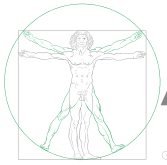


AMES Group

GENETICA MEDICA • MICROBIOLOGIA • PATOLOGIA CLINICA

TEST DI SCREENING PRENATALE NON INVASIVO DI MALATTIE GENETICHE

Il **Vera OMNIA®** è il primo test prenatale non invasivo in grado di rilevare nel feto svariate patologie mendeliane a trasmissione autosomica recessiva e/o a trasmissione autosomica dominante da un semplice prelievo ematico della gestante.

CHI PUÒ EFFETTUTARE IL TEST E COME FUNZIONA

Il test può essere eseguito:

- *da tutte le donne a partire dalla 10a settimana di gravidanza;*
- *nelle gravidanze singole o gemellari;*
- *nei concepimenti avvenuti naturalmente o a seguito di tecniche di procreazione medicalmente assistita (omologhe o eterologhe).*

La diagnosi prenatale delle malattie monogeniche e delle aneuploidie si esegue tradizionalmente su campioni fetali prelevati nel primo/secondo trimestre di gravidanza, attraverso procedure di prelievo invasive (DPI), quali la villocentesi e l'amniocentesi; tali procedure sono associate ad un rischio di perdita fetale stimato compreso fra lo 0,4% e l'1%.

La volontà di ridurre i rischi per il feto delle procedure invasive e di anticipare i tempi della diagnosi prenatale hanno mosso la ricerca scientifica verso l'individuazione di procedure di analisi prenatale non invasive.

Sin dalle prime settimane di gravidanza è possibile rilevare nel circolo ematico materno la presenza di cellule fetali intatte e di DNA libero di origine fetale (cell-free fetal DNA, in sigla cffDNA).

Questa fonte di materiale genetico fetale può essere utilizzata per la diagnosi prenatale non invasiva (NIPD, Non Invasive Prenatal Diagnosis o NIPT Non Invasive Prenatal Testing).

Tale DNA è rilevabile a partire dalla 5a settimana di gestazione; la sua concentrazione aumenta nelle settimane successive e scompare subito dopo il parto.

La quantità di cffDNA dalla 10a settimana di gestazione è suffciente per garantire l'elevata specificità e sensibilità del test.

Il **Vera OMNIA®** è un test di screening non invasivo che, analizzando il DNA libero fetale nel sangue della gestante (cffDNA), rileva la presenza di mutazioni responsabili di gravi patologie genetiche, sia a **trasmissione ereditaria** sia **de novo**.

LE MALATTIE INVESTIGATE

Il **Vera OMNIA®** permette di individuare mutazioni genetiche responsabili di **60 patologie** a trasmissione autosomica recessiva ad alta e bassa incidenza e patologie a trasmissione autosomica dominante (de novo).

Le patologie a trasmissione autosomica recessiva ad alta incidenza analizzate dal **Vera OMNIA®** sono:

Fibrosi Cistica, Anemia Falciforme, Beta Talassemia, Sordità Ereditaria (sia di tipo 1A sia di tipo 1B) e Fenilchetonuria (si veda Tabella 1).

Malattie ad elevata incidenza rilevate con Vera Omnia®	GENE
• Fibrosi Cistica	• CFTR
• Sordità ereditaria tipo 1A	• CX26 (GJB2)
• Sordità ereditaria tipo 1B	• CX30 (GJB6)
• Beta Talassemia	• HBB
• Anemia falciforme	• HBB
• Fenilchetonuria	• PAH

Tabella 1. Lista dei geni indagati dal test VERA OMNIA® associati alle patologie ad elevata incidenza.

Il **VERA OMNIA®** è inoltre in grado di rilevare patologie genetiche a trasmissione ereditaria, siano esse autosomiche recessive o autosomiche dominanti a minore incidenza, sia quelle **de novo**, cioè non trasmesse dai genitori (Tabella 2).

Queste patologie, nella maggior parte dei casi, non sono rilevabili dalle ecografie del primo trimestre (alcune sono rilevabili ecograficamente solamente nel secondo e/o nel terzo trimestre).

Inoltre, a differenza dei NIPT tradizionali, il **VERA OMNIA®** identifica malattie genetiche che non hanno alcuna correlazione con l'età materna.

Il **VERA OMNIA®** è altresì in grado di identificare alcune patologie associate ad età paterna avanzata (come ad esempio l'Acondroplasia, la sindrome di Pfeiffer, la sindrome di Apert, quella di Crouzon e l'Osteogenesi Imperfetta), causate da errori genetici che insorgono durante il processo di spermatogenesi, fornendo alle coppie meno giovani la possibilità di utilizzare un test di screening più completo.

Le mutazioni individuate dal test **VERA OMNIA®** possono insorgere in modo casuale nel feto e senza che siano rilevabili nei genitori con i test di screening pre-concezionali, poiché possono essere anche non ereditarie (cosiddette mutazioni de novo).

La presenza di mutazioni in uno dei geni investigati può causare nel bambino displasie scheletriche, difetti cardiaci, anomalie congenite multiple, autismo, epilessia e/o deficit intellettivo.

Malattie a bassa incidenza e/o ad insorgenza DE NOVO	GENE
Malattie Sindromiche	GENE
• Sindrome di Gaucher	• GBA
• Sindrome Dubowitz	• NSUN2
• Sindrome di Richner-Hanhart	• TAT
• Sindrome di Sjögren-Larsson	• ALDH3A2
• Sindrome di Costello	• HRAS
• Sindrome di Tay-Sachs	• HEXA
• Sindrome di PKAN	• PANK2
• Sindrome della Tripla-H	• SLC25A15
• Sindrome di Coffin-Lowry	• RPS6KA3
• Sindrome di Alagille	• JAG1
• Sindrome di CHARGE	• CHD7
• Sindrome di Cornelia de Lange tipo 5	• HDAC8
• Sindrome di Cornelia de Lange tipo 1	• NIPBL
• Sindrome di Rett	• MECP2
• Sindrome di Sotos tipo1	• NSD1
• Sindrome di Bohring - Opitz	• ASXL1
• Sindrome di Schinzel - GiedionS	• SETBP1
• Oloprosencefalia	• SIX3
• Niemann-Pick	• SMPD1

800 586 368

AMES Group Centro Polidiagnostico Strumentale
GENETICA MEDICA - MICROBIOLOGIA - PATOLOGIA CLINICA

Via Padre Carmine Fico, n. 24 | Cap. 80013 Casalnuovo di Napoli (NA)
Tel. e Fax 081 5224316 pbx - 081 8420923 - 081 5227785 - 081 5227636
genetica@centroames.it - marketing@centroames.it

Sindrome di Noonan	GENE
• Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 1	• BRAF
• Sindrome di Noonan - simile con o senza leucemia mielomonocitica giovanile	• CBL
• Sindrome di Noonan /cancers	• KRAS
• Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 4	• MAP2K1
• Sindrome di Noonan 6/cancers	• MAP2K2
• Sindrome di Noonan 1/Sindrome di LEOPARD/cancers	• NRAS
• Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo e 3	• PTPN11
• Leucemia mielomonocitica giovanile (JMML)	• PTPN11
• Sindrome di Noonan 5/Sindrome di LEOPARD 2	• RAF1
• Sindrome di Noonan 8	• RIT1
• Sindrome Noonan - simile con capelli caduchi in fase anagen	• SHOC2
• Sindrome di Noonan 4	• SOS1

Patologie scheletriche	GENE
• Acondrogenosi tipo 2	• COL2A1
• Acondroplasia • Sindrome CATSHL • Sindrome di Crouzon con acanthosis nigricans • Ipocondroplasia • Sindrome di Muenke • Displasia tanatafora, tipo I • Displasia tanatafora, tipo II	• FGFR3
• Sindrome di Ehlers - Danlos, classica • Sindrome di Ehlers - Danlos, tipo VIIA • Osteogenesi imperfetta, tipo I • Osteogenesi imperfetta, tipo II • Osteogenesi imperfetta, tipo III • Osteogenesi imperfetta, tipo IV	• COL1A1
• Sindrome di Ehlers - Danlos, forma cardiaco - valvolare • Osteogenesi imperfetta, tipo II • Sindrome di Ehlers - Danlos, tipo VIIB • Osteogenesi imperfetta, tipo III • Osteogenesi imperfetta, tipo IV	• COL1A1

Craniosinostosi	GENE
• Sindrome di Antley - Bixler senza anomalie genitali o disordini della steroidognesi • Sindrome di Apert • Sindrome di Crouzon • Sindromedi Jackson - Weiss • Sindrome di Pfeiffer, tipo 1 • Sindrome di Pfeiffer, tipo 2 • Sindrome di Pfeiffer, tipo 3	• FGFR2

Tabella 2. Lista dei geni indagati dal VERA OMNIA® e delle patologie associate a carattere autosomico recessivo o dominante e ad insorgenza de novo.

AMES Group Centro Polidiagnostico Strumentale
GENETICA MEDICA - MICROBIOLOGIA - PATOLOGIA CLINICA
Via Padre Carmine Fico, n. 24 | Cap. 80013 Casalnuovo di Napoli (NA)
Tel. e Fax 081 5224316 pbx - 081 8420923 - 081 5227785 - 081 5227636
genetica@centroames.it - marketing@centroames.it

Il VERA OMNIA® se abbinato allo studio non invasivo del cariotipo fetale, VERA PLUS + Microdelezioni, permette di raggiungere il più alto livello d'informazione possibile, mediante tecniche prenatali non invasive, ad oggi disponibile.

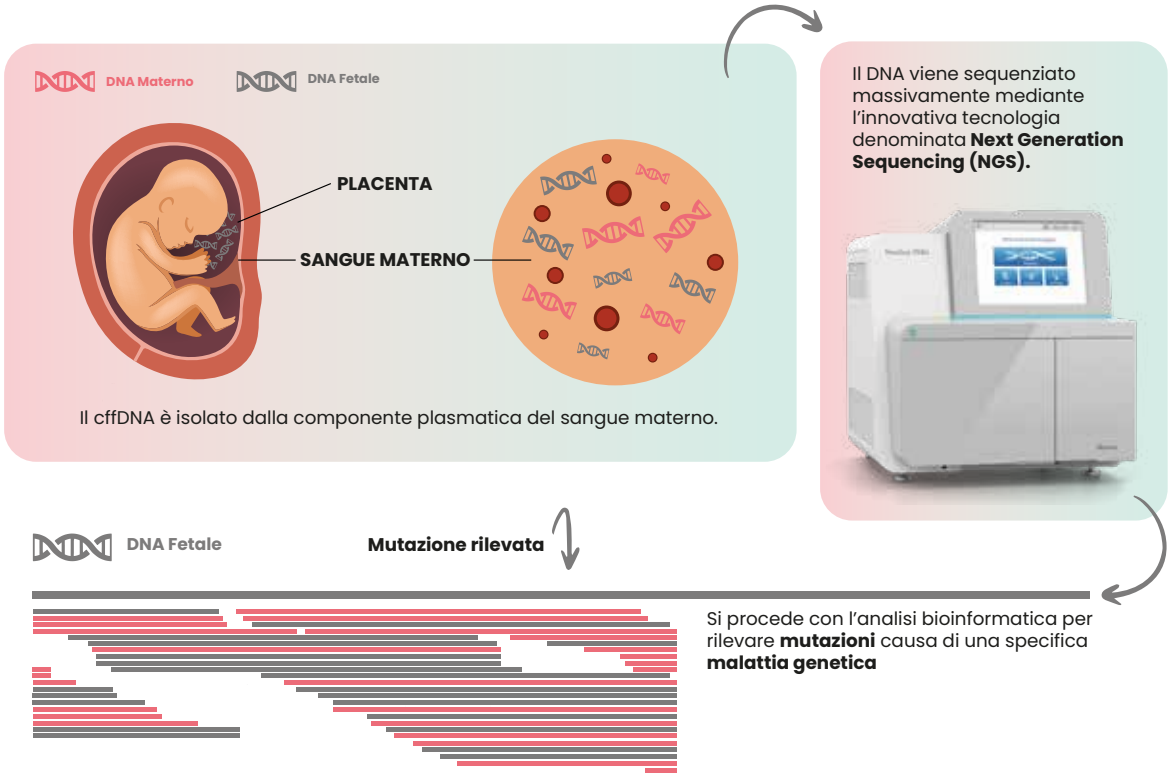
INDICAZIONI AL TEST

Il VERA OMNIA® è adatto ad ogni tipo di gravidanza, ma in particolare:

- Gravidanze in cui è controindicata la diagnosi prenatale invasiva (es. rischio di aborto spontaneo);
- Quadro ecografico di anomalie fetali suggestive di malattia genetica;
- Pazienti a rischio di trasmissione al feto di una malattia genetica individuabile con il test (ad esempio portatori di malattie ereditarie ad elevata incidenza);
- Coppie con età paterna avanzata;
- Gestanti che desiderano ridurre il rischio di malattia genetica del feto.

PROCEDURA DEL TEST

- Prelievo di sangue a donne in gravidanza con un'età gestazionale di almeno 10 settimane;
- Separazione del DNA libero circolante presente nel sangue materno, originatosi dai citotrofoblasti placentari in apoptosi;
- Analisi di sequenziamento massivo mediante tecnologia di nuova generazione (tecnologia NGS Illumina) per rilevare le mutazioni dei geni delle patologie investigate (elencati nelle tabelle 1 e 2);
- Analisi dei dati mediante un'accurata analisi bioinformatica che si avvale di algoritmi e database privati e pubblici (riportati nella sezione relativa all'interpretazione dei risultati).



800 586 368

AMES Group Centro Polidiagnostico Strumentale
GENETICA MEDICA - MICROBIOLOGIA - PATOLOGIA CLINICA

Via Padre Carmine Fico, n. 24 | Cap. 80013 Casalnuovo di Napoli (NA)
Tel. e Fax 081 5224316 pbx - 081 8420923 - 081 5227785 - 081 5227636
genetica@centroames.it - marketing@centroames.it

RISULTATI OTTENIBILI CON IL VERA OMNIA®

ALTO RISCHIO

Indica che il test ha rilevato una o più mutazioni a livello di uno (o più) geni.

Tale risultato indica che il feto presenta un elevato rischio per la specifica malattia indicata, ma non assicura che il feto abbia tale condizione.

In particolare vengono indicate come alto rischio:

- *la presenza di almeno due varianti patogenetiche nei geni associati a patologie autosomiche recessive ad alta o bassa incidenza.*
- *la presenza di una variante patogenetica nei geni associati a patologie autosomiche dominanti o ad insorgenza de novo.*

La/e mutazione/i ritrovate vanno confermate mediante un test di diagnosi nei genitori ed eventualmente con diagnosi prenatale invasiva, come il prelievo dei villi coriali (Villocentesi) o l'Amniocentesi. In nessun modo è possibile avvalersi della Legge 194/78 sull'interruzione volontaria della gravidanza senza prima aver confermato il risultato del test mediante amniocentesi o villocentesi.

Per l'analisi dei risultati si considerano esclusivamente mutazioni per le quali vi è univocità di risultato patologico.

Pertanto il test non ricerca varianti con significato benigno e varianti con significato clinico incerto, cioè quelle non ancora caratterizzate da un punto di vista patogenetico.

RISCHIO MODERATO

Indica che il test ha rilevato una mutazione a livello di uno o più geni associati a patologie autosomiche recessive ad alta o bassa incidenza.

Tale risultato va confermato inizialmente eseguendo l'analisi genetica nei genitori, per valutare la segregazione delle mutazioni rilevate.

Successivamente è possibile valutare la necessità di eseguire un test di diagnosi prenatale invasiva, come il prelievo dei villi coriali (Villocentesi) o l'Amniocentesi.

In nessun modo è possibile avvalersi della Legge 194/78 sull'interruzione volontaria della gravidanza senza prima aver confermato il risultato del test mediante amniocentesi o villocentesi.

Per l'analisi dei risultati si considerano esclusivamente mutazioni per le quali vi è univocità di risultato patologico.

Pertanto il test non ricerca varianti con significato benigno e varianti con significato clinico incerto, cioè quelle non ancora caratterizzate da un punto di vista patogenetico.

BASSO RISCHIO

Indica che il test non ha rilevato alcuna mutazione a significato patologico noto nei geni esaminati.

Tale risultato riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia le malattie genetiche esaminate.

Tuttavia, il test non può garantire che il feto sia sano.

In alcuni casi, inoltre, (circa l'1%) il test potrebbe produrre un risultato non ottimale o non conclusivo.

In questo caso verrà richiesto alla gestante il prelievo di un nuovo campione ematico al fine di ripetere l'esame e/o un campione ematico paterno.

AMES Group Centro Polidiagnostico Strumentale
GENETICA MEDICA - MICROBIOLOGIA - PATOLOGIA CLINICA
Via Padre Carmine Fico, n. 24 | Cap. 80013 Casalnuovo di Napoli (NA)
Tel. e Fax 081 5224316 pbx - 081 8420923 - 081 5227785 - 081 5227636
genetica@centroames.it - marketing@centroames.it

PARAMETRI RIPORTATI NEL REFERTO:

• Varianti genetiche riportate

L'analisi è mirata esclusivamente ai geni elencati nelle Tabelle 1 e 2.

In particolare vengono analizzate le porzioni codificanti dei geni, quelle cioè che comunemente sono associate a malattia (vedi anche LIMITI DEL TEST).

Verranno riportate nel referto solo le mutazioni classificate a significato patogenetico noto, sulla base dei dati della letteratura scientifica e la classificazione presente nei database di riferimento interrogati: ClinVar (NCBI); Human Gene Mutation Database (HGMD), aggiornati alla data del prelievo.

• Target Coverage

Si intende per Target Coverage, il numero medio di letture (reads) ottenute dal sequenziamento per ciascuna base nucleotidica costituente il gene. Il Target Coverage del test è >600X.

Il disegno della libreria per i geni indagati è stato realizzato in modo da poter ottenere una copertura ottimale e completa per tutti i geni analizzati.

Si riduce quindi la possibilità che ci siano delle porzioni dei geni non analizzate.

• Accuratezza del test

L'esame ha dimostrato, in studi di validazione preclinica, una sensibilità >99% nel rilevare le mutazioni nei geni investigati, con percentuali di falsi positivi <0.1%. Sebbene l'errore del test sia basso, tuttavia non è escludibile.

LIMITI DEL TEST

Questo esame valuta solo le malattie genetiche ed i geni elencati in Tabella 1 e 2.
Pertanto il test non valuta altre malattie genetiche o geni non specificamente indicati.
L'esame inoltre non è in grado di evidenziare:

- *mutazioni localizzate nelle regioni introniche oltre ± 5 nucleotidi dalle giunzioni esone-introne;*
- *delezioni o duplicazioni maggiori di 5 bp;*
- *inversioni;*
- *mosaicismi.*

Limiti della metodica:
Per i campioni con FF (frazione fetale) minore del 4%, verrà richiesta, a titolo gratuito, la ripetizione dell'esame con un nuovo prelievo.

Il **VERA OMNIA®** è un **test di screening**, non è un **test diagnostico**.

Benché molto accurato, i risultati del test non sono diagnostici (forniscono un **rischio alto, moderato o basso**) e devono essere valutati da un genetista medico nel contesto del quadro clinico della gestante e dell'anamnesi familiare.

I risultati devono essere confermati in quanto il test non è sostitutivo della diagnosi prenatale invasiva (Villocentesi o Amniocentesi).

Il test è stato validato su gravidanze singole o gemellari, monozigotiche o dizigotiche, con almeno 10 settimane di gestazione.

Nelle gravidanze gemellari non è possibile distinguere la condizione del singolo feto, quindi in caso di risultato positivo, bisogna confermare con villocentesi o amniocentesi.

Nelle gravidanze che sono iniziate come gemellari o plurime, seguite dall'aborto spontaneo di uno o più feti con riassorbimento della camera gestazionale (vanishing twin), potrebbe essere presente nel sangue materno anche il DNA fetale libero del feto abortito.

AMES Group
800 586 368
Vera omnia
AMES Group Centro Polidiagnostico Strumentale
GENETICA MEDICA - MICROBIOLOGIA - PATOLOGIA CLINICA
Via Padre Carmine Fico, n. 24 | Cap. 80013 Casalnuovo di Napoli (NA)
Tel. e Fax 081 5224316 pbx - 081 8420923 - 081 5227785 - 081 5227636
genetica@centroames.it - marketing@centroames.it

Ciò potrebbe interferire nella qualità dei risultati, determinando falsi positivi.

L'esistenza di un tumore (metastasi) nella gestante potrebbe determinare risultati del test falsi positivi dovuti a mutazioni del DNA tumorale circolante (ctDNA) a livello di geni coinvolti nel processo di cancerogenesi (es. BRAF, HRAS, NRAS, KRAS).

Il DNA tumorale si ritrova nella frazione del sangue materno da cui viene isolato il DNA fetale, per cui una mutazione rilevata in questi geni (oncogeni) potrebbe provocare una falsa positività.

In questi casi bisogna effettuare villocentesi o amniocentesi per confermare il risultato.

Il test identifica esclusivamente mutazioni con signi cato patologico noto.

Non vengono riportate varianti con significato benigno e varianti con significato clinico incerto, cioè quelle ancora non note o caratterizzate.

L'interpretazione delle varianti genetiche si basa sull'utilizzo di diversi database aggiornati alla data del prelievo.

Ciò consente di lavorare con dati il più possibile recenti al momento dell'analisi.

È importante sottolineare che, grazie ai rapidi progressi nel campo del sequenziamento di nuova generazione, tale interpretazione potrebbe cambiare in futuro con l'acquisizione di nuove informazioni scientifiche e mediche sulla struttura del genoma ed influire sulla valutazione stessa delle varianti.

Per i limiti sopra riportati, in caso di risultato positivo si raccomanda di eseguire un colloquio con un genetista e la conferma del risultato attraverso l'analisi genetica su liquido amniotico o villi coriali.

TEMPI DI REFERTAZIONE

I tempi stimati di refertazione sono di circa 20 giorni lavorativi.

I tempi di refertazione, tuttavia, potrebbero prolungarsi in caso di ripetizioni dell'esame, risultati non ottimali, approfondimenti dell'esame o dubbi interpretativi.

Il VERA OMNIA® come integrazione al VERA TEST®

Il **VERA OMNIA®** fornisce informazioni in merito al rischio di malattie genetiche riscontrabili nel feto, ma non fornisce alcuna informazione rispetto alle aneuploidie fetali, né rispetto alle anomalie cromosomiche strutturali.

Pertanto, al fine di avere una visione più completa sulla salute del feto è utile abbinare al VERA OMNIA® il VERA PLUS® con microdelezioni, in grado di individuare aneuploidie e anomalie strutturali cromosomiche su tutto il cariotipo fetale.

ALTERNATIVE DIAGNOSTICHE PRENATALI

Il **VERA OMNIA®** è solo una delle opzioni a disposizione della gestante per determinare il rischio di patologie genetiche durante la gravidanza.

Esistono diversi altri test di screening e/o diagnostici effettuabili nel medesimo periodo gestazionale. In particolare, un'indagine genetica 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, contiene il DNA fetale) è effettuato tra la 11a e la 12 a 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 al 2%. Il prelievo del liquido amniotico o amniocentesi viene eseguito mediante puntura transaddominale tra la 16a e la 18a settimana di gravidanza e comporta un rischio di aborto inferiore all'1%.

Referenze

1. Frebourg T. The challenge for the next generation of medical geneticists. Hum Mutat.2014;35:909-911.

2. Tetreault M, Bareke E, Nadaf J, et al. Whole-exome sequencing as a diagnostic tool:current challenges and future opportunities. Expert Rev Mol Diagn.2015;15:749-760.

3. OMIM Gene Map Statistics http:// www.omim.org/statistics/geneMap. Accessed 5 July,2017

4. Homsy J, Zaidi S, Shen Y, et al. De novo mutations in congenital heart disease with neurodevelopmental and other congenital anomalies. Science.2015;350:1262–6.

5. Zaidi S, Choi M, Wakimoto H, et al. De novo mutations in histone-modifying genes in congenital heart disease. Nature. 2013;498:220–3.

6. Sifrim A, Hitz M-P, Wilsdon A, et al. Distinct genetic architectures for syndromic and nonsyndromic congenital heart defects identified by exome sequencing. Nat Genet. 2016;48:1060–5.

7. Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, Hannibal et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome. Nat Genet. 2010;42:790–3.

8. Hoischen A, van Bon BWM, Rodríguez-Santiago B, et al. De novo nonsense mutations in ASXL1 cause Bohring-Opitz syndrome. Nat Genet. 2011;43:729–31.

9. Iossifov I, O'Roak BJ, Sanders SJ, et al. The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. Nature. 2014;515:216–21.

10. O'Roak BJ, Deriziotis P, Lee C, et al. Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations. Nat Genet. 2011;43:585–9.

11. Allen AS, Berkovic SF, Cossette P, et al. De novo mutations in epileptic encephalopathies. Nature. 2013;501:217–21.

12. de Ligt J, Willemsen MH, van Bon BWM, et al. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. N Engl J Med. 2012;367:1921–9.

13. Rauch A, Wieczorek D, Graf E, et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. Lancet. 2012;380:1674–82.

14. Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome. Nat Genet 2010, 42:790–793.

15. Hoischen A, van Bon BW, Gilissen C, et al. De novo mutation of SETBP1 of Shinzel-Giedion syndrome. Nat Genet 2010, 42:483-485.

800 586 368

AMES Group Centro Polidiagnostico Strumentale
GENETICA MEDICA - MICROBIOLOGIA - PATOLOGIA CLINICA

Via Padre Carmine Fico, n. 24 | Cap. 80013 Casalnuovo di Napoli (NA)
Tel. e Fax 081 5224316 pbx - 081 8420923 - 081 5227785 - 081 5227636
genetica@centroames.it - marketing@centroames.it

AMES Group

GENETICA MEDICA • MICROBIOLOGIA • PATOLOGIA CLINICA

www.centroames.it

www.veraprenataltest.it

Illumina Propel Certified ™ | 2018-19 NextSeq

ORGANIZZAZIONE CON SISTEMA DI GESTIONE PER LA QUALITÀ CERTIFICATO

ISO 9001

Certified Partner Società Italiana di Genetica Umana Certificato SIGUCERT