



## IL DUO TEST

Lo screening del primo trimestre di gravidanza è un esame entrato nella pratica clinica agli inizi del XXI secolo (**Muller F et al. First-trimester screening for Down syndrome in France combining fetal nuchal translucency measurement and biochemical markers. Prenat. Diagn. 2003;23(10): 833–6**). Lo screening viene eseguito tra le settimane di gestazioni 10+0 e 13+6 e mira a calcolare il rischio che il feto sia affetto da una delle maggiori anomalie cromosomiche: trisomie dei cromosomi 13, 18 e 21 (Sindromi di Patau, Edward e Down) e monosomia del cromosoma X (Sindrome di Turner).

Il punto di partenza dello screening consiste nello stimare il “rischio a priori”, ossia il rischio che la gravidanza che stiamo osservando sia affetta da una delle 4 aneuploidie fetali prima di eseguire qualsiasi test. Tale rischio è strettamente correlato all'età materna. A tale scopo, vengono usate equazioni specifiche per ogni aneuploidie:

1. **Morris J et al. Correction to maternal age-specific live birth prevalence of Down's syndrome. J Med Screen 2005; 12(4):202.**
2. **Spencer K and Nicolaides HK. A first trimester trisomy 13/trisomy 18 risk algorithm combining fetal nuchal translucency thickness, maternal serum free b-HCG and PAPP-A. Prenat Diagn 2002; 22(10):877-9.**
3. La Sindrome di Turner ha una prevalenza stimata di 1:5000, indipendentemente dall'età materna.

Questi valori sono quelli che si osservano a 40 settimane, ma il test viene eseguito molto prima. Di conseguenza, questi valori devono essere corretti, “allineandoli” all'età gestazionale al momento del test.

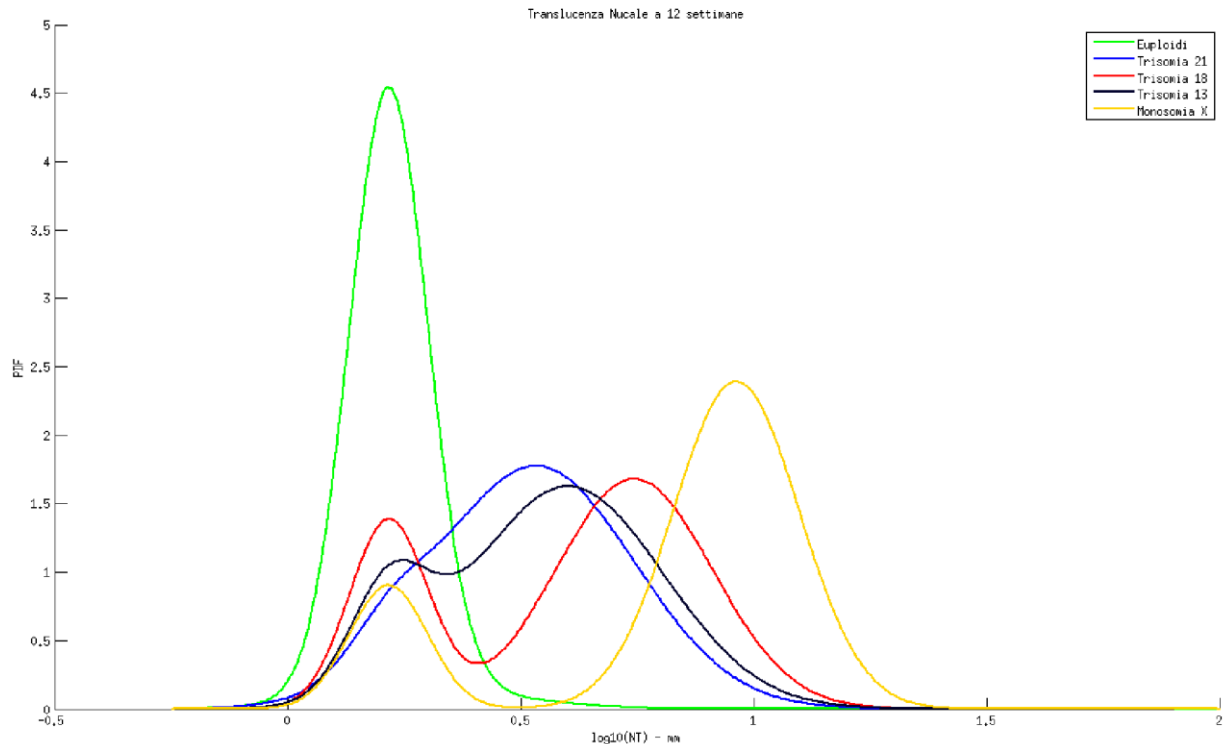
L'età gestazionale viene stimata utilizzando la lunghezza cranio-caudale (Crown to Rump Length). L'equazione utilizzata è quella raccomandata dalla UK fetal Anomaly Screening Program (FASP) descritta in: **Loughna P et al. Fetal size and dating: charts recommended for clinical obstetric practice. Ultrasound 2009; 17(3):161-7.**

Il parametro di correzione del rischio “a priori” per l'età gestazionale è calcolato secondo l'equazione descritta in: **Snijder et al. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. Ultrasound Obstet Gynecol. 1999;13(3):167-70.**

Se la gestante ha già avuto precedenti gravidanze con aneuploidie fetali, il rischio viene aumentato dello 0,75%, così come descritto in: **Wald NJ et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). J Med Screen. 2003;10(2):56-104.**

Il primo parametro ad essere osservato per il calcolo del rischio è la translucenza nucale. Il modello utilizzato è quello delle gaussiane miste descritto in: **Wright et al. A mixture model of nuchal translucency thickness in screening for chromosomal defects. Ultrasound Obstet Gynecol 2008;31(4):376-83.** Il modello prevede che la distribuzione delle translucenze nuchali abbiano due componenti: una dipendente dal CRL e l'altra

indipendente. Gli Euploidi avranno, praticamente, solo la componente dipendente, mentre gli Aneuploidi avranno una miscela delle due componenti, con una grossa preponderanza di frazione indipendente.



Da queste gaussiane si calcoleranno le funzioni di densità di probabilità (PDF) e i rapporti di verosimiglianza (Likelihood Ratio).

Successivamente si osservano i parametri biochimici PAPP-A e beta-HCG libera. Per entrambi i parametri andrà calcolato il valore mediano atteso per l'epoca gestazionale alla data del prelievo. Le equazioni usate sono descritte in: **Wright et al. First-trimester combined screening for trisomy 21 at 7-14 weeks gestation. Ultrasound Obstet Gynecol. 2010;36(4):404-11.**

I valori osservati saranno divisi per i valori attesi, ottenendo i Multipli della Mediana (MoM). I MoM devono essere corretti per alcuni parametri anamnestici della madre quali:

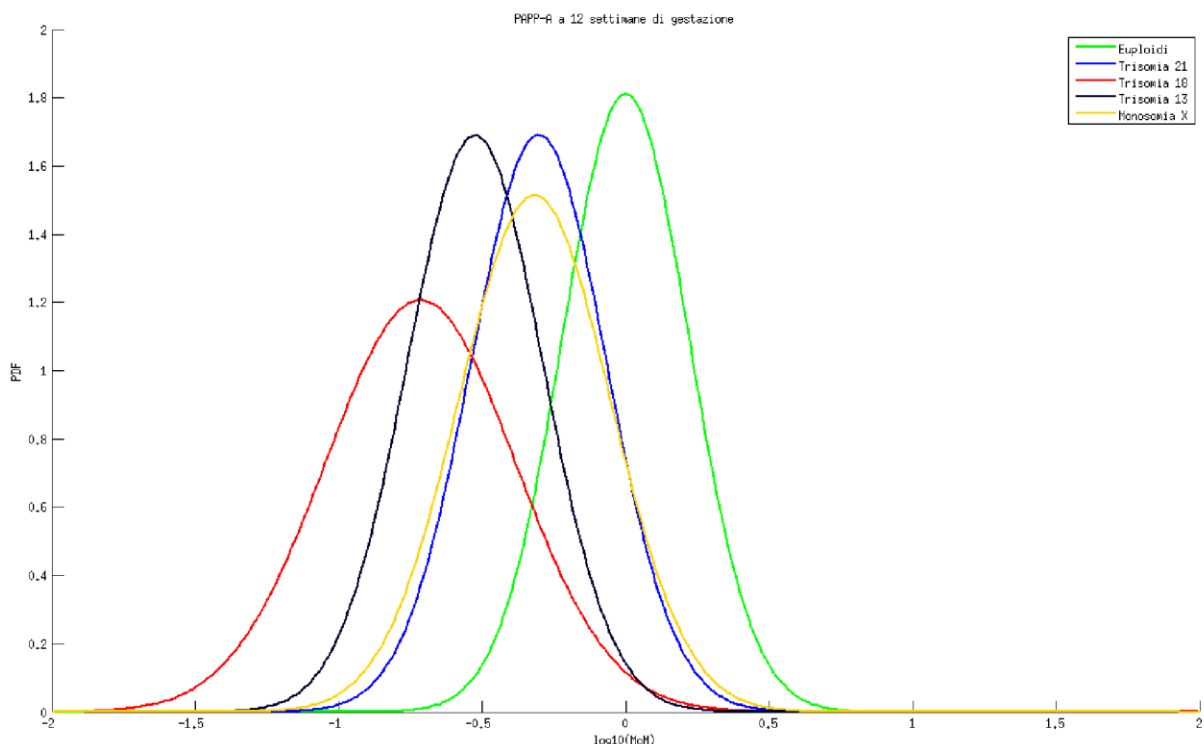
- il peso
- prima gravidanza
- diabete
- abitudine al fumo
- gravidanza esitata dopo fecondazione in vitro
- gravidanza gemellare
- macro-gruppo etnico di appartenenza della madre

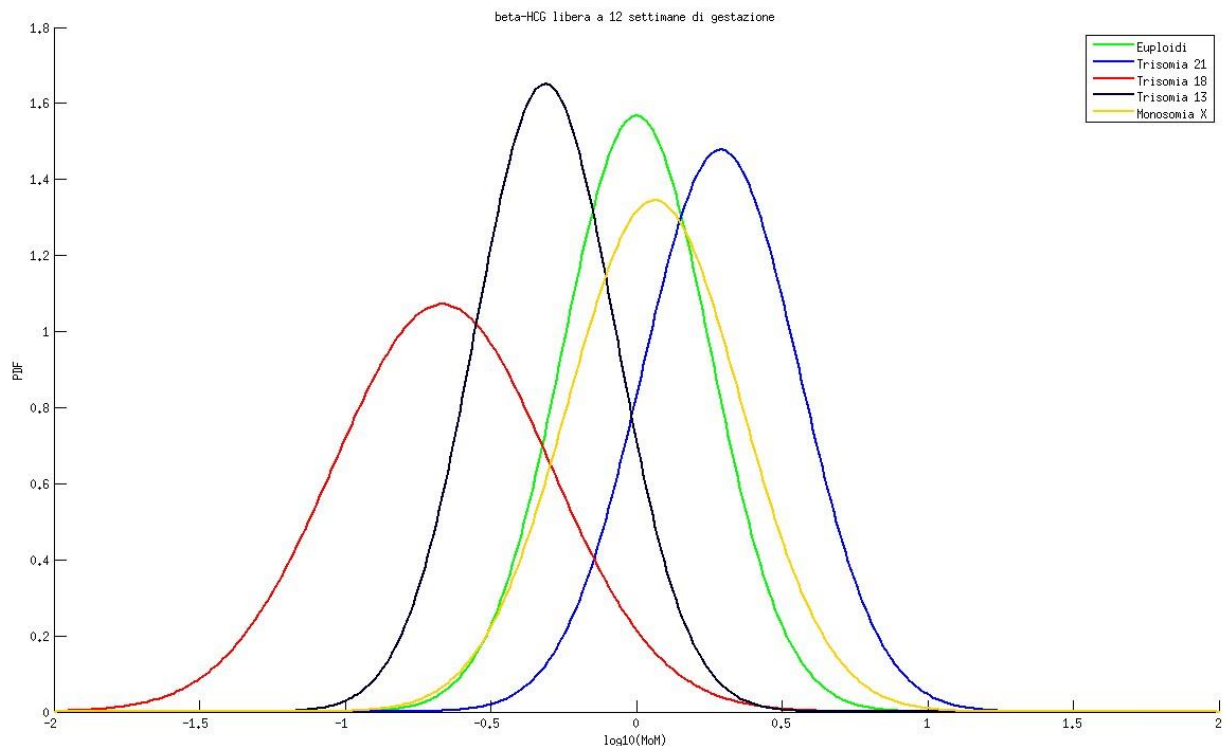
Le correzioni da apportare sono descritte nei lavori:

1. **Wright et al., First-trimester combined screening for trisomy 21 at 7-14 weeks gestation. Ultrasound Obstet Gynecol. 2010;36:404-11.**
2. **Spencer K. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester using free beta-hCG and PAPP-A, combined with fetal nuchal translucency thickness. Prenat Diagn. 2000;20(2):91-5.**
3. **Kagan et al. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics Ultrasound Obstet Gynecol. 2008 May;31(5):493-502.**

Dopo aver apportato queste correzioni, i due MoM subiscono un'operazione di "trimming" (se necessaria): il MoM di PAPP-A deve essere compreso tra 0,2 e 3,0; il MoM di betaHCG libera deve essere compreso tra 0,3 e 5,0. Questo significa che, ad esempio, se il MoM di PAPP-A fosse superiore a 3 verrebbe abbassato a 3. Conclusa questa operazione i MoM vengono convertiti in logaritmi e i  $\log_{10}(\text{MoM})$  hanno una distribuzione gaussiana come descritto in:

1. **Kagan et al. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free b-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. Hum Reprod. 2008;23(9):1968-75**
2. **Kagan et al. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. Ultrasound Obstet Gynecol. 2008;31(5):493-502**
3. **Pandya et al. Maternal serum placental growth factor in prospective screening for aneuploidies at 8-13 weeks' gestation. Fetal Diagn Ther. 2014;31(2):87-93**
4. **Wright et al. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing Fetal Diagn Ther. 2014;35(2):118-26**





I valori di questi ormoni non sono indipendenti tra di loro, ma s'influenzano l'un l'altro. Pertanto, in questo caso, i LR verranno calcolati utilizzando una funzione di densità di probabilità di una gaussiana multivariata, che tenga conto della matrice di correlazione che lega queste due variabili.

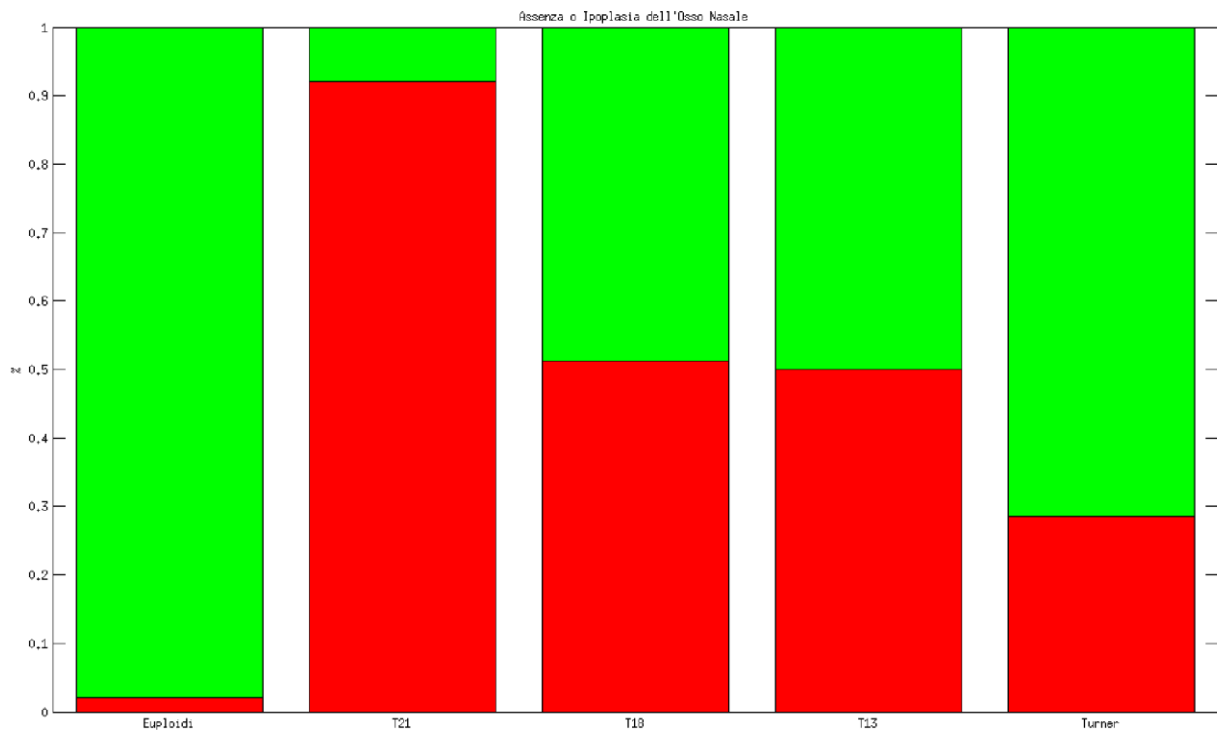
I LR ottenuti vengono moltiplicati tra di loro e vengono inseriti nella formula di Bayes per calcolare il rischio "a posteriori". Se questo rischio è superiore a 1:300 (0,333%) il test viene considerato positivo e si suggerirà l'esecuzione dell'amniocentesi.

## ADVANCED DUO TEST

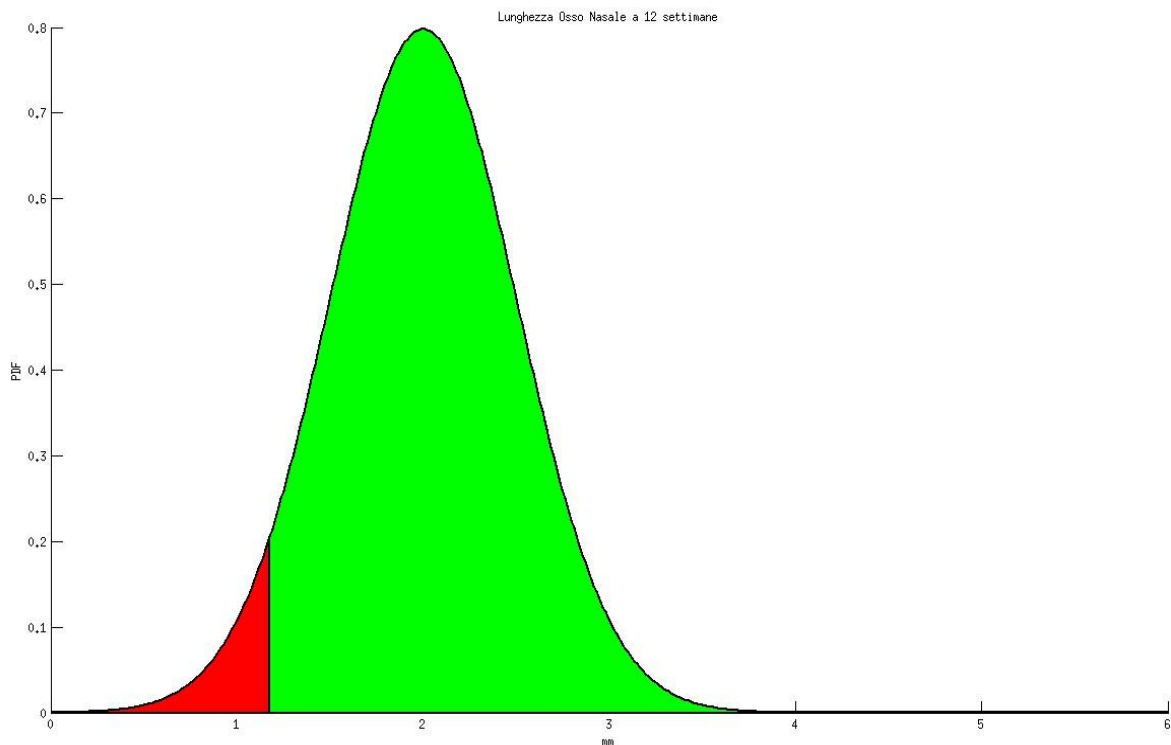
Nel corso degli anni, grazie al miglioramento delle strumentazioni e delle tecniche ecografiche, sono stati individuati nuovi segni suggestivi di aneuploidie fetali e che, opportunamente integrati con i precedenti, danno luogo ad Advanced Duo Test.

### Osso nasale

L'osso nasale è assente o ipoplasico in poco più del 2% dei feti euploidi, mentre la stessa condizione si ha nel 92% dei feti con trisomia 21; 50,8% dei feti con trisomia 18, 50% dei feti con trisomia 13 e 28,6% dei feti con monosomia X (**Nicolaides HK et al. Multicentrum study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results an estimation of the potential impact of individual risk-oriented two-stage first-trimester screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;25(3):221-6; Sepulveda et al. First-trimester sonographic findings in trisomy 18: a review of 53 cases. Prenat Diagn 2010; 30(3): 256-9; Kagan et al. Facial markers in second and third trimester fetuses with trisomies 18 and 13, Triploidy and Turner syndrome. Ultrasound Obstet Gynecol. 2014 Sep 1. doi: 10.1002/uog.14655. [Epub ahead of print]**)



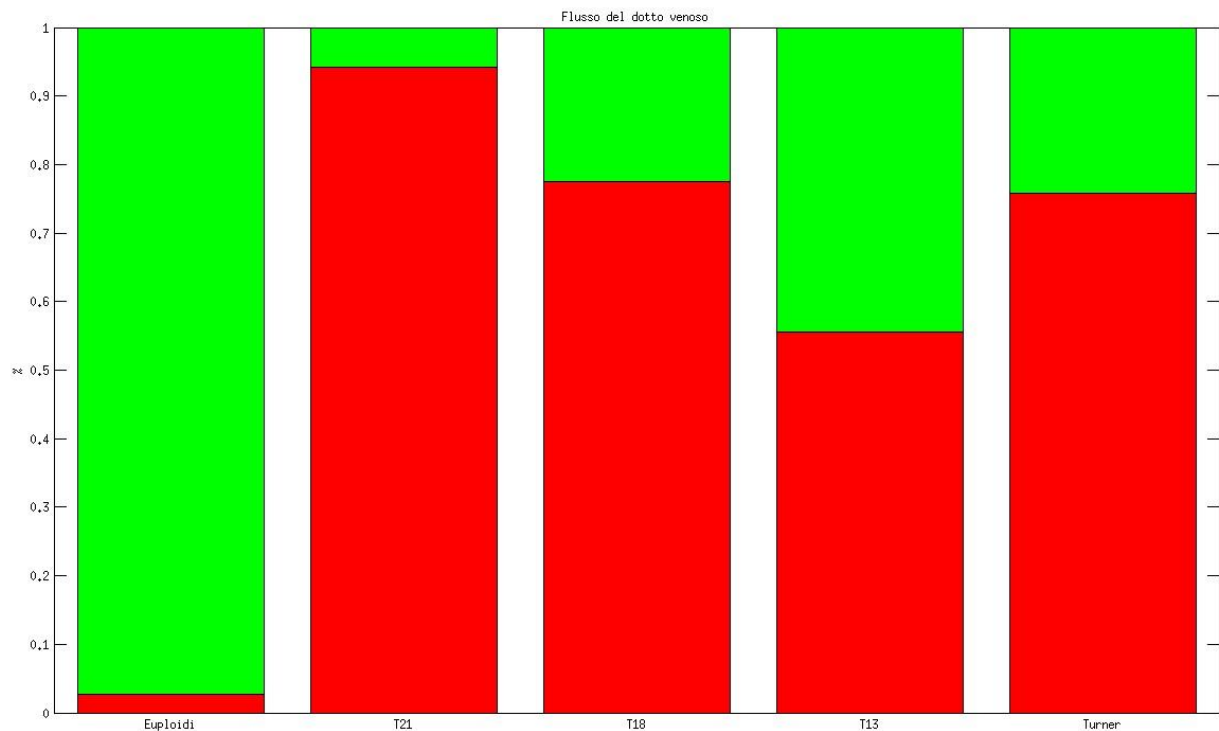
Per stimare l'ipoplasia dell'osso nasale si usa una gaussiana con parametri descritti in:  
**Cusick et al. Fetal nasal bone length in euploid and aneuploid fetuses between 11 and 20 weeks' gestation: a prospective study. J Ultrasound Med. 2004;23(10):132733.**



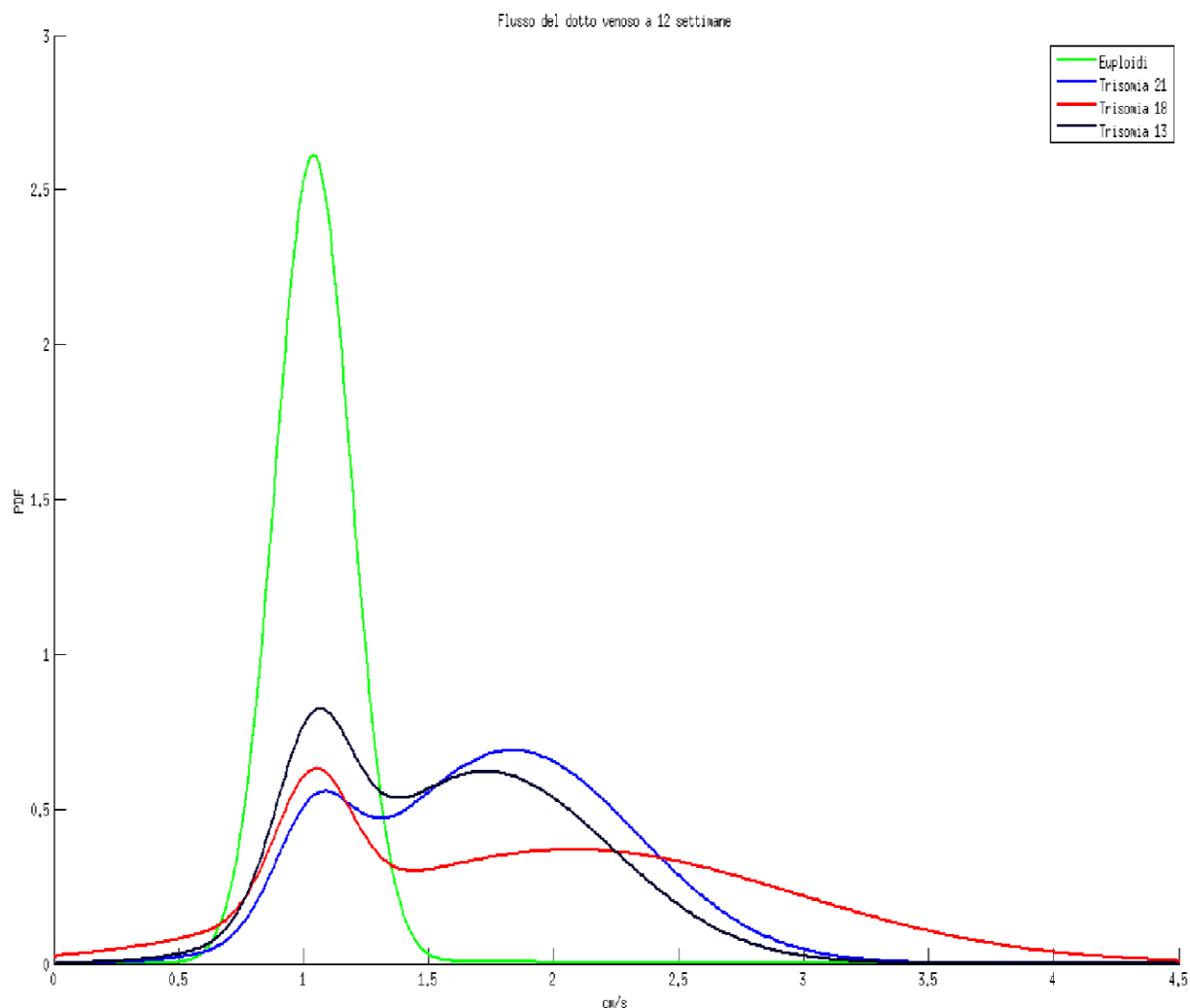
L'osso nasale viene considerato ipoplasico se la sua misura cade nella zona rossa, ossia è minore del 5° percentile.

## Dotto Venoso

L'onda A del Dotto Venoso è anomala (assente o revertita) in poco meno del 3% dei feti euploidi, mentre si osserva nel 94,15% dei feti con trisomia 21; 77,55% dei feti con trisomia 18; 55,56% dei feti con trisomia 13 e 75,86% dei feti con monosomia X  
(Nicolaides HK et al. Multicentrum study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results an estimation of the potential impact of individual risk-oriented two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25(3):221-6; Maiz et al. Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009 May;33(5):512-7; Matias A. et al. Screening for chromosomal abnormalities at 10-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12:380-4; Matias A. et Montenegro N. Ductus Venosus: a love story of 14 years. *Donald School Journal of Ultrasound in Obstetrician and Gynecology*, 2011; 5(2):141-9)



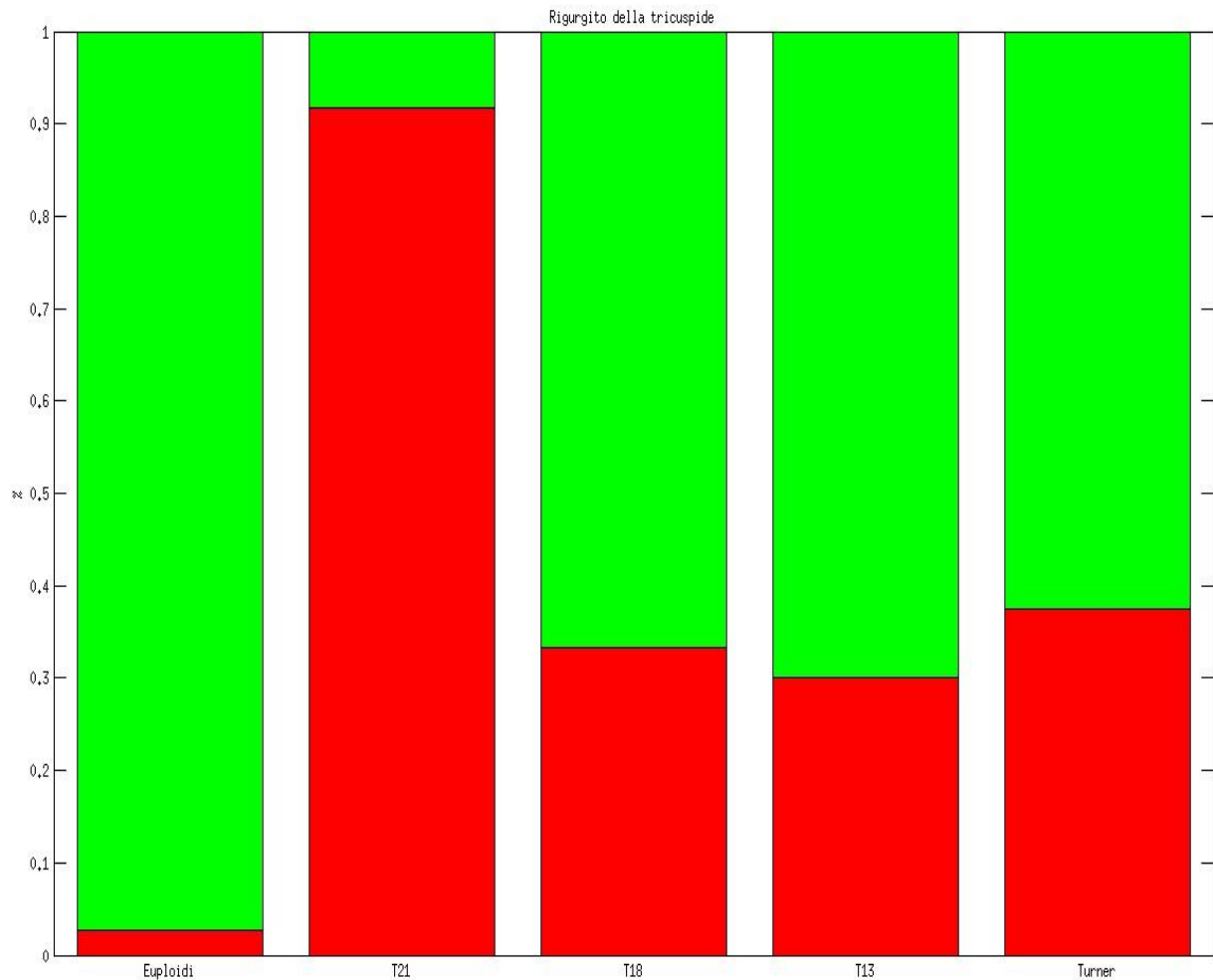
Come nel caso della translucenza nucale, anche per il dotto venoso è stata sviluppata una distribuzione gaussiana mista come descritto in: **Maiz N et al. A Mixture Model of Ductus Venosus Pulsatility Index in Screening for Aneuploidies at 11-13 Weeks of Gestation. Fetal Diagn Ther 2012;31:221-9.**



In questo studio, purtroppo, non c'è una distribuzione per la monosomia X; tuttavia, del lavoro: **Maize and Nicolaides HK. Ductus Venosus in the First Trimester: Contribution to Screening of Chromosomal, Cardiac Defects and Monochorionic Twin Complications. Fetal Diagn Ther 2010;28(2):65-71** apprendiamo che il 76% dei feti con monosomia X presenta un PI del Dotto Venoso maggiore del 95° percentile della distribuzione per i feti euploidi. Pertanto, è possibile tenere conto di questa informazione e calcolare l'opportuno LR.

## Rigurgito della valvola tricuspide

Il rigurgito della valvola tricuspide è presente in poco meno del 3% dei feti euploidi, mentre si osserva nel 91,69% dei feti con trisomia 21; 33,33% dei feti con trisomia 18; 30% dei feti con trisomia 13 e 37,5% dei feti con monosomia X (**Nicolaides HK et al. Multicentrum study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results an estimation of the potential impact of individual risk-oriented two-stage firsttrimester screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;25(3):221-6; Faiola S. et al. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at the 11 to 13+6-week scan. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;26(1):22-7; Kagan KO et al. Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 2009; 33(1): 18-22).**



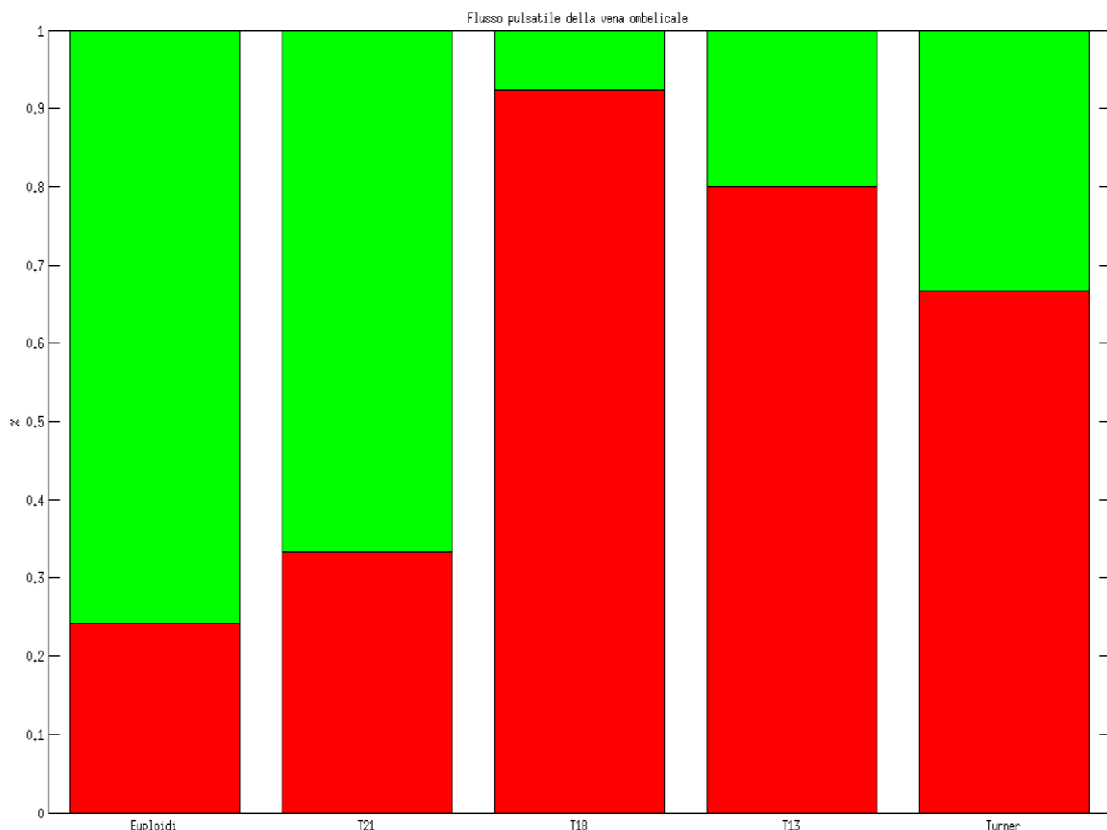


## Singola Arteria Ombelicale

La singola arteria ombelicale è un reperto che si riscontra in circa il 3% dei feti euploidi e solo nell'11,36% dei feti con trisomia 21; di contro è presente nel 77,78% dei feti con trisomia 18. Non sono note le frequenze nella trisomia 13 e nella monosomia X (**Rembouskos G. et al. Single umbilical artery at 11-14 weeks gestation: relation to chromosomal defects. Ultrasound Obstet Gynecol 2003;22:567-70**). Questo parametro non aggiunge nulla al rischio per trisomia 21, ma rappresenta un forte segnale per trisomia 18.

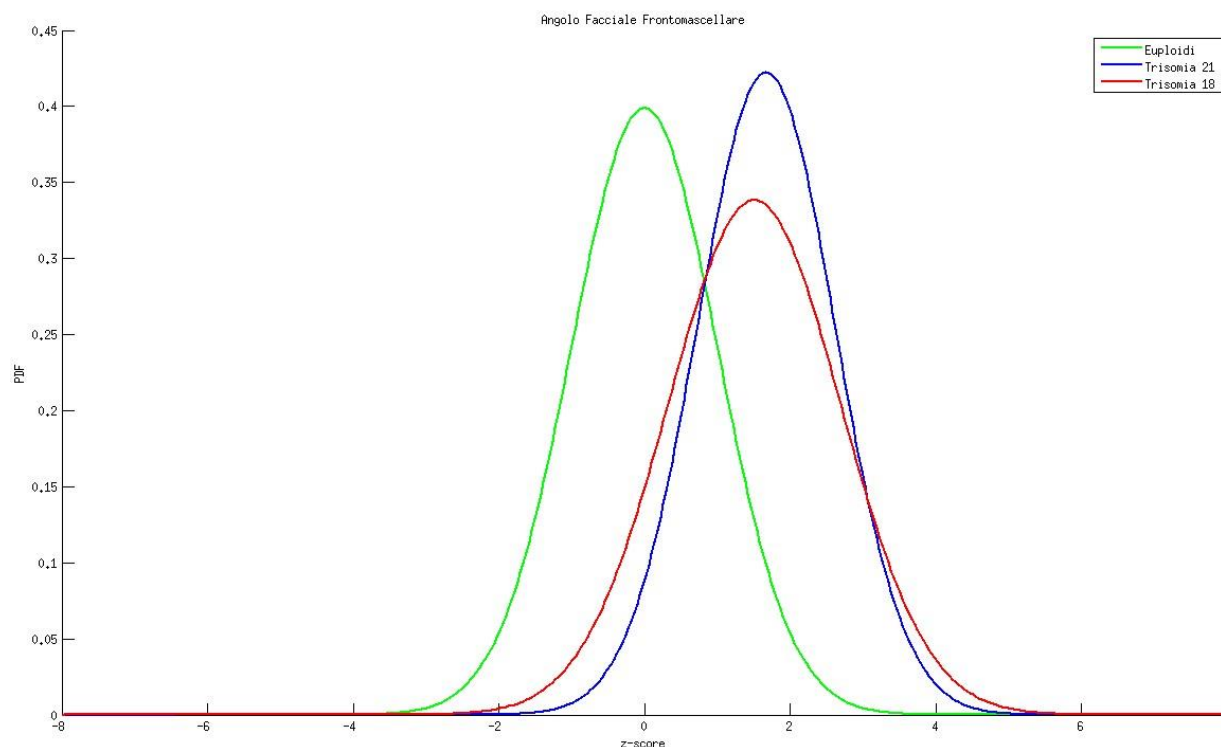
## Flusso pulsatile della vena ombelicale

Un flusso pulsatile della vena ombelicale è riportato in circa il 25% dei feti euploidi, in circa il 33% dei feti con trisomia 21; 92% dei feti con trisomia 18, 80% dei feti con trisomia 13 e 66% dei feti con monosomia X (**Brown RN et al. First trimester umbilical venous Doppler sonography in chromosomally normal and abnormal fetuses. J Ultrasound Med. 1999;18(8):543-6**). Anche questo parametro non influenza il rischio per trisomia 21, ma influenza il rischio per trisomia 18 e trisomia 13 e, in maniera minore, il rischio per monosomia X.



## Angolo facciale fronto-mascellare

L'angolo facciale fronto-mascellare tende ad un angolo di 90° nei feti con trisomia 21 e trisomia 18 (**Borenstein et al. Frontomaxillary facial angle in screening for trisomy 21 at 11+0 to 13+6 weeks Ultrasound Obstet Gynecol 2008;32:5-11; Borenstein et al. Frontomaxillary and mandibulomaxillary facial angles at 11 + 0 to 13 + 6 weeks in fetuses with trisomy 18. Ultrasound Obstet Gynecol 2007; 30: 928-933**)



## Frequenza cardiaca fetale

La frequenza cardiaca fetale è un parametro particolarmente dirimente per intercettare i feti con trisomia 13 e monosomia X che risultano particolarmente tachicardici; meno efficace sulla trisomia 18, in cui circa il 40% dei feti sono bradicardici, ininfluenza sul rischio di trisomia 21 perché i feti sono euritmici. (**Kagan et al. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free b-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. Hum Reprod. 2008;23(9):1968-75; Liao et al. Fetal Heart rate in chromosomally abnormal fetuses. Ultrasound Obstet Gynecol 2000;16(7):610-3**).

## DUO TEST vs ADVANCED DUO TEST

Che miglioramenti concreti apporta Advanced Duo Test rispetto al Duo test classico?

In uno studio su 75821 gravidanze (**Nicolaides HK et al. Multicentrum study of firsttrimester screening for trisomy 21 in 75821 pregnancies: results an estimation of the potential impact of individual risk-oriented two-stage first-trimester screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;25(3):221-6**) si evidenzia con chiarezza quali siano i limiti dell'approccio del Duo-test:

Cariotipo	N	R ≥ 1:300	Specificità	Falsi Positivi	Sensibilità	Falsi Negativi
Euploide	75277	3909	94,8%	5,2%		
Trisomia 21	325	301			92,6%	7,4%
Trisomia 18 o 13	122	108			88,5%	11,5%
Monosomia X	38	33			86,8%	13,2%

Tuttavia, qualsiasi lavoro di letteratura soffre di un errore: le gravidanze studiate non rispettano la reale distribuzione di età delle partorienti nella popolazione. Questo dato, per la popolazione italiana, è reperibile sul sito ISTAT. Noto il rischio per ogni fascia d'età, si calcola il numero di soggetti sani per ogni 500 soggetti affetti, in modo da avere un grosso numero su cui effettuare la simulazione e avere lo stesso rapporto tra malati/sani: ad esempio, per la trisomia 21, all'età di 30 anni il rischio è stimato come 1:939; pertanto se prendiamo 500 malati ci saranno  $500 \cdot 939 = 469341$  sani. Sempre continuando con l'esempio, per ogni parametro, il computer estrae un campione casuale di 500 malati e 469341 sani dalle corrispondenti curve gaussiane. Quando il parametro è di tipo percentuale si procede in questo modo e prendiamo ad esempio il parametro rigurgito della valvola tricuspide. Sappiamo che il rigurgito della valvola tricuspide è presente in poco meno del 3% dei feti euploidi, mentre si osserva nel 91,69% dei feti con trisomia 21. Pertanto di creerà un vettore di 469341 in cui  $469341 \cdot 0,03 = 14080$  celle saranno 1 (rigurgito presente) e le altre avranno valore 0 (rigurgito assente). Il vettore sarà mischiato come un mazzo di carte e i valori 0 e 1 saranno assegnati casualmente ai 469341 soggetti sani. Allo stesso modo,  $500 \cdot 0,9169 = 458$  soggetti malati riceveranno casualmente il valore 1 e 42 avranno il valore 0. Una volta che tutti i parametri sono stati settati, si calcola il rapporto di verosimiglianza e la probabilità a posteriori. Ponendo come cut-off il valore di 1:300 si calcoleranno i parametri veri e falsi positivi; veri e falsi negativi; sensibilità e specificità. Questa procedura, per ogni fascia di età, viene ripetuta 100 volte e la sensibilità e la specificità saranno le medie dei 100 valori ottenuti. Infine, poiché questi parametri cambiano con l'età, si è calcolato il valore medio pesato.

TABELLA 1: Simulazione delle prestazioni del Duo test classico per la Trisomia 21 nelle diverse fasce d'età della popolazione italiana.

Età	Partorienti (%)	Rischio	Malati	Sani	DUO-TEST									
					Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)				Specificità (intervallo di confidenza al 95%)					
15	0,1246% 1: 1514	500	757075	0,7751	<b>0,7781</b>	0,7811	0,9746	<b>0,9746</b>	0,9746	16	0,1246% 1: 1510	500	755102	
	0,7775	<b>0,7814</b>	0,7853	0,9745	<b>0,9745</b>	0,9745								
17	0,1246% 1: 1505	500	752500	0,7747	<b>0,7785</b>	0,7823	0,9744	<b>0,9744</b>	0,9744	18	0,4406% 1: 1498	500	749072	
	0,7763	<b>0,7796</b>	0,7829	0,9743	<b>0,9743</b>	0,9743	19	0,7577% 1: 1489	500	744564	0,7787	<b>0,7821</b>	0,7855	0,9742
	<b>0,9742</b>	0,9742	20	1,0894% 1: 1477	500	738653	0,7771	<b>0,7812</b>	0,7853	0,9740	<b>0,9740</b>	0,9740	21	1,4678% 1: 1462
1462	500	730927	0,7796	<b>0,7831</b>	0,7866	0,9738	<b>0,9738</b>	0,9738	22	1,7750% 1: 1442	500	720871	0,7746	<b>0,7785</b>
	0,7824	0,9735	<b>0,9735</b>	0,9735	23	2,2457% 1: 1416	500	707859	0,7844	<b>0,7878</b>	0,7912	0,9732	<b>0,9732</b>	0,9732
24	2,6906% 1: 1382	500	691148	0,7855	<b>0,7887</b>	0,7919	0,9727	<b>0,9727</b>	0,9727	25	3,2796% 1: 1340	500	669893	
	0,7884	<b>0,7917</b>	0,7950	0,9719	<b>0,9719</b>	0,9719	26	3,8290% 1: 1286	500	643197	0,7884	<b>0,7918</b>	0,7952	0,9711
	<b>0,9711</b>	0,9711	27	4,3978% 1: 1220	500	610208	0,7929	<b>0,7963</b>	0,7997	0,9698	<b>0,9698</b>	0,9698	28	5,1228% 1: 1141
1141	500	570271	0,8025	<b>0,8056</b>	0,8087	0,9682	<b>0,9682</b>	0,9682	29	5,7223% 1: 1046	500	523162	0,8019	<b>0,8053</b>
	0,8087	0,9659	<b>0,9660</b>	0,9661										
30	6,3223%	1: 939	500	469341	0,8142	<b>0,8177</b>	0,8212	0,9629	<b>0,9630</b>	0,9631				
31	6,7349%	1: 820	500	410195	0,8220	<b>0,8256</b>	0,8292	0,9588	<b>0,9589</b>	0,9590	32	6,7866% 1: 696	500	
	348107	0,8360	<b>0,8394</b>	0,8428	0,9534	<b>0,9535</b>	0,9536	33	6,7226% 1: 573	500	286262	0,8444	<b>0,8472</b>	
	0,8500	0,9460	<b>0,9461</b>	0,9462	34	6,7115% 1: 456	500	228113	0,8587	<b>0,8615</b>	0,8643	0,9362	<b>0,9363</b>	
	0,9364	35	6,3849% 1: 353	500	176649	0,8770	<b>0,8799</b>	0,8828	0,9230	<b>0,9231</b>	0,9232	36	5,9284% 1: 268	
	500	133755	0,8923	<b>0,8948</b>	0,8973	0,9059	<b>0,9061</b>	0,9063						
37	5,2894% 1: 200	500	99934	0,9053	<b>0,9079</b>	0,9105	0,8848	<b>0,8850</b>	0,8852	38	4,5160% 1: 149	500	74499	
	0,9184	<b>0,9208</b>	0,9232	0,8593	<b>0,8595</b>	0,8597	39	3,6661% 1: 112	500	56057	0,9343	<b>0,9366</b>	0,9389	0,8305
	<b>0,8308</b>	0,8311												
40	2,7616% 1: 500	86	500	43007	0,9427	<b>0,9447</b>	0,9467	0,7989	<b>0,7992</b>	0,7995	41	1,9626% 1: 55	500	68
	33894	0,9506	<b>0,9524</b>	0,9542	0,7674	<b>0,7679</b>	0,7684	42	1,2675% 1: 23	125	0,9645	<b>0,9661</b>	0,9677	0,7085
	<b>0,9607</b>	0,9624	0,7359	<b>0,7364</b>	0,7369	43	0,7562% 1: 46	500	23125	0,9645	<b>0,9661</b>	0,9677	0,7085	
	<b>0,7091</b>	0,7097												
44	0,4175%	1: 40	500	20011	0,9679	<b>0,9694</b>	0,9709	0,6829	<b>0,6836</b>	0,6843				
45	0,5800%	1: 40	500	20011	0,9703	<b>0,9717</b>	0,9731	0,6624	<b>0,6631</b>	0,6638				
			MEDIA PESATA			<b>0,8498</b>						<b>0,9260</b>		

La media pesata è abbastanza simile al valore riportato nel lavoro citato. Quello che lascia insoddisfatti nell'utilizzo del Duo test non è tanto il numero di falsi positivi (1 – Specificità = 7,4%), che verranno eliminati dall'amniocentesi, ma l'alto numero di falsi negativi (1 – Sensibilità = 15,02%) che non saranno individuati o individuati in epoche gestazionali più tardive.

TABELLA 2: Simulazione delle prestazioni di Advanced Duo test per la Trisomia 21 nelle diverse fasce d'età della popolazione italiana

Età	Partorienti (%)	Rischio	Malati	Sani	ADVANCED DUO-TEST									
					Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)				Specificità (intervallo di confidenza al 95%)					
15	0,1246% 1: 1514	500	757075	0,9829	<b>0,9911</b>	0,9993	0,9986	<b>0,9986</b>	0,9987	16	0,1246% 1: 1510	500	755102	
	0,9818	<b>0,9908</b>	0,9999	0,9986	<b>0,9986</b>	0,9987								
17	0,1246% 1: 1505	500	752500	0,9842	<b>0,9910</b>	0,9977	0,9986	<b>0,9986</b>	0,9987	18	0,4406% 1: 1498	500	749072	
	0,9837	<b>0,9910</b>	0,9982	0,9985	<b>0,9986</b>	0,9987	19	0,7577% 1: 1489	500	744564	0,9821	<b>0,9904</b>	0,9986	0,9985
	<b>0,9986</b>	0,9987	20	1,0894% 1: 1477	500	738653	0,9829	<b>0,9910</b>	0,9991	0,9985	<b>0,9986</b>	0,9987	21	1,4678% 1: 1462
1462	500	730927	0,9829	<b>0,9912</b>	0,9996	0,9985	<b>0,9986</b>	0,9987	22	1,7750% 1: 1442	500	720871	0,9835	<b>0,9915</b>
	0,9995	0,9985	<b>0,9986</b>	0,9987	23	2,2457% 1: 1416	500	707859	0,9827	<b>0,9915</b>	1,0000	0,9985	<b>0,9986</b>	0,9987
24	2,6906% 1: 1382	500	691148	0,9844	<b>0,9917</b>	0,9989	0,9985	<b>0,9985</b>	0,9986	25	3,2796% 1: 1340	500	669893	
	0,9843	<b>0,9921</b>	0,9998	0,9984	<b>0,9985</b>	0,9986	26	3,8290% 1: 1286	500	643197	0,9842	<b>0,9915</b>	0,9988	0,9984
	<b>0,9985</b>	0,9986	27	4,3978% 1: 1220	500	610208	0,9829	<b>0,9910</b>	0,9990	0,9983	<b>0,9984</b>	0,9985	28	5,1228% 1: 1141
1141	500	570271	0,9831	<b>0,9912</b>	0,9994	0,9983	<b>0,9984</b>	0,9985	29	5,7223% 1: 1046	500	523162	0,9847	<b>0,9920</b>
	0,9993	0,9982	<b>0,9983</b>	0,9984										
30	6,3223%	1: 939	500	469341	0,9854	<b>0,9930</b>	1,0000	0,9980	<b>0,9982</b>	0,9983				
31	6,7349%	1: 820	500	410195	0,9857	<b>0,9929</b>	1,0000	0,9979	<b>0,9980</b>	0,9981	32	6,7866% 1: 696	500	
	348107	0,9854	<b>0,9933</b>	1,0000	0,9976	<b>0,9978</b>	0,9979	33	6,7226% 1: 573	500	286262	0,9874	<b>0,9936</b>	

	1,0000	0,9973	<b>0,9975</b>	0,9977	34	6,7115%	1: 456	500	228113	0,9881	<b>0,9944</b>	1,0000	0,9969	<b>0,9971</b>
	0,9973	35	6,3849%	1: 353	500	176649	0,9897	<b>0,9952</b>	1,0000	0,9963	<b>0,9966</b>	0,9969	36	5,9284% 1:
37	268	500	133755	0,9904	<b>0,9958</b>	1,0000	0,9957	<b>0,9960</b>	0,9963					
38	5,2894%	1: 200	500	99934	0,9910	<b>0,9961</b>	1,0000	0,9948	<b>0,9952</b>	0,9956				
	4,5160%	1: 149	500	74499	0,9917	<b>0,9967</b>	1,0000	0,9938	<b>0,9943</b>	0,9948	39	3,6661%	1: 112	500
	56057	0,9931	<b>0,9974</b>	1,0000	0,9927	<b>0,9933</b>	0,9939							
40	2,7616% 1:	86	500	43007	0,9946	<b>0,9981</b>	1,0000	0,9914	<b>0,9923</b>	0,9931	41	1,9626% 1:	68	
	500	33894	0,9944	<b>0,9981</b>	1,0000	0,9902	<b>0,9911</b>	0,9920	42	1,2675% 1:	55	500	27552	0,9953
	<b>0,9985</b>	1,0000	0,9888	<b>0,9899</b>	0,9911	43	0,7562% 1:	46	500	23125	0,9953	<b>0,9985</b>	1,0000	0,9875
	<b>0,9888</b>	0,9902	44	0,4175% 1:	40	500	20011	0,9949	<b>0,9985</b>	1,0000	0,9863	<b>0,9878</b>	0,9893	
45	0,5800%	1: 40	500	20011	0,9944	<b>0,9983</b>	1,0000	0,9856	<b>0,9871</b>			0,9887		
	MEDIA PESATA					<b>0,9970</b>			<b>0,9966</b>					

Advanced Duo Test mostra delle performance nettamente superiori, con sensibilità e specificità sempre al di sopra del 99%, con un tasso di falsi positivi e negativi pari allo 0,3%.

TABELLA 3: Simulazione delle prestazioni del Duo test classico per la Trisomia 18 nelle diverse fasce d'età della popolazione italiana.

Età	Partorienti (%)	Rischio	Malati	Sani	DUO-TEST									
					Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)					Specificità (intervallo di confidenza al 95%)				
15	0,1246% 1: 2545	500	1272500	0,9125	<b>0,9150</b>	0,9175	0,9979	<b>0,9979</b>	0,9979	16	0,1246% 1: 2535	500	1267500	
	0,9122	<b>0,9147</b>	0,9173	0,9978	<b>0,9979</b>	0,9979								
17	0,1246% 1: 2524	500	1262000	0,9114	<b>0,9142</b>	0,9170	0,9978	<b>0,9978</b>	0,9978	18	0,4406% 1: 2510	500	1255000	
	0,9135	<b>0,9160</b>	0,9186	0,9978	<b>0,9978</b>	0,9978								
19	0,7577% 1: 2490	500	1245000	0,9148	<b>0,9173</b>	0,9197	0,9978	<b>0,9978</b>	0,9978	20	1,0894% 1: 2465	500	1232500	
	0,9132	<b>0,9156</b>	0,9180	0,9978	<b>0,9978</b>	0,9978	21	1,4678% 1: 2431	500	1215500	0,9134	<b>0,9160</b>	0,9185	0,9977
	<b>0,9977</b>	0,9977												
22	1,7750% 1: 2389	500	1194500	0,9158	<b>0,9181</b>	0,9204	0,9977	<b>0,9977</b>	0,9977	23	2,2457% 1: 2334	500	1167000	
	0,9184	<b>0,9208</b>	0,9233	0,9976	<b>0,9976</b>	0,9977								
24	2,6906% 1: 2265	500	1132500	0,9177	<b>0,9200</b>	0,9224	0,9976	<b>0,9976</b>	0,9976	25	3,2796% 1: 2179	500	1089500	
	0,9178	<b>0,9198</b>	0,9219	0,9975	<b>0,9975</b>	0,9975	26	3,8290% 1: 2074	500	1037000	0,9181	<b>0,9203</b>	0,9226	0,9974
	<b>0,9974</b>	0,9974												
27	4,3978% 1: 1948	500	974000	0,9208	<b>0,9230</b>	0,9253	0,9973	<b>0,9973</b>	0,9973	28	5,1228% 1: 1805	500	902500	
	0,9193	<b>0,9217</b>	0,9241	0,9971	<b>0,9971</b>	0,9971								
29	5,7223% 1: 1642	500	821000	0,9249	<b>0,9273</b>	0,9297	0,9969	<b>0,9969</b>	0,9969	30	6,3223% 1: 1466	500	733000	
	0,9277	<b>0,9298</b>	0,9319	0,9966	<b>0,9966</b>	0,9966								
31	6,7349% 1: 1284	500	642000	0,9325	<b>0,9345</b>	0,9365	0,9962	<b>0,9962</b>	0,9962	32	6,7866% 1: 1102	500	551000	
	0,9341	<b>0,9363</b>	0,9386	0,9957	<b>0,9957</b>	0,9957								
33	6,7226% 1:	926	500	463000	0,9385	<b>0,9405</b>	0,9425	0,9950	<b>0,9950</b>	0,9951				
34	6,7115% 1:	765	500	382500	0,9424	<b>0,9443</b>	0,9462	0,9941	<b>0,9942</b>	0,9942	35	6,3849% 1:	619	
	500	309500	0,9482	<b>0,9501</b>	0,9520	0,9930	<b>0,9930</b>	0,9930						
36	5,9284% 1:	495	500	247500	0,9525	<b>0,9546</b>	0,9567	0,9915	<b>0,9915</b>	0,9915	37	5,2894% 1:	390	
	500	195000	0,9574	<b>0,9589</b>	0,9604	0,9895	<b>0,9896</b>	0,9896						
38	4,5160% 1:	305	500	152500	0,9620	<b>0,9636</b>	0,9653	0,9870	<b>0,9871</b>	0,9871	39	3,6661% 1:	235	
	500	117500	0,9641	<b>0,9657</b>	0,9673	0,9837	<b>0,9838</b>	0,9839						
40	2,7616% 1:	181	500	90500	0,9707	<b>0,9722</b>	0,9737	0,9795	<b>0,9796</b>	0,9796				
41	1,9626% 1:	137	500	68500	0,9737	<b>0,9751</b>	0,9764	0,9741	<b>0,9742</b>	0,9743	42	1,2675% 1:	105	
	500	52500	0,9785	<b>0,9796</b>	0,9808	0,9672	<b>0,9673</b>	0,9674						
43	0,7562% 1:	79	500	39500	0,9816	<b>0,9828</b>	0,9840	0,9581	<b>0,9583</b>	0,9585	44	0,4175% 1:	60	
	500	30000	0,9848	<b>0,9859</b>	0,9870	0,9467	<b>0,9469</b>	0,9471						
45	0,5800%	1: 45	500	22500	0,9878	<b>0,9885</b>	0,9893	0,9323	<b>0,9326</b>			0,9328		
	MEDIA PESATA					<b>0,9403</b>			<b>0,9925</b>					

Per quanto riguarda la trisomia 18, il Duo test classico offre già prestazioni molto buone con un frazione di falsi positivi pari allo 0,25% e una frazione di falsi negativi pari a 5,97%. La discrepanza con i dati riportati in letteratura dipende dal fatto che un numero così alto



24	2,6906% 1: 7020	500	3510000	0,6887	<b>0,7314</b>	0,7740	0,9978	<b>0,9978</b>	0,9979	25	3,2796% 1: 6755	500	3377500	
	0,6965	<b>0,7363</b>	0,7762	0,9977	<b>0,9977</b>	0,9978	26	3,8290% 1: 6430	500	3215000	0,7036	<b>0,7419</b>	0,7801	0,9976
	<b>0,9976</b>	0,9977												
27	4,3978% 1: 6040	500	3020000	0,7074	<b>0,7432</b>	0,7791	0,9974	<b>0,9975</b>	0,9975	28	5,1228% 1: 5595	500	2797500	
	0,7109	<b>0,7524</b>	0,7939	0,9972	<b>0,9973</b>	0,9973								
29	5,7223% 1: 5090	500	2545000	0,7254	<b>0,7588</b>	0,7922	0,9970	<b>0,9971</b>	0,9971	30	6,3223% 1: 4545	500	2272500	
	0,7251	<b>0,7654</b>	0,8057	0,9967	<b>0,9968</b>	0,9969	31	6,7349% 1: 3980	500	1990000	0,7381	<b>0,7755</b>	0,8129	0,9964
	<b>0,9964</b>	0,9965												
32	6,7866% 1: 3415	500	1707500	0,7538	<b>0,7866</b>	0,8193	0,9959	<b>0,9960</b>	0,9960	33	6,7226% 1: 2870	500	1435000	
	0,7626	<b>0,7992</b>	0,8358	0,9953	<b>0,9953</b>	0,9954								
34	6,7115% 1: 2370	500	1185000	0,7736	<b>0,8083</b>	0,8430	0,9944	<b>0,9945</b>	0,9946					
35	6,3849% 1: 1920	500	960000	0,7941	<b>0,8243</b>	0,8546	0,9933	<b>0,9935</b>	0,9936					
36	5,9284% 1: 1535	500	767500	0,8044	<b>0,8402</b>	0,8761	0,9920	<b>0,9921</b>	0,9923	37	5,2894% 1: 1210	500	605000	
	0,8242	<b>0,8497</b>	0,8753	0,9902	<b>0,9904</b>	0,9906								
38	4,5160% 1: 945	500	472500	0,8363	<b>0,8645</b>	0,8926	0,9878	<b>0,9881</b>	0,9883					
39	3,6661% 1: 730	500	365000	0,8544	<b>0,8819</b>	0,9094	0,9848	<b>0,9851</b>	0,9854	40	2,7616% 1: 560	500	280000	
	0,8710	<b>0,8963</b>	0,9216	0,9808	<b>0,9812</b>	0,9816								
41	1,9626% 1: 425	500	212500	0,8842	<b>0,9093</b>	0,9344	0,9758	<b>0,9763</b>	0,9768	42	1,2675% 1: 325	500	162500	
	0,9046	<b>0,9249</b>	0,9452	0,9693	<b>0,9700</b>	0,9706								
43	0,7562% 1: 245	500	122500	0,9147	<b>0,9352</b>	0,9557	0,9610	<b>0,9619</b>	0,9628					
44	0,4175% 1: 185	500	92500	0,9262	<b>0,9461</b>	0,9661	0,9505	<b>0,9517</b>	0,9530					
45	0,5800% 1: 140	500	70000	0,9363	<b>0,9532</b>	0,9702	0,9376	<b>0,9391</b>	0,9405					
	MEDIA PESATA						<b>0,8022</b>				<b>0,9863</b>			

La trisomia 13 è più difficilmente individuabile: la frazione di falsi positivi 1,37% è relativamente piccola, ma la frazione di falsi negativi pari al 19,78% è molto alta.

TABELLA 6: Simulazione delle prestazioni di Advanced Duo test per la Trisomia 13 nelle diverse fasce d'età della popolazione italiana

Età	Partorienti (%)	Rischio	Malati	Sani	ADVANCED DUO-TEST				
					Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)			Specificità (intervallo di confidenza al 95%)	
15	0,1246% 1: 7890	500	3945000	0,9133	<b>0,9349</b>	0,9565	0,9995	<b>0,9995</b>	0,9995
16	0,1246% 1: 7860	500	3930000	0,9171	<b>0,9376</b>	0,9581	0,9995	<b>0,9995</b>	0,9995
17	0,1246% 1: 7825	500	3912500	0,9156	<b>0,9365</b>	0,9574	0,9995	<b>0,9995</b>	0,9995
18	0,4406% 1: 7780	500	3890000	0,9162	<b>0,9362</b>	0,9561	0,9995	<b>0,9995</b>	0,9995
19	0,7577% 1: 7720	500	3860000	0,9194	<b>0,9389</b>	0,9583	0,9995	<b>0,9995</b>	0,9995
20	1,0894% 1: 7640	500	3820000	0,9188	<b>0,9387</b>	0,9587	0,9994	<b>0,9995</b>	0,9995
21	1,4678% 1: 7535	500	3767500	0,9173	<b>0,9373</b>	0,9572	0,9994	<b>0,9994</b>	0,9995
22	1,7750% 1: 7405	500	3702500	0,9159	<b>0,9385</b>	0,9611	0,9994	<b>0,9994</b>	0,9994
23	2,2457% 1: 7235	500	3617500	0,9229	<b>0,9420</b>	0,9612	0,9994	<b>0,9994</b>	0,9994
24	2,6906% 1: 7020	500	3510000	0,9260	<b>0,9439</b>	0,9619	0,9994	<b>0,9994</b>	0,9994
25	3,2796% 1: 6755	500	3377500	0,9251	<b>0,9434</b>	0,9618	0,9993	<b>0,9994</b>	0,9994
26	3,8290% 1: 6430	500	3215000	0,9228	<b>0,9429</b>	0,9629	0,9993	<b>0,9993</b>	0,9994
27	4,3978% 1: 6040	500	3020000	0,9246	<b>0,9442</b>	0,9638	0,9993	<b>0,9993</b>	0,9993
28	5,1228% 1: 5595	500	2797500	0,9262	<b>0,9466</b>	0,9670	0,9992	<b>0,9993</b>	0,9993
29	5,7223% 1: 5090	500	2545000	0,9290	<b>0,9482</b>	0,9674	0,9992	<b>0,9992</b>	0,9992
30	6,3223% 1: 4545	500	2272500	0,9306	<b>0,9498</b>	0,9689	0,9991	<b>0,9991</b>	0,9992
31	6,7349% 1: 3980	500	1990000	0,9377	<b>0,9536</b>	0,9696	0,9990	<b>0,9990</b>	0,9991
32	6,7866% 1: 3415	500	1707500	0,9351	<b>0,9555</b>	0,9759	0,9989	<b>0,9989</b>	0,9990
33	6,7226% 1: 2870	500	1435000	0,9404	<b>0,9572</b>	0,9740	0,9987	<b>0,9988</b>	0,9988
34	6,7115% 1: 2370	500	1185000	0,9434	<b>0,9599</b>	0,9763	0,9985	<b>0,9986</b>	0,9986
35	6,3849% 1: 1920	500	960000	0,9491	<b>0,9642</b>	0,9792	0,9983	<b>0,9984</b>	0,9984
36	5,9284% 1: 1535	500	767500	0,9511	<b>0,9651</b>	0,9791	0,9980	<b>0,9981</b>	0,9981
37	5,2894% 1: 1210	500	605000	0,9528	<b>0,9687</b>	0,9847	0,9975	<b>0,9977</b>	0,9978
38	4,5160% 1: 945	500	472500	0,9588	<b>0,9730</b>	0,9873	0,9970	<b>0,9971</b>	0,9973
39	3,6661% 1: 730	500	365000	0,9641	<b>0,9762</b>	0,9883	0,9964	<b>0,9965</b>	0,9967
40	2,7616% 1: 560	500	280000	0,9664	<b>0,9789</b>	0,9913	0,9955	<b>0,9957</b>	0,9959
41	1,9626% 1: 425	500	212500	0,9676	<b>0,9805</b>	0,9935	0,9945	<b>0,9947</b>	0,9949
42	1,2675% 1: 325	500	162500	0,9723	<b>0,9831</b>	0,9939	0,9931	<b>0,9934</b>	0,9937

43	0,7562%	1: 245	500	122500	0,9758	<b>0,9859</b>	0,9960	0,9915	<b>0,9919</b>	0,9922
44	0,4175%	1: 185	500	92500	0,9786	<b>0,9886</b>	0,9985	0,9894	<b>0,9899</b>	0,9904
45	0,5800%	1: 140	500	70000	0,9804	<b>0,9896</b>	0,9987	0,9868	<b>0,9875</b>	0,9881

MEDIA PESATA

**0,9535**

**0,9923**

L'aggiunta dei parametri aggiuntivi noti per trisomia 13 riducono molto i falsi positivi, che scendono a 0,77%, ma soprattutto riducono i falsi negativi al 4,65%

TABELLA 7: Simulazione delle prestazioni del Duo test classico per la Monosomia X

Età	Partorienti (%)	Rischio	Malati	Sani	DUO-TEST					
					Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)			Specificità (intervallo di confidenza al 95%)		
15 – 45	100%	1: 5000	500	2500000	0,7762	<b>0,8083</b>	0,8404	0,9980	<b>0,9980</b>	0,9981

Anche per la monosomia X il discorso è simile alla trisomia 13: il numero di falsi positivi, pari a 0,19% è molto basso, mentre il numero dei falsi negativi, pari al 19,17% è molto alto.

TABELLA 8: Simulazione delle prestazioni di Advanced Duo test per la Monosomia X

Età	Partorienti (%)	Rischio	Malati	Sani	ADVANCED DUO-TEST					
					Sensibilità (intervallo di confidenza al 95%)			Specificità (intervallo di confidenza al 95%)		
15 – 45	100%	1: 5000	500	2500000	0,9186	<b>0,9381</b>	0,9576	0,9988	<b>0,9989</b>	0,9989

L'aggiunta dei parametri noti per la monosomia X migliora moltissimo la situazione, abbassando i falsi negativi al 6,19%.

In conclusione, l'utilizzo di Advanced Duo test porta ad una drastica riduzione dei falsi positivi e negativi.



**MeriGen**

**Diagnostica Clinica e Biologia Molecolare**

**MeriGen Research srl – Ricerca e Sviluppo Diagnostico**

**Laboratorio “Cesare Pandolfi & C.” sas – Centro Diagnostico  
Accreditato SSN Settori Specialistici A1, A2, A3, A4, A6, R**

**Traversa Michele Pietravalle, 11 – 80131 – Napoli**

**Tel. 0815465026**

**email: [info@merigen.it](mailto:info@merigen.it)**

**sito web: [www.merigen.it](http://www.merigen.it)**