikationer, der primært er angivet ud fra den diagnostiske gevinst i Mellis review fra 2022.</li> </ul>	
--	--

**Resume af evidens: Diagnostisk udbytte**

<p>Ved anvendelse af WES/WGS ved fund af UL-anomalier i nedenstående organsystemer er den diagnostiske gevinst efter normal CMA-undersøgelse angivet til følgende:  <b><i>Tilstande, hvor der jvf NGC-indstillingen kan tilbydes genom i NGC-regi</i></b></p>	<p>C</p>
---	----------

1) Gravid, hvor der hos fosteret i 1. trimester/tidlig 2. trimester er påvist **nakkefold** på  $\geq 3,5$  mm og, hvor der efter tidlig misdannelsesskanning i ca. uge 16 fortsat ses nakkeødem – eller der er påvist yderligere UL-anomalier

2) Gravid, hvor der hos fosteret i 1. trimester/tidlig 2. trimester er påvist **nakkefold** på  $\geq 6,0$  mm

32,4%-44,7% (Mellis 2022, Di Girolamo 2023, se NGC tabel)<sup>2,3</sup>

**3) Gravid, hvor der hos fosteret er påvist svær væksthæmning** før uge 32 defineret som mindst ét biometrisk mål mindre end  $-3$  SD/Z-score  $< -3$

11-15% (isoleret), 29-67% (ikke isoleret, inkl skeletskeletdysplasi, se NGC tabel)

**4) Dødt foster/barn** (intrauterin/perinatal død eller pga. spontan- eller provokeret abort), og hvor der er fundet misdannelse/anomali, eller andre fund der giver mistanke om genetisk betinget sygdom

Ved misdannelser - svarende til disse

Ved død, hvor udredning umiddelbart ikke har givet nogen forklaring:

6-12% (se NGC tabel)

**5) Gravid, hvor der hos fosteret er påvist misdannelser** herunder: skeletanomalier, neuromuskulære sygdomme/føtal akinesi-hypokinesi deformationssekvens (FADS), non-immun hydrops føtalis (NIHF), CNS-misdannelser, diafragma hernie (CDH) eller multiple anomalier – evt. andre udvalgte misdannelser (hjertemisdannelser, udvalgte nyremisdannelser (CAKUT), omfalocoele) – diagnostic yield som angivet under de enkelte organsystemer, se herunder.

***Øvrige tilstande, hvor der som hovedregel er indikation for WGS/WES:***

**Skeletanomalier (se også NGC indikation: små biometrier)**

53% [42%–63%] (Mellis 2022)<sup>4</sup>

**Neuromuskulære /Fetal akinesia deformation sequence (FADS)**

37% [20%–54%] (Mellis 2022)<sup>4</sup>

**Non-immun hydrops føtalis (NIHF)**

<p>22% [14%–31%] (Mellis 2022)<sup>4</sup></p> <p>37% [32%–41%] (Al-Kouatly 2023)<sup>5</sup></p> <p><b>CNS-misdannelser</b></p> <p>17% [12%–22%] (Mellis 2022)<sup>4</sup></p> <p>NB: isoleret corpus callosum agenesi – 15% (7,2% - 29%, Baptiste 2022, Heide 2020, Lei 2022)<sup>6-8</sup></p> <p><b>Diafragmahernie (CDH)</b></p> <p>10-20% (Longoni 2017<sup>9</sup>, Scott 2022<sup>10</sup>)</p> <p>OBS: Ifølge DFMS guideline 2021<sup>11</sup> vedr CDH bør der tilbydes WES/WGS</p> <p><b>Multiple anomalier</b></p> <p>29% [22%–35%] (Mellis 2022)<sup>4</sup></p> <p>33% (Pauta 2022)<sup>12</sup></p> <p><b>Alvorlig medfødt hjertemisdannelse (Major CHD/mCHD)</b></p> <p>Se nedenfor</p> <p><b><i>Andre tilstande hvor WGS/WES kan overvejes:</i></b></p> <p><b>Hjertemisdannelser</b></p> <p>11% [7%–16%] (Mellis 2022)<sup>4</sup></p> <p>Der er ingen nyere studier, der belyser diagnostisk gain ved genomsekventering når der påvises <i>isoleret</i>, alvorlig hjertemisdannelse (mCHD). Ud fra de studier, der angiver gain for specifikke alvorlige hjertemisdannelser, ses der en overvægt af mCHD med diagnostisk gain.</p> <p>Da mCHD endvidere er en sygdom, som langt oftest medfører store og/eller gentagne kirurgiske indgreb tidligt i livet, og i sig selv ofte er forbundet med livslang morbiditet, er mCHD en skærpene indikation for at tilbyde WGS.<sup>13-16</sup></p> <p>Vedrørende isolerede, muskulære VSD konkluderer et DFMS statusdokument fra 2024 følgende: <i>Isoleret fund af muskulær VSD i 2. trimester indebærer tilsyneladende ikke en øget risiko for genetiske afvigelser hos fosteret. Der findes derfor ikke videnskabeligt belæg for rutinemæssigt at tilbyde genetisk udredning ved prænatale fund af isoleret muskulær VSD. Litteraturgennemgang har identificeret fire studier inkluderende i alt 400 cases med isolerede muskulære</i></p>	
--	--

*VSDer. Ikke alle er genetisk undersøgt prænatalt. Børnene er dog vurderet postnatalt uden mistanke om genetisk sygdom.*<sup>17</sup>

### **Bugvægsdefekt (Omfalocle)**

Ingen data fra metaanalyser vedr diagn gain v/WGS. Men 10-20% har BWS (Beckwith-Wiedemann Syndrom), hvoraf 80% får påvist genetisk årsag (Schindewolf 2020, Adams 2021)<sup>18, 19</sup>, hvorfor et internationalt konsensus statement foreslår at genetisk testning inkl WGS/panel bør overvejes ved isoleret BWS<sup>20</sup>.

DFMS guideline vedr omfalocle angiver at WGS kan overvejes ved normal CMA<sup>21</sup> – dette på baggrund af, at der kun er publiceret få case-serier, men at omfalocle kan være associeret med en række genetiske syndromer, inkl BWS, hvor omfalocle er den misdannelse, der oftest diagnosticeres prænatalt<sup>18, 22, 23</sup>

Ved omfalocle kan man overveje at tilbyde WGS, især ved syndromal mistanke, idet det diagnostiske udbytte ved isoleret omfalocle for nuværende er ukendt. Om der skal tilbydes WES/WGS vil derfor i hvert enkelt tilfælde afhænge af flere faktorer, som bør diskuteres på genetisk-føtalmedicinsk MDT.

Da omfalocle altid medfører større og evt gentagne kirurgiske indgreb i spædbarnsalderen, og i sig selv kan være forbundet med større morbiditet, er omfalocle en skærpene indikation for at tilbyde WGS

### **Nyre/urinvejsmisdannelser (CAKUT)**

9% [5%–12%] (Mellis 2022)<sup>4</sup>

NB: Isolerede ekkogene nyrer bilateralt - 50% (Deng 2022)<sup>24</sup>

### **Kraniofaciale:**

9% [1%–17%] (Mellis 2022)<sup>4</sup>

### **Isoleret, stor nakkefold**

4-5% (1%–45%) (Mellis 2022, se NGC tabel)<sup>3</sup>

### ***Tilstande hvor WGS/WES som hovedregel ikke overvejes:***

#### **Thorax/lunge misdannelser**

0 % [-7% to 7%] (Mellis 2022)<sup>4</sup>

#### **Gastrointestinale misdannelser**

2% [-4% to 8%] (Mellis 2022) <sup>4</sup>	
<b>Bugvæg (Gastroschisis)</b>	
0 [-31% to 31%] (Mellis 2022) <sup>4</sup>	

## Resume af evidens: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse

<p>En betydelig andel af danske par ønsker, ved normal CMA, opfølgende udredning med WES/WGS ved fund af alvorlig føtal misdannelse</p> <p>Prætestinformation skal tilbydes alle par før evt. WES/WGS analyse. Prætestinformationen kan varetages af speciallæger i klinisk genetik eller føtalmedicinere, men kan også varetages af særligt oplærte personer fra andre faggrupper, fx sonografer eller genetiske vejledere.</p> <p>Prætestinformation bør blandt andet indeholde følgende elementer:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Realistisk vurdering af sandsynligheden for, at der gøres et klinisk betydende genetisk fund.</li> <li>- Tidsramme (hvornår forventes et svar).</li> <li>- Information om den type af genetiske varianter, som afrapporteres prænatalt under en igangværende, aktuel graviditet (klasse 4/klasse 5, som forklarer fosterets fænotype).</li> <li>- Sekundære fund (NB: I NGCs betydning omfatter sekundære fund også tilfældighedsfund, hvorimod ISPD definerer sekundære fund og tilfældighedsfund som 2 forskellige ting. Vi anvender pt NGCs betydning da den ligger som grund for samtykket) er uventede fund af betydende genetiske varianter (klasse 4/klasse 5), som man ikke aktivt ledte efter, og som ikke kan forklare fosterets fænotype.</li> <li>- Samtykke fra begge forældre og for fosteret. Fornyet samtykke for fosteret kan evt. udelades, hvis der allerede foreligger samtykke til omfattende genetisk analyse i form af kromosom microarray (CMA).</li> </ul> <p>Trio-analyse (foster og begge forældre) øger chancen for en diagnose, og afkorter tiden til svarafgivelse. Afhængigt af filtrering kan risikoen for tilfældige fund sandsynligvis nedsættes.</p> <p>Det anbefales, at kun patogene (klasse 5) eller sandsynligt patogene (klasse 4) varianter, som forklarer fosterets fænotype, rapporteres prænatalt under en igangværende, aktuel graviditet.</p> <p>Der kan overvejes at gøre en undtagelse, hvis en VUS (klasse 3) passer med fænotypen, især ved autosomt recessive tilstande, hvor der samtidig påvises en klasse 4 eller 5 variant på det andet allel svarende til samme gen.</p> <p>Post-test information bør tilbydes alle uanset om der gøres klinisk betydende genetiske fund. Hvis der efter forældrenes ønske er afrapporteret tilfældige fund, bør posttestinformation inkludere tilbud om kontakt med en speciallæge med ekspertise i pågældende tilstand. Posttestinformation indeholder også vurdering af betydningen af evt. genetiske fund for parrets gentagelsesrisiko samt tilbud i kommende</p>	
---	--



graviditet, og at denne information også forefindes skriftligt i den gravides sundhedsjournal.	
--	--

## Klinisk anbefaling

WES/WGS bør – under forbehold for indledende kontekst og forudsætninger - tilbydes ved abnorme føtale ultralydsfund, hvor CMA ikke har påvist en diagnose	C
Vedr NCG-indikationer: <i>Isoleret stor Nakkefold</i> $\geq 4$ tilbydes ikke længere direkte WGS.	
Ved nakkefold $\geq 3,5$ mm: Udredes primæret med microarray og tidlig gennemskanning – uge ca 16. Såfremt der er persisterende nakkeødem, eller der er tilkommet andre UL-anomalier, tilbydes WES/WGS.	D
Ved NF $\geq 6.0$ mm kan man tilbyde WGS trio umiddelbart, såfremt parret ønsker at fortsætte graviditeten.	D
<i>Svær væksthæmning</i> : Bør tilbydes WES/WGS. Defineres i denne guideline som: <i>Mindst et biometrisk mål mindre end -3 SD/med Z-score &lt; -3</i>	D
Der bør i særlig grad overvejes WES/WGS ved indgifte par med ultralydsfund.	D
Planlægning af forløbet, herunder planlægning af hvilke undersøgelser der er relevante, bør foregå som et samarbejde mellem eksperter i hhv. klinisk genetik, genomsekventering og føtalmedicin.	D
Informations- og rådgivningsopgaven er central, og bør omfatte både prætest og posttest information/rådgivning.	

Som led i opdateringen har vi udarbejdet et excel-ark som oversigt over relevant litteratur, inkl centrale resultater og PubMed-link til artiklerne, se: Appendix 3

## English summary

### Forkortelser:

AC	Amniocentese = fostervandsprøve
BAC	Bacterial Artificial Chromosome = en ældre teknik til opformerering af DNA-sekvenser mhp sekventering
CAKUT	Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract
CMA	Chromosomal MicroArray
CNS	Centralnervesystemet
CNV	Copy-Number Variation
CPM	Confined placenta mosaicism
CVS	Chorion-villus biopsi = moderkageprøve

FGR	Fetal Growth Restriction
IUFD	IntraUterin FosterDød
KGA	Klinisk-Genetisk Afdeling
NF	Nakkefold
NIHF	Non-Immun Hydrops Føtalis
NIPT	Non-Invasiv Prænatal Test
SCA	Standard Chromosomal Analysis = cytogenetisk kromosomundersøgelse
SNV	Enkeltnukleotidvariant
SGA	Small for Gestational Age
UL	Ultralyd
VOUS/ VUS	Variant of Unknown Significance
WES	Whole Exome Sequencing
WGS	Whole Genome Sequencing

## Indledning

Siden 2004 er alle gravide kvinder i Danmark blevet tilbudt fosterdiagnostik bestående af 1) en ultralydsskanning i første trimester inkl. mulighed for sandsynlighedsberegning for trisomi 21, 18 og 13, samt 2) en ultralydsskanning i andet trimester inkl. gennemskanning af fostrets organer og vurdering af tilvækst, med henblik på at afkræfte eller påvise tegn på sygdom/misdannelser hos fosteret.

I ca 3% af alle graviditeter har fostret en eller flere strukturelle anomalier<sup>25</sup>, varierende fra små defekter til fatale multisystem misdannelser som kan være betinget af genetisk sygdom. Hvis skanningerne eller andre forhold giver mistanke om at fosteret kan have en kromosomafvigelse, tilbydes kvinden invasiv undersøgelse bestående af en moderkagebiopsi (CVS) eller fostervandsprøve, alternativt Non-Invasiv Prænatal Test (NIPT).

Standardundersøgelsen har i mange år været cytogenetisk kromosomundersøgelse, hvormed man har kunnet påvise en kromosomal årsag hos i gennemsnit 19%, med meget stor variation (1-80%), afhængigt af involveret organsystem, type af misdannelse, og om der var tale om en misdannelse eller multiple misdannelser<sup>26</sup>.

Siden 2013 har man i Danmark anbefalet Chromosomal MicroArray (CMA) som standardundersøgelse ved tilbud om invasiv prænatal diagnostik af abnorme UL-fund hos fostret<sup>27</sup>, idet CMA, foruden aneuploidier, også finder submikroskopiske kromosomale forandringer (CNV'er) og derfor øger detektionsraten af kromosomale anomalier ved føtale misdannelser med i gennemsnit 5-7% sammenlignet med SCA, igen med betydelige variation (4-15%) afhængig af organsystem og type af misdannelse<sup>28-30</sup>. Ved føtale misdannelser, herunder tyk nakkefold, finder man med ovenstående analysestrategi således en genetisk årsag/forklaring i 30-40% af tilfældene<sup>29, 31</sup>. Hos de resterende 60-70% kan misdannelserne være betinget af ikke-genetiske faktorer eller have en genetisk forklaring, som ikke kan påvises med CMA, herunder mange monogene sygdomme. Disse par efterlades dermed oftest uden en forklaring, og med et dårligere grundlag for vurdering af gentagelsesrisiko i efterfølgende graviditet.

Sekventering (hvor man undersøger enkeltbaser i genomet) i form af Whole Exome Sequencing (WES) = sekventering af den 1-2% proteinkodende del af genomet og Whole Genome Sequencing (WGS) = sekventering af hele genomet giver potentielt mulighed for en højere sensitivitet og dermed forbedret diagnostik (øget diagnostisk udbytte/"yield") af alvorlige genetiske sygdomme. Anvendelse af omfattende genomiske analyser indebærer dog potentielt også en række udfordringer både hvad angår datamængde, analysetid, mulighed for tilfældighedsfund (abnorme genetiske fund uden relation til indikationen) og ikke mindst fortolkning. Samtidigt er det diagnostiske udbytte afhængigt af ultralydsfund/indikation for WES/WGS undersøgelsen.

Denne guideline er derfor delt i 2 hovedsektioner plus 1 tillæg:

A: Indikationer og diagnostisk udbytte

B: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse

C (tillæg): Kort beskrivelse af WES/WGS metode

## **Litteratursøgningsmetode:**

### **A: Indikationer og diagnostisk udbytte ved WES/WGS:**

Denne guidelines evidens for diagnostisk udbytte bygger på:

A: For NGC indikationerne en opdateret litteratursøgning vedr. isoleret stor nakkefold samt små biometrier, og inkluderer også den omfattende metaanalyse fra 2022 (Mellis et al<sup>4</sup>).

B: For øvrige indikationer primært det opdaterede statement fra International Society for Prenatal Diagnosis,<sup>32</sup> hvor estimerne primært er fra en omfattende metaanalyse fra 2022 (Mellis et al<sup>4</sup>).

For den oprindelige søgestreng fra 2021 se Appendix 2.

### **B: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse**

For den oprindelige søgestreng fra 2021 se Appendix 2.

## **Evidensgradering**

Oxford

## Sektion A: Diagnostisk udbytte ved WES/WGS

### Problemstilling

Hvor stort er det diagnostiske udbytte ved WES/WGS ved abnorme ultralydsfund i forskellige organsystemer?

### Evidens

Udviklingen og implementeringen af WES og WGS har tilladt en mere detaljeret analyse af det føtale DNA, hvilket medfører en højere diagnostisk rate af genetisk sygdom hos fostre med UL-påviste anomalier.

Den oprindelige DFMS guideline var baseret på et review fra 2018<sup>33</sup> samt to store prospektive kohortestudier, publiceret i the Lancet i 2019<sup>34, 35</sup>.

Det britiske PAGE (Prenatal Assessment of Genome and Exome) studie<sup>35</sup> undersøgte 610 fostre med strukturelle anomalier (inkl. mild ventrikulomegali og isoleret klumpfod) eller isoleret tyk nakkefold ( $\geq 4$  mm) samt normal CMA med WES trioanalyse. Samlet fandt man ved WES 8,5% med patogene varianter samt 3,9% med varianter af ukendt betydning (VUS)<sup>35</sup>.

Det amerikansk studie af Petrovski et al. undersøgte 234 fostre med strukturelle anomalier samt normal CMA med WES trioanalyse. Her fandt man ved WES 10,3% med patogene varianter, men 19,7% med muligt patogene varianter<sup>34</sup>.

Andelen af patogene varianter i begge studier er lavere end fundet i mange tidligere studier<sup>33</sup>, og der er for nogle indikationer en betydelig forskel mellem studierne resultater. Dette kan skyldes metodemæssige forskelle i de to studier: I PAGE-studiet undersøgte man ikke hele exomet men anvendte et virtuelt panel med 1628 gener (*fra the Deciphering Developmental Disorders [DDD] study*)<sup>36, 37</sup>, hvorimod Petrovski-studiet analyserede alle kendte gener.

Fostre med multiple misdannelser tælles også forskelligt, idet hvert foster kun figurerer en gang i PAGE-studiet, i en kategori (og fostre med multiple misdannelser i separat gruppe), modsat Petrovski studiet, hvor det samme foster med multiple misdannelser kan tælle med i flere kategorier.

Generelt er der forskel på hvilket fostre, der inkluderes. PAGE og Petrovski studierne er baseret på kohorter, der generelt er mindre selekterede end tidligere studier, da der indgår konsekutivt identificerede fostre med abnorme ultralydsfund. I nogle studier har man udelukkende inkluderet fostre med multiple misdannelser, fostre med specifikke misdannelser samt stor klinisk mistanke om genetisk genese eller ved familiær disponering for genetisk sygdom og derved stillet en diagnose hos op til 80% af fostrene<sup>38-40</sup>.

Der publiceres et accelerende antal studier, og den samlede evidens øges hele tiden. Derfor er det afgørende at basere estimater for diagnostisk effekt på samlede analyser af tilgængelige studier.

DFMS guideline opdatering 2023 er derfor baseret primært på det opdaterede statement fra International Society for Prenatal Diagnosis<sup>32</sup>, hvor estimaterne helt overvejende er fra en omfattende metaanalyse af Mellis fra 2022<sup>4</sup>. For NGC indikationerne er der ud over Mellis metaanalysen suppleret med de ekstra artikler, angivet i tabellerne.

Som supplement har vi udarbejdet et excel-ark med den litteratur vi har gennemgået ifbm denne revision, inkl relevante resultater, se appendix 3

Samlet set tyder de nye studier på, at man kan øge detektionsraten af genetisk sygdom ved at tilbyde WES/WGS ved fostre med multiple misdannelser eller fostre med misdannelser, som ud fra en klinisk-genetisk og føtalmedicinsk ekspertvurdering sandsynligvis skyldes monogen sygdom, herunder CNS- eller skeletmisdannelser, neuromuskulære sygdomme eller non-immun hydrops. Derimod har den diagnostiske gevinst ved feks bugvægsdefekter eller gastrointestinale misdannelser vist sig at være lav.

I det følgende gennemgås det diagnostiske udbytte i forskellige undergrupper, primært ud fra Mellis 2022 artikel.

Artiklen er Open Access, og vi har derudover fået tilladelse af seniorforfatteren Lyn Chitty til at anvende tabeller og forest plots

### ***Diagnostisk udbytte i undergrupper med strukturelle anomalier***

Nedenstående tabel er fra ISPD statement 2022<sup>32</sup>.

Forest plots ved de enkelte organsystemer – se appendix 3

Som led i opdateringen har vi også udarbejdet et excel-ark som oversigt over relevant litteratur, inkl centrale resultater og PubMed-link til artiklerne, se appendix 2

TABLE 2 Diagnostic yield of fetal sequencing in fetuses with a normal karyotype/microarray

Category	No.	Added diagnostic yield	Reference
Multisystem, selection not defined	698	31%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
	694	33%	Pauta 2022 <sup>20</sup>
Selected for likely monogenic etiology	140	40%	Pauta 2021 <sup>21</sup>
	1293	42%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Any abnormality (ies), no selection	2771	15%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated skeletal	424	53%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Neuromuscular/Fetal akinesia deformation sequence (FADS)	33	37%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated hydrops/edema	137	22%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated cardiac abnormalities	773	11%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated increased NT (at presentation and throughout pregnancy)	290	2%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Increased NT plus other anomaly at presentation or later	91	26%	Mellis 2022b <sup>22</sup>
Isolated CNS (single and complex)	417	17%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated congenital anomalies of kidneys and urinary tract (CAKUT)	278	9%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated echogenic kidneys	11	72%	Deng 2022 <sup>23</sup>
Isolated agenesis of the corpus callosum	45	29%	Lei 2022 <sup>24</sup> ; Baptiste 2022 <sup>25</sup>

Note: Data are largely taken from the systematic review by Mellis (2022), which covered publications from 1st January 2010 until 31st October 2021, as other reviews do not break down the categories by system. Additional data is provided from publications identified more recently.

Vedr diagnostisk yield ved diafragmahernie (CDH) er dette belyst i DFMS guideline vedr CDH fra 2021<sup>11</sup>

I guideline fremhæves at CDH oftest ikke er isoleret, men at det kan være vanskeligt prænatalet sikkert at differentiere mellem isolerede og komplekse cases.

I et studie fra 2017 fandt man diagnostisk gevinst på 12% i isolerede cases og 22% i komplekse cases<sup>9</sup>.

I et nyt studie fra 2022 der kun inkluderede komplekse/syndromale cases fandt man en diagnostisk gevinst på 37%<sup>10</sup>

### De føtale NGC-indikationer:

1) Gravid, hvor der hos fosteret i 1. trimester/ tidlig 2. trimester er påvist nakkefold på  $\geq 3,5$  mm og, hvor der ved tidlig misdannelsesskanning i uge ca. 16 fortsat ses nakkeødem eller der påvises yderligere UL-anomalier.

2) Gravid, hvor der hos fosteret i 1. trimester/ tidlig 2. trimester er påvist nakkefold på  $\geq 6,0$  mm

Mellis et al<sup>3</sup> fandt en lav detektionsrate blandt fostre med isoleret stor nakkefold  $\geq 3,5$  mm, hvor der ikke tilkom yderligere misdannelser senere i graviditeten (2/111, 1,8%). Der var en høj detektionsrate blandt fostre med stor nakkefold og yderligere misdannelser på diagnosetidspunktet (12/54, 22,2%) og blandt fostre med stor nakkefold, hvor der tilkom yderligere misdannelser senere i graviditeten (12/37, 32,4%). Endvidere steg detektionsraten med størrelse på nakkefolden.

"...existing body of evidence indicating that once chromosomal abnormalities are excluded, if detailed follow-up scanning demonstrates resolution of the increased NT and the absence of any major abnormalities, then the chance of delivering a healthy infant with no major abnormalities is >95%." (Mellis R et al., BJOG. 2022).

### Rekommandation:

Konstateres isoleret stor nakkefold  $\geq 3,5$  mm tilbydes CVS. Jvf DFMS 1. Trimester guideline og SST retningslinjer anbefales CMA analyse<sup>41, 42</sup>

Ved normalt resultat af CMA tilbydes tidlig gennemscanning. Ved persisterende, isoleret nakkeødem, eller hvis der tilkommer yderligere UL-anomali, tilbydes genomisk udredning. Da Noonan syndrom er en hyppigt forekommende sygdom i denne patientgruppe<sup>43</sup>, kan den diagnostiske analyseplan tilrettes ift. dette.

Ved NF  $\geq 6.0$  mm: Såfremt parret ønsker at fortsætte graviditeten kan man efter normal CMA-analyse tilbyde WGS trio umiddelbart uden forudgående tidlig misdannelsesskanning.

Afbrydes graviditeten på UL-fund alene, bør der være et tilsvarende tilbud (dækkes af NGC-indikation 3).

Studie	N	NT mm	DR %	kommentar
PAGE 2019 <sup>35</sup>	3/93	?	3,2	
Petrovski 2019 <sup>34</sup>	1/32	> 3,5	3,1	
Yang 2020 <sup>44</sup>	1/73	?	1,4	Remained isolated
Xue 2020 <sup>45</sup>	3/24	$\geq 3,4$	12,5	2 havde NT >7,5 mm, derfor det høje yield Ud over 3 LP også 2 VOUS, alle LP $\geq 3,5$
Daum 2019 <sup>46</sup>	12	3,1-8,4	0	
Mellis 2022 <sup>3</sup>	2/111	$\geq 3,5-4,0$	1,8	Remained isolated/resolved
Pauta 2022 <sup>47</sup>	15/309	$\geq 3,5$	4	Syst Rewiew/Metaanalyse 11 studier
Mellis 2022 <sup>4</sup>	14/290	?	4.8	Syst Rewiew/Metaanalyse 9 studier, inkl Mellis 2022 <sup>6</sup>
Fu 2022 <sup>48</sup>	6/121	$\geq 3.5$ mm	5.0	1/6 havde også Cystisk hygrom Single center Sydkina, i alt 1618 cases (565 retrospektive/1053 prospektive)
Scott 2021 <sup>43</sup>	9/34, 21/148	$\geq 6$ mm eller cyst. Hygrom i 2. Trimester	26 / 14	2. Trimester persisterende nakkeødem eller cystisk hygrom. KUN undersøgt for RASopatier
Borrell 2022 <sup>49</sup>	2/16	$\geq 6$ mm eller cyst. Hygrom i 2. Trimester	13	2. Trimester persisterende nakkeødem eller cystisk hygrom
Di Girolamo <sup>2</sup>	25/324	>95 percentil	8.1	Syst Rewiew/Metaanalyse 8 studier, heraf er 6 også inkluderet i Pauta 2022
	11/25	3.0-5.5 mm	44.7	



### 3) Gravid, hvor der hos fosteret er påvist svær væksthæmning før uge 32

Defineret som mindst ét biometrisk mål mindre end  $-3$  SD/Z-score  $< -3$

Denne guideline omfatter den heterogene patientgruppe - fostre med *abnormt små biometrier, diagnosticeret < uge 32*.

Der er desværre en betydelig forvirring og uoverensstemmelse vedr terminologi og definition af væksthæmning, også imellem de forskellige internationale videnskabelige selskaber, og **SGA** (Small for Gestational Age), **FGR** (Fetal Growth Restriction), **IUGR** (Intrauterine Growth Restriction) samt **Placental Insufficiency** anvendes ofte som synonyme og med forskellig definition.

Det amerikanske SMFM anvender 10 centilen, uafhængigt af doppler eller andre UL-anomalier<sup>50</sup>. ISUOG anvender 3 centilen (ca. -22%) uafhængigt af doppler, eller mellem 3 og 10 centilen (ca mellem -15% og -22%) med abnorme Doppler fund tydende på placentainsufficiens – men uden andre UL-anomalier eller syndromer<sup>51</sup>.

Dette sidste er i tiltagende grad udfordret fra flere sider, b.la Barcelona gruppen<sup>52</sup>.

På dansk anvendes udtrykket *væksthæmning* ofte om *for* små fostre = fostre, der ikke har opnået deres genetiske vækstpotentiale, dvs. graviditeter, hvor der er *en årsag* til at fostret har mindre biometriske mål end forventet, f.eks. placentainsufficiens, kromosom/genetisk sygdom infektioner eller maternelle sygdomme (ofte medieret via placentainsufficiens)<sup>53</sup>.

I DFMS Guideline fra 2014 (aktuelt under revision) anvendes følgende terminologi og definition<sup>53</sup>:

- SGA i fravær af erkendte årsager, og FGR ved påviste/formodede årsager – med følgende cut-off:

Og følgende cut-off

- 10 percentilen/-15% som definition på SGA
- 3 percentilen/-22% som svær SGA, og
- 1 percentilen/-33% som en skærpende faktor

Da der er stor heterogenitet i ætiologier og afficerede organsystem(er) i denne gruppe, viser det diagnostisk gain en tilsvarende stor variation som det fremgår af tabellen, fra 4% til 67%

#### **Rekommandation:**

På grund af begrænsningerne i vægtestimering ud fra standardbiometrier, begrænsninger, der især er gældende for genetisk syge fostre, som oftere har abnorme proportioner, er afgrænsningen bestemt af *mindst et biometrisk mål mindre end  $-3$  SD/Z-score  $< -3$* .

Denne population vil dermed også inkludere en del fostre med skeletdysplasi.

Disse diagnoser kan have betydning for den neonatale håndtering, hvorfor også sen diagnose kan være relevant.

Derudover skal andre oplagte årsager til små biometrier være udelukket, herunder aneuploidi/CNV eller infektioner.

Da mange genetiske syndromer også er karakteriseret ved placentainsufficiens<sup>52</sup>, er abnorm Doppler ikke i sig selv en eksklusionsgrund, men må vurderes af føtalmediciner og genetiker case-by-case. Det er for denne patientgruppe særligt vigtigt at der foretages placentahistologi efter fødslen/evt abort.

Studie	Definition	DR % og N	kommentar
Pauta 2023 <sup>52</sup>	Tilsyneladende isoleret FGR = uden andre UL-anomalier. EFW <10 centil +/- doppler eller <3 centil 15/17 cases <U32	11,6 (17/146)	Syst Rewiew/Metaanalyse 8 studier. Normal CMA eller karyotype
Paz y Mino 2023 <sup>54</sup>	Postnatal BW <2,5 SD, Excl placenta insufficiens	11,1 (7/63)	Barcelona case-series: Dx: Noonan, Cockayne S, COFS-1, SGA + mikrocefali, Renpenning S, Silver-Russel S, Prader-Willi S
Mone 2023 <sup>55</sup>	IUGR<10 centil eller "short long bone"s (limits not defined). Isolated or non-isolated vedr misdannelser, +/- placenta insufficiens	Isolated FGR (=plac.): 4,3 (3/70) FGR + anomalies: 29,2 (14/48) Isolated short bones: 41.6 (37/89) Short bones + skeletal dyspl: 66,8 (145/217)	Syst Rewiew / Metaanalyse 19 studier, med oplysninger om både UL-anomalier og doppler
Fu 2022 <sup>48</sup>	Isolated FGR (ikke nærmere defineret)	3,3 (2/61)	Single center Sydkina, i alt 1618 cases (565 retrospektive/1053 prospektive)
Zhou 2022 <sup>56</sup>	Isolated FGR <-2 SD/3rd centile (Hadlock) <U32 uden andre UL-anomalier eller infektion/TORCH. Normal CMA	15,7 (8/51)	Kinesisk single-center
Gabriel 2022 <sup>57</sup>	Isoleret FGR <10 centil	26,9 (7/26)	Tysk multicenterstudie
Mellis 2022 <sup>4</sup>	Isoleret FGR	3,6 (1/28)	Syst Rewiew/Metaanalyse 4 studier med FGR

4) Dødt foster/barn (intrauterin/perinatal død eller pga. spontan- eller provokeret abort), og hvor der er fundet misdannelse/anomali, eller andre fund der giver mistanke om genetisk betinget sygdom. (registreret på moderens cpr.nr)

Definition: Død ved intrauterin/perinatal død eller pga. 2.-3 trimester spontan - eller provokeret abort, hvor der er fundet misdannelse/anomali, eller andre fund, der giver mistanke om genetisk betinget sygdom.

Ved føtal sygdom/misdannelser, der ender med spontan abort/intrauterin- eller neonatal død, er den forventelige diagnostiske gevinst mindst svarende til det, der gælder for den pågældende misdannelse/misdannelser.

Ved spontan abort/intrauterin død må fænotypen forventes at være i den alvorlige ende af spektret, hvilket formentligt øger den diagnostiske gevinst ved WGS/WES.

Ved intrauterin/perinatal død kan der være tale om en række ikke-genetiske årsager, herunder misdannelser (f.eks. kardielle), abruptio, føtomaternel blødning, placentainsufficiens eller infektion. Den primære udredning bør derfor rettes mod at udelukke sådanne årsager.

Ved fortsat uforklarlig fosterdød kan der være indikation for at udelukke metaboliske sygdomme eller genetisk betinget arrytm<sup>58</sup>.

#### **Rekommandation:**

Ved fund af misdannelser/føtal sygdom, hvor udkommet er 2. eller 3. trimester spontan abort intrauterin død eller perinatal død, er der, som hovedregel, indikation for genetisk udredning - inklusiv WGS såfremt primære genetiske udredning med CMA er normal.

*Ved uforklaret intrauterin/perinatal død bør der foretages CMA, obduktion inklusiv placentaundersøgelse, udredning for infektion og - hvis klinisk relevant - udredning for specifikke maternelle tilstande som f.eks. thrombofili. Hvis denne udredning ikke klarlægger dødsårsagen, drøftes sagen mellem føtalmediciner og genetiker mhp. evt. WGS/WES*

*NGC må ikke sekventere prøver fra afdøde, og der kan derfor kun indsendes prøver registreret i moders CPR-nummer.*

- Denne NGC-indikation kan kun anvendes, hvis fosteret er registreret under den gravides cpr-nummer. Det drejer sig derfor om senabortede, ikke levedygtige fostre og om dødfødte.
- Nogle afdelinger har den praksis, at modtages der prøver fra levedygtige, senabortede fostre, som af den grund har fået et cpr-nummer, omregistres prøven til mors cpr-nummer.
- Føtalmedicinere kan som hovedregel rekvirere disse føtale WES-analyser ved efterfødselssamtalen/svar på obduktion, i særlige tilfælde allerede kort efter fødslen.

- Beslutning om, hvorvidt der er indikation for WES tages individuelt på MDT i forbindelse med fremlæggelse af obduktionsrapport.

Studie	Afgrænsning	Detektionsrate % og N	kommentar
Stanley 2020 <sup>59</sup>	Intrauterin død >U20, inkl mistænkt placenta årsag og misdannelser	6,1 (15/246)	
Crotti 2013 <sup>58</sup>	Uforklarlig død, normal obduktion	12,1 (11/91)	KUN LQTS (3) / LQTS kanal assoc (8)
Armes 2018 <sup>60</sup>	Intrauterin- eller perinatal/neonatal død, inkl misdannelser	50,0 (8/16)	

5) Gravid, hvor der hos fosteret er påvist misdannelser herunder:

Skeletanomalier, neuromuskulære sygdomme/føtal akinesi-hypokinesi deformationssekvens (FADS), non-immun hydrops føtalis (NIHF), CNS-misdannelser, diafragma hernie (CDH) eller multiple anomalier – evt. andre udvalgte misdannelser (hjertermisdannelser, udvalgte nyremisdannelser (CAKUT), omfalocel)

– diagnostic yield som angivet under de enkelte organsystemer, se under disse.

Da både danske og internationale erfaringer har vist at der ved en række misdannelser i forskellige organsystemer er et betydeligt diagnostisk gain, er følgende misdannelser nu inkluderet i indikationen for føtal WGS

Skeletanomalier: Der er ved ultralydsfund der tyder på skeletdysplasi et meget højt diagnostisk gain, i Mellis 2022 metaanalyse var det 53%<sup>4</sup>

Neuromuskulære sygdomme / FADS: Også blandt denne heterogene gruppe er der fundet et betydeligt diagnostisk gain på 37% (Mellis 2022)<sup>4</sup>

Non-immun Hydrops Føtalis (NIHF): I denne gruppe var der i Mellis et al. Reviet & metaanalyse med 137 cases et diagnostisk gain på 22%<sup>4</sup>, og i et nyere og større review & metaanalyse med 445 NIHF cases fandt Al-Kouatly et al. Et diagnostisk gain på 37%<sup>5</sup>

CNS misdannelser: Dette er en meget heterogen gruppe, samlet set fandt Mellis i metaanalysen et diagnostisk gain på 17%<sup>4</sup>, I andre studier, b.la. ved isoleret Corpus Callosum agenesi er der fundet diagnostisk gain på mellem 7 og 29% (Baptiste 2022, Heide 2020 og Lei 2022)<sup>6-8</sup>

Diafragmahernie (DDH): To studier af hhv Longoni (2017) og Scott (2022) har fundet et diagnostisk gain på 10-20% ved fund af CDH<sup>9,10</sup>. Samtidigt anbefaler DFMS guideline (2021) at gravide hvis foster har fået påvist CDH bør tilbydes genetisk udredning med WGS<sup>11</sup>

Ved fund af multiple misdannelser og misdannelser i flere organsystemer er der ikke overraskende en øget forekomst af monogene sygdomme og syndromer, og et tilsvarende højt diagnostisk gain på mellem 29% (Mellis 2022)<sup>4</sup> og 33% (pauta 2022)<sup>12</sup>

Endeligt er der ved misdannelser i nogle organsystemer et øget diagnostisk gain ved nogle undertyper af misdannelser. Dette gælder feks ved de alvorligste hjertermisdannelser, major CHD (mCHD), ved nyresygdomme hvor begge nyre er ekkogene, hvor det diagnostiske gain er 50% mod

11% for hele gruppen af CAKUT (Mellis 2022, Deng 2022)<sup>4, 24</sup>, eller ved bugvægsdefekten omfalocele, hvor 10-20% vil have Beckwith-Wiedemanns Syndrom/BWS – en genetisk heterogen sygdom hvor den genetiske diagnose stilles hos ca 80% der har det kliniske syndrom (Schindewolf 2020, Adams 2021)<sup>18, 19</sup>

### **Rekommandation:**

Ved fund af misdannelser i de nævnte organsystemer, eller ved multiple misdannelser / flere afficerede organsystemer vil der som hovedregel være indikation for genetisk udredning - inklusiv WGS såfremt primære genetiske udredning med CMA er normal.

Ved fund af mCHD, omfalocele eller CAKUT at få afklaring i det multidisciplinære team om evt tilbud om udredning med WGS

## **Sektion B: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse**

### **Problemstilling**

Udgangspunktet for en drøftelse med parret, om hvorvidt de ønsker at gå videre med udvidet genetisk diagnostik i form af WES/WGS vil oftest være en situation, hvor der allerede foreligger en normal mikroarray. Efterhånden som WES/WGS bliver bedre til at kalde kopiantalsvariationer, så vil mikroarray blive redundant, såfremt begge analyser planlægges.

Da udvidet genetisk diagnostik med WES/WGS kan medføre en viden, eller have nogle konsekvenser som parret (set i bakspejlet) måske ikke ønsker, bør prætest informationen omfatte nogle fælles temaer:

- Drøftelse med parret om hvad de ønsker at opnå med yderligere genetisk udredning?
- Gennemgå mulige og sandsynlige udfaldsscenerier.
- Gennemgå mulige konsekvenser af abnorme svar for familien.
- Italesætte risikoen for at påvise tilfældighedsfund
- Italesætte, om der er viden, de specifikt IKKE ønsker at få.
- Estimering af hvornår resultatet af analysen kan foreligge
- Drøftelse af om resultatet vil ændre på parrets reproduktive valg, eller give vigtig information i forhold til postnatale forløb og behandling.
- Ved afbrydelse af graviditeten udføres analysen mest hensigtsmæssigt efter aborten.

### **Evidens**

Tilbuddet om prænatal WES/WGS sker i føtalmedicinsk regi ofte efter en længere diagnostisk proces, som er startet med et ultralydsfund. Det vil sige, at patientperspektivet ofte er kendetegnet ved, at der er identificeret anomali hos fosteret, at den diagnostiske proces har varet et stykke tid, og at graviditeten derfor er relativt fremskeden. For den gravide og evt. partner kan et abnormt

ultraljudsfund være chokerende og give anledning til en længere periode, hvor parret er bekymrede over fosterets tilstand, og måske overvejer afbrydelse af graviditeten. Studier viser, at gravide ønsker så meget viden som muligt, og siger ja til prænatal WES/WGS i håbet om enten et normalt resultat, som kan understøtte håbet om en mindre alvorlig tilstand, eller et abnormt resultat, som kan give et bedre beslutningsgrundlag (Quinlan-Jones et al og Wou et al)<sup>61, 62</sup>. I begge studier er deltagerne tilfredse med WES/WGS-viden, også selvom denne ikke kan forklare fosterets tilstand. Enkelte deltagere i Wou et al. udtrykte skuffelse over et normalt resultat<sup>62</sup>, hvilket også er fundet i et mindre, dansk implementeringsstudie (Becher et al)<sup>63</sup>. For begge de internationale studier gælder dog, at der udelukkende rapporteredes fund, der kunne knyttes til fosterets fænotype, og vi har således ikke grundlag for at vurdere deltagerne forståelse af og holdning til andre typer af fund, herunder fund af usikker betydning (VUS) eller tilfældige fund. I begge studier er der op til 12 måneders ventetid på WES/WGS-resultatet, som således ikke er brugt som beslutningsgrundlag i en igangværende graviditet.

### **Klinisk genetisk information – internationale guidelines**

Der foreligger flere studier som forholder sig til patientinformation, herunder præ- og posttestinformation samt analysekvalitet og afrapportering af genetiske varianter.

I et *Joint Position Statement fra ISPD, SMFM og PQF (2018)*<sup>64</sup>, og det efterfølgende *ISPD statement fra 2022*<sup>32</sup> diskuteres brug af genomisk sekventering i prænatal diagnostik. Det understreges, at føtal genomisk analyse bør håndteres i tæt samarbejde mellem eksperter i hhv. klinisk genetik, genomsekventering og føtalmedicin. *ISPD statement fra 2022*<sup>32</sup> skal ses som erstatning for *Joint Position Statement fra 2018* og indeholder hensigtserklæringer vedrørende såvel samtykke, information, indikation som datafortolkning. Det anbefales her at der udføres trio-analyse (foster og begge forældre), som øger chancen for en diagnose. Prætestinformationen anbefales bl.a. at indeholde information om den type af genetiske varianter, som kan påvises og som rapporteres, tidsrammen, risikoen for tilfældighedsfund samt drøftelse af at resultatet kan vise non-paternitet og at analysen vil være baseret på eksisterende viden om genetisk variation og føtale fænotyper<sup>32</sup>. Desuden beskrives forhold vedr. kvalitet og afrapportering samt posttestinformation, herunder at der hovedsagligt udelukkende afrapporteres patogene (klasse 5) og sandsynligt patogene (klasse 4) varianter, som er relevante for den føtale fænotype<sup>32</sup>. Variant af ukendt klinisk betydning (VUS, klasse 3) kan dog afrapporteres, hvis den er nedarvet fra den ene forælder, imens der fra den anden forælder er nedarvet en sikkert patogen variant i et gen, som er associeret med autosomal recessiv sygdom med relevans for fosterets fænotype<sup>32</sup>.

*ACMGs (American College of Medical Genetics and Genomics) statement fra 2020*<sup>65</sup> diskuterer brugen af prænatal WES/WGS. ACMG-artiklen er i store træk enige med 'Joint Position Statement fra ISPD, SMFM og PQF fra 2018'<sup>64</sup> og det nyere *ISPD statement 2022*<sup>32</sup>. De tilføjer dog bl.a. at den genetiske udredning (WES/WGS) er en fænotype-drevet analyse, og det er således afgørende, at rekvirenten oplyser laboratoriet om den præcise fænotype. ACMG studiet<sup>65</sup> anbefaler endvidere at post-test rådgivning tilbydes alle uanset om der påvises klinisk betydende fund og at hvis der ikke

påvises en genetisk årsag til de prænatale fund, bør det understreges at dette ikke udelukker en genetisk diagnose<sup>65</sup>.

### **Sammenfatning:**

Ovenstående internationale guidelines har dannet grundlag for hvilke overvejelser der er relevante for danske forhold, og udmundet i de kliniske rekommendationer der ses i afsnittet 'Resume af evidens: Patientinformation, samtykke og svarafgivelse' på side 6-7.

## Sektion C (tillæg): Kort beskrivelse af WES/WGS metode

Begrebet *next generation sequencing* (NGS) omfatter en række metoder til omfattende sekventering, herunder exomsekventering (*whole exome sequencing*, WES) og helgenomsekventering (*whole genome sequencing*, WGS).

Ved helgenomsekventering fås sekvensen af hele genomet, mens man ved exomsekventering får sekvensen af exons af alle gener samt flankerende intronsekvenser. Udover exom- og helgenomsekventering omfatter NGS også genpanel-analyse, hvor exons og flankerende intronsekvenser af udvalgte gener, fx associerede med skeletdysplasi, sekventeres.

Ved dataanalyse/filtrering af exom- eller helgenomdata kan man vælge at undersøge for sekvensvarianter i alle gener, eller vælge fx kun at søge i alle kendte sygdomsassocierede gener eller mindre genpaneler.

Varianter klassificeres ud fra et 5-trins system, alt efter sandsynlighed for patogenicitet: Benign, sandsynligt benign, variant af usikker betydning (VUS klasse 3), sandsynligt patogen (klasse 4) og patogen (klasse 5). Her kan især VUS'er være en udfordring, idet det langt fra altid er muligt at foretage yderligere undersøgelser, fx funktionelle analyser, for at belyse betydningen af varianten. WES kan detektere enkeltnukleotidvarianter (SNV), men ikke intronvarianter og større deletioner og duplikationer (CNV). Derfor bør CMA altid udføres før WES. Da CNV'er og strukturelle varianter kan detekteres med WGS, regner man med, at denne analyse på sigt erstatter CMA+WES. Tekniske begrænsninger for både WES og WGS indebærer at repeat-expansions, 1-2 exon-deletioner inden for gener og SNV'er i dårligt dækkede regioner ikke detekteres. Disse forhold indebærer, at et normalt resultat efter prænatal WES/WGS reducerer, men ikke eliminerer risikoen for en genetisk sygdom hos et foster med misdannelser.

### Kodning og registrering

Graviditet med øget risiko for genetisk afvigelse	DZ358N
Hel eller partiel autosomal trisomi UNS	DQ929
Autosomal kromosomdeletion UNS	DQ939

Af DFMS WGS guideline fra 2018 fremgår at det endelige (tolknings) resultat af perinatal WES/WGS bør indtastes i Astraia<sup>66</sup>, jvf DFMS anbefaling af registrering af andre perinatale genetiske resultater<sup>27, 42</sup>

Det blev på Guidelinemødet 27-28. April 2023 diskutret at etablere en central registrering af tolkningsresultaterne. Dette arbejde fortsætter i arbejdsgruppen

I Astraia kan man allerede i version 1.27 (også muligt i ver 29) registrere resultatet af sekventeringsanalyser, inkl WGS/WES registreres i sektionen hvor også karyotype- og CMA resultater registreres, se screendumps nedenfor:

Man kan i feltet *Detaljer* skrive supplerende oplysninger vedr WGS resultatet (analogt med tilsvarende felt for array/CMA), feks OMIM# ved fund af syndrom



**Føtal**

Karyotype    Fosterblod    Fostervand    Genetiske undersøgelser

Anmodet     Resultat

**Karyotype**

Prøve  Prøve nr.

Rapid result

Karyotype

Microarray

Sekventering    Type     Resultat

Detaljer

Kleihauer  %

Mosaik  %

Høsttidspunkt  dage

Patient ønsker at vide barnets køn

Type (Det er nedenstående der kan registreres i FØTO)

- Helgenom sekventering
- Exom sekventering
- Panel
- Sanger

Resultat (Det er nedenstående der kan registreres i FØTO)

- normal
- Primært fund, klasse 5 eller 4
- Sekundært fund klasse 5 eller 4
- Primært og sekundært fund klasse 5 eller 4
- Andet

## Referenceliste

1. Pedersen LH, Becher N, Gadsboll K, Hjortshoj TD, Lou S, Miltoft CB, Sperling L, Topping P, Ostergaard E, Petersen OB. Anvendelse af exom-sekventering (WES) og helgenom-sekventering (WGS) i prænatal diagnostik. In *DFMS Guideline*. DFMS (ed). DFMS, 2021.
2. Di Girolamo R, Rizzo G, Khalil A, Alameddine S, Lisi G, Liberati M, Novelli A, D'Antonio F. Whole exome sequencing in fetuses with isolated increased nuchal translucency: a systematic review and meta-analysis. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet* 2023; **36**: 2193285.
3. Mellis R, Eberhardt RY, Hamilton SJ, Consortium P, McMullan DJ, Kilby MD, Maher ER, Hurles ME, Giordano JL, Aggarwal V, Goldstein DB, Wapner RJ, Chitty LS. Fetal exome sequencing for isolated increased nuchal translucency: should we be doing it? *BJOG* 2022; **129**: 52-61.
4. Mellis R, Oprych K, Scotchman E, Hill M, Chitty LS. Diagnostic yield of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: A systematic review and meta-analysis. *Prenatal diagnosis* 2022; **42**: 662-685.
5. Al-Kouatly HB, Shivashankar K, Mossayebi MH, Makhamreh M, Critchlow E, Gao Z, Fasehun LK, Alkuraya FS, Ryan EE, Hegde M, Wodoslawsky S, Hughes J, Berger SI. Diagnostic yield from prenatal exome sequencing for non-immune hydrops fetalis: A systematic review and meta-analysis. *Clin Genet* 2023; **103**: 503-512.
6. Baptiste C, Mellis R, Aggarwal V, Lord J, Eberhardt R, Kilby MD, Maher ER, Wapner R, Giordano J, Chitty L. Fetal central nervous system anomalies: When should we offer exome sequencing? *Prenatal diagnosis* 2022; **42**: 736-743.
7. Heide S, Spentchian M, Valence S, Buratti J, Mach C, Lejeune E, Olin V, Massimello M, Lehalle D, Mouthon L, Whalen S, Faudet A, Mignot C, Garel C, Blondiaux E, Lefebvre M, Quenum-Miraillet G, Chantot-Bastarud S, Milh M, Bretelle F, Portes VD, Guibaud L, Putoux A, Tsatsaris V, Spodenkiewicz M, Layet V, Dard R, Mandelbrot L, Guet A, Moutton S, Gorce M, Nizon M, Vincent M, Beneteau C, Rocchisanni MA, Benachi A, Saada J, Attie-Bitach T, Guilbaud L, Maurice P, Friszer S, Jouannic JM, de Villemeur TB, Moutard ML, Keren B, Heron D. Prenatal exome sequencing in 65 fetuses with abnormality of the corpus callosum: contribution to further diagnostic delineation. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2020; **22**: 1887-1891.
8. Lei TY, She Q, Fu F, Zhen L, Li R, Yu QX, Wang D, Li YS, Cheng K, Zhou H, Yang X, Pan M, Li DZ, Liao C. Prenatal exome sequencing in fetuses with callosal anomalies. *Prenatal diagnosis* 2022; **42**: 744-752.
9. Longoni M, High FA, Qi H, Joy MP, Hila R, Coletti CM, Wynn J, Loscertales M, Shan L, Bult CJ, Wilson JM, Shen Y, Chung WK, Donahoe PK. Genome-wide enrichment of damaging de novo variants in patients with isolated and complex congenital diaphragmatic hernia. *Hum Genet* 2017; **136**: 679-691.
10. Scott TM, Campbell IM, Hernandez-Garcia A, Lalani SR, Liu P, Shaw CA, Rosenfeld JA, Scott DA. Clinical exome sequencing data reveal high diagnostic yields for congenital diaphragmatic hernia plus (CDH+) and new phenotypic expansions involving CDH. *J Med Genet* 2022; **59**: 270-278.
11. Bak G, Fagerberg C, Jepsen S, Lausten-Thomsen U, Larsen UL, Mortensen S, Poulsen S, Rask M, Rasmussen L, Sogaard K, Thorup J, Tørring P, Quist N, Sperling L. DFMS Guideline: Medfødt diafragmahernie = Congenital Diaphragmatic Hernia (CDH). <https://static1.squarespace.com/static/5d8120d60fe9717b4299a867/t/60ca29de5bfd550cab75c54/1623861738233/DFMS+guideline+om+CDH+2021-version2.pdf>].
12. Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Borrell A. Diagnostic yield of exome sequencing in fetuses with multisystem malformations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2022; **59**: 715-722.
13. van Nesselrooij AEL, Lugthart MA, Clur SA, Linskens IH, Pajkrt E, Rammeloo LA, Rozendaal L, Blom NA, van Lith JMM, Knecht AC, Hoffer MJV, Aten E, Santen GWE, Haak MC. The prevalence of genetic

diagnoses in fetuses with severe congenital heart defects. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2020; **22**: 1206-1214.

14. Li M, Ye B, Chen Y, Gao L, Wu Y, Cheng W. Analysis of genetic testing in fetuses with congenital heart disease of single atria and/or single ventricle in a Chinese prenatal cohort. *BMC Pediatr* 2023; **23**: 577.
15. Mone F, Eberhardt RY, Morris RK, Hurles ME, McMullan DJ, Maher ER, Lord J, Chitty LS, Giordano JL, Wapner RJ, Kilby MD, Collaborators CS. COngenital heart disease and the Diagnostic yield with Exome sequencing (CODE) study: prospective cohort study and systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021; **57**: 43-51.
16. Qiao F, Wang Y, Zhang C, Zhou R, Wu Y, Wang C, Meng L, Mao P, Cheng Q, Luo C, Hu P, Xu Z. Comprehensive evaluation of genetic variants using chromosomal microarray analysis and exome sequencing in fetuses with congenital heart defect. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021; **58**: 377-387.
17. Vedel C, Andersen H, Barken S, Bjerre JV, Christensen PS, Christiansen M, Gjørup V, Harmsen L, Jensen AN, Lousen T, Nyborg K, Petersen OB, Sinding MM, Sperling L, Steensberg J, Vejlstrop NG, Ekelund CK. DFMS Statusdokument: Isoleret muskulær VSD og association med genetiske afvigelser. [https://www.dfms.dk/s/Statusdokument\\_isoleret-mVSD-2.docx](https://www.dfms.dk/s/Statusdokument_isoleret-mVSD-2.docx)].
18. Adams AD, Stover S, Rac MW. Omphalocele-What should we tell the prospective parents? *Prenatal diagnosis* 2021; **41**: 486-496.
19. Schindewolf E, Moldenhauer JS. Genetic counseling for fetal gastrointestinal anomalies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2020; **32**: 134-139.
20. Brioude F, Kalish JM, Mussa A, Foster AC, Bliiek J, Ferrero GB, Boonen SE, Cole T, Baker R, Bertolotti M, Cocchi G, Coze C, De Pellegrin M, Hussain K, Ibrahim A, Kilby MD, Krajewska-Walasek M, Kratz CP, Ladusans EJ, Lapunzina P, Le Bouc Y, Maas SM, Macdonald F, Ounap K, Peruzzi L, Rossignol S, Russo S, Shipster C, Skorka A, Tatton-Brown K, Tenorio J, Tortora C, Gronskov K, Netchine I, Hennekam RC, Prawitt D, Tumer Z, Eggermann T, Mackay DJG, Riccio A, Maher ER. Expert consensus document: Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol* 2018; **14**: 229-249.
21. Olesen AW, Fagerberg C, Farlie R, Grønskov K, Harmsen L, Hornstrup LS, Husby S, Kjelgaard AL, Kvist PK, Larsen UL, Lausten-Thomsen U, Rask MT, Rasmussen L, Tørring P, Poulsen S, Qvist N, Sperling L. DFMS Omfaloccele guideline. [https://static1.squarespace.com/static/5d8120d60fe9717b4299a867/t/6422c2febba0fb785113a660/167999744238/Omfaloccele+guideline++2023\\_final\\_AWO+140323.pdf](https://static1.squarespace.com/static/5d8120d60fe9717b4299a867/t/6422c2febba0fb785113a660/167999744238/Omfaloccele+guideline++2023_final_AWO+140323.pdf) 2022].
22. Shi X, Tang H, Lu J, Yang X, Ding H, Wu J. Prenatal genetic diagnosis of omphalocele by karyotyping, chromosomal microarray analysis and exome sequencing. *Ann Med* 2021; **53**: 1285-1291.
23. Que Y, Cai M, Yang F, Ji Q, Zhang S, Huang W, Gao Y, Zhou B, Huang H, Cao H, Lin N. Ultrasonographic characteristics, genetic features, and maternal and fetal outcomes in fetuses with omphalocele in China: a single tertiary center study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2023; **23**: 679.
24. Deng L, Liu Y, Yuan M, Meng M, Yang Y, Sun L. Prenatal diagnosis and outcome of fetal hyperechogenic kidneys in the era of antenatal next-generationsequencing. *Clin Chim Acta* 2022; **528**: 16-28.
25. Mone F, Quinlan-Jones E, Ewer AK, Kilby MD. Exome sequencing in the assessment of congenital malformations in the fetus and neonate. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2019; **104**: F452-F456.
26. Daniel A, Athayde N, Ogle R, George AM, Michael J, Pertile MD, Bryan J, Jammu V, Trudinger BJ. Prospective ranking of the sonographic markers for aneuploidy: data of 2143 prenatal cytogenetic diagnoses referred for abnormalities on ultrasound. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2003; **43**: 16-26.
27. Vogel I, Fagerberg C, Bache I, Ekelund C, Hoseth E, Nørgaard LN, Sperling L, Skibsted L, Tabor A, Petersen OB. Prænatal kromosom mikroarray analyse (CMA). [https://www.dfms.dk/s/kromosom\\_mikro\\_array-2018-Final-rundsendt\\_090118.pdf](https://www.dfms.dk/s/kromosom_mikro_array-2018-Final-rundsendt_090118.pdf) 2018].

28. Srebniak MI, Diderich KE, Joosten M, Govaerts LC, Knijnenburg J, de Vries FA, Boter M, Lont D, Knapen MF, de Wit MC, Go AT, Galjaard RJ, Van Opstal D. Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs. *Eur J Hum Genet* 2016; **24**: 645-651.
29. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012; **367**: 2175-2184.
30. Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP, Coppinger J, Bandholz AM, Ellison JW, Ravnan JB, Torchia BS, Ballif BC, Fisher AJ. Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenatal diagnosis* 2012; **32**: 986-995.
31. Fiorentino F, Napoletano S, Caiazza F, Sessa M, Bono S, Spizzichino L, Gordon A, Nuccitelli A, Rizzo G, Baldi M. Chromosomal microarray analysis as a first-line test in pregnancies with a priori low risk for the detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Eur J Hum Genet* 2013; **21**: 725-730.
32. Van den Veyver IB, Chandler N, Wilkins-Haug LE, Wapner RJ, Chitty LS, Directors IBo. International Society for Prenatal Diagnosis Updated Position Statement on the use of genome-wide sequencing for prenatal diagnosis. *Prenatal diagnosis* 2022; **42**: 796-803.
33. Best S, Wou K, Vora N, Van der Veyver IB, Wapner R, Chitty LS. Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing. *Prenatal diagnosis* 2018; **38**: 10-19.
34. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, Stosic M, Wou K, Bier L, Spiegel E, Brennan K, Stong N, Jobanputra V, Ren Z, Zhu X, Mebane C, Nahum O, Wang Q, Kamalakaran S, Malone C, Anyane-Yeboah K, Miller R, Levy B, Goldstein DB, Wapner RJ. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet* 2019; **393**: 758-767.
35. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, Rinck G, Hamilton SJ, Quinlan-Jones E, Prigmore E, Keelagher R, Best SK, Carey GK, Mellis R, Robart S, Berry IR, Chandler KE, Cilliers D, Cresswell L, Edwards SL, Gardiner C, Henderson A, Holden ST, Homfray T, Lester T, Lewis RA, Newbury-Ecob R, Prescott K, Quarrell OW, Ramsden SC, Roberts E, Tapon D, Tooley MJ, Vasudevan PC, Weber AP, Wellesley DG, Westwood P, White H, Parker M, Williams D, Jenkins L, Scott RH, Kilby MD, Chitty LS, Hurles ME, Maher ER, Prenatal Assessment of G, Exomes C. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet* 2019; **393**: 747-757.
36. Firth HV, Wright CF, Study DDD. The Deciphering Developmental Disorders (DDD) study. *Dev Med Child Neurol* 2011; **53**: 702-703.
37. Wright CF, Fitzgerald TW, Jones WD, Clayton S, McRae JF, van Kogelenberg M, King DA, Ambridge K, Barrett DM, Bayzatinova T, Bevan AP, Bragin E, Chatzimichali EA, Gribble S, Jones P, Krishnappa N, Mason LE, Miller R, Morley KI, Parthiban V, Prigmore E, Rajan D, Sifrim A, Swaminathan GJ, Tivey AR, Middleton A, Parker M, Carter NP, Barrett JC, Hurles ME, FitzPatrick DR, Firth HV, study DDD. Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. *Lancet* 2015; **385**: 1305-1314.
38. Chandler N, Best S, Hayward J, Faravelli F, Mansour S, Kivuva E, Tapon D, Male A, DeVile C, Chitty LS. Rapid prenatal diagnosis using targeted exome sequencing: a cohort study to assess feasibility and potential impact on prenatal counseling and pregnancy management. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2018; **20**: 1430-1437.
39. Zhou X, Chandler N, Deng L, Zhou J, Yuan M, Sun L. Prenatal diagnosis of skeletal dysplasias using a targeted skeletal gene panel. *Prenatal diagnosis* 2018; **38**: 692-699.
40. Normand EA, Braxton A, Nassef S, Ward PA, Vetrini F, He W, Patel V, Qu C, Westerfield LE, Stover S, Dharmadhikari AV, Muzny DM, Gibbs RA, Dai H, Meng L, Wang X, Xiao R, Liu P, Bi W, Xia F, Walkiewicz M, Van den Veyver IB, Eng CM, Yang Y. Clinical exome sequencing for fetuses with ultrasound abnormalities and a suspected Mendelian disorder. *Genome Med* 2018; **10**: 74.
41. Sundhedsstyrelsen. Retningslinjer for fosterdiagnostik: Prænatal information, risikovurdering, raadgivning og diagnostik. <https://www.sst.dk/da/Udgivelser/2020/Retningslinjer-for-fosterdiagnostik>.]

42. Petersen OB, Ekelund C, Tabor A, Sundberg K. DFMS Arbejdsgruppe: 1. Trimester skanning inkl. nakkefoldskanning og risikovurdering for kromosomsygdom. [https://static1.squarespace.com/static/5d8120d60fe9717b4299a867/t/5f6359e284a42938957efab6/1600346636975/1\\_trim\\_ny-rundsendt-150118-justeret+16-09-2020.pdf](https://static1.squarespace.com/static/5d8120d60fe9717b4299a867/t/5f6359e284a42938957efab6/1600346636975/1_trim_ny-rundsendt-150118-justeret+16-09-2020.pdf) 2018].
43. Scott A, Di Giosaffatte N, Pinna V, Daniele P, Corno S, D'Ambrosio V, Andreucci E, Marozza A, Sirchia F, Tortora G, Mangiameli D, Di Marco C, Romagnoli M, Donati I, Zonta A, Grosso E, Naretto VG, Mastromoro G, Versacci P, Pantaleoni F, Radio FC, Mazza T, Damante G, Papi L, Mattina T, Giacotti A, Pizzuti A, Laberge AM, Tartaglia M, Delrue MA, De Luca A. When to test fetuses for RASopathies? Proposition from a systematic analysis of 352 multicenter cases and a postnatal cohort. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2021; **23**: 1116-1124.
44. Yang X, Huang LY, Pan M, Xu LL, Zhen L, Han J, Li DZ. Exome sequencing improves genetic diagnosis of fetal increased nuchal translucency. *Prenatal diagnosis* 2020; **40**: 1426-1431.
45. Xue S, Yan H, Chen J, Li N, Wang J, Liu Y, Zhang H, Li S, Zhang W, Chen D, Chen M. Genetic Examination for Fetuses with Increased Fetal Nuchal Translucency by Genomic Technology. *Cytogenetic and genome research* 2020; **160**: 57-62.
46. Daum H, Meiner V, Elpeleg O, Harel T, collaborating a. Fetal exome sequencing: yield and limitations in a tertiary referral center. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2019; **53**: 80-86.
47. Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Borrell A. Diagnostic yield of next-generation sequencing in fetuses with isolated increased nuchal translucency: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2022; **59**: 26-32.
48. Fu F, Li R, Yu Q, Wang D, Deng Q, Li L, Lei T, Chen G, Nie Z, Yang X, Han J, Pan M, Zhen L, Zhang Y, Jing X, Li F, Li F, Zhang L, Yi C, Li Y, Lu Y, Zhou H, Cheng K, Li J, Xiang L, Zhang J, Tang S, Fang P, Li D, Liao C. Application of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: clinical experience and lessons learned from a cohort of 1618 fetuses. *Genome Med* 2022; **14**: 123.
49. Borrell A, Pauta M, Borobio V, Laura G. OC07.08: Diagnostic yield of a targeted next-generation sequencing gene panel in fetuses with persistent nuchal fold/hygroma or hydrops. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2022; **60**: 23-23.
50. Society for Maternal-Fetal Medicine . Electronic address pso, Martins JG, Biggio JR, Abuhamad A. Society for Maternal-Fetal Medicine Consult Series #52: Diagnosis and management of fetal growth restriction: (Replaces Clinical Guideline Number 3, April 2012). *Am J Obstet Gynecol* 2020; **223**: B2-B17.
51. Lees CC, Stampalija T, Baschat A, da Silva Costa F, Ferrazzi E, Figueras F, Hecher K, Kingdom J, Poon LC, Salomon LJ, Unterscheider J. ISUOG Practice Guidelines: diagnosis and management of small-for-gestational-age fetus and fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2020; **56**: 298-312.
52. Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Meler E, Otano J, Borrell A. Diagnostic yield of exome sequencing in isolated fetal growth restriction: Systematic review and meta-analysis. *Prenatal diagnosis* 2023; **43**: 596-604.
53. Gjerris A-C, Shalmi A-C, Zizzo AR, Ekelund C, Schmiegelow C, Hoseth E, Kirkegaard I, Tharin JH, Wøjdemann K, Petersen NG, Sandager P, Zingenberg H, Westergaard HB. IUGR. Sandbjerg guideline 2014. <https://www.dfms.dk/s/IUGRguideline2014-16-3-14.pdf>].
54. Paz YMMF, Pauta M, Meler E, Matas I, Mazarico E, Camacho A, Segura M, Figueras F, Borrell A. Postnatal genetic and neurodevelopmental assessment in infants born at term with severely low birth weight of non-placental origin. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2023; **62**: 361-368.
55. Mone F, Mellis R, Gabriel H, Baptiste C, Giordano J, Wapner R, Chitty LS. Should we offer prenatal exome sequencing for intrauterine growth restriction or short long bones? A systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2023; **228**: 409-417 e404.
56. Zhou H, Fu F, Wang Y, Li R, Li Y, Cheng K, Huang R, Wang D, Yu Q, Lu Y, Lei T, Yang X, Liao C. Genetic causes of isolated and severe fetal growth restriction in normal chromosomal microarray analysis. *Int J Gynaecol Obstet* 2023; **161**: 1004-1011.

57. Gabriel H, Korinth D, Ritthaler M, Schulte B, Battke F, von Kaisenberg C, Wustemann M, Schulze B, Friedrich-Frekxa A, Pfeiffer L, Entezami M, Schroer A, Burger J, Schwaibold EMC, Lebek H, Biskup S. Trio exome sequencing is highly relevant in prenatal diagnostics. *Prenatal diagnosis* 2022; **42**: 845-851.
58. Crotti L, Tester DJ, White WM, Bartos DC, Insolia R, Besana A, Kunic JD, Will ML, Velasco EJ, Bair JJ, Ghidoni A, Cetin I, Van Dyke DL, Wick MJ, Brost B, Delisle BP, Facchinetti F, George AL, Schwartz PJ, Ackerman MJ. Long QT syndrome-associated mutations in intrauterine fetal death. *JAMA* 2013; **309**: 1473-1482.
59. Stanley KE, Giordano J, Thorsten V, Buchovecky C, Thomas A, Ganapathi M, Liao J, Dharmadhikari AV, Revah-Politi A, Ernst M, Lippa N, Holmes H, Povysil G, Hostyk J, Parker CB, Goldenberg R, Saade GR, Dudley DJ, Pinar H, Hogue C, Reddy UM, Silver RM, Aggarwal V, Allen AS, Wapner RJ, Goldstein DB. Causal Genetic Variants in Stillbirth. *N Engl J Med* 2020; **383**: 1107-1116.
60. Armes JE, Williams M, Price G, Wallis T, Gallagher R, Matsika A, Joy C, Galea M, Gardener G, Leach R, Swagemakers SM, Tearle R, Stubbs A, Harraway J, van der Spek PJ, Venter DJ. Application of Whole Genome Sequencing Technology in the Investigation of Genetic Causes of Fetal, Perinatal, and Early Infant Death. *Pediatr Dev Pathol* 2018; **21**: 54-67.
61. Quinlan-Jones E, Hillman SC, Kilby MD, Greenfield SM. Parental experiences of prenatal whole exome sequencing (WES) in cases of ultrasound diagnosed fetal structural anomaly. *Prenatal diagnosis* 2017; **37**: 1225-1231.
62. Wou K, Weitz T, McCormack C, Wynn J, Spiegel E, Giordano J, Wapner RJ, Chung WK. Parental perceptions of prenatal whole exome sequencing (PPPWES) study. *Prenatal diagnosis* 2018; **38**: 801-811.
63. Becher N, Andreasen L, Sandager P, Lou S, Petersen OB, Christensen R, Vogel I. Implementation of exome sequencing in fetal diagnostics-Data and experiences from a tertiary center in Denmark. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2020; **99**: 783-790.
64. International Society for Prenatal D, Society for M, Fetal M, Perinatal Quality F. Joint Position Statement from the International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), the Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), and the Perinatal Quality Foundation (PQF) on the use of genome-wide sequencing for fetal diagnosis. *Prenatal diagnosis* 2018; **38**: 6-9.
65. Monaghan KG, Leach NT, Pekarek D, Prasad P, Rose NC, Practice AP, Guidelines C. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2020; **22**: 675-680.
66. Becher N, Miltoft CB, Pedersen LH, Petersen OB, Vogel I. Whole Exome Sequencing in Prenatal Diagnostics. [https://www.dfms.dk/s/Exom\\_rundsendt\\_100118.pdf](https://www.dfms.dk/s/Exom_rundsendt_100118.pdf) 2018].

## Appendiks 1: COI for forfattere og reviewere

### *Forfattere:*

Balslev-Harder, Marie	Ingen COI
Becher, Naja	Ingen COI
Hjortshøj, Tina D.	Ingen COI
Hoseth, Eva	Ingen COI
Hvidbjerg, Marie Skov	Ingen COI
Karstensen, Helena G.	Ingen COI
Lou, Stina	Ingen COI
Pedersen, Lars H.	Ingen COI
Petersen, Olav Bjørn	Ingen COI
Roos, Laura	Ingen COI
Sperling, Lene	Ingen COI
Tørring, Pernille M.	Ingen COI
Vogel, Ida	Ingen COI

## Appendiks 2: Søgeprofiler og link til excel-ark med referencer

### *Indikationer og diagnostisk udbytte ved WES/WGS:*

Der blev søgt på Pubmed med følgende søgestreng: ((prenatal) AND (ultrasound)) AND (and exome) og ekskluderet artikler fra før 2011, hvorved der fremkom 244 studier, hvoraf et studie fremgik to gange. Titler og abstracts blev screenet af to fra gruppen (EØ og CBM) ud fra relevans, og studier med case reports under 6 patienter blev ekskluderet. Ved uoverensstemmelse blev titel og abstract læst og vurderet igen. I alt 169 studier blev frasorteret og de tilbageværende 74 studier blev fordelt mellem gruppen til vurdering ud fra fuldtekst.

I forbindelse med 2023 er ovenstående søgning gentaget, suppleret med (genome sequencing), der er desuden suppleret med kædesøgning. I forbindelse med revisionen er de nye artikler gennemgået af IV, LHP, NB og OBP

### *Patientinformation, samtykke og svarafgivelse*

Der blev søgt på Pubmed med følgende søgestreng: (((("Exome"[MAJR]) OR ("Whole Exome Sequencing"[MAJR])) AND (counseling, genetic[MeSH Terms])) AND (prenatal diagnosis[MeSH Terms])). SL og NB har screenet de fremkomne 15 artikler og heraf udvalgt 5 artikler ud fra relevans, inkl 2 artikler som er joint position/guidelines fra 2 internationale selskaber (hhv ACMG og ISPD).

**Som led i opdateringen har vi udarbejdet et excel-ark som oversigt over relevant litteratur, inkl centrale resultater og PubMed-link til artiklerne:**

Excel-arket kan hentes via dette link:

Opdateret ark (93 refs)

[https://koala-whale-nk8c.squarespace.com/s/Indikationer-og-litt-for-pES\\_pGS\\_Apr\\_2024.xlsx](https://koala-whale-nk8c.squarespace.com/s/Indikationer-og-litt-for-pES_pGS_Apr_2024.xlsx)

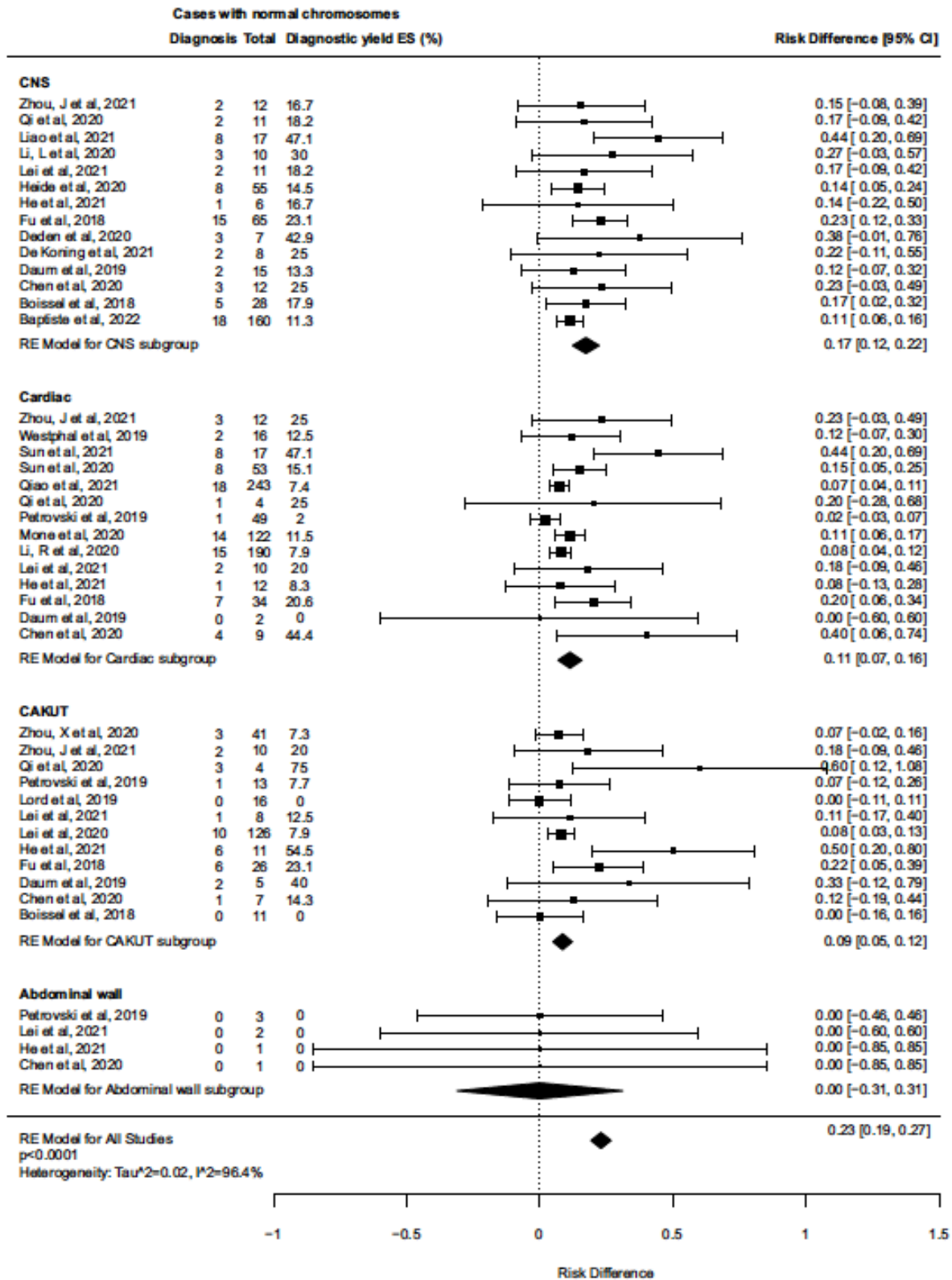
Oprindelige excel-ark fra maj 2023 (80 refs):

[https://www.dfms.dk/s/Indikationer-og-litt-for-pES\\_pGS\\_Maj\\_2023.xlsx](https://www.dfms.dk/s/Indikationer-og-litt-for-pES_pGS_Maj_2023.xlsx)



Appendiks 3: Forest plots vedr diagn udbytte pr organsystem.

Fra Mellis 2022<sup>4</sup> Gengivet med tilladelse fra seniorforfatter (L Chitty) og forlag (Wiley)

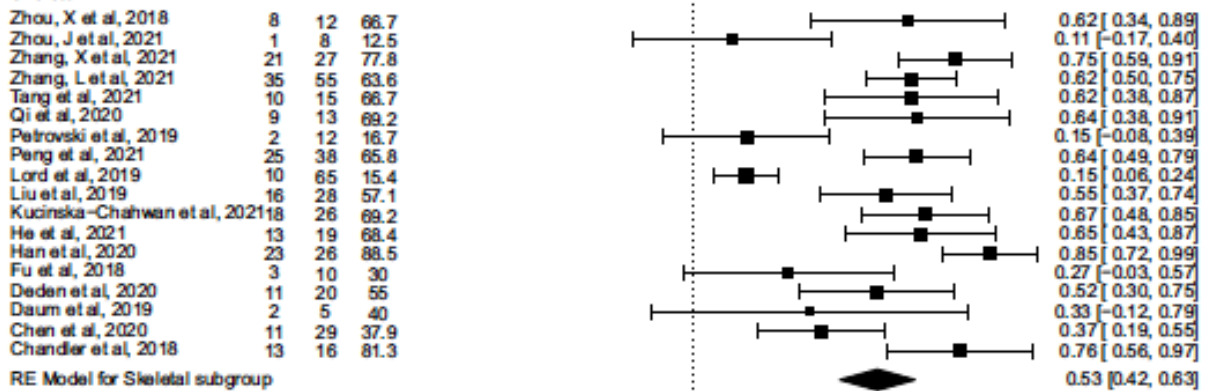


Cases with normal chromosomes

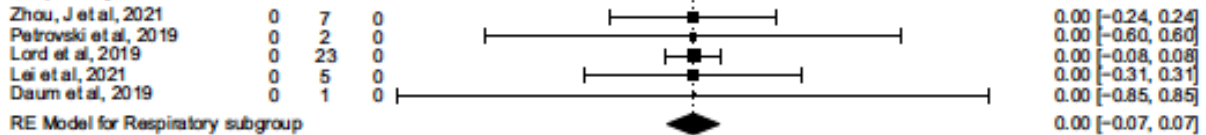
Diagnosis Total Diagnostic yield ES (%)

Risk Difference [95% CI]

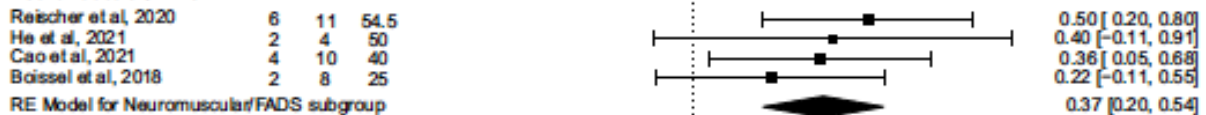
**Skeletal**



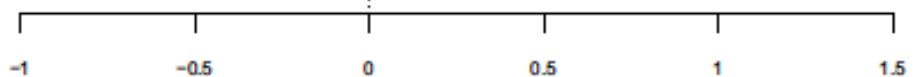
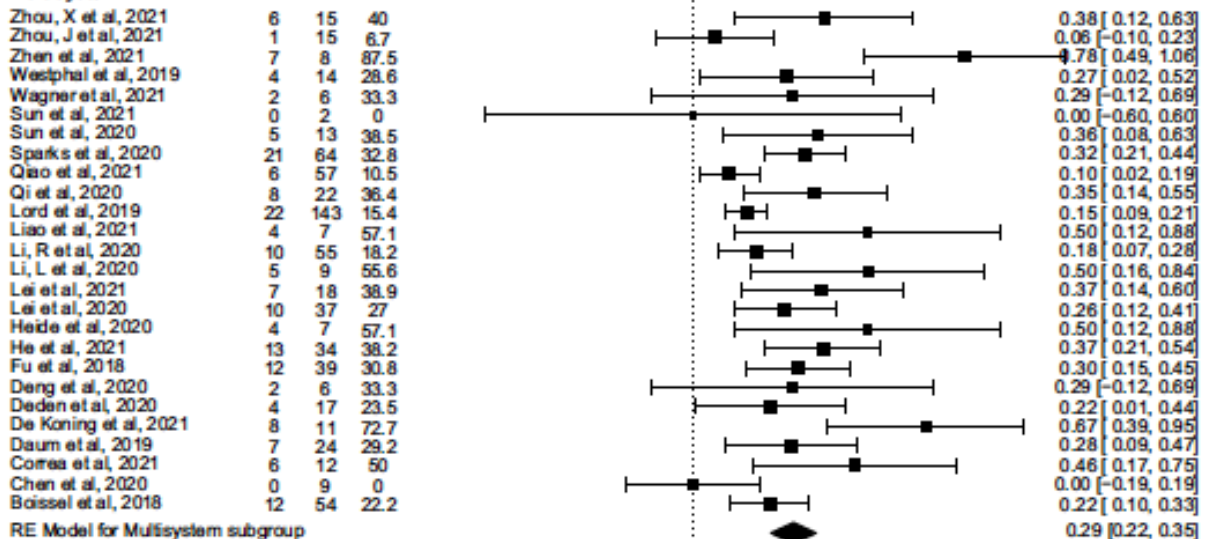
**Respiratory**



**Neuromuscular/FADS**



**Multisystem**



Risk Difference

Cases with normal chromosomes

Diagnosis Total Diagnostic yield ES (%)

Risk Difference [95% CI]

Isolated increased NT

Author	Diagnosis	Total	Diagnostic yield ES (%)	Risk Difference [95% CI]
Yang et al, 2020	1	57	1.8	0.02 [-0.03, 0.06]
Xue et al, 2020	3	24	12.5	0.12 [-0.03, 0.27]
Sparks et al, 2020	1	15	6.7	0.06 [-0.10, 0.23]
Qi et al, 2020	1	8	12.5	0.11 [-0.17, 0.40]
Mellis et al, 2021	2	111	1.8	0.02 [-0.01, 0.05]
Lai et al, 2021	3	8	37.5	0.33 [-0.02, 0.69]
Daum et al, 2019	0	12	0	0.00 [-0.15, 0.15]
Choy et al, 2019	3	29	10.3	0.10 [-0.02, 0.22]
Chen et al, 2020	0	26	0	0.00 [-0.07, 0.07]
RE Model for Isolated increased NT subgroup				0.02 [0.00, 0.05]

Hydrops/Oedema

Author	Diagnosis	Total	Diagnostic yield ES (%)	Risk Difference [95% CI]
Zhou, X et al, 2021	4	13	30.8	0.29 [0.02, 0.55]
Zhou, J et al, 2021	2	13	15.4	0.14 [-0.08, 0.37]
Wagner et al, 2021	5	9	55.6	0.50 [0.16, 0.84]
Sparks et al, 2020	15	48	31.3	0.31 [0.17, 0.44]
Qi et al, 2020	2	8	25	0.22 [-0.11, 0.55]
Petrovski et al, 2019	2	5	40	0.33 [-0.12, 0.79]
Mone et al, 2021	3	14	21.4	0.20 [-0.03, 0.43]
Lai et al, 2021	0	2	0	0.00 [-0.60, 0.60]
He et al, 2021	0	1	0	0.00 [-0.85, 0.85]
Deng et al, 2020	1	15	6.7	0.06 [-0.10, 0.23]
Daum et al, 2019	1	2	50	0.33 [-0.37, 1.04]
Correa et al, 2021	2	7	28.6	0.25 [-0.11, 0.61]
RE Model for Hydrops/Oedema subgroup				0.22 [0.14, 0.31]

Gastrointestinal

Author	Diagnosis	Total	Diagnostic yield ES (%)	Risk Difference [95% CI]
Zhou, J et al, 2021	0	5	0	0.00 [-0.31, 0.31]
Petrovski et al, 2019	0	6	0	0.00 [-0.27, 0.27]
Lord et al, 2019	1	45	2.2	0.02 [-0.04, 0.08]
Lai et al, 2021	0	1	0	0.00 [-0.85, 0.85]
Chen et al, 2020	0	3	0	0.00 [-0.46, 0.46]
RE Model for GI subgroup				0.02 [-0.04, 0.08]

Fetal growth restriction

Author	Diagnosis	Total	Diagnostic yield ES (%)	Risk Difference [95% CI]
Zhou, J et al, 2021	1	14	7.1	0.07 [-0.11, 0.24]
Qi et al, 2020	0	5	0	0.00 [-0.31, 0.31]
Petrovski et al, 2019	0	5	0	0.00 [-0.31, 0.31]
Lai et al, 2021	0	4	0	0.00 [-0.37, 0.37]
RE Model for Fetal growth restriction subgroup				0.04 [-0.09, 0.17]

Craniofacial

Author	Diagnosis	Total	Diagnostic yield ES (%)	Risk Difference [95% CI]
Zhou, J et al, 2021	1	6	16.7	0.14 [-0.22, 0.50]
Zhen et al, 2021	1	5	20	0.17 [-0.24, 0.58]
Zhang, F et al, 2021	2	12	16.7	0.15 [-0.08, 0.39]
Qi et al, 2020	0	4	0	0.00 [-0.37, 0.37]
Petrovski et al, 2019	0	3	0	0.00 [-0.46, 0.46]
Lord et al, 2019	1	32	3.1	0.03 [-0.05, 0.11]
Lai et al, 2021	1	9	11.1	0.10 [-0.16, 0.36]
He et al, 2021	3	6	50	0.43 [0.01, 0.85]
Fu et al, 2018	4	17	23.5	0.22 [0.01, 0.44]
Daum et al, 2019	0	4	0	0.00 [-0.37, 0.37]
Chen et al, 2020	0	1	0	0.00 [-0.85, 0.85]
RE Model for Craniofacial subgroup				0.09 [0.01, 0.17]

