

Presidente:

F. Corazza, D. Costantino

Responsabili scientifici:

C. Banzi, C. Guaraldi

Segreteria Scientifica:

C. Bedoni, G. Gotti

Con il Patrocinio di:



Obiettivo Formativo

Percorsi clinico-assistenziali/diagnostici/
riabilitativi, profili di assistenza - profili di cura

L'iscrizione è gratuita ma la pre-iscrizione è obbligatoria, essendo il convegno riservato a 100 persone. L'accesso sarà solo con Green Pass.

Preiscrizione mcferrara64@gmail.com

Segreteria Organizzativa e Provider

Ideas Group s.r.l.
Via Santo Spirito, 41 Firenze
Tel. 055.2302663

e-mail: info@ideasgroup.it

www.ideasgroup.it - www.fadideasgroup.it

Referente Organizzativo Congresso:

Dr M. Chiara Ripa -
3356342600 - mcferrara64@gmail.com

Con il contributo non condizionato di:



GEDLON RICHTER



Centro Salute Donna
Azienda USL Ferrara

**OSTETRICIA e GINECOLOGIA
2022**



8,9 aprile 2022

Hotel Astra

V.le Cavour, Ferrara

10 Crediti E.C.M. per

Medici Ginecologi e Ostetriche

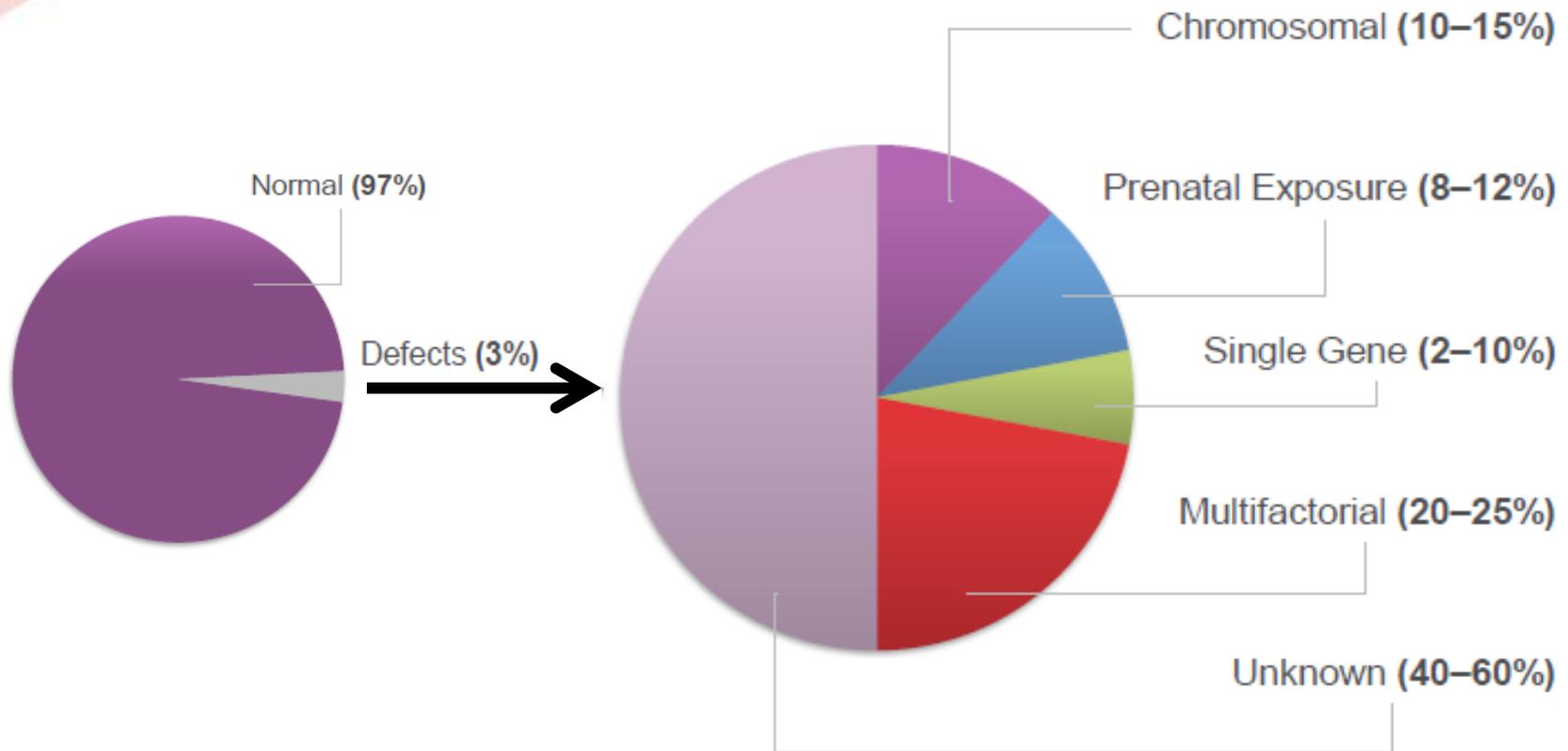


DNA fetale-NIPT: Stato dell'Arte

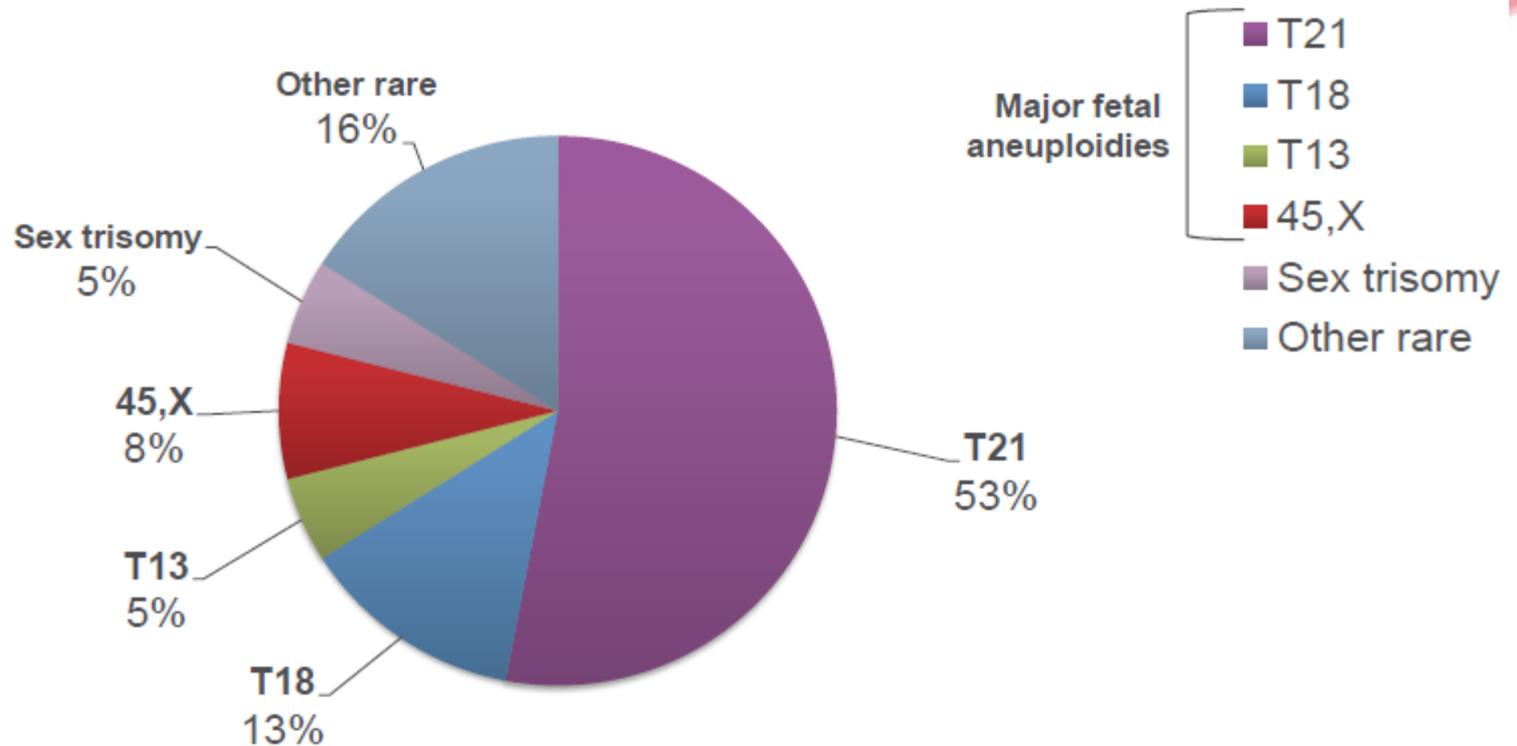


G. Savarese

Birth Defects: Rates and Causes



Prenatal Prevalence of Reported Chromosomal Abnormalities



Data adapted from Wellesley, D, et al., Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J of Hum Gen*, 11 January 2012.

Conventional Prenatal Screening Options

Detection Rates for Trisomy 21

		Detection Rate (%)
1 st Trimester	NT Ultrasound	64-70
1 st Trimester	1 st Trimester Blood Screen > NT Ultrasound	82-87
2 nd Trimester	Triple Screen	69
2 nd Trimester	Quadruple Screen	81
Integrated Screen	1 st Trimester Blood Screen > NT Ultrasound > 2 nd Trimester Blood Screen	94-96
Serum Integrated	1 st Trimester Blood Screen > 2 nd Trimester Blood Screen	85-88
False Positive Rate:		5%

ACOG Practice Bulletin No. 77, January 2007

Actual detection rates and false positive rates will vary slightly based on the laboratory used.

Invasive Prenatal Testing



- ▶ Gold-standard diagnostic tests
 - Chorionic Villus Sampling (CVS) at 10-13 weeks
 - Amniocentesis at 15-20 weeks
- ▶ Present risk to patient and fetus
 - 0.4% risk of miscarriage with amniocentesis*
 - Risk of maternal bleeding, infection, leaking



GM 22124-I-5
124mm / 5"
with 5 cm Introducer

GM 2290-I-5
90mm / 3.5"
with 5 cm Introducer

 INTERNATIONAL
MEDICAL
DEVELOPMENT

What are the Goals of NIPT?



L'utilizzo del NIPT

Table 2. Conditions for Which Cell-free DNA Testing Is Clinically Available.*

Common autosomal aneuploidies

Trisomy 21

Trisomy 18

Trisomy 13

Sex chromosome aneuploidies

45,X

47,XXX

47,XXY

47,XYY

Rare autosomal aneuploidies

Whole-chromosome aneuploidy of any autosome (trisomy 7, 15, 16, and 22 are the most commonly detected)

Microdeletion and microduplication syndromes

1p36 deletion

Wolf–Hirschhorn syndrome (terminal 4p deletion)

Cri du chat syndrome (terminal 5p deletion)

Langer–Giedion syndrome (8q24 deletion)

Jacobsen's syndrome (terminal 11q deletion)

Prader–Willi and Angelman syndromes (15q11.2-q13 deletion)

DiGeorge syndrome (22q11.2 deletion)

Copy-number variants larger than 7 Mb

Triploidy

* The sex of the fetus is also reported if the patient requests it, but not in all countries.

L'utilizzo del NIPT nelle malattie monogeniche

← → ↻ ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=nipt+monogenic+disease

Abstract
Free full text
Full text

Publication dates
5 years
10 years
Custom range...

Species
Humans
Other Animals

[Clear all](#)
[Show additional filters](#)

- [Pilot study of a novel multi-functional noninvasive prenatal test on fetus aneuploidy, copy number variation, and single-gene disorder screening.](#)
1. Luo Y, Jia B, Yan K, Liu S, Song X, Chen M, Jin F, Du Y, Wang J, Hong Y, Cao S, Li D, Dong M. Mol Genet Genomic Med. 2019 Apr;7(4):e00597. doi: 10.1002/mgg3.597. Epub 2019 Feb 14. PMID: 30767419 **Free PMC Article**
[Similar articles](#)
- [Development of a comprehensive noninvasive prenatal test.](#)
2. Malcher C, Yamamoto GL, Burnham P, Ezquina SAM, Lourenço NCV, Balkassmi S, Antonio DSM, Hsia GSP, Gollop T, Pavanello RC, Lopes MA, Bakker E, Zatz M, Bertola D, Vlamincik I, Passos-Bueno MR. Genet Mol Biol. 2018 Jul/Sept.;41(3):545-554. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2017-0177. Epub 2018 Jul 16. PMID: 30043834 **Free PMC Article**
[Similar articles](#)
- [Development of novel noninvasive prenatal testing protocol for whole autosomal recessive disease using picodroplet digital PCR.](#)
3. Chang MY, Kim AR, Kim MY, Kim S, Yoon J, Han JJ, Ahn S, Kang C, Choi BY. Sci Rep. 2016 Dec 7;6:37153. doi: 10.1038/srep37153. PMID: 27924908 **Free PMC Article**
[Similar articles](#)
- [Non-invasive prenatal diagnosis of thalassemias using maternal plasma cell free DNA.](#)
4. Hudecova I, Chiu RW. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017 Feb;39:63-73. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.10.016. Epub 2016 Oct 26. Review.

FALSI POSITIVI

FALSI NEGATIVI

Table 3. Reported Biologic Causes of False Positive and False Negative Cell-free DNA Results.*

Causes of false positive results

- Confined placental mosaicism (placenta aneuploid, fetus euploid)³⁰
- True fetal mosaicism³⁰
- Death of a twin in utero³¹
- Maternal incidental findings³²
 - Copy-number variant
 - Chromosome abnormality
 - 45,X or 47,XXX
 - Mosaic trisomy for an autosome
 - Leiomyoma³³
- Cancer^{33,34}
 - Hodgkin's or non-Hodgkin's lymphoma (most common)
 - Other lymphomas (follicular, cutaneous T cell)
 - Breast cancer
 - Colorectal cancer
 - Chronic myelogenous leukemia
 - Multiple myeloma
 - Other cancers (neuroendocrine, angiosarcoma, small-cell carcinoma)
- Previous organ or bone marrow transplant from male donor³²
- Medical condition or treatment affecting quality of circulating DNA³²
 - Autoimmune disease
 - B₁₂ deficiency
 - Intrahepatic cholestasis of pregnancy

Table 3. Reported Biologic Causes of False Positive and False Negative Cell-free DNA Results.*

Causes of false negative results

- Low fetal fraction³⁵
 - Maternal obesity³⁶
 - Multiple gestation causing low fetal fraction per fetus
 - Maternal medical condition or treatment affecting quality of circulating DNA³²
 - Certain fetal chromosomal aneuploidies (e.g., triploidy)
- Confined placental mosaicism (placenta euploid, fetus aneuploid, or mosaic)³⁰

* False positive results are much more common than false negative results (88% vs. 12%).²⁹

Casi clinici Vera Prenatal Test

Aneuploidie dei cromosomi 13-18-21-X-Y

CASO CLINICO 1: il Vera Prenatal Test rileva una monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner.

La gestante di 35 anni si sottopone al Vera Prenatal Test a 10+5 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal test risulta positivo per monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner.

Referto Vera Prenatal Test®

CROMOSOMA	RISULTATO
Cromosoma 21	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 18	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 13	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosomi sessuali X,Y	ANEUPLOIDIA RILEVATA
Frazione Fetale	1%

INTERPRETAZIONE

I risultati mostrano la presenza di due copie dei cromosomi 21, 18, 13 e la presenza di una copia del cromosoma X.

CONCLUSIONI

Pertanto, si può concludere per un feto di sesso femminile che presenta monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner. Si consiglia consulenza genetica.

Il "Vera Prenatal Test" è un test di screening che può presentare falsi positivi e falsi negativi. Pertanto è necessaria la correlazione dei risultati con i dati clinici. In caso di presenza di aneuploidia per una diagnosi definitiva si consiglia villocentesi o amniocentesi.

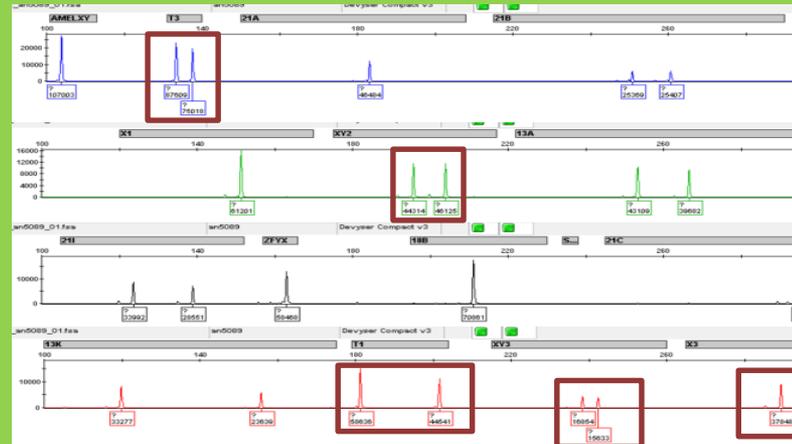
CASO CLINICO 1: il Vera Prenatal Test rileva una monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner.

La gestante si sottopone ad **amniocentesi**:

- La QF-PCR non conferma il dato NIPT;
- Il cariotipo mostra una delezione parziale del braccio lungo del cromosoma X.



QF-PCR



La QF-PCR, basata sull'amplificazione fluorescente di sequenze di DNA ripetute altamente polimorfiche (STR) localizzate sui cromosomi oggetto di studio, ha permesso di definire normale l'assetto numerico dei cromosomi 13, 18, 21, e dei cromosomi sessuali.

La paziente viene inviata a consulenza genetica e decide di portare avanti la gravidanza.

Follow-up
Il cariotipo viene confermato alla nascita.

Cariotipo su amniociti



Risultato: 46,X,del(X)(q?)*de novo*

Tutte le piastre metafasiche esaminate hanno mostrato un cariotipo femminile con una delezione parziale del braccio lungo di un cromosoma X. L'esame del cariotipo eseguito sul sangue dei genitori ha evidenziato che tale delezione risulta essere *de novo*.

CASO CLINICO 2: il Vera Prenatal Test rileva una sospetta monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner

La gestante di 31 anni si sottopone al Vera Prenatal Test a 13 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal test positivo per **sospetta** monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner.

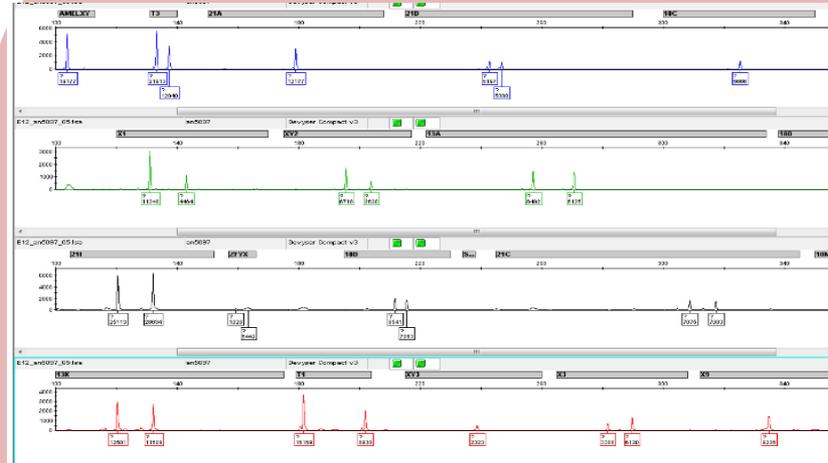
La gestante si sottopone ad **amniocentesi**:

- La QF-PCR rileva un mosaicismo, verosimilmente, XX/X0;
- Il cariotipo mostra un mosaicismo X0/Isocromosoma Xq.

La gestante si sottopone a consulenza genetica.

Follow-up
Il cariotipo viene confermato alla nascita.

QF-PCR



La QF-PCR ha permesso di rilevare, verosimilmente, un mosaicismo XX/X0.

REFERTO DI ANALISI MOLECOLARE SU DNA INDAGINE EFFETTUATA: Analisi molecolare di Aneuploidie (13,18,21,X,Y,Triploidie)

La diagnosi molecolare eseguita sul DNA estratto dal liquido amniotico prelevato alla paziente in esame, ha consentito di definire:

Assetto microsatellitare del cromosoma 13:	Nella Norma
Assetto microsatellitare del cromosoma 18:	Nella Norma
Assetto microsatellitare del cromosoma 21:	Nella Norma
Assetto microsatellitare dei cromosomi sessuali:	Genotipo XX/X0
Assenza del cromosoma Y.	

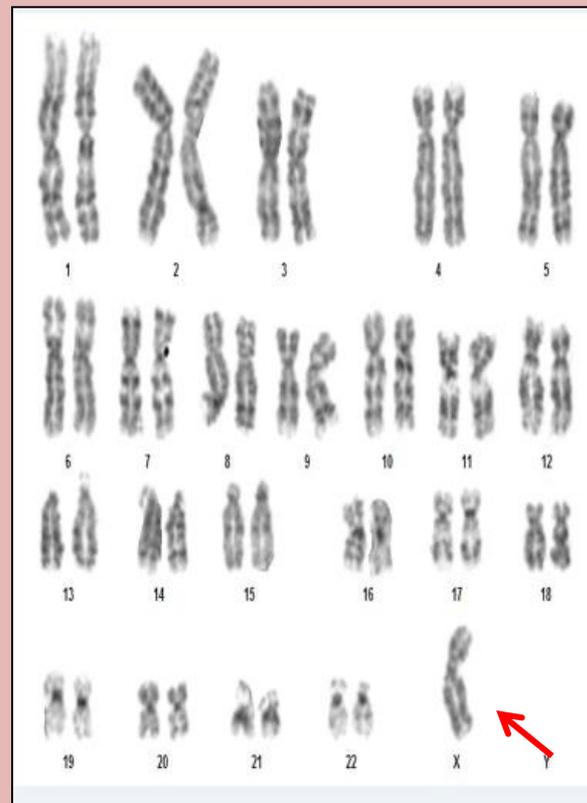
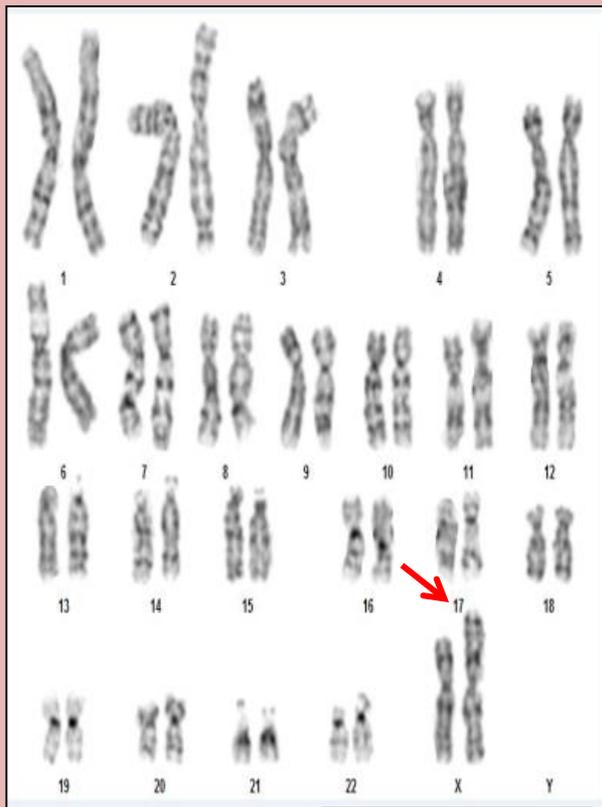
L'analisi molecolare ha evidenziato la presenza, verosimilmente, di due popolazioni di DNA con un assetto a mosaico dei cromosomi sessuali XX e X0.
Non potendo stabilire la quota in percentuale delle cellule X0 rispetto a quelle XX, per una diagnosi conclusiva si rimanda al referto del cariotipo, in corso di analisi.

Si consiglia consulenza genetica.

I risultati di tale diagnosi molecolare vanno interpretati dal Medico richiedente.

CASO CLINICO 2: il Vera Prenatal Test rileva una sospetta monosomia del cromosoma X, compatibile con la Sindrome di Turner

Cariotipo su amniociti



mos 45,X[68]/46,X,i(X)(q10)[32]

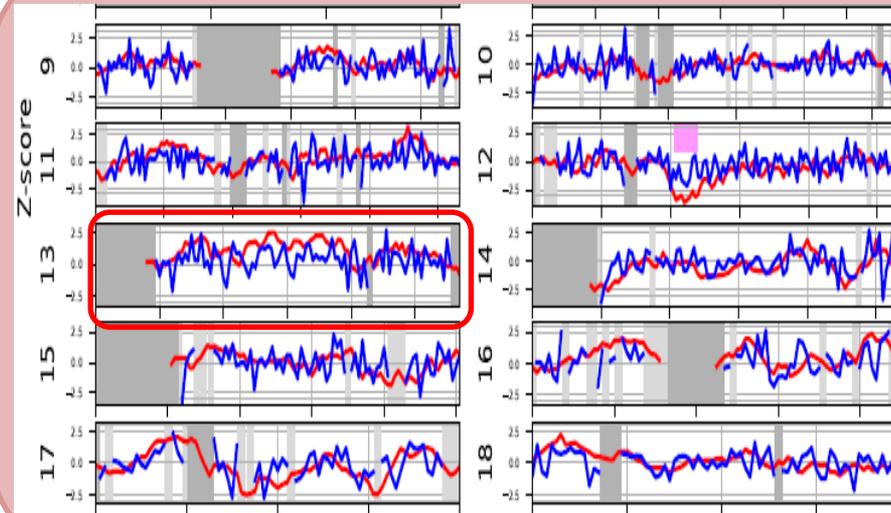
Dall'analisi di 100 metafasi analizzate, da tre distinte colture, si evidenzia la presenza di due linee cellulari, una con un'anomalia numerica del cromosoma X (monosomia X) (68%) e l'altra con anomalia strutturale del cromosoma X (isocromosoma Xq) (32%).

CASO CLINICO 3: il Vera Prenatal Test rileva una valore *borderline* per trisomia del cromosoma 13

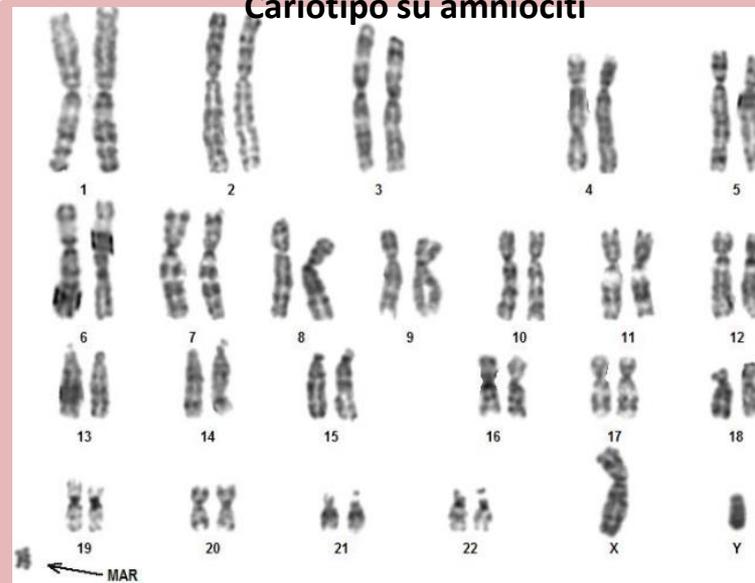
La gestante di 40 anni si presenta a 12 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal test rileva un valore al limite per trisomia del cromosoma 13.

La gestante si sottopone ad **amniocentesi**.
Il cariotipo mostra un marker soprannumerario.



Cariotipo su amniociti

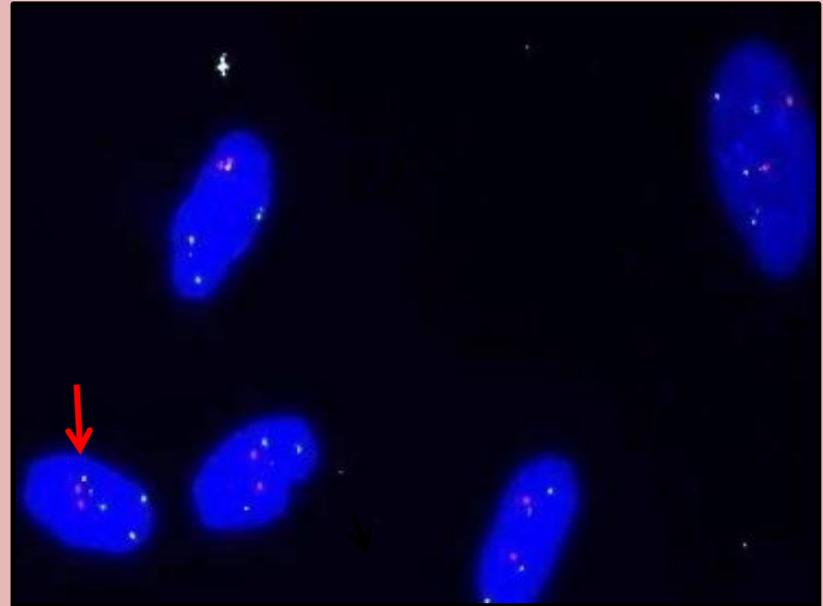


CASO CLINICO 3: il Vera Prenatal Test rileva un valore *borderline* per trisomia del cromosoma 13

La FISH caratterizza il marker come cromosoma 13.
L'analisi di Snp-Array mostra l'assenza di duplicazioni dimostrando che si tratta solo di eterocromatina (materiale genetico non codificante).



FISH (Fluorescent in situ hybridization)



Follow-up

La gestante si sottopone a consulenza genetica e decide di portare avanti la gravidanza.

CASI CLINICI 4 e 5: il Vera Prenatal Test identifica aneuploide a carico dei cromosomi sessuali

Le gestanti di 34 e 32 anni si presentano a 12 e 11 sett. di gravidanza rispettivamente.

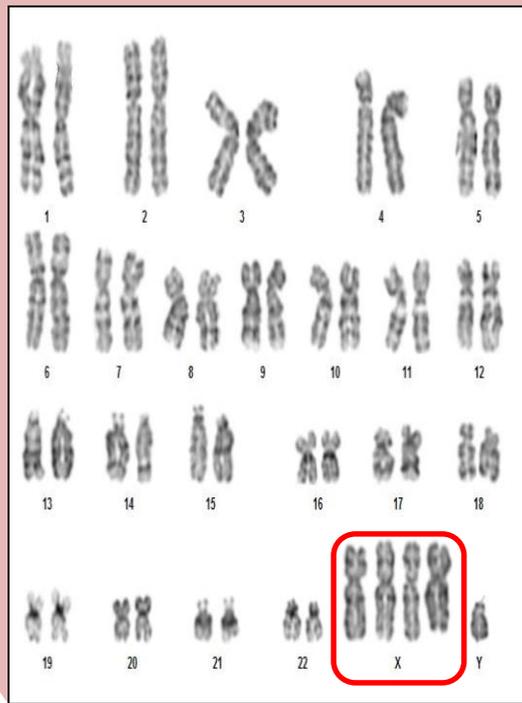
il **Vera Prenatal Test** identifica aneuploide a carico dei cromosomi sessuali.

Le gestanti si sottopongono a **villocentesi**.

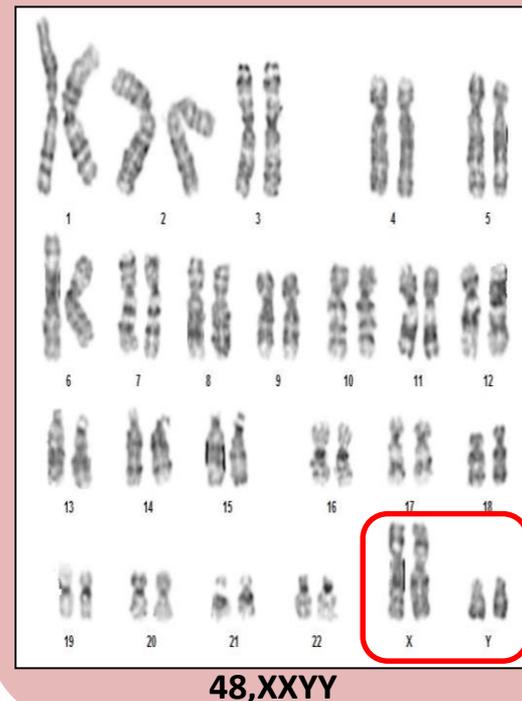
Follow-up
Le gestanti si sottopongono a consulenza genetica ed entrambe decidono di interrompere la gravidanza.

Cariotipo su villi coriali

Caso clinico 4



Caso clinico 5



CASO CLINICO 6: il Vera Prenatal Test identifica un feto di sesso femminile di cui non è stato possibile analizzare le aneuploidie dei cromosomi sessuali

La gestante di 31 anni si presenta a 10 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal test: negativo per aneuploidie dei cromosomi 13, 18, 21. Tuttavia non è stato possibile analizzare le aneuploidie dei cromosomi sessuali per una sospetta trisomia (XXX) di origine materna.

Referto Vera Prenatal Test®

CROMOSOMA	RISULTATO
Cromosoma 21	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 18	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 13	Nessuna aneuploidia rilevata
Frazione Fetale	15%

INTERPRETAZIONE

I risultati mostrano la presenza di due copie dei cromosomi 21, 18, 13.

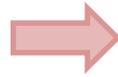
CONCLUSIONI

Pertanto, si può concludere per un feto di sesso femminile che non presenta alcuna delle aneuploidie analizzate. Tuttavia, non è stato possibile analizzare le aneuploidie a carico dei cromosomi sessuali a causa di una sospetta alterazione, verosimilmente XXX, di origine materna. Si consiglia consulenza genetica.

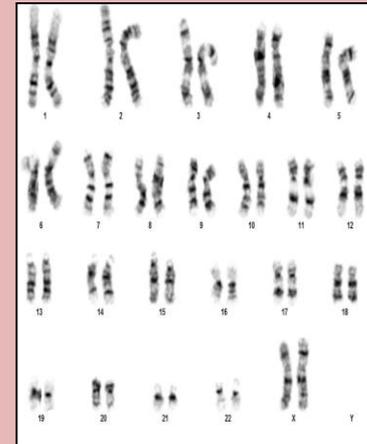
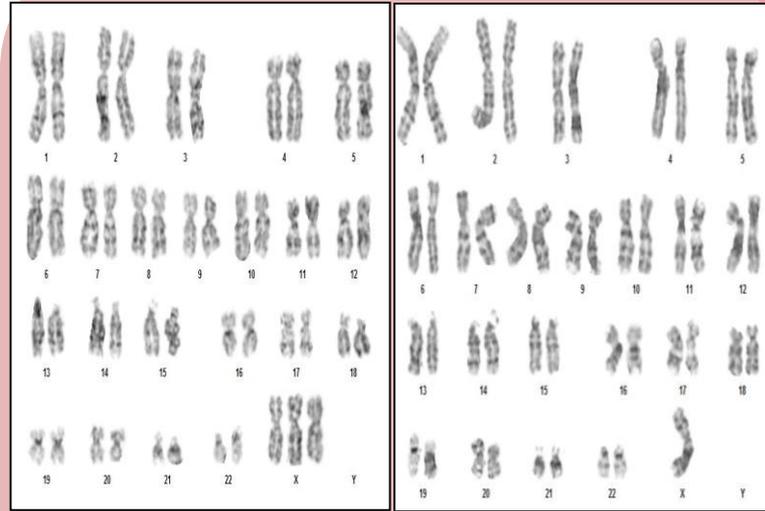
Il "Vera Prenatal Test" è un test di *screening* che può presentare falsi positivi e falsi negativi. Pertanto è necessaria la correlazione dei risultati con i dati clinici. In caso di presenza di aneuploidia per una diagnosi definitiva si consiglia villocentesi o amniocentesi.

CASO CLINICO 6: il Vera Prenatal Test identifica un feto di sesso femminile di cui non è stato possibile analizzare le aneuploidie dei cromosomi sessuali

La gestante decide di eseguire il **cariotipo** su sangue periferico (esame eseguito al Gaslini di Genova) che conferma un mosaicism con presenza di tre linee cellulari: una con trisomia X, una con monosomia X e una con un cariotipo femminile normale.



Cariotipo su sangue periferico



47,XXX [89]/45,X [7]/46,XX[4]

Follow-up

La gestante si sottopone a consulenza genetica e decide di eseguire l'amniocentesi per escludere le aneuploidie a carico dei cromosomi sessuali. Il risultato dell'amniocentesi indica 46, XX.

CASO CLINICO 7: il Vera Prenatal Test identifica un feto di sesso maschile con normale assetto cromosomico

La gestante di 34 anni si presenta a 10 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal test: feto di sesso maschile, non vengono rilevate aneuploidie.

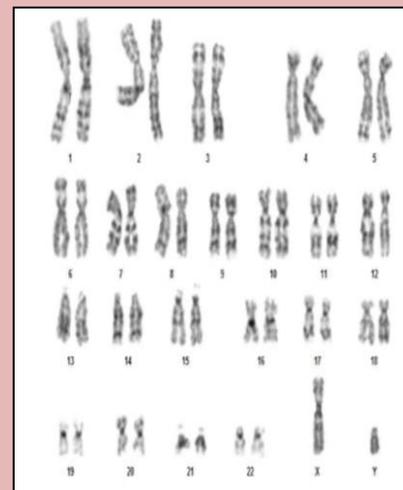
Ecografia morfologica mostra un feto di sesso femminile, discordante con i risultati del Vera Prenatal test.

La gestante si sottopone ad amniocentesi



Ecograficamente feto di sesso femminile

Cariotipo su amniociti



SESSO MASCHILE 46, XY

Detection of 46, XY Disorder of Sex Development (DSD) Based on Plasma Cell-Free DNA and Targeted Next-Generation Sequencing

Luigia De Falco ^{1,2,*}, Carmelo Piscopo ³, Rossana D'Angelo ^{1,2}, Eloisa Evangelista ^{1,2}, Teresa Suero ^{1,2}, Roberto Sirica ^{1,2}, Raffaella Ruggiero ^{1,2}, Giovanni Savarese ^{1,2}, Antonella Di Carlo ^{1,2}, Giulia Furino ^{1,2}, Ciro Scarpato ⁴ and Antonio Fico ^{1,2}

- 1 AMES, Centro Polidiagnostico Strumentale, 80013 Naples, Italy; rossanad83@icloud.com (R.D.); eloicv@hotmail.it (E.F.); teressuero@alice.it (T.S.); roberto.sirica@centroames.it (R.S.); raffaella.ruggiero@centroames.it (R.R.); giovanni.savarese@centroames.it (G.S.); dicarloantonella@hotmail.it (A.D.C.); giuliafurino2@gmail.com (G.F.); centroames@libero.it (A.F.)
 - 2 Fondazione Genetica per la Vita Onlus, Via Cuma, 80132 Naples, Italy
 - 3 Medical and Laboratory Genetic Unit, A. Cardarelli Hospital, 80131 Naples, Italy; carmelopiscopo@cardarelli.it
 - 4 Responsabile Ambulatorio Medicina Prenatale, PO S. Giuliano, 80014 Naples, Italy; dott.ciroscarpato@gmail.com
- * Correspondence: defalco@centroames.it

Abstract: Mutations in the *HSD17B3* gene cause *HSD17B3* deficiency and result in 46, XY Disorders of Sex Development (46, XY DSD). The diagnosis of 46, XY DSD is very challenging and not rarely is confirmed only at older ages, when an affected XY female presents with primary amenorrhea or develops progressive virilization. The patient described in this paper represents a case of discrepancies between non-invasive prenatal testing (NIPT) and ultrasound based fetal sex determination detected during prenatal screening. Exome sequencing was performed on the cell free fetal DNA (cffDNA), amniotic fluid, and the parents. Libraries were generated according to the manufacturer's protocols using TruSight One Kits (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Sequencing was carried out on NEXT Seq 500 (Illumina) to mean sequencing depth of at least 100x. A panel of sexual disease genes was used in order to search for a causative variant. The finding of a mutation (c.645 A>T, p.Glu215Asp) in *HSD17B3* gene in amniotic fluid as well as in cffDNA and both parents supported the hypothesis of the *HSD17B3* deficiency. In conclusion, we used clinical exome sequencing and non-invasive prenatal detection, providing a solution for NIPT of a single-gene disorder. Early genetic diagnoses are useful for patients and clinicians, contribute to clinical knowledge of DSD, and are invaluable for genetic counseling of couples contemplating future pregnancies.

Keywords: 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency; *HSD17B3* gene; non-invasive prenatal testing (NIPT); whole exome sequencing (WES); sex discordance

CASO CLINICO 7: il Vera Prenatal Test identifica un feto di sesso maschile con normale assetto cromosomico

Vera OMNIA Plus: rileva una mutazione nel gene HSD17B3 coinvolto nel differenziamento sessuale.

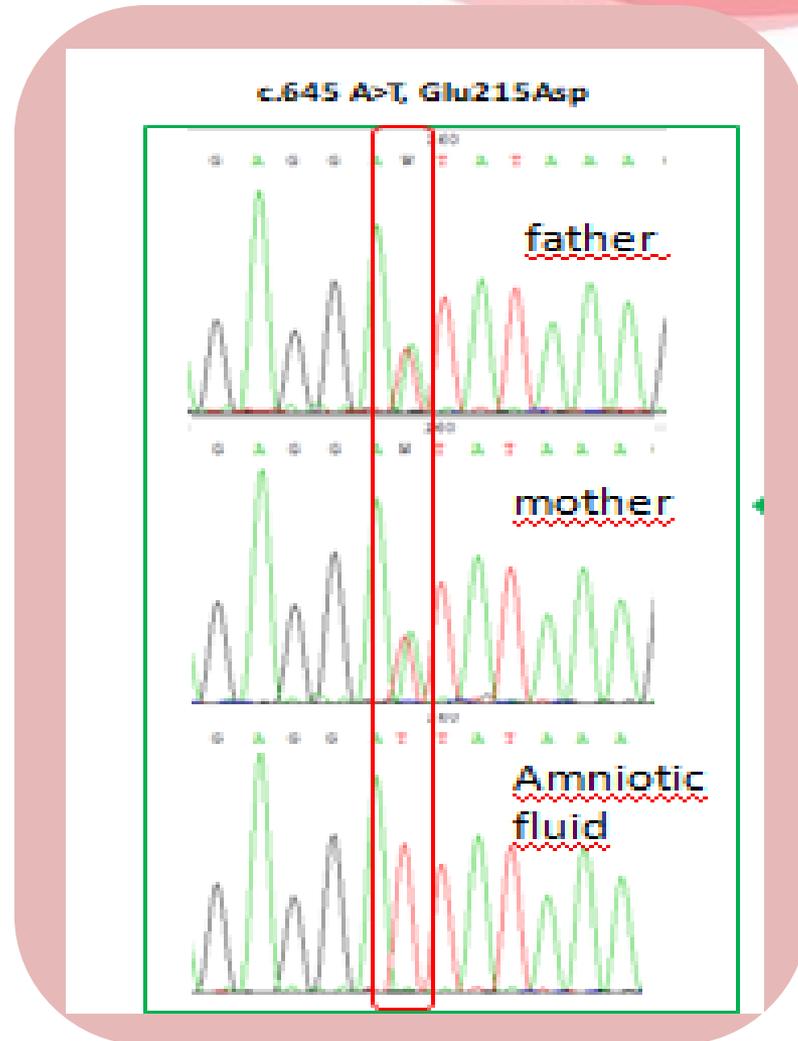
La gestante si sottopone ad **amniocentesi** ed il cariotipo conferma i risultati del Vera Omnia.

L'analisi della sequenza della mutazione riscontrata dal Vera Omnia Plus, estratto da amniociti, conferma che il feto presenta una mutazione in omozigosi, mutazione presente in eterozigosi nella coppia.

Follow-up

La coppia si sottopone a consulenza genetica e decidono di interrompere la gravidanza. Avranno un rischio di ricorrenza del 25%.

Mutazione patogenetica in omozigosi nel gene HSD17B3, coinvolto nel differenziamento sessuale, nel DNA estratto da amniociti.



CASO CLINICO 8: il Vera Prenatal Test non è riuscito a determinare l'assetto dei cromosomi 13, 18, 21 e dei cromosomi sessuali per la presenza di alterazioni a carico di diversi cromosomi autosomici.

La gestante di 28 anni si presenta a 16 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal Test non è riuscito a determinare l'assetto dei cromosomi 13, 18, 21 e dei cromosomi sessuali

Referto Vera Prenatal Test®

CROMOSOMA	RISULTATO
Cromosoma 21	---
Cromosoma 18	---
Cromosoma 13	---
Cromosomi sessuali	---

CONCLUSIONI

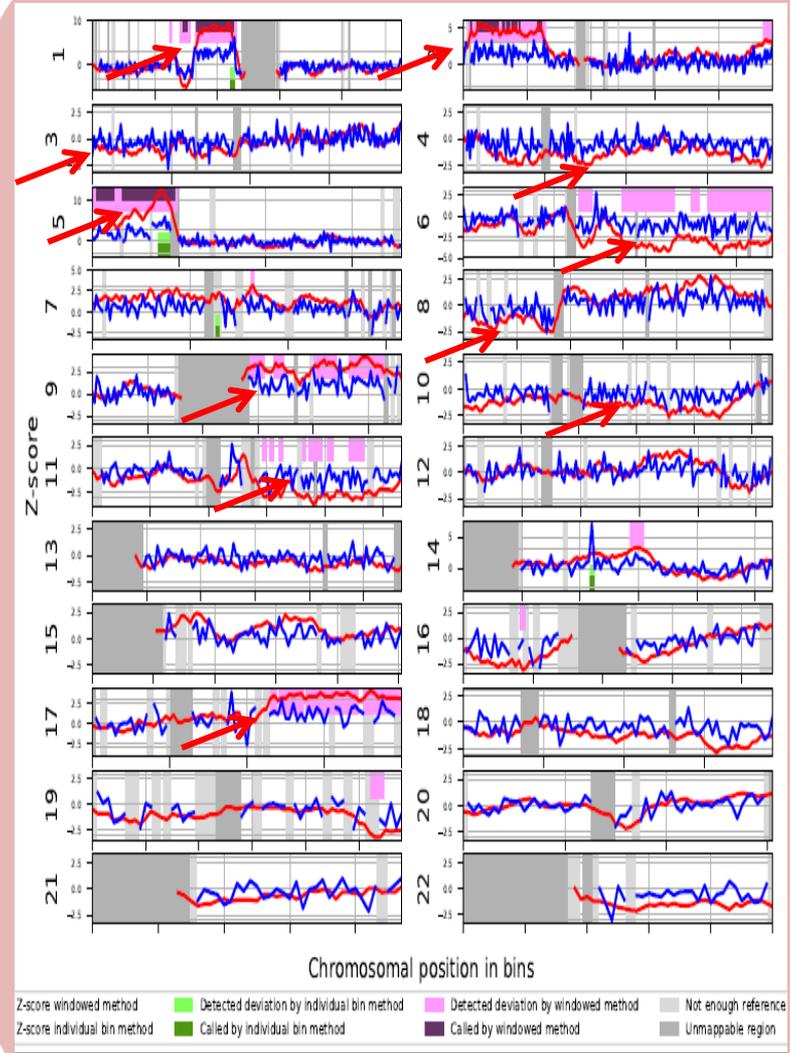
Non è stato possibile determinare l'assetto dei cromosomi: 21, 18, 13 e dei cromosomi sessuali per la presenza di anomalie a carico di alcuni cromosomi autosomici, alterazioni verosimilmente di origine placentare. Pertanto, si consiglia consulenza genetica ed eventuale analisi del cariotipo fetale mediante tecnica invasiva (villocentesi / amniocentesi).

Il "Vera Prenatal Test" è un test di screening che può presentare falsi positivi e falsi negativi. Pertanto è necessaria la correlazione dei risultati con i dati clinici. In caso di presenza di aneuploidia per una diagnosi definitiva si consiglia villocentesi o amniocentesi.

CASO CLINICO 8: il Vera Prenatal Test non è riuscito a determinare l'assetto dei cromosomi 13, 18, 21 e dei cromosomi sessuali per la presenza di alterazioni a carico di diversi cromosomi autosomici.

Vera Prenatal Test PLUS identifica diverse alterazioni a carico di numerosi cromosomi autosomici.

La gestante decide di sottoporsi a consulenza genetica e di eseguire un'amniocentesi. Il feto risulta 46,XY. Inoltre viene inviata a consulenza ematologica che conferma la presenza, nella gestante, di un linfoma non Hodgkin. Il Vera Prenatal test ha avuto un risultato anomalo per la presenza, nel sangue della gestante, di DNA tumorale.



CASO CLINICO 9 ACCETTATO PER LA PUBBLICAZIONE SULLA RIVISTA "Clinical Case Report"
"Detection of SRY-positive 46,XX male syndrome by the analysis of cell-free foetal DNA via non-invasive prenatal testing (NIPT)".

Il Vera Prenatal test identifica un feto di sesso femminile, con presenza parziale del cromosoma Y.

[Clin Case Rep.](#) 2019 Oct; 7(10): 1977–1981.
Published online 2019 Sep 7. doi: [10.1002/ccr3.2389](https://doi.org/10.1002/ccr3.2389)

PMCID: PMC6787777
PMID: [31624621](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31624621/)

Detection of SRY-positive 46,XX male syndrome by the analysis of cell-free fetal DNA via non-invasive prenatal testing

[Luigia De Falco](#),^{✉ 1} [Giovanni Savarese](#),¹ [Teresa Suero](#),¹ [Sonia Amabile](#),² [Raffaella Ruggiero](#),¹ [Pasquale Savarese](#),¹ and [Antonio Fico](#)¹

[▶ Author information](#) ▶ [Article notes](#) ▶ [Copyright and License information](#) [Disclaimer](#)

This article has been [cited by](#) other articles in PMC.

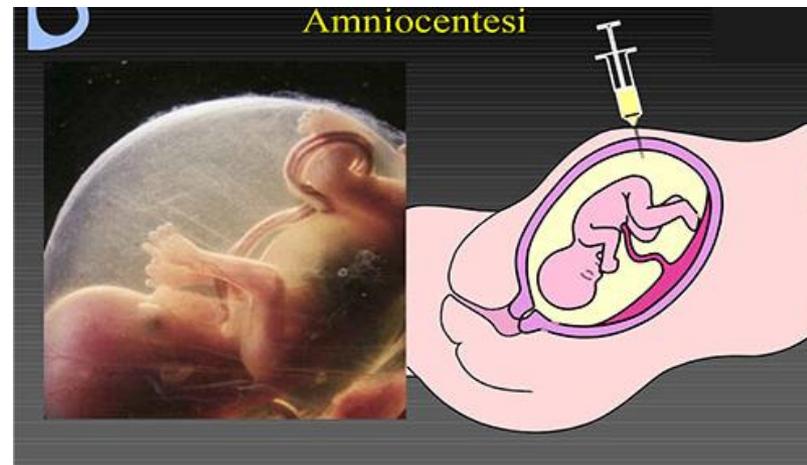
Abstract

Go to: [☑](#)

Referto Vera Prenatal Test®

CROMOSOMA	RISULTATO
Cromosoma 21	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 18	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 13	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosomi sessuali	---
Frazione Fetale	12%

La gestante si sottopone al Vera Prenatal Test a 12+2 sett. di gestazione. Il test rileva un feto di sesso femminile con presenza parziale del cromosoma Y.



CASO CLINICO 9 ACCETTATO PER LA PUBBLICAZIONE SULLA RIVISTA
"Clinical Case Report"

"Detection of SRY-positive 46,XX male syndrome by the analysis of cell-free foetal DNA via non-invasive prenatal testing (NIPT)".

Il Vera Prenatal test identifica un feto di sesso femminile, con presenza parziale del cromosoma Y.

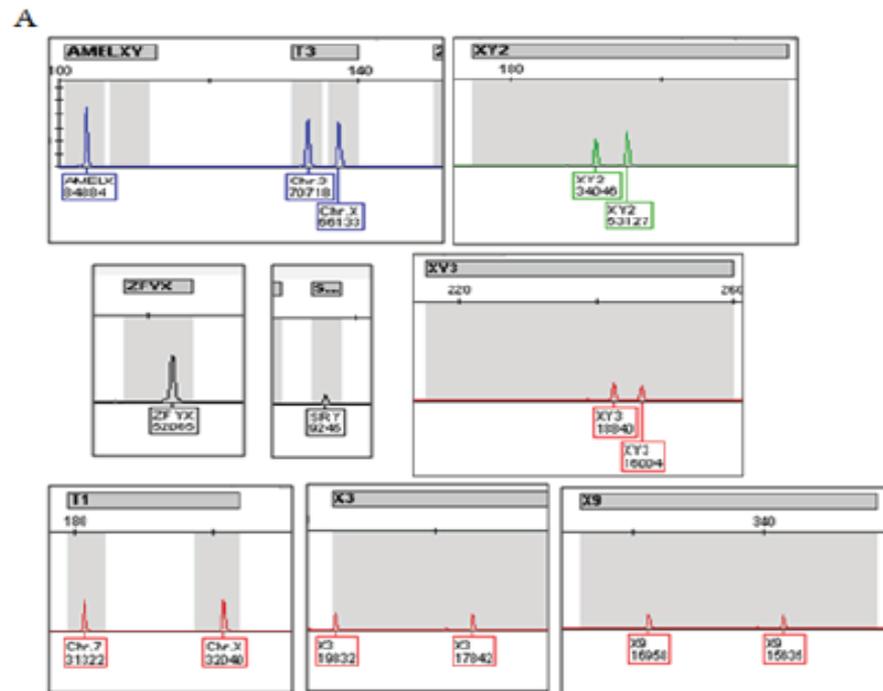
Ecograficamente, a 16 settimane di gestazione, il ginecologo riferisce che il feto è di sesso maschile.

La gestante, dopo consulenza genetica, si sottopone ad amniocentesi.

- QfPCR: rileva un'alterazione dei cromosomi sessuali ma si rimanda all'analisi citogenetica convenzionale per meglio definire tale anomalia.

In figura è mostrata la QF-PCR effettuata su liquido amniotico, dove è evidente la presenza di SRY.

Figure 1

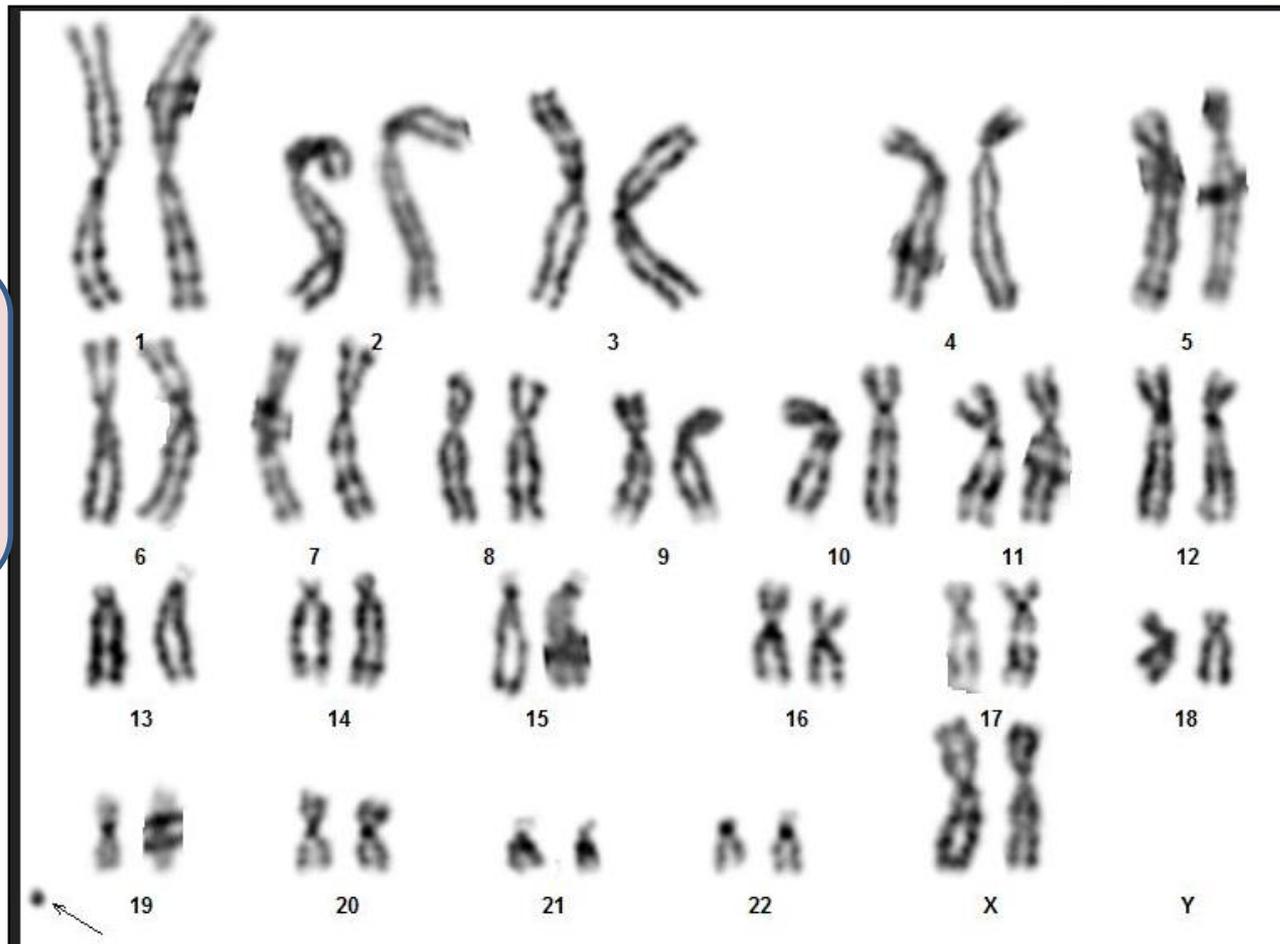


CASO CLINICO 9 ACCETTATO PER LA PUBBLICAZIONE SULLA RIVISTA
"Clinical Case Report"

"Detection of SRY-positive 46,XX male syndrome by the analysis of cell-free foetal DNA via non-invasive prenatal testing (NIPT)".

Il Vera Prenatal test identifica un feto di sesso femminile, con presenza parziale del cromosoma Y.

Il cariotipo su liquido amniotico mostra il seguente risultato:
47,XX+mar.



Karyotype: 47,XX, + mar

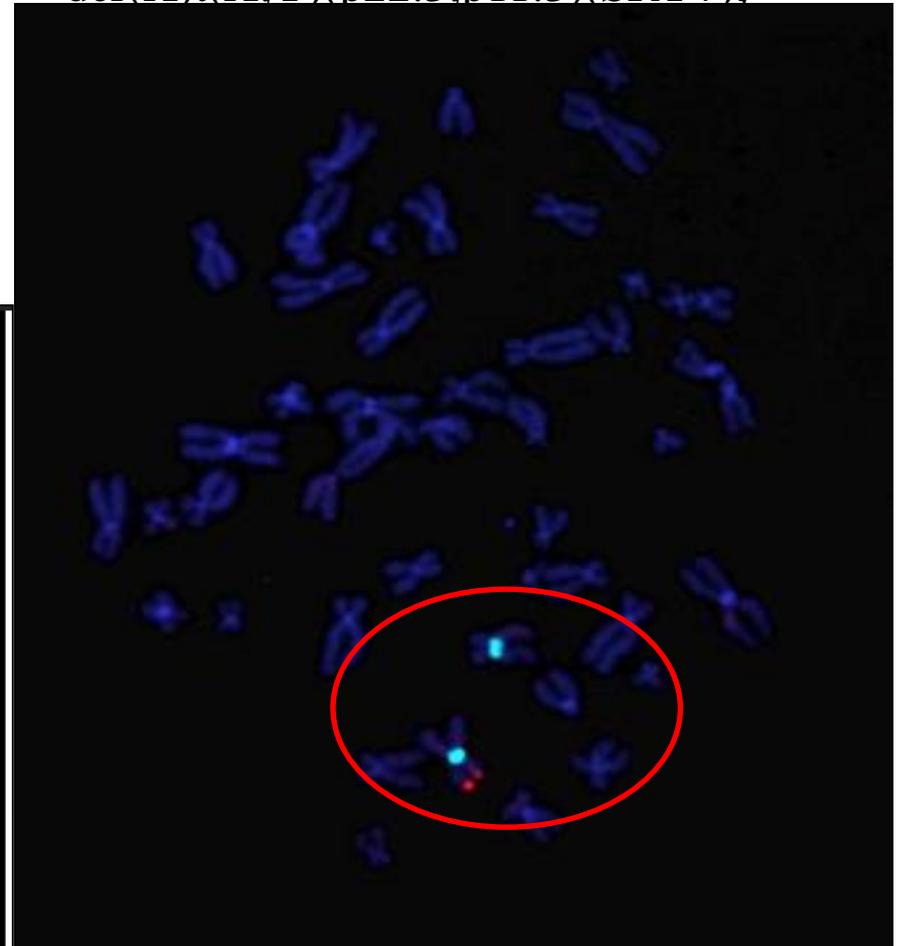
CASO CLINICO 9 ACCETTATO PER LA PUBBLICAZIONE SULLA RIVISTA
"Clinical Case Report"

"Detection of SRY-positive 46,XX male syndrome by the analysis of cell-free foetal DNA via non-invasive prenatal testing (NIPT) "

Il Vera Prenatal test identifica un feto di sesso femminile, con presenza parziale del cromosoma Y.

La tecnica FISH evidenzia la presenza del gene SRY localizzato sul cromosoma X (segnale rosso pannello A), confermando i risultati del test NIPT. Viene inoltre caratterizzato il marcatore molecolare, presente come segnale sul cromosoma 17 (in verde pannello B).

47,XX, +mar, ish
der(X)t(X;Y)(p22.3;p11.3)(SRY+),



Casi clinici Vera-Plus Prenatal Test

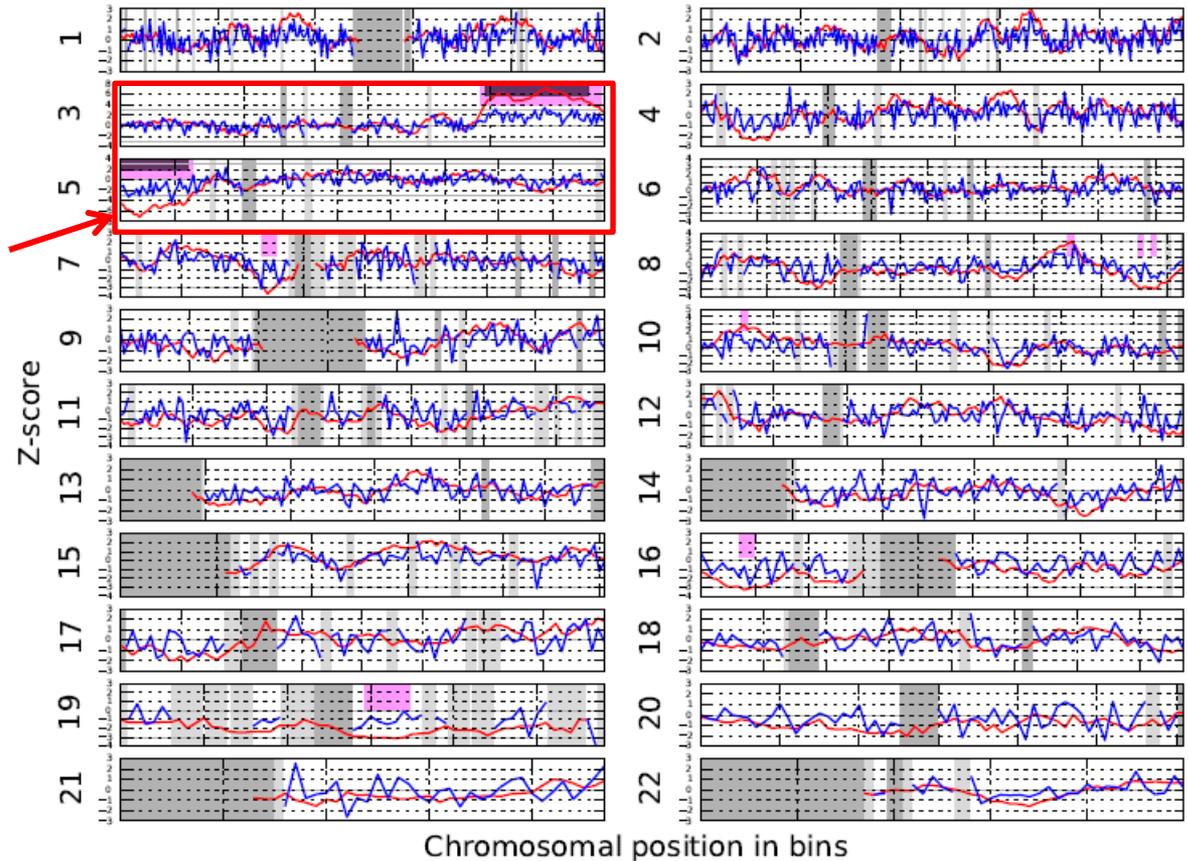
Aneuploidie di tutti i cromosomi autosomici più macrodelezioni e macroduplicazioni > 7 Mb

CASO CLINICO 10: il Vera Prenatal Test PLUS rileva una duplicazione parziale del cromosoma 3 ed una delezione parziale del cromosoma 5

Sample NIPT2017-325

La gestante di 20 anni si sottopone al Vera Prenatal Test Plus a 11 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal Test PLUS mostra una duplicazione di parte del cromosoma 3 e una delezione di parte del cromosoma 5.



CASO CLINICO 10: il Vera Prenatal Test PLUS rileva una duplicazione parziale del cromosoma 3 ed una delezione parziale del cromosoma 5

La gestante si sottopone ad **amniocentesi**:
Cariotipo femminile con una variante strutturale a carico di uno dei cromosomi della coppia 5. Si consiglia consulenza genetica e cariotipo dei genitori del probando.

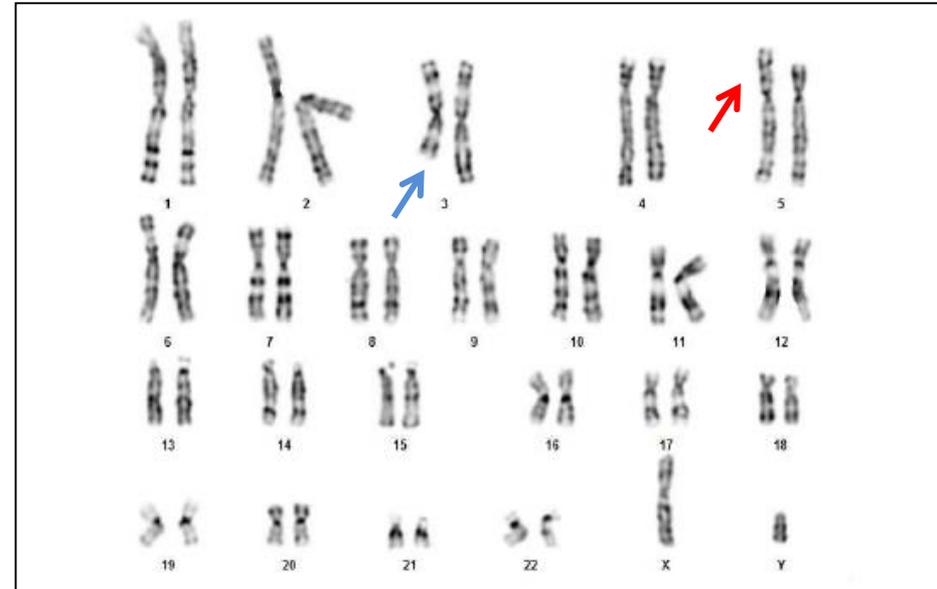
Il cariotipo paterno mostra una traslocazione apparentemente bilanciata tra il braccio lungo di un cromosoma della coppia 3 ed il braccio corto di un cromosoma della coppia 5.

Cariotipo da liquido amniotico

Cariotipo paterno da sangue periferico



46,XX,der(5)pat

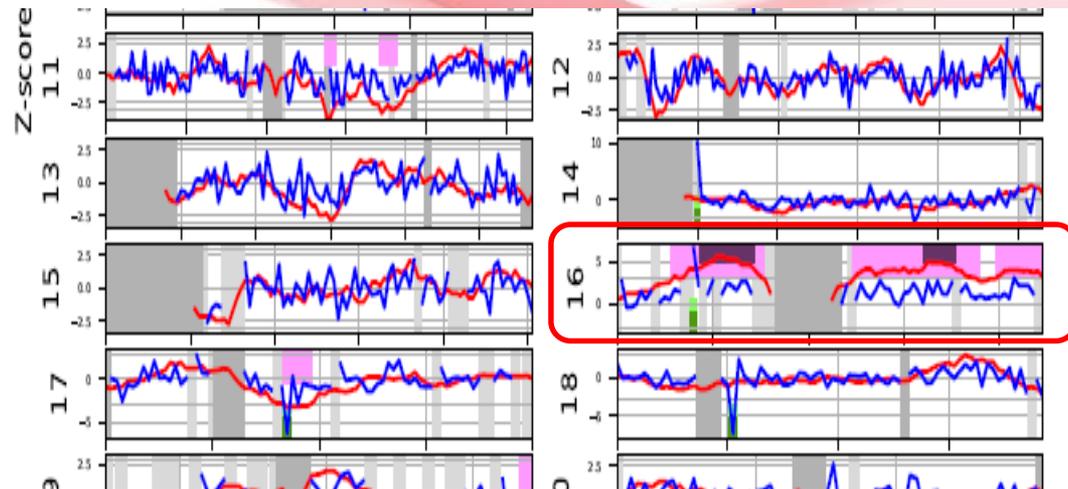
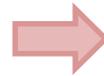


46,XY,t(3;5)(q24;p15)mat

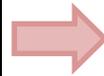
CASO CLINICO 11: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 16

La gestante di 31 anni si sottopone al Vera Prenatal Test Plus a 11 sett. di gravidanza

Vera Prenatal test PLUS rileva una trisomia del cromosoma 16



La gestante si sottopone a **villocentesi** presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria Città della salute e della scienza di Torino. Il risultato conferma una duplicazione dell'intero cromosoma 16. Tuttavia la gravidanza procede senza problemi e non vengono riscontrate alterazioni all'ecografia.



Risultato:

Qualità dell'esperimento array-CGH: ottimo

Codice array: 252192442864_1_2 (griglia di analisi 021924_D_F_20101001)

L'analisi eseguita il DNA fetale estratto da un campione di villi coriali della [redacted] ha evidenziato una duplicazione dell'intero cromosoma 16.

Il risultato, secondo l'attuale nomenclatura, è riportato come segue:

arr[GRCCh37] 16p13.3q24.3(100271_90111263)x3

arr[GRCCh37](X)x2

La contaminazione del DNA fetale da parte di quello materno è stata esclusa attraverso l'analisi di 15 marcatori polimorfici (PowerPlex® 16 HS System, Promega).

CASO CLINICO 11: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 16

La gestante si sottopone ad **Amniocentesi**: viene riscontrato un mosaicismo del cromosoma 16.
47,XX,+16[3]/46,XX[15]



La gestante si sottopone a consulenza genetica.

Risultato

47,XX,+16[3]/46,XX[15]

Osservazioni

Cariotipo femminile con due linee cellulari:

- la prima (3 colonie da 3 colture) a 47 cromosomi con trisomia 16;
- la seconda (15 colonie da 3 colture) con cariotipo normale (46,XX)

Si consiglia consulenza genetica.

Follow-up

La gestante esegue **ecografia** a **20+3** che evidenziano valori biometrici fetali al 10° centile per estremo cefalico e circonferenza addominale, <5° per ossa lunghe.

La coppia decide di portare avanti la gravidanza.

CASO CLINICO 11b: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 16

Referto Vera Test con Microdelezioni

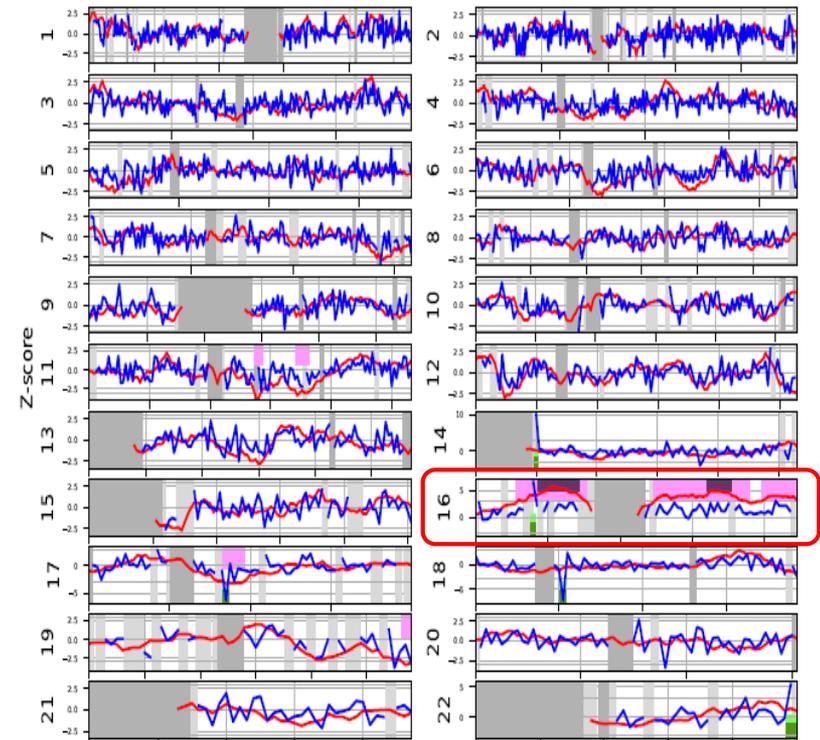
ANEUPLOIDIE AUTOSOMICHE

CROMOSOMA	RISULTATO
Cromosoma 9	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 13	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 16	ANEUPLOIDIA RILEVATA
Cromosoma 18	Nessuna aneuploidia rilevata
Cromosoma 21	Nessuna aneuploidia rilevata

ANEUPLOIDIE DEI CROMOSOMI SESSUALI

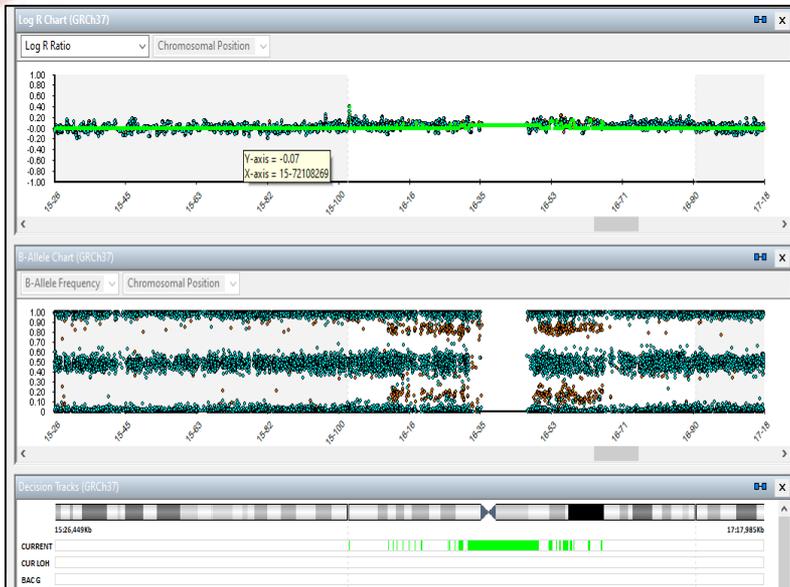
Sesso fetale	CROMOSOMI XX
Monosomia X (Sindrome di Turner)	Nessuna aneuploidia rilevata
XXX (Sindrome della tripla X)	Nessuna aneuploidia rilevata
XYY (Sindrome di Jacobs)	Nessuna aneuploidia rilevata
XXY (Sindrome di Klinefelter)	Nessuna aneuploidia rilevata

Trisomia 16



CASO CLINICO 11b: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 16

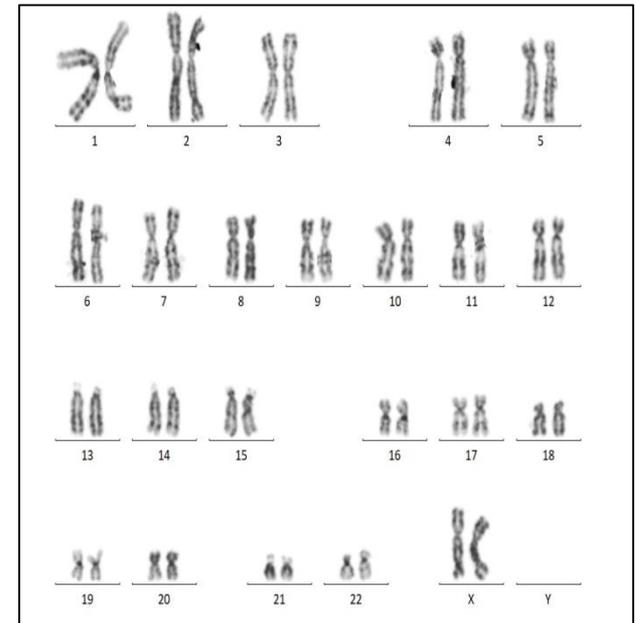
SNP-Array



arr[GRCh37] 16p13.13-q21(11,579,116-66,394,247)x4 mos

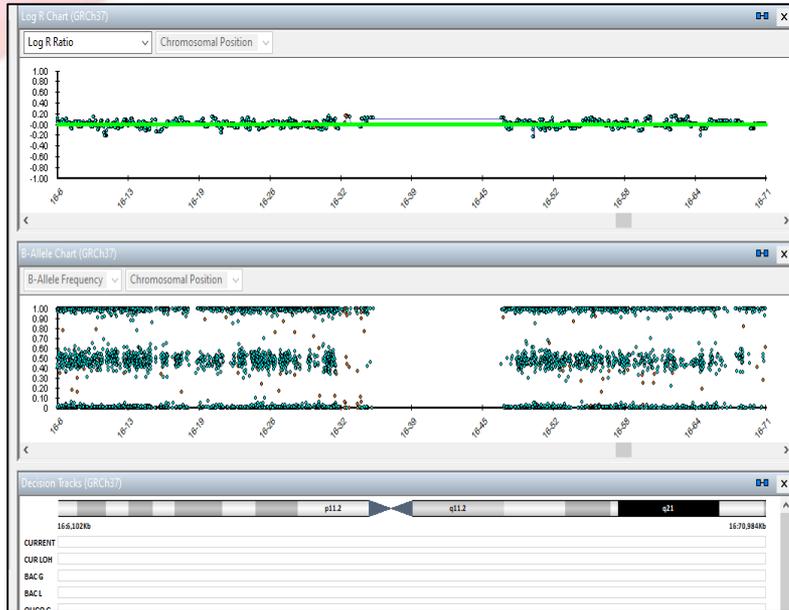
L'analisi ha evidenziato la presenza di una duplicazione, a mosaico, con un'estensione di circa 55 Mbp, presente a livello della citobanda p13.13-q21 sul cromosoma 16, con intervallo dal nucleotide 11,579,116 al nucleotide 66,394,247.

Cariotipo



CASO CLINICO 11b: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 16

SNP Array da cellule tripsinizzate



arr(1-22,X)x2

Mosaicismo
confinato alla
placenta?

Possibile
contaminazione
del liquido
amniotico?

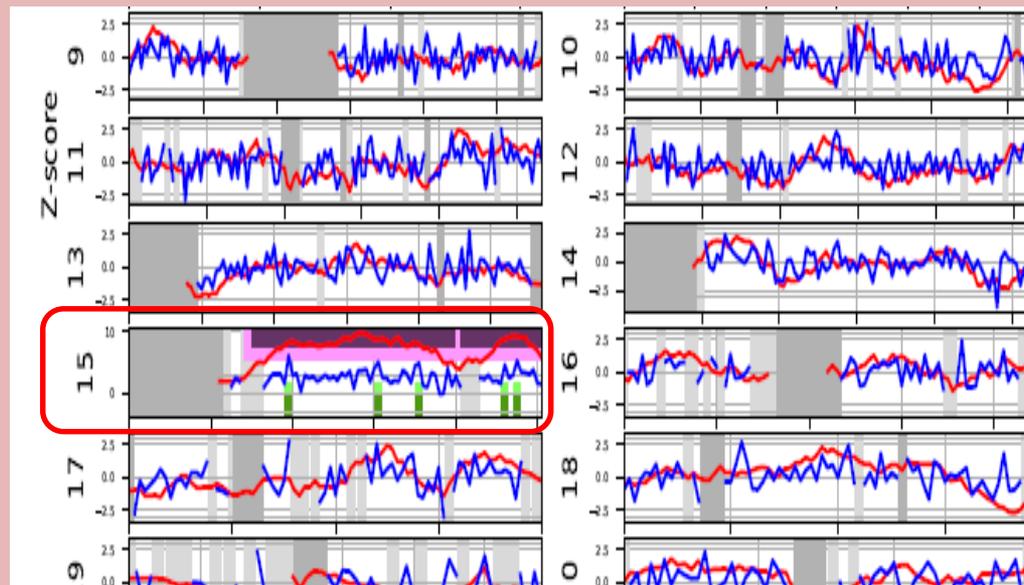
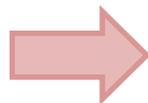
LINEE GUIDA SIEOG
Edizione 2015

E' opportuno eliminare la prima parte del campione (0,5-1 ml) che potrebbe contenere cellule non fetali e falsare l'interpretazione dei risultati (Livello di raccomandazione B). Si effettua quindi il prelievo di una quantità di liquido amniotico corrispondente in millilitri alle settimane di gravidanza e comunque non eccedente 20 ml (Livello di raccomandazione B).

CASO CLINICO 12: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 15

La gestante di 37 anni si presenta a 15 sett. di gravidanza.

Vera Prenatal test PLUS positivo per trisomia del cromosoma 15.



La gravidanza procede regolarmente senza riscontri ecografici di anomalie. La coppia decide, dopo consulenza genetica, di sottoporsi ad amniocentesi che viene eseguita presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria Città della Salute e della Scienza di Torino.

CASO CLINICO 12: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 15

Cariotipo su amniociti

L'esame sul campione di liquido amniotico mostra la presenza di assetto trisomico a mosaico di basso grado del cromosoma 15, inoltre, l'analisi di segregazione del cromosoma 15 mostra la presenza di disomia uniparentale materna.

Follow-up
La coppia decide di interrompere la gravidanza.

ESAMI GENETICI ESEGUITI SUL CAMPIONE DI LIQUIDO AMNIOTICO

- Test rapido (QF-PCR) per aneuploidie dei cromosomi 13, 18, 21 e pannello aggiuntivo per i cromosomi 15, 16 e 22: presenza di assetto trisomico a mosaico di basso grado del cromosoma 15;
- Esame del cariotipo fetale: 46,XY [cariotipo maschile normale in tutte e 24 le colonie esaminate];
- Analisi di segregazione del cromosoma 15: presenza di disomia uniparentale materna per il cromosoma 15;

Locus e posizione	Genotipo			N.alleli paterni/maternali	Interpretazione
	Padre	Madre	Figlio		Commento
D15S818 (15q22.33)	2/3	1/3	3/3		non informativo
D15S643 (15q21.2)	1/2	3/3	3/3	-/due	isodisomia materna
D15S822 (15q13.1)	1/2	3/3	3/3	-/due	isodisomia materna
D15S637 (15q26.2)	1/2	3/4	3/4	-/due	eterodisomia materna
D15S817 (15q12)	2/4	1/3	1/3	-/due	eterodisomia materna
D15S816 (15q26.1)	2/2	1/2	1/2		non informativo
D15S639 (15q14)	2/4	1/3	1/3	-/due	eterodisomia materna
D15S1513 (15q13.1)	2/3	1/2	1/2		non informativo
D15S1365 (15q13.1)	1/3	2/4	2/4	-/due	eterodisomia materna

CASO CLINICO 13: il Vera Prenatal Test Plus rileva una trisomia del cromosoma 22

La gestante di 39 anni si presenta a 11 sett. di gravidanza.

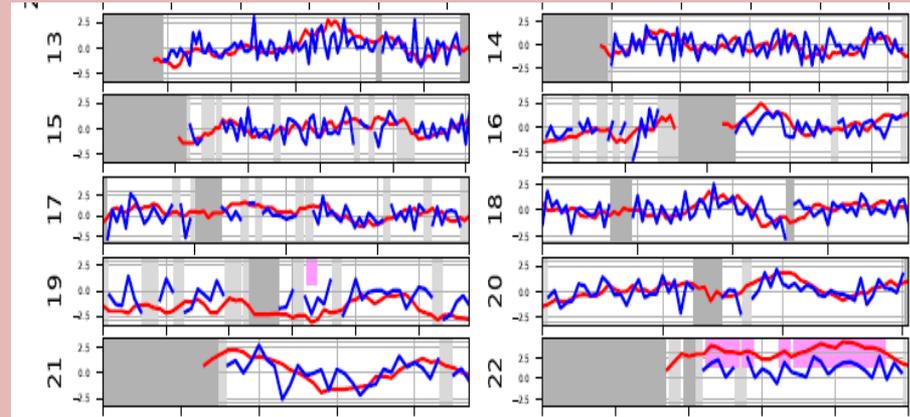
Vera Prenatal test PLUS positivo per trisomia del cromosoma 22.

Aborto spontaneo a 15 settimane di gestazione.

La coppia decide di eseguire un cariotipo sul materiale abortivo che conferma una trisomia del cromosoma 22 a mosaico.

Follow-up

La gestante si sottopone a consulenza genetica per verificare il rischio di ricorrenza.



Cariotipo su materiale abortivo



mos 47,XX, +22[3]/46,XX[17]

Casi clinici Vera-OMNIA Prenatal Test
Patologie monogeniche a trasmissione ereditaria o de novo



MALATTIE AD ELEVATA INCIDENZA RILEVATE CON
Vera OMNIA-PLUS®

Fibrosi Cistica	CFTR
Sordità ereditaria tipo 1A	CX26 (GJB2)
Sordità ereditaria tipo 1B	CX30 (GJB6)
Beta talassemia	HBB
Anemia falciforme	HBB
Fenilchetonuria	PAH

Ipotiroidismo congenito ereditario

DUOX2, DUOXA2, FOXE1, FOXI1, HESX1, IYD,
KCNJ10, LHX3, LHX4, NKX2-1, NKX2-5, PAX3,
PAX8, POU1F1, PROP1, SECISBP2, SLC16A2,
SLC26A4, SLC5A5, TG, THRA, THRB, TPO, TSHB,
TSHR, UBR1

Retinite pigmentosa

Casi clinici Vera-OMNIA Prenatal Test

Patologie monogeniche a trasmissione ereditaria o de novo

CASO CLINICO 14: il Vera OMNIA identifica due mutazioni nel gene CFTR, responsabile della Fibrosi Cistica

La gestante di 30 anni si presenta a 21 sett. di gravidanza, la morfologica rileva intestino iperecogeno.

Vera OMNIA identifica 2 mutazioni nel gene CFTR.

Referto VERA OMNIA

RISULTATI

L'analisi del DNA libero circolante (cfDNA) eseguita sul campione biologico in esame, ha RILEVATO le seguenti mutazioni:

- CFTR p.Phe508del (c.1521_1523delCTT, NM_000492.3, rs113993960) in ETEROZIGOSI di origine materna.
- CFTR p.Leu1077Pro (c.3230T>C, NM_000492.3, rs139304906) in ETEROZIGOSI di origine paterna.
- GJB2 (c.-22-2A>C, NM_004004.5, rs201895089) in ETEROZIGOSI di origine materna.

Sesso fetale: Femmina.

Frazione fetale: 14%

Coverage medio: >600X

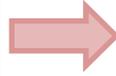
Rischio di risultati: Falsi Positivi <0.1%

CONCLUSIONI

Le mutazioni rilevate nel gene CFTR sono compatibili con un risultato di RISCHIO ALTO per il feto, in quanto la patologia correlata, la Fibrosi Cistica, è associata ad ereditarietà autosomica recessiva, pertanto sono necessarie due mutazioni *in trans* nello stesso gene per dare malattia, o che tali varianti siano presenti in omozigosi nel feto.

CASO CLINICO 14: il Vera OMNIA identifica due mutazioni nel gene CFTR, responsabile della Fibrosi Cistica

Sequenziamento del gene CFTR nei genitori per l'analisi di segregazione



Il risultato del VERA OMNIA è confermato mediante amniocentesi.

La gestante si sottopone a consulenza genetica. Le viene riferito che il feto sarà affetto da fibrosi cistica, decide di portare avanti la gravidanza.

Analisi DNA materno

Indagine richiesta: Variante c.1521_1523delCTT (p.Phe508del NM_000492.3 gene CFTR)

RISULTATI

GENE ID	VARIANTE GENICA RICERCATA	RISULTATO
CFTR	c.1521_1523delCTT	Variante Presente

L'analisi molecolare eseguita sul DNA estratto dal sangue periferico del paziente in esame, utilizzando le metodiche di seguito descritte e per quello che le stesse possono rivelare a livello genico, ha evidenziato la variante c.1521_1523delCTT in eterozigosi nel gene CFTR. Si consiglia consulenza genetica.

I risultati di tale diagnosi molecolare vanno interpretati dal Medico richiedente e/o dal Medico Genetista tenendo conto degli altri risultati di laboratorio, del quadro clinico e dei dati anamnestici del paziente.

Analisi DNA paterno

RISULTATI

L'analisi molecolare del gene CFTR ha rilevato, in eterozigosi, la presenza della mutazione c.3230 T>C (p.L1077P); pertanto, il paziente in esame risulta portatore di Fibrosi Cistica con il seguente genotipo: c.[3230 T>C];[-].

Il polimorfismo Tn è risultato TT in omozigosi (genotipo non associato a patologia).

Commento:

Poiché la Fibrosi Cistica è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica recessiva si consiglia di estendere l'analisi genetica ai consanguinei per l'identificazione dei portatori, nonché al partner ai fini di un' eventuale procreazione.

Presso il nostro laboratorio è possibile eseguire, ove richiesto, un approfondimento dell'analisi molecolare del gene CFTR, mediante utilizzo di metodiche che abbiano un maggiore detection rate (sequenziamento diretto e ricerca di macrodelezioni del gene CFTR, detection rate: 94%).

Si consiglia consulenza genetica

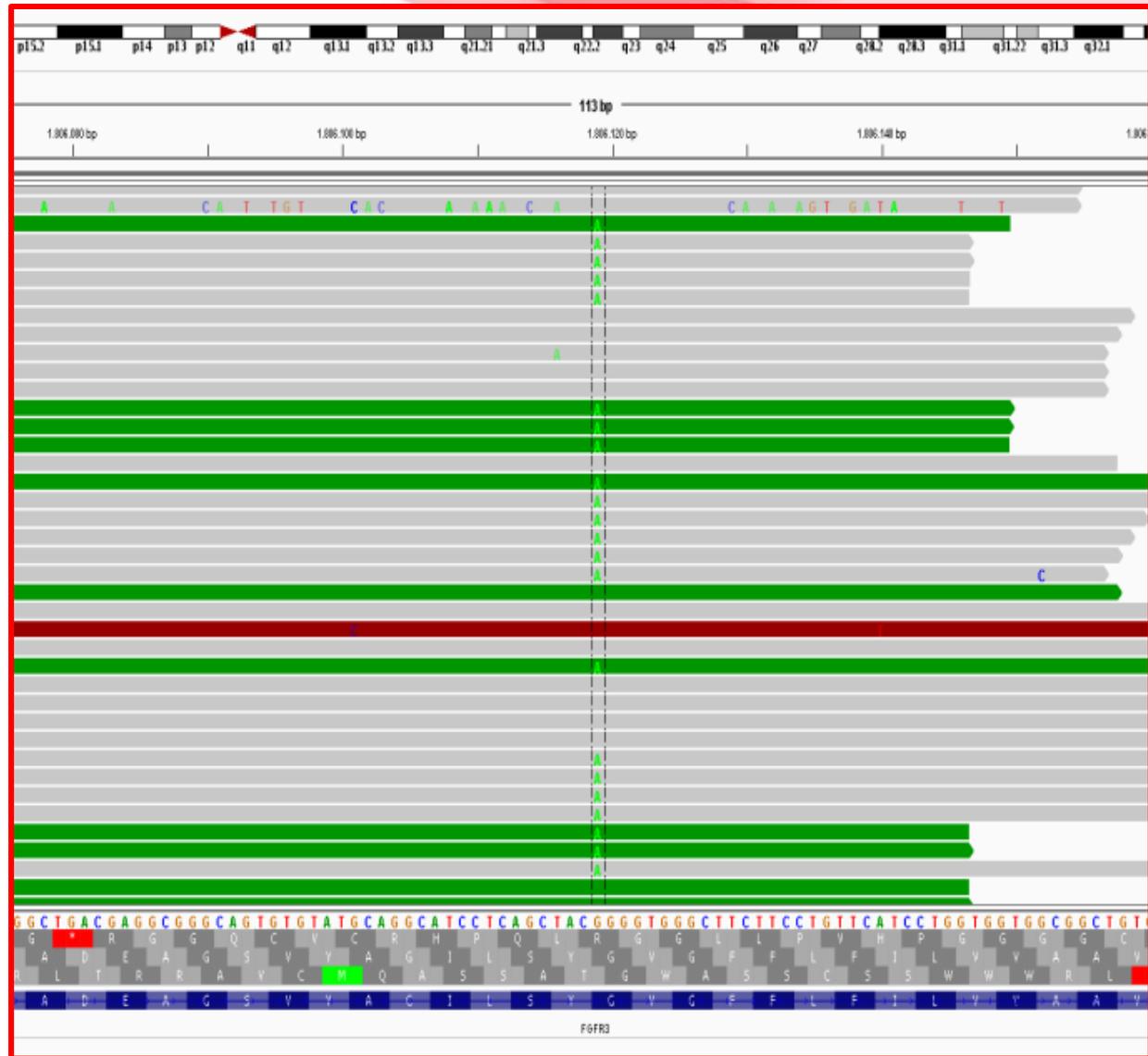
I risultati di tale diagnosi molecolare vanno interpretati dal Medico genetista tenendo conto del quadro clinico e dei dati anamnestici del paziente.

CASO CLINICO 15: il Vera OMNIA identifica una mutazione nel gene FGFR3, responsabile dell'Acondroplasia

La gestante di 36 anni si presenta alla 13^a sett. di gravidanza

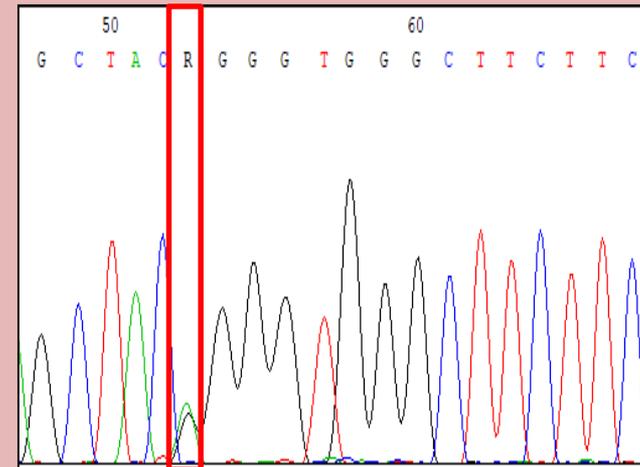
Vera OMNIA identifica una mutazione nel gene FGFR3

Sequenziamento del gene FGFR3 nei genitori per l'analisi di segregazione: mutazione non presente, quindi è «*de novo*»



CASO CLINICO 15: il Vera OMNIA identifica una mutazione nel gene FGFR3, responsabile dell'Acondroplasia

Analisi di sequenza su amniociti



Il risultato del **VERA OMNIA** è confermato dall'**amniocentesi**

La gestante si sottopone a consulenza genetica e decide di interrompere la gravidanza.

Indagine richiesta: Variante c.1138G>A (p.Gly380Arg, NM_000142 gene FGFR3)

RISULTATI

GENE ID	VARIANTE GENICA RICERCATA	RISULTATO
FGFR3	c.1138 G>A	Variante Presente

L'analisi molecolare eseguita sul DNA estratto da liquido amniotico prelevato dalla paziente in esame, utilizzando le metodiche di seguito descritte e per quello che le stesse possono rivelare a livello genico, ha **evidenziato la variante c.1138 G>A in eterozigosi nel gene FGFR3.**

Si consiglia consulenza genetica.

CASO CLINICO 16: il Vera OMNIA Plus 300 identifica una mutazione del gene AR (coinvolto nella sindrome di Morris) in un feto di sesso maschile, risultato discordante con il sesso determinato ecograficamente

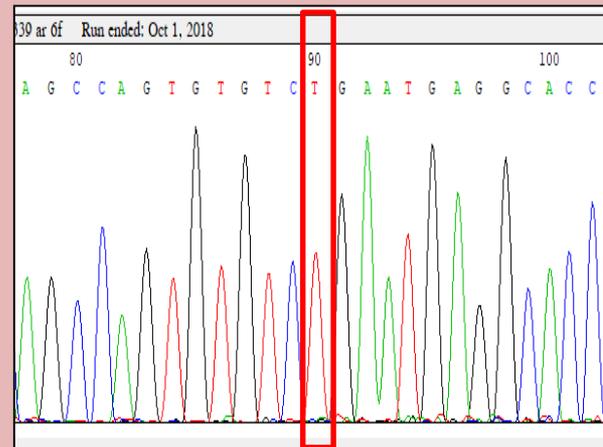
La gestante di 28 anni si presenta a 11 sett. di gravidanza

Vera OMNIA Plus 300 identifica una mutazione nel gene AR coinvolto nella Sindrome di Morris

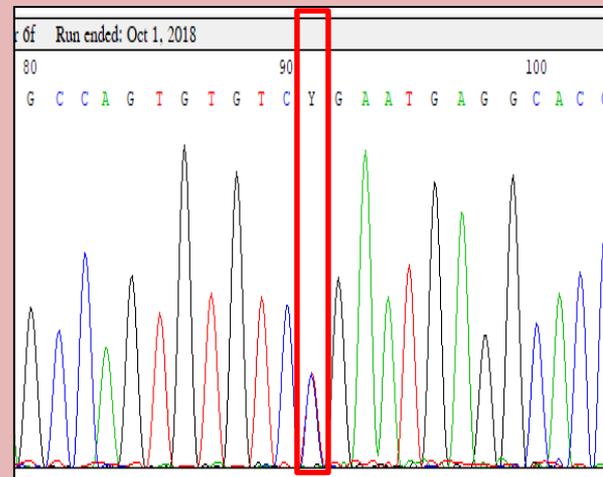
La gestante si sottopone ad **amniocentesi** che confermare la presenza della mutazione in emizigosi nel feto ed in eterozigosi nella gestante.

La gestante si sottopone a consulenza genetica e decide di interrompere la gravidanza. Avrà un rischio di ricorrenza di feto maschio affetto del 25% ed un rischio di ricorrenza di feto femmina portatrice della mutazione del 25%

Analisi di sequenza su amniociti

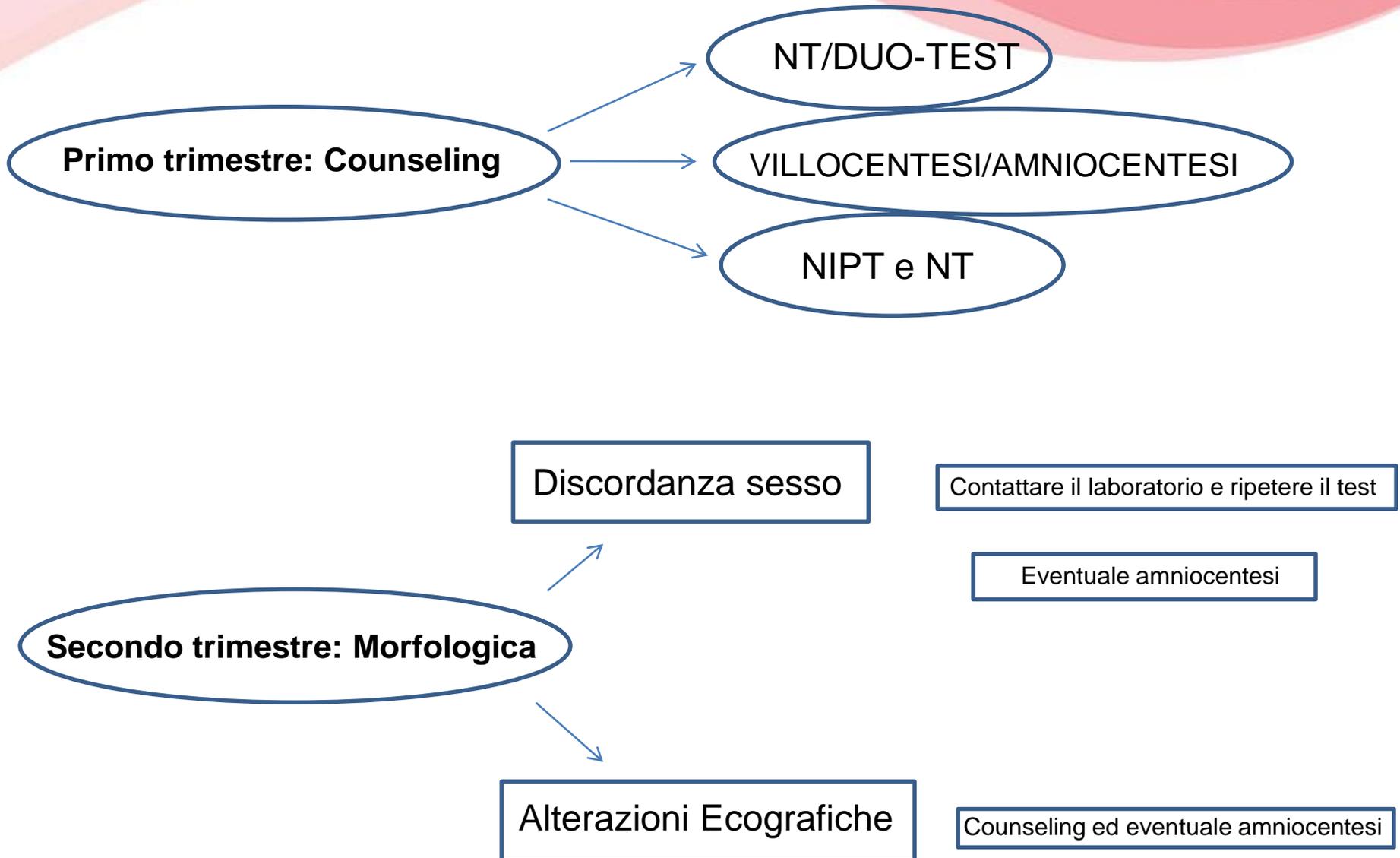


Analisi di sequenza sul DNA materno



La gestante è risultata portatrice della mutazione

Conclusioni



Grazie per l'attenzione

