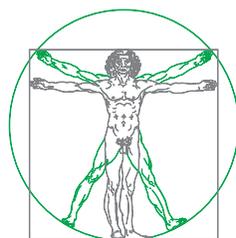


# Relazione Tecnica

---

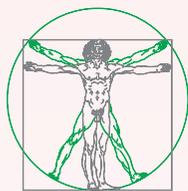
**CE IVD**  
**vera**<sup>®</sup>  
PRENATAL TEST

**+Plus**  
**vera**<sup>®</sup>



**AMES**  
Group

GENETICA MEDICA • MICROBIOLOGIA • PATOLOGIA CLINICA



Il **Vera Prenatal test**<sup>®</sup> è un esame prenatale non invasivo che permette l'analisi del DNA fetale libero circolante, isolato da un campione di sangue materno, e valuta la presenza delle aneuploidie fetali comuni in gravidanza. Il test valuta le aneuploidie dei cromosomi 21, 18, 13 e dei cromosomi sessuali (X e Y), consentendo la determinazione del sesso fetale (opzionale). Questo test prevede anche la possibilità, ove **espressamente** richiesto, di eseguire un approfondimento di secondo livello, per l'individuazione nel feto delle aneuploidie a carico di ogni cromosoma e delle alterazioni cromosomiche strutturali (**Vera+Plus**). Inoltre, se richiesto, è possibile valutare la presenza di alcune tra le più comuni microdelezioni (Sindrome di Di George, Sindrome di Cri-du-chat, Sindrome di Prader-Willi/ Angelman, Sindrome da delezione 1p36, Sindrome di Wolf-Hirschorn, Sindrome di Jacobsen, Sindrome di Langer-Giedion, Sindrome di Smith-Magenis, Sindrome da Brachidattilia-deficit cognitivo) (**Pannello Microdelezioni**).

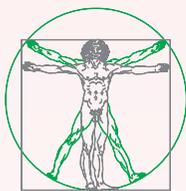
In dettaglio:

- Il **Vera Prenatal test**<sup>®</sup> rileva le aneuploidie a carico dei cromosomi 21, 18, 13 e dei cromosomi sessuali (X e Y) e consente anche la determinazione del sesso (opzionale).
- Il **Vera Prenatal test**<sup>®</sup> + **Pannello di Microdelezioni**, rileva le aneuploidie a carico dei cromosomi 21, 18, 13, le aneuploidie dei cromosomi sessuali (X e Y), consentendo la determinazione del sesso (opzionale) e l'individuazione di alcune tra le più comuni microdelezioni (Sindrome di Di George, Sindrome di Cri-du-chat, Sindrome di Prader-Willi/ Angelman, Sindrome da delezione 1p36, Sindrome di Wolf-Hirschorn, Sindrome di Jacobsen, Sindrome di Langer-Giedion, Sindrome di Smith-Magenis, Sindrome da Brachidattilia-deficit cognitivo).
- Il **Vera+Plus**<sup>®</sup>, consente di rilevare le aneuploidie e le alterazioni cromosomiche strutturali del feto a carico di tutti i cromosomi autosomici.
- Il **Vera+Plus**<sup>®</sup> + **Pannello di Microdelezioni**, consente di rilevare le aneuploidie e le alterazioni cromosomiche strutturali del feto a carico di ogni cromosoma, inoltre permette di rilevare anche alcune tra le più comuni microdelezioni (Sindrome di Di George, Sindrome di Cri-du-chat, Sindrome di Prader-Willi/ Angelman, Sindrome da delezione 1p36, Sindrome di Wolf-Hirschorn, Sindrome di Jacobsen, Sindrome di Langer-Giedion, Sindrome di Smith-Magenis, Sindrome da Brachidattilia-deficit cognitivo).

Il fine del **Vera Prenatal test**<sup>®</sup> è quello di fornire informazioni per le principali patologie riscontrate in gravidanza, alle gestanti/coppie che lo desiderano, affinché le successive scelte e decisioni, siano fondate su conoscenze il più possibile accurate, precoci e basate su protocolli che non mettono a rischio la gravidanza stessa.

La consulenza prenatale è parte integrante dello screening mediante il **Vera Prenatal test**<sup>®</sup> ed ha lo scopo di aiutare la gestante/coppia nella comprensione del test, dei suoi benefici e dei suoi limiti nonché di definire un'eventuale alternativa al test stesso.

Le **aneuploidie** sono anomalie cromosomiche caratterizzate da alterazioni del numero dei cromosomi, cioè da un numero maggiore o minore di cromosomi rispetto al numero standard. Il termine "trisomia" identifica la presenza di tre, anziché di due, copie di un determinato cromosoma. Il termine "monosomia", invece, identifica l'assenza di una delle due copie di un cromosoma. Le anomalie numeriche dei cromosomi possono derivare tanto da alterazioni della meiosi durante la gametogenesi parentale, quanto da



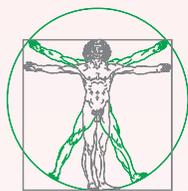
alterazioni mitotiche durante le prime fasi dello sviluppo dello zigote. Le più comuni forme di aneuploidia (trisomie e monosomie) derivano in genere da un processo di non-disgiunzione meiotica. Una più rara possibilità è quella della segregazione, per la quale uno dei due cromosomi figli viene ritardato in anafase, entrando a far parte della cellula nella quale è migrato l'omologo. Se la non-disgiunzione mitotica si verifica in una mitosi zigotica, ne deriva un mosaicismo, termine con il quale si indica una condizione caratterizzata dalla presenza nello stesso individuo di linee cellulari con due o più cariotipi diversi.

Il **Vera Prenatal test**<sup>®</sup> permette di identificare la presenza di feti con trisomia dei cromosomi 21, 18, 13, a partire dalla 10<sup>a</sup> settimana; tali trisomie rappresentano il 50-70% di tutte le aneuploidie dei cromosomi autosomici.

La **trisomia 21 (T21)** è l'aneuploidia più comune: consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 21 e si associa alla Sindrome di Down. Ha una prevalenza complessiva di un caso su 600-700 nascite. L'età materna è un fattore determinante la probabilità di nascita di un figlio Down: si passa da una probabilità di 1/2.500 prima dei 20 anni, ad una di 1/700 tra i 30 e i 34 anni, 1/230 tra i 35 e i 39 anni, 1/60 tra i 40 e i 44 anni, fino ad una probabilità di circa 1/50 se l'età materna supera i 45 anni. Il fenotipo della sindrome di Down è caratterizzato da ritardo mentale, associato, in genere a carattere mansueto e socievole, e da una serie di malformazioni. Le più tipiche comprendono: bassa statura, rima palpebrale obliqua (da ciò il vecchio termine, ormai obsoleto, di "mongolismo"), naso appiattito, bocca semiaperta con lingua grossa e solcata, spesso protrudente, orecchie prominenti con lobuli assenti, occipite piatto, collo corto e tozzo, mani tozze con mignoli arcuati, anomalie delle pliche palmari. Frequenti le malformazioni di organi interni, particolarmente a carico degli apparati cardiovascolare e renale. Vi può essere una deficienza della reattività immunologica. I soggetti affetti da sindrome di Down vanno più facilmente incontro a processi neoplastici e mostrano una incidenza di leucemia linfatica acuta pari a 20 volte maggiore di quella della popolazione generale. L'aspettativa media di vita di questi pazienti negli ultimi decenni è andata progressivamente allungandosi, circa 40 anni, grazie ai passi avanti nelle cure mediche. Le donne affette dalla sindrome di Down solo in rari casi sono feconde, i maschi costantemente sterili.

La **trisomia 13 (T13)** consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 13 e si associa alla Sindrome di Patau. La **T13** ha una frequenza di 1/8000-1/15000 nati, e non è influenzata dall'età materna. Gli aspetti somatici sono rappresentati da grave ritardo psicomotorio, microftalmia (una malformazione che rende uno od entrambi gli occhi più piccoli del normale sebbene possano risultare strutturati in maniera normale), orecchie malformate, palatoschisi, (malformazione congenita del palato), polidattilia (consiste in una malformazione in cui le dita della mano possono essere in eccesso), piede convesso ("a base di dondolo"); si associano malformazioni cardiache e renali. La trisomia 13 libera riguarda circa il 75% dei casi. Nel 20% dei casi, la trisomia 13 si associa alla traslocazione Robertsoniana nella quale il cromosoma soprannumerario 13 è attaccato a un altro cromosoma acrocentrico (cromosoma 13, 14, 15, 21 o 22). Nei feti affetti la morte endouterina si verifica in oltre il 95% dei casi. Rara la sopravvivenza oltre i primi mesi di vita.

La **trisomia 18 (T18)** consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 18 e si associa alla Sindrome di Edwards. Presenta una frequenza di 1/6000-1/8000 nati, è più frequente nelle femmine ed è correlata con età materna avanzata. Nelle prime settimane di vita sono presenti ipotonia, iporeattività e difficoltà alimentari (scarsa suzione), seguite dalla progressione verso l'ipertono con l'apparente perdita della percezione dell'ambiente circostante. Le caratteristiche cliniche più comuni riguardano il ritardo



della crescita prenatale e postnatale, l'aspetto emaciato con ipotrofia, la microcefalia con cranio stretto e dolicocefalia, la microretrognazia, l'ipertelorismo, le orecchie angolate a disegno semplice. Le malformazioni sono comuni con interessamento oculare (microftalmia, coloboma), cardiaco (in oltre il 90% dei casi), del tubo digerente (atresia esofagea, malformazioni ano-rettali), del tratto genito-urinario (idronefrosi, agenesia mono-bilaterale). Il 90% dei bambini muore nel primo anno di vita a causa delle complicazioni cardiache, renali o neurologiche o delle infezioni ricorrenti.

Inoltre, il **Vera Prenatal Test**® permette di rilevare le seguenti aneuploidie a carico dei cromosomi sessuali (X e Y):

**Monosomia del cromosoma X (X0)**, presenza di una copia del cromosoma X, associata a Sindrome di Turner. La prevalenza è stimata in 1 ogni 5000 nati vivi (1 ogni 2.500 neonate). Presenta come aspetto caratteristico una anomalia delle ovaie che appaiono come formazioni allungate, formate da tessuto stromale privo di follicoli ("ovaie a benderella"). Le donne X0 sono di solito basse di statura, hanno il collo corto (con il classico pterigio), deficienze dell'udito ed importanti anomalie cardiovascolari. Il quadro clinico è caratterizzato da nanismo, infantilismo sessuale, amenorrea primaria, sterilità, scarso sviluppo delle mammelle, bassi livelli di estrogeni circolanti ed elevati livelli di gonadotropine ipofisarie. Lo sviluppo psichico è normale e l'aspettativa di vita in genere buona.

#### Trisomie dei cromosomi sessuali

- **XXX, Tripla X**, presenza di tre copie del cromosoma X, ha la frequenza di 1/1000 nate. La maggior parte di queste donne sono del tutto normali e feconde; solo una minoranza ha un lieve ritardo mentale e amenorrea primaria o secondaria.

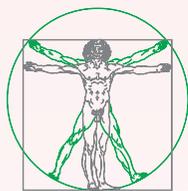
- **XXY, Sindrome di Klinefelter**, presenza di due copie del cromosoma X e una copia del cromosoma Y relativamente frequente (1/500 nati), è caratterizzata in genere da un fenotipo maschile normale fino alla pubertà, quando i testicoli rimangono piccoli con atrofia e ialinizzazione dell'epitelio tubulare, assenza di spermatogenesi, aumento delle cellule di Sertoli, scarsità di cellule di Leydig. I livelli circolanti di testosterone sono molto bassi ed elevati quelli delle gonadotropine ipofisarie. Questi soggetti sono sterili, ma non impotenti e eccezionalmente fecondi.

- **XYY, Sindrome di Jacobs**, presenza di una copia del cromosoma X e di due copie del cromosoma Y. La frequenza con cui questa anomalia si manifesta è di 1-5/10000 maschi. I maschi con la sindrome di XYY possono essere più alti della media e avere difficoltà di apprendimento o problemi di linguaggio. Essi possono avere differenze fisiche minori, come muscoli e ossa deboli e pubertà ritardata. Nei casi più gravi, gli uomini con questa sindrome possono avere problemi di fertilità e complicazioni legate ai bassi livelli di testosterone. Non tutti i maschi, comunque, sviluppano le caratteristiche o le complicazioni fisiche tipiche della malattia, e vivono un normale sviluppo sessuale.

Il **Vera+Plus**®, consente di rilevare le aneuploidie a carico di tutti i cromosomi autosomici e le alterazioni cromosomiche strutturali del feto a carico di ogni cromosoma, quali duplicazioni e/o delezioni e/o traslocazioni sbilanciate per tutti i cromosomi con una risoluzione maggiore di 7 Mb.

#### Pannello Microdelezioni

Le sindromi da microdelezione sono anomalie caratterizzate dall'assenza di un tratto cromosomico di piccole dimensioni con conseguente perdita di informazione genica. Queste alterazioni causano sindro-



mi di importanza clinica variabile a seconda del cromosoma coinvolto, della regione cromosomica interessata e delle relative dimensioni. Il **Pannello Microdelezioni**, aggiunto al **Vera Prenatal Test**® o al **Vera+Plus**®, valuta la presenza di alcune tra le principali sindromi da microdelezione, con una risoluzione  $\geq 3,5$  Mb. Le microdelezioni analizzabili sono quelle associate a: Sindrome di Di George, Sindrome di Cri-du-chat, Sindrome di Prader-Willi/Angelman, Sindrome da delezione 1p36, Sindrome di Wolf-Hirschorn, Sindrome di Jacobsen, Sindrome di Langer-Giedion, Sindrome di Smith-Magenis, Sindrome da Brachidattilia-deficit cognitivo.

La **delezione 22q11.2**, associata a **Sindrome di DiGeorge**, è una delle più comuni sindromi da delezione cromosomica con un'incidenza mondiale di 1/2.000-1/4.000 nati vivi. Si manifesta con un quadro fenotipico estremamente variabile, le più frequenti manifestazioni riguardano il sistema immunitario, con deficit immunitario da aplasia/ipoplasia del timo, che li rende suscettibili alle infezioni e le cardiopatie (77% dei casi) che riguardano soprattutto la regione troncoconale. Oltre il 75% dei pazienti presenta anomalie del palato (palatoschisi aperta, labiopalatoschisi, insufficienza velofaringea), che possono causare voce ipernasale, disturbi alimentari e della deglutizione. È frequente il ritardo dello sviluppo. Molti pazienti presentano lievi dismorfismi facciali (ipoplasia della regione malare, ptosi, ipertelorismo, epicanto, radice nasale prominente) e anomalie vertebrali (vertebre a farfalla, emivertebre).

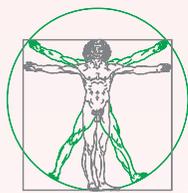
La **delezione 5p15.3**, associata alla **sindrome di Cri-du-Chat** è un disturbo genetico raro (incidenza di 1/50000) causato da una delezione del cromosoma 5 (5p-). L'ampiezza della delezione può variare molto, interessando la sola banda 5p15 o tutto il braccio corto del quinto cromosoma. La delezione può essere "de novo", cioè verificarsi in maniera casuale, o essere il prodotto non bilanciato di una traslocazione bilanciata ereditata dal genitore sano.

Le caratteristiche cliniche includono dismorfismi facciali, malformazioni viscerali, microcefalia, pianto dalla tonalità acuta e monotona simile al miagolio del gatto.

La diagnosi viene fatta generalmente dopo la nascita e a causa della gravità della sindrome, da un punto di vista motorio e cognitivo, è importante intervenire precocemente entro i primi mesi di vita per operare in modo globale sullo sviluppo del bambino.

#### **Delezione della regione critica del cromosoma 15 associata a Sindrome di Prader-Willi/Angelman:**

La **Sindrome di Prader/Willi** è eterogenea dal punto di vista clinico e genetico, approssimativamente nel 70% dei casi il difetto genico è dovuto ad una delezione di 5-7 Mb del cromosoma 15 che include le bande 15q11.2-q13, nel 25-30% dei casi da disomia uniparentale materna del cromosoma 15 (udp(15)-mat), nel 1% dei casi a difetti di imprinting nella stessa regione del cromosoma 15 e in casi più rari da traslocazioni bilanciate con punto di rottura nei geni SNURF-SNRPN, o delezioni del gene SNORD 116. La malattia colpisce 1/25.000 nati ed è caratterizzata da anomalie ipotalamico-pituitarie associate a grave ipotonia nel periodo neonatale e nei primi due anni di vita, che comporta problemi alla deglutizione e all'allattamento. Dopo questa fase iniziale, i segni principali sono l'iperfagia e la mancanza di sazietà che causa spesso, nei bambini affetti di circa due anni, obesità grave. In assenza di controlli esterni adeguati, la condizione può peggiorare rapidamente, infatti è l'obesità la causa di mortalità più importante per i pazienti. Altre anomalie endocrine correlate contribuiscono a un quadro clinico caratterizzato da bassa statura, deficit dell'ormone della crescita, e sviluppo puberale incompleto. Il deficit cognitivo è estremamente variabile e si associa a difficoltà di apprendimento e a uno sviluppo anomalo del linguaggio, spesso aggravati dai disturbi comportamentali e psicologici;

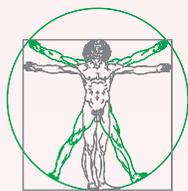


La **Sindrome di Angelman** è una malattia neurologica, di origine genetica, caratterizzata da grave ritardo mentale e dismorfismi facciali caratteristici. La sua prevalenza è stimata tra 1/10.000 e 1/20.000. I pazienti appaiono normali alla nascita. Nei primi 6 mesi di vita possono manifestarsi disturbi dell'alimentazione e ipotonia, seguiti da ritardo dello sviluppo tra i 6 mesi e i 2 anni. In genere i sintomi caratteristici si manifestano a partire dal primo anno di vita, con grave ritardo mentale, assenza del linguaggio, crisi di riso associate a movimenti stereotipati delle mani, microcefalia, macrostomia, ipoplasia mascellare, prognatismo e disturbi neurologici con andatura da "burattino", atassia e attacchi epilettici associati ad anomalie specifiche all'elettroencefalogramma (EEG; attività delta trifasica con picchi nelle regioni frontali). Altri segni clinici comprendono l'aspetto felice, l'iperattività senza aggressività, il basso livello di attenzione, l'eccitabilità, i disturbi del sonno associati ad una riduzione della necessità di dormire, elevata sensibilità al calore e attrazione per l'acqua. Con l'avanzare dell'età, i segni tipici della malattia diventano meno accentuati. La malattia è causata da diversi meccanismi genetici, come la delezione nella regione critica 15q11.2-q13 (60-75% dei casi), la disomia uniparentale paterna (2-5%), un difetto dell'imprinting (2-5%) e la mutazione del gene UBE3A (10%). Nel 5-26% dei pazienti non è stato identificato il difetto genetico.

La **Sindrome da delezione 1p36** è causata da una delezione parziale della parte distale del braccio corto del cromosoma 1. Circa il 50% dei casi è dovuto a una delezione "de novo" 1p36 terminale, circa il 29% a una delezione interstiziale; gli altri casi riguardano riarrangiamenti cromosomici più complessi. È considerata una delle più comuni sindromi da delezione cromosomica, con un'incidenza di 1/5.000-10.000 nati vivi. Colpisce in uguale misura entrambi i sessi, in tutte le etnie. I pazienti presentano caratteristici dismorfismi craniofacciali con sopracciglia diritte, occhi infossati, ponte/sella nasale larga e piatta, ipoplasia mediofaciale, filtro lungo, mento appuntito e, spesso, fontanella anteriore grande con chiusura tardiva (>3 cm alla nascita), microbrachicefalia, orecchie anomale, ruotate posteriormente, a basso impianto. Sono anche caratteristici la brachidattilia, la campodattilia e i piedi corti. Quasi tutti i pazienti presentano ipotonia congenita, che concorre alle difficoltà all'alimentazione, al ritardo dello sviluppo motorio e della motilità, al ritardo o all'assenza del linguaggio. In tutti i pazienti è presente ritardo mentale variabile.

La **delezione 4p16.3**, associata a **Sindrome di Wolf-Hirschorn** è dovuta a una delezione del braccio corto del cromosoma 4, che comprende almeno parte dei geni LETM1 e WHSC1. La prevalenza è di 1:50.000 nati. Interessa più spesso le femmine rispetto ai maschi (2:1). Si osservano marcato ritardo della crescita prenatale, lentezza costante nel guadagno del peso postnatale, una facies tipica ad "elmo da guerriero greco" (radice del naso larga che continua sulla fronte) molto più evidente prima della pubertà, microcefalia, fronte alta con glabella prominente, ipertelorismo, epicanto, sopracciglia molto arcuate, filtro corto, bocca rivolta verso il basso, micrognatia, orecchie poco formate con fossette/appendici e, in alcuni casi, labiopalatoschisi. Sono presenti anomalie scheletriche, come la cifosi o scoliosi con malformazione dei corpi vertebrali, costole fuse o accessorie, piedi torti e schisi delle mani. È presente ipotonia con ipoplasia delle masse muscolari, che può associarsi a difficoltà alimentari e contribuire al ritardo della crescita. Il ritardo dello sviluppo è grave: molti pazienti non imparano a controllare lo sfintere, a mangiare e vestirsi autonomamente, e meno del 50% cammina, con o senza sostegni, tra i 2 e i 12 anni di età. Il deficit cognitivo è moderato grave, di rado lieve. Il linguaggio si limita a suoni gutturali o bisillabici e, in alcuni casi, a semplici frasi.

La delezione del **(11)(q23)**, associata alla **Sindrome di Jacobsen**, è una malattia causata dalla delezione parziale del braccio lungo del cromosoma 11, caratterizzata da anomalie congenite multiple/ritardo mentale (MCA/MR), la prevalenza è stimata in circa 1/100.000 nati, con un rapporto femmine/maschi di

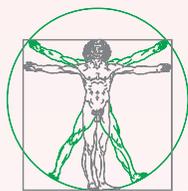


2:1. I segni clinici più comuni sono il ritardo di crescita pre- e post-natale, il ritardo psicomotorio e i dismorfismi facciali (deformità del cranio, ipertelorismo, ptosi, coloboma, rime palpebrali rivolte verso il basso, epicanto, sella nasale ampia, naso corto, labbra a forma di V, orecchie piccole, a bassa attaccatura e retrorotate). Le dimensioni della delezione variano da ~7 a 20 Mb, con punto di rottura prossimale nella sottobanda 11q23.3 o in una regione più telomerica; la delezione si estende di solito fino al telomero. La delezione è "de novo" nell'85% dei casi, mentre nel 15% deriva dalla segregazione sbilanciata di una traslocazione familiare bilanciata o da riarrangiamenti che coinvolgono altri cromosomi. Circa il 20% dei bambini muore nei primi due anni di vita, più spesso per le complicazioni della cardiopatia e, meno frequentemente, per le emorragie. Nei pazienti che superano il periodo neonatale e l'infanzia, le attese di vita non sono note.

La **delezione 8q24.11-q24.13**, associata alla **Sindrome di Langer-Giedion**, è caratterizzata da deficit cognitivo, associato a varie anomalie, compresa la cute ridondante, le esostosi cartilaginee multiple, la facies caratteristica e le epifisi falangeali "a cono". La gravità e il numero di queste anomalie variano nei diversi pazienti. I dismorfismi facciali comprendono il naso globoso, il filtro ampio e prominente, il labbro superiore sottile, le orecchie "a cavolfiore", i capelli radi e l'ipoplasia mandibolare. Sono stati descritti anche ritardo di crescita, microcefalia, ipotonia e problemi uditivi. Le esostosi (tumori ossei benigni) si localizzano prevalentemente sulle estremità delle ossa lunghe e possono causare dolore, rigidità funzionale o deformazione. Si trasmette come carattere autosomico dominante, ma sono stati descritti soprattutto casi sporadici. La precocità della diagnosi è fondamentale, ai fini della consulenza genetica alle famiglie e per garantire il follow-up ortopedico e la gestione dei problemi della crescita e dell'udito.

La **delezione 17p11.2**, associata della **Sindrome di Smith Magenis**, è causa della delezione del gene RAI1 nel 90% dei casi (un altro 10% è associata a mutazioni nello stesso gene). La prevalenza mondiale è di 1/15.000-25.000 in tutti i gruppi etnici, ma è probabile che sia sottodiagnosticata. I segni clinici comprendono segni craniofacciali (brachicefalia, fronte bombata, ipertelorismo, sinofria, rime palpebrali oblique verso l'alto, ipoplasia mediofacciale, faccia quadrata larga con sella nasale depressa, labbro superiore rovesciato a "tenda", micrognatia neonatale), altre anomalie scheletriche (brachidattilia, scoliosi, clinodattilia del V dito delle mani, sindattilia delle dita dei piedi 2-3, movimenti limitati dell'avambraccio e del gomito, anomalie vertebrali, persistenza dei rigonfiamenti fetali sui polpastrelli delle dita delle mani, polidattilia), frequenti disturbi otorinolaringoiatrici, segni oftalmologici (>60: miopia, anomalie iridee, di rado distacco della retina spesso in seguito a comportamenti violenti). La perdita dell'udito (60% dei pazienti) è variabile e può essere lieve-moderata. Sono comuni il deficit cognitivo lieve-moderato, il ritardo significativo del linguaggio, la ridotta sensibilità al dolore, la neuropatia periferica, i disturbi del sonno (caratteristici) e i comportamenti disadattivi (capricci/scatti d'ira, ricerca costante dell'attenzione, aggressività, disobbedienza, distrazione e comportamenti autolesionistici). Le malformazioni a livello degli organi (30-40%) sono le cardiopatie, le anomalie renali, urinarie e del SNC.

La delezione 2q37, brachidattilia-deficit cognitivo, è un'anomalia cromosomica con delezione della banda cromosomica 2q37 e si manifesta con tre sintomi principali: ritardo dello sviluppo, malformazioni scheletriche e dimorfismi facciali. L'incidenza è stimata in meno di 1 ogni 10.000. La maggior parte dei pazienti presenta ritardo dello sviluppo o deficit cognitivo, bassa statura (23% dei casi), tendenza all'obesità con l'avanzare dell'età e brachimetafalangia (50%). Sono anche frequenti la clinodattilia del quinto dito e la sindattilia delle dita delle mani e dei piedi, la microcefalia o la macrocefalia. I dimorfismi facciali sono caratteristici e comprendono il viso arrotondato, i capelli radi, la fronte prominente, le rime palpe-



palpebrali oblique verso l'alto, gli occhi infossati, le sopracciglia rade e arcuate, l'ipoplasia della porzione media del viso, la radice nasale infossata, le anomalie delle ali del naso, la columella prominente, l'aspetto a V della punta del naso, l'assottigliamento delle labbra e il palato ogivale. Nel 30% dei pazienti sono presenti malformazioni, in particolare cardiopatie, difetti gastrointestinali (30%), urogenitali (11%) e del sistema nervoso centrale (6%). È spesso presente ipotonia. Sono state riportate convulsioni in circa il 35% dei pazienti e anomalie del comportamento in circa il 30% [1].

### Modalità di esecuzione del Vera Prenatal Test® e del Vera+Plus®

Durante la gravidanza, alcuni frammenti del DNA del feto (cffDNA) circolano nel sangue materno. Tale DNA proviene dal citotrofoblasto (un tessuto che fornisce nutrimento all'embrione) che forma la placenta. Il ricambio delle cellule del trofoblasto, che ricopre le pareti delle arterie spiraliformi, mediato dalle citochine, libera il DNA. Diversi studi hanno dimostrato che il DNA fetale può essere trovato già alla 7<sup>a</sup> settimana di gestazione e la sua quantità aumenta con il progredire della gravidanza e scompare subito dopo il parto.

La percentuale di DNA fetale può variare tra <4%, una quantità non utile per la diagnosi, e il 40%, con una media del 10%, alla 12<sup>a</sup> settimana. La percentuale del cffDNA presente nel plasma materno viene definita "frazione fetale" (FF). La quantità di DNA fetale circolante dalla 10<sup>a</sup> settimana di gestazione è sufficiente per garantire l'elevata specificità e sensibilità del test [2].

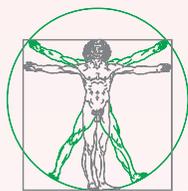
Presso il **Centro Diagnostico Polispecialistico Strumentale Ames** di Casalnuovo è possibile eseguire il test prenatale non invasivo **Vera Prenatal Test®** con marcatura CE-IVD, che combina la tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (NGS) Illumina con la postazione automatizzata VeriSeq NIPT Microlab® STAR™ della Hamilton Robotics fornendo un sistema di sequenziamento per l'intero genoma con il più basso failure rate (tasso di fallimento) tra le tecnologie utilizzate per le NIPT, che consente di ottenere risultati fino a 96 campioni in 24-48 ore.

Durante la fase di sequenziamento massivo entrambi i filamenti del DNA sono analizzati, permettendo così di determinare la grandezza di ogni frammento di DNA libero (cffDNA) nel campione, infatti nel sangue materno è contenuto DNA libero di differente lunghezza: i frammenti cffDNA più corti sono di origine fetale mentre i frammenti più lunghi sono materni [3;4].

Il sistema di sequenziamento usato è in grado di migliorare il rapporto segnale/rumore di fondo selezionando frammenti più corti (fetali) ed effettuando letture molto accurate del frammento utilizzando meno di un terzo della profondità di lettura di altre metodiche di sequenziamento. Questo consente di risparmiare tempo e risorse rispetto ai protocolli di lettura singola, producendo risultati NIPT in modo rapido e conveniente.

L'automatizzazione del test consente di ridurre i tempi e i potenziali errori introdotti nella fase analitica. Partendo da 7-10 ml di sangue materno, il VeriSeq NIPT MicrolabSTAR consente di controllare tutti i passaggi della preparazione del campione, inclusi la separazione del plasma, l'estrazione del DNA libero e la preparazione della libreria. Le librerie preparate dai campioni vengono sequenziate con strumenti IlluminaNextSeqTM 500, NextSeqTM 550 di cui è dotato l'AMES. Una volta completato il sequenziamento, i dati vengono inviati automaticamente al VeriSeq NIPT Assay Software per l'analisi e la generazione dei report. Se la gestante ha richiesto l'analisi anche degli altri cromosomi autosomici e delle microdelezioni, i dati ottenuti dal sequenziamento vengono poi elaborati in sede (AMES) grazie ad ulteriori algoritmi sviluppati a partire da quello riportato in Bayindir B et al [5].

Il test VeriSeq NIPT Solution utilizza un procedura che non prevede l'utilizzo della PCR che potrebbe eventualmente introdurre alterazioni nella lettura, fornendo così una visione più completa del materiale genomico. Inoltre, avendo dati di copertura disponibili per l'intero genoma diploide, si produce un riferimento



mento analitico che le attuali tecniche analitiche possono utilizzare per ridurre bias legati alla tecnica e al campione. Questi passaggi di normalizzazione si traducono in un failure rate (percentuale di fallimenti, cioè l'assenza di risultati per disomia o aneuploidia) più basso rispetto agli altri test di sequenziamento che utilizzano un approccio "targeted", riducendo così la necessità di attuare interventi invasivi, quali l'amniocentesi, per avere informazioni sulla salute del feto.

### Indicazioni Vera Prenatal Test® e del Vera+Plus®

Prima di sottoporsi al **Vera Prenatal Test®** le gestanti ricevono, attraverso un colloquio e, se indicato, una consulenza genetica, le informazioni necessarie a comprendere le caratteristiche del test ed i suoi limiti, anche in rapporto alle altre tecniche di diagnosi prenatale disponibili. Inoltre, viene garantita la consulenza genetica post-test ed il completo supporto alla paziente durante l'intero iter diagnostico prenatale.

Il **Vera Prenatal Test®** è raccomandato come screening avanzato sicuro ed efficace nei casi di: gravidanze con controindicazioni per la diagnosi prenatale invasiva, positività allo screening del primo/secondo trimestre, età materna avanzata, storia personale e/o familiare di anomalie cromosomiche, quadro ecografico suggestivo di aneuploidie.

### Risultati possibili del Vera Prenatal test

Nel caso in cui sia stata richiesto il **Vera+Plus®** verranno indagate le aneuploidie, le duplicazioni e/o delezioni e/o traslocazioni sbilanciate per tutti i cromosomi con una risoluzione maggiore di 7 Mb con i seguenti possibili risultati: **Aneuploidia/Alterazione Rilevata; Nessuna Aneuploidia/Alterazione Rilevata; Sospetta Aneuploidia/Alterazione rilevata.**

I risultati "Sospetta Aneuploidia/Alterazione rilevata (valore borderline)" e "Aneuploidia/Alterazione Rilevata" devono essere confermati da amniocentesi o villocentesi se si desidera una diagnosi definitiva, in quanto il test non è un test diagnostico, ma un test di screening.

Tutti i referti riportano l'indicazione della Frazione Fetale. Valori di Frazione Fetale dal 4% in poi indicano come accurati ed accettabili i risultati del test. Qualora la percentuale di frazione fetale fosse minore del 4% **verrà richiesto alla gestante il prelievo di un nuovo campione ematico (gratuitamente), al fine di ripetere l'esame.**

### Sensibilità e specificità del Vera Prenatal Test® e del Vera+Plus®

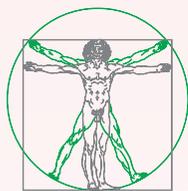
Gli studi internazionali di validazione dei test sul DNA fetale nel plasma materno per le trisomie 18, 13 e 21 hanno dimostrato una specificità ed una sensibilità >99%. Altri studi sulle gravidanze ad alto e basso rischio, con età media materna di 30 anni, hanno evidenziato una specificità del 99,9% ed una sensibilità del 99%.

La probabilità di un risultato falso negativo (cioè che non venga rilevata la presenza dell'anomalia genetica) è inferiore allo 0,1%. La probabilità di un risultato falso positivo (cioè che venga sospettata la presenza di una anomalia genetica che di fatto non c'è) è inferiore a 0,1%. Risultati falsi positivi possono essere causati da fattori biologici (ad esempio, mosaicismo confinato alla placenta, vanishing twin, mosaicismo fetale o materno, neoplasie e aneuploidia materna).

In questi casi il risultato del **Vera Prenatal Test®** può essere verificato solo con la diagnosi invasiva (villocentesi o amniocentesi).

L'attendibilità per i cromosomi sessuali è del 99%.

Per ciò che concerne le delezioni e le alterazioni cromosomiche strutturali non è possibile attualmente avere una stima realistica dell'attendibilità del test a causa dei pochi campioni positivi analizzati. Pertanto,



tale approfondimento ad oggi non è consigliato dalle linee guida del Consiglio Superiore di Sanità del Ministero della Salute e dalla Società Italiana di Genetica Umana (SIGU). Inoltre, sebbene l'errore del test è basso, questo tuttavia non è escludibile. Inoltre il **Vera Prenatal Test**® ha un tasso di fallimento inferiore allo 0,1%.

#### • Dati relativi allo Screening delle Trisomie 13, 18, 21 nelle gravidanze singole

Una recente metanalisi [6], relativa a 37 studi, ha riportato, per le tre principali aneuploidie autosomiche, nelle gravidanze singole, le seguenti percentuali di sensibilità (detection rate - DR) e di specificità (risultati falsi positivi - FPR) del Test prenatale non invasivo:

- Trisomia 21 - DR 99,2% (95% CI, 98,5-99,6%); FPR 0,09% (95% CI, 0,05-0,14%);
- Trisomia 18 - DR 96,3% (95% CI, 94,3-97,9%); FPR 0,13% (95% CI, 0,07-0,20%);
- Trisomia 13 - DR 91,0% (95% CI, 85,0-95,6%); FPR 0,13% (95% CI, 0,05-0,26%).

Diversi fattori giustificano queste discrepanze, compresa la presenza di un vanishing twin, una malattia metastatica materna, un mosaicismo cromosomico materno, l'assenza/insufficienza della FF, anche se la ragione principale sarebbe ascrivibile ad un mosaicismo fetto-placentare. Infatti, il cffDNA presente nel plasma materno origina dal citotrofoblasto placentare che, come è noto, mostra, in una percentuale dei casi, un cariotipo discordante rispetto a quello fetale. Le analisi cromosomiche del trofoblasto hanno, di fatto, individuato percentuali variabili di discordanza per le diverse aneuploidie.

Sembrerebbe dunque che la specificità dei test sul cffDNA, negli studi che hanno arruolato oltre 10.000 campioni, riveli una FPR <1/1.000, in accordo con la percentuale delle discordanze fetto-placentari emersa dalle analisi cromosomiche effettuate sul citotrofoblasto.

#### • Dati relativi allo Screening delle Trisomie 13, 18, 21 nelle gravidanze gemellari

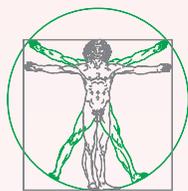
L'analisi del cffDNA può essere effettuata sulle gravidanze bigemine, anche dopo donazione di gameti. L'analisi è limitata allo screening delle principali trisomie autosomiche ed il risultato esprime una probabilità distribuita tra i due feti.

La meta-analisi di cinque pubblicazioni ha riportato, per la T21, una sensibilità del 95%; per la T18, dell'86%; per la T13, del 100% (i dati numerici delle T13 e T18 sono comunque troppo limitati per raggiungere un valore verosimile di sensibilità). Non sono stati ottenuti FPR per nessuna delle tre trisomie [7;8]. Il test come tale non indica comunque, in presenza di un risultato positivo, quale dei due feti sia affetto.

#### • Dati relativi allo Screening di aneuploidie dei cromosomi X e Y nelle gravidanze singole

La specificità del test nello screening delle aneuploidie dei cromosomi sessuali è inferiore rispetto a quella riportata per gli autosomi. Una meta-analisi relativa a 37 studi ha descritto per la monosomia X una sensibilità (DR) del 90,3% (95% CI, 85,7-94,2%) ed una specificità (FPR) dello 0,23% (95% CI, 0,14-0,34%). Per tutte le altre aneuploidie dei cromosomi sessuali (SCA), la sensibilità è risultata del 93,0% (95% CI, 85,8-97,8%) e la specificità dello 0,14% (95% CI, 0,06-0,24%) [6].

Le analisi cromosomiche del trofoblasto hanno indicato, per la monosomia X, una FPR, per la presenza di un mosaicismo confinato al citotrofoblasto, ed una FNR, per la presenza di un mosaicismo confinato al feto, rispettivamente di 1/1.421 (95%CI: 1.031-1.958) e di 1/14 (95%CI: 8-26). Si tratta complessivamente di probabilità più elevate rispetto a quelle riportate per gli autosomi, in quanto la monosomia X è l'aneuploidia maggiormente presente nei mosaicismi fetto-placentari [9]. Di conseguenza, relativamente alla monosomia X (e in generale a tutte le SCA), il NIPT mostra una ridotta specificità, con una FPR cumulativa >1%, ascrivibile non solo ai mosaicismi confinati alla placenta, ma anche ai mosaicismi costituzionali della



madre, presenti in circa l'8,6% dei NIPT positivi per una SCA [10].

**PERFORMANCE DEL TEST [11]**

N=34.306	Negativi	Positivi	Falsi Negativi	Falsi Positivi	Prevalenza	Sensibilità	Specificità
21	33.710	596	5	19	1,70%	99,14%	99,94%
18	34.098	208	3	33	0,52%	98,31%	99,90%
13	34.235	71	1	18	0,16%	98,15%	99,95%
Tutti	33.431	875	9	70	2,37%	98,89%	99,97%

- Per il cromosoma 21 il valore predittivo positivo è pari a 0,9681 ed il valore predittivo negativo è pari a 0,9999;
- Il tasso di falsi positivi è inferiore al 0,2% e quello di falsi negativi al 0,026%;
- La coorte arruolata è stata di oltre 34.000 pazienti;
- Il tasso di fallimento tecnico del test è il più basso fra quelli presenti in circolazione ed è pari allo 0,1%

[11] Bhatt. S. et al. Clinical Laboratory Experience with Noninvasive Prenatal Testing: Update on Clinically Relevant Metrics, presented at the 18<sup>th</sup> International conference on Prenatal Diagnosis and Therapy Brisbane, Australia, 20-23 July, 2014

**Screening Microdelezioni**

Il cffDNA può essere utilizzato per cercare specifiche delezioni nella sequenza del DNA. Nella prospettiva di sviluppare tecniche in grado di analizzare l'intero genoma, sono stati messi a punto pannelli che analizzano singole microdelezioni associate ad alcune sindromi clinicamente riconoscibili (ad es. delezione 1p36, delezione 5p, delezione 15q, delezione 22q). Dal 2015 lo screening prenatale non invasivo (cffDNA screening) è raccomandato per tutte le gravidanze a rischio e, recentemente, l'ACOG (Congresso Americano di Obstetricia e Ginecologia) e la SMFM (Società di Medicina Materna e Fetale) hanno suggerito che tutte le donne in gravidanza dovrebbero essere informate del test. L'utilizzo del test prenatale non invasivo per lo screening delle microdelezioni resta ad oggi, dalle stesse società, non raccomandato per la mancanza di dati prospettici [12]

**Tempi di refertazione del Vera Prenatal Test® e del Vera+Plus®**

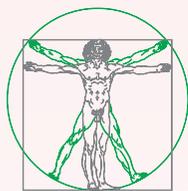
I tempi stimati di refertazione per il **Vera Prenatal Test®** sono di circa 24-48 ore dall'arrivo del campione in sede.

I tempi stimati di refertazione per il **Vera+Plus®** sono di circa 7 giorni lavorativi dall'arrivo del campione in sede.

I tempi stimati di refertazione per il **Vera Prenatal Test®+Pannello di microdelezioni** sono di circa 7 giorni lavorativi dall'arrivo del campione in sede.

I tempi stimati di refertazione per il **Vera+Plus®+Pannello di microdelezioni** sono di circa 7 giorni lavorativi dall'arrivo del campione in sede.

**Tali termini, tuttavia, non sono perentori e potrebbero prolungarsi in caso di ripetizioni dell'esame, risultati non ottimali, approfondimenti del test o dubbi interpretativi.**



### Limiti del Vera Prenatal Test® e del Vera+Plus®

Il test è stato validato sulle gravidanze singole e gemellari bigemine a partire dalla 10a settimana. Il test non è validato per le gravidanze gemellari con più di due feti, e non predice i mosaicismi, le aneuploidie cromosomiche parziali, le traslocazioni e ad altre anomalie genetiche a cui si possono associare malformazioni e/o disabilità del nascituro.

Il **Vera Prenatal Test®** valuta solo le aneuploidie a carico dei cromosomi 13, 18, 21, X e Y, pertanto, non può escludere la presenza di tutte le anomalie cromosomiche fetali.

Il sesso fetale viene indicato come maschile o femminile, basandosi sulla presenza o assenza del cromosoma Y.

### Il Vera Prenatal Test® + Plus® + Pannello di microdelezioni valuta:

1. LE ANEUPLOIDIE A CARICO DI OGNI CROMOSOMA.
2. LE ALTERAZIONI CROMOSOMICHE STRUTTURALI DEL FETO CON UNA RISOLUZIONE FINO A 7 Mb.
3. Con l'aggiunta delle microdelezioni valuta anche alcune tra LE PRINCIPALI MICRODELEZIONI (Sindrome di DiGeorge, Sindrome di Cri-du-chat, Sindrome di Prader-Willi/ Angelman, Sindrome da delezione 1p36, Sindrome di Wolf-Hirschorn, Sindrome di Jacobsen, Sindrome di Langer-Giedion, Sindrome di Smith-Magenis, Sindrome da Brachidattilia-deficit cognitivo).

### IL VERA+PLUS+PANNELLO DELLE MICRODELEZIONI RIESCE PERTANTO A RILEVARE IL 99,1% DELLE ANOMALIE CROMOSOMICHE FETALI RICONTRATE ALLA NASCITA.

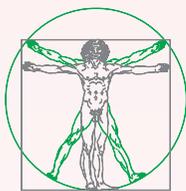
Lo screening prenatale non invasivo basato sul DNA non è un test diagnostico. Il test verifica la possibilità che il feto sia affetto dalle più comuni aneuploidie, con una specificità e sensibilità significativamente superiori rispetto allo screening non invasivo combinato (TN+PAPP-A/ $\beta$ HCG). Il test potrebbe dare un risultato positivo in caso di mosaicismo cromosomico, ma questo potrebbe essere confinato alla placenta. Sebbene il test definisca, la presenza nel feto di una specifica patologia indagata, resta un test di screening, pertanto, ogni risultato positivo deve essere confermato con una tecnica invasiva tradizionale (villocentesi/amniocentesi). Il test è stato validato su gravidanze singole o gemellari, monozigotiche o dizigotiche, con almeno 10 settimane di gestazione.

### I test non sostituiscono la diagnosi prenatale invasiva (Amniocentesi o Villocentesi).

L'esame infatti non è in grado di evidenziare riarrangiamenti cromosomici bilanciati, alterazioni cromosomiche strutturali, alterazioni parziali dei cromosomi analizzati, mosaicismi cromosomici fetali e/o placentari (cioè la presenza di due linee cellulari con differente assetto cromosomico), mutazioni puntiformi, delezioni/duplicazioni di uno o più esoni, difetti di metilazione, poliploidie. Il test non evidenzia altre malformazioni o difetti non specificamente ricercati. In particolare, l'esame non evidenzia la presenza di malattie genetiche ereditarie a trasmissione mendeliana.

Le gravidanze con riscontri ecografici suggestivi di patologia fetale dovrebbero essere studiate con altri tipi di indagini prenatali, quali il cariotipo fetale molecolare su villi coriali o liquido amniotico, in considerazione del maggiore detection rate.

Nella **gravidanze gemellari** non è possibile distinguere la condizione del singolo feto, né di valutare le aneuploidie dei cromosomi sessuali ma solo quelle relative ai cromosomi 13, 18, 21. E' tuttavia possibile riscontrare la presenza/assenza del cromosoma Y. Nel caso in cui venga individuata la presenza del cromosoma Y, non è possibile valutare se solo uno o entrambi i feti siano di sesso maschile. Nelle gravidanze iniziate come gemellari o plurime, seguite dall'aborto spontaneo di uno o più feti con riassorbi-



mento della camera gestazionale, potrebbe essere presente nel sangue materno anche il DNA fetale libero del feto abortito. Ciò potrebbe interferire nella qualità dei risultati, determinando falsi positivi nel caso in cui la causa dell'aborto fosse dovuta alla presenza nel suddetto feto di aneuploidie cromosomiche a carico di uno dei cromosomi investigati. Similmente, potrebbe determinarsi una incongruenza nei risultati del sesso (es. diagnosi di sesso maschile, in cui la presenza del cromosoma Y è originata dal DNA feto abortito).

**Non è possibile eseguire il test a gravidanze plurigemellari (trigemellari o più).**

Risultati falsi positivi del test potrebbero essere ottenuti in presenza di una **condizione tumorale (metastasi)** nella madre, o in donne sottoposte a **trapianto e/o a trasfusioni**.

**Non è possibile eseguire questo test su donne portatrici esse stesse di aneuploidie.**

Esiste la possibilità di identificare con questo test, anomalie dei cromosomi sessuali presenti nella madre (omogenee o a mosaico) che possono interferire con l'accuratezza dei risultati riguardanti i cromosomi sessuali fetali. Benché questo test sia molto accurato, i risultati non sono diagnostici e devono essere valutati nel contesto del quadro clinico della paziente e della anamnesi familiare.

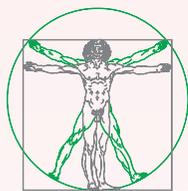
Oltre alle discordanze feto-placentari, a cui sono soggette tutte le indagini che utilizzano il DNA fetale nel primo trimestre e che possono generare risultati falsi positivi o falsi negativi, le analisi del cfDNA possono essere inficiate da altri fattori, compresa la presenza di:

1. **mosaicismi cromosomici costituzionali nella madre:** dato che il test è eseguito sul DNA plasmatico materno e fetale, nel caso in cui l'assetto cromosomico della madre non sia normale, ad esempio per la presenza di una linea cellulare anomala non necessariamente associata ad evidenze cliniche, il risultato del test può essere compromesso;
2. **anomalie cromosomiche materne di origine iatrogena,** e perciò non costituzionali: il test può essere compromesso dalla presenza nel plasma di frammenti di DNA materno mutati a causa di agenti clastogeni (ad es. farmacologici, fisici, virali, in grado di danneggiare il DNA);
3. una **placenta evanescente** appartenente ad una gravidanza interrotta: una importante causa di discrepanza nei test genetici nel primo trimestre di gravidanza basati sul DNA di origine placentare è la presenza di frammenti di DNA originati dalla placenta di un feto abortito nelle prime settimane.

**Un risultato "NEGATIVO - Assenza di aneuploidia cromosomica" riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia una aneuploidia dei cromosomi esaminati ma non può garantire che i cromosomi siano effettivamente normali o che il feto sia sano.**

#### **Alternative del Vera Prenatal Test® e del Vera+Plus®**

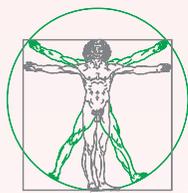
Il test prenatale non invasivo che analizza il DNA fetale presente nel sangue materno, è solo una delle opzioni per la gestante per determinare la presenza di alcune patologie cromosomiche durante la gravidanza. Esistono diversi altri screening effettuabili in questo periodo gestazionale. In particolare, un'indagine citogenetica (cariotipo fetale tradizionale) o molecolare (cariotipo fetale molecolare) più approfondita può essere ottenuta mediante "diagnosi prenatale invasiva", che può essere eseguita su villi coriali o liquido amniotico. Il prelievo dei villi coriali (tessuto placentare che, pur essendo separato dal feto, ne contiene lo stesso DNA), o villocentesi, è effettuato tra la 11<sup>a</sup> e la 12<sup>a</sup> settimana di gestazione e consiste nel prelievo, sotto controllo ecografico, di un piccolo campione di villi coriali mediante una puntura attraverso l'addome materno. Tale prelievo comporta un rischio di aborto inferiore all'1%. Il prelievo del liquido amniotico o amniocentesi viene eseguito mediante puntura transaddominale ecoguidata tra la 16<sup>a</sup> e la 18<sup>a</sup> settimana di gravidanza e comporta un rischio di aborto inferiore all'1%. Il cariotipo fetale viene



condotto sulle cellule fetali (o dal DNA estratto da queste cellule) presenti nei villi coriali o nel liquido amniotico.

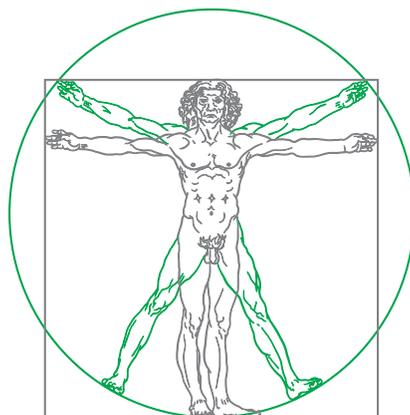
Le suddette indagini sono fortemente raccomandate, in particolar modo, alle pazienti con età superiore ai 35 anni. L'amniocentesi e il prelievo dei villi coriali (CVS) sono tecniche di elezione per la diagnosi prenatale; tuttavia sono procedure invasive e possono incorrere in aborto spontaneo 1 a 200-400 e 1 a 100-200, rispettivamente [14;15]. Più di recente, uno studio ha riportato un rischio di aborto spontaneo dopo l'amniocentesi di 1 a 1600 [16].

A causa di questi rischi, la pratica comune è che gli operatori sanitari raccomandano la possibilità di test diagnostici solo per le donne ad alto rischio di avere un feto con anomalie cromosomiche.



## Bibliografia

1. Orphanet Il portale delle malattie rare e dei farmaci orfani: <http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php?lng=IT>
2. Ministero della salute Consiglio superiore di Sanità. Linee-Guida: Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non Invasive Prenatal Testing- NIPT), Maggio 2015
3. Illumina. Don't settle for failure. [mkt.illumina.com/rs/600-XEX927/images/dont-settle-for-failure.pdf](http://mkt.illumina.com/rs/600-XEX927/images/dont-settle-for-failure.pdf). Accessed-March15, 2017.
4. RavaRP, SrinivasanA, SehnertAJ, BianchiDW. Circulating fetal cell-free DNA fractions differ in autosomal aneuploidies and monosomy X. *ClinChem*. 2014;60(1):243-250
5. Bayindir B, Dehaspe L, Brison N, et al. Noninvasive prenatal testing using a novel analysis pipeline to screen for all autosomal fetal aneuploidies improves pregnancy management. *Eur J HumGenet* 2015;23:1286-93.
6. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar E, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *UltrasoundObstetGynecol*. 2015; 45:249-266.
7. Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaides KH, Ordoñez E, Cirigliano V, Dierickx H, Willems PJ, Jani JC.: Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. *UltrasoundObste-tGynecol*. 2015;45(1):61-66.
8. Huang X, Zheng J, Chen M, Zhao Y, Zhang C, Liu L, Xie W, Shi S, Wei Y, Lei D, Xu C, Wu Q, Guo X, Shi X, Zhou Y, Liu Q, Gao Y, Jiang F, Zhang H, Su F, Ge H, Li X, Pan X, Chen S, Chen F, Fang Q, Jiang H, Lau TK, Wang W. Non invasive prenatal testing of trisomies 21 and 18 by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in twin pregnancies. *PrenatDiagn*. 2014;34(4):335-340.
9. Grati FR, Malvestiti F, Ferreira JC, Bajaj K, Gaetani E, Agrati C, Grimi B, Dulcetti F, Ruggeri AM, De Toffol S, Maggi F, Wapner R, Gross S, Simoni G: Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative non invasive prenatal screening results. *Genet Med*. 2014;16(8):620-624.
10. Wang Y, Chen Y, Tian F, Zhang J, Song Z, Wu Y, Han X, Hu W, Ma D, Cram D, Cheng W. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *ClinChem*. 2014;6:251-259.
11. Bhatt. S. et al. Clinical Laboratory Experience with Noninvasive Prenatal Testing: Update on Clinically Relevant Metrics, presented at the 18° International conference on Prenatal Diagnosis and Therapy Brisbane, Australia, 20-23 July. 2014.
12. Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol*. 2016 May;127(5):e123-37. PubMed PMID: 26938574. 7. Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol*. 2015 Sep;126(3):e31-7. PubMed PMID: 2628779.
13. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012;367(23):2175-84, *Prenat Diagn*. 2018 Jan 16. doi: 10.1002/pd.5217.
14. Midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. *JAMA*. 1976;236:1471-6.
15. Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SE, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Engl J Med*. 1989;320:609-17.
16. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. *ObstetGyne-col*. 2006;108: 1067-72.



**AMES**  
Group

GENETICA MEDICA • MICROBIOLOGIA • PATOLOGIA CLINICA