


cfDNA ile tarama: Kime ve Nasıl

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

38y, G1P0
1.tr. Test

cfDNA
AS, FISH:N

Klinik sonuçlar

Test	Sonuç	MoM
PAPP-A	125.4 ng/mL	0.34
T- hCG	156.8 IU/ml	2.22
NT	1.44 mm	1.02
NB	Mevcut	

Risk Degerlendirmesi (doğumda)

	Risk	Sınır değer
Down Sendromu	1:60	1:250
Sadece Yaş	1:167	
Trisomi 18/13	[illegible]	1:101

Trizomi 21, Trizomi 18 ve Trizomi 13 için yüksek risk saptanmamıştır.

Fetal Fraksiyon Oranı %6.20

Sendrom	Olasılık	Risk Analizi
Trizomi 21	1/12734110	Düşük Risk
Trizomi 18	1/14680635	Düşük Risk

YORUM: Fetal biometrik ölçümler ortalama 23+5 hafta ile uyumludur. Fetal kilo 610 g, 84 persantil. Maternal cilt altı nedeniyle suboptimal şartlarda çalışma yapılmıştır (BMI>30), kilo kontrolü önerildi. Servikal kanal uzunluğu 33 mm, açıklık ve hunileşme yoktur. Plasenta sağ yan-arka duvar yerleşimlidir, alt segmente uzanmıyor. Maternal ve fetal Doppler bulguları normaldir. ASI:16-17 cm.

Fetal eko incelemesinde bir özellik gözlenmedi. İntrakranial yapılar gebelik haftasına göre dogal izlendi. Her iki renal pelvis 2-3.0 mm, gebelik haftasına göre normal sınırlardadır. Diğer sistemlerde bir özellik tespit edilmedi. Nazal kemik 7.7 mm, prenazal aralık 4.3 mm. NF-Ense katlantısı 4.0 mm. Birinci trimester taramada T21 riski 1/60 + maternal yaş 38, aile ileri tarama testi cffDNA (NIFTY) yaptırmış, T21 riski 1/12,734,110, T18 riski 1/14,680,635, T13 riski 1/95,574,401, düşük risk grubunda, cfDNA oranı %6.2 rapor edilmiş. Anne adayı kesin tanı istemesi üzerine AS-karyotip yapılmış, FISH negatif rapor edilmiş, karyotip bekleniyor. Ayrıca tüm sistemler incelendi ve detaylı fetal ultrasonografi ile bir anomali tespit edilmemiştir. Bu

Maternal Kanda Hücre Dışı Fetal DNA (cffDNA) ile "Non-Invasive Prenatal Test (NIPT)"

TJOD İstanbul, Nisan 2013 ve 2014

Uzman Görüşü

Katkıda bulunanlar (*Soyadı sırasına göre*); ASLAN Halil, BAKSU Başak, BAŞARAN Seher, BAŞGÜL Alin, BATUKAN Cem, ERMİŞ Hayri, GÜL Ahmet, HAS Recep, KALELİOĞLU İbrahim, PEKİN Oya, ŞAHİNOĞLU Zeki, ULUDOĞAN Mehmet, TUĞRUL Semih, YAZICIOĞLU Fehmi, YILDIRIM Gökhan, YÜKSEL Atıl

Yayınlanma tarihi: Ocak 2014

Fetal kromozomal hastalıklar için tarama programları 30 yıl önce biyokimyasal testler olarak başlamış, daha sonraları ultrasonografi ve biyokimyasal testlerin birlikte kullanımı şeklinde devam etmiştir. Aynı dönemde maternal kandan elde edilen fetal hücrelerde prenatal

cfDNA'nın olası kullanım alanları

cffDNA ile NIPT'nin olası kullanım alanları:

- ✓ **Maternal yaşın 35 ve üstünde olması.**
- ✓ **Trizomi tarama testlerinin pozitif olması durumunda.**
- ✓ **Trizomi 21 ve 18 için spesifik ultrason belirteçlerinin varlığında.**
- ✓ **Trizomi 21 ve 18'li fetus / bebek öyküsünde.**
- ✓ **Parental dengeli robertsonian Trizomi 21 ve Trizomi 13 translokasyonu.**

cfDNA Panel Sorular

Genel olarak günlük uygulamalara yönelik ancak bazen akademik tartışmalar

cfDNA PANEL

1. Maternal kanda cfDNA ve fetal DNA: Tarihi gelişimi kısa özet
2. cfDNA ve test yöntemleri: cfDNA testlerin temelleri ve MPSS, "targeted" dizileme ve SNP yöntemleri arasında farklar ve benzerlikler
3. cfDNA testlerinde Fetal DNA oranını etkileyen fakörler?
4. cfDNA testlerinin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri nedir? Yöntem, fetal fraksiyon oranı ve farklı kromozom anomalilerine göre değişimi?
5. cfDNA tanı testi mi? Yalancı pozitiflik, yalancı negatiflik oranları nedir? 5b: İstanbul verileri ve deneyimi
6. Hangi gruba cfDNA önerelim? Olası kullanım durumları? Dünyadaki uygulamalar nedir? Dünyadaki Kadın Doğum ve Genetik birliklerinin önerisi nedir?
7. Düşük risk grubuna cfDNA seçeneği sunalım mı? Önerelim mi?
8. Maliyet / Etkinlik durumu nedir? Literatür ne diyor?
9. Hangi gebelik haftasından itibaren seçenek olarak sunalım? 10 hf? 12 hf? veya başka haftalar?
10. İleri yaş grubunda, >35 y veya >40 y, direkt cfDNA seçeneği sunalım mı? veya birinci trimester/dörtlü test yapalım sonrasında duruma göre?
11. Birinci trimester tarama veya üçlü/dörtlü test sonuçlarına göre hangi durumda cfDNA seçeneği sunalım? Risk aralığı ne olmalı ?
12. Majör fetal anomali var cfDNA yerine CVS/AS mi yapmalıyız? Majör anomali grubu nedir? Kısaca sıralayalım...
13. Test Pozitif veya yüksek risk olarak rapor edildi? Tanı testi olarak kabul edebilirmiyiz? Tanı testi yapacaksak, T21, T18, T13, X0, XXY, hangi durumda CVS veya AS yapmalıyız?
14. Sonuç verilemeyen test oranı nedir? Klinik önemi? Nedenleri? Bu vakalarda ne yapılmalı?
15. İkizlerde, "vanising-kaybolan" ikizde, ovum donasyonunda ve düşük molekul ağırlıklı heparin kullanımında cfDNA yapalım mı? Hangi test yöntemini kullanalım? İkizlerde etkinliği?
16. cfNDA negatif/düşük risk grubunda, USG: Majör anomali var, ne yapmalıyız?
17. cfDNA yapılmış ve negatif/düşük risk grubunda; Sonrasında fetal USG: "soft marker" - belirteçler var, ekojen odak, CPC, ARSA, pyelektazi, görece kısa femur-humerus, ekojen bağırsak, NF artmış; Bunların bir tanesi veya iki tanesi var, ne yapmalıyız?
18. Fetal USG: "soft marker"- belirteçler var, ekojen odak, CPC, ARSA, pyelektazi, görece kısa femur-humerus, ekojen bağırsak, NF artmış; Bunların bir tanesi var veya iki tanesi var, ne yapmalıyız? cfDNA mı yapalım? AS-karyotip mi?
19. CVS / AS-karyotip uygulmasında tespit edilen ancak cfDNA test ile hangi kromozomal anomalileri/ delesyon veya duplikasyonu tespit etmek mümkün değil?
20. Mikrodelesyon / Mikroduplikasyon sendromlarını (MDS) tarayalım mı? Sensivite, spesifite, pozitif prediktif değer?
21. T21, T18 ve T13 için istenen cfDNA testinde ayrıca bir çok MDS sendromunun çalışılması bir sorun mu? Girişim oranlarına etkisi?
22. Yaş 40 + ARSA, timus normal. cfDNA testi uygun mu? 22q11 del için cfDNA yeterli mi? yoksa CVS/AS ile FISH, micorarray?
23. cfDNA oranı ile preeklampsi, preterm doğum ve kötü perinatal sonuçlar arasında ilişki var mı? varsa bu ilişkinin klinik kullanımı mümkün mü?
24. cfDNA testinin Günümüzde tek gen hastalıklarında kullanımı mümkün mü? 25 soru devam: Gelecekte tek gen hastalıkları veya eksom / tüm gen taramasında kullanılacak mı?

Maternal kanda cfDNA ve fetal DNA: Tarihi gelişimi kısa özet

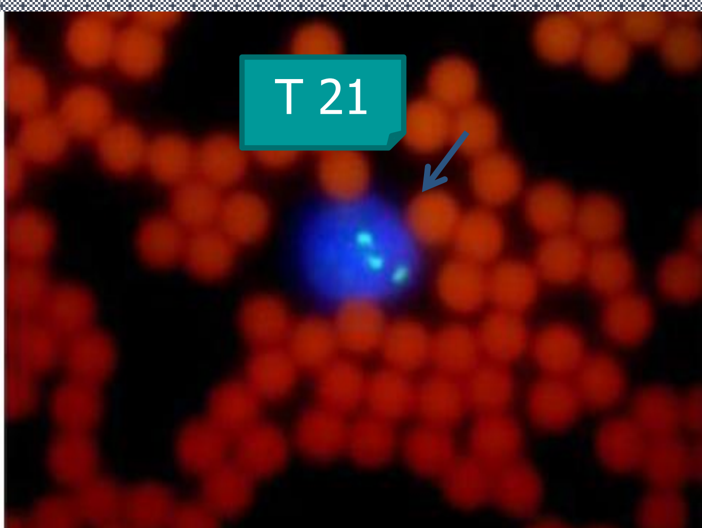
1/SB1

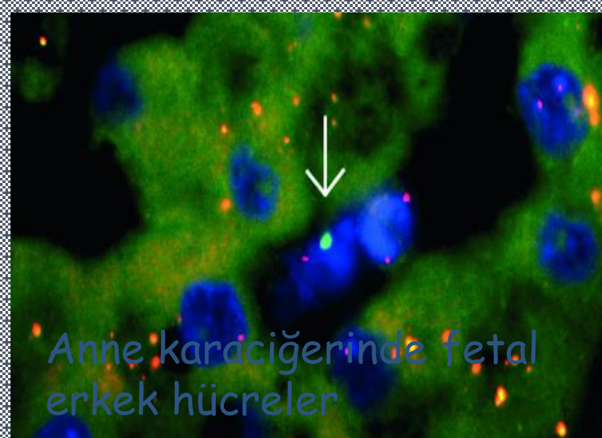
80'ler ve 90'lar Maternal Kanda Fetal Kromozom Anomalilerinin Tanısı için fetal hücre avı ile geçti….

Anne kan dolaşımında fetal hücre 1:1 000 000

Bu hücreleri (sitotrofoblast, eritroblast, vd) ayrıştırmak ve zenginleştirmek hedeflenmişti.

Oysa "ayrıştırma" yeterli düzeyde olamadı ve kullanıma giremedi.





For the first time, scientists have found male fetal cells (shown here) in a mother's brain, as reported online Sept. 26, 2012, in the journal PLoS ONE.
Credit: PLoS ONE 7(9): e45592. doi:10.1371/journal.pone.0045592View full size image

PLAZMADA EKSTRASELLÜLER DNA

-1940 larda plazmada ekstraselluler DNA'nın varlığı bildirildi,
-1990 larda kanser hastalarının plazmalarından elde edilen serbest DNA da tümör kökenli genetik markerler saptandı,

-1997 de erkek fetus taşıyan gebelerin plazmalarında fetusun Y kromozomuna ait markerler gösterildi (Lo et al., 1997).

Noninvasive testing for fetal aneuploidy using fetal nucleic acids

THE LANCET

Early report

Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum

1997

Y M Dennis Lo, Noemi Corbetta, Paul F Chamberlain, Vik Rai, Ian L Sargent, Christopher W G Redman, James S Wainscoat

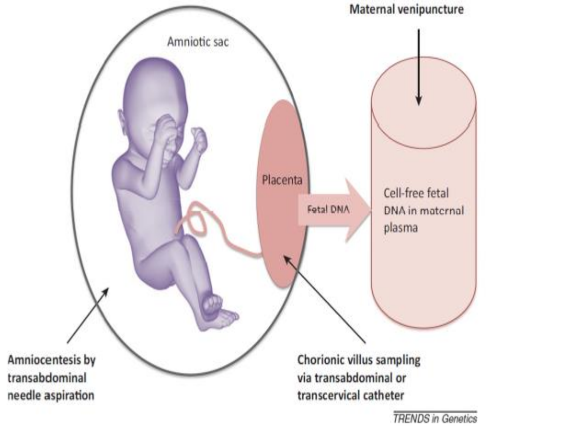
BMJ

RESEARCH

Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study

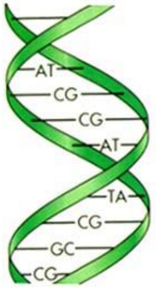
2011

Rossa W K Chiu, professor,[1] Ranjit Akolekar, clinical research fellow,[3] Yama W L Zheng, student,[1] Tak Y Leung, professor,[2] Hao Sun, assistant professor,[1] K C Allen Chan, associate professor,[1] Fiona M F Lun, postdoctoral fellow,[1] Attie T J I Go, professor,[4] Elizabeth T Lau, department manager and honorary assistant professor,[5] William W K To, consultant,[6] Wing C Leung, consultant,[7] Rebecca Y K Tang, consultant,[8] Sidney K C Au-Yeung, consultant,[9] Helena Lam, consultant,[10] Yu Y Kung, obstetrician,[11] Xiuqing Zhang, manager,[12,13] John M G van Vugt, professor,[4] Ryoko Minekawa, postdoctoral fellow,[3] Mary H Y Tang, consultant and honorary clinical associate professor,[5] Jun Wang, professor,[12] associate director,[13] Cees B M Oudejans, associate professor,[4] Tze K Lau, professor,[2] Kypros H Nicolaides, professor,[3] Y M Dennis Lo, professor[1,12]



Hui & Bianchi 2012

Maternal Plazmada Dolaşan cell free DNA'nın (cf-DNA) Biyolojik Özellikleri

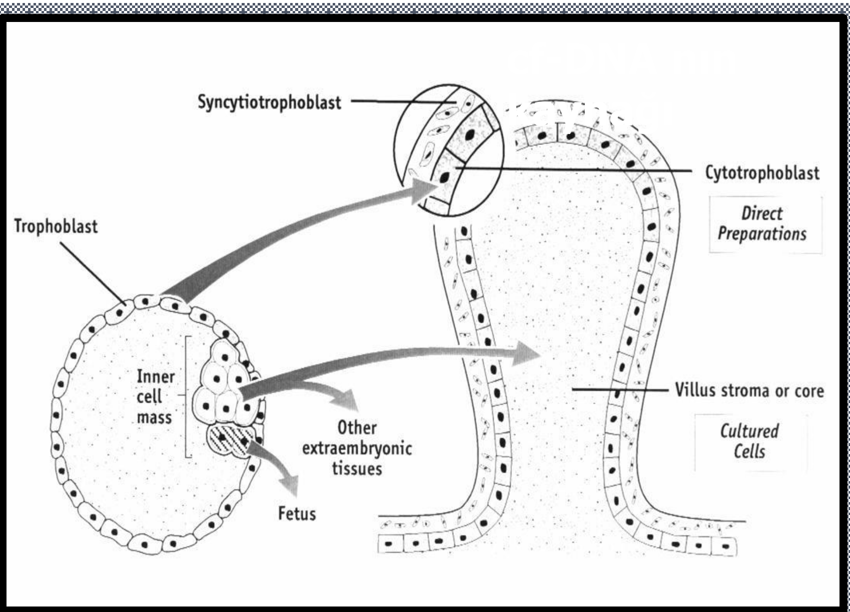


-Serbest dolaşımdaki cf-DNA'nın % 80'i <200 bp
-Plazmadaki tüm DNA'nın % 3-20 plasenta (sitotrofoblast) kaynaklıdır,
-Implantasyonu takip eden 18 inci günden itibaren plazmada saptanır
-Gebelik ilerledikçe miktarı artar,
-Gebelik bittikten sonra, yarı ömrü 16 dakikadır,
-Genel görüş, cf-DNA nın kalıcı olmadığıdır; ancak bir yayın fetal DNA nın uzun süre (27 yıl) maternal kanda saptanabildiğini ve bu bazı fetal hücrelerin maternal kanda uzun yaşadığı ve plazma ayrıştırması esnasında tüm nükleuslu hücrelerin iyi uzaklaştırılamaması ile açıklanmaktadır.

"cf-DNA, ağırlıklı olarak plasenta kaynaklı olduğundan, plasentaya ait özellikleri (plasenta ile sınırlı mozaisizm, plasental epigenetik özellikler, vs) yansıtmaktadır ve bu nedenle

cfp-DNA ya da cf-DNA

olarak adlandırılması önerilmektedir."



cf-DNA Testlerinin KLİNİK UYGULAMALARI

Maternal kandan alınan plazma örneğinde tüm hücre yapılarının uzaklaştırılması

DNA nın ekstraksiyonu

Minör oranda fetal DNA(%10) + Majör oranda maternal DNA (%90)

<u>Kalitatif Yöntemler;</u>
Maternal ve fetal DNA polimorfizm/değişimlerini tanır

TANI

<u>Kantitatif Yöntemler;</u>
Normal ile karşılaştırma esasına göre tanır

TARAMA

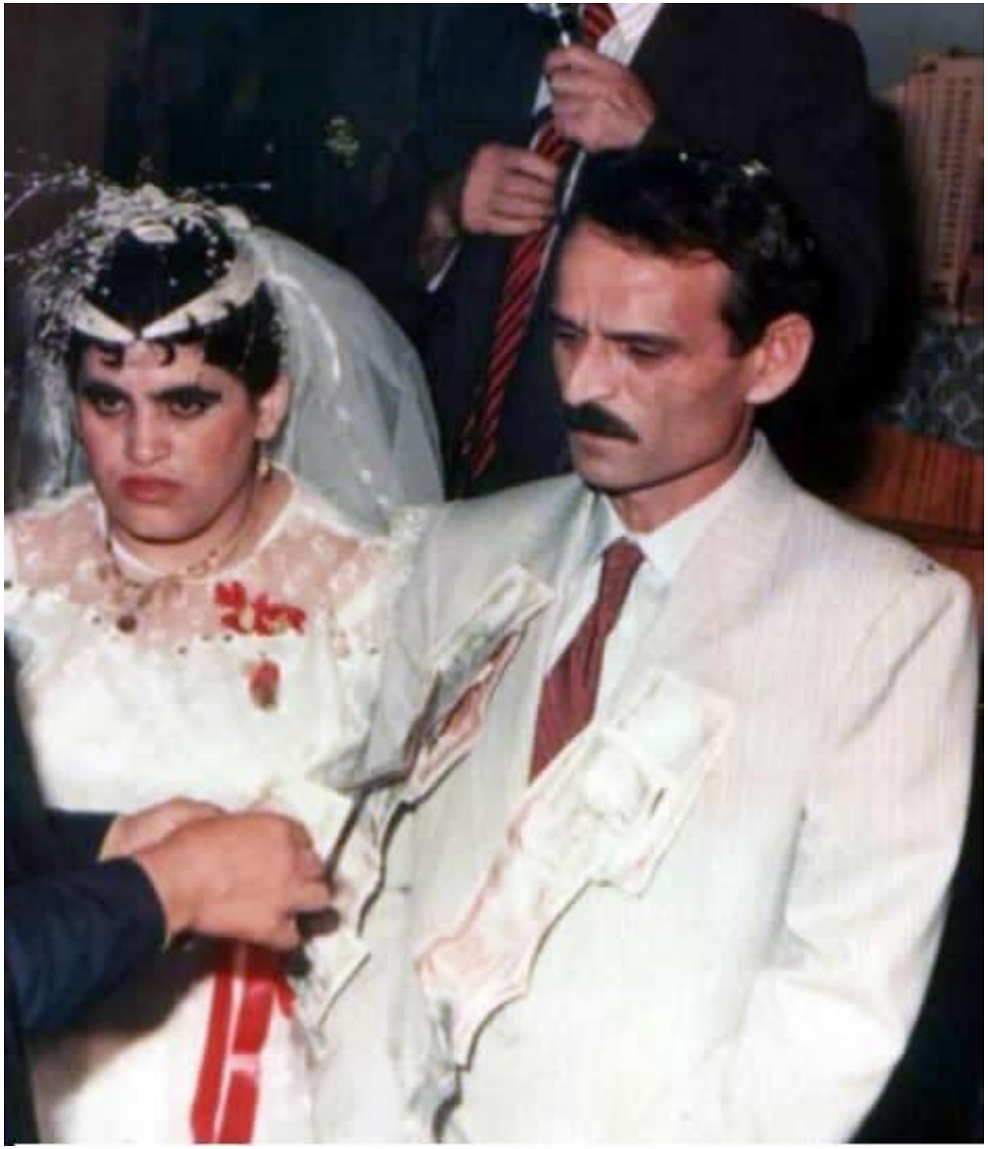
Kromozom anomalilerine yönelik

cfDNA Paneli

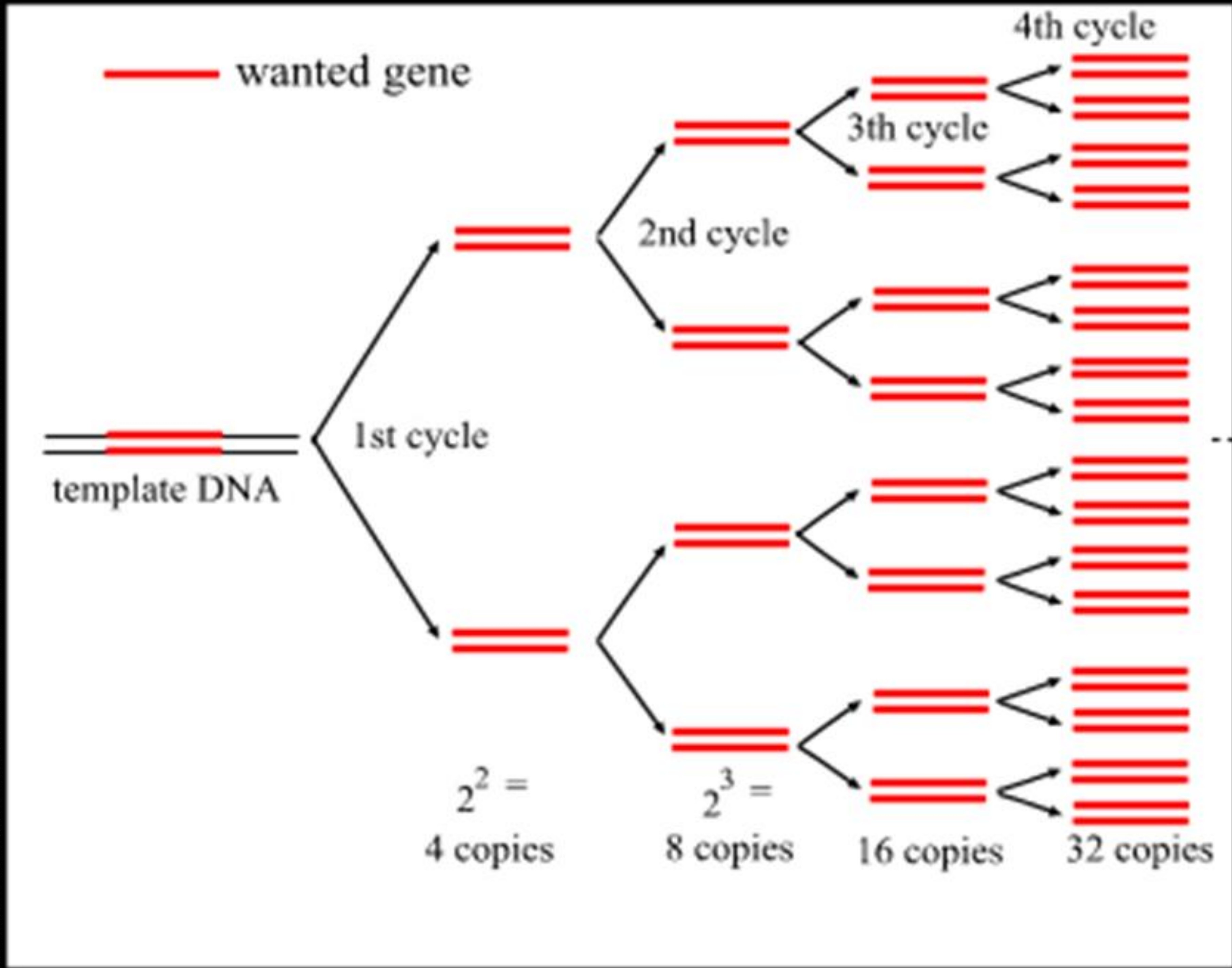
Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA ve test yöntemleri: cfDNA testlerin temelleri ve MPSS, “targeted” dizileme ve SNP yöntemleri arasında farklar ve benzerlikler

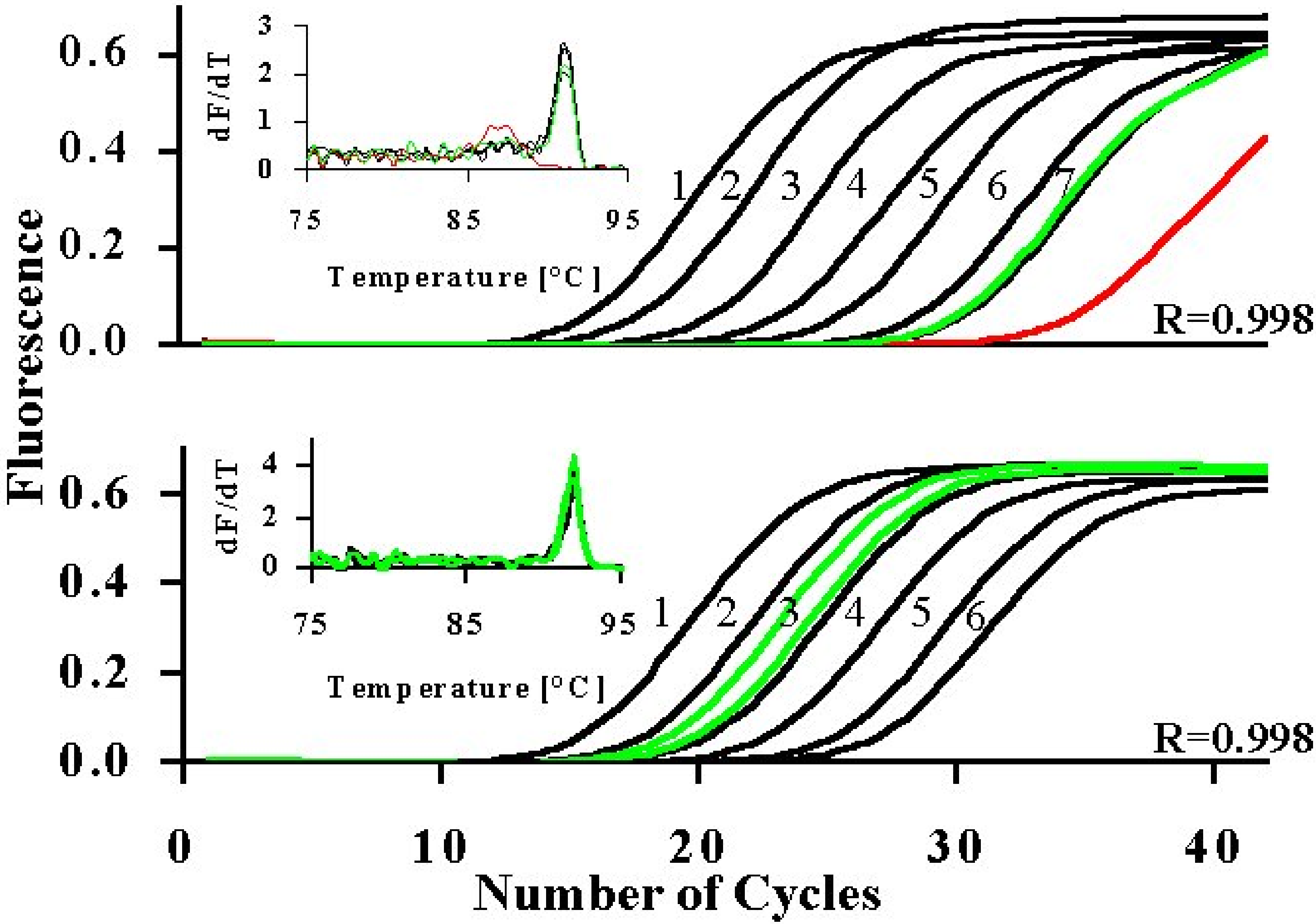
2/SC1



Bazı ana ilkeler



4th cycle
wanted gene
3th cycle
2nd cycle
1st cycle
template DNA
$2^2 =$
4 copies
$2^3 =$
8 copies
16 copies
32 copies



Fluorescence
0.6
0.4
0.2
0.0
dF/dT
3
2
1
0
75
85
95
Temperature [°C]
1
2
3
4
5
6
7
R=0.998
0.6
0.4
0.2
0.0
dF/dT
4
2
0
75
85
95
Temperature [°C]
1
2
3
4
5
6
R=0.998
0
10
20
30
40
Number of Cycles

Sözlük
DNA’daki parmak izi-DNA fingerprinting

- Her insanda diğerlerinden farklı DNA bölgeleri vardır.
- SNP: Single nucleotide polymorphism

AAATAGCTC

AAACAGCTC

- STR: Short Tandem Repeat

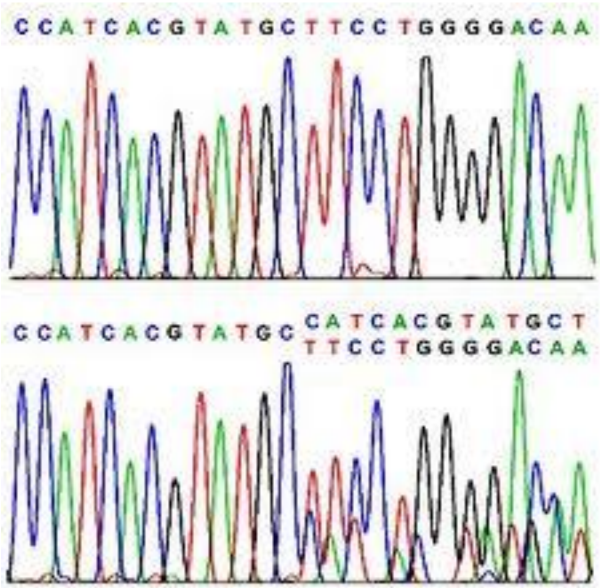
ATACATACATACATACATAC

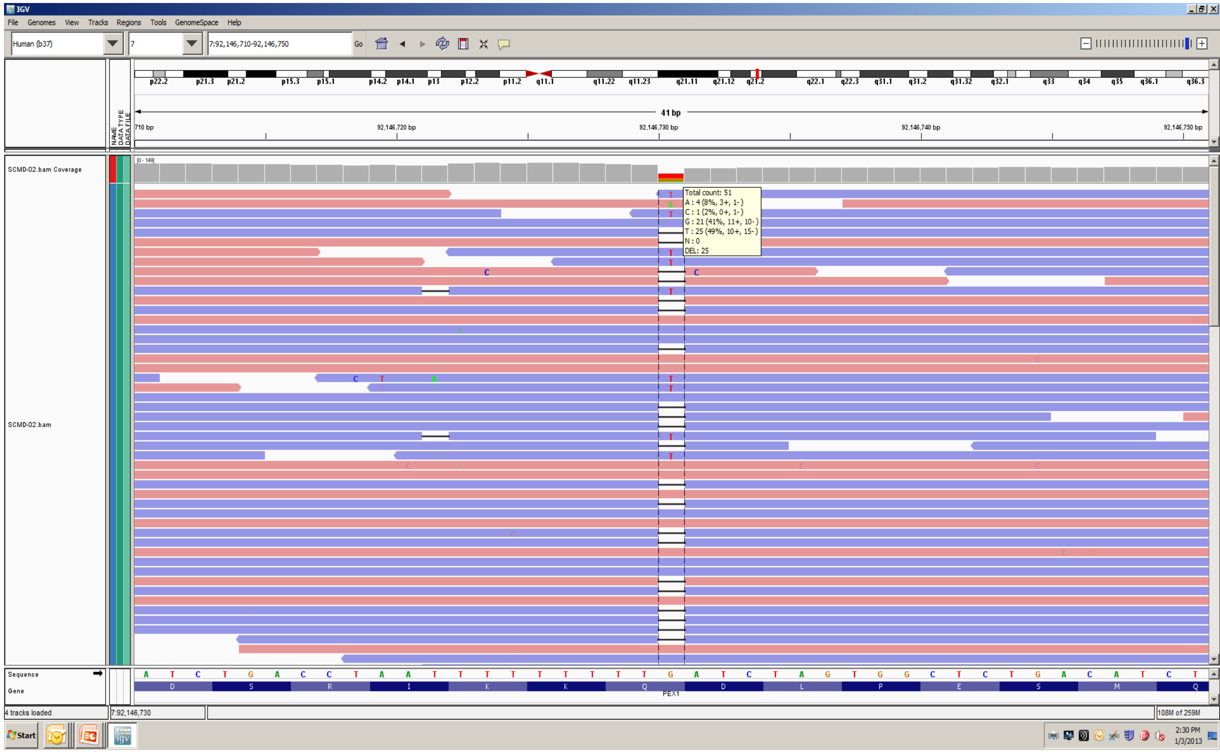
Sözlük

- Sekanslama-Dizileme?
- AATGAACGATAGCC

- Yeni nesil dizileme

- Sanger dizileme





Yeni nesil sekanslama-dizileme

- DNA’daki bir bölgeyi yüzlerce kere okuyor.
- Bu sayede düşük orandaki değişiklikleri tespit edebiliyor.
- Güvenilir bir oranlama yapabiliyor.
- Kapasitesi çok yüksek. Bir insanın bütün DNA’sını okuyabiliyor. Hatta bir cihaz bir çalışmada 4 insanın bütün DNA’sını okuyabiliyor.

Üç ana yöntem

- Shotgun dizileme
- Hedefe yönelik dizileme
- SNP bazlı alelik ayrım + kantitatif değerlendirme (Hedefe yönelik dizilemenin bir türü)

MANTIK

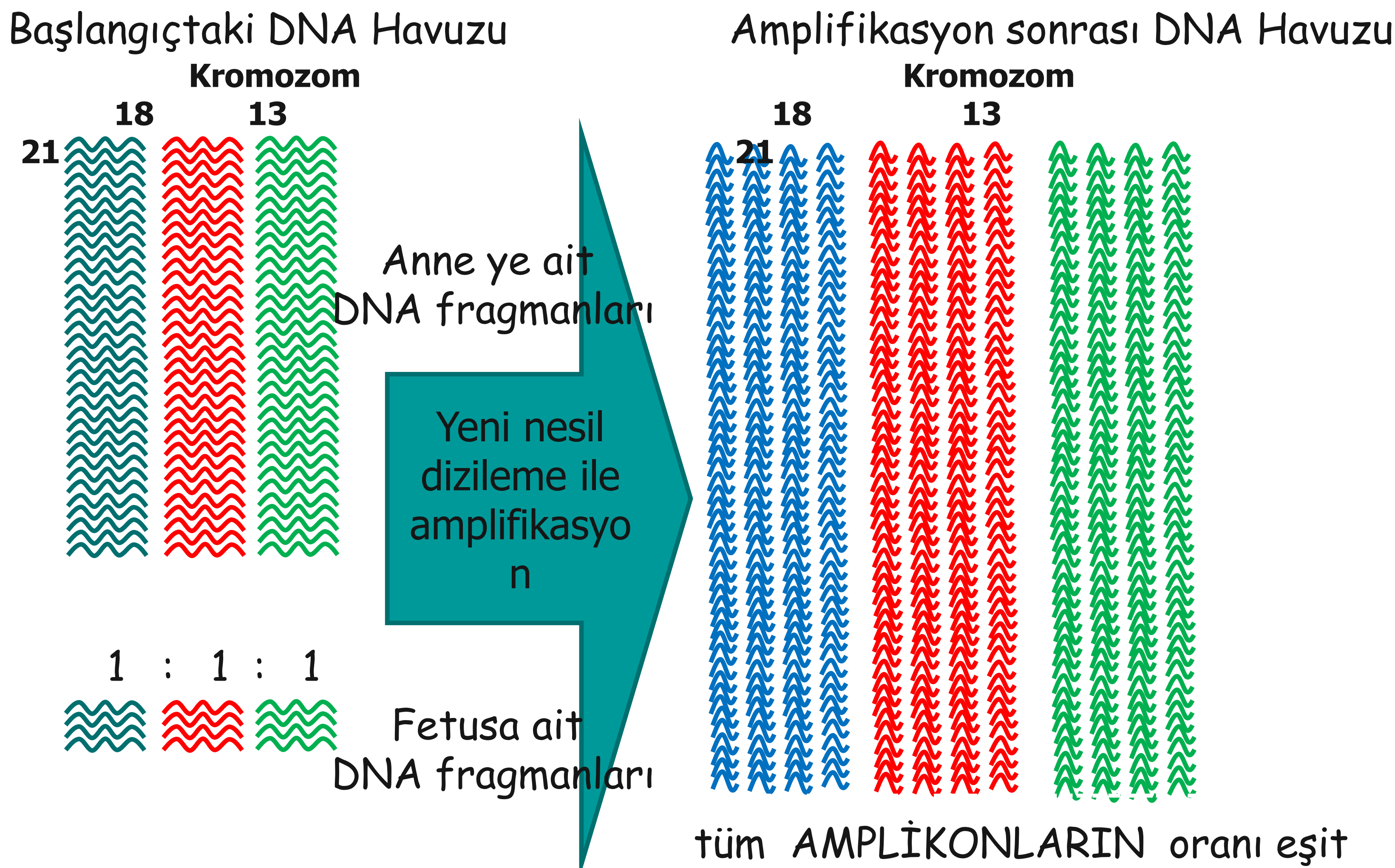
Massively Paralel Sequencing
Deep Sequencing

A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
A	A	A	A	A	G	A	A	A	A
G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Massively Paralel Sequencing
Deep Sequencing

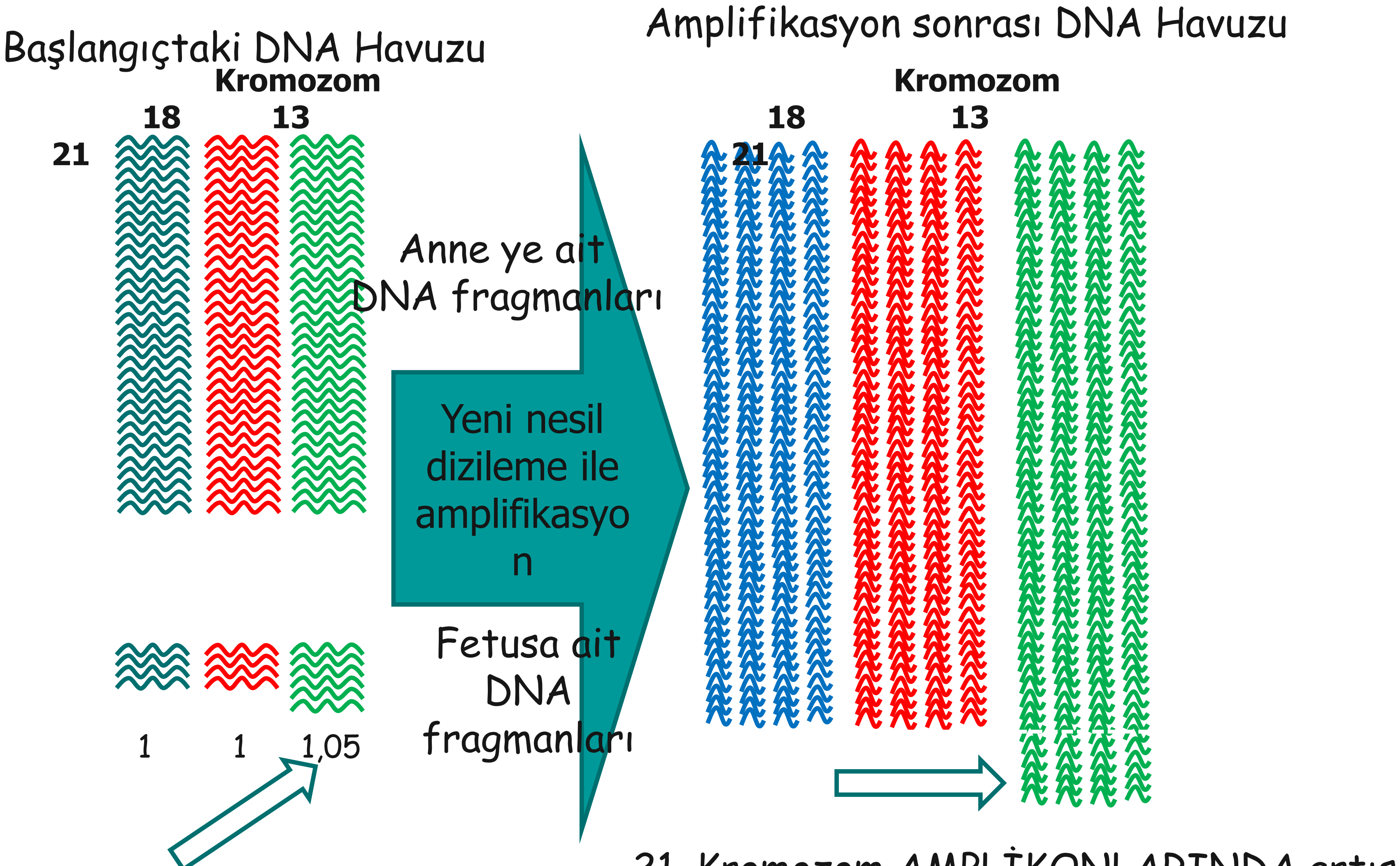
Kantitatif Yöntem; Fetus NORMAL

Anne 46 kromozom + fetus 46 kromozom



Kantitatif Yöntem; Fetus TRİZOMİK

Anne 46 kromozom + fetus 47 kromozom (47,+21)



21. Kromozom AMPLİKONLARINDA artış

Fetal Fraksiyon Etkisi

- Tüm DNA’da FF oranı %10 ise

Normal anne ve

Normal fetus; 90 kromozom anne+10 kromozom fetus=**100**

Trizomik fetus; 90 kromozom anne+15 kromozom fetus=**105**

Aranan fark sadece **0,05**

- Tüm DNA’da FF oranı %20 ise

Normal fetus; 80 kromozom anne+20 kromozom fetus=**100**

Trizomik fetus; 80 kromozom anne+30 kromozom fetus=**110**

Aranan fark **0,1**

Bu yüzden fetal fraksiyon önemli

SNP ve Alelik ayrım

A	A	A	A	A
A	A	A	A	A
T	T	T	T	T
T	A	T	T	A
G	G	G	G	G
C	C	C	C	C
A	A	A	A	A

1:1

2:1

Nature (27 Feb 2013)

	Netera	Verinata (Illumina)	Sequenom	Ariosa
	Panorama	Verifi	Materni 21 Plus	Harmony
Trizomi	13, 18, 21	13, 18, 21, X, Y	13, 18, 21, X, Y	13, 18, 21
Monozomi	X	X	X	
Yöntem	SNP	MPS	MPS	Kromozoma özgün sekanslama
Sensitivite	% 92-99	%87-99	% 92-99	%80-99
Spesifite	%100	%100	≈%100	≈%100
Gebelik haftası	9	10	10	10

Shotgun dizileme

- Tüm kromozom bölgelerini değerlendirir.
- Nadir trizomileri yakalayabilir (Trizomi 8, trizomi 9, trizomi 20). Bunlar sıklıkla mozaik olduğundan düşük oranlı mozaisizmlerde tanıyı atlayabilir.
- Mikrodelesyonları tespit eder

Hedefe yönelik dizileme

- Daha düşük maliyetli
- Sadece tasarlanan bölgelere yönelik analiz yapabilir.
- Hedefe yönelik olduğundan daha yüksek çözünürlükte tarama yapma (doğru tanı) şansı yüksektir.

SNP bazlı yöntemler

- Daha düşük maliyetli
- Sadece tasarlanan bölgelere yönelik analiz yapabilir.
- Hedefe yönelik olduğundan daha yüksek çözünürlükte tarama yapma şansı var.
- Hedefe yönelik dizileme + Allelik ayrım bazlı analiz
- Uniparental dizomi analizi
- Baba örneği alınması analitik doğruluğu arttırır ama şart değil. Bunun analize eklenmesi maliyeti arttırır.

Kontrendikasyonları

- Ovum donasyonu ve akraba evlilikleri (Özellikle inbred ailelerde)

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA testlerinde Fetal DNA oranını etkileyen fakörler?

3/ZŞ1

Where do the Fetal Cells Come From?

- Fetal cells constantly traffic across the placenta and into maternal circulation
- Several fetal cell types
  - Trophoblasts
  - Lymphocytes
  - Granulocytes
  - Platelets
  - Nucleated erythrocytes
    - most commonly studied cell type
    - Limited lifespan
- 1 fetal cell / 1,000,000 maternal cells

Inconsistent & <u>low yield</u> of fetal cells retrieved after sorting and enrichment has prevented the transition of this approach to routine clinical practice.
Focus of noninvasive prenatal testing (NIPT) has shifted towards aneuploidy analysis of cell-free fetal DNA (**cffDNA**).

FF miktarına etkili faktörler

	Cell-free fetal DNA	Cell-free DNA	Fetal fraction
Smokers	Decrease(16)	Decrease(16)	Increase(84)
Twin pregnancy	Increase(88)	-	-
Ethnicity (Caucasian)			
Afro-Caribbean	Increase(16)	Increase(16)	Decrease(84)
East Asian	Increase(16)	Increase(16)	No change(84)
South Asian	No change(16)	Increase(16)	No change(84)
Increasing maternal BMI/weight	Decrease(16)	Increase(16,97)	Decrease(84,98,99)
Increasing gestational age	Increase(31,81)	-	Increase(83,99)
Increasing crown-rump length	No change(16)	No change(16)	Increase(84,99)
Increasing PAPP-A1	Increase(16,89)	Increase(16,89)	Increase(84,98,99)
Increasing free β-hCG	Increase(16)	Increase(16)	Increase(84,98,99)

BMI: Body mass index; PAPP-A1: β-hCG; the β-subunit of human chrionic gonadotropin;

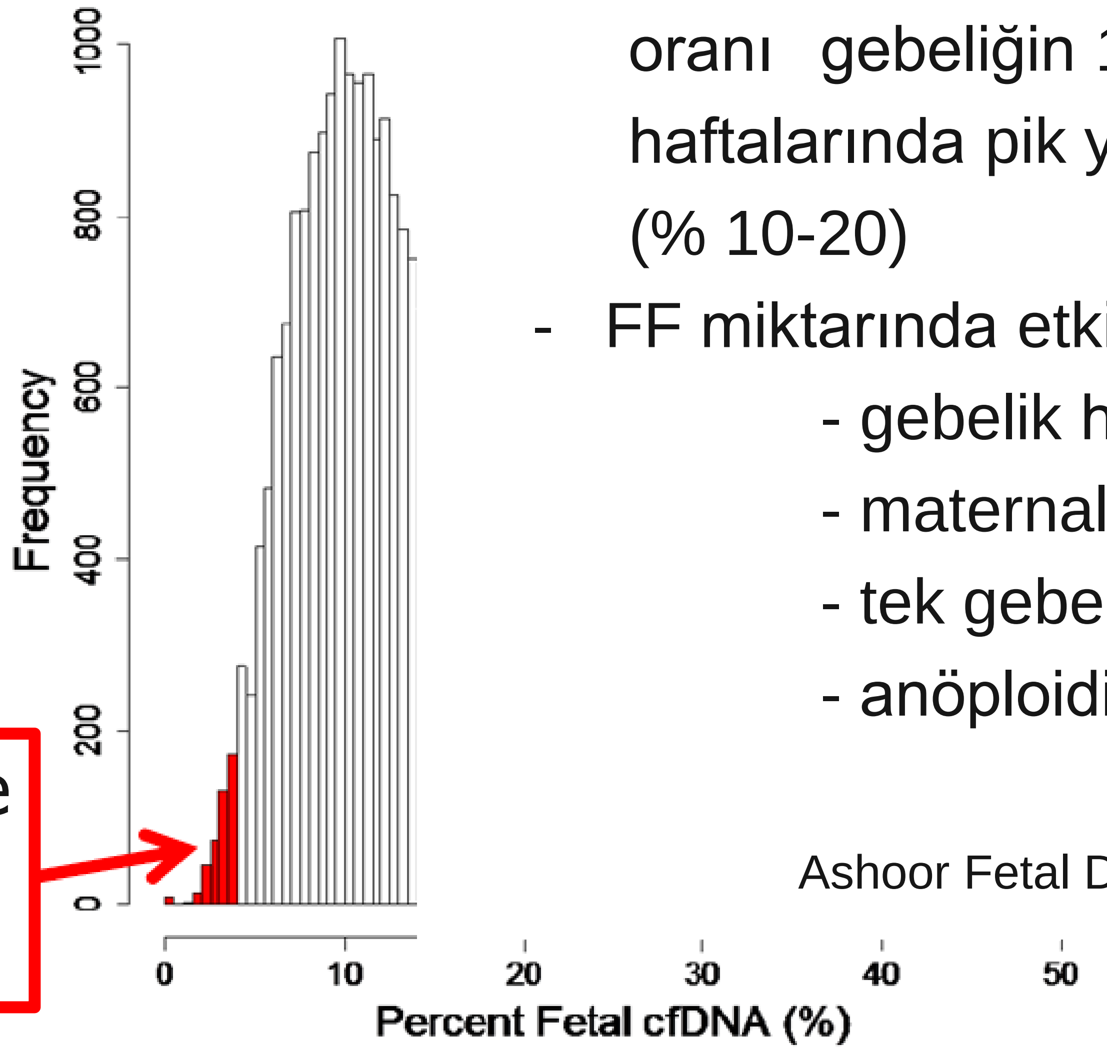
Variation in the amount of fetal cells and cell-free fetal DNA in maternal blood, PhD dissertation
Jacob Mørup Schlütter, Health, Aarhus University, 2014

Fetal fraksiyon

- Fetal fraksiyon (cfDNA) oranı gebeliğin 10-21. haftalarında pik yapar (% 10-20)
- FF miktarında etkili 4 faktör:
  - gebelik haftası
  - maternal BMI
  - tek gebelik / çoğul
  - anöploidi tipi

Ashoor Fetal Diag Ther, 2012

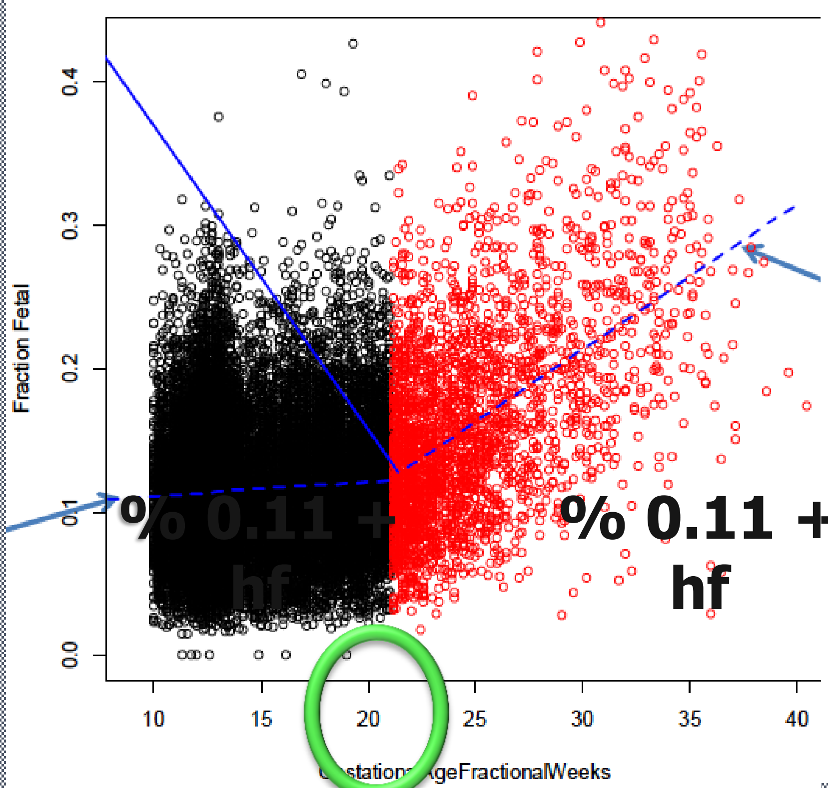
% 2 gebede FF < % 4



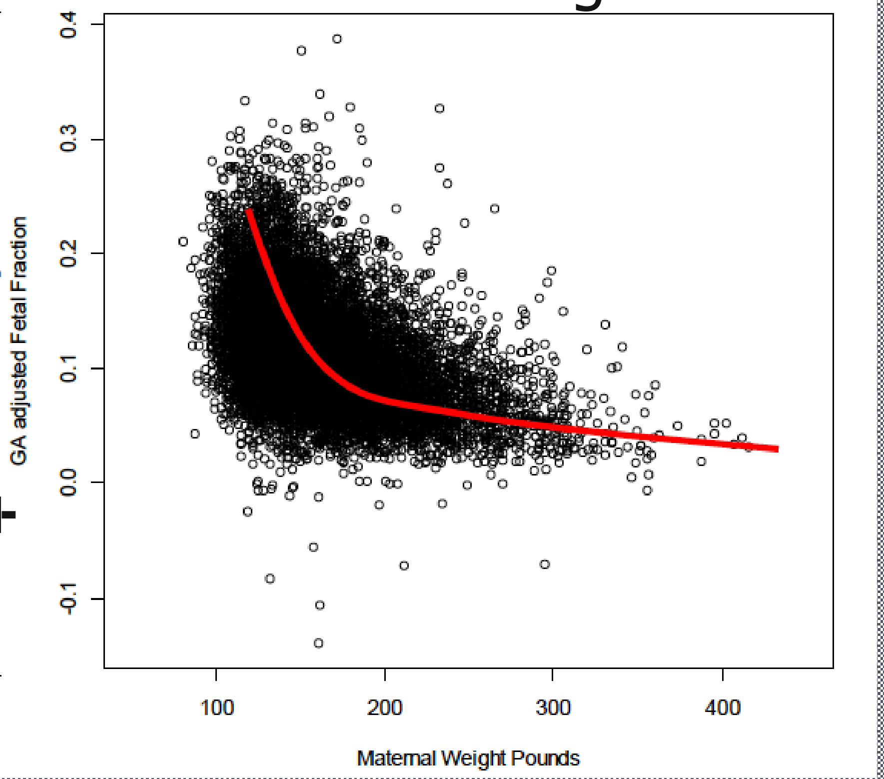
Wang E, Prenat Diagn 201

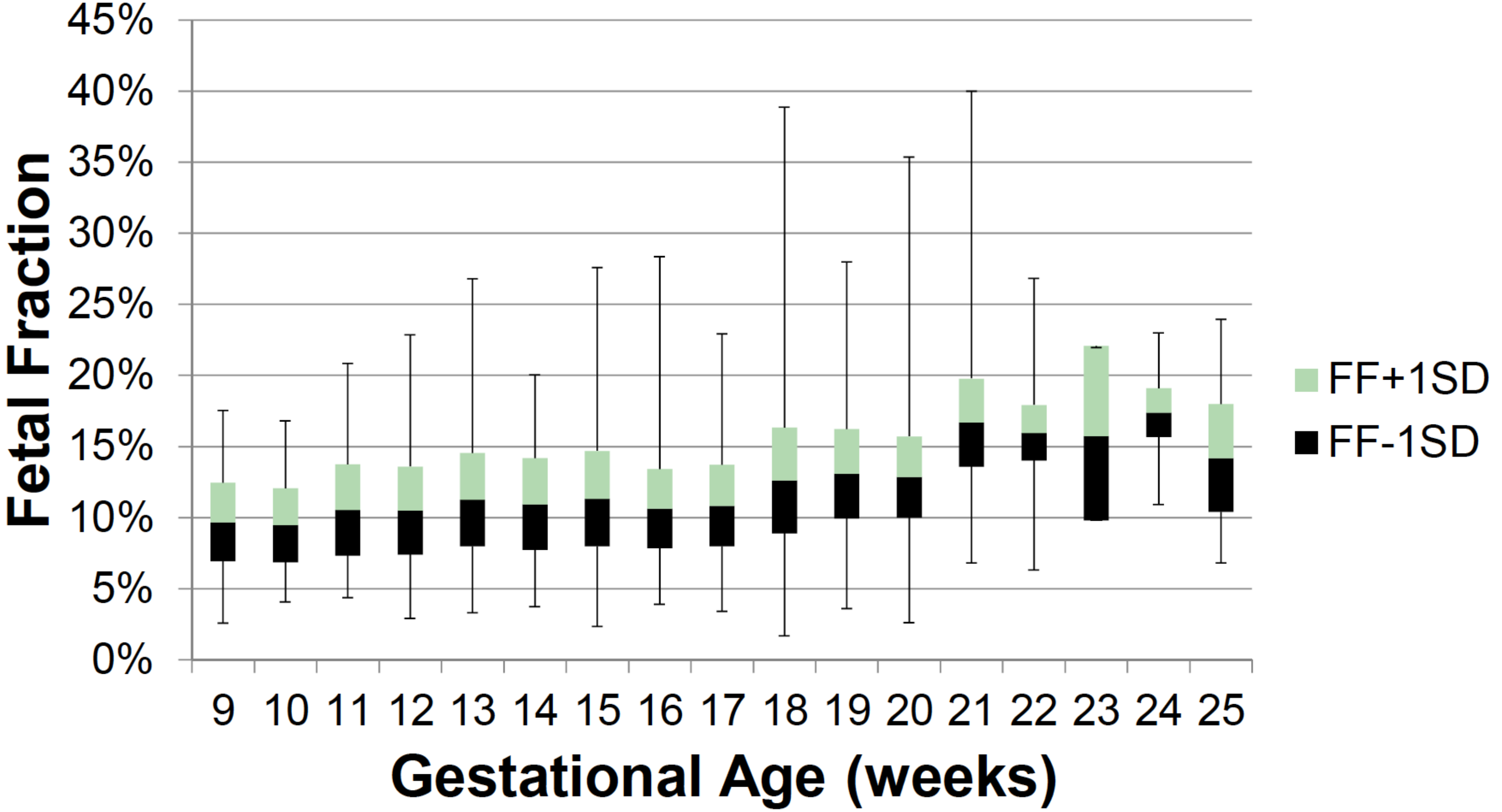
■ Fetal fraksiyon

Gebelik haftası



Maternal ağırlık




45%
40%
35%
30%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
Fetal Fraction
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
Gestational Age (weeks)
FF+1SD
FF-1SD

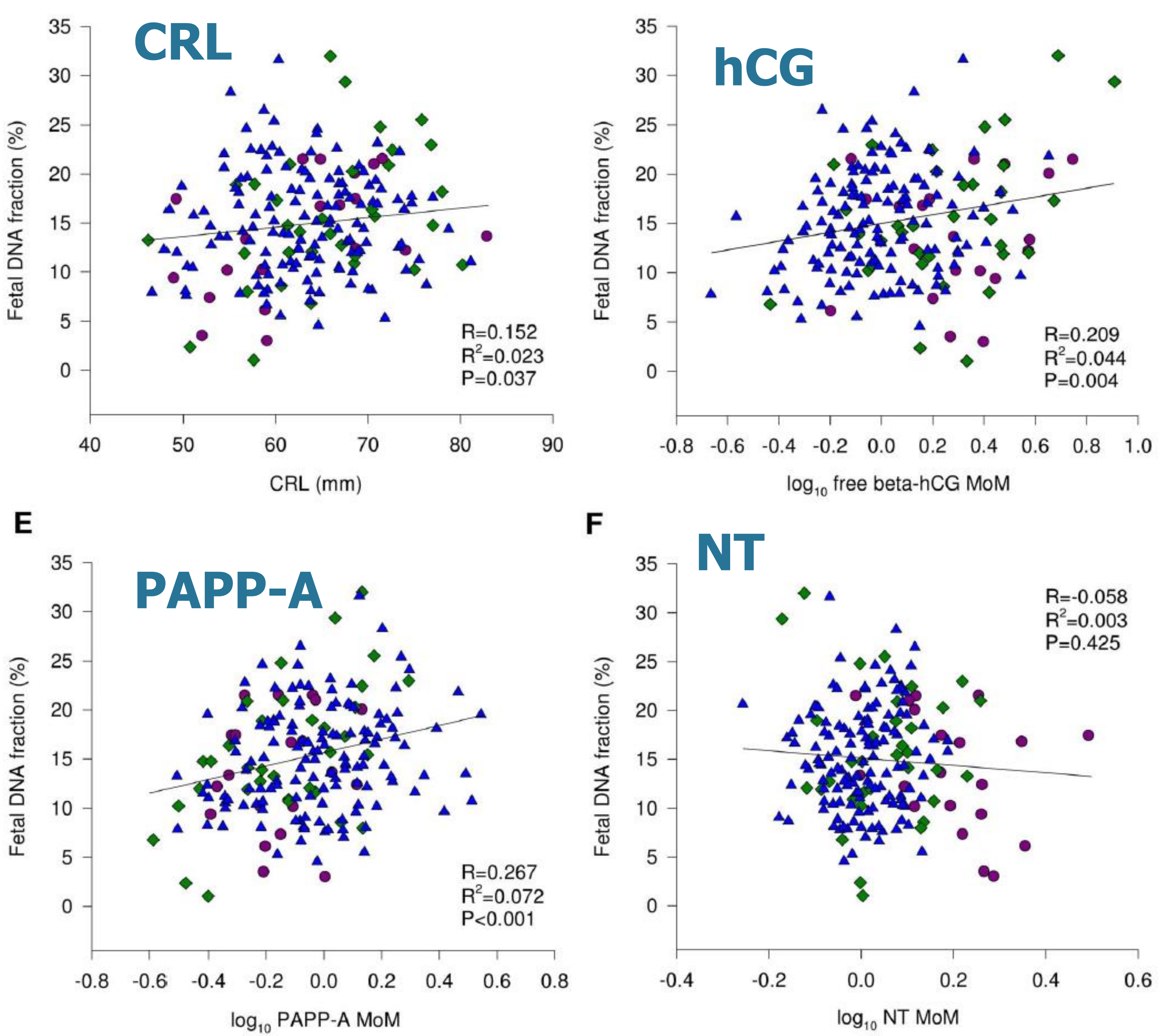
Maternal Plasma Fetal DNA Fractions in Pregnancies with Low and High Risks for Fetal Chromoson

Irena Hudecova[1,2], Daljit Sahota[3], Macy M. S. Heung[1,2], Yongjie Jin[1,2], Yuk Ming Dennis Lo[1,2], Rossa W.K. Chiu[1,2]*

1 Centre for Research into Circulating Fetal Nucleic Acids, Li Ka Shing Institute of Health Sciences, The Chinese Univer Kong SAR, China, 2 Department of Chemical Pathology, The Chinese University of Hong Kong, Prince of Wales Hospita 3 Department of Obstetrics and Gynaecology, The Chinese University of Hong Kong, Prince of Wales Hospital, Shatin,

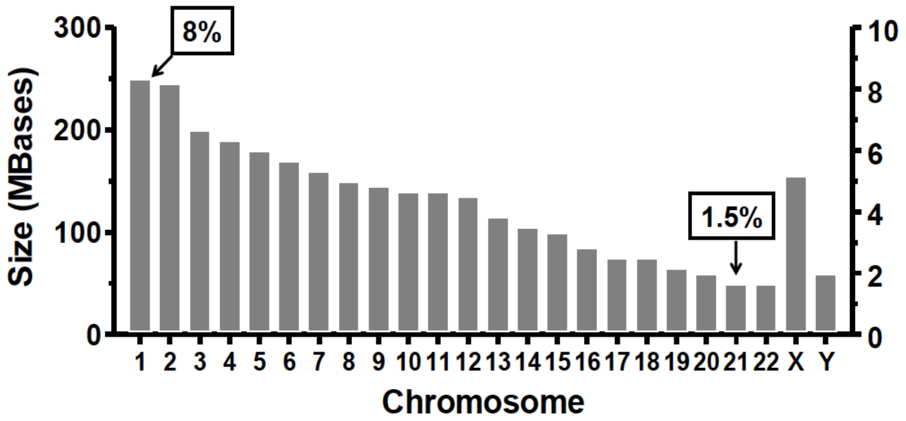
OPEN ACCESS Freely available online

February 2014 | Volu

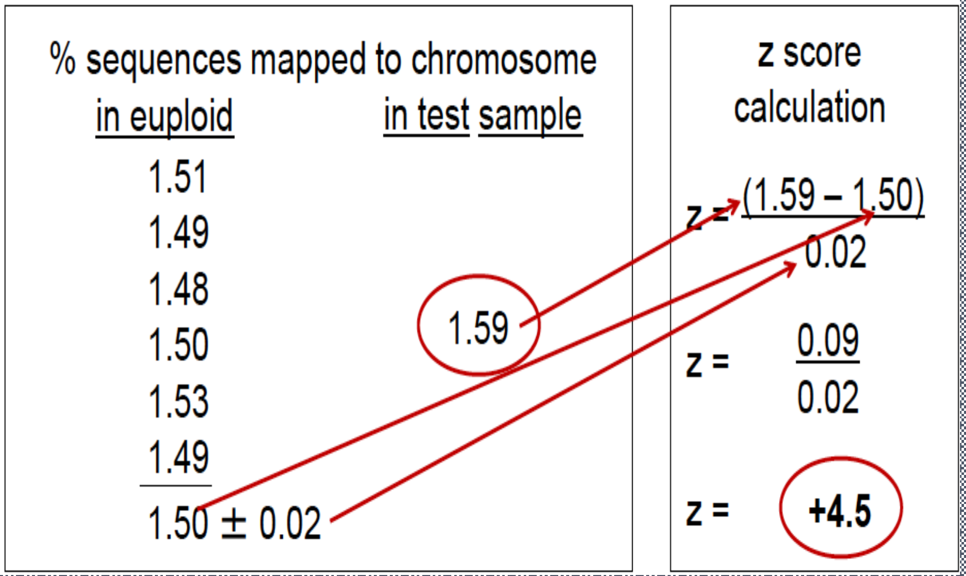


Fetal fraksiyon

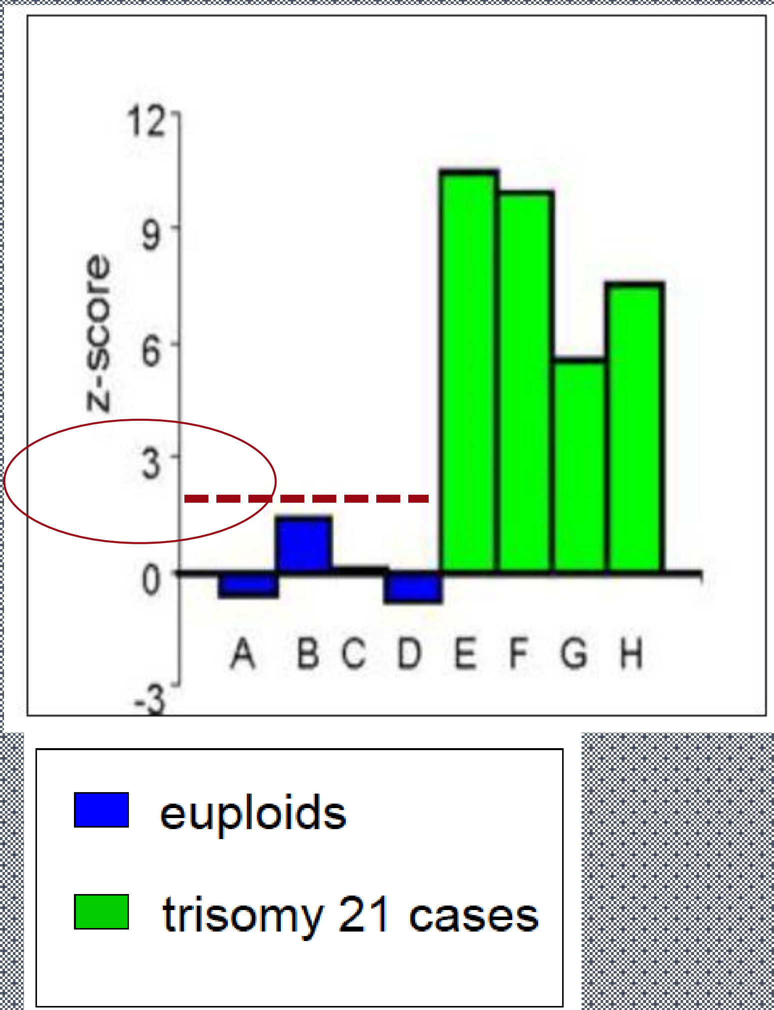
Chromosome-specific contribution

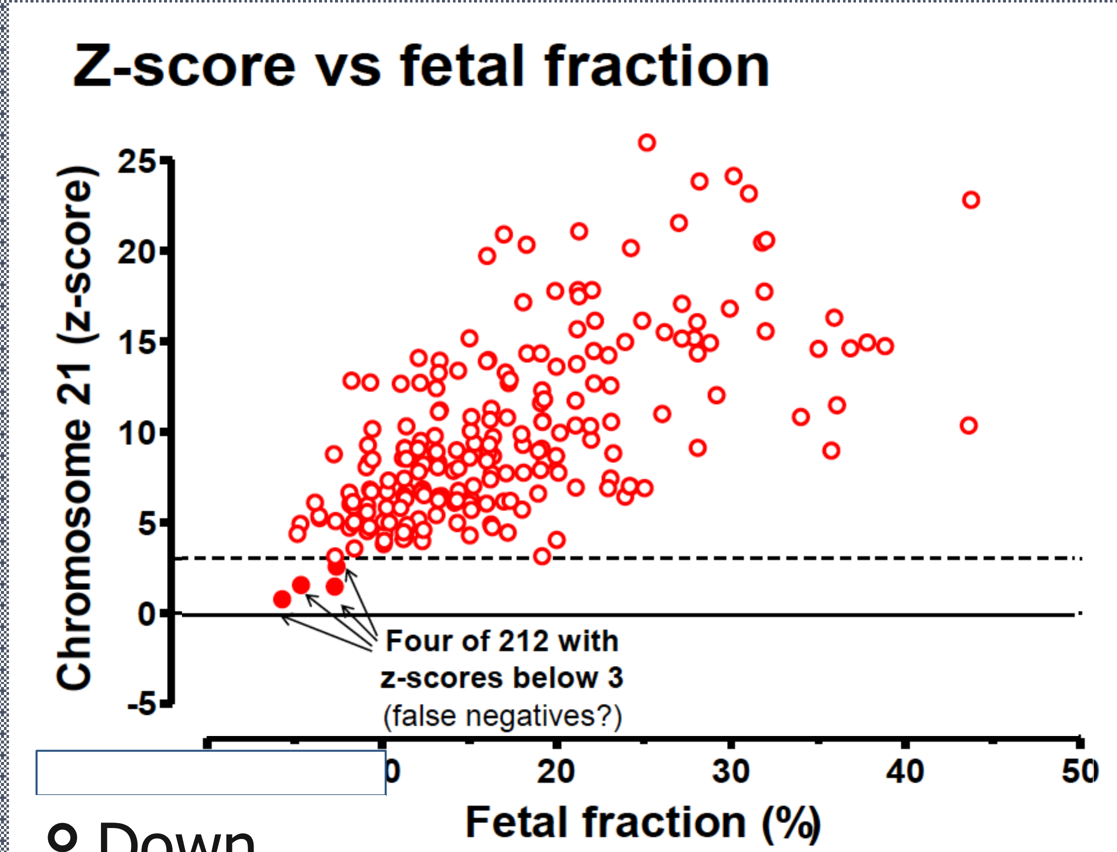


Down sendromu – *z* score



Fetal fraksiyon





° Down send.

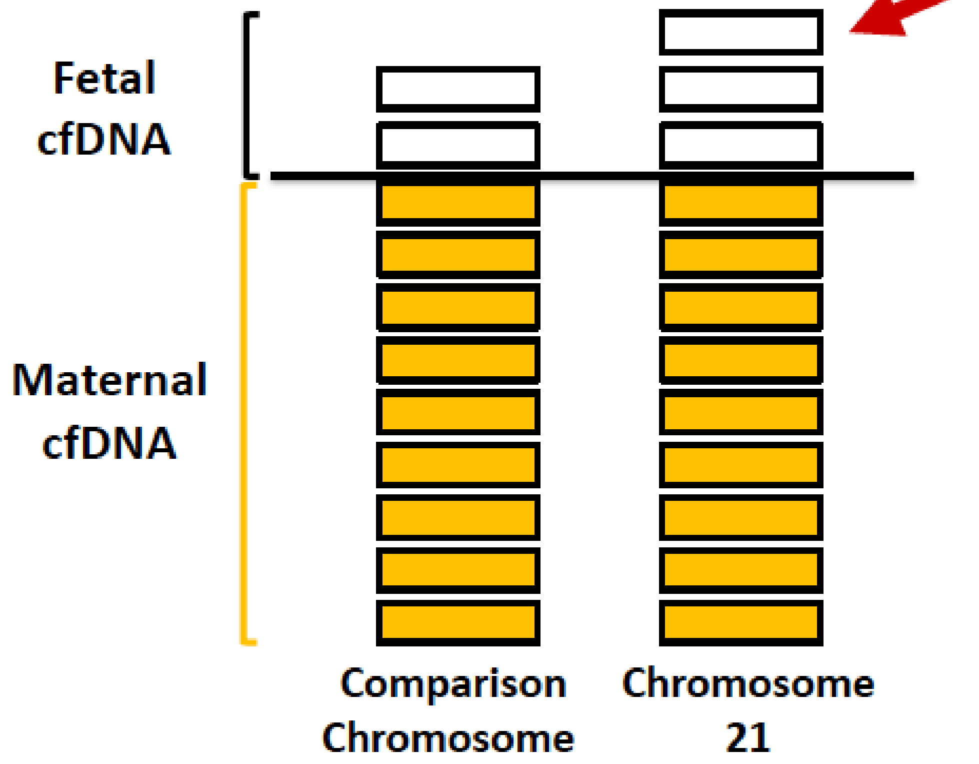
• False (-)

Chiu RWK et al. PNAS 2008

Palomaki GE, GIM 2011

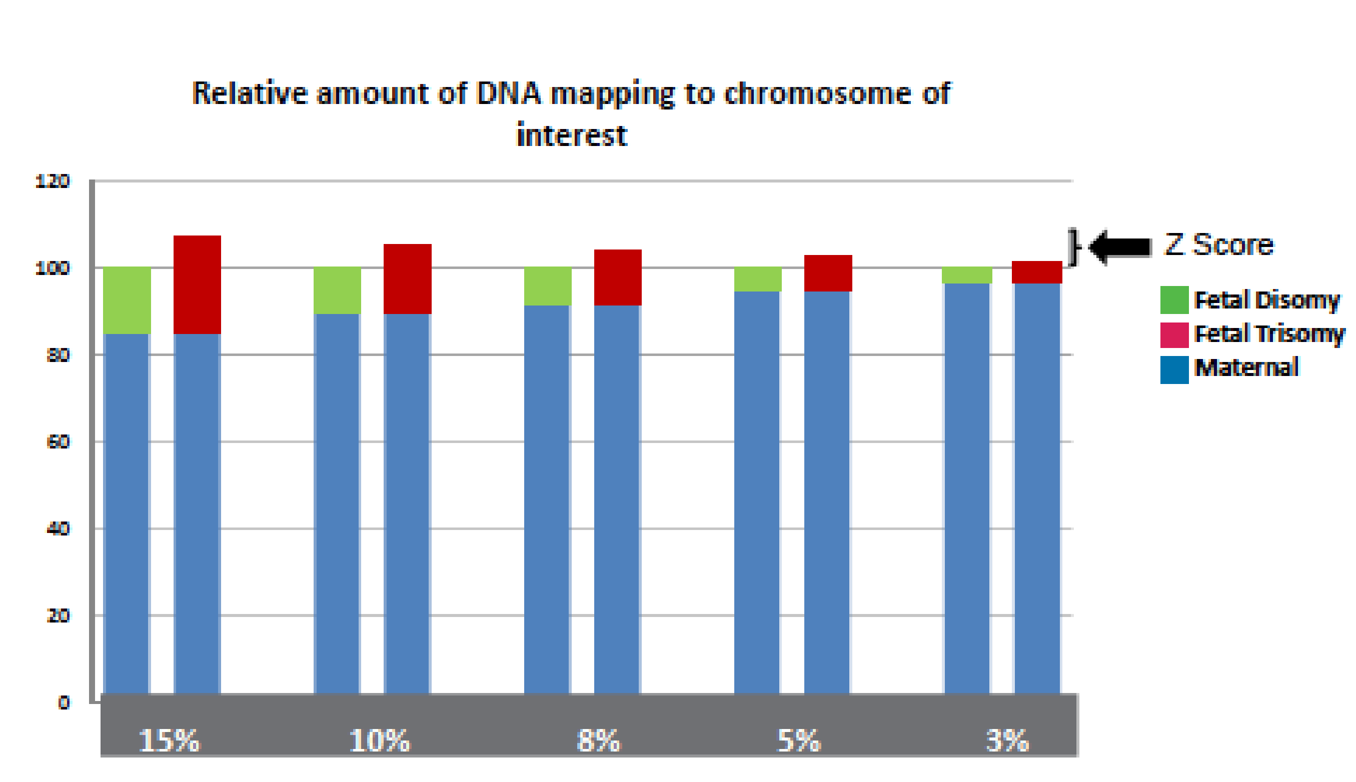
Fetal fraksiyon

Fetal trizomi 21 kaynaklı ekstra DNA parçacığı



Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20

FF oranı arttıkça fetal anöploidiyi saptama başarısı artar



Norton, et al. 2013

"An aneuploidy sample with a ***lower fetal fraction*** has a higher probability of resulting in a ***false negative result***."

Thomas M, Prenatal Perspectives

Fetal fraction	Fetal Karyotype	Chromosome 21 DNA as % of total DNA
Any (0-100%)	euploid	1.5
0%	trisomy 21	1.5
4%	trisomy 21	1.53
10% (typical)	trisomy 21	1.58

Tüm genomda 21. kromozom DNA oranı % 1.5
Trizomi: total DNA sayısında çok az artışa neden olur
Doğru analiz için % 4 üzeri fetal fraksiyon gerekli

= (%maternal)(%chr21)(#chr21 to #expected) + (%fetal)(%chr21)(#chr21 to #expected)
= (90%)(1.5%)(2/2) + (10%)(1.5%)(3/2)
= 0.0135 + 0.00225
= 0.01575 = 1.6%

14th World Congress in Fetal Medicine

Estimation of fetal fraction-based risk and redraw success rate in cases that are not callable by NIPT

Allison Ryan, Katie Kobara, Zachary Demko, Susan J Gross

Natera, Inc, San Carlos, CA, United States

- *The low FF cutoff was set at 2. 5 SD below the mean*
- *T13 and T18 reduced the FF by a ratio of 0. 79*
- *3n reduced the FF by a ratio of 0. 22*
- *PPV of 12. 1% (95% CI 5. 0–23. 3).*
- *This method provides a patient-specific risk score in cases where NIPT fails due to low FF.*
- *In this pilot study of women identified as having high FF-based risk score, the PPV of a high-risk call was 12. 1%.*
- *This information, in combination with targeted sonography, should be useful for counseling patients and determining a care plan.*

for counseling patients and determining a care plan.

The American College of Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS

Society for Maternal·Fetal Medicine

COMMITTEE OPINION

Number 640 • September 2015
(This Committee Opinion Replaces Committee Opinion Number 545)

Committee on Genetics
Society for Maternal–Fetal Medicine

This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.

Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy

Rates of aneuploidy as high as 23% (due to low fetal fraction or other unknown factors) have been reported for women who fail to receive an interpretable result from cell-free DNA testing.

Maternal Plasma Fetal DNA Fractions in Pregnancies with

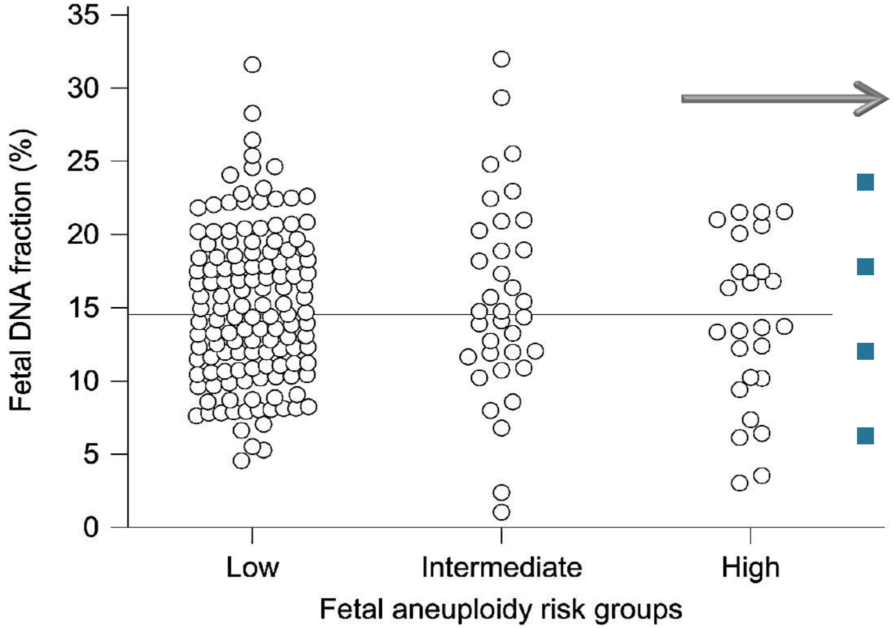


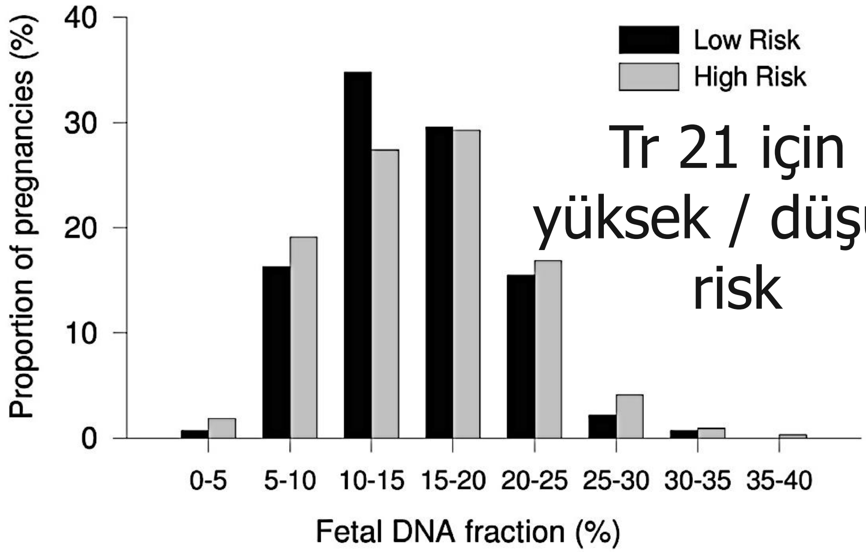
Figure 1. Fetal DNA fractions among pregnancy risk groups.

FF ortalama değerleri

- Tüm grupta FF % 14.5
- LR grup % 13.6
- IR grup % 14.8
- HR grup % 14.7

OPEN ACCESS Freely available online PLOS | ONE

February 2014 | Volume 9 | Issue 2 |



Tr 21 için yüksek / düşük risk

Düşük / orta / yüksek risk gruplarında fetal DNA fraksiyon oranlarında anlamlı fark yok

Figure 2. Frequency distributions of the range of fetal DNA fractions found in male euploid pregnancies. Fetal DNA fractions are compared among pregnancies at high or low risk for trisomy 21.

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA testlerinin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri nedir? Yöntem, fetal fraksiyon oranı ve farklı kromozom anomalilerine göre değişimi?

4/ZŞ2

- **Massively Parallel Shotgun Sequencing (MPSS)**
- **Targeted Massive Paralel Sequencing**

(t-MPS)

- **Single Nucleotide Polymorphism (SNP)**

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Non-Invasive Prenatal Chromosomal Aneuploidy Testing - Clinical Experience: 100,000 Clinical Samples

Ron M. McCullough*, Eyad A. Almasri, Xiaojun Guan, Jennifer A. Geis, Susan C. Hicks, Amin R. Mazloom, Cosmin Deciu, Paul Oeth, Allan T. Bombard, Bill Paxton, Nilesh Dharajiya, Juan-Sebastian Saldivar

Clinical Science, Sequenom Laboratories, San Diego, California, United States of America

Maternal Age	35.1 years
Gestational Age	15 wks, 3 days
Multifetal Gestations	3,530 (3.5%)
Maternal Weight	72.82 kg
Maternal Height	1.63 m
Maternal BMI	27.1 kg/m^2

y to offer **massively**
oninvasive prenatal
ploidies, Sequenom
llect the largest clinical
te, including .**100,000**
.S. states and 13 other
study is to give a robust
oratory performance of the
MaterniT21 PLUS LDT

OPEN ACCESS Freely available online
PLOS | ONE

Non-Invasive Prenatal Chromosomal Aneuploidy Testing - Clinical Experience: 100,000 Clinical Samples

Ron M. McCullough*, Eyad A. Almasri, Xiaojun Guan, Jennifer A. Geis, Susan C. Hicks, Amin R. Mazloom, Cosmin Deciu, Paul Oeth, Allan T. Bombard, Bill Paxton, Nilesh Dharajiya, Juan-Sebastian Saldivar

Clinical Science, Sequenom Laboratories, San Diego, California, United States of America

	sensitivite	spesifisite	tahmin	edilen
Tüm olgular	%	%	yanlış (+)	yanlış (-)
T 21	**99.6**	**99.9**	**4**	**6**
T 18	**99**	**99.9**	**5**	**4**
T 13	**98.9**	**99.9**	**13**	**2**
İkiz gebelik				
T 21	> 99.9	99.9	1	0
T 18	95.2	> 99.9	0	1
T 13	> 99.9	99.9	1	0

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 530–538
Published online 8 April 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14792

Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies

H. ZHANG*†#, Y. GAO*†#, F. JIANG*†, M. FU*†, Y. YUAN*†, Y. GUO*†, Z. ZHU*†, M. LIN*†, Q. LIU*†, Z. TIAN*‡, H. ZHANG*§, F. CHEN¶**, T. K. LAU††, L. ZHAO*†, X. YI*¶, Y. YIN*¶ and W. WANG*†

**BGI-Diagnostics, Shenzhen, China; †BGI Clinical Laboratories-Shenzen, Shenzhen, China; ‡BGI Clinical Laboratories-Tianjin, Tianjin, China; §BGI Clinical Laboratories-Wuhan, Wuhan, China; ¶BGI-Shenzen, Shenzhen, China; **Section of Molecular Disease Biology, Department of Veterinary Disease Biology, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark; ††Fetal Medicine Centre, Paramount Medical Centre, Hong Kong, China*

Objectives To report the clinical performance of massively parallel sequencing-based non-invasive prenatal testing (NIPT) in detecting trisomies 21, 18 and 13 in over 140 000 clinical samples and to compare its performance in low-risk and high-risk pregnancies.

Methods Between 1 January 2012 and 31 August 2013, 147 314 NIPT requests to screen for fetal trisomies 21, 18 and 13 using low-coverage whole-genome sequencing of plasma cell-free DNA were received. The results were validated by karyotyping or follow-up of clinical outcomes.

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 530–538
Published online 8 April 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14792

Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies

H. ZHANG*†#, Y. GAO*†#, F. JIANG*†, M. FU*†, Y. YUAN*†, Y. GUO*†, Z. ZHU*†, M. LIN*†, Q. LIU*†, Z. TIAN*‡, H. ZHANG*§, F. CHEN¶**, T. K. LAU††, L. ZHAO*†, X. YI*¶, Y. YIN*¶ and W. WANG*†

NIPT positive
(n = 1578)
T21 (n = 1107)
T18 (n = 352)
T13 (n = 119)

Test (+)
1578 olgu

trizomi 21	trizomi 18	trizomi 13
1107	352	119

Doğrulanmış test = 1066

trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
781	218	67

doğrulanmamış tr 21	doğrulanmamış tr 18	doğrulanmamış tr 13
326	134	52

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 530–538
Published online 8 April 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14792

Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies

H. ZHANG*†#, Y. GAO*†#, F. JIANG*†, M. FU*†, Y. YUAN*†, Y. GUO*†, Z. ZHU*†, M. LIN*†, Q. LIU*†, Z. TIAN*‡, H. ZHANG*§, F. CHEN¶**, T. K. LAU††, L. ZHAO*†, X. YI*¶, Y. YIN*¶ and W. WANG*†

NIPT negative
(n = 145 380)

NIPT negatif
145.380 olgu

Doğrulanmış akibet
111.594

Doğrulanmamış
33.777

Yanlış negatif
9

Sağ – sağlıklı bebek
106.989

Belirsiz akibet
33.099

Tr 21 6
Tr 18 3

...th
...ype

Birth defect irrelevant to trisomy
(n = 4605)

Pregnancy loss
(n = 678)

Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies

	Sensitivity	Specificity	PPV
NIPT for T21 (all)	99.9%	99.2	96.2%
NIPT for 21 (low risk)	99.9%	100	87.7%
NIPT for T18 (all)	99.9%	98.1	88.8%
NIPT for T18 (low risk)	99.9%	88.8	50%

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Cell-free DNA Analysis for Noninvasive Examination of Trisomy

Mary E. Norton, M.D., Bo Jacobsson, M.D., Ph.D., Geeta K. Swamy, M.D., Louise C. Laurent, M.D., Ph.D., Angela C. Ranzini, M.D., Herb Brar, M.D., Mark W. Tomlinson, M.D., Leonardo Pereira, M.D., M.C.R., Jean L. Spitz, M.P.H., Desiree Hollemon, M.S.N., M.P.H., Howard Cuckle, D.Phil., M.B.A., Thomas J. Musci, M.D., and Ronald J. Wapner, M.D.

Table 1. Demographic and Clinical Characteristics of the Patients.

Characteristic	Value
No. of patients	15,841
Mean maternal age (range) — yr	31 (18–48)
Mean gestational age at sample collection (range) — wk	12.5 (10.0–14.3)
Median maternal weight (range) — kg	65.8 (31.8–172.4)

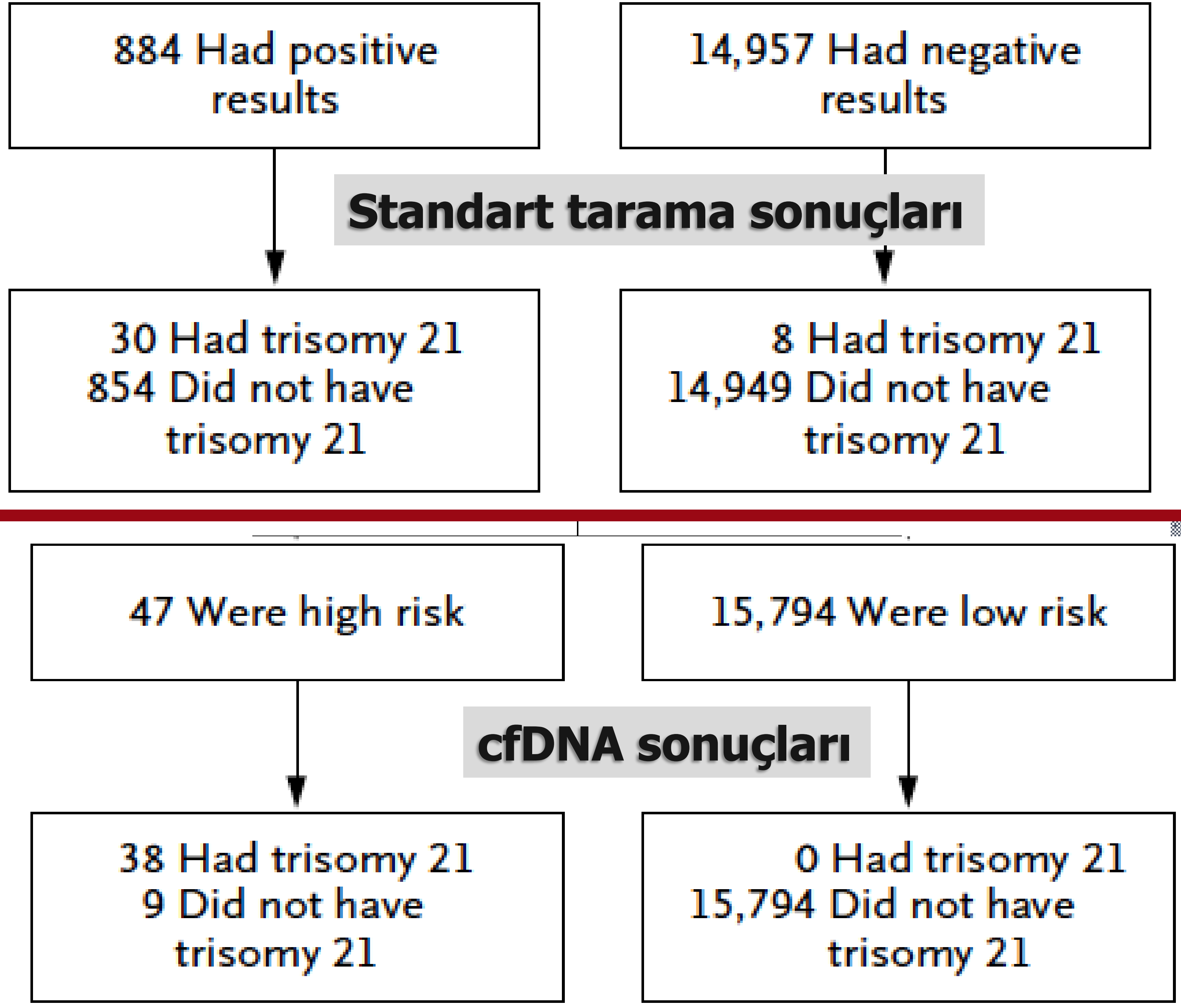

884 Had positive results
14,957 Had negative results
Standart tarama sonuçları
30 Had trisomy 21
854 Did not have trisomy 21
8 Had trisomy 21
14,949 Did not have trisomy 21
47 Were high risk
15,794 Were low risk
cfDNA sonuçları
38 Had trisomy 21
9 Did not have trisomy 21
0 Had trisomy 21
15,794 Did not have trisomy 21

Table 2. Test Performance for Trisomy 21 in the Primary Analysis Cohort, According to Maternal Age and Risk.*

Variable	Standard Screening	Cell-free DNA Testing		
	All Patients (N=15,841)	All Patients	Maternal Age <35 Yr	Low Risk
True positive — no.	30			
True negative — no.	14,949			
False positive — no.	854			
False negative — no.	8			

Trizomi 21

- Sensitivite % 100
- Spesifisite % 99.9
- Pos. pred değer % 80.9
- Neg. pred. değer % 100

Trizomi 18

- Sensitivite % 90
- Spesifisite % 100
- Pos. pred değer % 90
- Neg. pred. değer % 100

Trizomi 13

- Sensitivite % 100
- Spesifisite % 100
- Pos. pred değer % 50
- Neg. pred. değer % 100

Variable	Screening (N=15,841)			
True positive — no.	8			
True negative — no.	15,782			
False positive — no.	49			
False negative — no.	2			
Sensitivity (95% CI) — %	80.0 (44.4–97.5)	[illegible]		
Specificity (95% CI) — %	99.7 (99.6–99.8)	100 (99.9–100)†	99.7 (99.6–99.8)	100 (99.9–100)†
Positive predictive value (95% CI) — %	14.0 (6.2–25.8)	90.0 (55.5–99.7)†	3.4 (0.1–17.8)	50.0 (6.8–93.2)
Negative predictive value (95% CI) — %	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)

Cell-free DNA Analysis for Noninvasive Examination of Trisomy

NEXT Study

- Primary outcome a comparison of FTS –v- NIPT for T21
- 18,955 all risk women recruited
- 1% low fetal fraction
- 2.6% no result
- 15841 women, <14 weeks included

	Sensitivity	False +ve	PPV
NIPT (all)	100%	0.06	81%
NIPT (<35)	100%	0.05	76%
NIPT (<1:270)	100%	0.05	50%
FTS (1:270)	78%	5.4	3.4%

- 90-fold decrease in false positives
- NIPT performs as well in high and low risk populations for the detection of T21

Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y

K. H. Nicolaides[1,2]*, A. Syngelaki[1], M. Gil[1], V. Atanasova[1] and D. Markova[1]

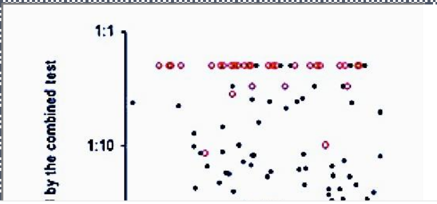
[1]Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK
[2]Department of Fetal Medicine, University College London Hospital, London, UK
*Correspondence to: Kypros H. Nicolaides. E-mail: kypros@fetalmedicine.com

Prenatal Diagnosis 2013, **33**, 575–579

Objective To assess the performance of cell-free DNA (cfDNA) testing in maternal blood for detection of fetal aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y using targeted sequencing of **single-nucleotide polymorphisms.**

Methods Prospective study in 242 singleton pregnancies undergoing chorionic villus sampling at 11 to 13 weeks. Maternal blood was collected before chorionic villus sampling and sent to Natera (San Carlos, CA, USA).

The aim of this study was to assess the ability of the SNPbased approach, coupled with an algorithm called **NATUS** (Next-generation Aneuploidy Test Using **SNPs**), to detect ***trisomies 21, 18, and 13, sex chromosome aneuploidies, and triploidy*** from maternal blood samples



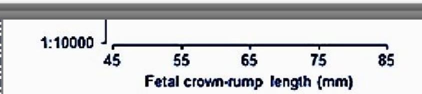
Distribution of risk for aneuploidies

Table 1 Fetal karyotype obtained from chorionic villus sampling in the 229 cases with results from cell-free DNA testing and the predicted copy number for chromosomes X, Y, 21, 18, and 13

Principal findings of this study

This externally blinded validation study has demonstrated that *SNP-based analysis of cfDNA* ***correctly identified all cases of trisomies 21, 18, and 13, Turner syndrome, and triploidy with no false positives*** *and correctly determined the fetal sex in all cases.*

it is the only currently available method that could detect triploidy.



- euploid (black)
- **aneuploid (red)**

[illegible]	1	1	2	2	2
45,XX,der(14;21)(q10;q10)mat (*n* = 1)	2	0	2	2	2
46,XY (*n* = 103).	1	1	2	2	2
46,XX (*n* = 89)	2	0	2	2	2

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 249–266
Published online 1 February 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14791

Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis

M. M. GIL*, M. S. QUEZADA*, R. REVELLO*, R. AKOLEKAR*† and K. H. NICOLAIDES*†

**Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK; †Fetal Medicine Unit, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK*

Conclusion

- Screening **for trisomy 21** *by analysis of cfDNA in maternal blood is superior to that of all other traditional methods of screening, with higher DR and lower FPR.*

- *The performance of screening for trisomies 18 and 13 and sex chromosome aneuploidies is considerably worse than **that for trisomy 21.***

Table 2 Studies reporting on the application of cell-free DNA analysis of maternal blood in screening for trisomy 21 in singleton pregnancy

			Trisomy 21		Non-trisomy 21	
Study	Method	GA (weeks)	Total (n)	Detection (n (%, 95% CI))	Total (n)	False positive (n (%, 95% CI))
Chiu (2011)[41]	MPSS	13 (—)	86	86 (100, 95.8–100)	146	3 (2.05, 0.43–5.89)
Ehrich (2011)[42]	MPSS	16 (8–36)	39	39 (100, 91.0–100)	410	1 (0.24, 0.01–1.35)
Palomaki (2011)[43]	MPSS	15 (8–21)	212	209 (98.6, 95.9–99.7)	1471	3 (0.20, 0.04–0.60)
Sehnert (2011)[44]	MPSS	15 (10–28)	13	13 (100, 75.3–100)	34	0 (0.00, 0.00–10.28)
Ashoor (2012)[45]	CSS	12 (11–13)	50	50 (100, 92.9–100)	347	0 (0.00, 0.00–1.06)
Bianchi (2012)[46]	MPSS	15 (10–23)	89	89 (100, 95.9–100)	404	0 (0.00, 0.00–0.91)
Jiang (2012)[48]	MPSS	— (10–34)	16	16 (100, 79.4–100)	887	0 (0.00, 0.00–0.42)
Lau (2012)[49]	MPSS	12 (11–28)	11	11 (100, 71.5–100)	97	0 (0.00, 0.00–3.73)
Nicolaides (2012)[50]	CSS	12 (11–13)	8	8 (100, 63.1–100)	1941	0 (0.00, 0.00–0.19)
Norton (2012)[51]	CSS	16 (10–38)	81	81 (100, 95.6–100)	2888	1 (0.04, 0.00–0.19)
Sparks (2012)[53]	CSS	18 (11–36)	36	36 (100, 90.3–100)	131	0 (0.00, 0.00–2.78)
Guex (2013)[55]	MPSS	12 (11–13)	30	30 (100, 88.4–100)	146	0 (0.00, 0.00–2.50)
Liang (2013)[57]	MPSS	21 (11–39)	39	39 (100, 91.0–100)	367	0 (0.00, 0.00–1.00)
Nicolaides (2013)[59]	SNP	13 (11–13)	25	25 (100, 86.3–100)	204	0 (0.00, 0.00–1.79)
Song (2013)[61]	MPSS	16 (11–21)	8	8 (100, 63.1–100)	1733	0 (0.00, 0.00–0.21)
Verweij (2013)[62]	CSS	14 (10–28)	18	17 (94.4, 72.7–99.9)	486	0 (0.00, 0.00–0.76)
Bianchi (2014)[63]	MPSS	17 (8–39)	5	5 (100, 47.8–100)	1947	6 (0.31, 0.11–0.67)
Comas (2014)[64]	CSS/SNP	14 (9–23)	4	4 (100, 39.8–100)	311	0 (0.00, 0.00–1.18)
Pergament (2014)[71]	SNP	14 (7–40)	58	58 (100, 93.8–100)	905	0 (0.00, 0.00–0.41)
Porreco (2014)[72]	MPSS	17 (9–37)	137	137 (100, 97.3–100)	3185	3 (0.09, 0.02–0.28)
Shaw (2014)[73]	MPSS	> 12	11	11 (100, 71.5–100)	184	0 (0.00, 0.00–1.98)
Stumm (2014)[74]	MPSS	15 (11–32)	41	40 (97.6, 87.2–99.9)	430	0 (0.00, 0.00–0.85)
Quezada (2015)[75]	CSS	10 (10–11)	32	32 (100, 89.1–100)	2753	1 (0.04, 0.00–0.20)
Song (2015)[76]	MPSS	9 (8–12)	2	2 (100, 15.8–100)	201	0 (0.00, 0.00–1.82)
Pooled analysis (% (95% CI))						
Fixed effects model				99.2 (98.5–99.6)		0.09 (0.05–0.13)
Random effects model				99.2 (98.5–99.6)		0.09 (0.05–0.14)
Cochran's Q				10.7230 ($P = 0.9858$)		27.2044 ($P = 0.2474$)
I^2 statistic (% (95% CI))				0.0 (0.0–39.6)		15.5 (0.0–48.6)
Egger bias				−0.0512 ($P = 0.6525$)		0.2367 ($P = 0.2270$)

Only the first author of each study is given. CSS, chromosome-specific sequencing; GA, gestational age; MPSS, massively parallel shotgun sequencing; SNP, single nucleotide polymorphism-based method.

Table 3 Studies reporting on the application of cell-free DNA analysis of maternal blood in screening for trisomy 18 in singleton pregnancy

			Trisomy 18		Non-trisomy 18	
Study	Method	GA (weeks)	Total (n)	Detection (n (%, 95% CI))	Total (n)	False positive (n (%, 95% CI))
Chen (2011)[2]	MPSS	—	37	34 (91.9, 78.1–98.3)	252	5 (1.98, 0.65–4.57)
Sehnert (2011)[44]	MPSS	15 (10–28)	8	8 (100, 63.1–100)	39	0 (0.00, 0.00–9.03)
Ashoor (2012)[45]	CSS	12 (11–13)	50	49 (98.0, 89.4–99.9)	347	0 (0.00, 0.00–1.06)
Bianchi (2012)[46]	MPSS	15 (10–23)	36	35 (97.2, 85.5–99.9)	460	0 (0.00, 0.00–0.80)
Jiang (2012)[48]	MPSS	— (10–34)	12	12 (100, 73.5–100)	891	1 (0.11, 0.00–0.62)
Lau (2012)[49]	MPSS	12 (11–28)	10	10 (100, 69.2–100)	98	0 (0.00, 0.00–3.69)
Nicolaides (2012)[50]	CSS	12 (11–13)	2	2 (100, 15.8–100)	1947	2 (0.10, 0.01–0.37)
Norton (2012)[51]	CSS	16 (10–38)	38	37 (97.4, 86.2–99.9)	2888	2 (0.07, 0.01–0.25)
Palomaki (2012)[52]	MPSS	14 (9–22)	59	59 (100, 93.9–100)	1912	5 (0.26, 0.09–0.61)
Sparks (2012)[53]	CSS	18 (11–36)	8	8 (100, 63.1–100)	159	0 (0.00, 0.00–2.29)
Guex (2013)[55]	MPSS	12 (11–13)	20	19 (95.0, 75.1–99.9)	156	0 (0.00, 0.00–2.34)
Liang (2013)[57]	MPSS	21 (11–39)	13	13 (100, 75.3–100)	393	0 (0.00, 0.00–0.93)
Nicolaides (2013)[59]	SNP	13 (11–13)	3	3 (100, 29.2–100)	226	0 (0.00, 0.00–1.62)
Song (2013)[61]	MPSS	16 (11–21)	2	2 (100, 15.8–100)	1739	1 (0.06, 0.00–0.32)
Bianchi (2013)[63]	MPSS	17 (8–39)	2	2 (100, 15.8–100)	1950	3 (0.15, 0.03–0.45)
Pergament (2014)[71]	SNP	14 (7–40)	24	24 (100, 85.8–100)	938	0 (0.00, 0.00–0.39)
Porreco (2014)[72]	MPSS	17 (9–37)	39	36 (92.3, 79.1–98.4)	3283	0 (0.00, 0.00–0.11)
Shaw (2014)[73]	MPSS	> 12	7	7 (100, 59.0–100)	188	0 (0.00, 0.00–1.94)
Stumm (2014)[74]	MPSS	15 (11–32)	8	8 (100, 63.1–100)	463	1 (0.22, 0.01–1.20)
Quezada (2015)[75]	CSS	10 (10–11)	10	9 (90.0, 55.5–99.8)	2775	5 (0.18, 0.06–0.42)
Song (2015)[76]	MPSS	9 (8–12)	1	1 (100, 2.50–100)	202	0 (0.00, 0.00–1.81)
Pooled analysis (% (95% CI))						
Fixed effects model				96.3 (94.3–97.9)		0.12 (0.08–0.17)
Ran						20)
Cochr						0738)
I^2 stat						)
Egger						513)

Only … shotgun
seque…

Table 4 Studies reporting on the application of cell-free DNA analysis of maternal blood in screening for trisomy 13 in singleton pregnancy

			Trisomy 13		Non-trisomy 13	
Study	Method	GA (weeks)	Total (n)	Detection (n (%, 95% CI))	Total (n)	False positive (n (%, 95% CI))
Chen (2011)[2]	MPSS	—	25	25 (100, 86.3–100)	264	3 (1.14, 0.24–3.29)
Bianchi (2012)[46]	MPSS	15 (10–23)	14	11 (78.6, 49.2–95.3)	485	0 (0.00, 0.00–0.76)
Jiang (2012)[48]	MPSS	— (10–34)	2	2 (100, 15.8–100)	901	0 (0.00, 0.00–0.41)
Lau (2012)[49]	MPSS	12 (11–28)	2	2 (100, 15.8–100)	106	0 (0.00, 0.00–3.42)
Palomaki (2012)[52]	MPSS	14 (9–22)	12	11 (91.7, 61.5–99.8)	1959	16 (0.82, 0.47–1.32)
Ashoor (2013)[54]	CSS	13 (11–26)	10	8 (80.0, 44.4–97.5)	1949	1 (0.05, 0.00–0.29)
Guex (2013)[55]	MPSS	12 (11–13)	13	13 (100, 75.3–100)	163	0 (0.00, 0.00–2.24)
Liang (2013)[57]	MPSS	21 (11–39)	3	3 (100, 29.2–100)	403	1 (0.25, 0.01–1.38)
Nicolaides (2013)[59]	SNP	13 (11–13)	1	1 (100, 2.5–100)	228	0 (0.00, 0.00–1.61)
Song (2013)[61]	MPSS	16 (11–21)	1	1 (100, 2.5–100)	1740	0 (0.00, 0.00–0.21)
Bianchi (2013)[63]	MPSS	17 (8–39)	1	1 (100, 2.5–100)	1913	3 (0.16, 0.03–0.46)
Hall (2014)[67]*	SNP	16 (12–22)	14	14 (100, 76.8–100)	49	0 (0.00, 0.00–7.25)
Pergament (2014)[71]	SNP	14 (7–40)	11	11 (100, 71.5–100)	953	0 (0.00, 0.00–0.39)
Porreco (2014)[72]	MPSS	17 (9–37)	16	14 (87.5, 61.7–98.5)	3306	0 (0.00, 0.00–0.11)
Shaw (2014)[73]	MPSS	> 12	3	3 (100, 29.2–100)	192	0 (0.00, 0.00–1.90)
Stumm (2014)[74]	MPSS	15 (11–32)	5	5 (100, 47.8–100)	466	0 (0.00, 0.00–0.79)
Quezada (2015)[75]	CSS	10 (10–11)	5	2 (40.0, 52.8–85.3)	2780	2 (0.07, 0.01–0.26)
Song (2015)[76]	MPSS	9 (8–12)	1	1 (100, 2.5–100)	202	0 (0.00, 0.00–1.81)
Pooled analysis (% (95% CI))						
Fixed effects model				91.7 (86.9–95.5)		0.11 (0.06–0.16)
Random effects model				91.0 (85.0–95.6)		0.13 (0.05–0.26)
Cochran's Q				21.6858 ($P = 0.1971$)		50.2813 ($P < 0.0001$)
I^2 statistic (% (95% CI))				21.6 (0.0–55.3)		66.2 (38.7–78.2)
Egger bias				−0.6143 ($P = 0.1104$)		0.5732 ($P = 0.0907$)

Only the first author of each study is given. *Hall reports 15 cases but one case is from Nicolaides 2013. CSS, chromosome-specific sequencing; GA, gestational age; MPSS, massively parallel shotgun sequencing; SNP, single nucleotide polymorphism-based method.

Tr 21

DR 99.2 %

FPR 0.09 %

Tr 18

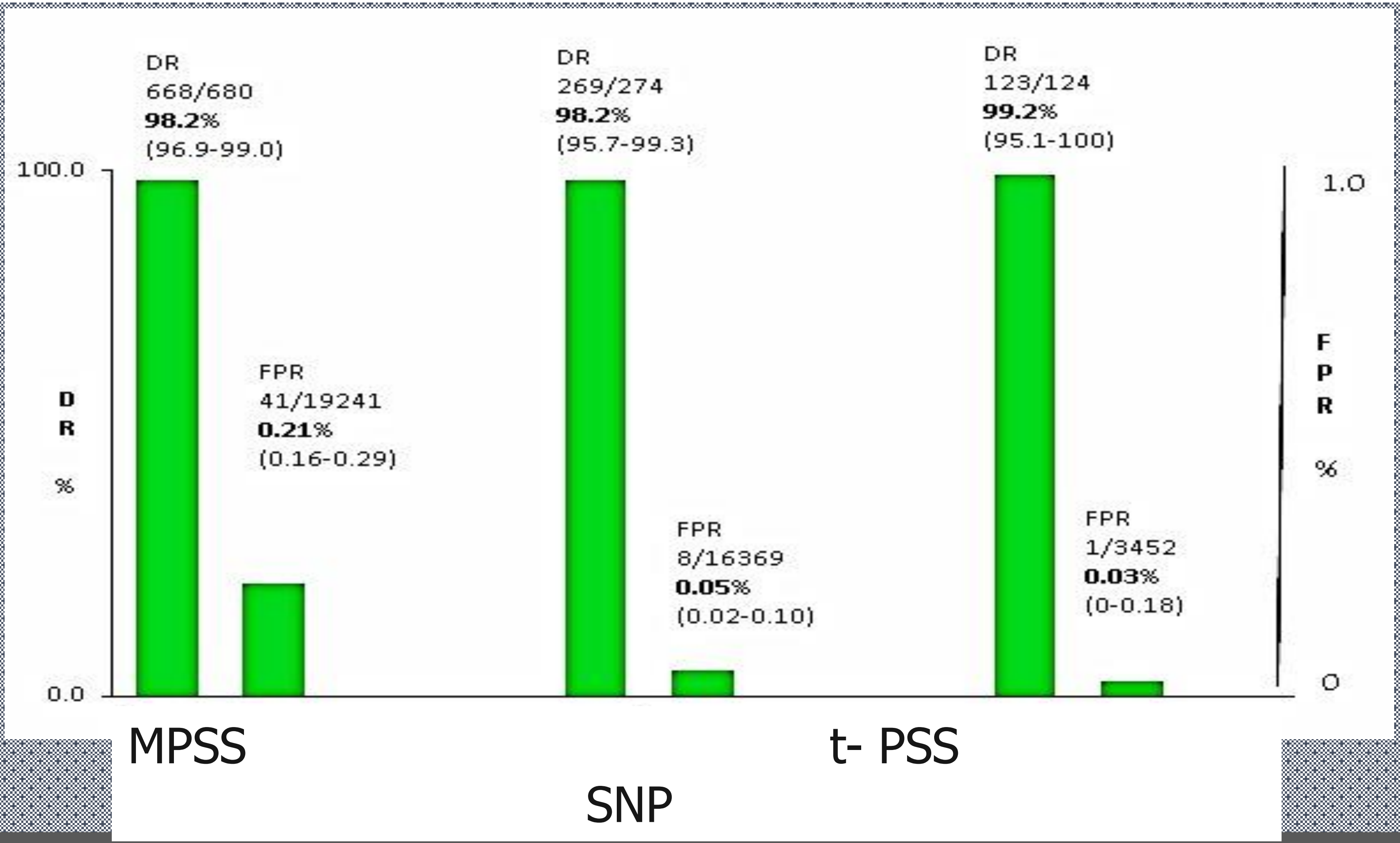
DR 96.3 %

Tr 13

DR 91 %

FPR 0.13 %

NIPT DR / FPR: trizomi 13 – 18 - 21



Benn P. Cumulative data from 6 trials for shotgun, 6 trials for targeted, and 2 trials for SNP based methods. *J Clin Med*, 2014

Pozitif prediktif değerler

- Pozitif prediktif değer ⟷ prevalans
- Spesifisite ve sensitivite oranlarının (% 99.9) etkisi yok

35 yaş
> 10. gebelik haftası

Disorder	Prevalence	PPV
T21	1/185	84%
T18	1/470	68%
T13	1/1500	40%

R.J.M Gardner, Grant R Sutherland, and Lisa G. Shaffer. Chromosomal abnormalities and genetic counseling (4.ed), 2012.

The American College of Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS

Society for Maternal-Fetal Medicine

COMMITTEE OPINION

Number 640 • September 2015 *(This Committee Opinion Replaces Committee Opinion Number 545)*

Committee on Genetics
Society for Maternal–Fetal Medicine

This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.

Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy

Table 1. Cell-free DNA Test Performance Characteristics in Patients Who Receive an Interpretable Result* ⇦

			Age 25 years	Age 40 years
	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	PPV (%)
Trisomy 21	99.3	99.8	33	87
Trisomy 18	97.4	99.8	13	68
Trisomy 13	91.6	99.9	9	57
Sex chromosome aneuploidy	91.0	99.6	--†	--

The American College of Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS

Society for Maternal•Fetal Medicine

COMMITTEE OPINION

Number 640 • September 2015 (This Committee Opinion Replaces Committee Opinion Number 545)

Committee on Genetics
Society for Maternal–Fetal Medicine

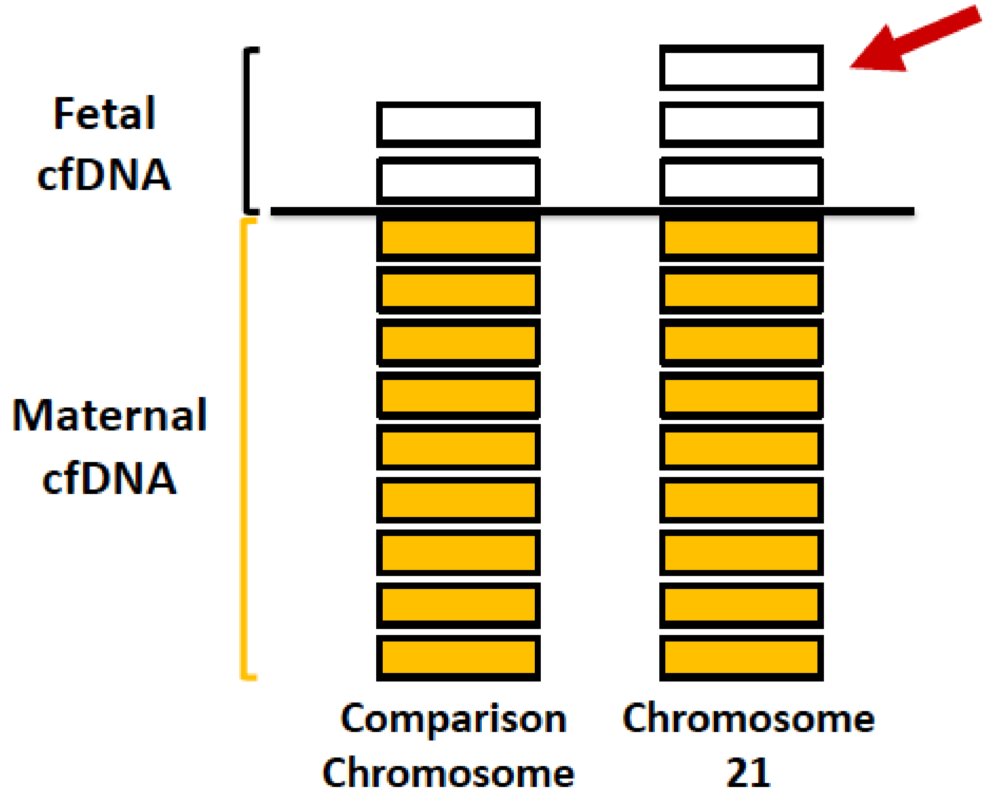
This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.

Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy

ABSTRACT: Noninvasive prenatal screening that uses cell-free DNA from the plasma of pregnant women offers tremendous potential as a screening method for fetal aneuploidy. A number of laboratories have validated different techniques for the use of cell-free DNA as a screening test for fetal aneuploidy. All tests have a high sensitivity and specificity for trisomy 18 and trisomy 21, regardless of which molecular technique is used.

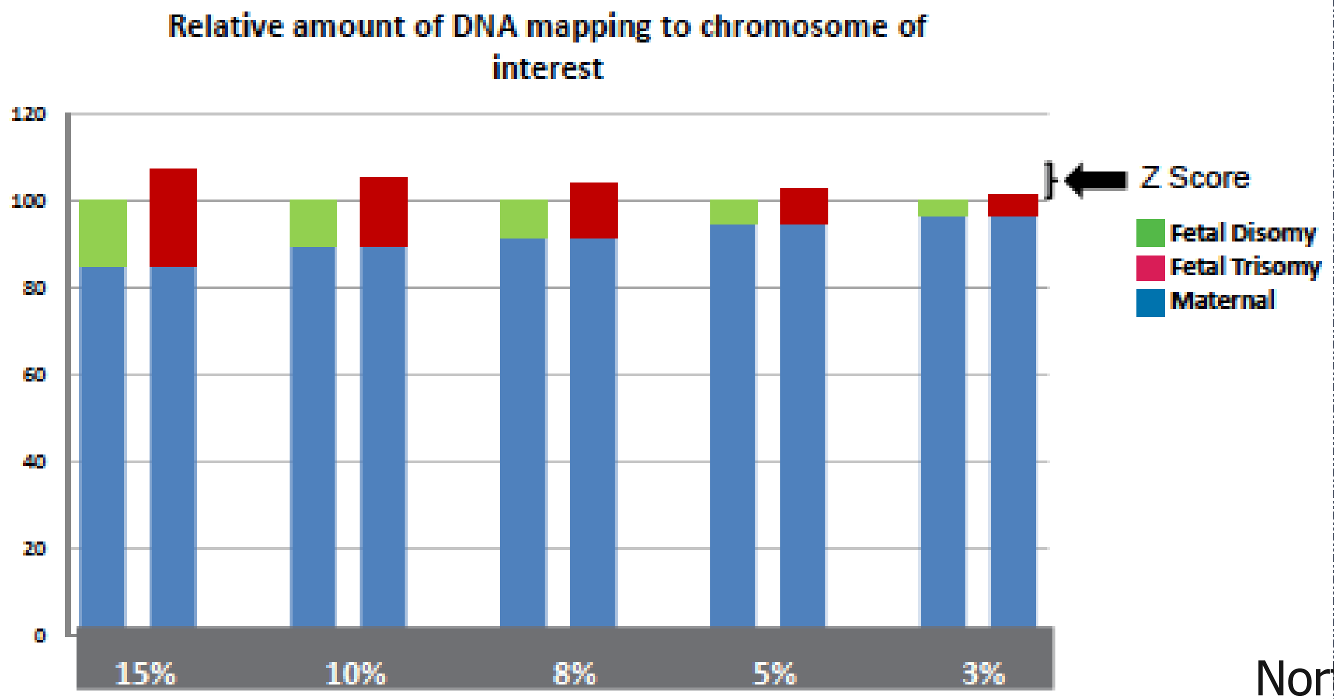
Fetal fraksiyon

Fetal trizomi 21 kaynaklı ekstra DNA parçacığı



Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20

FF oranı arttıkça fetal anöploidiyi saptama başarısı artar



Norton, et al. 2013

"An aneuploidy sample with a ***lower fetal fraction*** has a higher probability of resulting in a ***false negative result***."

Thomas M, Prenatal Perspectives. 2013.

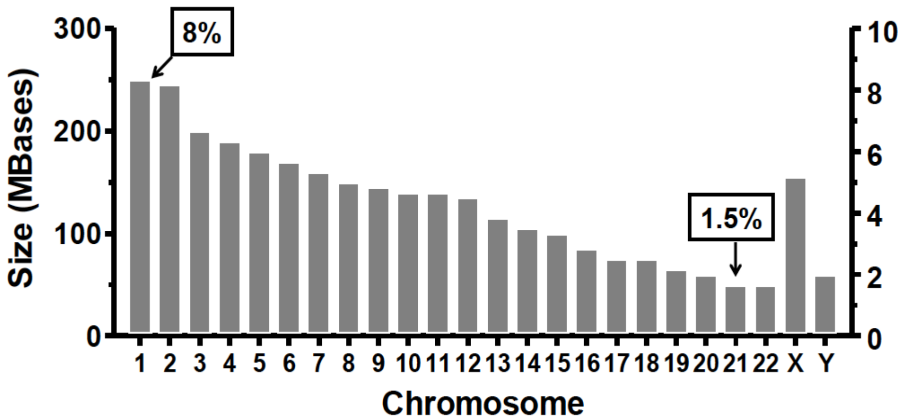
Fetal fraction	Fetal Karyotype	Chromosome 21 DNA as % of total DNA
Any (0-100%)	euploid	1.5
0%	trisomy 21	1.5
4%	trisomy 21	1.53
10% (typical)	trisomy 21	1.58

Tüm genomda 21. kromozom DNA oranı % 1.5
Trizomi: total DNA sayısında çok az artışa neden olur
Doğru analiz için % 4 üzeri fetal fraksiyon gerekli

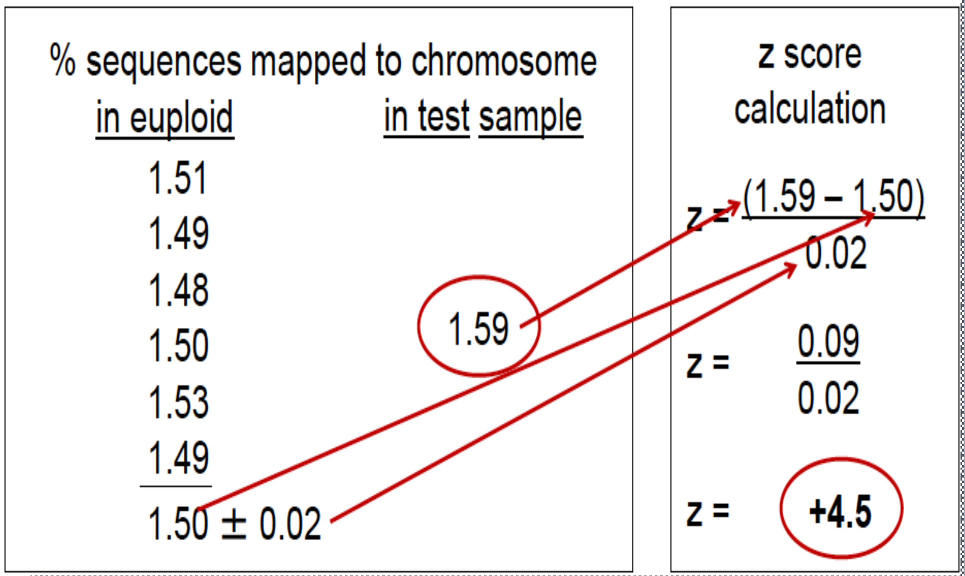
= (%maternal)(%chr21)(#chr21 to #expected) + (%fetal)(%chr21)(#chr21 to #expected)
= (90%)(1.5%)(2/2) + (10%)(1.5%)(3/2)
= 0.0135 + 0.00225
= 0.01575 = 1.6%

Fetal Fraksiyon / sensitivite

Chromosome-specific contribution

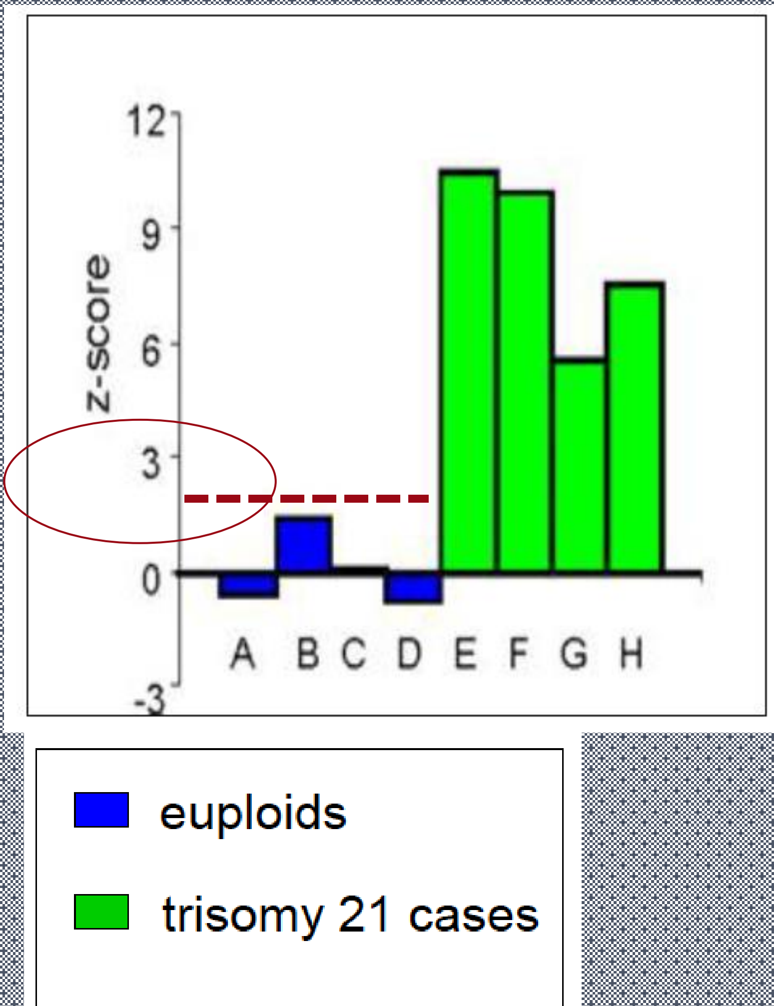


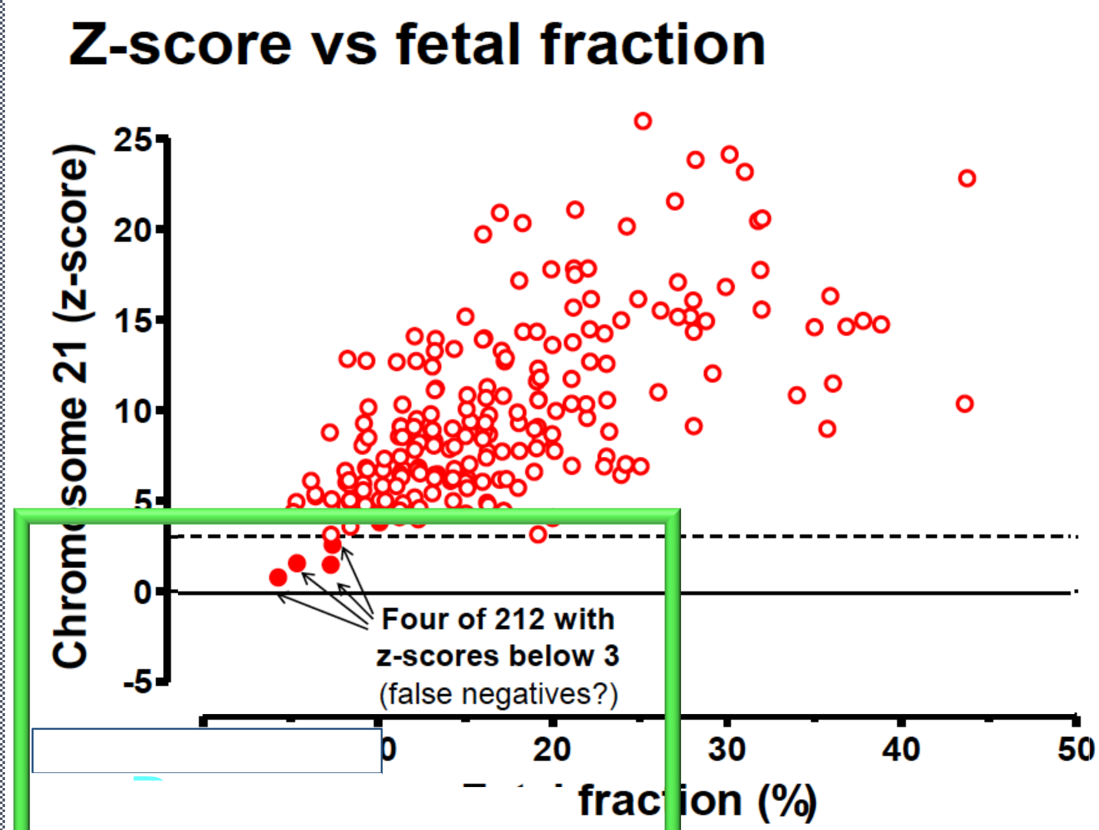
Down sendromu – *z* score



Fetal fraction	Fetal Karyotype	Chromosome 21 DNA as % of total DNA
Any (0-100%)	euploid	1.5
0%	trisomy 21	1.5
4%	trisomy 21	1.53
10% (typical)	trisomy 21	1.58

Fetal Fraksiyon / sensitivite





- False (-)

Chiu RWK et al. PNAS 2008

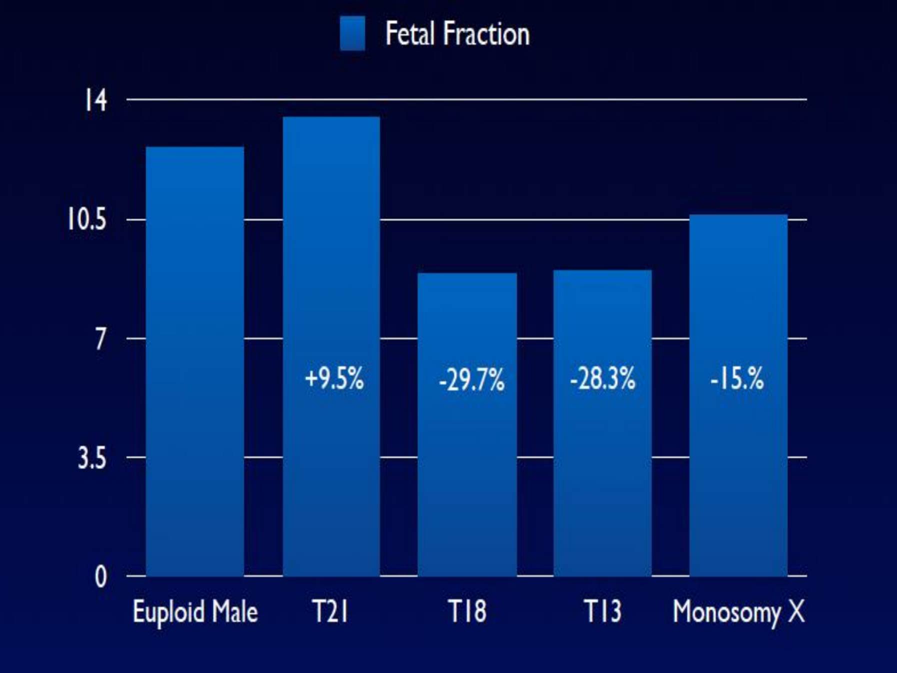
Palomaki GE, GIM 2011

Fetal Fraksiyon / sensitivite

- This is important at lower-to-intermediate fetal ccffDNA fractions.
- At 13 weeks gestation, over 20% of pregnancies have a fetal DNA fraction <10%
- In one study reporting an overall **98.6%** trisomy 21 detection rate, isolated analysis of the samples containing 4% – 8% fetal fraction demonstrated a detection rate of only **75%**
- Reporting of fetal fraction allows clinician to assess accuracy of the test result

Palomaki GE et al.
DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome:
an international clinical validation

% Fetal DNA Fraction	Counting Down Syndrome Detection Rate[1]	Panorama Down Syndrome Detection Rate[3]
≥10%	>99%	>99%
4-8%	75%	>99%



Fetal Karyotype	FF from R_{AX}
Euploid Males	0.126 (0.052)
Trisomy 21	0.138 (0.053)
Trisomy 18	0.085 (0.036)
Trisomy 13	0.046 (0.032)
Monosomy X	0.106 (0.045)[c]

- Data from support the fact that more ***"false positives" are detected for chromosome 18 and 13 than for 21***

Table 2. CVs and FFs obtained from v3 TruSeq sequencing chemistry.[a]

Chromosome	CV, %	FF
13	0.45	0.027
18	0.23	0.014
21	0.44	0.027
X	0.61	0.037

[a] For the MELISSA samples, the SD was obtained from a training set of 142 samples from unaffected individuals (71 females). Mean (SD), 26.2 (5.9) mol/L tags per sample.

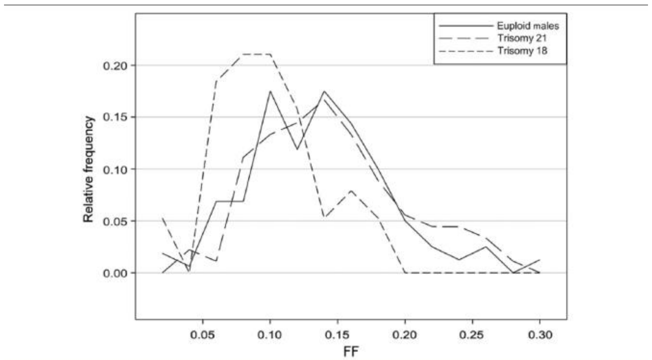


Fig. 1. Histogram of the relative frequency of samples at a given FF for maternal plasma samples from women carrying euploid male, trisomy 21, and trisomy 18 fetuses.
Trisomy 13 and monosomy X are not shown because of the small numbers of these samples.

14th World Congress in Fetal Medicine

Estimation of fetal fraction-based risk and redraw success rate in cases that are not callable by NIPT

Allison Ryan, Katie Kobara, Zachary Demko, Susan J Gross

- *The low FF cutoff was set at 2. 5 SD below the mean*
- *T13 and T18 reduced the FF by a ratio of 0. 79*
- *3n reduced the FF by a ratio of 0. 22*
- *PPV of 12. 1% (95% CI 5. 0–23. 3).*
- *This method provides a patient-specific risk score in cases where NIPT fails due to low FF.*
- *In this pilot study of women identified as having high FF-based risk score, the PPV of a high-risk call was 12. 1%.*
- *This information, in combination with targeted sonography, should be useful for counseling patients and determining a care plan.*

The American College of Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS

Society for Maternal·Fetal Medicine

COMMITTEE OPINION

Number 640 • September 2015 *(This Committee Opinion Replaces Committee Opinion Number 545)*

Committee on Genetics
Society for Maternal–Fetal Medicine

This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.

Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy

Rates of aneuploidy as high as 23% (due to low fetal fraction or other unknown factors) have been reported for women who fail to receive an interpretable result from cell-free DNA testing.


cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA tanı testi mi? Yalancı pozitiflik, yalancı negatiflik oranları nedir?

5a/FA1

Trisomi 21,18,13

Maternal yaş	Trisomi21 Ges. Haf. 12	16	20	40	Trisomi18 Ges. Haf. 12	16	20	40	Trisomi 13 Ges. Haf. 12	16	20	40
20	1068	1200	1295	1527	2484	3590	4897	18013	7826	11042	14656	42423
25	946	1062	1147	1352	2200	3179	4336	15951	6930	9778	12978	37567
30	626	703	759	895	1456	2103	2869	10554	4585	6470	8537	24856
35	249	280	302	356	580	837	1142	4202	1826	2576	3419	9876
40	68	76	82	97	157	227	310	1139	495	698	927	2683

Trisomi 21 taramasında kullanılan değişik metodlara ait yakalama oranları

	DR (%)
Maternal Yaş (MY)	30
MY + II. Trimester maternal serum biokimyası(AFP+BETA HCG+E3)	50-70
MY+ 11-14 NT	70-80
MY+ 11-14 NT+PAPP-A+f-beta HCG	85-90
MY+NT+11-14 nazal kemik	90
MY+ 11-14 NT+ nazal kemik+PAPP-A +f-beta HCG	95

cf DNA tanı testi değildir,
tarama testidir,
Yanlış pozitif sonuçlar
Yanlış negatif sonuçlar,
Pozitif test sonuçları mutlaka invaziv testler (CVS, amniyosentez) ile doğrulanmalı

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 249–266
Published online 1 February 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14791

Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis

M. M. GIL*, M. S. QUEZADA*, R. REVELLO*, R. AKOLEKAR*† and K. H. NICOLAIDES*†

**Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK; †Fetal Medicine Unit, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK*

37 çalışma, 1051 Trizomi 21, 21608 normal

Table 2 Studies reporting on the application of cell-free DNA analysis of maternal blood in screening for trisomy 21 in singleton pregnancy

			Trisomy 21		*Non-trisomy 21*	
Study	*Method*	*GA (weeks)*	*Total (n)*	*Detection (n (%, 95% CI))*	*Total (n)*	*False positive (n (%, 95% CI))*
Chiu (2011)[41]	MPSS	13 (—)	86	86 (100, 95.8–100)	146	3 (2.05, 0.43–5.89)
Ehrich (2011)[42]	MPSS	16 (8–36)	39	39 (100, 91.0–100)	410	1 (0.24, 0.01–1.35)
Palomaki (2011)[43]	MPSS	15 (8–21)	212	209 (98.6, 95.9–99.7)	1471	3 (0.20, 0.04–0.60)
Sehnert (2011)[44]	MPSS	15 (10–28)	13	13 (100, 75.3–100)	34	0 (0.00, 0.00–10.28)
Ashoor (2012)[45]	CSS	12 (11–13)	50	50 (100, 92.9–100)	347	0 (0.00, 0.00–1.06)
Bianchi (2012)[46]	MPSS	15 (10–23)	89	89 (100, 95.9–100)	404	0 (0.00, 0.00–0.91)
Jiang (2012)[48]	MPSS	— (10–34)	16	16 (100, 79.4–100)	887	0 (0.00, 0.00–0.42)
Lau (2012)[49]	MPSS	12 (11–28)	11	11 (100, 71.5–100)	97	0 (0.00, 0.00–3.73)
Nicolaides (2012)[50]	CSS	12 (11–13)	8	8 (100, 63.1–100)	1941	0 (0.00, 0.00–0.19)
Norton (2012)[51]	CSS	16 (10–38)	81	81 (100, 95.6–100)	2888	1 (0.04, 0.00–0.19)
Sparks (2012)[53]	CSS	18 (11–36)	36	36 (100, 90.3–100)	131	0 (0.00, 0.00–2.78)
Guex (2013)[55]	MPSS	12 (11–13)	30	30 (100, 88.4–100)	146	0 (0.00, 0.00–2.50)
Liang (2013)[57]	MPSS	21 (11–39)	39	39 (100, 91.0–100)	367	0 (0.00, 0.00–1.00)
Nicolaides (2013)[59]	SNP	13 (11–13)	25	25 (100, 86.3–100)	204	0 (0.00, 0.00–1.79)
Song (2013)[61]	MPSS	16 (11–21)	8	8 (100, 63.1–100)	1733	0 (0.00, 0.00–0.21)
Verweij (2013)[62]	CSS	14 (10–28)	18	17 (94.4, 72.7–99.9)	486	0 (0.00, 0.00–0.76)
Bianchi (2014)[63]	MPSS	17 (8–39)	5	5 (100, 47.8–100)	1947	6 (0.31, 0.11–0.67)
Comas (2014)[64]	CSS/SNP	14 (9–23)	4	4 (100, 39.8–100)	311	0 (0.00, 0.00–1.18)
Pergament (2014)[71]	SNP	14 (7–40)	58	58 (100, 93.8–100)	905	0 (0.00, 0.00–0.41)
Porreco (2014)[72]	MPSS	17 (9–37)	137	137 (100, 97.3–100)	3185	3 (0.09, 0.02–0.28)
Shaw (2014)[73]	MPSS	> 12	11	11 (100, 71.5–100)	184	0 (0.00, 0.00–1.98)
Stumm (2014)[74]	MPSS	15 (11–32)	41	40 (97.6, 87.2–99.9)	430	0 (0.00, 0.00–0.85)
Quezada (2015)[75]	CSS	10 (10–11)	32	32 (100, 89.1–100)	2753	1 (0.04, 0.00–0.20)
Song (2015)[76]	MPSS	9 (8–12)	2	2 (100, 15.8–100)	201	0 (0.00, 0.00–1.82)
Pooled analysis (% (95% CI))						
Fixed effects model				99.2 (98.5–99.6)		0.09 (0.05–0.13)
Random effects model				99.2 (98.5–99.6)		0.09 (0.05–0.14)
Cochran's Q				10.7230 ($P = 0.9858$)		27.2044 ($P = 0.2474$)
I^2 statistic (% (95% CI))				0.0 (0.0–39.6)		15.5 (0.0–48.6)
Egger bias				−0.0512 ($P = 0.6525$)		0.2367 ($P = 0.2270$)

Only the first author of each study is given. CSS, chromosome-specific sequencing; GA, gestational age; MPSS, massively parallel shotgun sequencing; SNP, single nucleotide polymorphism-based method.

	Yakalama (DR) (%)	Yalancı poz (FPR) (%)	Dağılım (%)
Trizomi 21	99,2	0,09	98,5-99,6
Trizomi 18	96,3	0,13	94,3-97,9
Trizomi 13	91,0	0,13	85,0-95,6
45 X0	90,3	0,23	85,7-94,2
Sex krom	93,0	0,14	85,8-97,8

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

İstanbul deneyimi: cfDNA test sonuçlarının yorumu

Prof. Dr. Seher Başaran

5b/SB2

Zhang et al., 2015 (BGI)

Out of 146 958 cases,

Negative cf-DNA
n:145 380

Positive cf-DNA
n:1578

No follow-up
~23% (n:33 777) ~ **33%** (n:512)

Validated n:111 603

Validated n:1066

T21

false negative ratio; 0.005%
frequency ~1:18 000 test

("Normal" 111 603 testten **6 sı** T21)

("678 pregnancy losses without karyotyping confirmation were not included").

T21

false positive ratio 7.8%
(61/781)

1:13 false positive cf-DNA
-False ALARM !!

Dar et al., 2014 (NATERA)

n:31,030 patients, starting

n:30,705 met study criteria

n:28,739 received a report 38% without follow-up (n:10 854)

n:507 reported "high-risk" (324 T21; 82 T18; 41 T13; 61 monosomy X; 1 double aneuploidy)

with follow-up ~70% (n:356)

no follow-up ~30% (n:151)

true positives; ~52%, (n:184)

false positives; ~11% (n:38),

without cytogenetic confirmation; ~38% (n:134)

5.3% (n:19) with ultrasound findings suggestive of aneuploidy,
10.1% (n:36) spontaneous abortions without karyotype confirmation,
6.2% (n:22) terminations without karyotype confirmation,
16.0% (n:57) lost to follow-up.

2 false negative T21 (voluntarily reported)

90 gebelikte (95 fetus) cf-DNA Test Sonuçları

Kromozom Anomalileri	Σ n	Gerçek pozitif n	%	Yalancı pozitif n	%	Yalancı negatif n
Tri zomi 21	47 tekil 3 ikiz (6 fetus) 1 YN	43 + 3 ikiz eşi	%91,5	4 (3 ikiz eşi)	%8,5	1
Tri zomi 18	9	6	%66,7	3	%33,3	
Tri zomi 13	5 1 ikiz YP 1 ikiz YN	2	%28,6	5	%71,4	1 ikiz eşi
Monozomi X	9	5	%55,6	4	%44,4	
X/Y Artış	8	5	%62,5	3	%37,5	
Diğer otoz. Tri (T16,T22)	2	2	%100	-		
Mikrodel/dup sendromları	4 (2x 22q-, 1p-, 8q+)	1	%25	3	%75	

*cf-DNA'da **Trizomi 21** için **risk saptanan olgular**
Tekil gebelik n: 47 + İkiz gebelik n: 3 (6 fetus)
**cf-DNA "Normal" sonuçlanan Trizomi 21 n:1

Gerçek pozitif T21
Tekil gebelik n: 43 **(%91,5)**
İkiz eşi n:3

1 olguda hiçbir klasik risk faktörü yok**
33 "ileri anne yaşı" (%73), 16 "MS-TT +"
38 T21 USG'de bulgu+ (%82,6)
8 T21 USG Normal (%17,4)

Yanlış pozitif T21
Tekil gebelik n:4 **(%8,5)**

3 "ileri anne yaşı" ve 1 "MS-TT +"
Tümünde USG "normal"

Yanlış negatif T21 n:1

İleri anne yaşı+ **USG'de bulgu +**

3 ikiz gebelik (6 fetus)
3'ünde "ileri anne yaşı", 1'inde "MS-Tarama testi +"

3 gerçek T21'li ikiz eşi	**3 normal karyotipli ikiz eşi**
3'ünde USG'de bulgusu +	**3'ünde USG "normal"**

Sitogenetik; 47x Trizomi 21'den 2 "robt 21q;21q" ve 2 "mozaik"

Gerçek pozitif "nonmozaik Trizomi 21"

USG Bulguları + (35 tekil + 3 ikiz eşi)

Malformasyonlar (10 olguda n:12)

- 7 kalp anomalisi (VSD, AVSD)
- 2 pes equino varus
- 1 kistik higroma
- 1 plevral efüzyon
- 1 NIHF

Markerlar (38 olguda n:78)

- 23 Nazal aplazi/hipoplazi
- 16 Nukal kalınlık
- 14 Ekojenik Intrakardiak Fokus
- 10 Hiperekojenik intestin
- 6 Pelviektazi/hidronefrosis
- 2 ARSA
- 1 ters A dalgası
- 1 Trikuspid regurjitasyon
- 1 Falanks hipoplazisi
- 1 Tek umblikal arter
- 1 borderline Ventrikulomegali
- 1 amnio-korio füzyon gecikmesi
- 1 polihidramnios

Yanlış negatif "mozaik Trizomi 21 Olgusu"

37 yaşında anne (G2P1)

<u>11. GH'da</u>

NT 2,6 mm
nazal hipoplazi?
cf-DNA - Normal

<u>21. GH'da</u> 2. düzey USG'de

kısa humerus (27 mm)
nazal hipoplazi (2,6 mm)
1. Tri NT↑

Amniosentez

46/47,+21 (2/32)
I-FISH 10/65

Gebeliğin terminasyonu

Plasenta I-FISH incelemesi

1. bölge 50/50,
2. bölge 147/3,
3. bölge 104/9,
4. bölge 130/20

cf-DNA'da Trizomi 18 için risk saptanan olgular n: 9

Gerçek pozitif Trizomi 18
n: 6 (% 66,6)

4 "ileri anne yaşı"
2 "MS-Tarama testi +"
2 "ICSI, Kötü obstetrik öykü"

Tümünde USG'de bulgu +

3 VSD
3 clenched hand
2 NT
2 nazal aplazi
2 DV Ters A dalgası
1 Omfalosel
1 Çilek kafa
1 uni Yarık damak dudak
1 generalize Ödem
1 ARSA
1 Humerus ve AC <5. per.
1 TUA
1 korioamnioyal füzyon tamamlanmamış
1 mide cebi görülmedi

Yanlış pozitif Trizomi 18
n:3 (%33,3)

3 "ileri anne yaşı"
1 "ICSI"
1 i vanishing ikiz eşinde omfalosel

3'ünde de USG Normal

cf-DNA'da **Trizomi 13 Olguları** n: 7+2

Gerçek pozitif
Trizomi 13 n: 2 (%28,7)

2 "ileri anne yaşı", 1 "Kötü obstetrik öykü",
2 USG'de bulgu+ (%100)

Yanlış pozitif
Trizomi 13 n:5 (%71,4)

5 "ileri anne yaşı", 1'inde "MS-TT+"1 ikiz gebelik
USG "Normal"

Yanlış negatif
Trizomi 13 n: 1 ikiz eşi

3xT13 olgusunda USG bulgu+ (%100)

1 Aort stenozu
1 VSD
1 Fallot tetralojisi
1 Sağ el postaksiyel polidaktili
1 Trikuspid regurjitasyonu
1 Bil. Min. Pelviektazi
1 NT
1 Piyelektazi
1 EIF
1 KPK

1 YP olguda USG'de KPK
Term plasentadan 4 farklı örnekte

Karyotip+I-FISH Normal (n:200)

Bu olguda 47,+13, **t(1p;5p)** par?

cf-DNA'da Monozomi X için risk saptanan olgular
n:9

Gerçek pozitif Monozomi X
n: 5 (%55,5)

3 "ileri anne yaşı"
1 hiçbir klasik risk faktörü yok**
1 USG'de bulgu + (EIF)

Sitogenetik Bulgular
45,X
45,X/46,X,i(Xq)
45,X/46,X,Xq-
2x 45,X/46,XX (9/50 ve 9/13) biri doğdu
Term plasenta;

1. Bölge;	X/XX/**XXX**	0/9/5	I-FISH 91/22/1
2. Bölge;	X/XX/**XXX**	0/0/18	97/17/0
Kord kanı;	X/XX/**XXX**	8/25/0	2/111/4

Yanlış pozitif Monozomi X
n:4 (%44,4)

3 "ileri anne yaşı"
1 "MS-Tarama Testi+"
1 "ICSI"

1 olguda term plasenta
4 farklı örnek Normal

cf-DNA'da X ve Y Anöploidileri için risk saptanan olgular

47,XXY n:5

tümünde "ileri anne yaşı"
USG bulgusu **Normal**

47,XYY n:1

USG +nazal hipoplazi,
min. Pelviektazi

47,XXX n:2

2 "ileri anne yaşı"
1 ICSI

	gerçek pozitif	yalancı pozitif
47,XXY	2 olgu %40	3 olgu %60
47,XYY	-	1 olgu %100
47,XXX	2 olgu %100	-

cf-DNA'da Diğer Otozomal Trizomiler için risk saptanan olgular n: 2

Gerçek pozitif Trizomi 16
n:1

"ileri anne yaşı"
+"MS-Tarama testi +"
PAPP-A ↓ β-HCG ↑
USG'de bulgu +

USG bulgusu
Intra uterin gelişme geriliği (2 hafta)

CVS; DP+HK nonmozaik 47,+16
AS; mos 46/47,+16 (35/9)

Gerçek pozitif Trizomi 22
n:1

"ileri anne yaşı"
USG'de bulgu +

USG bulgusu
EIF, Tek umblikal arter

CVS; DP+HK nonmozaik 47,+22
AS; mos 46/47,+22 (48/2)

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Hangi gruba cfDNA önerelim?
Olası kullanım durumları?
Dünyadaki uygulamalar nedir?
Dünyadaki Kadın Doğum ve Genetik birliklerinin önerisi nedir?

6/IM1

Noninvazif Prenatal Tarama (NIPT)

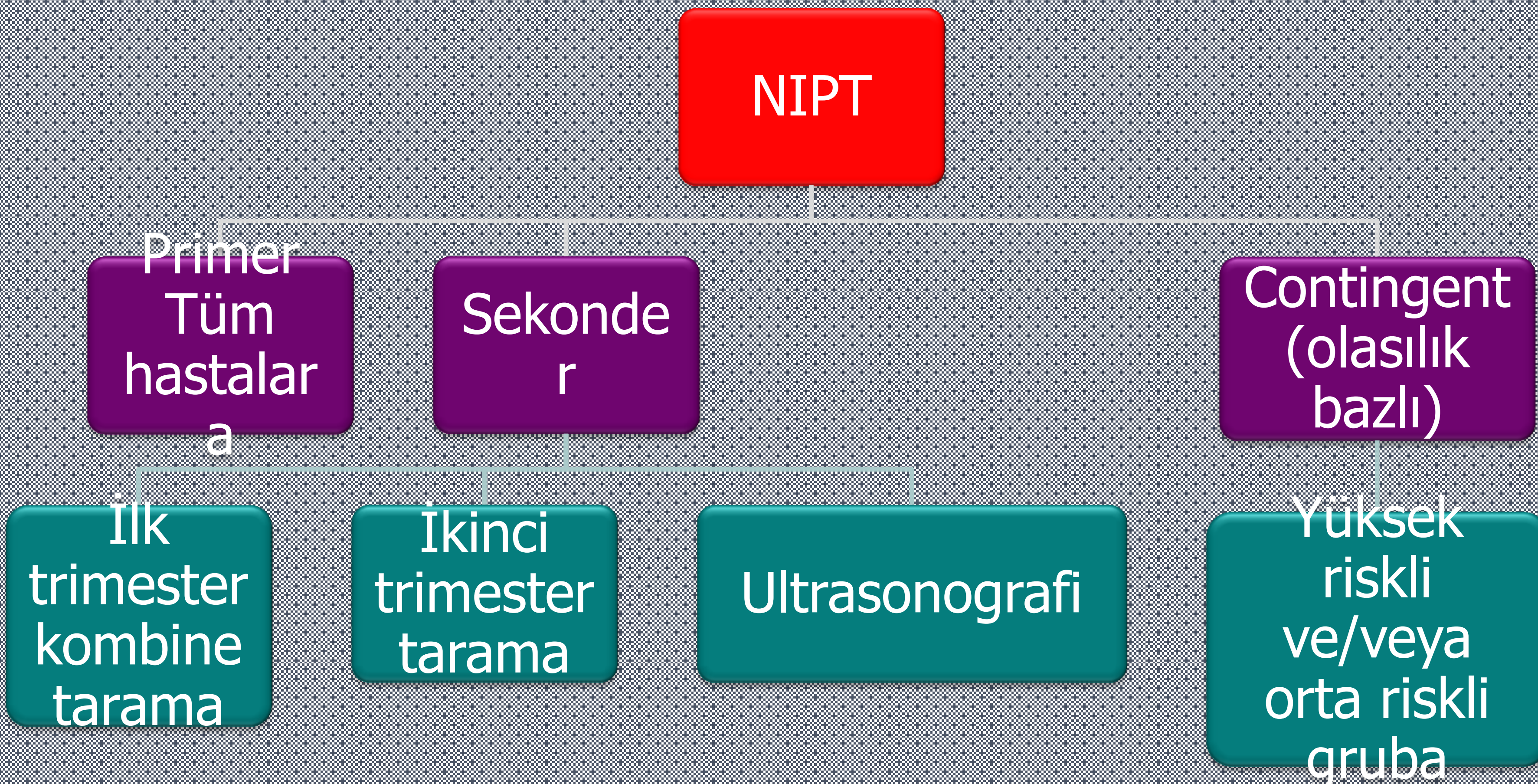
	Öneri
ACOG-SMFM 2015	Prenatal tarama ve tanı yöntemlerinin faydaları, riskleri ve alternatifleri hakkında tüm hastalar bilgilendirilmelidir. Bu bilgilendirme NIPT yöntemini de içermelidir.
ISPD 2015	NIPT yöntemi, primer yada sekonder olarak çeşitli aneuploidilerin tanısında kullanılabilir.
ACMG 2016	Tüm gebelere, NIPT'nin en duyarlı kromozomal anomali(Patau, Edwards, Down sendromları) tarama metodu olduğu bildirilmelidir.
RCOG 2015	Tüm obstetrisyenler bu konu ile ilgili yeterli bilgiye sahip olmalıdır. Zaman içinde primer tarama yöntemi olacaktır.
Almanya-İsviçre-Avusturya 2015	NIPT , fetal trizomi 21'de her yaş ve risk grubunda primer tarama yöntemi olarak kullanılabilir.

Genel Prensipler

- Tarama ve tanı ulusal kurallar ve legal çerçevede olmalı
- Sağlık personeli bu konuda yeterli bilgiye sahip olmalı
- Multidisipliner yaklaşım önemli
- Test tam valide olmuş akredite laboratuvarlarca yapılmalı.
- Test hastaya detaylı anlatılmalı ve karar vermesi için zaman tanınmalı (yazılı)
- Maliyet

Skirton et al. Eur J Human Genet 2014

Kullanım


NIPT
Primer
Tüm hastalara
Sekonder
Contingent (olasılık bazlı)
İlk trimester kombine tarama
İkinci trimester tarama
Ultrasonografi
Yüksek riskli ve/veya orta riskli gruba

Hangi gruba cfDNA önerelim? Olası kullanım durumları? Dünyadaki uygulamalar nedir? Dünyadaki Kadın Doğum ve Genetik birliklerinin önerisi nedir?

SORU ve YORUM


cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Düşük risk grubuna cfDNA seçeneği sunalım mı? Önerelim mi?

7/SB2

Düşük Risk Grubu?

- **Topluma göre artmış risk taşımayan gebeler!!**
- Toplum riski?

  1- Anöploidiler için "30" yaş gebeliklerin riskidir.

Anne Yaşı	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
15 - 19	1:1250	1:17000	1:33000
20 - 24	1:1400	1:14000	1:25000
25 - 29	1:1100	1:11000	1:20000
30 - 34	1:700	1:7100	1:14000
35 - 39	1:200	1:2400	1:4800
40 - 44	1:60	1:700	1:1600

1:380 tüm kromozom anomalileri

2- Yapısal kromozom anomalileri için risk artmış gebelikler;

- Dengeli kromozom anomali taşıyanlar
- Kötü obstetrik öykü
- IVF/ICSI gebelikler
- Yapısal kromozom anomalili çocuk (gonadal mozaisizm)

Sayısal + Yapısal Kromozom Anomali Riski

	Hastalık riski	Önerilen girişim
Dengeli kromozom anomali taşıyıcısı ebeveyn	% 50	CVS-AS
Patolojik ultrason bulgusu	% 1- 2 - 60	CVS-KS-AS
I.Trimester tarama testi pozitif	% 7- 15	CVS-AS
İleri anne yaşı	% 1-15	AS-CVS-KS
II. Trimester tarama testi pozitif	% 2 - 3.5	AS-CVS-KS
Kromozom anomalili çocuk öyküsü	% 1- 2	AS-CVS-KS
Kötü obstetrik öykü (önce parental)	*% 1- 2*	*AS*
*ICSI **gebelikler (önce parental)***	*% 1.5*	*AS*

O halde düşük risk grubu kim?

- ≤34 yaş gebelikler?
- ≤30 yaş gebelikler?
- İlk trimester USG normal olan gebelikler (yaştan bağımsız)?
- 34 yaş gebelikler + Trimester USG normal olan gebelikler?
- Klasik risk faktörü olmayan (İAY, KOÖ, IVF/ICSI, KAE, vd)?
- **İlk trimester USG normal + Klasik risk faktörü olmayan**

Ücreti SUT'tan ödenmeme ve doğru genetik bilgilendirme (YP ve YN'ler) koşuluyla "düşük risk grubuna" aile isterse "hayır" diyemeyiz.

Düşük risk grubuna cfDNA seçeneği sunalım mı? Önerelim mi?

SORU ve YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Maliyet / Etkinlik durumu nedir? Literatür ne diyor?

8/FA2

Trisomi 21,18,13 ve fetal ölüm

	12-40 ges. Haf. (%)	16-40 ges.Haf. (%)
Trisomi 21	30	20
Trisomi 18	80	
Trisomi 13	80	

Tüm populasyonda; Cost-effectivite

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 74–83
Published online 9 December 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14693

Cell-free fetal DNA screening in the USA: a cost analysis of screening strategies

M. I. EVANS*, J. D. SONEK†, T. W. HALLAHAN‡ and D. A. KRANTZ‡

**Comprehensive Genetics, New York, NY, USA; †Department of Maternal Fetal Medicine, Miami Valley Hospital, Dayton, OH, USA; ‡PerkinElmer Labs/NTD, Melville, NY, USA*

-Tüm gebelere
-İlk trimester sonrası yüksek risk
-Hibrid (35 yaş üstü, ve yüksek risk)

Table 5 Cost (US$) per patient screened using hybrid, contingent or primary cell-free fetal DNA (cffDNA) screening strategies and marginal cost (million US$) of primary cffDNA screening using the best-case scenario for primary cffDNA screening

	Traditional screening protocol			
Strategy (risk cut-off)	*Free β-hCG + PAPP-A + NT*	*β-hCG + PAPP-A + NT*	*Free β-hCG + PAPP-A + NT + NB*	*β-hCG + PAPP-A + NT + NB*
Cost (US$) per patient screened				
Hybrid (1/300)	930	969	869	883
Contingent (1/300)	941	999	854	875
Contingent (1/1000)	914	962	842	860
Primary cffDNA* (NA)	1055	1055	1055	1055
Marginal cost (million US$) of primary cffDNA screening				
Hybrid (1/300)	2.4	1.7	5.5	4.3
Contingent (1/300)	1.9	1.4	4.3	3.4
Contingent (1/1000)	3.1	2.1	7.3	5.5

Tüm populasyon için; Cost-effektif değil

Yüksek riskli populasyonda; Cost-effectivite , decision analitic model

THE JOURNAL OF
MATERNAL-FETAL
& NEONATAL
MEDICINE

http://informahealthcare.com/jmf
ISSN: 1476-7058 (print), 1476-4954 (electronic)

J Matern Fetal Neonatal Med, 2013; 26(12): 1180–1185
 DOI: 10.3109/14767058.2013.770464

informa
healthcare

Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high-risk women based on a US population

Ken Song[1], Thomas J. Musci[1], and Aaron B. Caughey[2]

-NIPT 795 Dolar, 4823 Trizomi 21, 5330 invaziv girişim
-I. Trimester tarama, 3364 Trizomi 21, 108760 prosedür,
-I. Trimester tarama; 3919 milyon Dolar
-NİPT; 3403 milyon Dolar

Ülkemizde Maliyet / Etkinlik durumu

-İş gücü maliyeti düşük

-SUT fiyatları

-Testler dışa bağımlı

-Seçilmiş hasta grubunda kullanım

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Hangi gebelik haftasından itibaren seçenek olarak sunalım?
10 hf? 12 hf? veya başka haftalar?

9/ZŞ3

Cell free DNA analizi: hangi gebelik haftasında tarayalım (en erken ve en geç) ?

cfDNA In Maternal Plasma

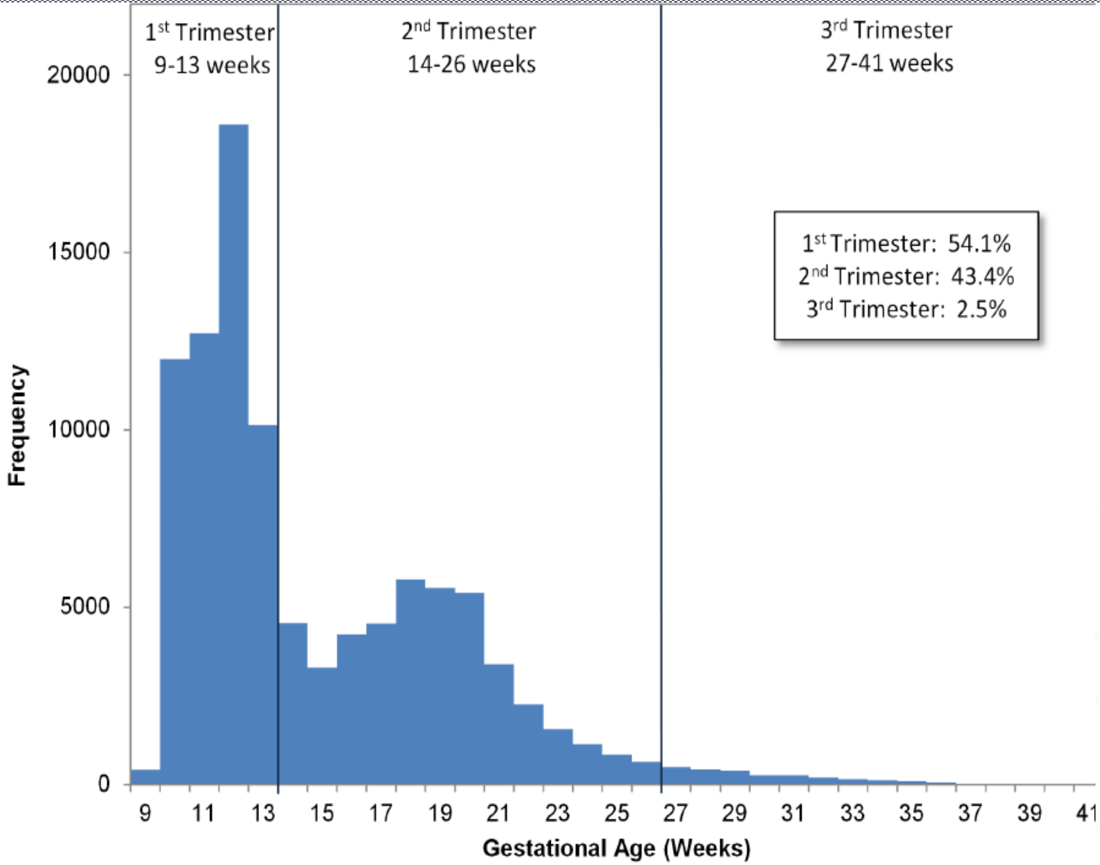
- Fragments of extracellular cffDNA detectable by 4 wks
- cffDNA ↑with gestation
- Sufficient (10% total cfDNA) by 7-10wk

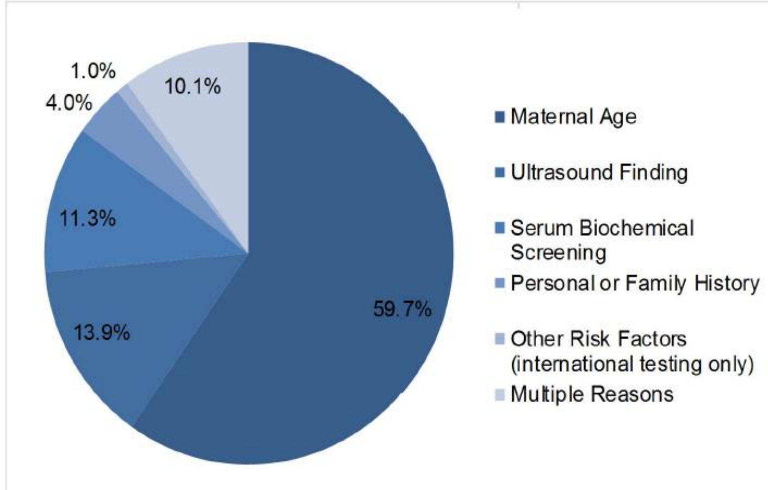
Non-Invasive Prenatal Chromosomal Aneuploidy Testing - Clinical Experience: 100,000 Clinical Samples

Ron M. McCullough*, Eyad A. Almasri, Xiaojun Guan, Jennifer A. Geis, Susan C. Hicks, Amin R. Mazloom, Cosmin Deciu, Paul Oeth, Allan T. Bombard, Bill Paxton, Nilesh Dharajiya, Juan-Sebastian Saldivar

Clinical Science, Sequenom Laboratories, San Diego, California, United States of America

October 2014 | Volume 9 | Issue 10 | e109173



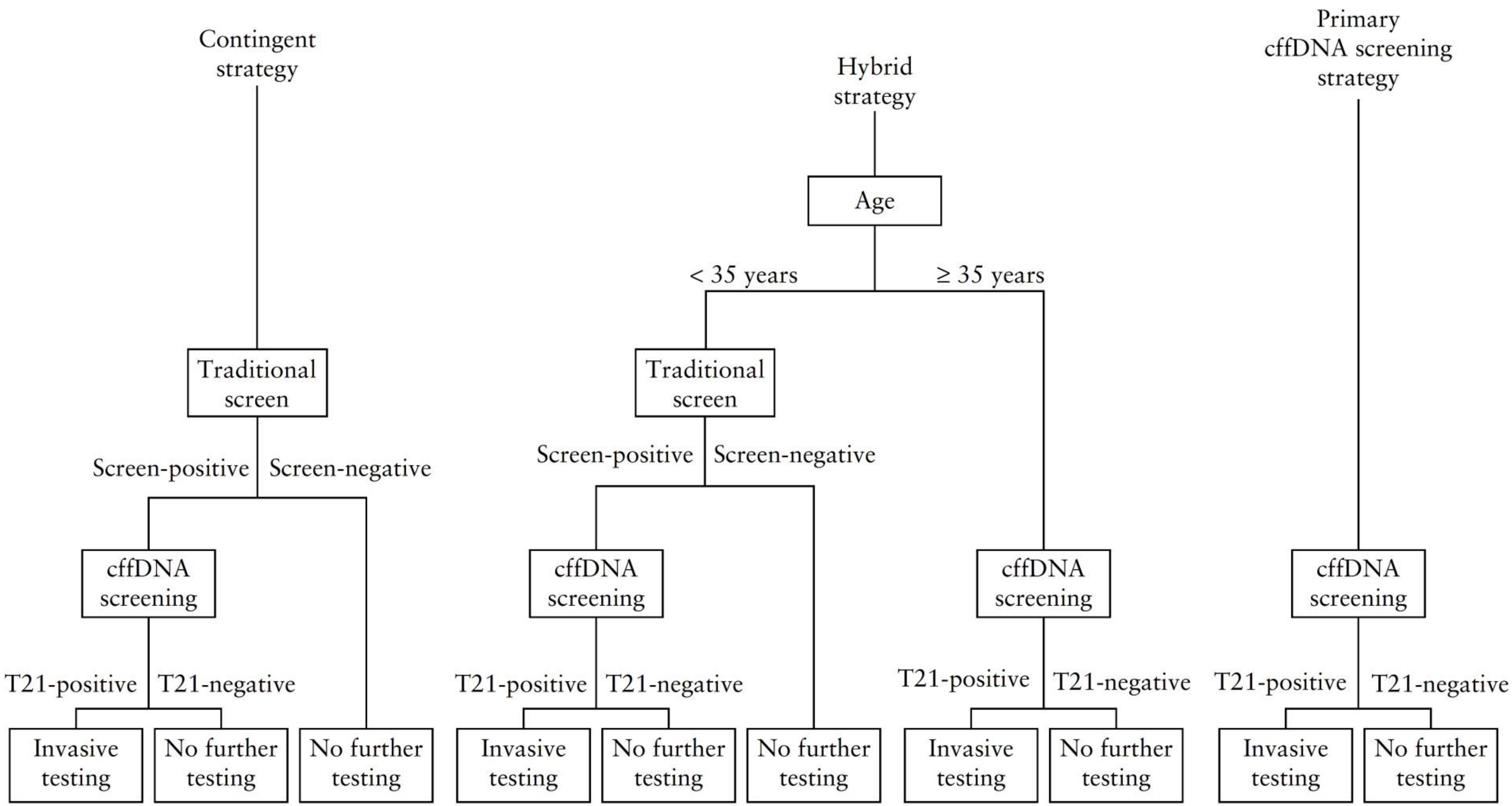


Maternal Age	59.7%
Ultrasound Finding	13.9%
Serum Biochemical Screening	11.3%
Personal or Family History	4.0%
Other Risk Factors *(international testing only)*	1.0%
Multiple Reasons	10.1%
Maternal Age	68.5%
Ultrasound Finding	18.1%
Serum Biochemical Screening	17.1%
Personal/Family History	5.9%

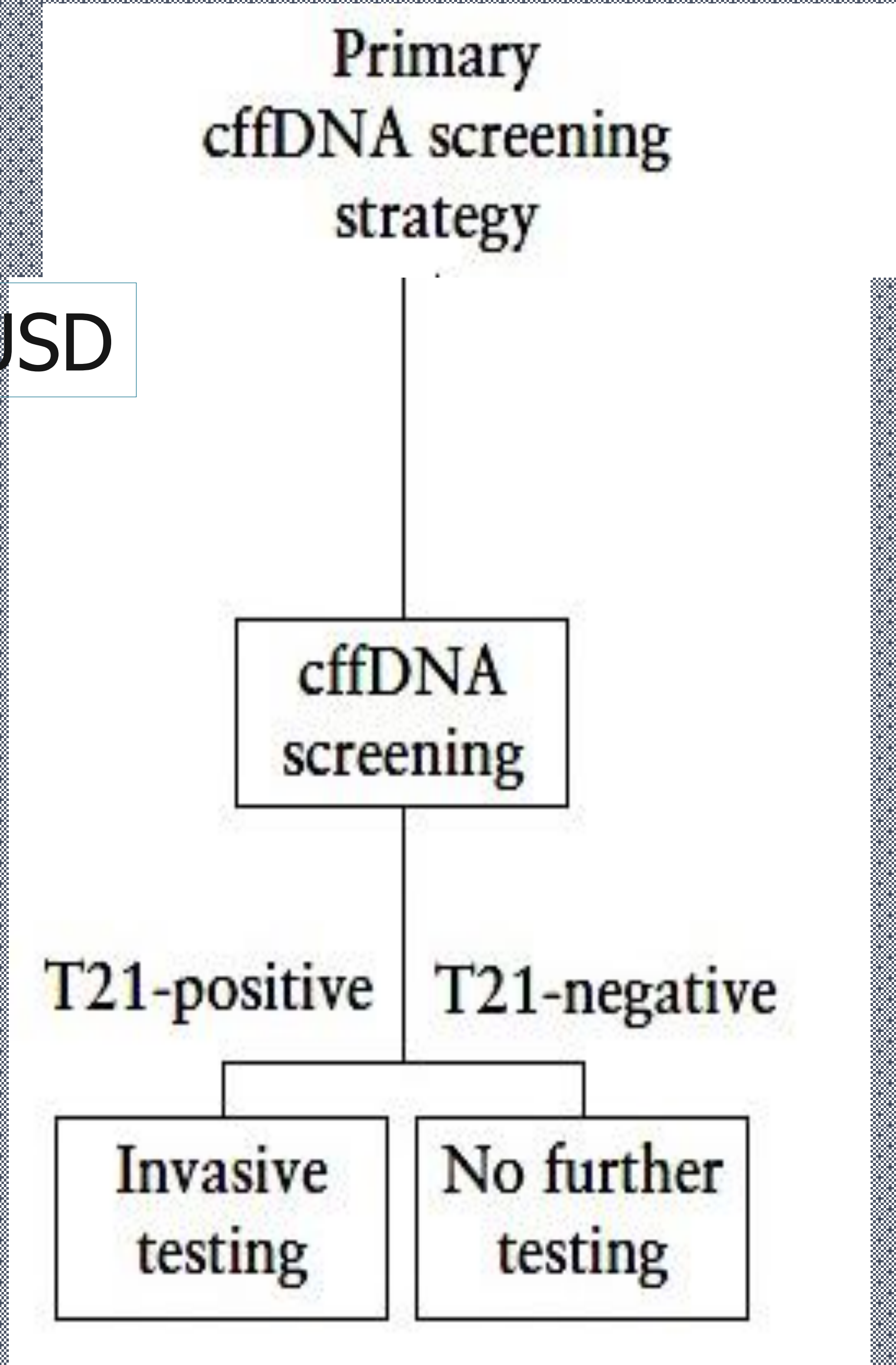
Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 74–83
Published online 9 December 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14693

Cell-free fetal DNA screening in the USA: a cost analysis of screening strategies

M. I. EVANS*, J. D. SONEK†, T. W. HALLAHAN‡ and D. A. KRANTZ‡

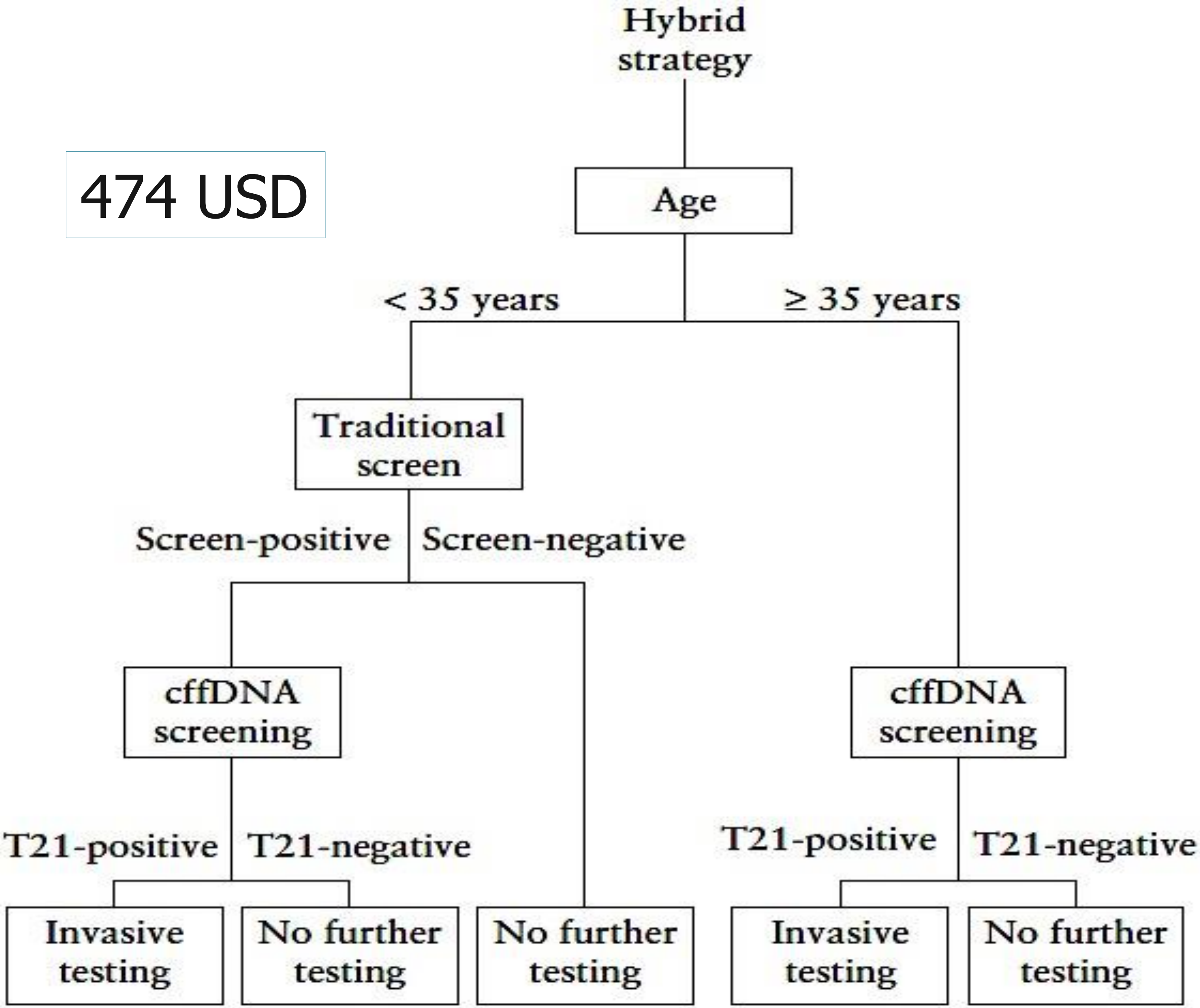


1.017 USD



Primary cffDNA screening strategy
cffDNA screening
T21-positive
T21-negative
Invasive testing
No further testing

474 USD

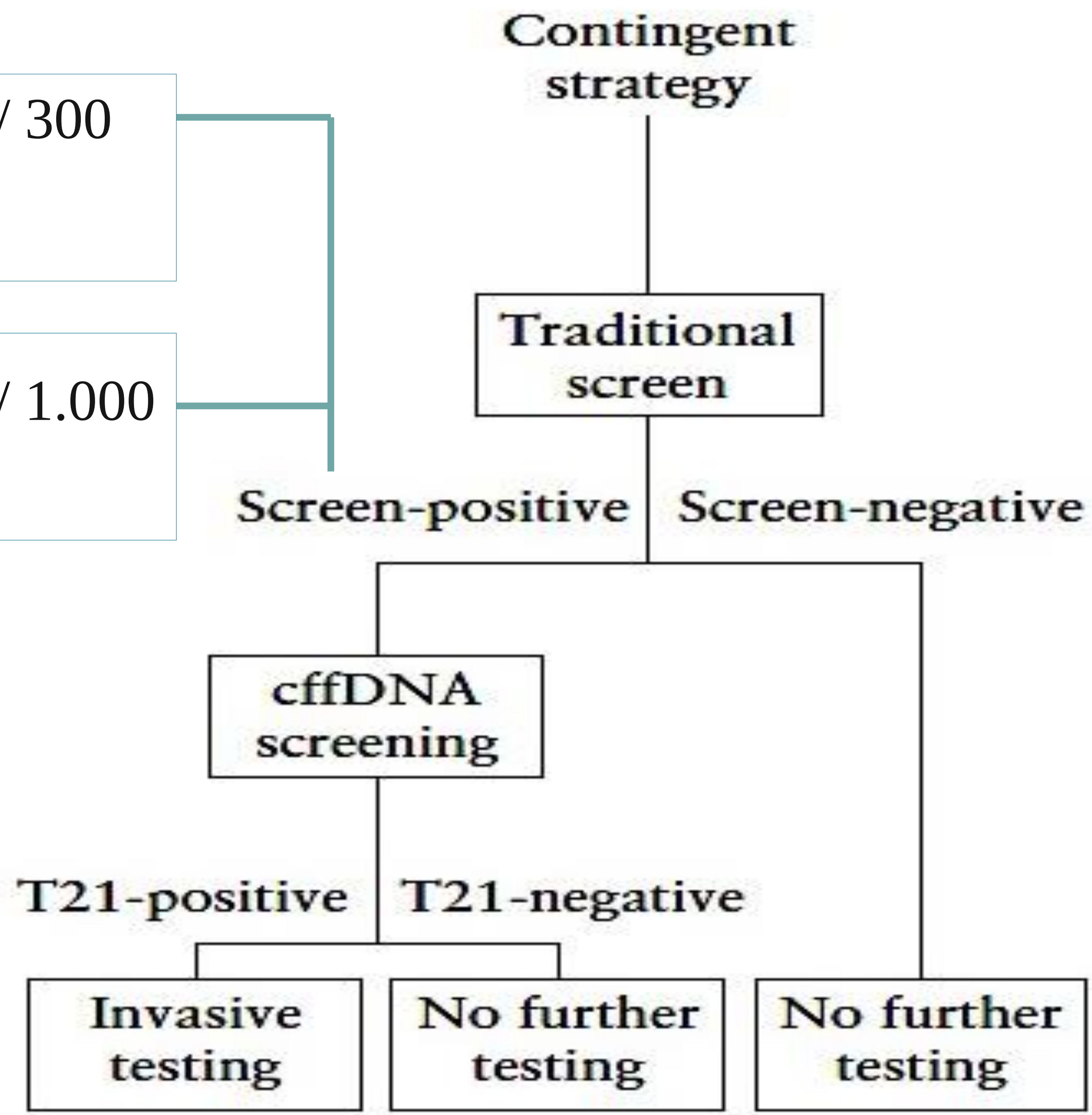

Hybrid strategy
Age
< 35 years
≥ 35 years
Traditional screen
Screen-positive
Screen-negative
cffDNA screening
cffDNA screening
T21-positive
T21-negative
T21-positive
T21-negative
Invasive testing
No further testing
No further testing
Invasive testing
No further testing

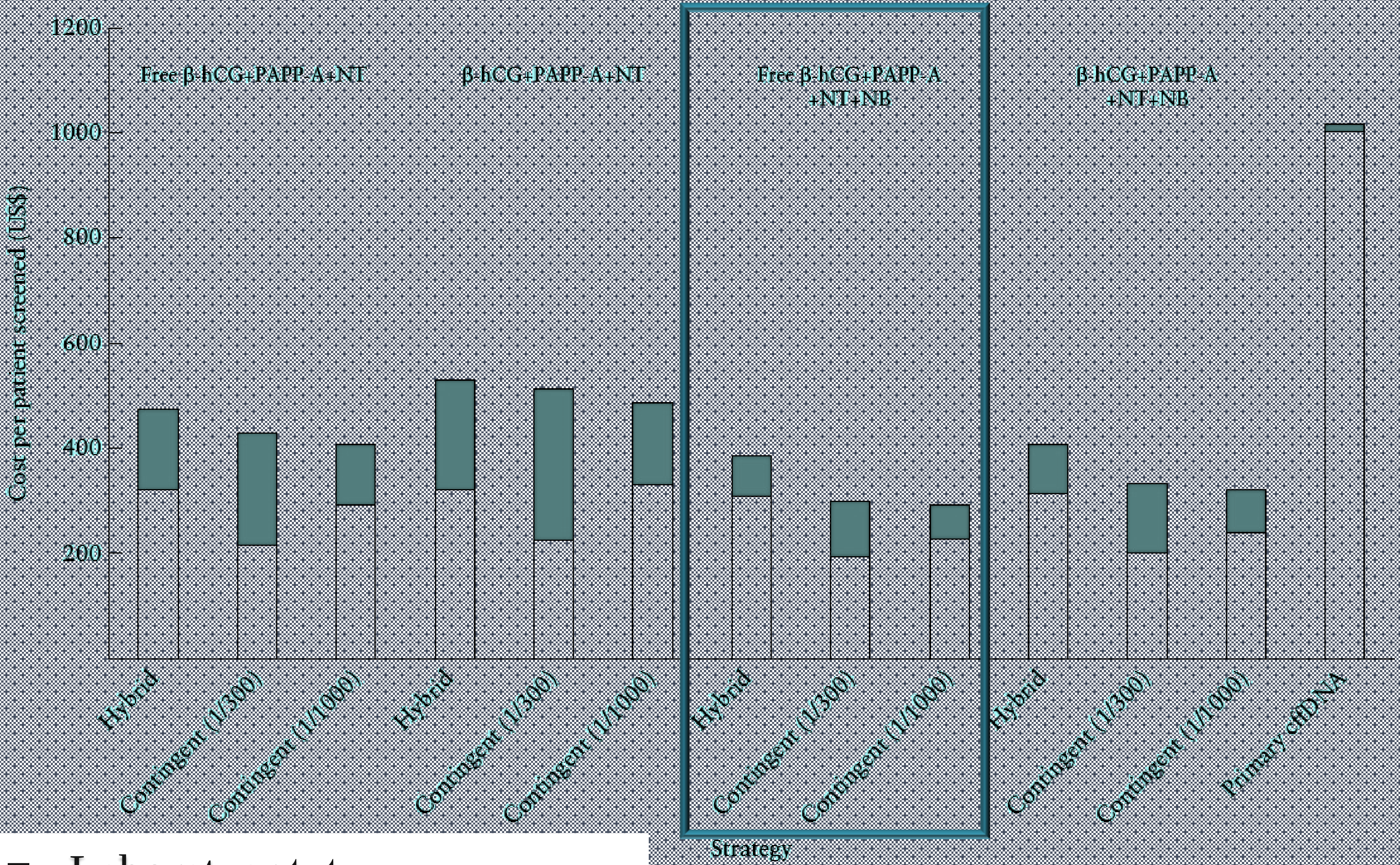
Cutoff risk 1 / 300

430 USD

Cutoff risk 1 / 1.000

409 USD





- Laboratuar tutarı
- Atlanmış olgu tazminat bedeli

Ultrasound Obstet Gynecol 2015
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.15783

Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test

M. M. GIL*, R. REVELLO*, L. C. POON*, R. AKOLEKAR*† and K. H. NICOLAIDES*

Table 3 Distribution of risk from the combined test in 11 692 women with singleton pregnancy attending National Health Service hospitals, according to trisomic outcome

Risk cut-off	*Trisomy 21* (n = 47)	*Trisomy 18* (n = 24)	*Trisomy 13* (n = 4)	*Unaffected* (n = 11 617)
≥ 1 in 10	30 (63.8)	19 (79.2)	4 (100)	62 (0.5)
≥ 1 in 20	36 (76.6)	20 (83.3)	4 (100)	101 (0.9)
≥ 1 in 50	38 (80.9)	21 (87.5)	4 (100)	208 (1.8)
≥ 1 in 100	41 (87.2)	22 (91.7)	4 (100)	393 (3.4)
≥ 1 in 500	46 (97.9)	23 (95.8)	4 (100)	1351 (11.6)
≥ 1 in 1000	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)	2181 (18.8)
≥ 1 in 1500	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)	2870 (24.7)
≥ 1 in 2000	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)	3429 (29.5)
≥ 1 in 2500	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)	3938 (33.9)
≥ 1 in 3000	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)	4453 (38.3)
≥ 1 in 3500	47 (100)	24 (100)	4 (100)	4899 (42.2)

Data are given as n (%).

Risk cut-off	*Trisomy 21* (n = 47)	*Trisomy 18* (n = 24)	*Trisomy 13* (n = 4)
≥ 1 in 10	30 (63.8)	19 (79.2)	4 (100)
≥ 1 in 20	36 (76.6)	20 (83.3)	4 (100)
≥ 1 in 50	38 (80.9)	21 (87.5)	4 (100)
≥ 1 in 100	41 (87.2)	22 (91.7)	4 (100)
≥ 1 in 500	46 (97.9)	23 (95.8)	4 (100)
≥ 1 in 1000	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)
≥ 1 in 1500	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)
≥ 1 in 2000	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)
≥ 1 in 2500	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)
≥ 1 in 3000	46 (97.9)	24 (100)	4 (100)
≥ 1 in 3500	47 (100)	24 (100)	4 (100)

**Hangi gebelik haftasından itibaren seçenek olarak sunalım?
10 hf? 12 hf? veya başka haftalar?**

SORU VE YORUM

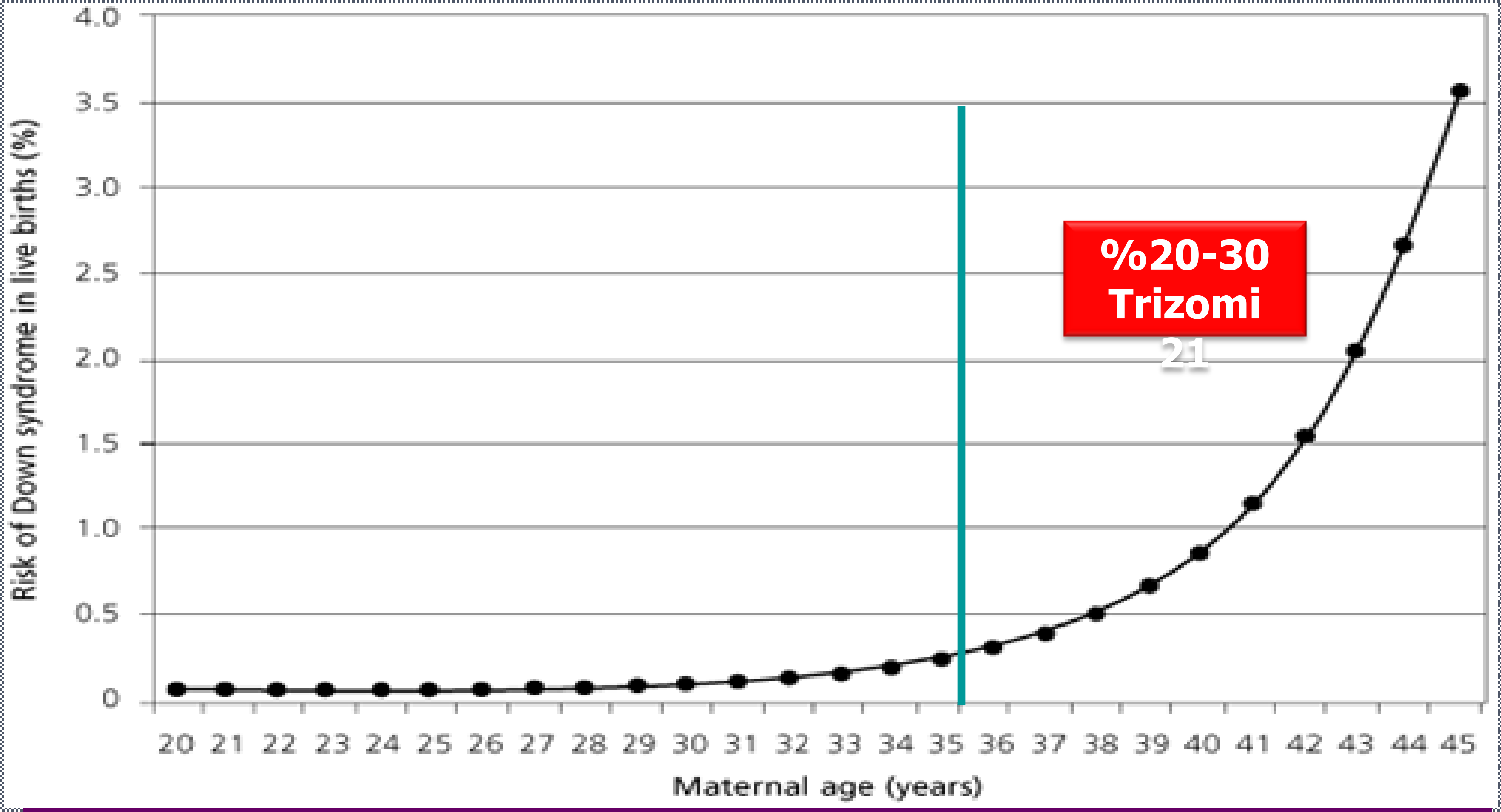
cfDNA Paneli

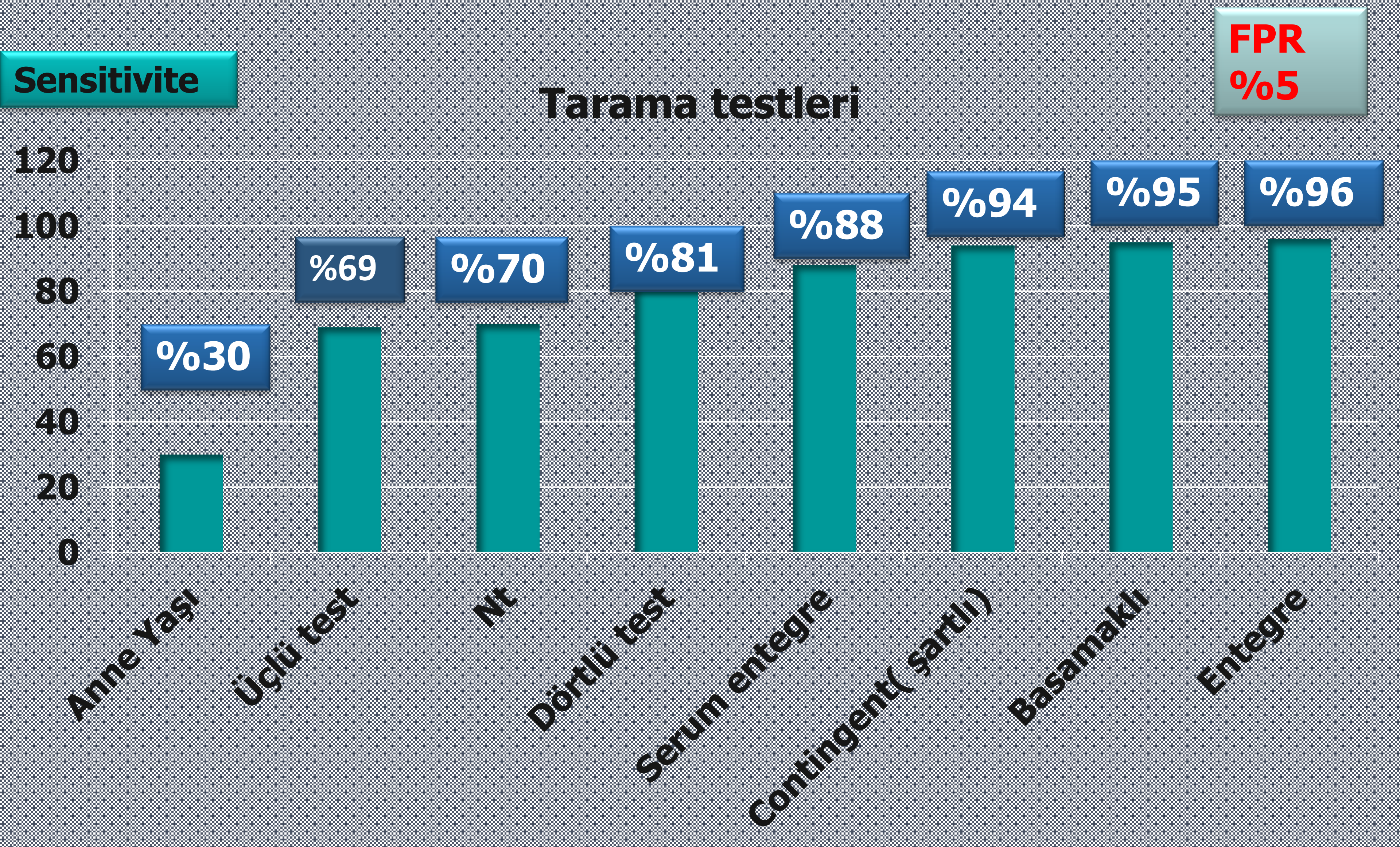
Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

İleri yaş grubunda, >35 y veya >40 y, direkt cfDNA seçeneği sunalım mı? veya birinci trimester/dörtlü test yapalım sonrasında duruma göre?

10/IM2

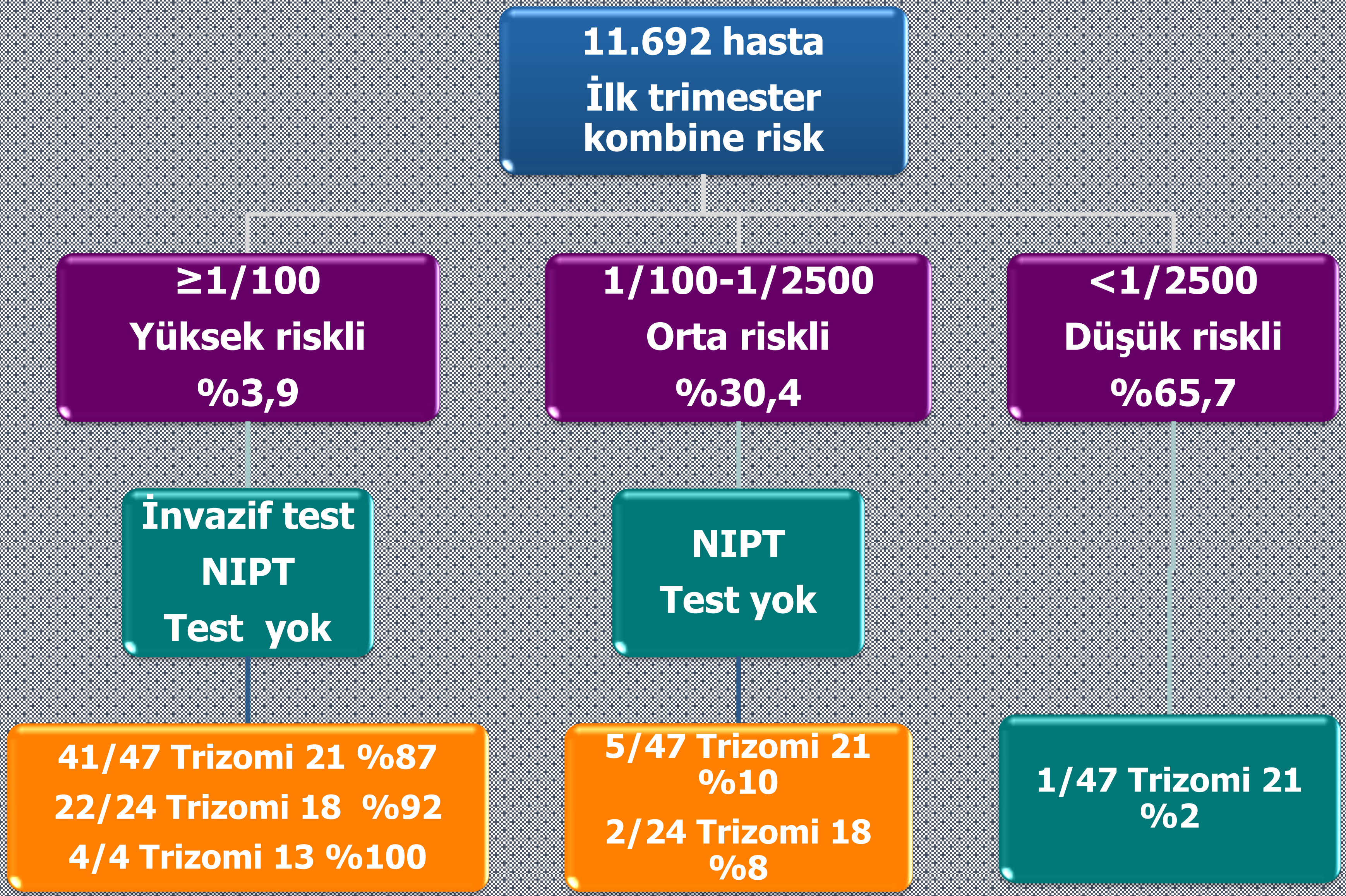
Maternal yaş





Sensitivite
Tarama testleri
FPR
%5
120
100
80
60
40
20
0
%30
%69
%70
%81
%88
%94
%95
%96
Anne Yaşı
Üçlü test
Nt
Dörtlü test
Serum entegre
Contingent(şartlı)
Basamaklı
Entegre

Contingent (Olasılık bazlı) yaklaşım



Gil MM, et al USG Obstet Gynecol 2016

Contingent (Olasılık bazlı) yaklaşım

11692 hasta
İlk trimester kombine risk

≥1/100 Yüksek riskli %3,9	1/100-1/2500 Orta riskli %30,4	<1/2500 Düşük riskli %65,7
İnvazif test %38 NIPT %60	NIPT %92	

Gil MM, et al USG Obstet Gynecol 2016

İleri yaş grubunda, >35 y veya >40 y, direkt cfDNA seçeneği sunalım mı? veya birinci trimester/dörtlü test yapalım sonrasında duruma göre?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Birinci trimester tarama veya üçlü/dörtlü test sonuçlarına göre hangi durumda cfDNA seçeneği sunalım?
Risk aralığı ne olmalı ?

11/FA3

I. Trimester test sonuçları;
Risk > 1/10 veya NT > 3,5mm
invaziv tanısal test (CVS)
- Risk 1/10-1/500-1000 arası;
yüksek risk ve orta risk grubu;
cfDNA seçeneği

Cell-Free DNA Testing fof fetal chromosomal anomalies in clinical practice: Austrian-German-Swiss recommendations for non-invasive prenatal tests (NIPT), Ultraschall in Med 2015; 36(05);507-510

I. Trimester test sonuçları;
Risk > 1/100 üstü, CVS veya cfDNA
- Risk 1/100-1/2500arası; orta risk grubu; cfDNA seçeneği

Clinical implementation of routine screening for fetaltrisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test
M.M GIL, K. H. NICOLAİDES, Ultrasound Obstet Gynecol 2015

Ultrasound Obstet Gynecol 2015
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). **DOI:** 10.1002/uog.15783

Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test

M. M. GIL*, R. REVELLO*, L. C. POON*, R. AKOLEKAR*† and K. H. NICOLAIDES*

**Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK; †Department of Fetal Medicine, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK*

1/100- 1/2500;
populasyonun %25
Trizomi 21; DR %97
Trizomi 13 ve 18 DR %95

II Trimester test sonuçları;

-Risk >1/270; yüksek risk grubu
cf DNA seçeneği

Cell-Free DNA Testing fof fetal chromosomal anomalies in clinical practice: Austrian-German-Swiss recommendations for non-invasive prenatal tests (NIPT), Ultraschall in Med 2015; 36(05);507-510

Birinci trimester tarama veya üçlü/dörtlü test sonuçlarına göre hangi durumda cfDNA seçeneği sunalım?
Risk aralığı ne olmalı ?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Majör fetal anomali var cfDNA yerine CVS/AS mi yapmalıyız?

Majör anomali grubu nedir?

12/ZŞ4

- Major fetal anomali → **cfDNA ? CVS / AS ?**

- MSS anomalileri
  - Mikrosefali
  - Ventrikülomegali
  - ACC
  - HPE
  - Serebellum – post fossa
  - NTD
  - Koroid pleksus kisti
- Iskelet anomalileri
  - Ayak deformiteleri
  - El parmak anomalileri
  - Radius aplazisi
- Yüz anomalileri
  - Median cleft
  - Retro - mikrognati
- Kardiak anomali
  - AV kanal
  - VSD (membranöz)
  - Fallot, DORV, TGA
  - Konotrunkal anom.
  - HLHS, AoCoa
  - Timus küçük / yok
- Kistik higroma
- Omfalosel
- Duodenal atrezi
- Diafragma hernisi
- Üriner anomaliler
  - Hidronefroz
  - Displastik böbrek

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Test Pozitif veya yüksek risk olarak rapor edildi? Tanı testi olarak kabul edebilirmiyiz? Tanı testi yapacaksak, T21, T18, T13, X0, XXY, hangi durumda CVS veya AS yapmalıyız?

13/SC2

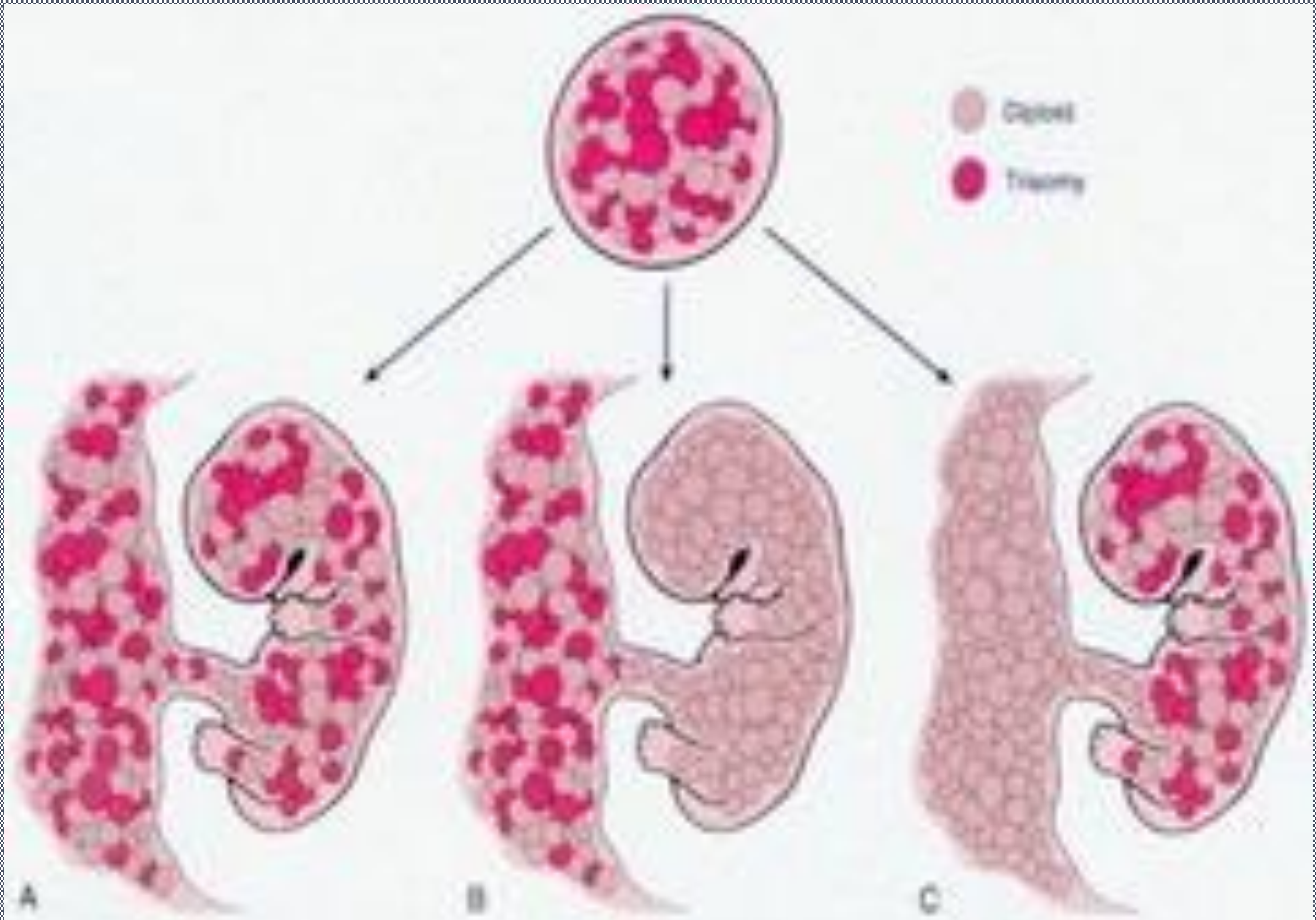
Tanı testi? Tarama Testi?

- Cf-DNA “KESİNLİKLE” BİR TARAMA TESTİDİR.
- SENSİTİVİTESİ VE SPESİFİTESİ YÜKSEK BİR TARAMA TESTİ OLARAK KABUL EDİLMELİDİR.
- Her testin bir yanlış pozitif ve yanlış negatif aralığı vardır ama bu testteki oranlar tanı testi diyebileceğimiz sınırların dışındadır.
- Plasenta (sitotrofoblast) bazlı bir örnekten çalışıldığı için fetüsle uyumlu olmayan sonuçlar elde edilebilir.

Hata nedenleri

- Maternal Mozaisizm
- Vanishing twin
- Kanser
- Plasentaya sınırlı mozaisizm

Gerçek/ Plasentaya sınırlı/ Fetüse sınırlı Mozaisizmler



Plasentaya sınırlı mozaisizm sıklığı canlı doğumlarda ~% 1,5.

Pozitif test sonucu

- Teyid için seçilecek teste gebelik haftasına göre karar verilmesi gerekir.
- CVS ve amniyosentez iki kullanılabilecek yöntem
- Kordosentez hiç bir mozaisim türünde iyi bir araştırma yöntemi değildir. Bu nedenle bu çalışmada da, CVS yada amniyosentezdeki mozaisizm kuşkularında da KULLANILMAMALIDIR.
- Eğer USG pozitif ise CVS
- USG negatif ise ve gebelik haftası 15 üzerinde ise AS
- Cff-DNA monozomi X riski gösteriyorsa amniyosentez

CVS

Avantaj:

- Direkt preparasyon + Kültür + FISH ve QF-PCR ile test olanağı sağlar

Dezavantaj:

- Plasentaya sınırlı mozaisimde yanıltma olasılığı vardır. Biyopsi yine plasentadan alınmaktadır.

CVS

- CVS'te direkt preparasyon ve kültürün beraber yapılması gereklidir.
- Plasentaya sınırlı mozaisizmlerde kültürde gerçek fetal karyotipin tespit edilmesi olasılığı daha yüksektir.

CVS

Tip	CPM/ TFM	Direkt	Kültür	Amniosentez	Sıklık (%)
I	CPM	Anormal	Normal	Normal	35
II	CPM	Normal	Anormal	Normal	42
III	CPM	Anormal	Anormal	Normal	10
IV	TFM	Anormal	Normal	Anormal	1,5
V	TFM	Normal	Anormal	Anormal	6
VI	TFM	Anormal	Anormal	Anormal	5,5

CPM: Plasentaya sınırlı mozaisizm (Confined placental mosaicism)
TFM: Gerçek Fetal Mozaisizm (True Fetal Mosaicism)

Erken amniyosentez

Avantaj:

- Kültür + FISH ve QF-PCR ile test olanağı sağlar

Dezavantaj:

- Plasentaya sınırlı mozaisimde yanıltma olasılığı vardır. Plasental hücre sıklığı fazladır.
- Hücre miktarı az olduğu için test başarısızlığı olasılığı yüksek

Amniyosentez

Avantaj:

- Kültür + FISH ve QF-PCR ile test olanağı sağlar
- En iyi test seçeneğidir.

Dezavantaj:

- 16. hafta sonrası yapılmasıdır.
- 12. haftada sonucunu alan bir hastada bu süreyi beklemek sıkıntılıdır.

Yaklaşım önerileri

- 14.-15. haftadan önce tespit edilen anormalliklerde CVS yapılması
- CVS'ten FISH ve direk preparasyon ile eş zamanlı değerlendirme
- FISH ile 100 ve üzeri hücre değerlendirme
- Cff-DNA ile Uyumlu sonuç/ Mozaisizm yoksa terminasyon
- Hastalığın tipini (Translokasyonlu, regüler, mozaik) belirlemek ve danışmanlık için kültür yapılması
- Aile kültürü beklemek isterse terminasyon için kültürün beklenmesi

Yaklaşım önerileri

- 15 hafta ve sonrasında amniyosentez yapılması
- FISH veya QF-PCR ile cff-DNA sonucunun hızlı teyidi
- Hızlı testler sonucu teyid ederse terminasyon
- Hastalığın tipini (Translokasyonlu, regüler, mozaik) belirlemek ve danışmanlık için kültür yapılması
- Aile kültürü beklemek isterse terminasyon için kültürün beklenmesi

Yaklaşım önerileri

- Her pozitif vakada ultrason ile hastalığın bulgularının araştırılması
- Mozaisizm düşündüren invaziv işlem sonuçlarında kültür sonucunun beklenmesi
- CVS ile durumun netleşmemesi halinde amniyosentez önerilmesi

Test normal çıktı, sonradan ultrason bulguları tespit edildi.

- İnvaziv girişim şarttır.

Kontrendikasyonları

- Genetik hastalık kuşkusu yaratan pozitif aile öyküsü
- NT artışı
- Biyokimyasal tarama testlerinde çok yüksek risk (1/10?- 1/50?)
- Parsiyel mol

Ana sorun

- Doğrudan “müşteriye” satış
- Medya reklamları
- Her derde deva olarak sunulması
- Tek gen hastalıklarında bile önerilmesi

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

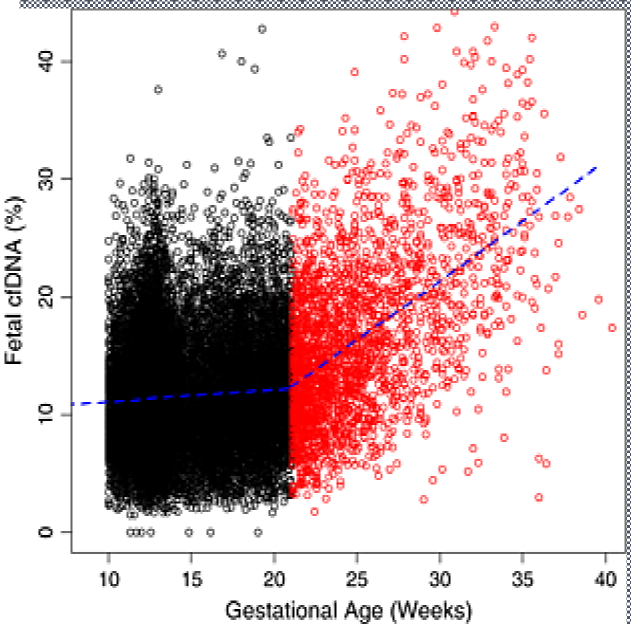
Sonuç verilemeyen test oranı nedir?
Klinik önemi?
Nedenleri?
Bu vakalarda ne yapılmalı?

14/IM3

Sonuç verilemeyen vakalar

- Kan alım ve trasport sorunları
  (yetersiz miktar, hemoliz, yanlış etiketlendirme, gecikme)
- Düşük fetal fraksiyon(genellikle %4 altı)
- Analiz sorunları (DNA ekstrasyonu, ampifilikasyon sekanslama).
- %4,1 (0.8% to 12.6%)

Rink and Norton, Seminars in Perinatology 2015



Wang E et al. Prenatal Diagnosis 2013

Obezite

Table 1 Proportion of pregnancies with ≥4% fetal cell-free DNA on first blood draw

Maternal weight bin (kg)	n	Pregnancies with ≥4% fetal cell-free DNA (%)
<50	809	99.8
≥50 <60	4825	99.6
≥60 <70	6224	99.2
≥70 <80	4313	98.8
≥80 <90	2574	98.2
≥90 <100	1608	96.3
≥100 <110	921	93.9
≥110 <120	508	89.8
≥120 <130	298	87.9
≥130 <140	172	81.4
≥140	132	71.2

Table 2 Proportion of women with ≥4% fetal cfDNA on repeat blood draw

Maternal weight bin (kg)	# ≥4% fetal on 2nd draw	# of total patients	% with ≥4% on 2nd draw
<90	30	42	71.4%
≥90 <100	14	23	60.9%
≥100 <110	13	22	59.1%
≥110 <120	10	17	58.8%
≥120 <130	2	7	28.6%
≥130 <140	5	13	38.5%
≥140	2	11	18.2%

Wang E et al. Prenatal Diagnosis 2013

Sonuç verememe (No call) oranları

	Sonuç verememe(No call) oranları
Massive Parallel Sequencing (MPS)	% 1.58
Chromosome Specific Sequencing (CSS)	% 3.56
SNP-Based Analysis	% 6.39
Total	% 2.06

Yaron Y. Prenatal Diagnosis 2016

Sonuç verilemeyen vakalar

- Sonuç alınamayan vakalarda aneuploidi daha fazla (%2.7-23)

Norton ME,et al., NEJM 2015

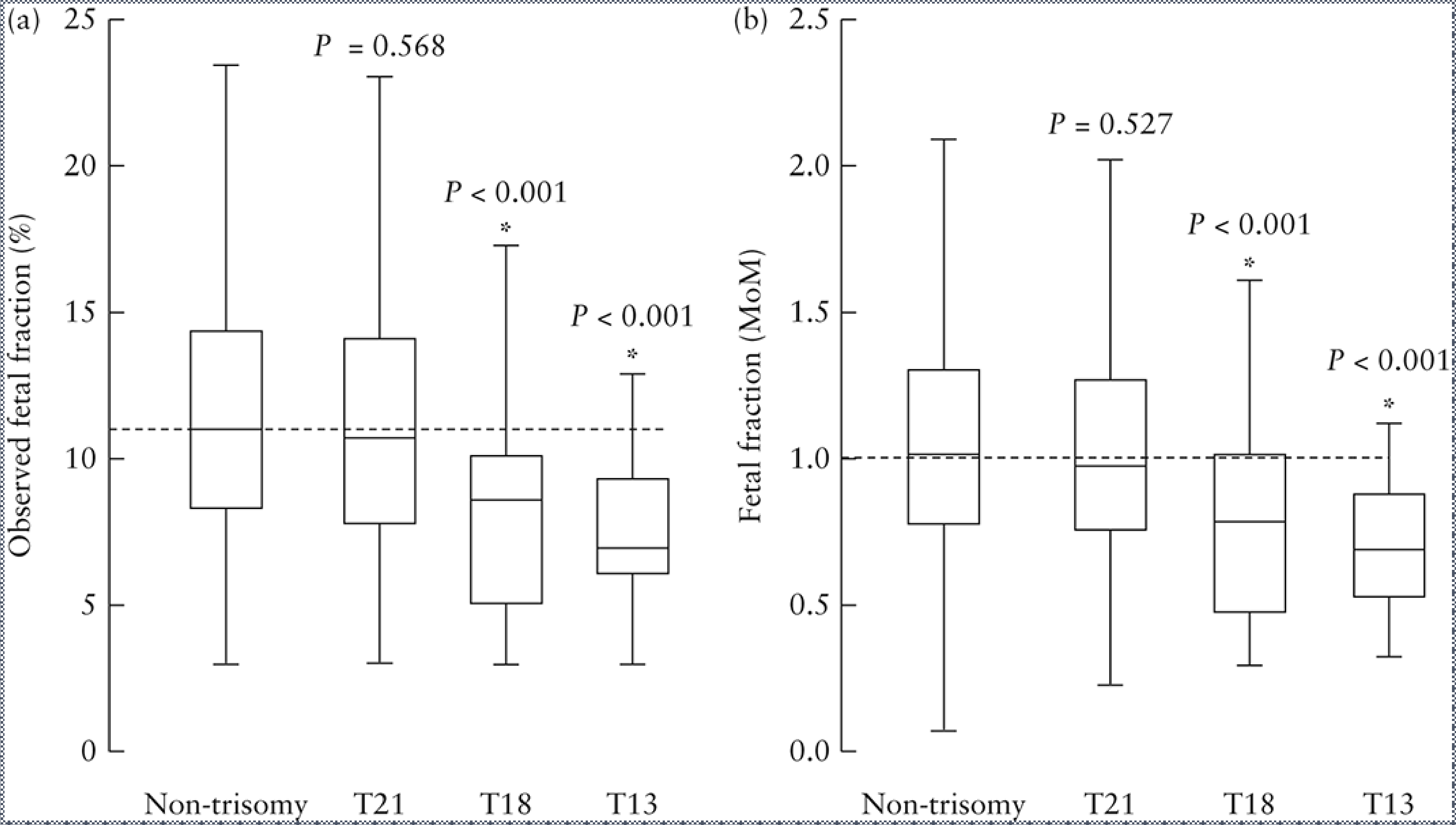
- 2,5 kat fazla aneuplodi.

Pergament E et al., Obstet Gynecol 2014

- Fetal trizomy 18, 13, monozomy X ve triploidide fetal fraksiyon düşük.

Palomaki GE, et al. Prenat Diagnosis 2015

Aneuploidilerde fetal fraksiyon



Revello et al., Ultrasound in Obstetrics & Gynecology 2016

Sonuç alınamayan vakalarda yapılması gerekenler

- Laboratuvarlar fetal fraksiyon oranını bildirmeli,
- Sonuç alınamama sebebi, laboratuvar tarafından açıklanmalı,
- Tekrar örnek alma (%50-60 sonuç alınmakda),
- Eğer yapılmadı ise 1. yada 2. tarama testi,
- Detaylı USG,
- Tanısal testler,
- Uygun gebelik haftasında alınıp fetal fraksiyon düşük ise tanısal test,
- Obez ise diğer tarama testleri önerilebilir.

ACOG 2016
ACMG 2016

Sonuç alınamayan vakalarda yapılması gerekenler

- SNP ve Array bazlı testlerde UPD yada Parental akrabalık, sonuç verememeye sebep olabilir.
- Konsültasyon ve/veya tanısal test

ACMG 2016

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

İkizlerde, "vanising-kaybolan" ikizde, ovum donasyonununda ve düşük molekul ağırlıklı heparin kullanımımında cfDNA yapalım mı? Hangi test yöntemini kullanalım? İkizlerde etkinliği?

15/FA4

İkizlerde cf DNA?

Kullanılabilir;

-Sonuç alamama oranı yüksek (%5,6, tekil %1,7)

-Yakalama (DR) oranı daha düşük

-Düşük fetal fraksiyon oranı (%11,7, tekil %8,7)

-IVF ve maternal kilo bağımsız risk faktörleri

-Her iki fetustan cfDNA

-Monozigotik- dizigotik

-Targeted sequencing

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 249–266
Published online 1 February 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). **DOI:** 10.1002/uog.14791

Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis

M. M. GIL*, M. S. QUEZADA*, R. REVELLO*, R. AKOLEKAR*† and K. H. NICOLAIDES*†

**Harris Birthbright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK; †Fetal Medicine Unit, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK*

İkizlerde Trizomi 21;

DR, %93,7

FPR; %0,23

Vanishing twin cfDNA?

% 5-36 ikiz; vanishing

-Non viable fetusun fetoplasental artıklarındaki hücrelerin apoptozu cfDNA sonuçlarını etkileyebilir

-Diskordant sonuçların % 15 inde 'vanishing twin' var

-Fetal kayıptan en az 6-8 hafta sonrasına kadar cfDNA görülür

IVF- cfDNA, sonuç alamama oranları

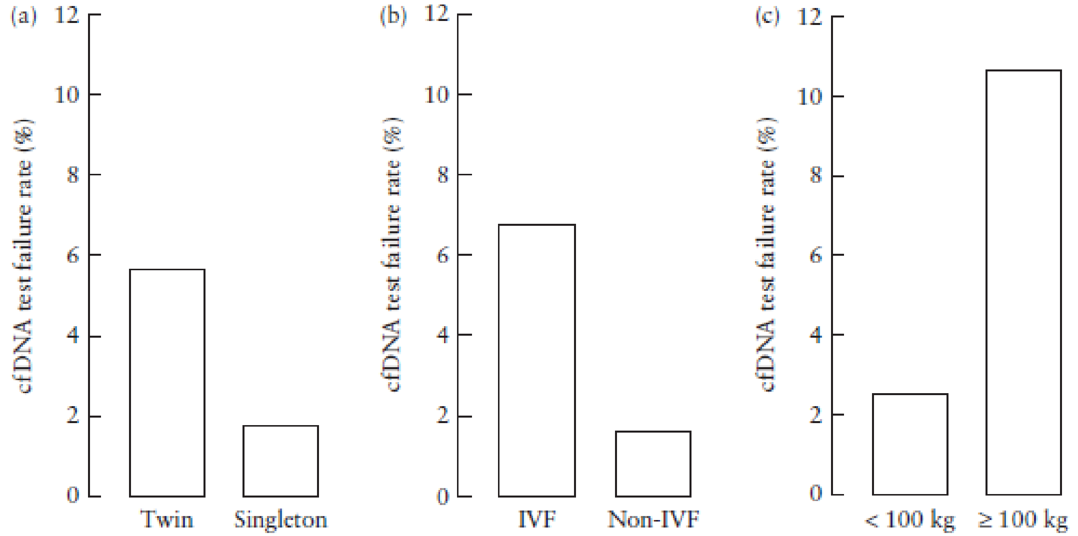


Figure 2 Relationship of maternal and pregnancy characteristics (pregnancy status (a), mode of conception (b) and maternal weight (c)) with failure of cell-free DNA (cfDNA) testing of maternal blood for aneuploidies. IVF, *in-vitro* fertilization.

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 61–66
Published online 4 December 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). **DOI:** 10.1002/uog.14690

Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies

E. BEVILACQUA*, M. M. GIL†, K. H. NICOLAIDES†, E. ORDOÑEZ‡, V. CIRIGLIANO‡, H. DIERICKX§, P. J. WILLEMS§ and J. C. JANI*

cfDNA?

-Test performansı IVF gebeliklerinde etkileniyor, (küçük plasenta, apopitoz)

- Ovum donasyonu fark yaratmıyor

cfDNA - LMWH

-C-G (Cytozin-Guanin oranı), %42 den %44'e çıkıyor,

- Test başarısızlığı, sonuçlar etkileyebileceğine dair bildiriler,

-Örnek alımı verilecek dozdan hemen önce

İkizlerde, "vanisıng-kaybolan" ikizde, ovum donasyonunda ve düşük molekul ağırlıklı heparin kullanımımında cfDNA yapalım mı? Hangi test yöntemini kullanalım? İkizlerde etkinliği?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA negatif/düşük risk grubunda,
USG: Majör anomali var, ne yapmalıyız?

16/ZŞ5

Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 41: 247–261
Published online 24 January 2013 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.12364

Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21

M. AGATHOKLEOUS*, P. CHAVEEVA*, L. C. Y. POON*, P. KOSINSKI* and K. H. NICOLAIDES*†

- İntrakardiak ekojen fokus
- Ventrikülomegali
- Nukal fold (>6 mm)
- Ekojen barsak
- Hidronefroz
- Kısa humerus
- Kısa femur
- ARSA
- Nazal kemik kısalığı / yokluğu

Ultrasound Obstet Gynecol 2013; 41: 247–261
Published online 24 January 2013 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.12364

Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21

M. AGATHOKLEOUS*, P. CHAVEEVA*, L. C. Y. POON*, P. KOSINSKI* and K. H. NICOLAIDES*†

Marker	*LR+ (95% CI)*	*LR− (95% CI)*	*LR isolated marker**
Intracardiac echogenic focus	5.83 (5.02–6.77)	0.80 (0.75–0.86)	0.95
Ventriculomegaly	27.52 (13.61–55.68)	0.94 (0.91–0.98)	3.81
Increased nuchal fold	23.30 (14.35–37.83)	0.80 (0.74–0.85)	3.79
Echogenic bowel	11.44 (9.05–14.47)	0.90 (0.86–0.94)	1.65
Mild hydronephrosis	7.63 (6.11–9.51)	0.92 (0.89–0.96)	1.08
Short humerus	4.81 (3.49–6.62)	0.74 (0.63–0.88)	0.78
Short femur	3.72 (2.79–4.97)	0.80 (0.73–0.88)	0.61
ARSA	21.48 (11.48–40.19)	0.71 (0.57–0.88)	3.94
Absent or hypoplastic NB	23.27 (14.23–38.06)	0.46 (0.36–0.58)	6.58

*Derived by multiplying the positive LR for the given marker by the negative LR of each of all other markers, except for short humerus. ARSA, aberrant right subclavian artery; NB, nasal bone.

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 46: 266–276
Published online 6 August 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14774

Aberrant right subclavian artery in fetuses with Down syndrome: a systematic review and meta-analysis

C. SCALA*, U. LEONE ROBERTI MAGGIORE†, M. CANDIANI†, P. L. VENTURINI*, S. FERRERO*, T. GRECO‡ and P. CAVORETTO†

ARSA - prevalans

Down sendromlu fetuslarda % 23.6

Euploid fetuslarda % 1.02

ARSA olgularının en azından % 20'de ek anomali (+)

İzole ARSA olgularında fetal karyotipleme için data yetersiz

Background risk yüksekse veya ek bulgu varsa karyotip +

22q11 delesyon araştırılmalı

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA yapılmış ve negatif/düşük risk grubunda; Sonrasında fetal USG: "soft marker" - belirteçler var, ekojen odak, CPC, ARSA, pyelektazi, görece kısa femur-humerus, ekojen bağırsak. Veya artmış NF Bunların bir tanesi veya iki tanesi var, ne yapmalıyız?

17/IM4

	Duyarlılık	Yanlış pozitiflik	Pozitiv olabilirlik oranı (+ LHR)	Negativ olabilirlik oranı (- LHR)
Trizomi 21	99,2	0,07	1417	1/125
Trizomi 18	96,8	0,09	1076	1/31
Trizomi 13	92	0,09	1022	1/12

Gil MM. Ultrasound Obstet Gynecol 2016

Trizomi 21

- Sens: 99,2%
- FPR: 0,07%
- + LHR: 1417
- 1/-LHR: 125

Bazal risk	+LHR	-LHR
1:100.000	1/71 (1,4%)	1/12.500.000
1:10.000	1/8 (%12,4)	1/1.250.000
1:1000	1/1,7(%58,6)	1/125.000
1:500	1/1,4(%73,9)	1:62.500
1:100	1/1,07(%93,4)	1/12.500
1:10	1/1.007(%99,3)	1/1250
1:2	1/1.001 (%99,9)	1/250

LR+ = sensitivity / (1-specificity) = (a/(a+c)) / (b/(b+d))
LR- = (1-sensitivity) / specificity = (c/(a+c)) / (d/(b+d))
Post-test odds = pre-test odds * LR
Pre-test odds = pre-test probability / (1-pre-test probability)
Post-test probability = post-test odds / (post test odds+1)

Gil MM, ISUOG 2016

secure.itswebs.com/nsgc/niptcalculator/index.html

Bu sayfayı yeniden yükle Apple Yahoo! Google Maps YouTube Wikipedia News Popular 3d vaginal medical...

yfanın dili İngilizce Çevrilmesini istiyor musunuz? Hayır Çevir İngilizce dilini asla çevirme Seçenekler

National Society of Genetic Counselors

NIPT/Cell Free DNA Screening Predictive Value Calculator

Perinatal QUALITY .org

Overview | **PPV Calculator** | NPV Calculator | Definitions | FAQs | Resources | References

Please select the chromosome condition and maternal age at the time of EDD.
Alternatively you choose to enter Prevalence directly.

Trisomy 21 ▼   35 ▼

The estimated prevalence of Trisomy 21 at 16 weeks gestation for women who are 35 at EDD is 1 in 296. Where does this number come from? See the FAQs from the menu above for details.

Sensitivity: 99,2

Specificity: 99,91

The default performance metrics for Trisomy 21 are set at a sensitivity of 99.2 and specificity of 99.91 based on the weighted and pooled data from a meta-analysis by Gil et al (2015). The user may wish to change these inputs to reflect the performance statistics provided by the referral laboratory.

Calculate   Clear

İkinci trimester ultrasonografik markırlar

	DR (95% CI) (%)	FPR (95% CI) (%)	LR+ (95% CI)	LR– (95% CI)	LR izole markır
Intrakardiyak ekojenic fokus	24.4 (20.9–28.2)	3.9 (3.4–4.5)	5.83 (5.02–6.77)	0.80 (0.75–0.86)	0.95
Ventrikülomegali	7.5 (4.2–12.9)	0.2 (0.1–0.4)	27.52 (13.61–55.68)	0.94 (0.91–0.98)	3.81
Artmış nukal fold	26.0 (20.3–32.9)	1.0 (0.5–1.9)	23.30 (14.35–37.83)	0.80 (0.74–0.85)	3.79
Ekojenik bağırsak	16.7 (13.4–20.7)	1.1 (0.8–1.5)	11.44 (9.05–14.47)	0.90 (0.86–0.94)	1.65
Hafif hidronefroz	13.9 (11.2–17.2)	1.7 (1.4–2.0)	7.63 (6.11–9.51)	0.92 (0.89–0.96)	1.08
Kısa humerus	30.3 (17.1–47.9)	4.6 (2.8–7.4)	4.81 (3.49–6.62)	0.74 (0.63–0.88)	0.78
Kısa femur	27.7 (19.3–38.1)	6.4 (4.7–8.8)	3.72 (2.79–4.97)	0.80 (0.73–0.88)	0.61
ARSA	30.7 (17.8–47.4)	1.5 (1.0–2.1)	21.48 (11.48–40.19)	0.71 (0.57–0.88)	3.94
Nazal kemik yokluğu yada hipoplazisi	59.8 (48.9–69.9)	2.8 (1.9–4.0)	23.27 (14.23–38.06)	0.46 (0.36–0.58)	6.58

Agathokleous M et al., Ultrasound Obstet Gynecol 2013

cfDNA yapılmış ve negatif/düşük risk grubunda; Sonrasında fetal USG: "soft marker" - belirteçler var, ekojen odak, CPC, ARSA, pyelektazi, görece kısa femur-humerus, ekojen bağırsak. Veya artmış NF Bunların bir tanesi veya iki tanesi var, ne yapmalıyız?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

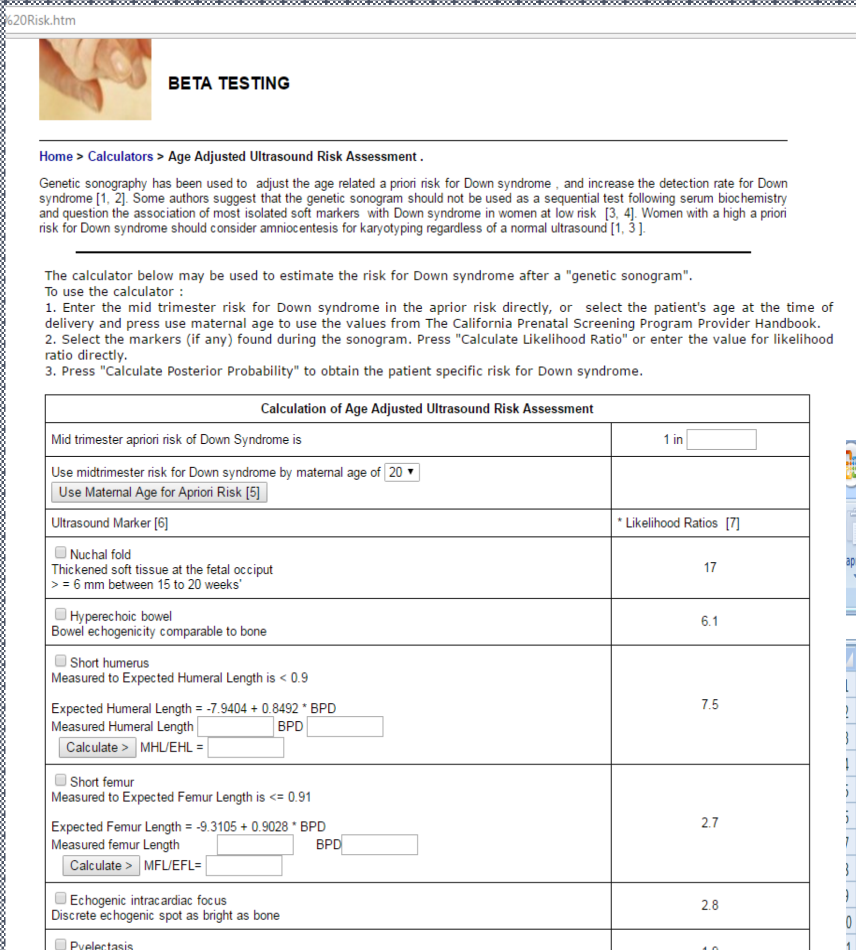
Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Fetal USG: “soft marker”- belirteçler var, ekojen odak, CPC, ARSA, pyelektazi, görece kısa femur-humerus, ekojen bağırsak. Bunların bir tanesi var veya iki tanesi var.

Veya artmış NF

Ne yapmalıyız? cfDNA mı? AS-karyotip mi?

18/IM5



%20Risk.htm

BETA TESTING

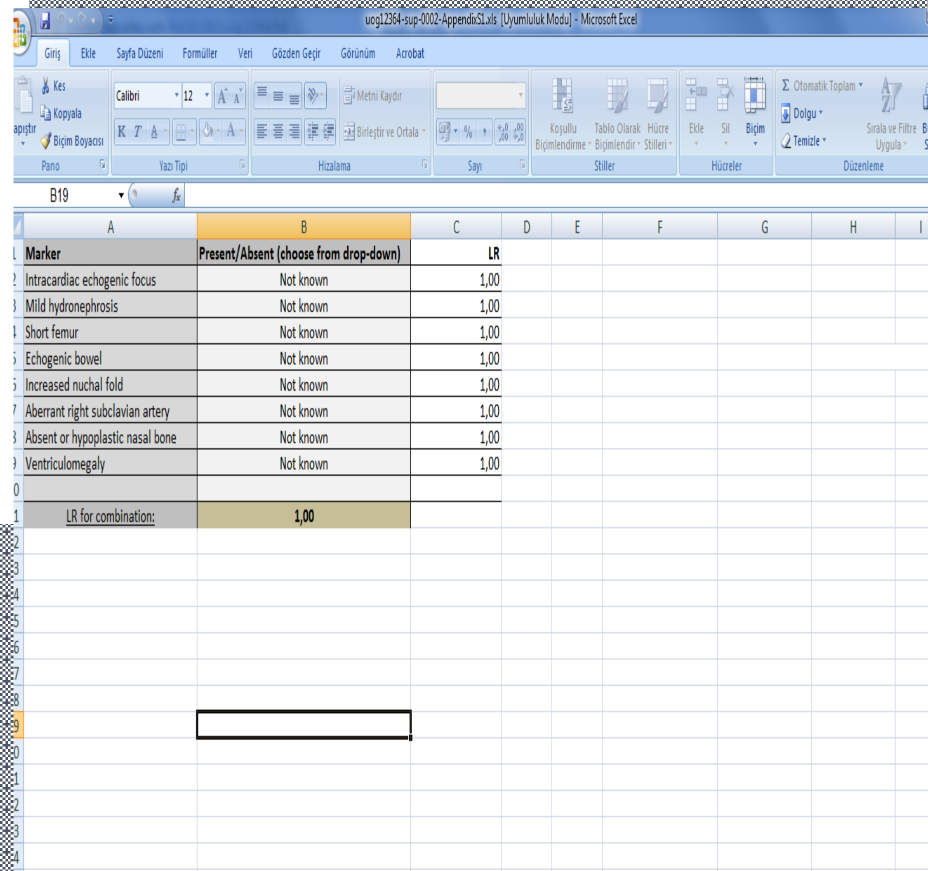
Home > Calculators > Age Adjusted Ultrasound Risk Assessment .

Genetic sonography has been used to adjust the age related a priori risk for Down syndrome , and increase the detection rate for Down syndrome [1, 2]. Some authors suggest that the genetic sonogram should not be used as a sequential test following serum biochemistry and question the association of most isolated soft markers with Down syndrome in women at low risk [3, 4]. Women with a high a priori risk for Down syndrome should consider amniocentesis for karyotyping regardless of a normal ultrasound [1, 3].

The calculator below may be used to estimate the risk for Down syndrome after a "genetic sonogram".
To use the calculator :
1. Enter the mid trimester risk for Down syndrome in the aprior risk directly, or select the patient's age at the time of delivery and press use maternal age to use the values from The California Prenatal Screening Program Provider Handbook.
2. Select the markers (if any) found during the sonogram. Press "Calculate Likelihood Ratio" or enter the value for likelihood ratio directly.
3. Press "Calculate Posterior Probability" to obtain the patient specific risk for Down syndrome.

Calculation of Age Adjusted Ultrasound Risk Assessment	
Mid trimester apriori risk of Down Syndrome is	1 in
Use midtrimester risk for Down syndrome by maternal age of 20 ▾ Use Maternal Age for Apriori Risk [5]	
Ultrasound Marker [6]	* Likelihood Ratios [7]
Nuchal fold Thickened soft tissue at the fetal occiput > = 6 mm between 15 to 20 weeks'	17
Hyperechoic bowel Bowel echogenicity comparable to bone	6.1
Short humerus Measured to Expected Humeral Length is < 0.9 Expected Humeral Length = -7.9404 + 0.8492 * BPD Measured Humeral Length BPD Calculate > MHL/EHL =	7.5
Short femur Measured to Expected Femur Length is <= 0.91 Expected Femur Length = -9.3105 + 0.9028 * BPD Measured femur Length BPD Calculate > MFL/EFL=	2.7
Echogenic intracardiac focus Discrete echogenic spot as bright as bone	2.8
Pyelectasis	1.9

http://perinatology.com/calculators/Down%20Syndromee%20Revised%20Risk.ht



uog12364-sup-0002-AppendixS1.xls [Uyumluluk Modu] - Microsoft Excel

Giriş Ekle Sayfa Düzeni Formüller Veri Gözden Geçir Görünüm Acrobat

B19

	A	B	C
1	Marker	Present/Absent (choose from drop-down)	LR
2	Intracardiac echogenic focus	Not known	1,00
3	Mild hydronephrosis	Not known	1,00
4	Short femur	Not known	1,00
5	Echogenic bowel	Not known	1,00
6	Increased nuchal fold	Not known	1,00
7	Aberrant right subclavian artery	Not known	1,00
8	Absent or hypoplastic nasal bone	Not known	1,00
9	Ventriculomegaly	Not known	1,00
10			
11	LR for combination:	1,00	

http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/uog.12364/asset/supinfo/uog12364-sup-0002-AppendixS1.xls?v=1&s=2c3d7d64b93d99dd665c355ac0ff687eda3bc708

Fetal USG: “soft marker”-belirteçler var, ekojen odak, CPC, ARSA, pyelektazi, görece kısa femur-humerus, ekojen bağırsak. Bunların bir tanesi var veya iki tanesi var.
Veya artmış NF
Ne yapmalıyız? cfDNA mı? AS-karyotip mi?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

CVS / AS-karyotip uygulmasında tespit edilen ancak cfDNA test ile hangi kromozom anomalilerini/ delesyon veya duplikasyonu tespit etmek mümkün değil?

19/SC3

Cf-DNA etki alanı

- Trizomi 21 ★★★★
- Trizomi 13-18 ★★
- Seks kromozomları ★
- Mikrodelesyon/ duplikasyon (sadece Shutgun ile mümkün) ★
- Rh tespiti (Özel istem gerekir) ★★★
- Tek gen hastalıkları (Dominant hastalıklarda, babadan kalıtılıyorsa, özel tasarımla) ★★★

Cf-DNA etki alanı

- Triploidi (SNP bazlı yöntemlerde tespit edilebilir) ★★★
- Mozaisizm ★

Cf-DNA invaziv işlemin yakaladığı neleri “sıklıkla” yakalayamaz?

- Trizomi 13, 18, 21, seks kromozom dışı sayısal anomaliler (Sadece bazılarını shotgun yöntemi)
- Dengeli translokasyonları ve inversiyonları
- Tüm genomdaki delesyonları/duplikasyonları
- Mozaik sayısal değişiklikleri
- CVS sayesinde yakalanan uniparental dizomileri

Cf-DNA genetik anamnezin yakaladığı neleri yakalayamaz?

- Tek gen hastalıklarını
- Multifaktöriyel hastalıkları
- Mental retardasyon ve anomalilere neden olan çok sayıda hastalığı

Genetik Danışma

- PROGNOSTIC IMPORTANCE OF GENETIC ANAMNESIS BEFORE PRENATAL DIAGNOSIS World Congress of Perinatal Medicine for Developing Countries
- Biyokimyasal tarama testlerinde yüksek riski olan ailelerde genetik anamnez, hastaların %15'inde ek genetik test, test çeşidinin değiştirilmesi, farklı hastalık tespiti gibi yan faydalar sağlıyor.

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Mikrodelesyon / Mikroduplikasyon sendromlarını (MDS) tarayalım mı? Sensivite, spesifite, pozitif prediktif değer?

T21, T18 ve T13 için istenen cfDNA testinde ayrıca aynı anda bir çok MDS sendromunun çalışılması bir sorun mu? Girişim oranlarına etkisi?

20 ve 21 /SB3, SB4

Mikrodelesyon/duplikasyon için tarama?

- Literatürde çok tartışmalı.
- Yanlış pozitifler nedeniyle girişim hızı artacağından meslek kuruluşları desteklemiyor.
- Ancak tüm genom amplifikasyonu ile çalışan testler/firmalar bu değişimleri görebiliyor ve bunu kullanmak istiyor.

Prenatal Diagnosis 2015, 35, 1–5

Current controversies in prenatal diagnosis 1: should NIPT routinely include microdeletions/microduplications?†

Nancy C. Rose[1,2*‡], Peter Benn[3‡] and Aubrey Milunsky[4,5‡]

[1]Intermountain Healthcare, Salt Lake City, UT, USA
[2]University of Utah, Salt Lake City, UT, USA
[3]University of Connecticut Health Center, Farmington, CT, USA
[4]Center for Human Genetics, Cambridge, MA, USA
[5]Tufts University School of Medicine, Boston, MA, USA
*Correspondence to: Nancy C. Rose. E-mail: nancy.rose@imail.org; nancy.rose@hsc.utah.edu
†This written debate summarizes the oral presentations made at the 2015 International Society for Prenatal Diagnosis meeting in Washington, DC, U
It does not necessarily reflect the personal opinions of each of the authors.
‡Drs. Rose, Benn, and Milunsky contributed equally to this work.

OBSTETRICS

Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes

Ronald J. Wapner, MD; Joshua E. Babiarz, PhD; Brynn Levy, MSc (Med), PhD; Melissa Stosic, MS; Bernhard Zimmermann, PhD; Styrmir Sigurjonsson, PhD; Nicholas Wayham, BS; Allison Ryan, PhD; Milena Banjevic, PhD; Phil Lacroute, PhD; Jing Hu, PhD; Megan P. Hall, PhD; Zachary Demko, PhD; Asim Siddiqui, PhD; Matthew Rabinowitz, PhD; Susan J. Gross, MD; Matthew Hill, PhD; Peter Benn, DSc

OBJECTIVE: The purpose of this study was to estimate the performance of a single-nucleotide polymorphism (SNP)—based noninvasive prenatal test for 5 microdeletion syndromes.

STUDY DESIGN: Four hundred sixty-nine samples (358 plasma samples from pregnant women, 111 artificial plasma mixtures) were amplified with the use of a massively multiplexed polymerase chain reaction, sequenced, and analyzed with the use of the Next-generation Aneuploidy Test Using SNPs algorithm for the presence or absence of deletions of 22q11.2, 1p36, distal 5p, and the Prader-Willi/Angelman region.

RESULTS: Detection rates were 97.8% for a 22q11.2 deletion (45/46) and 100% for Prader-Willi (15/15), Angelman (21/21), 1p36 deletion (1/1), and cri-du-chat syndromes (24/24). False-positive rates were 0.76% for 22q11.2 deletion syndrome (3/397) and 0.24% for cri-du-chat syndrome (1/419). No false positives occurred for Prader-Willi (0/428), Angelman (0/442), or 1p36 deletion syndromes (0/422).

CONCLUSION: SNP-based noninvasive prenatal microdeletion screening is highly accurate. Because clinically relevant microdeletions and duplications occur in >1% of pregnancies, regardless of maternal age, noninvasive screening for the general pregnant population should be considered.

Key words: microdeletion, noninvasive prenatal testing, single-nucleotide polymorphism

Cite this article as: Wapner RJ, Babiarz JE, Levy B, et al. Expanding the scope of noninvasive prenatal testing: detection of fetal microdeletion syndromes. Am J Obstet Gynecol 2015;212:332.e1-9.

cf-DNA'da Mikrodelesyon/duplikasyon için risk saptanan olgular n:4

1p del n:1
Yanlış Pozitif

22q11.2 del n:2
Yanlış Pozitif

Klasik risk faktörü yok
USG Normal

AS;
Karyotip Normal
FISH Normal
750 K Mikroarray Normal

2 "ileri anne yaşı"
USG Normal

CVS;
DP+HK Normal
FISH Normal
750 K Mikroarray Normal

8q+ n:1
Gerçek Pozitif

Klasik risk faktörü yok**
AS
aCGH 180K 46,8q+.arr8q22.3q23.1 x3 (4 Mb dup *de novo*)

Mikrodelesyon / Mikroduplikasyon sendromlarını (MDS) tarayalım mı? Sensivite, spesifite, pozitif prediktif değer?

T21, T18 ve T13 için istenen cfDNA testinde ayrıca aynı anda bir çok MDS sendromunun çalışılması bir sorun mu? Girişim oranlarına etkisi?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

Yaş 40 + ARSA, timus normal.
cfDNA testi uygun mu?
22q11 del için cfDNA yeterli mi? yoksa CVS/AS ile FISH, microrarray?

22/SC4

DiGeorge ve Cf-DNA

- Her tür konotorunkal anomalide DiGeorge
- Supravalvular aortik stenozda Williams sendromu
- Kompleks kardiak anomalilerde
- Kalp anomalisi + ek anomalide kromozom analizi/ gerekirse mikroarray/ gerekirse ekzom gibi panel testler gerekir.
- Bu gebelerde invaziv işlem endikasyonu vardır.

Tekli ve kombine anomalilerde

- Standart bir test protokolü yoktur.
- Bulguların kombinasyonuna göre test akışı planlanır.
- Yakın zamanlarda array- ekzom yada mikroarray- çoklu gen panel testleri uygulamaya daha fazla girmiştir.
- Şu an bu hastalarda Cf-DNA nın yeri yoktur.

Yaş 40 + ARSA, timus normal.
cfDNA testi uygun mu?
22q11 del için cfDNA yeterli mi? yoksa CVS/AS ile FISH, microrarray?

SORU VE YORUM

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA oranı ile preeklampsi, preterm doğum ve kötü perinatal sonuçlar arasında ilişki var mı? varsa bu ilişkinin klinik kullanımı mümkün mü?

23/FA5

cfDNA – preterm doğum

cfDNA fetal fraksiyon oranı ile pretem doğum arasında ilişki yok (< 34 hft, 34-37 hft, <37 hft),

-cfDNA, 1,004, 0,922, 0,946 mom

-Term doğum, 1,015 mom

Ultrasound Obstet Gynecol 2014
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). **DOI: 10.1002/uog.14666**
Fetal fraction of cell-free DNA in maternal plasma
in the prediction of spontaneous preterm delivery
M. S. QUEZADA, C. FRANCISCO, D. DUMITRASCU-BIRIS, K. H. NICOLAIDES and L. C. POON

cfDNA – preeklapmsi (< 34 hft öncesi doğum),

Genom Equivalent (GE)	Erken preeklampsi	Kontrol
11-13hft median total cfDNA	2104 GE	1590 GE
11-13 hft median Fetal fraction	% 6,8	% 8,7

Fark var ama, bu farklar mom'a çevrildiğinde anlamlı değil,

Ultrasound Obstet Gynecol 2014

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). **DOI: 10.1002/uog.14666**

Fetal fraction of cell-free DNA in maternal plasma in the prediction of spontaneous preterm delivery

M. S. QUEZADA, C. FRANCISCO, D. DUMITRASCU-BIRIS, K. H. NICOLAIDES and L. C. POON

cfDNA – preeklapmsi (< 34 hft öncesi doğum),

	Geç preeklampsi	Kontrol
20-24hft median fetal fraction cfDNA	% 8,2	% 9,6

Fark var ama, bu farklar mom'a çevrildiğinde anlamlı değil,

Ultrasound Obstet Gynecol 2014
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). **DOI: 10.1002/uog.14666**
Fetal fraction of cell-free DNA in maternal plasma in the prediction of spontaneous preterm delivery
M. S. QUEZADA, C. FRANCISCO, D. DUMITRASCU-BIRIS, K. H. NICOLAIDES and L. C. POON

cfDNA oranı; preeklampsi ve pretem doğumum prediksiyonunda klinik kullanımı faydalı değil

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu

cfDNA testinin günümüzde tek gen hastalıklarında kullanımı mümkün mü?

Gelecekte tek gen hastalıkları veya eksom / tüm gen çalışılması mümkün olacak mı?

24 ve 25/SC5, SC6

Tek gen hastalıkları

- Şu an sadece dominant hastalıklarda babadan kalıtılanlarda uygulanabilir.
- OD *de novo* örneğin Akondroplazi? Anne normal ise uygulanabilir. Ancak invaziv girişim endikedir.
- İleride ekzom sekanslama ya da tüm genom sekanslama ile dizi analizi mümkün. ANCAK!!

İŞTE GELECEK

- **NONINVASIVE WHOLE-GENOME SEQUENCING OF A HUMAN FETUS**
- **MoreSci Transl Med 6 June 2012: Vol. 4 no. 137 pp. 137ra76DOI:10.1126/scitranslmed.3004323**

Ekzom sekanslama

- Bir insanda ortalama 45.000 varyant tespit ediliyor.
- Bunlardan gerçekte 1-2 si mevcut klinikle ilişkili oluyor.
- İnsidental bulgular bir sorun
- EKZOM BİR TANI TESTİ DEĞİL BİR TARAMA TESTİDİR.
- % 2 yanlış pozitif oranı vardır.
- % 5 yanlış pozitif oranı vardır.
- Büyük delesyon ve duplikasyonları göstermez.
- Konfirmasyon şarttır.

Multigen paneller

- 200-4800 gen arası geni tarayan paneller var.
- Bunların test süresi daha kısa.
- Yanlış negatif-pozitif oranları ekzoma nispeten iyi
- Konfirmasyon şart
- Array ile kombinasyonu halinde konjenital prenatal anomalilerde % 50-70 arasında ayırıcı tanı sağladığına dair veriler var.
- İskelet anomalileri, multipl malformasyon sendromları, açıklanamayan IUGR gibi durumlarda kullanımı yaygınlaşacak.

Ekzom/ Multigen panelleri ve Mikroarray/Array-CGH'in sorunları

- Bazı değişikliklerin klinik anlamı anlaşılamıyor.
- Halen bu analizler yazılımlar değil kişiler tarafından yürütülüyor.
- Ekzom ve multigen panellerinde konfirmasyon şart. Bazen array de de şart
- Halen maliyetler yüksek ama anomalili bir çocuğun bakım masrafları kadar değil (Array 1500-2000 TL, ekzom 6000-8000 TL, multigen paneller 3500-4500 TL aralığında)
- Zaman alıcı testler (2-6 hafta)
- Ülkemizde kaba bir hesapla 3000 genetik uzmanına ihtiyaç var, şu an tüm kadro 700 civarında.

SORU ve YORUMLAR

cfDNA Panel: Sonuçlar

- cfDNA testi ileri tarama testi, duyarlılığı, özgüllüğü, pozitif ve negatif öngörü değerleri, I. ve II.trm. testlere göre yüksek, tanı testi değil, CVS-AS ile teyit edilmesi gerekiyor
- T21 için %99, T18 için %97, T13 için %91 duyarlılık...
- PPV %40-80 aralığında, NPV %99...
- İkizlerde %90-95 duyarlılık
- Ovum donasyonu ve ikizlerde SNP şu aşamada çalışmıyor (Monokoryoniklerde çalışır)

cfDNA Panel: Sonuçlar

- Majör anomali varsa ve NT>3.5 mm, CVS/AS
- Yüksek risk grubunda olası kullanım alanı
- Düşük risk grubunda şu aşamada önerilmiyor
- I. ve II. Trm. Tarama testlerine devam, ara risk grubunda ek çalışma, USG, cfDNA
- Fiyatlar uygulanabilir seviyeye düşerse rutin tarama testi olması bekleniyor

cfDNA Panel: Sonuçlar

- Şu aşamada cinsiyet kromozomları, 22q11 ve benzeri MDS'da önerilmiyor
- %1-3 sonuç veremiyor ki bu grup riskli grup olarak kabul edilmeli, ek çalışma yapılmalı
- >1/10 CVS/AS
- Ara grup nasıl olmalı: 1/500 (veya 1/1000) içersinde aileye seçenek olarak bahsedilmeli mi? – sınır değerler tartışılmakta...

cfDNA Paneli

Panel Başkanı: Ahmet Gül
Panel Üyeleri: Fuat Akercan, Seher Başaran, Serdar Ceylaner, İnanç Mendilcioğlu, Zeki Şahinoğlu