

NIPT

Dr.ssa Ilaria Fantasia



STORIA DEL DNA FETALE

1997: Lo et al: cff DNA in maternal circulation

2001: Fetal Rh(D) genotype

2006: Sexing fetus for :

1.X-linked genetic disorders

2.Sexing (China)

2011: Detection trisomy 21/18/13

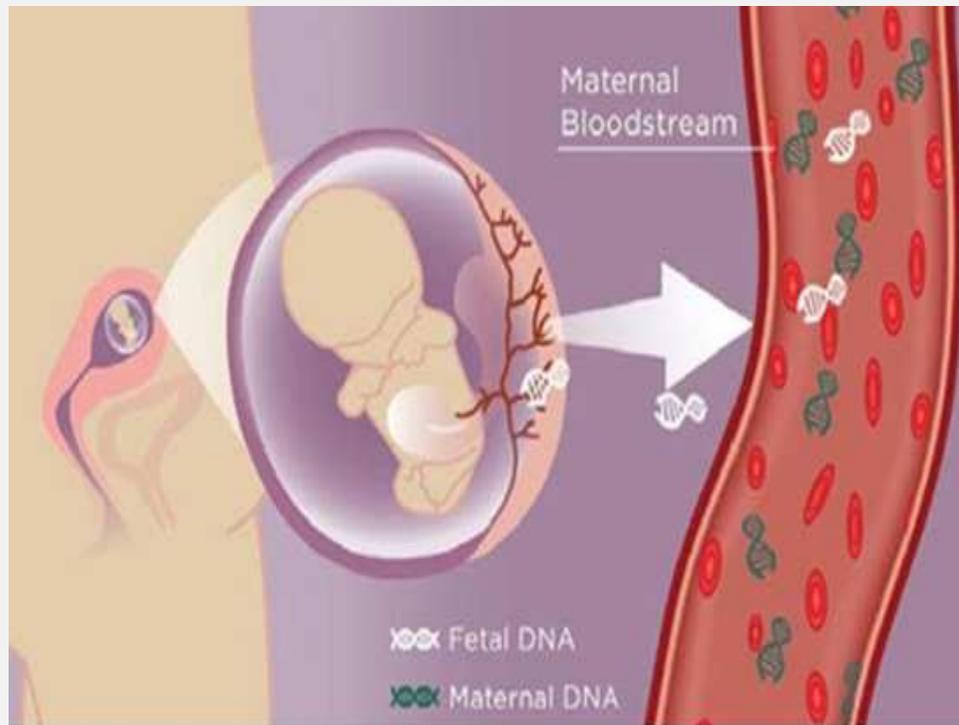
2012: > 100.000 NIPTs in USA and China

2015: > 1.000.000 NIPTs in USA, Europe and China

2015: > 1.000.000 NIPT tests worldwide



TEST DEL DNA FETALE



~10% del DNA presente nel circolo materno

Il cfDNA origina dalla lisi delle cellule placentari

Il ricambio delle cellule del trofoblasto, che ricopre le arterie spiraliformi, libera il DNA

I frammenti di DNA fetale degradato contengono circa 180 paia di basi (bp) e sono sospesi nel plasma arterioso

Non prima della X settimana

Frazione fetale almeno > 4%

METODI PER L'ANALISI DEL cfDNA

RANDOM SEQUENCING

Sequenziamento dell'intero genoma

Sequenziamento di tutti i frammenti di cfDNA estratti e conteggio del numero di frammenti ottenuti per ciascun cromosoma.

TARGETED SEQ

Sequenziamento di regioni target

Sequenziamento focalizzando l'analisi su specifici frammenti di DNA (13,18,21,X,Y).

Sequenziamento polimorfismi a singolo nucleotide (SNP)

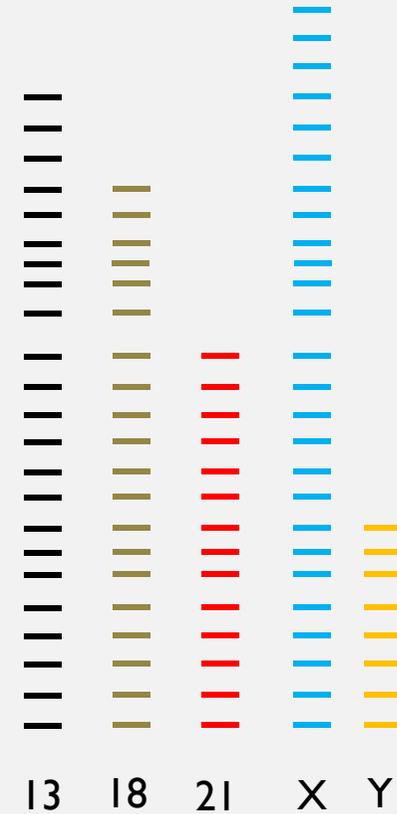
Valutazione dell'alterazione di singola base che si differenzia tra madre e feto genotipizzando il DNA materno estratto dal buffy coat e il genotipo materno-fetale estratto dal plasma

TEST DEL DNA FETALE

DNA materno e fetale

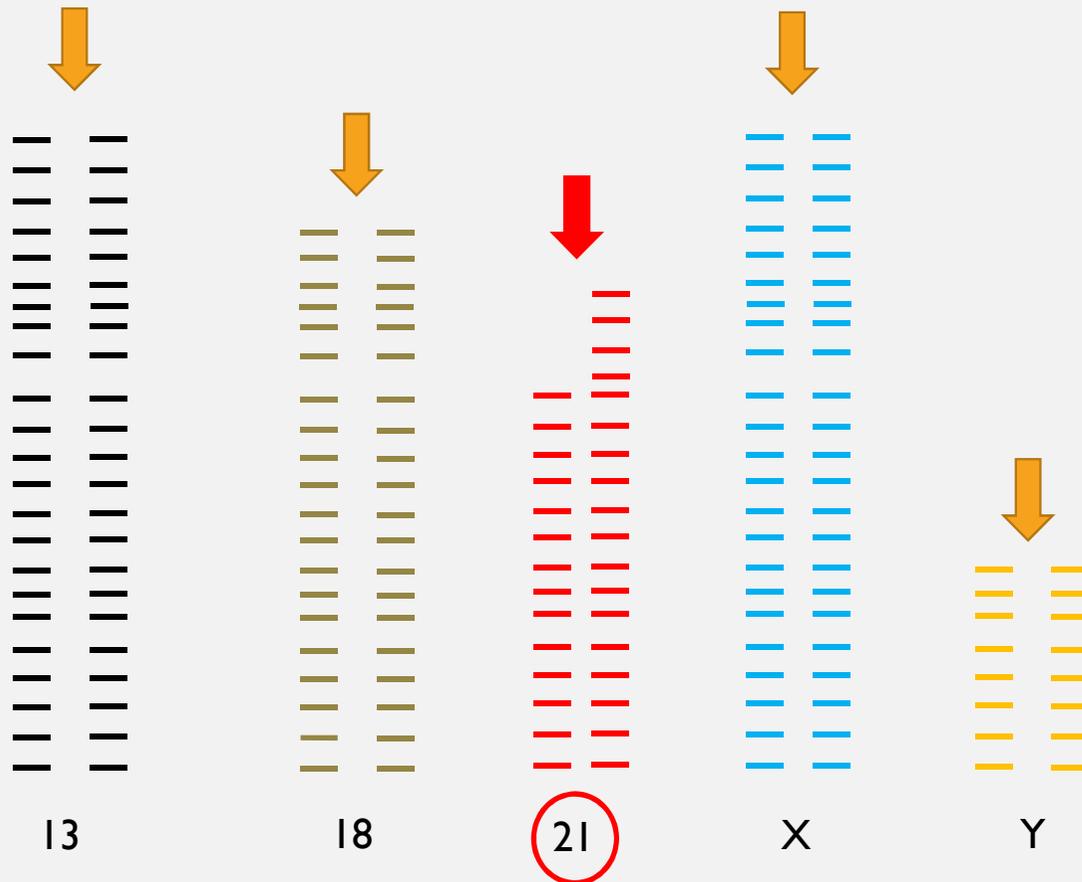


DNA fetale



- DNA fetale circola nel sangue materno
- Possiamo isolare, amplificare e sequenziare questi frammenti di DNA
- Possiamo stabilire la natura cromosomica di questi frammenti e contarli

TEST DEL DNA FETALE

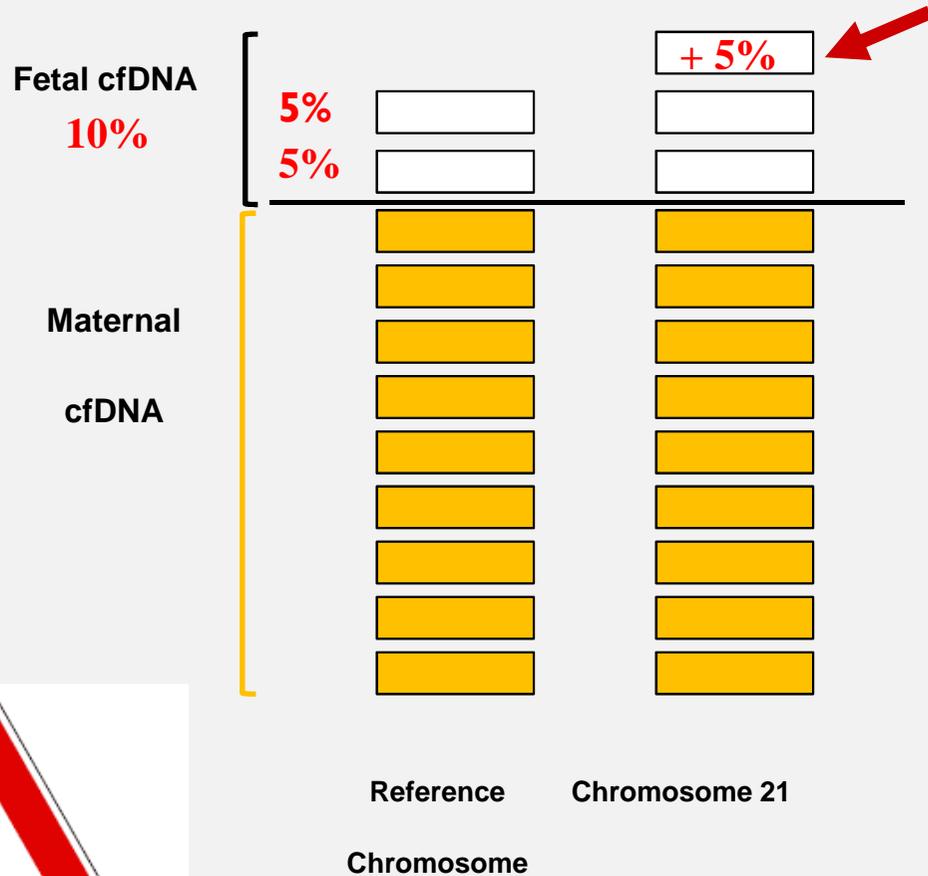


**IMPORTANZA
DELLA
FRAZIONE
FETALE**

>4%

FAILURE RATE

FETAL FRACTION

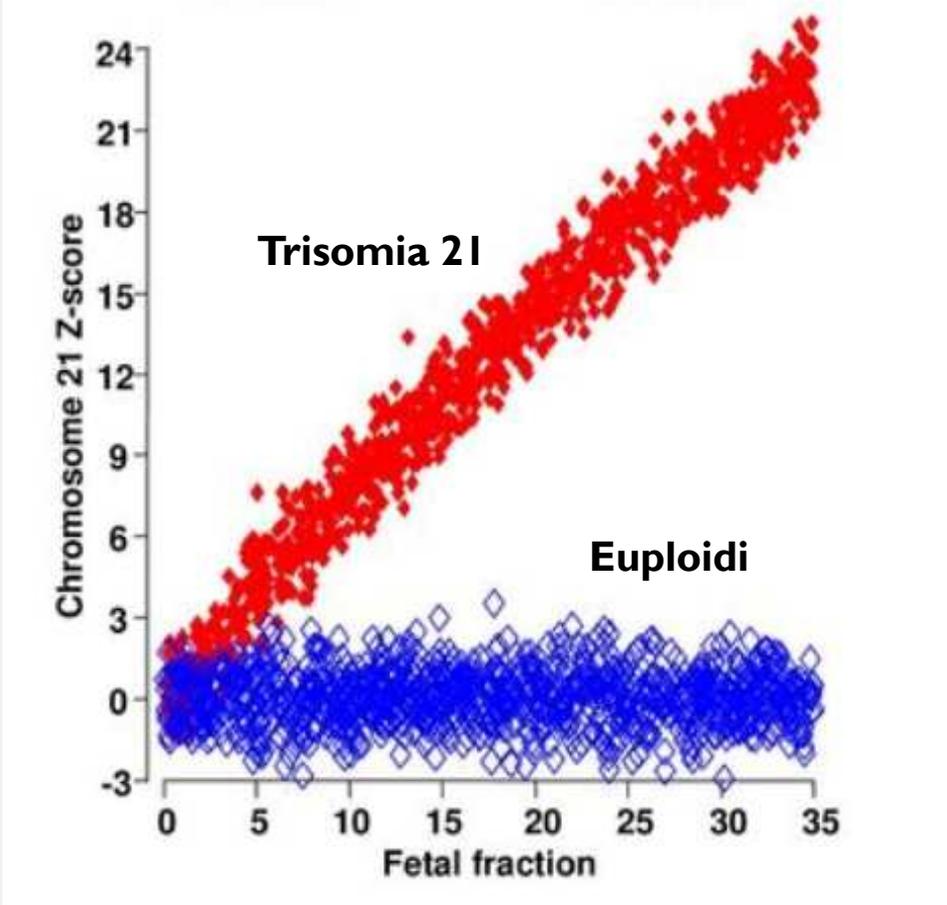


Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
4%	1.02
10%	<u>1.05</u>
20%	1.10
40%	1.20

< 4%, il R è < 1,02 → valore non statisticamente differenziabile da 1 →
FF DEVE ESSERE SUPERIORE AL 4%



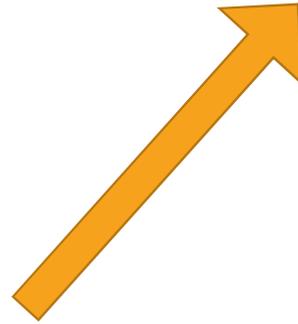
TEST DEL DNA FETALE – IMPORTANZA DELLA FRAZIONE FETALE



Fetal fraction	cfDNA test	
	FPR (%)	DR (%)
4%	0.1	62.1
5%	0.1	87.4
6%	0.1	97.6
7%	0.1	99.8
8%	0.1	100
9%	0.1	100
≥10%	0.1	100
All	0.1	99.0

Wright D et al. A unified approach to risk assessment for fetal aneuploidies. Ultrasound Obstet Gynecol 2015;45:48-54

E' stato stimato che il 2% dei campioni prelevati oltre le 10 settimane di gestazione contiene una FF al di sotto della soglia critica del 4%



65 Chromosomal abnormalities detected in patients with failure to obtain test results using non-invasive prenatal testing

John Turocy³, Carol Norem², Bruce Blumberg¹, Mary Norton⁴

CONCLUSION: There is a high rate of chromosomal abnormalities in patients in whom NIPT fails to provide a result. Nearly half of tests will again fail on subsequent NIPT attempts. This is important information that patients and providers should consider in choosing the type of follow up for these cases.

TRISOMIES 21, 18, 13: ff < 4%

Karyotype group	Number	Median (log SD)	Ratio ^b	p-value ^a
Previously reported (316)				
Trisomy 21	212	15.5 (0.200)	1.17	<0.001
Trisomy 18	62	9.4 (0.253)	0.71	<0.001
Trisomy 13	12	13.6 (0.170)	1.02	0.90
Monosomy X	10	12.5 (0.231)	0.95	0.45
Sex chromosome trisomies	15	12.2 (0.232)	0.92	0.27
Mosaic (chromosomes 21, 18, and 13)	5	13.1 (0.215)	0.98	0.88
Not previously reported (39)				
Other trisomies 21, 18, and 13 ^c	18	14.8 (0.263)	1.11	0.32
Other autosomal aneuploidies	16	11.9 (0.200)	0.89	0.36
Triploidy	5	2.5 (0.289)	0.19	<0.001
Any abnormality (355)	355	13.1 (0.243)	0.98	0.90
Euploid	1802	13.3 (0.210)	REF	
Total	2157			

FF media:

- Significativamente maggiore nei feti con T21 (ratio 1.17)
- Significativamente minore nei feti con T18 e triploidia (ratio 0.71 e 0.19, rispettivamente)

Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative?

G. E. Palomaki¹ Prenatal Diagnosis 2015,

TEST DEL DNA FETALE – PERFORMANCE GRAVIDANZE SINGOLE

TRISOMIA 21



Failure rate =
gravidanze euploidi



Rischio non
aumentato di
trisomia 21

TRISOMIA 18



Failure rate >
gravidanze euploidi



Rischio potenzialmente
maggiore di trisomia 13/18

TRISOMIA 13



First-trimester screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in singleton and twin pregnancies: factors affecting test failure.

Galeva S^{1,2}, Gil MM^{1,3,4}, Konstantinidou L¹, Akolekar R^{2,5}, Nicolaides KH¹.

Aumentato rischio di «failure rate»	OR	95% CI
Età materna avanzata	1.02	1.01-1.04
Peso materno	1.05	1.04-1.05
Bassa epoca gestazionale	0.85	0.79-0.91
Bassa PAPP-A MoM	0.56	0.49-0.65
Bassa betaHCG	0.67	0.60-0.74
Etnia africana	1.72	1.33-2.20
Etnia asiatica	1.99	1.56-2.52
Gravidanza gemellare bicoriale	1.75	1.34-2.26
IVF	3.82	3.19-4.55

STUDIO PROSPETTICO

23495 gravidanza singole
928 gravidanze gemellari

Fattori predittivi indipendenti di rischio

Classi con rischio aumentato

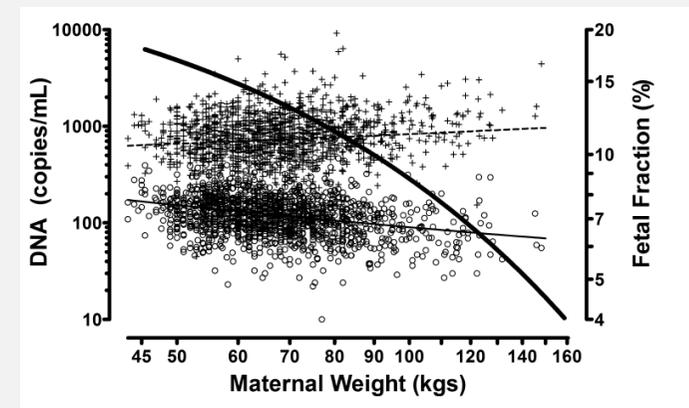
TRISOMIES 21, 18, 13: Obesity

Rischio di fallimento:

- nel 20% delle donne con BMI >25 ;
- nel 50% delle donne con BMI >35.

Possibili meccanismi:

- Diluizione della frazione fetale (costante) nel plasma materno (maggiore)
- Maggiore presenza di DNA di origine materna



DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. Palomaki GE et al. Genet Med 2011;

TRISOMIES 21, 18, 13: Heparin

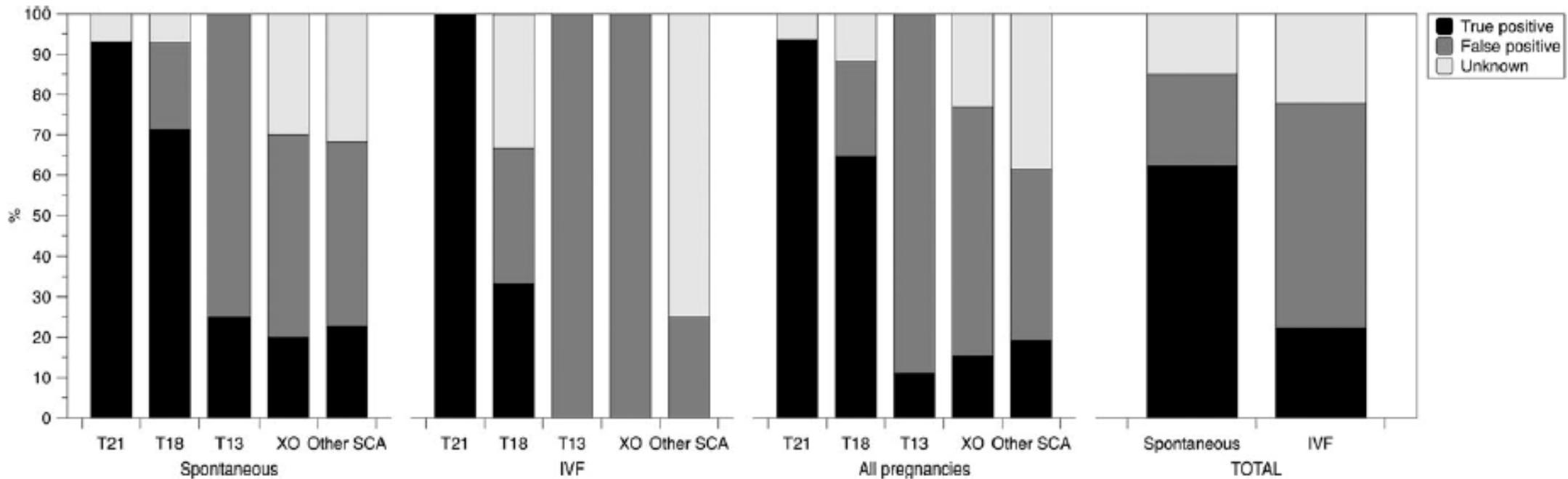
Results: Thirty-three (1.2%) of 2890 eligible women had a failed cfDNA test, including 18 (0.6%) cases with a low FF. A failed cfDNA test due to a low FF was associated with obesity (aOR 1.11, CI 1.05-1.18, $p = 0.0003$) and treatment with enoxaparin (aOR 37.5, 11.19 – 125.87, $p < 0.0001$). 5 of 28 (18%, 95% CI: 6.1%-36.9%) women on enoxaparin had a failed cfDNA test secondary to a low FFx.

Although we did not investigate the mechanism by which enoxaparin lowered the fetal fraction, we speculate that low molecular weight heparin resulted in low fetal fractions due to reduction of placental apoptosis. Heparin has been demonstrated to reduce trophoblast apoptosis and enhance trophoblast survival through complex mechanisms including reduction of cytokeratin neopeptide and nucleosomal DNA formation¹⁷ and E-cadherin expression.¹⁸ Our study has several

TRISOMIES 21, 18, 13: IVF

Grossa difficoltà sia nel caso di donatore maschile che femminile, soprattutto nei test che utilizzano la SNP che basandosi sulla genotipizzazione non riesce a differenziare

IVF



Cell-free fetal DNA testing in singleton IVF conceptions

Timothy J. Lee^{1,2}, Daniel L. Rolnik², Melody A. Menezes³, Andrew C. McLennan^{4,5}, and Fabricio da Silva Costa^{2,3,*}

Ultrasound Obstet Gynecol. 2019 Jun;53(6):804-809. doi: 10.1002/uog.20290.

First-trimester screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in singleton and twin pregnancies: factors affecting test failure.

Galeva S^{1,2}, Gil MM^{1,3,4}, Konstantinidou L¹, Akolekar R^{2,5}, Nicolaides KH¹.

Failure rate gravidanze singole: 3.4%

Failure rate gravidanze gemellari bicoriali: 11.3%

Failure rate gravidanze gemellari monocoriali: 4.9%

Counseling pre-test

**QUALI ANOMALIE CROMOSOMICHE POSSO
STUDIARE CON IL CELL FREE-DNA?**



TEST DEL DNA FETALI



**Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(Non Invasive Prenatal Testing – NIPT)**



**TEST DEL DNA LIBERO CIRCOLANTE
NEL SANGUE MATERNO**



**PROPOSTA DI PROTOCOLLO DI SCREENING PRENATALE
PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI ANEUPLOIDIE
DEI CROMOSOMI 21, 18, 13**



**ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive
prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice**



TEST DEL DNA FETALE – PERFORMANCE GRAVIDANZE SINGOLE

	SENSIBILITA'	FALSI POSITIVI
TRISOMIA 21	99.7%	0.04%
TRISOMIA 18	98.2%	0.05%
TRISOMIA 13	99%	0.04%

TEST DEL DNA FETALE – MANAGEMENT DEL RISCHIO BASSO

Se risultato **BASSO RISCHIO**:

- Ricordare che i falsi negativi sono possibili– soprattutto nelle gravidanze ad alto rischio
- Offrire sempre la diagnosi invasiva se la paziente vuole «to know for sure

TEST DEL DNA FETALE – MANAGEMENT DEL RISCHIO ALTO

Se risultato ad **ALTO RISCHIO**:

- Ricorda della possibilità di falsi positivi
- Invia per **consulenza post-test (esperto medicina fetale/genetista)**
- **Offrire sempre il test invasivo per conferma**
 - **Non andrebbe mai offerta la IVG sulla base del risultato del solo test DNA fetale**
- Se la coppia rifiuta la diagnosi invasiva, eseguire valutazione postnatale

TRISOMIES 21, 18, 13: **False Positive**

- ❖ Mosaicismo placentare
- ❖ Vanishing twin syndrome (15% di tutti i FP)
- ❖ Aumento o riduzione del DNA circolante di origine materna a causa di *infezioni, tumori (anche latenti), trasfusioni di sangue, mosaicismo latente, immunoterapia, trapianti, peso materno*

TRISOMIES 21, 18, 13: False Positive

Mosaicismo Placentare



- **Confined placental mosaicism**

- Cf DNA analiticamente corretto, ma clinicamente incorretto
- → piu a rischio T 13 e monosomia X

- **Fetal mosaicism**

- Identification of mosaicism will be less effective because the contribution from abnormal is partial (Canick 2013)

- **Maternal Mosaicism**

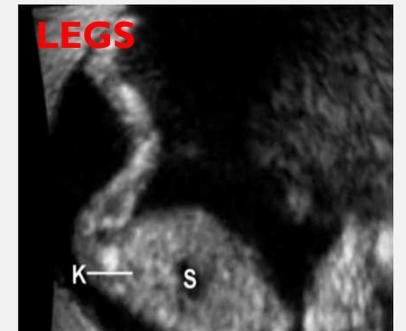
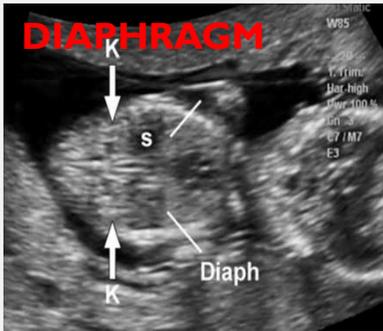
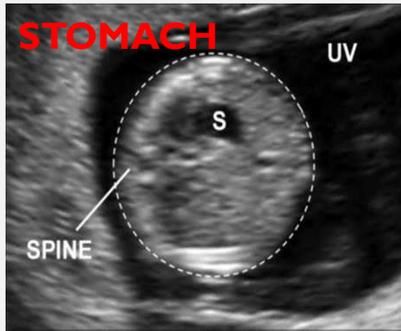
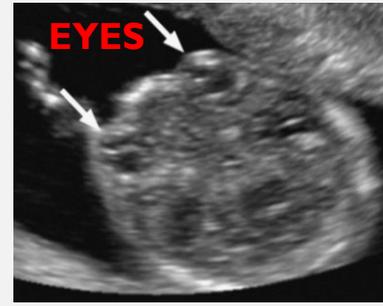
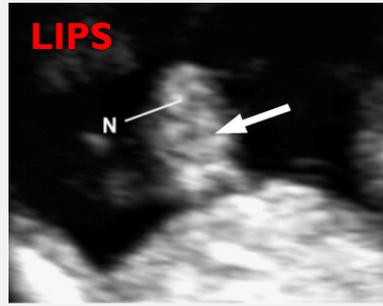
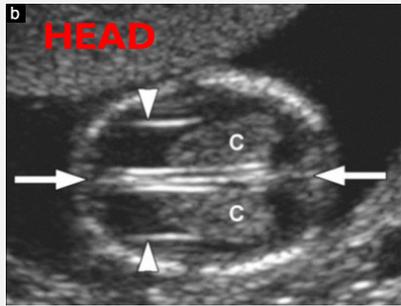
- Sequencing of buffy coat may determine if maternal chromosome abnormality is confounding the results (1 in 3000)

Mosaicismo placentare

- Trisomia 21 1-2%
- Trisomia 18 3-4%
- Trisomia 13 22%

Grati et al., Pren Diagn 2017, 37:1017-27

RUOLO DELLA VALUTAZIONE ANATOMICA DEL I TRIMESTRE



 **isuog**.org 2013 **GUIDELINES**

ISUOG Practice Guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan

Diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities on routine ultrasound examination at 11-13 weeks' gestation.

Syngelaki A¹, Hammami A¹, Bower S¹, Zidere V¹, Akolekar R^{2,3}, Nicolaides KH¹.

I TRIMESTRE DETECTION RATE: 27.6%

Malformazioni sempre diagnosticabili

ACRANIA

OLOPROSENCEFALIA
ALOBARE

ENCEFALOCELE

ONFALOCELE

GASTROSCHISI

PENTALOGIA
CANTRELL

ATRESIA
TRICUSPIDE/POL
MONARE

ECTOPIA CORDIS

BODY STALK
ANOMALY

Impact of holoprosencephaly, exomphalos, megacystis and increased nuchal translucency on first-trimester screening for chromosomal abnormalities

Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 50: 45–48

A. SYNGELAKI, L. GUERRA, I. CECCACCI, T. EFETURK and K. H. NICOLAIDES

Oloprosencefalia



78.4%
80% T13

Onfalocele



40.8%
45% T18

Megavesicica



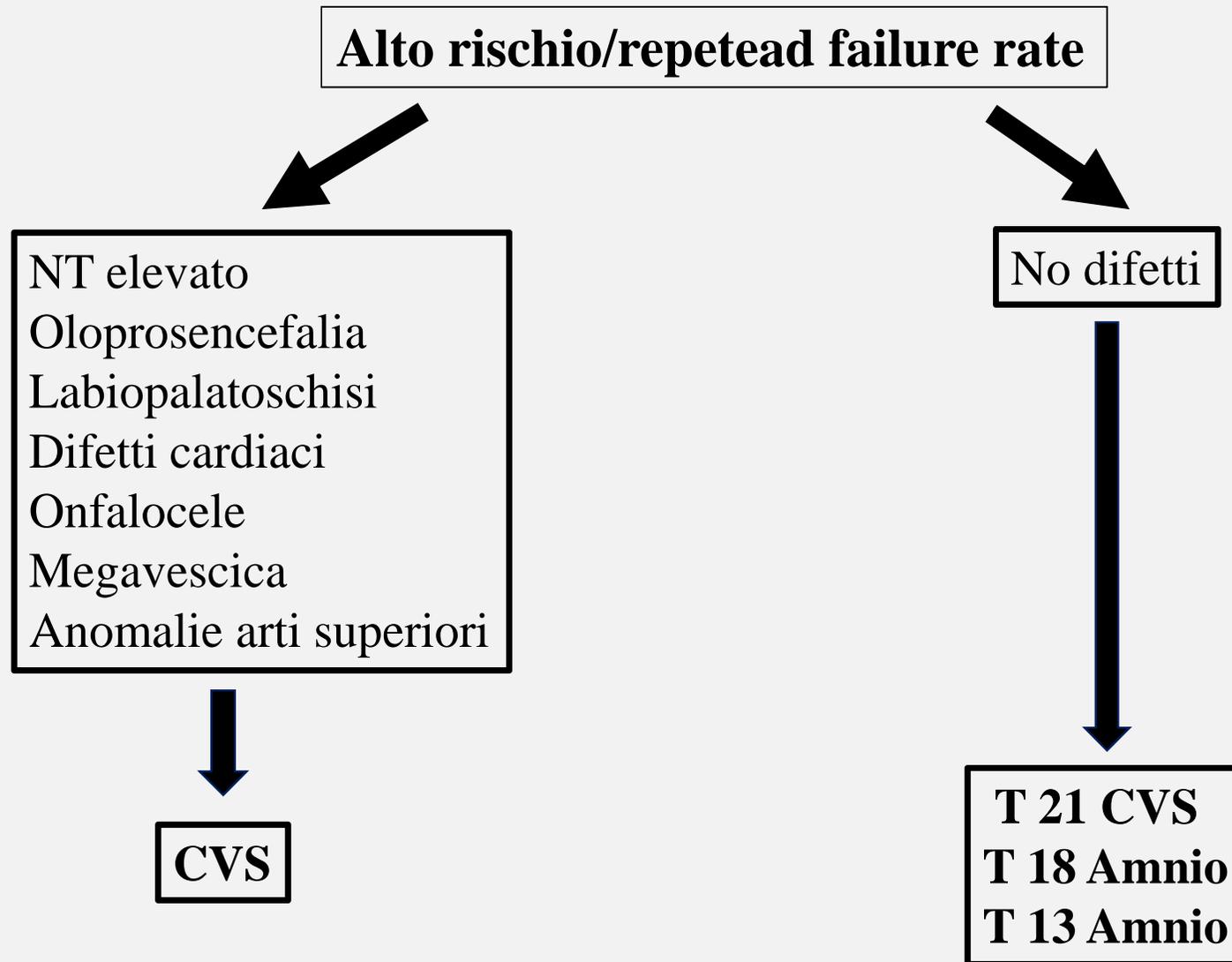
18.5%
20% all

NT ≥ 3.5 mm

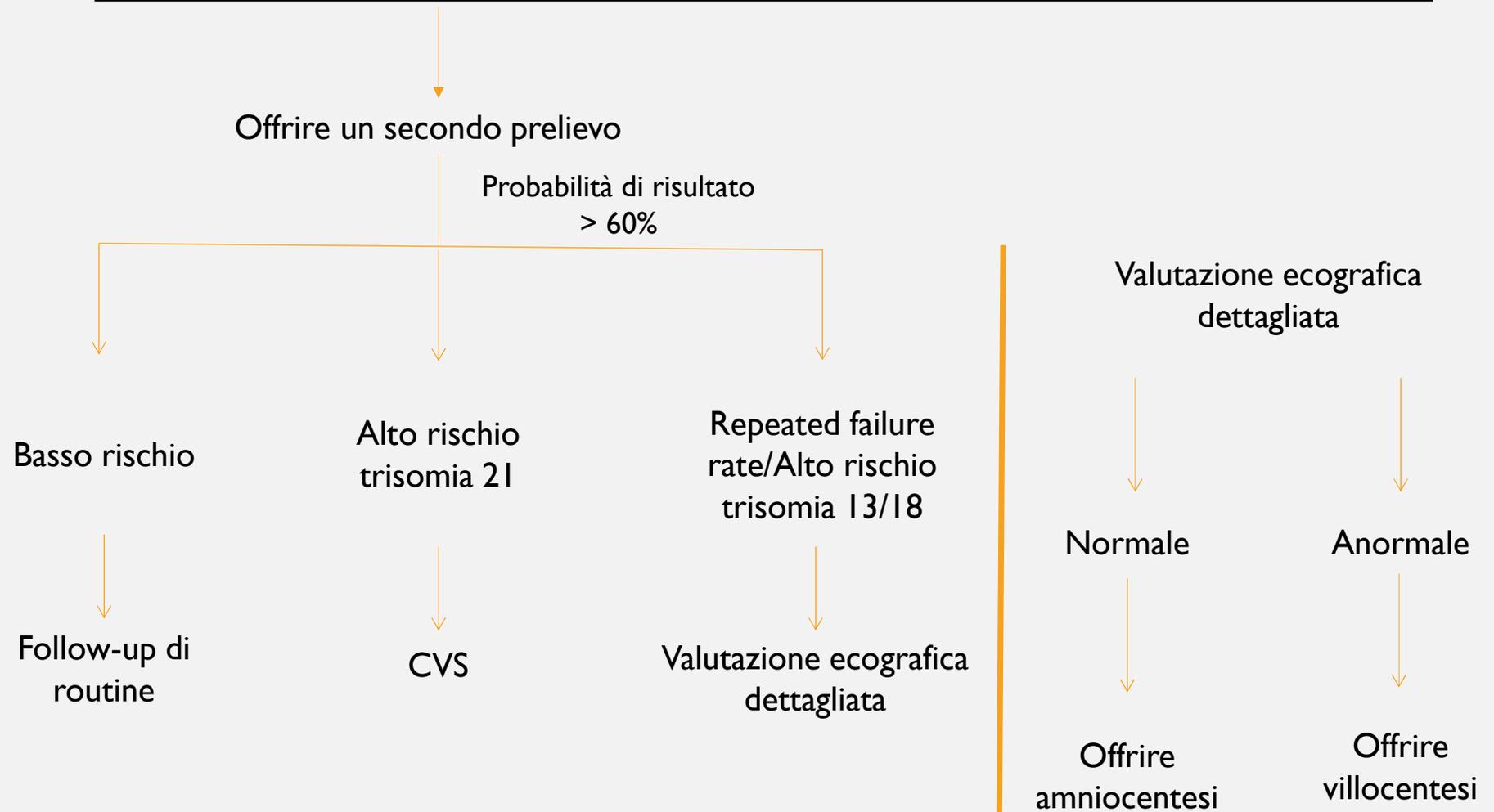


48.5%
50% T21

TEST DEL DNA FETALE – Ruolo della valutazione ecografica



Possibile management del repeated failure rate



TEST DEL DNA FETALE – PERFORMANCE GRAVIDANZE GEMELLARI

	N° casi trisomici	SENSIBILIT A'	FALSI POSITIVI	
TRISOMIA 21	56	98.2%	0.05%	} Numeri troppo piccoli
TRISOMIA 18	18	88.9%	0.03%	
TRISOMIA 13	2	66.7%	0.19%	

Ultrasound Obstet Gynecol. 2019 Jun;53(6):734-742. doi: 10.1002/uog.20284. Epub 2019 Jun 4.

Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of The Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis.

Gil MM^{1,2,3}, Galeva S^{1,4}, Jani J⁵, Konstantinidou L¹, Akolekar R^{4,6}, Plana MN^{7,8}, Nicolaides KH¹.



TEST DEL DNA FETALE – CROMOSOMI SESSUALI

MONOSOMIA X
ALTRE ANOMALIE
CROMOSOMI
SESSUALI

**SENSIBILI
TA'**

90.3%

0.23%

93.0%

0.14%

Aneuploidia maggiormente
presente nei mosaicismi
feto-placentari



- Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar E, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta analysis. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015; 45:249-266.
- Grati FR, Malvestiti F, Ferreira JC, Bajaj K, Gaetani E, Agrati C, Grimi B, Dulcetti F, Ruggeri AM, De Toffol S, Maggi F, Wapner R, Gross S, Simoni G: Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results. Genet Med. 2014; 16(8):620-624.

TEST DEL DNA FETALE – MICRODELEZIONI

Microdelezioni	1/ births	≥3Mb
22q11.2 deletion	2-4,000	85%
Angelman / Prader Willi (15q11.2-q13 deletion)	20,000	70%
1p36 del	5,000	85%
Cri-du-chat (5p deletion)	50,000	99%

Di George - common features:

- 75% immune deficiencies
- 50% hypocalcemia
- 30% feeding problems
- 35% renal abnormalities
- 75% cardiac defects
- 95% intellectual deficits
- 25% schizophrenia in adulthood

- Detection rates*: **60-99%**
- Total false positive rates: **1%**
- Positive predictive value for 22q11.2 deletion: **5%**
- Proportion of cfDNA panel of significant microdeletions: **10%**

*Confronto con campioni creati in laboratorio che simulano la patologia

Yaron Y *et al.* Current status of testing for microdeletion syndromes and rare autosomal trisomies using cell-free DNA technology. *Obstet Gynecol* 2015;126:1095

Wapner RJ *et al.* Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212:332.e1-9.

TEST DEL DNA FETALE – QUALI ANEUPLOIDIE?

TRISOMIA 21	SI
TRISOMIA 13/18	SI
ANOMALIE CROMOSOMI SESSUALI	NO
TRIPLOIDIE	NO
MICRODELEZIONI	NON ANCORA



CONSULENZA PRE-TEST

- ✓ Non è un test diagnostico
- ✓ Validato per trisomia 21, 13 e 18
- ✓ Necessaria ecografia
- ✓ Importanza della frazione fetale
- ✓ Circa 2% test non utilizzabili (failure rate)
- ✓ Sensibilità inferiore gravidanze gemellari
- ✓ Raccolta consenso informato

QUANDO NON ESEGUIRLO

- ✓ Vanishing twin
- ✓ Madre portatrice di mosaicismo
- ✓ Esposizione ad agenti clastogenici (farmacologici, virali, fisici) che possono modificare il DNA materno
- ✓ Presenza di anomalia fetale riscontrata all'ecografia
- ✓ Rischio > 1:10



**PROPOSTA DI PROTOCOLLO DI SCREENING PRENATALE
PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI ANEUPLOIDIE
DEI CROMOSOMI 21, 18, 13**

TEST PRIMARIO

✓ Da proporre a tutte le pazienti in sostituzione degli attuali test di screening

✓ Da considerare nelle pazienti ad alto rischio (pregressa anomalia cromosomica, età materna)

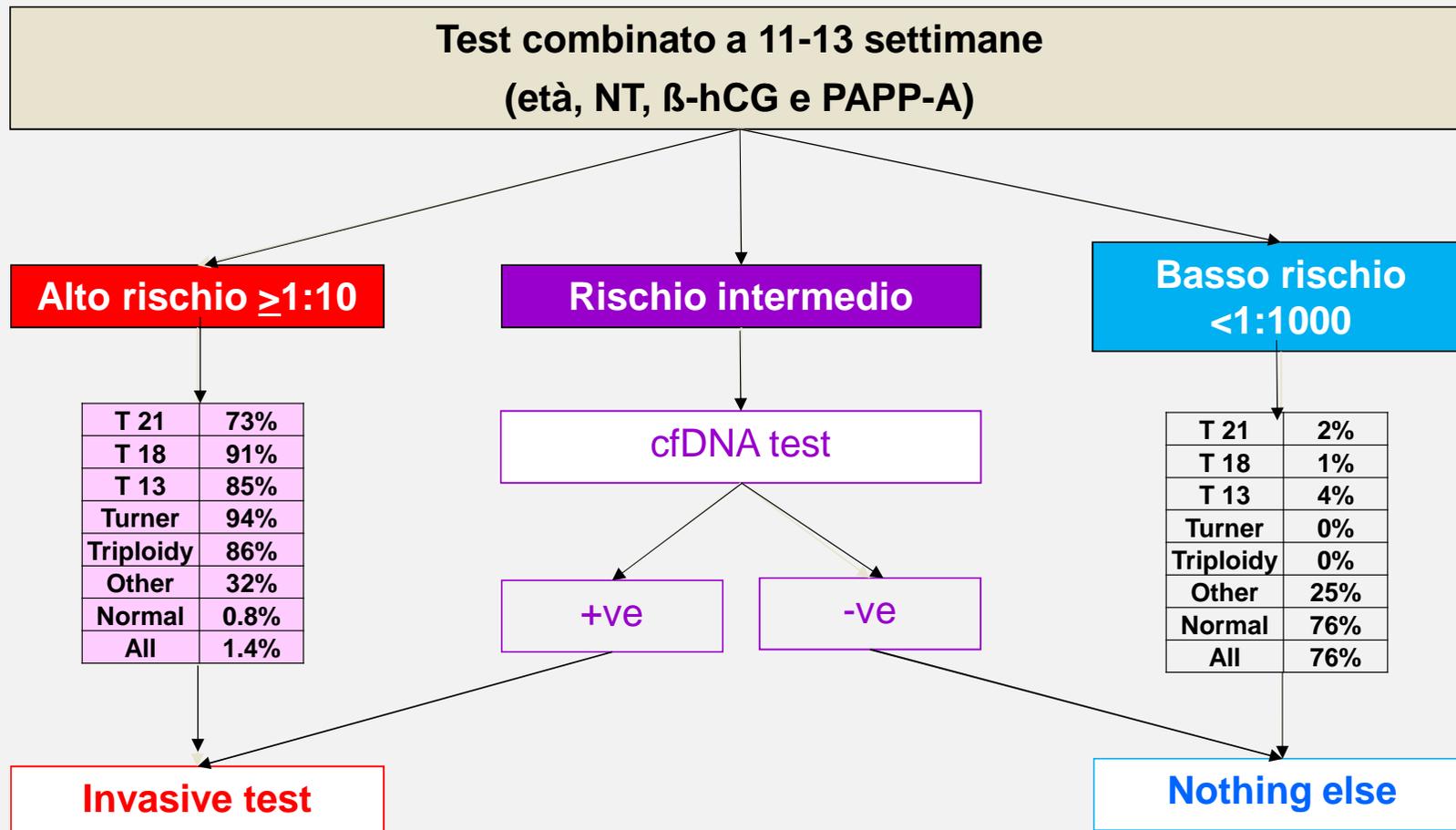
TEST CONTINGENTE

✓ Dopo esecuzione del test combinato

✓ Rischio alto >1:300

✓ Rischio intermedio 1:101 - 1500

Test contingente



Take home messages

Conosci il test

Conosci la paziente (fattori di rischio)

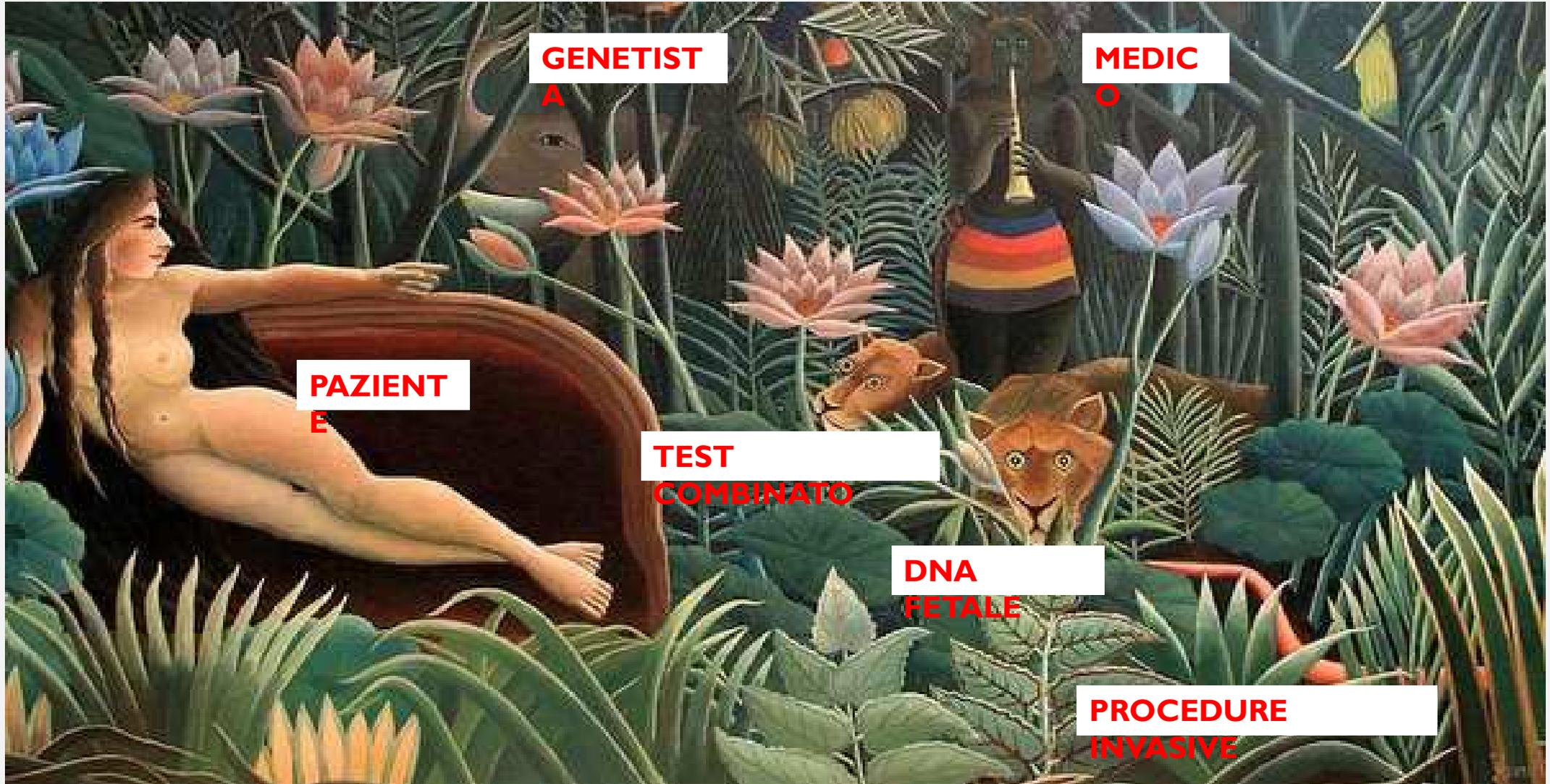
Conosci le linee guida

Counseling pre e post-test

Certificazione e audit



Picasso– Donna allo specchio



Rousseau – The dream

Grazie per l'attenzione!



DEFINIZIONE DI TEST DI SCREENING

- Esame che permette di identificare i soggetti che hanno la **probabilità** di avere una condizione patologica
- Determinano il **rischio** per quel soggetto di sviluppare una condizione patologica



Se vogliamo **ESCLUDERE** una malattia dobbiamo usare un test molto sensibile

Se vogliamo **CONFERMARE** una malattia dobbiamo usare un test molto specifico

INDICATORE DI PROBABILITÀ



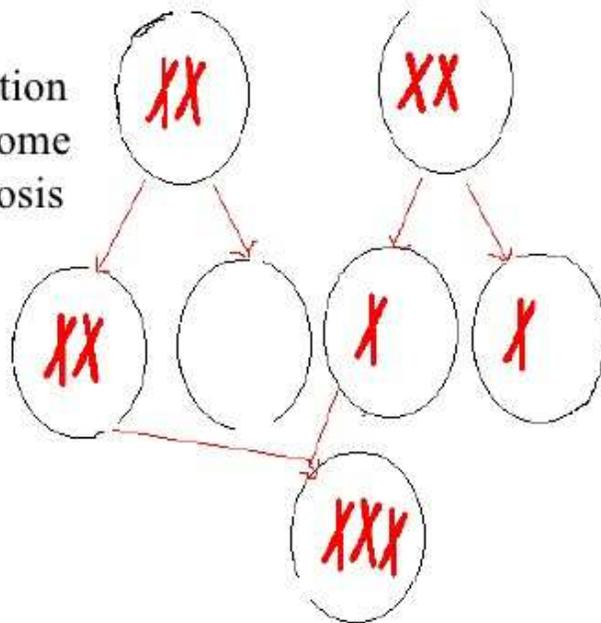


TEST DI SCREENING PRENATALE

- E' importante enfatizzare che lo scopo principale dello screening prenatale è fornire informazioni che ottimizzeranno la cura prenatale per assicurare l'outcome migliore per la madre e per il feto.
- **La donna deve essere informata della prevalenza e delle manifestazione cliniche della malattia che si sta studiando, della performance del test di screening** (sensibilità, tasso di falsi positivi, valore predittivo positivo nella popolazione generale, tasso di fallimento), da parte di operatori che hanno ricevuto un training adeguato, per poter prendere una decisione informata.
- La scelta della coppia di aderire o meno al test di screening deve essere rispettata

Etiology of trisomy 21

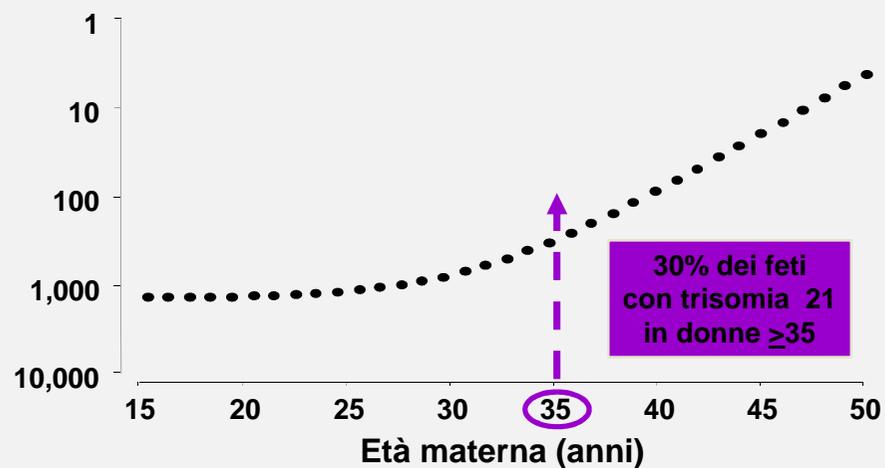
Nondisjunction
of chromosome
#21 in meiosis



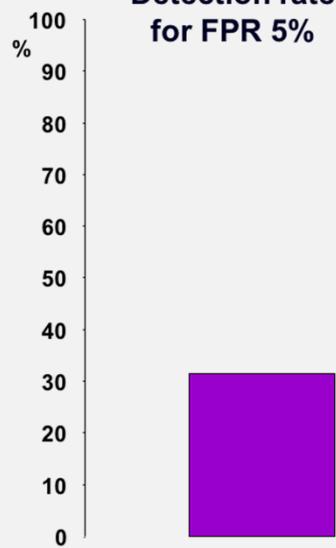
Quale è il test di screening
più accurato per la trisomia
21?

1970: PRIMO «TEST DI SCREENING» - ETA' MATERNA

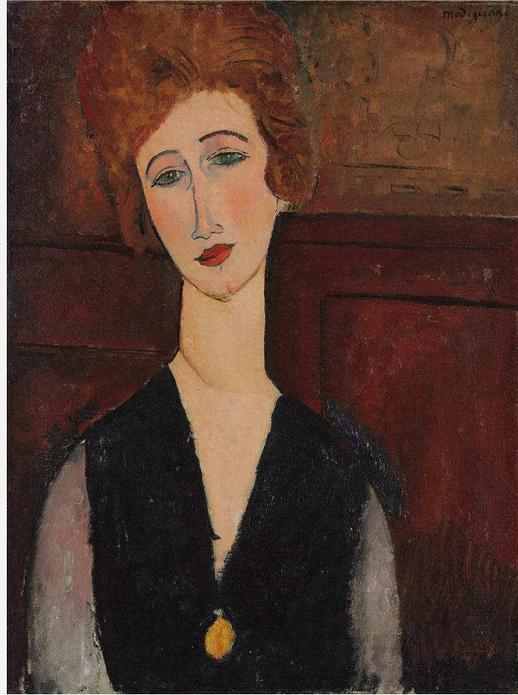
Rischio 1 in:



Detection rate for FPR 5%



NOT HAPPY!



Modigliani– Portrait of a woman

ETA' MATERNA \geq 35 ANNI

E' UN BUON TEST DI SCREENING?

NO

**BASSA
SENSIBILITA'
(30%)**

**PROCEDURE INVASIVE
NON NECESSARIE:**

- Rischio di aborto
- Costi per il SSN

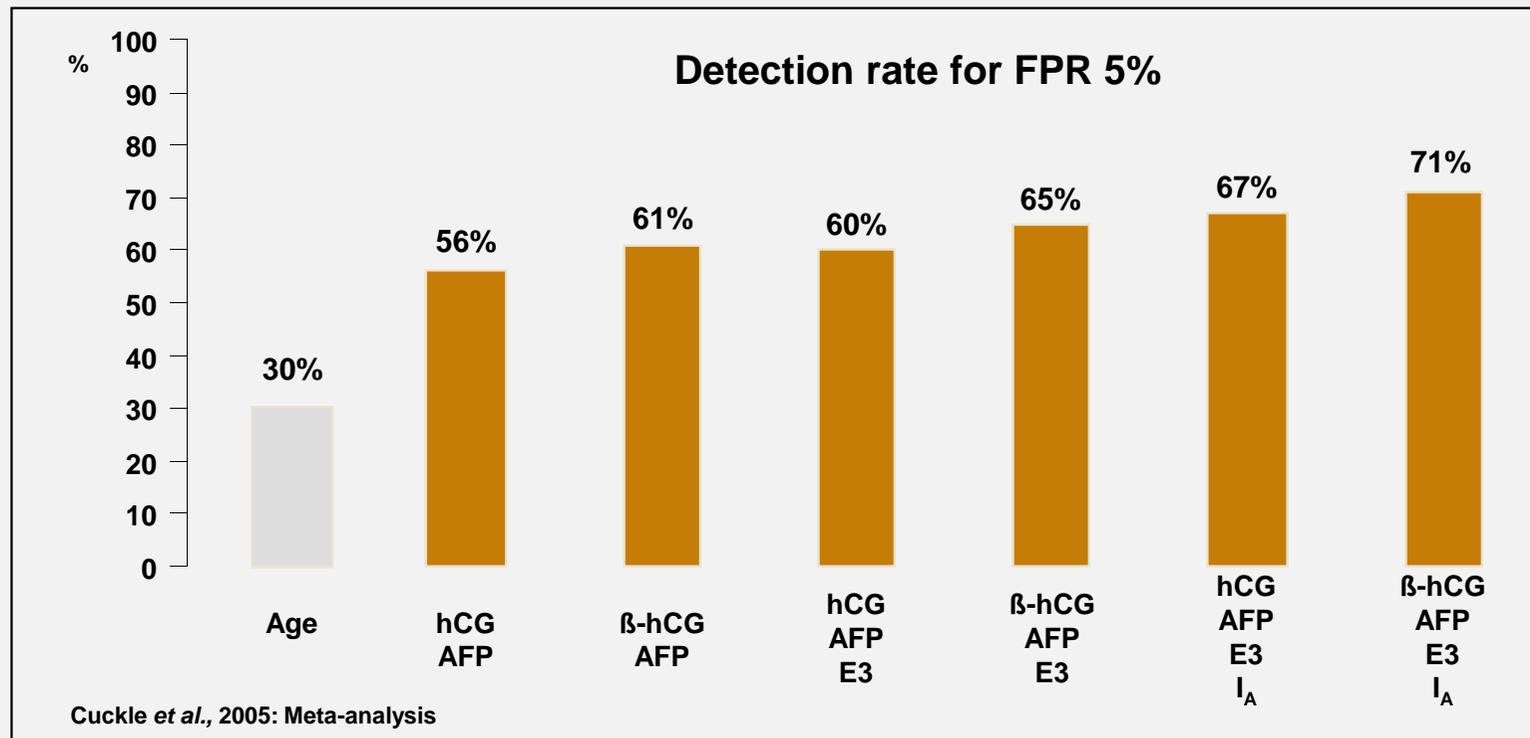


NUOVI LIVELLI ESSENZIALI DI ASSISTENZA
COSA CAMBIA NELLE PRESTAZIONI A
CARICO DEL SERVIZIO SANITARIO
NAZIONALE PER LA GRAVIDANZA E A
TUTELA DELLA MATERNITÀ.

D.P.C.M. 12 gennaio 2017

- L'accesso alla diagnosi prenatale invasiva in base all'età materna ≥ 35 anni. Il criterio di accesso è stato sostituito dall'offerta a tutte le donne del test combinato nel primo trimestre o del triplo test nel secondo trimestre.

1980-1990 : BIOCHIMICA MATERNA DEL II TRIMESTRE



SCREENING DEL II TRIMESTRE



E' UN BUON TEST DI SCREENING?

DR: 57-71%

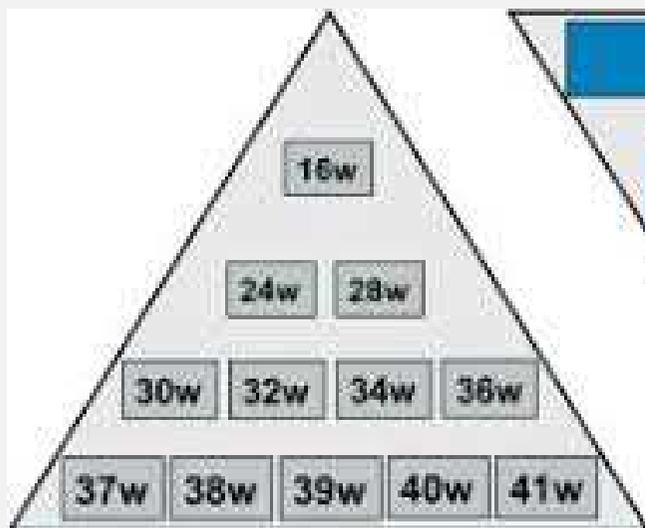


SENSIBILITA'
NON OTTIMALE

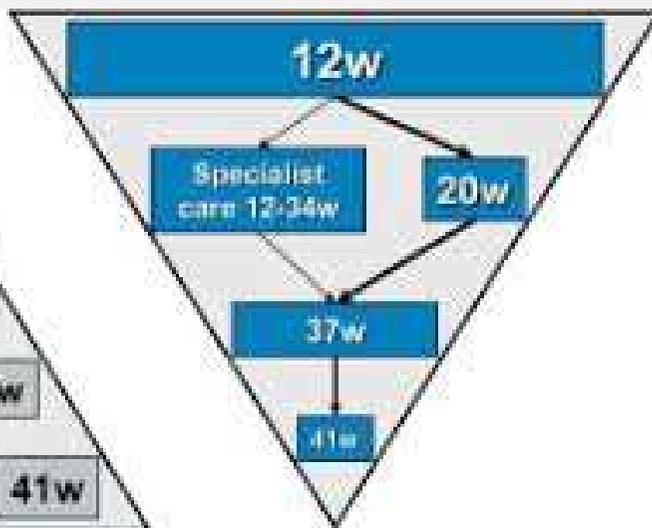
EPOCA
GESTAZIONALE
RELATIVAMENTE
AVANZATA

1990: TEST COMBINATO DEL I TRIMESTRE

Old model



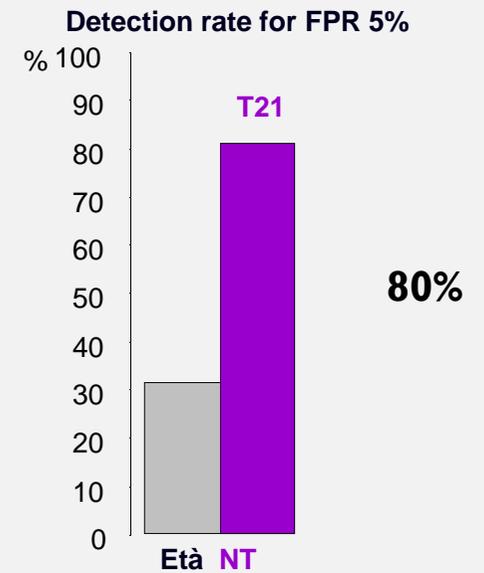
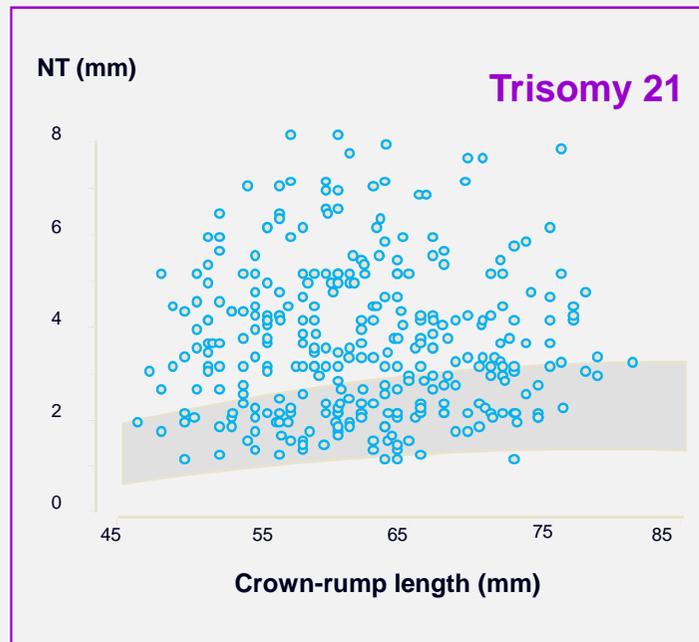
New model



1990: TEST COMBINATO DEL I TRIMESTRE

11⁺⁰ – 13⁺⁶ settimane

ETA' MATERNA + TRANSLUCENZA NUCALE

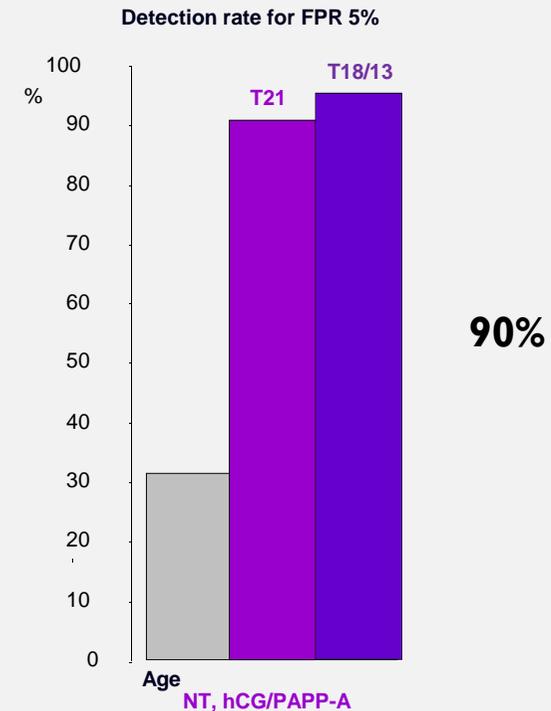
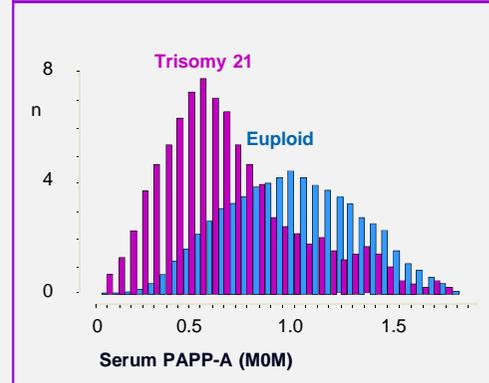
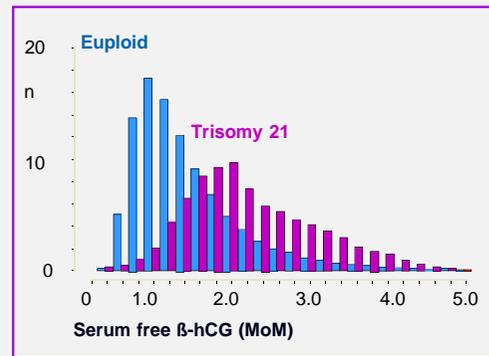
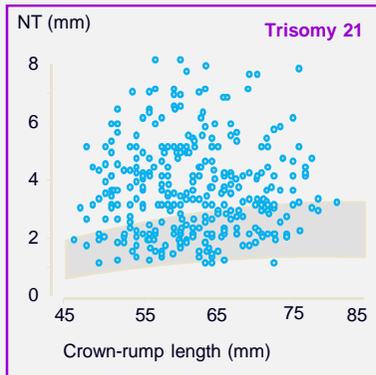


Nicolaides KH, Azar GB, Byrne D, Mansur CA, Marks K. Nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in the first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304:867

Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet* 1998; 352:343

1990: TEST COMBINATO DEL I TRIMESTRE

ETA' MATERNA + TRANSLUCENZA NUCALE + β HCG + PAPP



Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13:231.

Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free β -hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. *Hum Reprod* 2008; 23:1968-75.

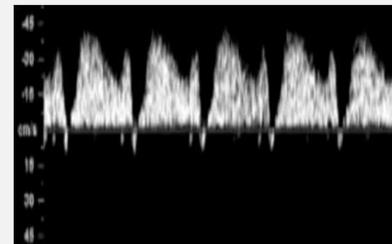
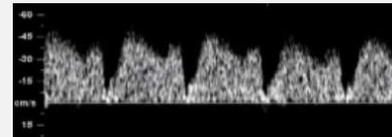
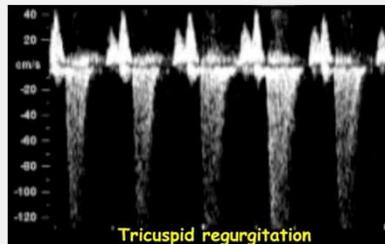
TEST COMBINATO+MARCATORI AGGIUNTIVI

OSSO NASALE

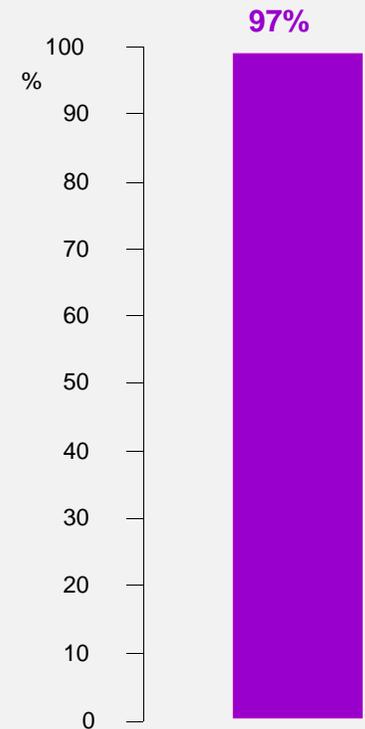
FLUSSO TRICUSPIDE

DOTTO VENOSO

~94%



DR for FPR 3%



TEST COMBINATO DEL I TRIMESTRE



E' UN BUON TEST DI SCREENING?

SI

DR: 90%

FPR: 5%

} Età, NT, biochimica

SENSIBILITA'
BUONA

RIDUCE DPI
NON
NECESSARI

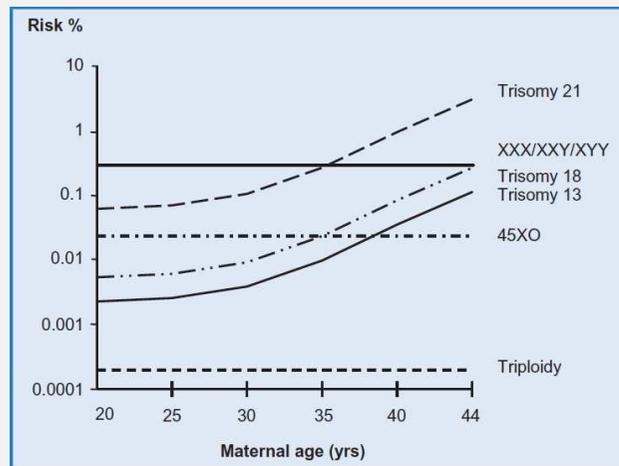
A

COME SI CALCOLA IL RISCHIO?



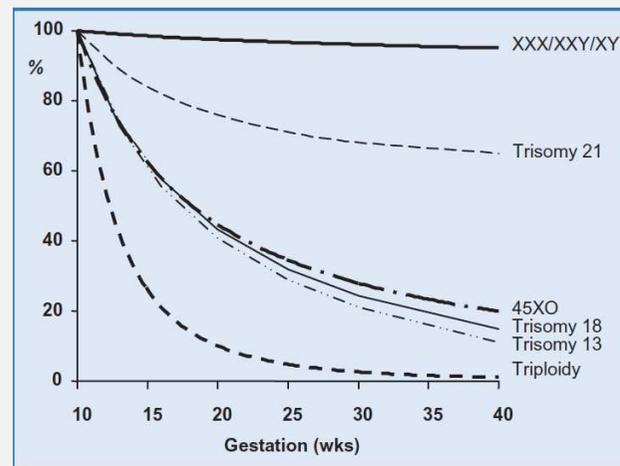
Rischio pre-test

Età materna



Rischio aumenta all'aumentare dell'età

Epoca gestazionale



Rischio si riduce con l'epoca gestazionale

Precedenti feti affetti

Rischio di ricorrenza 0.75%



Rischio post-test

**Rischio pre-test x
likelihood ratio del
marker considerato**



**Rischio specifico per la
paziente**

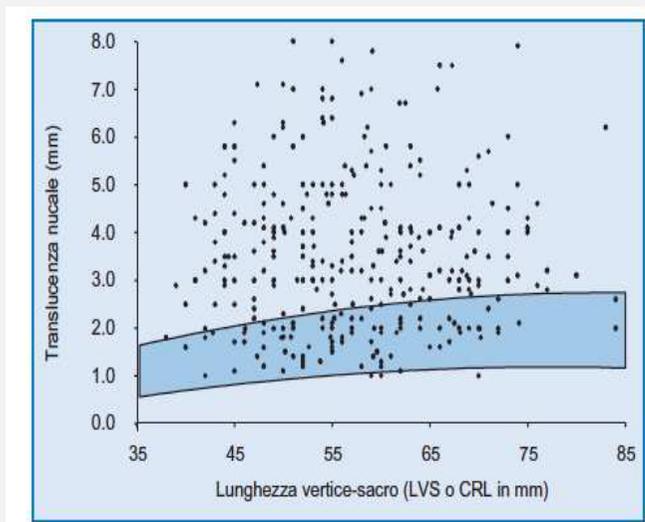


TRANSLUCENZA NUCALE
OSSO NASALE



Free-BETAHCG
PAPP-A

TRANSLUCENZA NUCALE



Distribuzione NT in feti con trisomia 21

Aumenta con l'epoca gestazionale

$\geq 3.5 \rightarrow$ indipendente dal CRL (99° pc)

$> \text{la NT} > \text{la LR} > \text{il rischio}$

REQUISITI ESSENZIALI PER MISURAZIONE TRANSLUCENZA NUCALE

3 CRITERI MAGGIORI

SIEOG



SAGITTALE



CALIPERS

isuog.org



CUTE

3 CRITERI MINORI

ZOOM



AMNIOS



NEUTRALE



Importanza del training

CORRETTO



**INGRANDIMENTO
TROPPO PICCOLO**



NUCA IPERESTESA



NUCA IPERFLESSA

Nuchal translucency	Chromosomal Defects	Normal karyotype		Alive and well
		Fetal death	Major fetal abnormalities	
<95 th centile	0.2%	1.3%	1.6%	97%
95 th –99 th centiles	3.7%	1.3%	2.5%	93%
3.5–4.4 mm	21.1%	2.7%	10.0%	70%
4.5–5.4 mm	33.3%	3.4%	18.5%	50%
5.5–6.4 mm	50.5%	10.1%	24.2%	30%
≥6.5 mm	64.5%	19.0%	46.2%	15%

Tabella 1. Da Souka 2005.



IMPORTANZA DI CERTIFICAZIONE E AUDIT

FMF accredited practitioners NT specialists

Health care professionals who have obtained the certificate of competence in **measurement of nuchal translucency**, have submitted to the FMF their NT measurements and representative images for audit and they were found to be satisfactory.



<https://fetalmedicine.org/lists/map/certified/NT-specialist>



[Home](#) [Società Scientifica](#) [Comitati](#) [Info e Formazione](#) [Corsi e Congressi](#) [Hot Topics](#)

Centri Training per NT in Italia

<https://www.sieog.it/centri-training-per-nt-in-italia/>



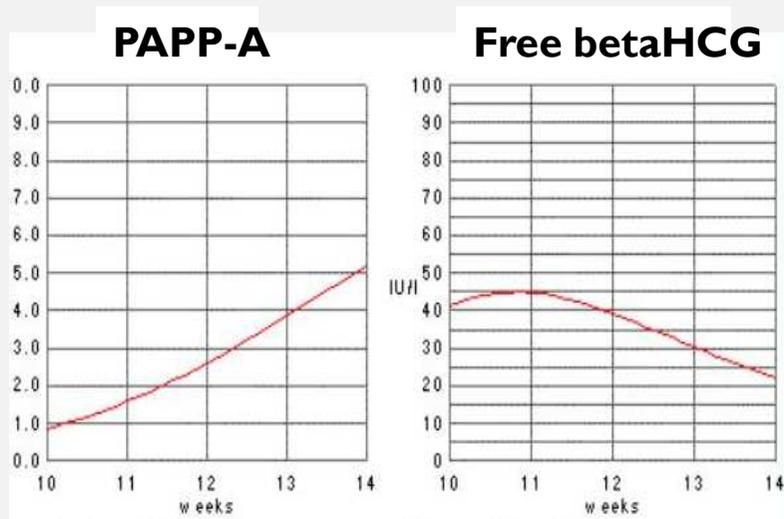
RESPONSABILITA' MEDICA IN CASO DI ERRORE DEL TEST COMBINATO?

- ✓ Mancanza di consenso informato adeguato
- ✓ Operatore non certificato FMF/SIEOG
- ✓ Mancanza di audit annuale

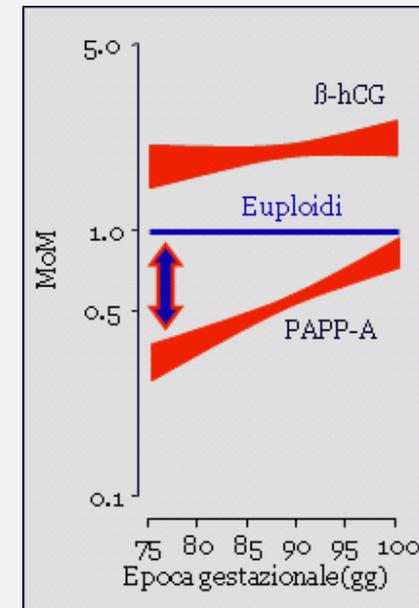
CERTIFICATEVI!



BIOCHIMICA SIERICA MATERNA

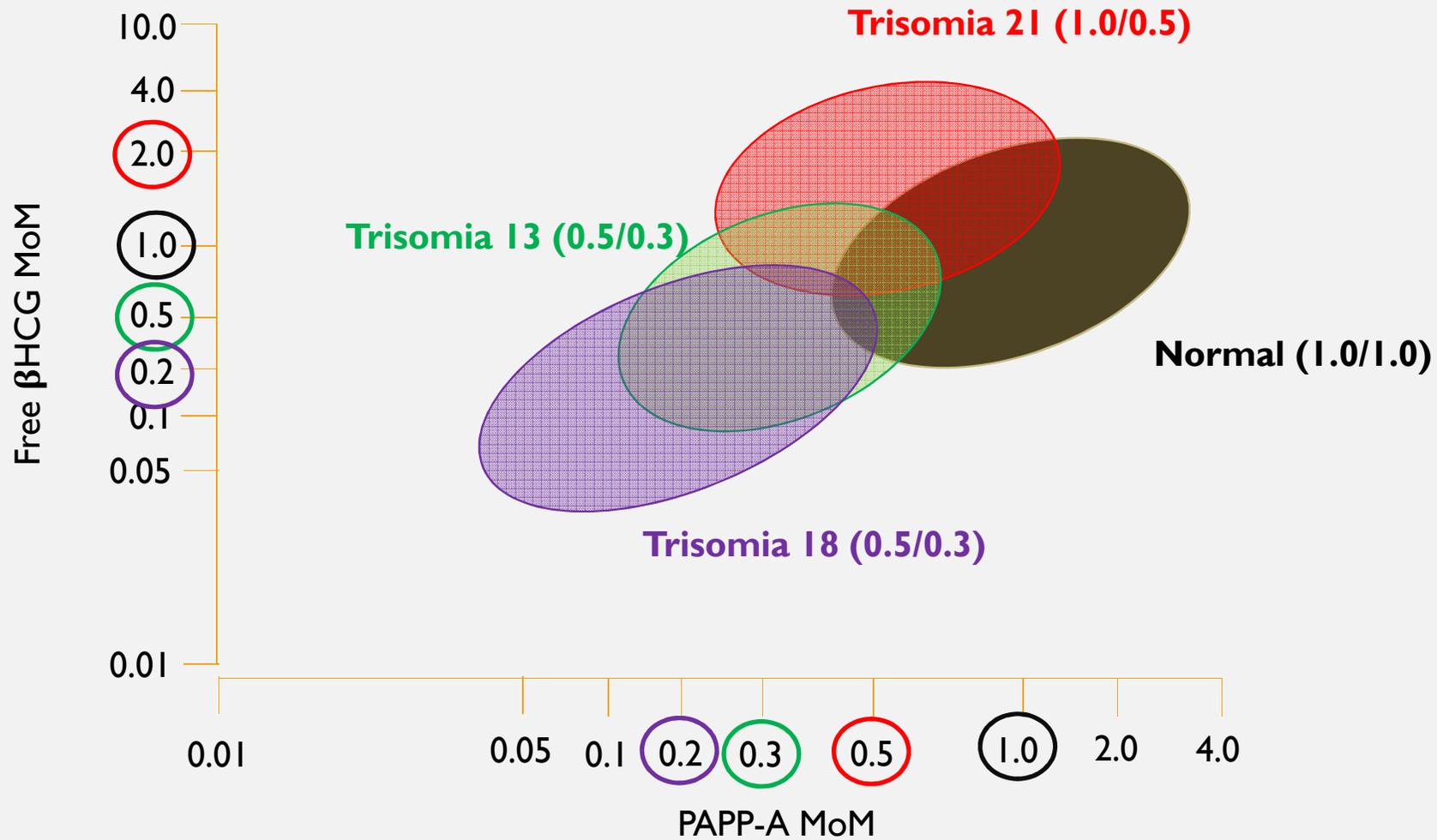


FETI EUPLOIDI



FETI TRISOMIA 21

BIOCHIMICA SIERICA MATERNA



BIOCHIMICA SIERICA MATERNA

Maternal serum marker pattern in selected fetal syndromes

Genetic disorder	Second-trimester markers				First-trimester markers		
	AFP	uE3	hCG/ free beta	Inhibin A	NT	PAPP-A	hCG/ free beta
Down syndrome	↓	↓	↑	↑	↑↑	↓↓	↑
Trisomy 18	↓	↓↓	↓↓	↔	↑↑	↓↓	↓↓
Trisomy 13	↔	↔	↔	↔	↑	↓↓	↓
45X, with hydrops	↓	↓	↑	↑	↑	↑↓	↑↓
45X, without hydrops	↓	↓	↓	↓	↑	↑↓	↑↓
Triploidy (paternal)	↔	↓	↑	↑	↑	↑↓	↑↑
Triploidy (maternal)	↔	↓	↓	↓	↑	↑↓	↓↓
Smith-Lemli-Opitz syndrome	↓	↓↓	↓	NR	NR	NR	NR
Sex chromosome aneuploidy	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔

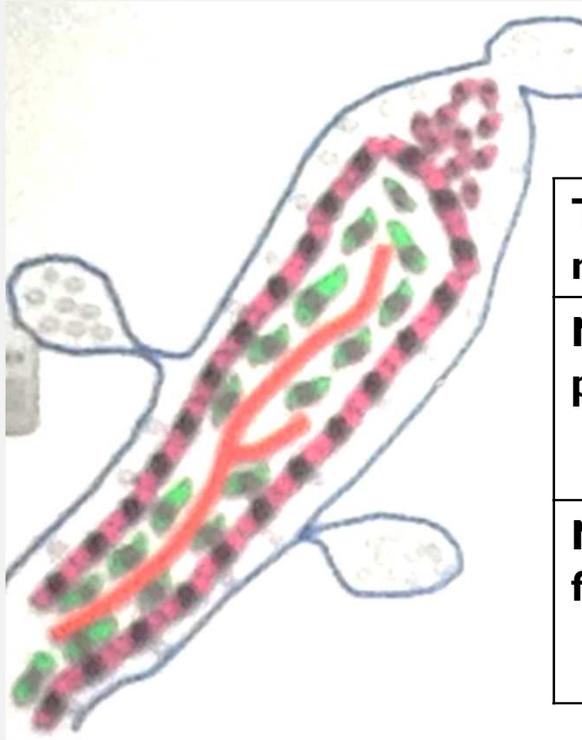
**ALTRE
PATOLOGIE
CROMOSOMICHE**

↑: increased; ↓: decreased; ↔: unchanged; ↑↓: variable; NR: not reported; AFP: alpha-fetoprotein; uE3: unconjugated estriol; hCG: human chorionic gonadotropin; NT: nuchal translucency; PAPP-A: pregnancy-associate plasma protein A.

TEST COMBINATO DEL I TRIMESTRE

- Buon test di screening
 - Sensibilità 90%
 - Tasso di falsi positivi: 5%
 - Sensibilità 94%
 - Tasso di falsi positivi: 5%
 - Permette valutazione della translucenza nucale
 - Importanza certificazione e audit
- } Età, NT, PAPP-A, free β HCG
- } Età, NT, osso nasale, PAPP-A, free β HCG

TEST DEL DNA FETALE – FALSI POSITIVI



cfDNA test

Tipo mosaicismo	Citotrofoblasto	Mesenchima	Liquido amniotico	CfDNA test
Mosaicismo placentare	ANORMALE	Normale	Normale	False +ve
	Normale	ANORMALE		True +ve
	ANORMALE	Anormale		False +ve
Mosaicismo fetale vero	ANORMALE	Normale	ANORMALE	True +ve
	Normale	ANORMALE		False -ve
	ANORMALE	Anormale		True +ve

SINCIZIOTROFOBLASTO

CITOTROFOBLASTO

MESENCHIMA