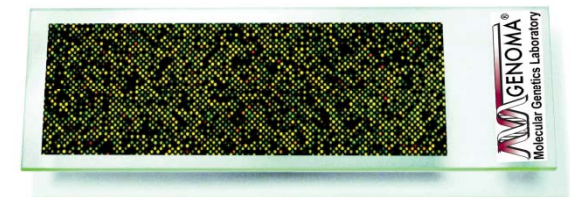


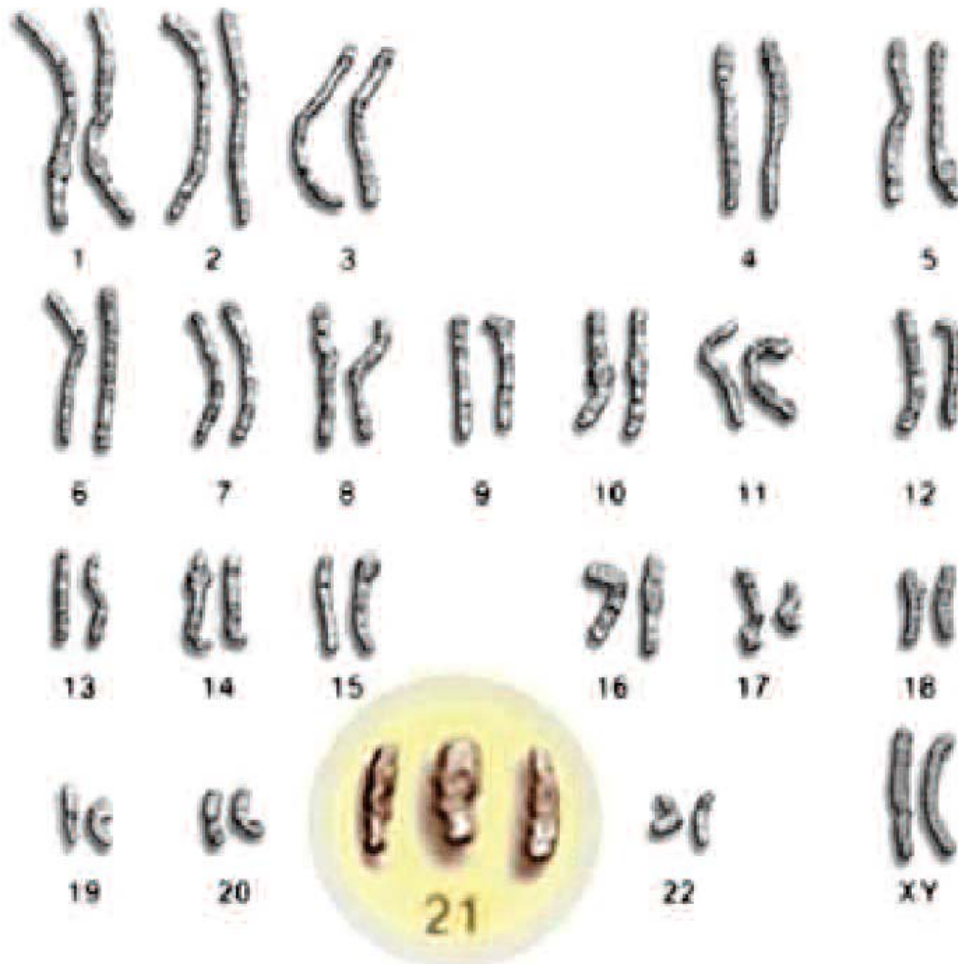


Il Cariotipo Fetale Molecolare (**array-CGH**)

<http://www.laboratoriogenoma.eu/>



Il Cariotipo Fetale **TRADIZIONALE**



- ✓ **FINALITA'**: evidenziare la presenza di eventuali anomalie cromosomiche fetali.
- ✓ **TECNICA**: comporta la **coltura delle cellule fetali** presenti nel liquido amniotico o nei villi coriali e la valutazione dell'assetto cromosomico tramite l'analisi al microscopio dei cromosomi in metafase.

Il Cariotipo Fetale TRADIZIONALE

Difficoltà Tecniche

TEMPI LUNGI DI ATTESA PER I RISULTATI

- ✓ Le **colture cellulari** impongono **lunghi tempi di attesa (15-20 giorni)**, necessari per lo sviluppo delle colonie di cellule fetali.
- ✓ E' possibile ottenere una risposta rapida (24/48 ore) **preliminare** dalle aneuploidie cromosomiche più comuni (cromosomi 13, 18, 21, X e Y), mediante la tecnica QF-PCR, ma i risultati sono **parziali** e comunque necessitano di una **conferma** dal cariotipo.

RISCHIO DI MANCANZA DI CRESCITA DELLA COLTURA

- ✓ A volte è possibile che le cellule poste in coltura **non crescano** adeguatamente, con conseguente necessità di ripetizione del prelievo al fine di allestire nuove colture cellulari.
- ✓ Questo problema avviene **1 volta su 500** in caso di cariotipo da liquido amniotico e **1 volta su 100** in caso di cariotipo da villi coriali.

Il Cariotipo Fetale **TRADIZIONALE**

LIMITI DI ACCURATEZZA DELL'ESAME

- ✓ **Limiti di risoluzione:** l'esame standard non riesce ad evidenziare le anomalie strutturali inferiori a **10-15 Mb**. Quindi, le patologie derivanti da alterazioni cromosomiche submicroscopiche (microdelezioni o microduplicazioni), il più delle volte sfuggono alla diagnosi.
- ✓ **Necessità di approfondimenti diagnostici di 2^a livello:** nei casi di anomalie cromosomiche particolari di cui non si conosce l'espressività fenotipica.
 - ✓ **Markers:** piccoli porzioni cromosomiche soprannumerarie;
 - ✓ **anomalie cromosomiche strutturali** come inversioni o traslocazioni, apparentemente bilanciate.
- ✓ **Possibilità di artefatti "in vitro":** il più delle volte riferibili a pseudomosaicismi. Questo può avvenire nel 2-3% delle colture.

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE



Il Cariotipo Fetale
Molecolare

L'ANALISI APPROFONDATA
DI **TUTTI** I CROMOSOMI E DI **100 PATOLOGIE**
IN SOLI **3 GIORNI**

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

RISULTATI IN SOLI 3 GIORNI



- ✓ Impiegando una tecnica molecolare, che **non necessita di coltura cellulare**, con il Cariotipo Molecolare è possibile ottenere un'analisi cromosomica approfondita in soli **2-3 giorni**, a differenza dei 15-20 giorni necessari con la tecnica tradizionale, riducendo al minimo i tempi di attesa dei risultati.
- ✓ Con indubbi vantaggi:
 - ❖ Esclusione di patologie cromosomiche entro pochi giorni dal prelievo
 - ❖ Riduzione dell'ansietà della gestante
 - ❖ Possibilità di gestire in largo anticipo un'eventuale intervento terapeutico, in caso di risultato patologico

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

ESAME APPROFONDITO DEI CROMOSOMI

Il cariotipo tradizionale è limitato nelle sue possibilità diagnostiche dal potere di risoluzione del microscopio. Il cariotipo molecolare, invece, permette:

- ✓ Una risoluzione **100 volte maggiore** (~100 Kb)
- ✓ L'identificazione di alterazioni cromosomiche **submicroscopiche**
- ✓ Lo screening di **100 patologie** cromosomiche da microdelezione / duplicazione e di oltre **150 geni**
- ✓ La verifica della patogenicità dell'anomalia cromosomica riscontrata mediante una sofisticata **analisi bioinformatica**

È ideale per **approfondimenti diagnostici di 2° livello**, in casi di:

- ✓ **difetti dello sviluppo** (ritardo di crescita) e/o della **struttura fetale** evidenziati tramite ecografia;
- ✓ **feto con anomalie cromosomiche** individuate attraverso l'analisi citogenetica tradizionale quali:
 - riarrangiamenti sbilanciati
 - riarrangiamenti de novo apparentemente bilanciati
 - *Markers* cromosomici

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

ELEVATA ACCURATEZZA

- ✓ Tecnica completamente automatizzata
- ✓ Non necessita di coltura cellulare
- ✓ Nessun rischio di artefatti " in vitro"
- ✓ Massima affidabilità dei risultati

RISULTATO ASSICURATO

Il Cariotipo Molecolare, non è soggetto al rischio di mancata crescita della coltura cellulare e, di conseguenza, di ripetizione del prelievo, garantisce un risultato in quasi la **totalità** dei casi.

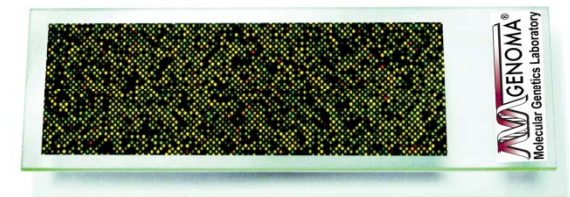
Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

LIMITI

I **limiti** di tale tecnica in ambito prenatale sono rappresentati dall'impossibilità di identificare:

- ✓ **Riarrangiamenti cromosomici bilanciati** (non patologici);
- ✓ **Mosaicismi** (cioè la presenza cioè di due linee cellulari con differente assetto cromosomico) con una linea cellulare scarsamente rappresentata (inferiore al 10% circa).

Cariotipo Molecolare Vs. QF-PCR



Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

Da non confondere con la QF-PCR!

- ✓ **Quantitative Fluorescent - Polimerase Chain Reaction** o QF-PCR : è una tecnica molecolare che permette di ottenere una risposta rapida (24/48 ore) **preliminare** sulle aneuploidie cromosomiche più comuni (es. Trisomia 21, 18, 13, Monosomia X, Klinefelter - XXY).
- ✓ Tale tecnica veniva offerta dal ns. Centro come **esame preliminare** rapido, assieme al cariotipo tradizionale.
- ✓ I risultati della QF-PCR sono **parziali** (limitati ai soli cromosomi 13, 18, 21, X , Y).
- ✓ La QF-PCR non permette di evidenziare alterazioni cromosomiche **submicroscopiche**, ma si limita a determinare il numero di alcuni cromosomi.
- ✓ La QF-PCR necessita di una **conferma** dal cariotipo (con i risultati della QF-PCR non è possibile ricorrere alla interruzione volontaria della gravidanza).
- ✓ la tecnica QF-PCR, talvolta, viene erroneamente identificata con il cariotipo molecolare.
- ✓ **ATTENZIONE**: alcuni laboratori stanno tentando di far passare la tecnica QF-PCR come cariotipo molecolare, denominandola “**esame preliminare del cariotipo molecolare in 24/48 ore**”, con la chiara intenzione di fuorviare i clienti e coprire i loro limiti tecnologici.

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

Da non confondere con la QF-PCR!

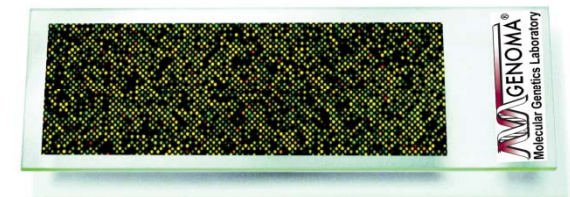
Il cariotipo molecolare eseguito presso il ns. Centro :

- ✓ È un esame **sostitutivo** del cariotipo tradizionale, oltre che della tecnica QF-PCR.
- ✓ non è un **esame preliminare**.

Quindi, quando richiederai l'analisi del Cariotipo Molecolare Fetale:

- ✓ entro 3 giorni lavorativi riceverai la risposta **definitiva** dell'analisi di **tutti** i cromosomi;
- ✓ **non dovrai attendere** né i risultati della QF-PCR né quelli del cariotipo tradizionale, esami che non verranno eseguiti in quanto non più necessari.

**Cariotipo Molecolare
Vs.
Screening prenatale della malattie metaboliche**



Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

Da non confondere con lo screening prenatale delle malattie metaboliche!

- ✓ **screening prenatale delle malattie metaboliche:** con lo scopo (ipotetico) di diagnosticare una malattia metabolica rilevando i valori di alcuni metaboliti urinari fetali su un campione di liquido amniotico.
- ✓ Non esistono in letteratura **pubblicazioni scientifiche** riguardanti un trial clinico di validazione prenatale relativi a questo genere di test.
- ✓ Quindi, allo stato attuale, non esiste un **supporto scientifico** circa la validità e l'affidabilità di tale tecnica a livello prenatale.
- ✓ Diverso è il caso dello **screening neonatale** delle malattie metaboliche, la cui valenza scientifica è ampiamente documentata.
- ✓ Nel **referto** dell'esame è chiaramente indicato che: *“si precisa che l'esame ha solo valore di screening, non di diagnosi di certezza, presentando un'attendibilità non assoluta compresa tra il **50%** ed il **90%**”*.
- ✓ **Position statement:** il ns. centro ritiene che sia **inappropriato**, oltre che **rischioso**, offrire l'esame in argomento a livello prenatale, in quanto il test non è affidabile (non consentendo una diagnosi certa) e non è supportato da trial clinici che ne dimostrino l'efficacia e l'attendibilità, presupposto imprescindibile affinché un qualsiasi test possa venir adottato a livello diagnostico, soprattutto se in fase prenatale.

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

Da non confondere con lo screening prenatale delle malattie metaboliche!

SCREENING DEL METABOLISMO FETALE

Il risultato dell'esame permette la rilevazione di composti presenti nel liquido amniotico. L'alterazione di uno o più di essi potrebbe essere in relazione agli errori congeniti del metabolismo riportati in allegato 1. Si precisa che l'esame ha solo valore di screening, NON di diagnosi di certezza, presentando, come tutti gli screening (compresi quelli postnatali), un'attendibilità non assoluta compresa tra il 50% ed il 90%.

Identificativo Paziente: [REDACTED]

Esame: Profilo amminoacidico - Liquido amniotico

ANALITA	Valori (micromoli/litro)	Valori normali (micromoli/litro)
ASPARTATO	6.83	1 - 12
GLUTAMMATO	55.42	40 - 300
ARGININOSUCCINATO	2.64	0 - 6
ASPARAGINA	51.81	30 - 100
ACIDO ALFA-AMMINO-ADIPICO	0.13	0 - 4
SERINA	23.67	5 - 50

Esempio di referto di screening prenatale delle malattie metaboliche

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

Da non confondere con lo screening prenatale delle malattie metaboliche!

SCREENING DELLE MALATTIE METABOLICHE

Difetti del metabolismo delle purine e delle pirimidine; difetti del metabolismo di amminoacidi N-acetilati e della creatinina; difetti del metabolismo di acidi organici

Paziente: [REDACTED]

I risultati degli esami di seguito elencati rilevano i valori di metaboliti urinari fetali da liquido amniotico che, se alterati, possono screenare le patologie METABOLICHE di seguito riportate.

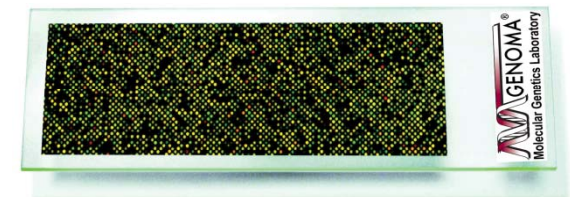
Il presente esame dà il massimo delle garanzie possibili in epoca prenatale, cionondimeno si rammenta che gli esami seguenti hanno solo valore di screening, NON di diagnosi di certezza. Si ribadisce che gli esami sul metabolismo fetale hanno solo il valore di screening.

Come tutti gli screening, soprattutto quelli prenatali, questi presentano una percentuale variabile di falsi positivi e falsi negativi, a seconda delle diverse patologie screenate.

Esempio di referto di screening prenatale delle malattie metaboliche



DIAGNOSI PRENATALE: LA NS. ESPERIENZA

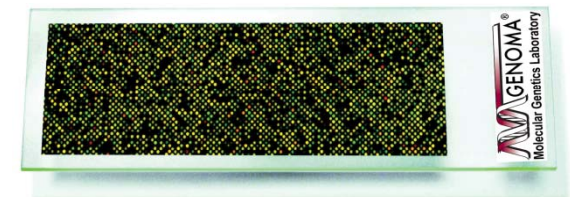


Il Centro di Diagnosi Prenatale del Gruppo GENOMA

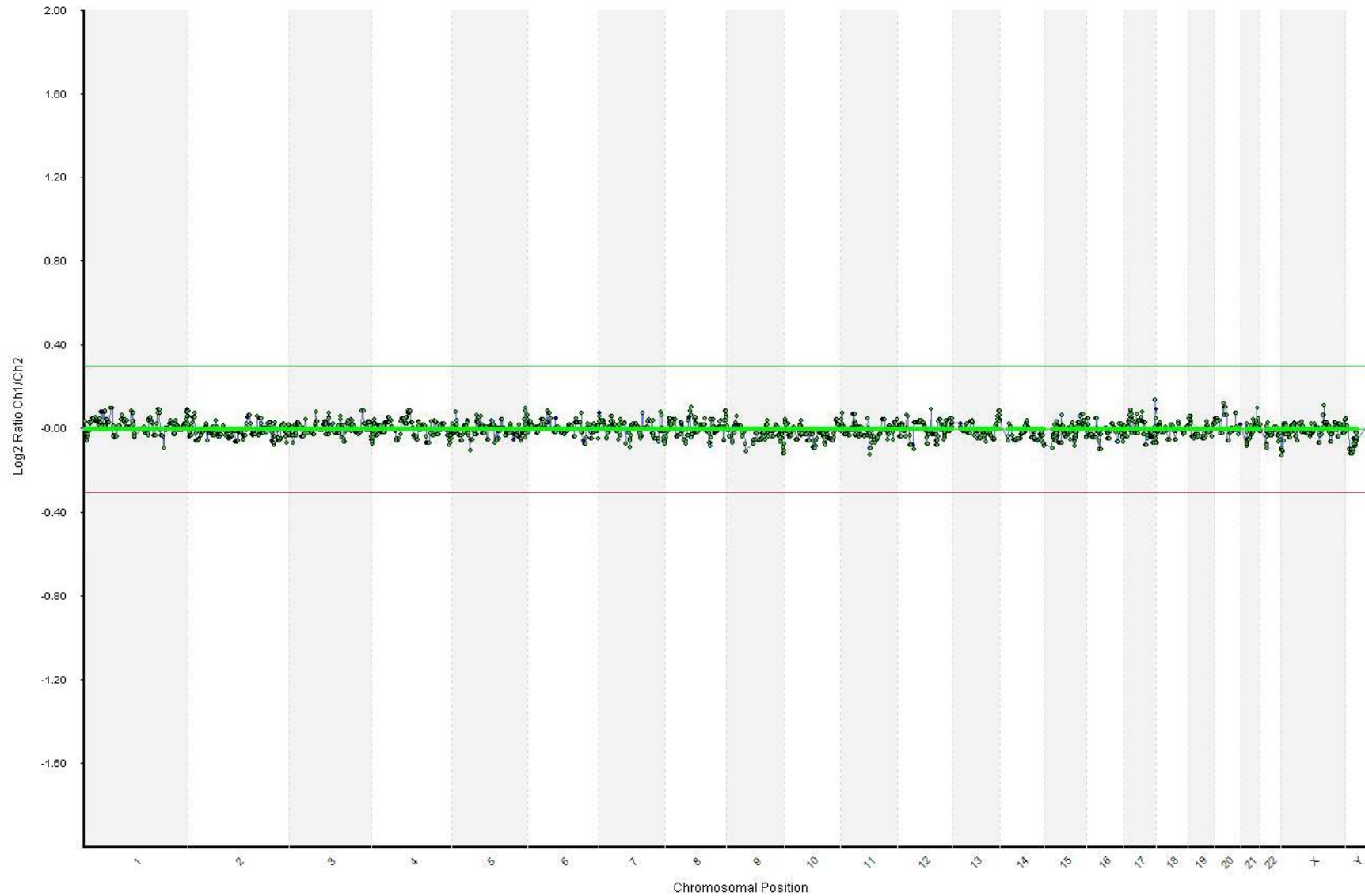
- ✓ Oltre **30 anni** di esperienza in diagnosi prenatale
- ✓ Oltre **5000** diagnosi prenatali all'anno
- ✓ Un'esperienza di oltre **100.000** casi prenatali e un totale di **140.000** determinazioni di cariotipo
- ✓ Un totale di analisi (citogenetica + molecolare) eseguite che supera i **440.000**
- ✓ La più bassa percentuale di **insuccessi di coltura cellulare** (mancata crescita), inferiore allo **0.2%** (<1:500)
- ✓ **Cariotipo Molecolare** Array-CGH: risultato in **2-3 giorni**
- ✓ Possibilità di ricercare routinariamente anche le **malattie genetiche più comuni** (Fibrosi Cistica, X-Fragile, Sordità Ereditaria, Distrofia Muscolare Duchenne, Beta Talassemia, etc.).
- ✓ **Consulenza genetica gratuita** associata a ciascun esame.
- ✓ Supporto di uno dei più avanzati laboratori di genetica e di biologia molecolare.



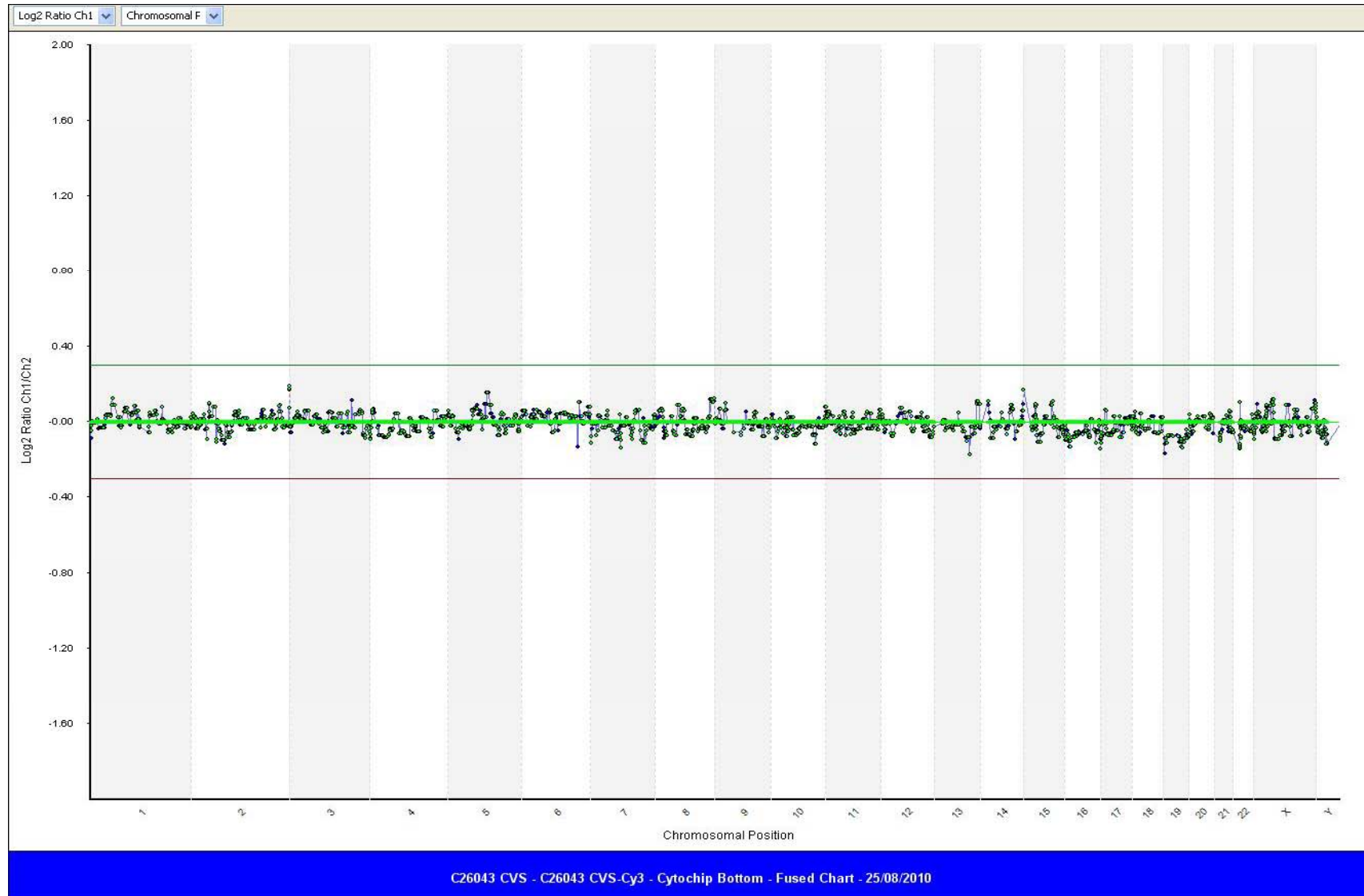
Casi prenatali con cariotipo normale



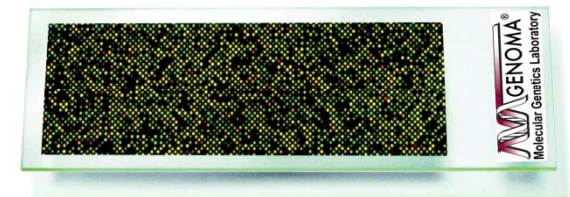
DNA (Amniotic fluid) from a normal fetus



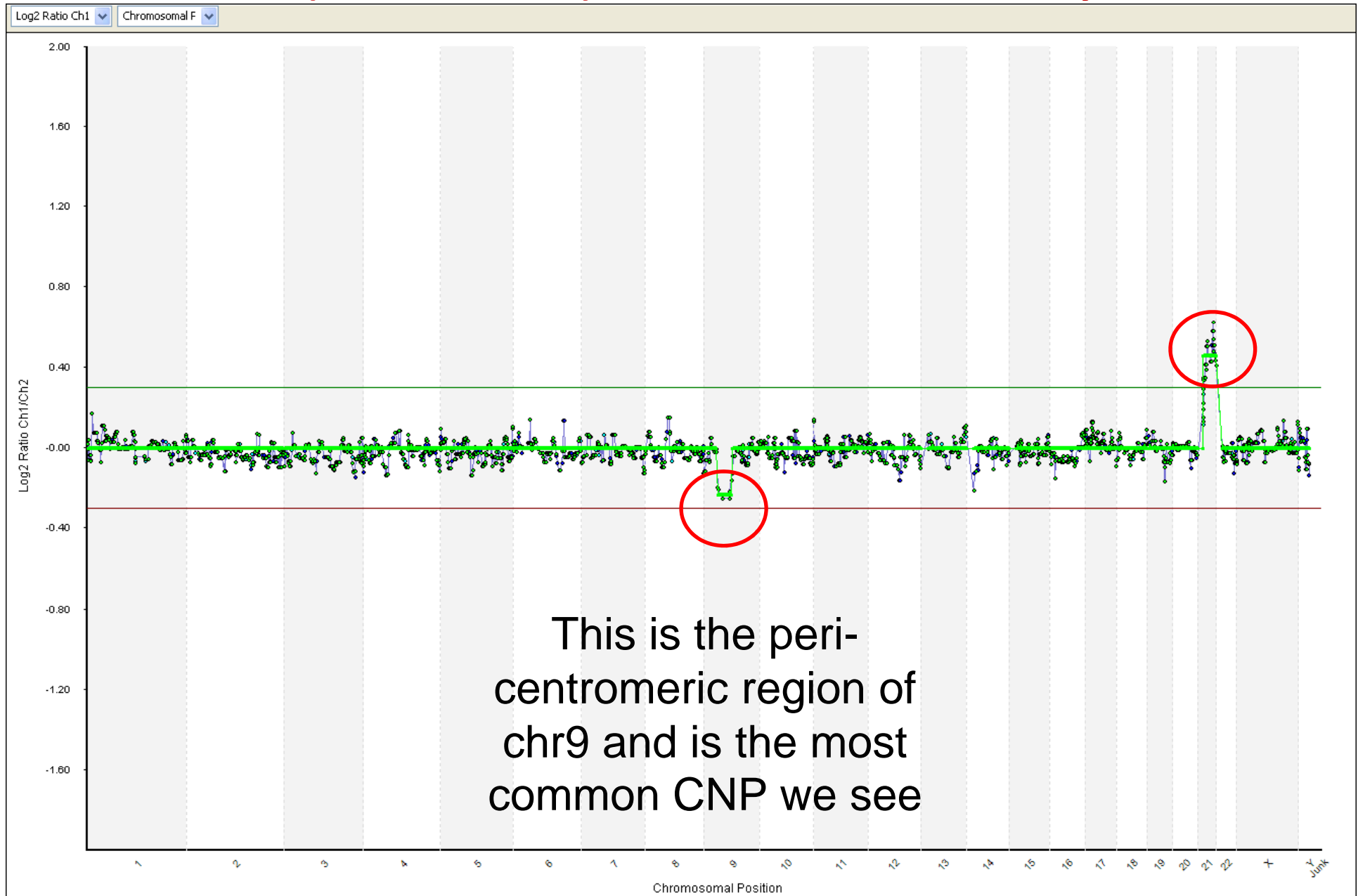
DNA (CVS) from a normal fetus



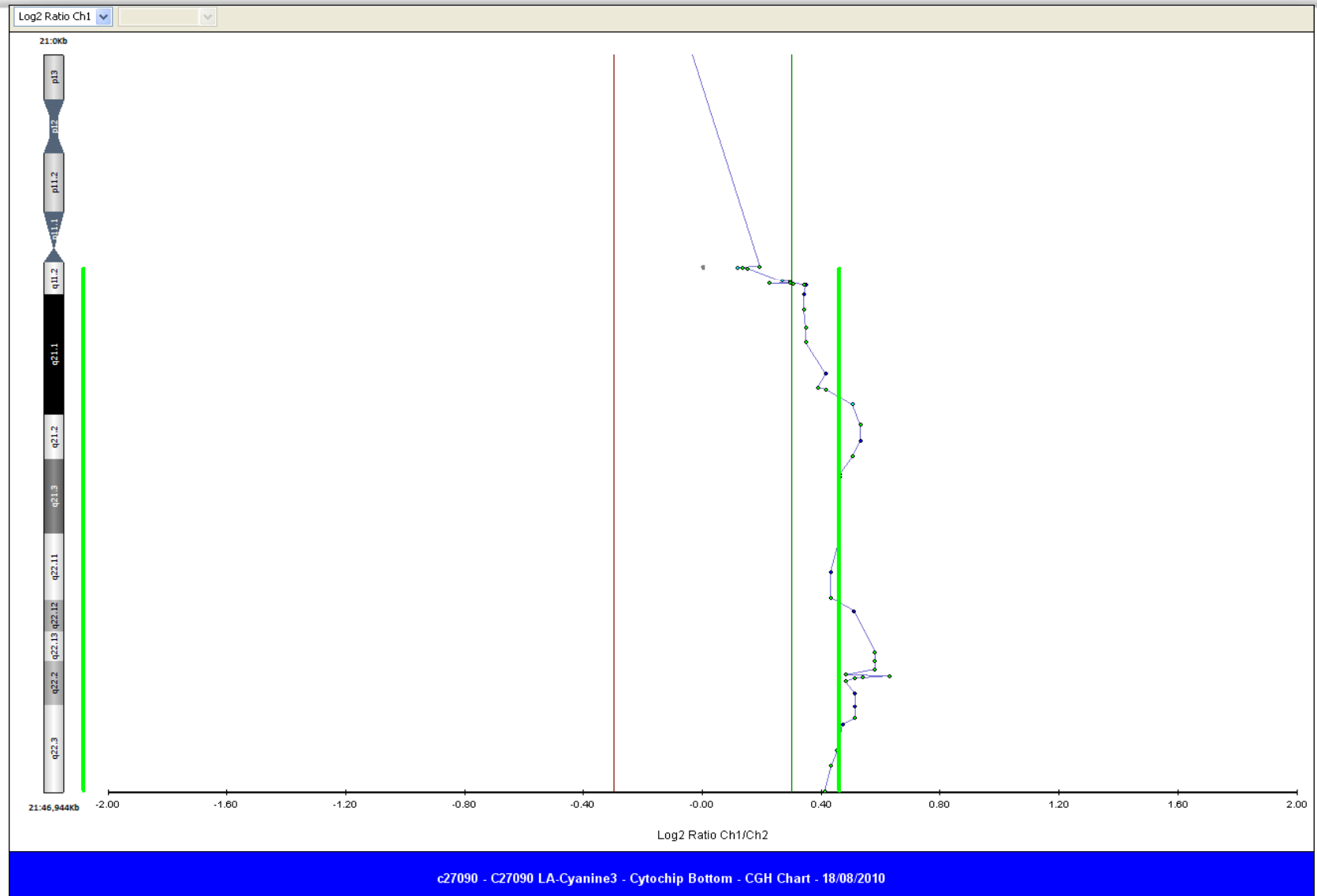
Casi prenatali con tipiche aneuploidie



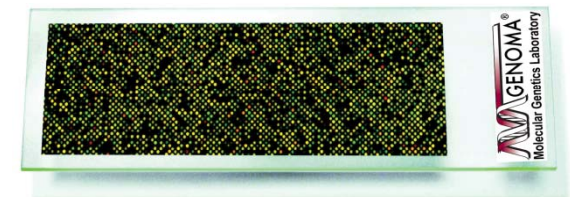
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with trisomy 21



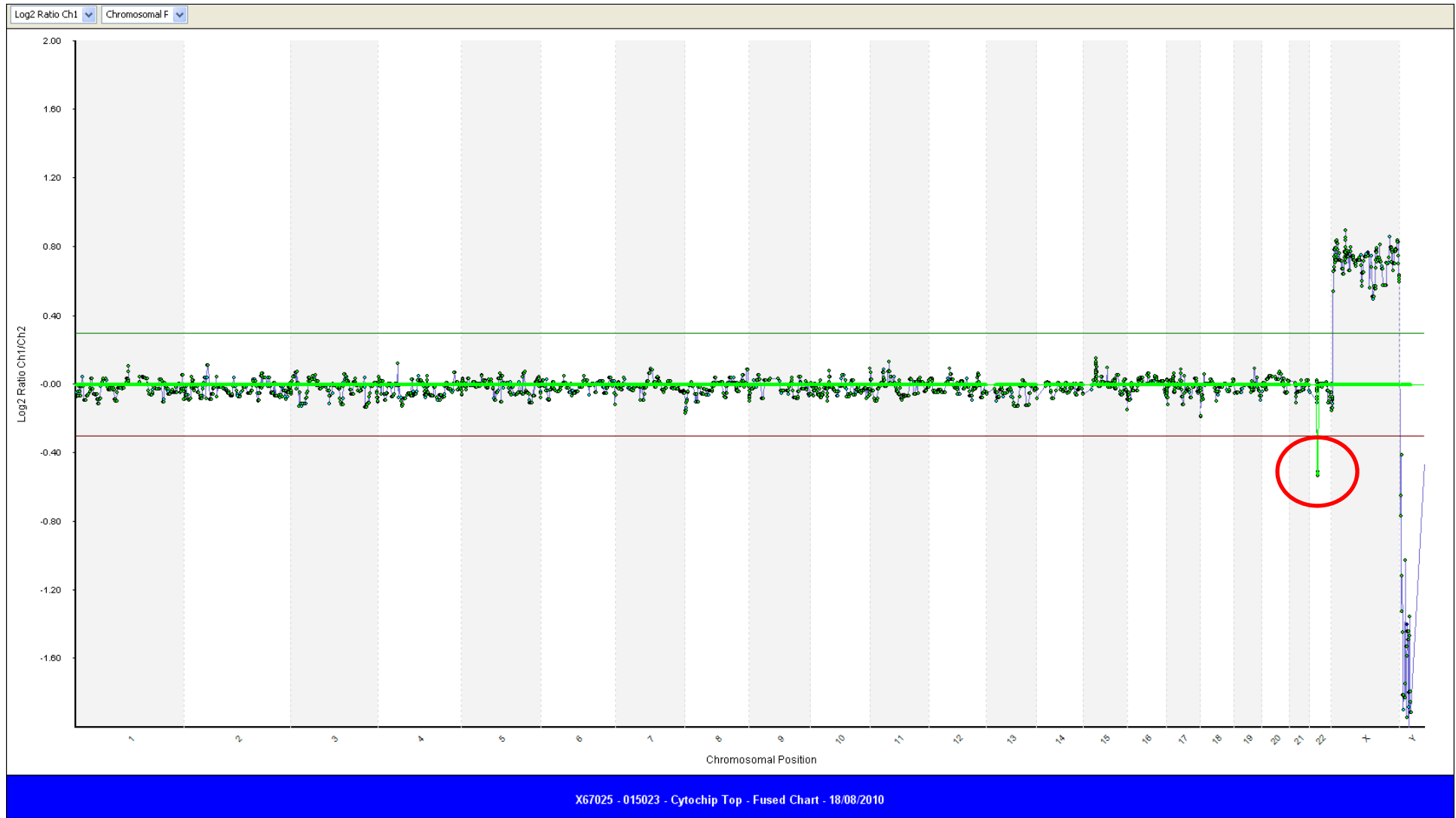
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with trisomy 21



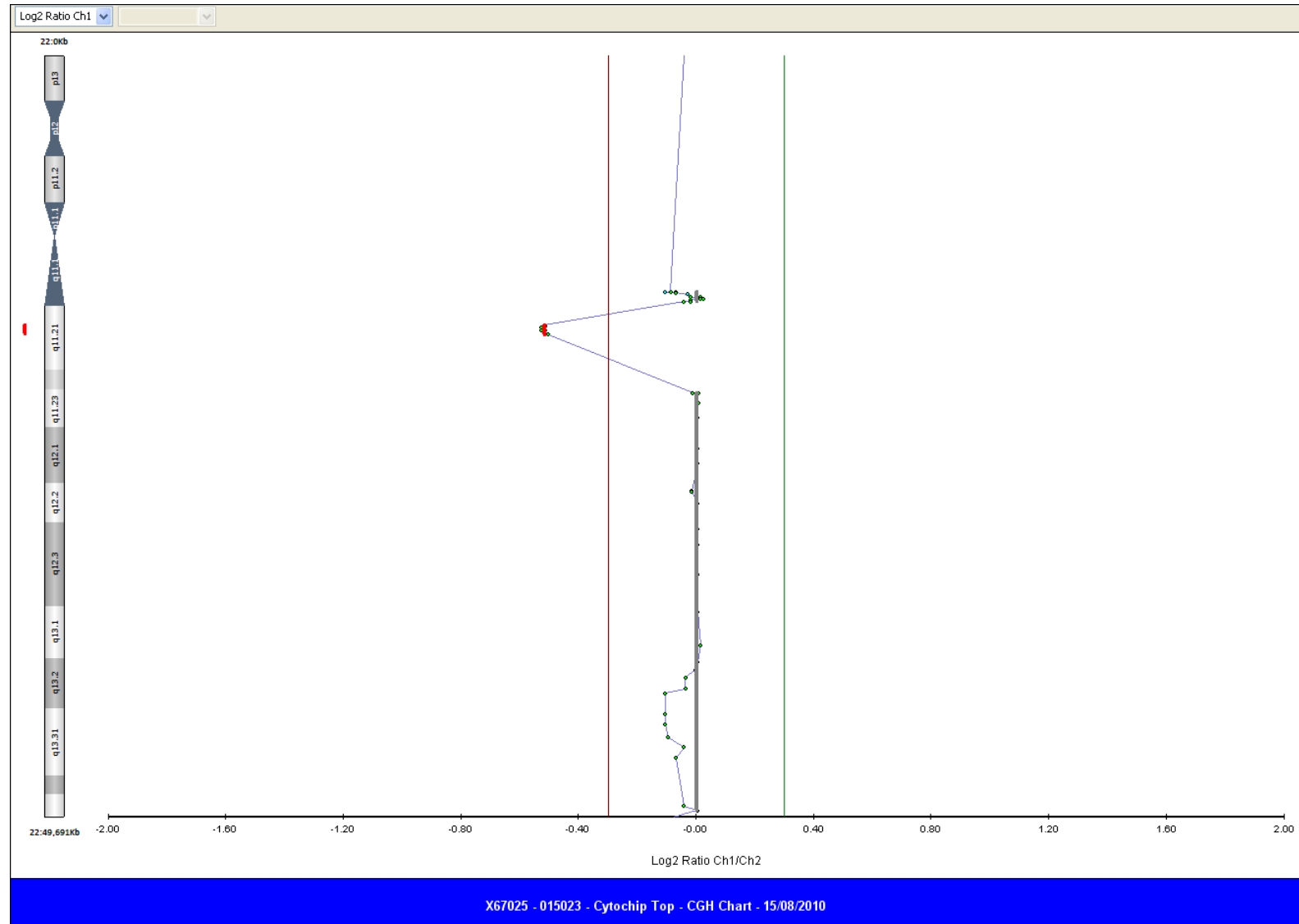
Casi prenatali con sindrome da microdelezione/duplicazione



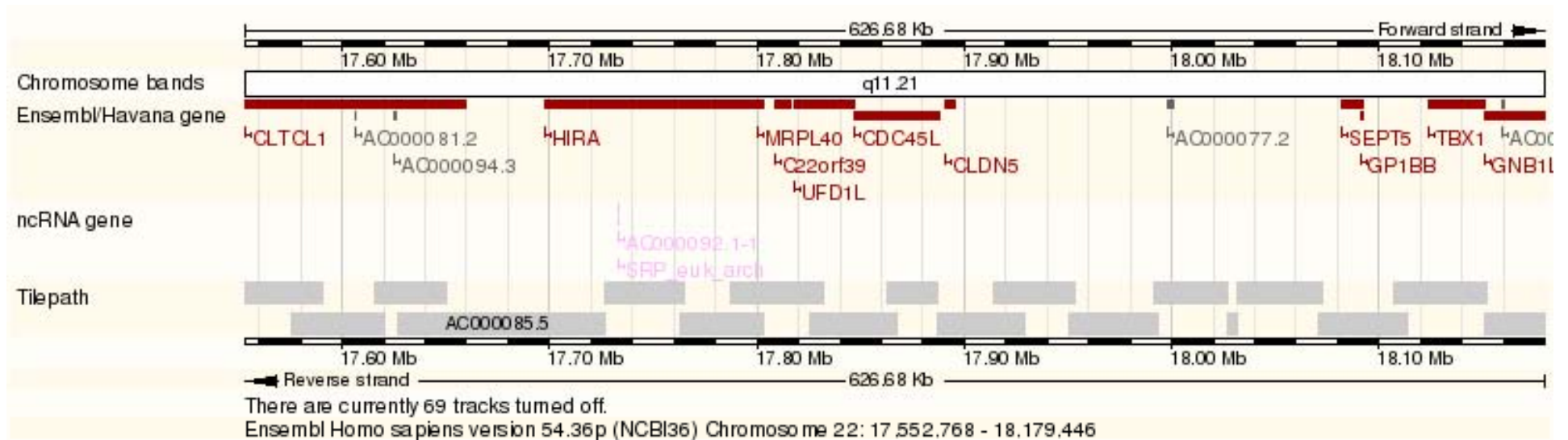
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with 22delq11.2 syndrome



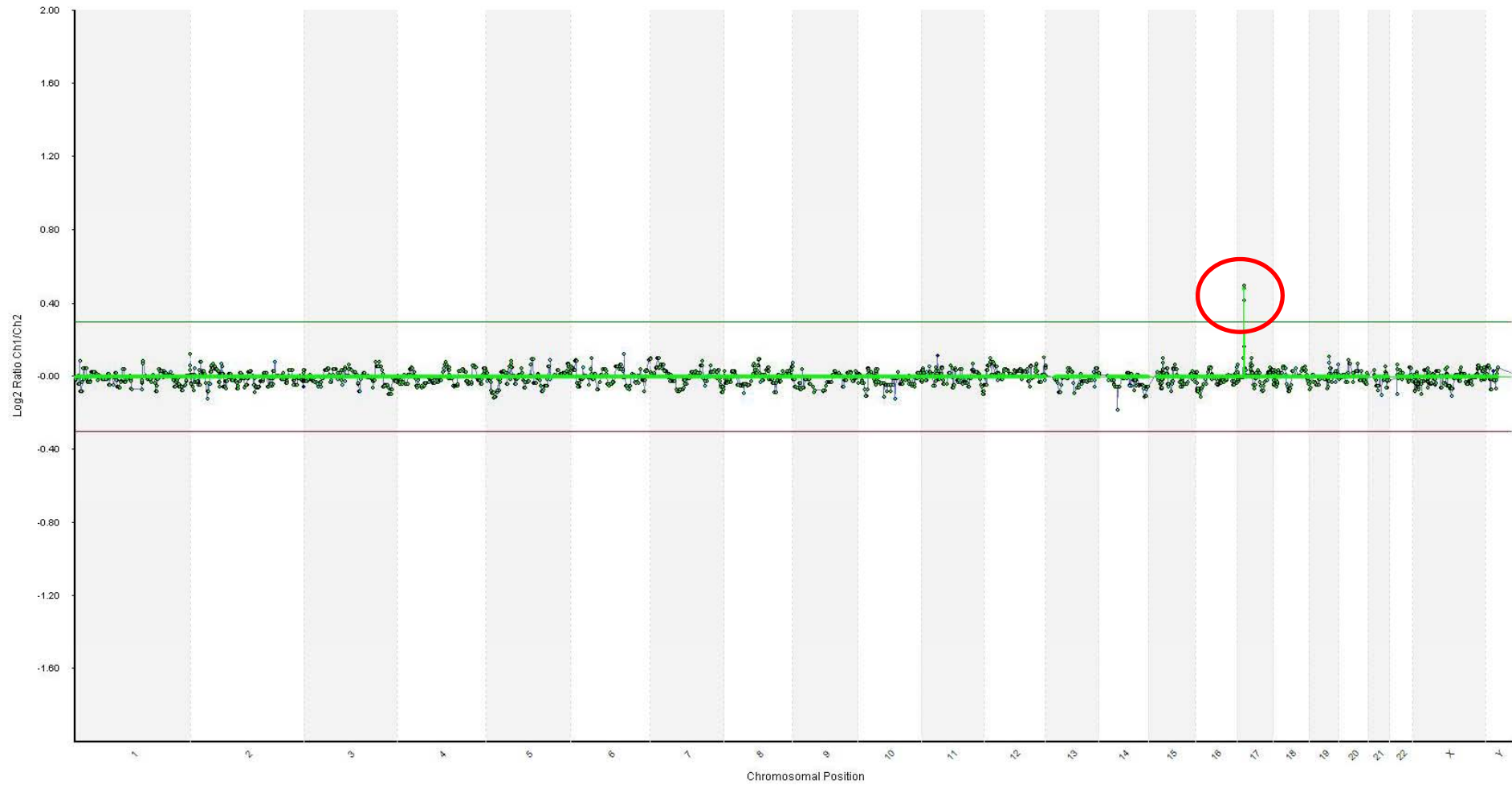
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with 22delq11.2 syndrome



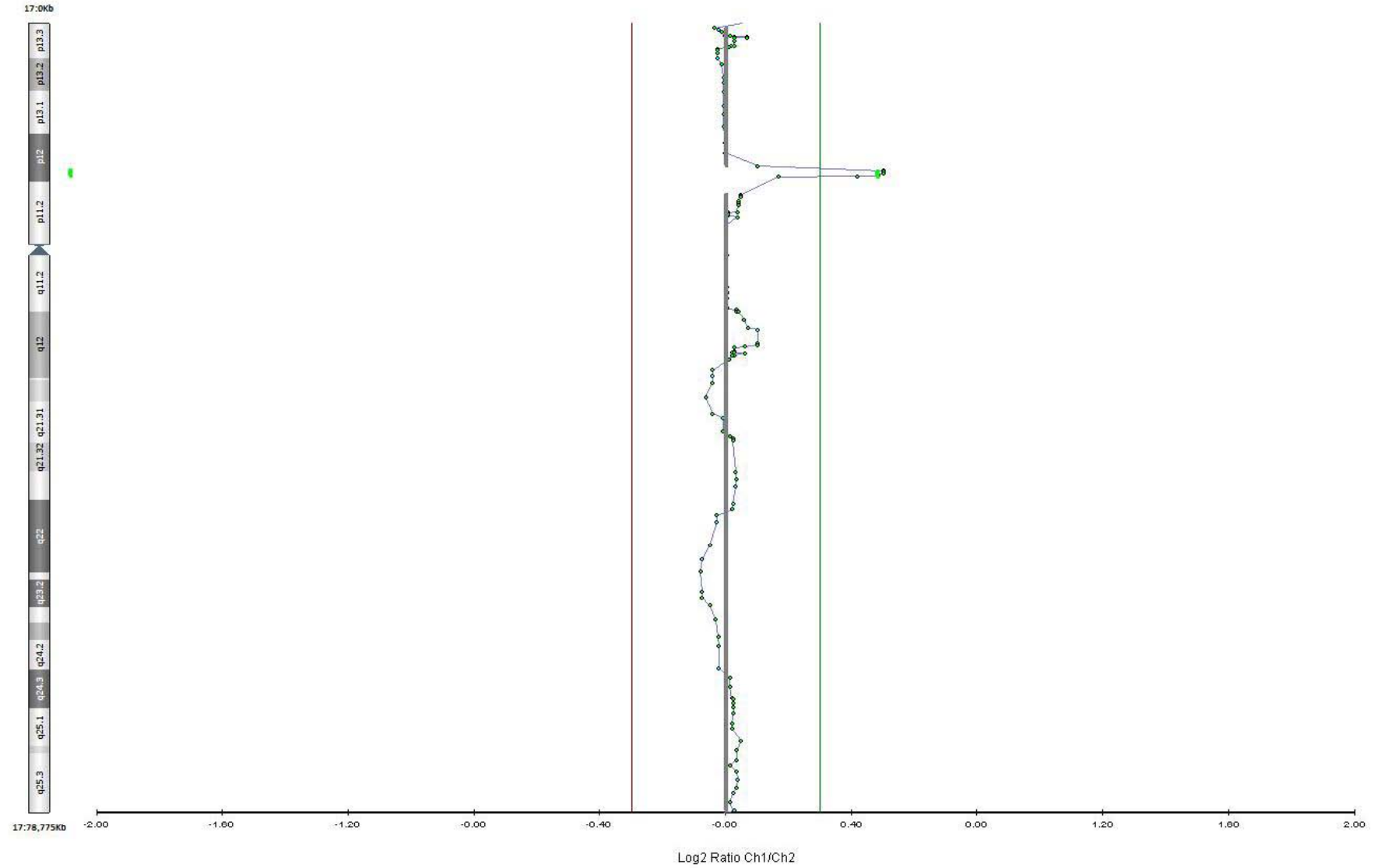
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with 22delq11.2 syndrome



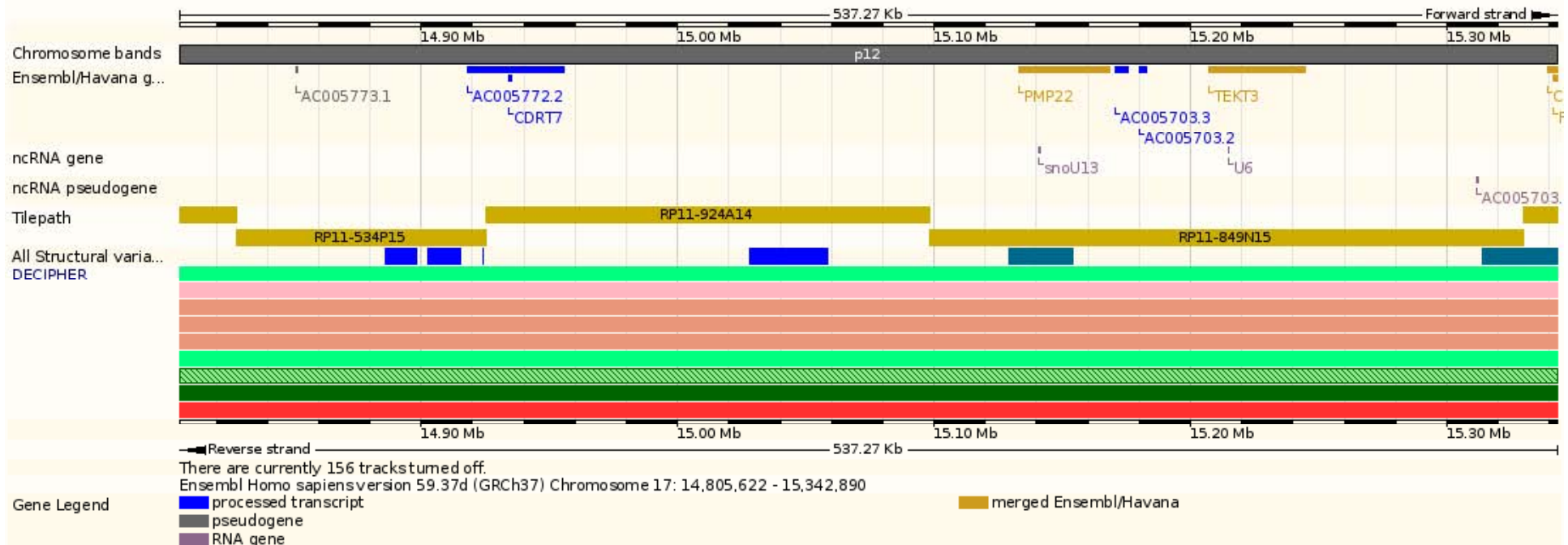
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with CMT1A



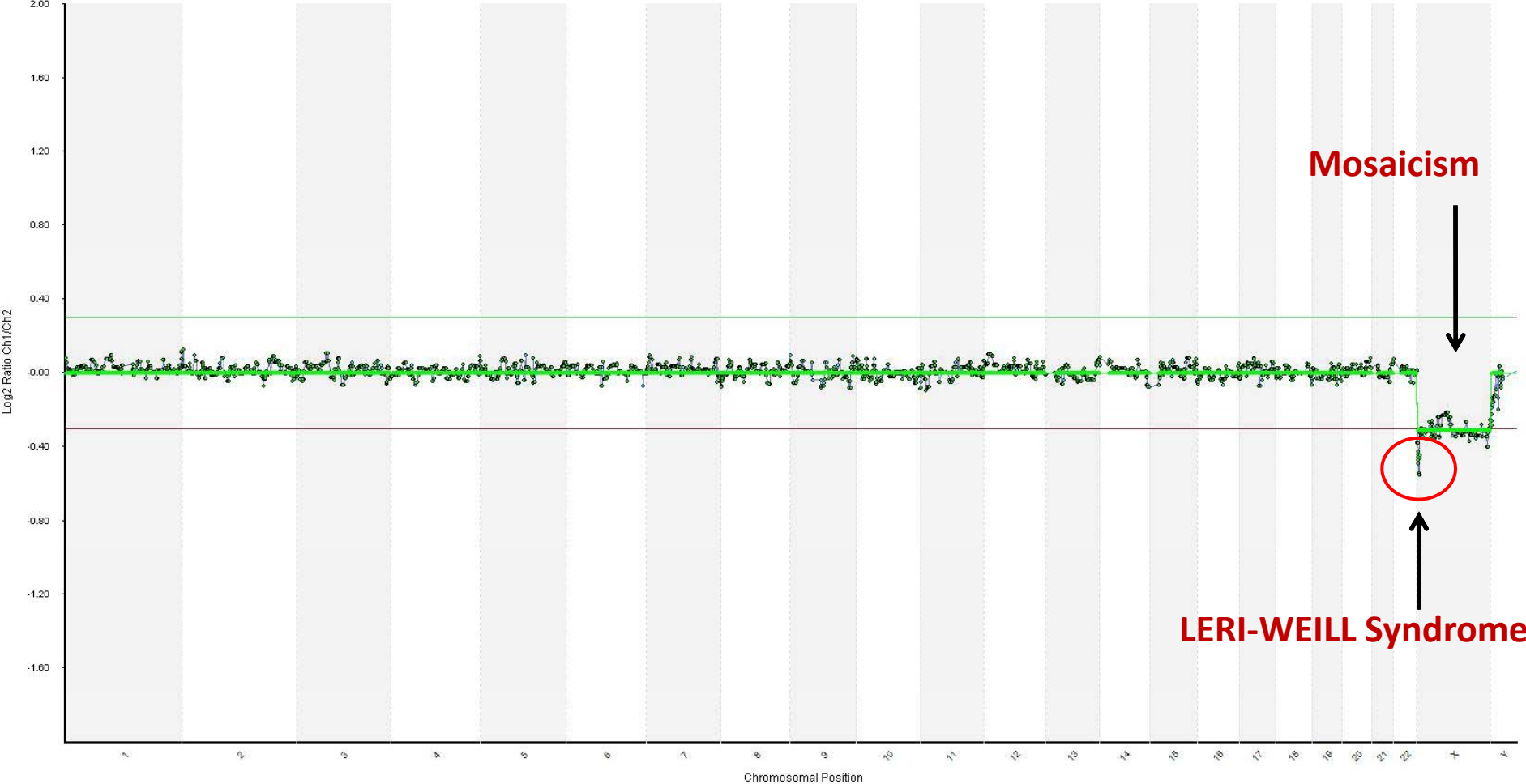
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with CMT1A



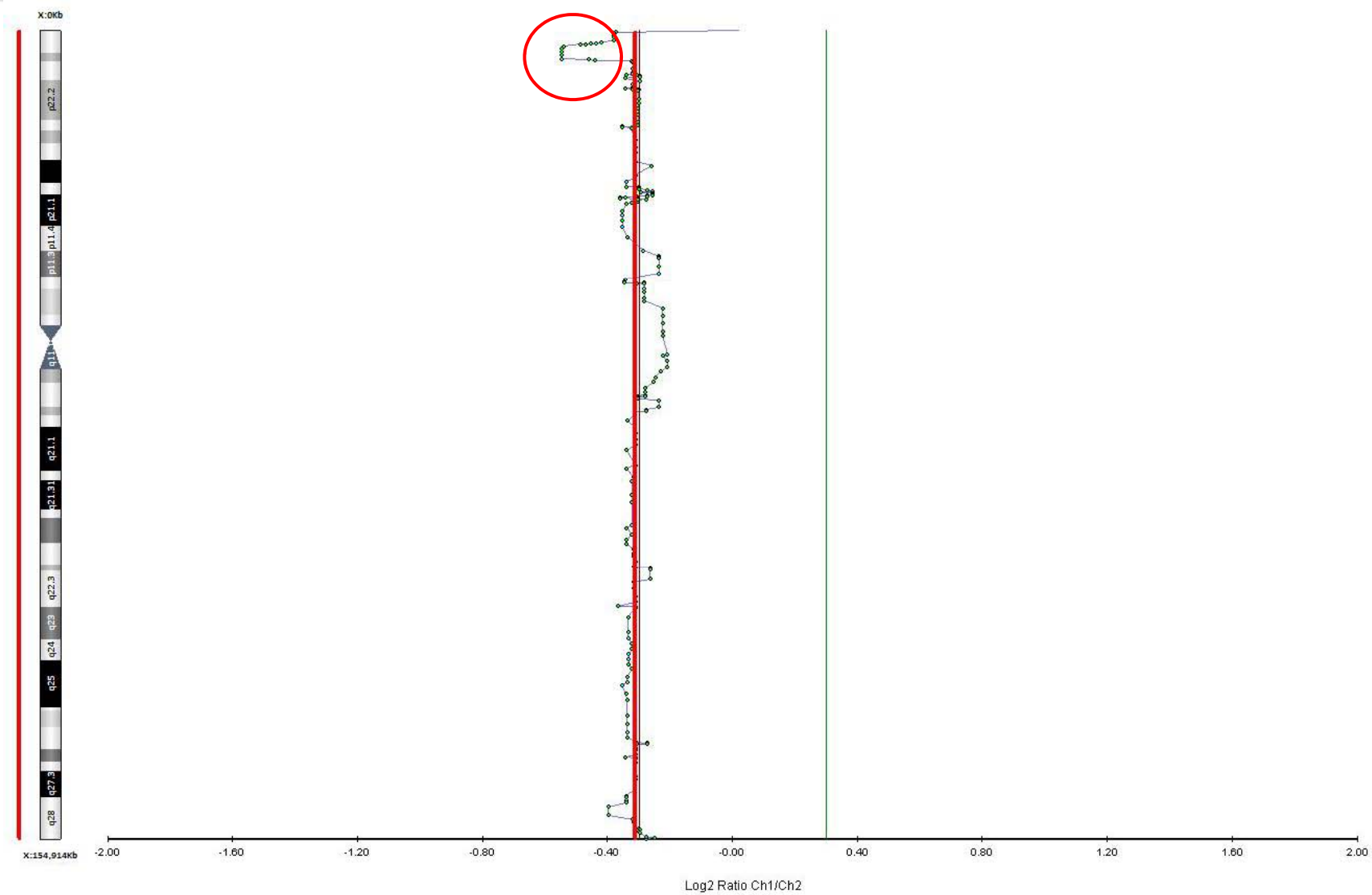
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with CMT1A



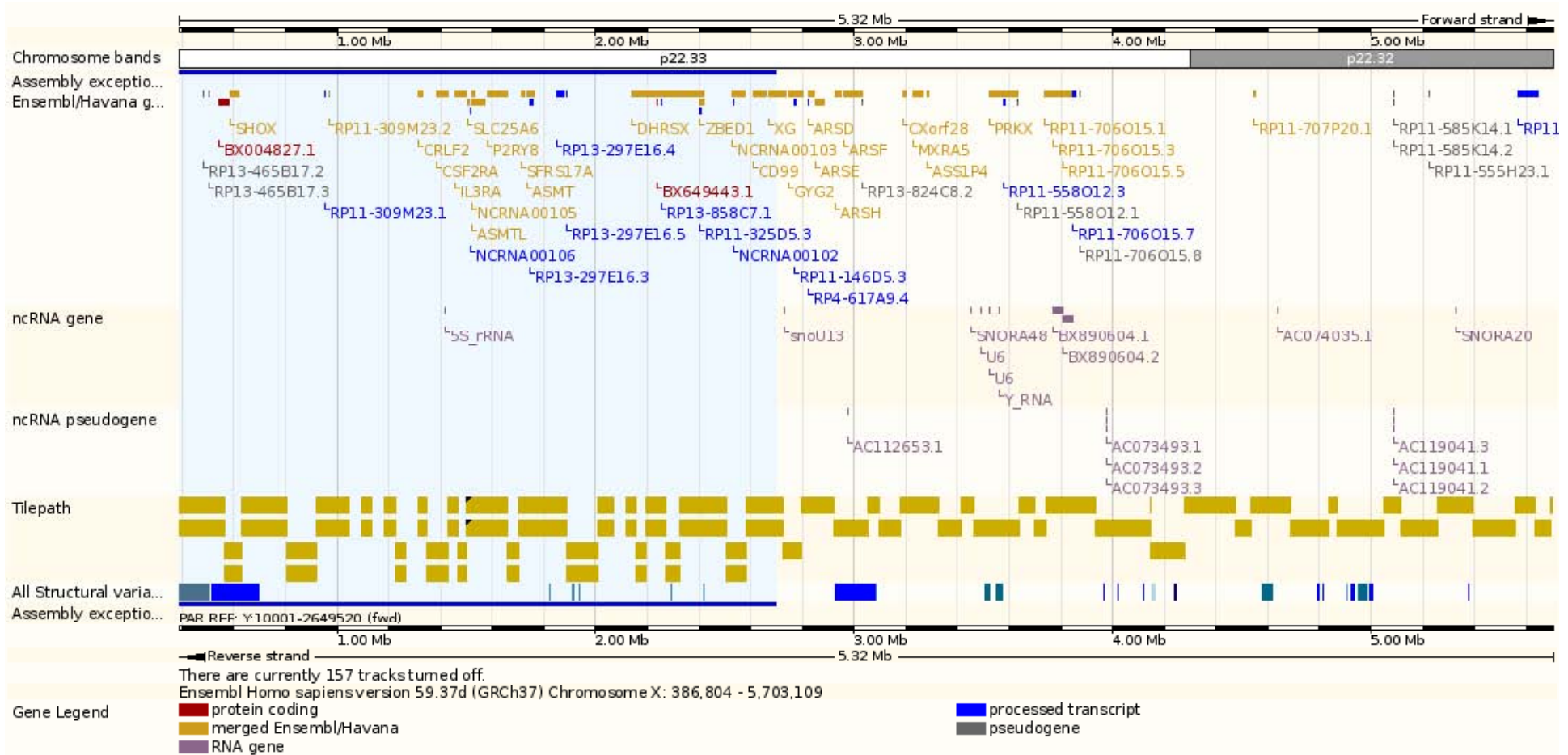
DNA (Amniotic fluid) from a fetus X0 mosaic (13%) + LERI-WEILL Syndrome



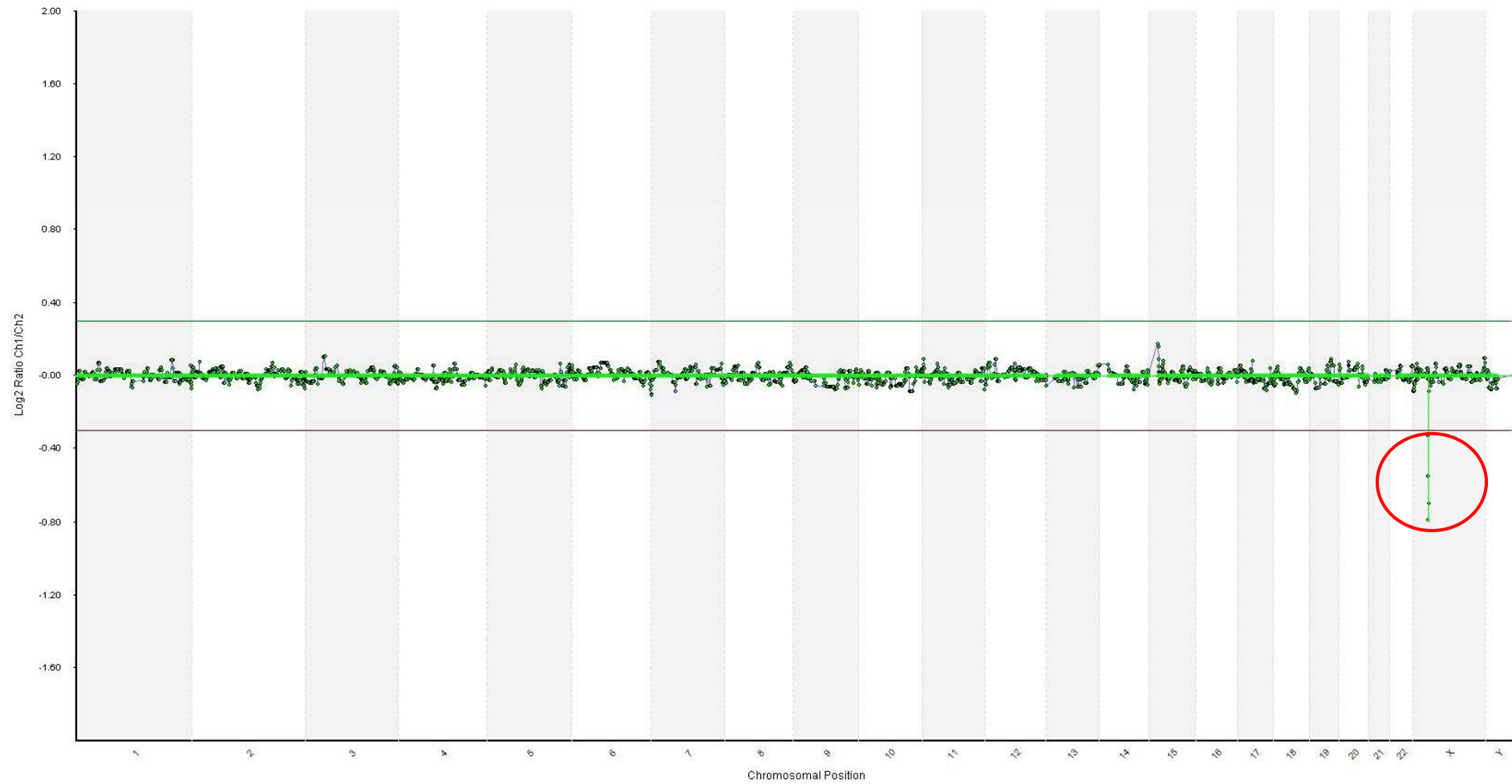
DNA (Amniotic fluid) from a fetus X0 mosaic (13%) + LERI-WEILL Syndrome



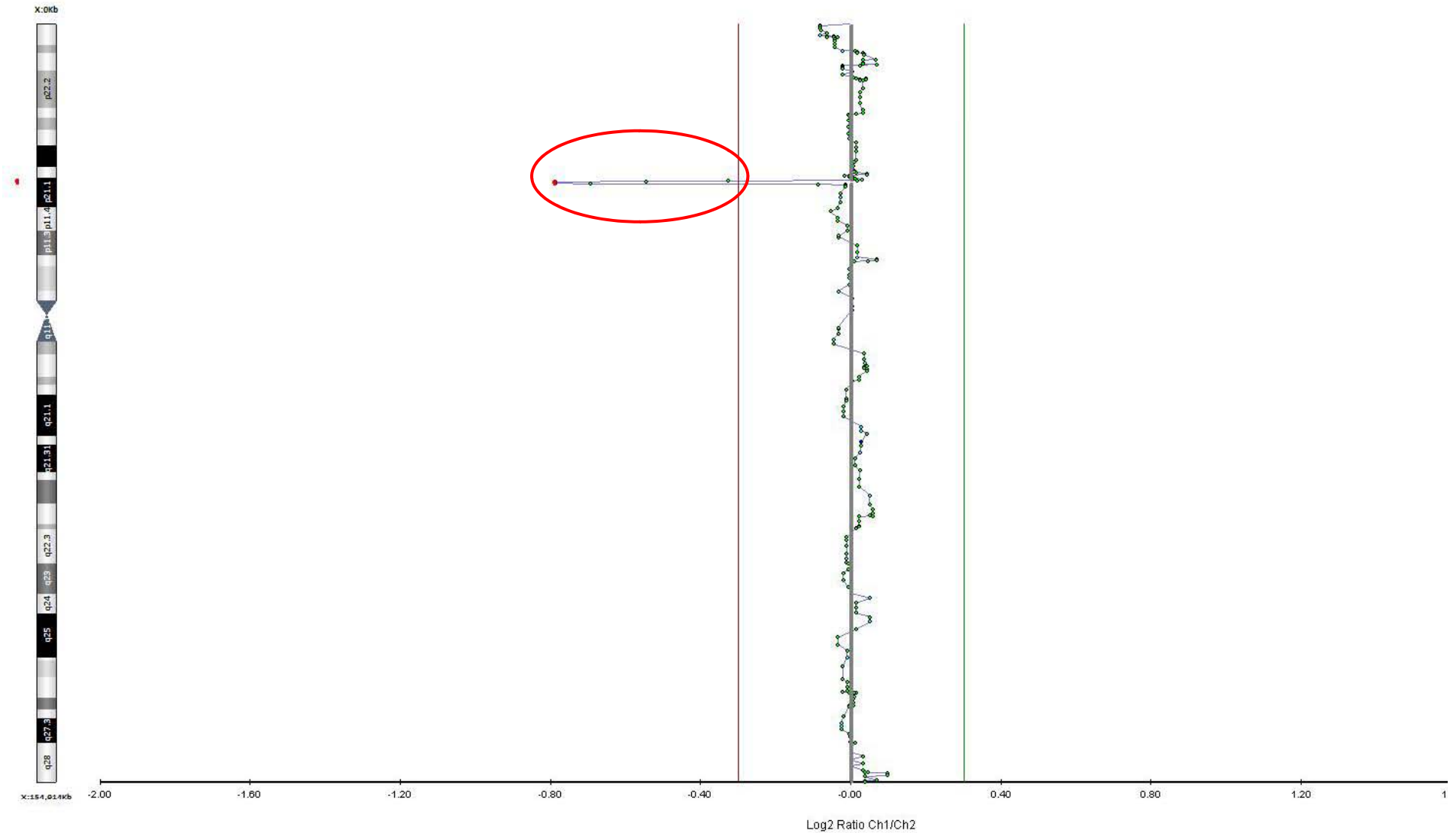
DNA (Amniotic fluid) from a fetus X0 mosaic (13%) + LERI-WEILL Syndrome Deleted Region



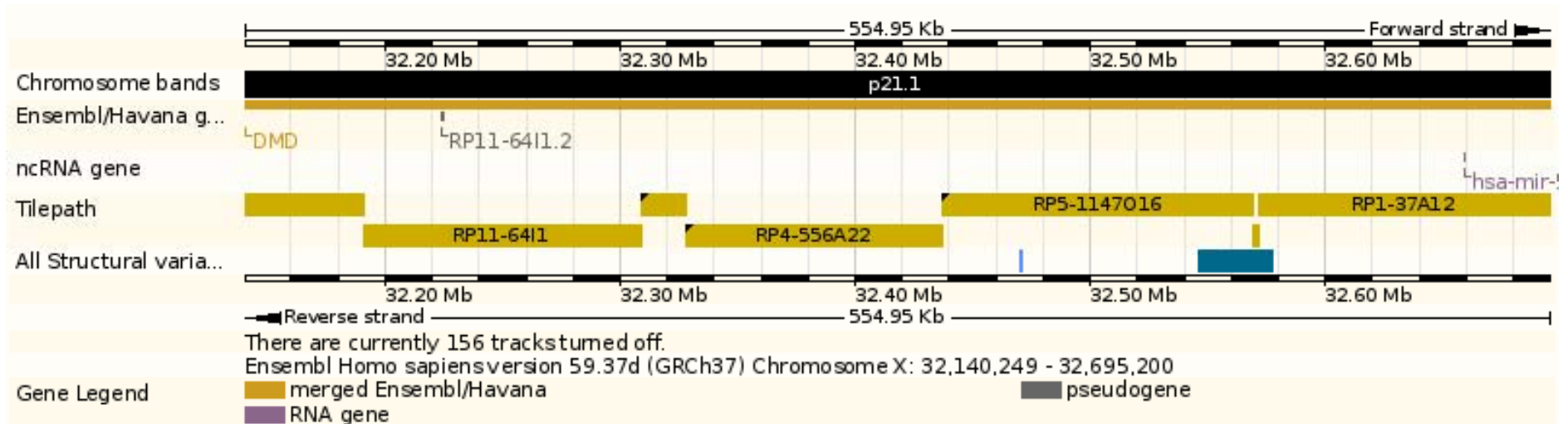
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a deletion causing DMD



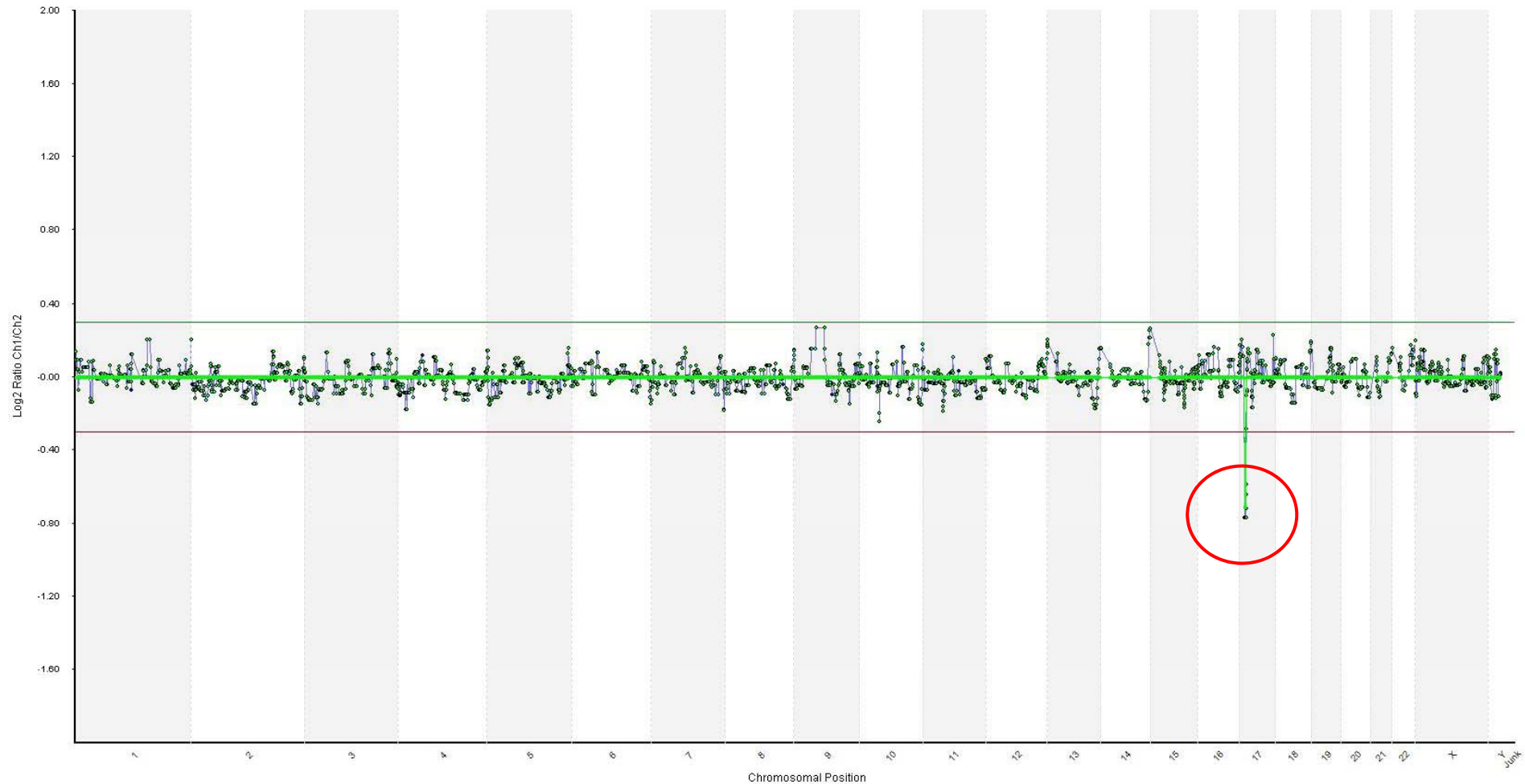
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a deletion causing DMD



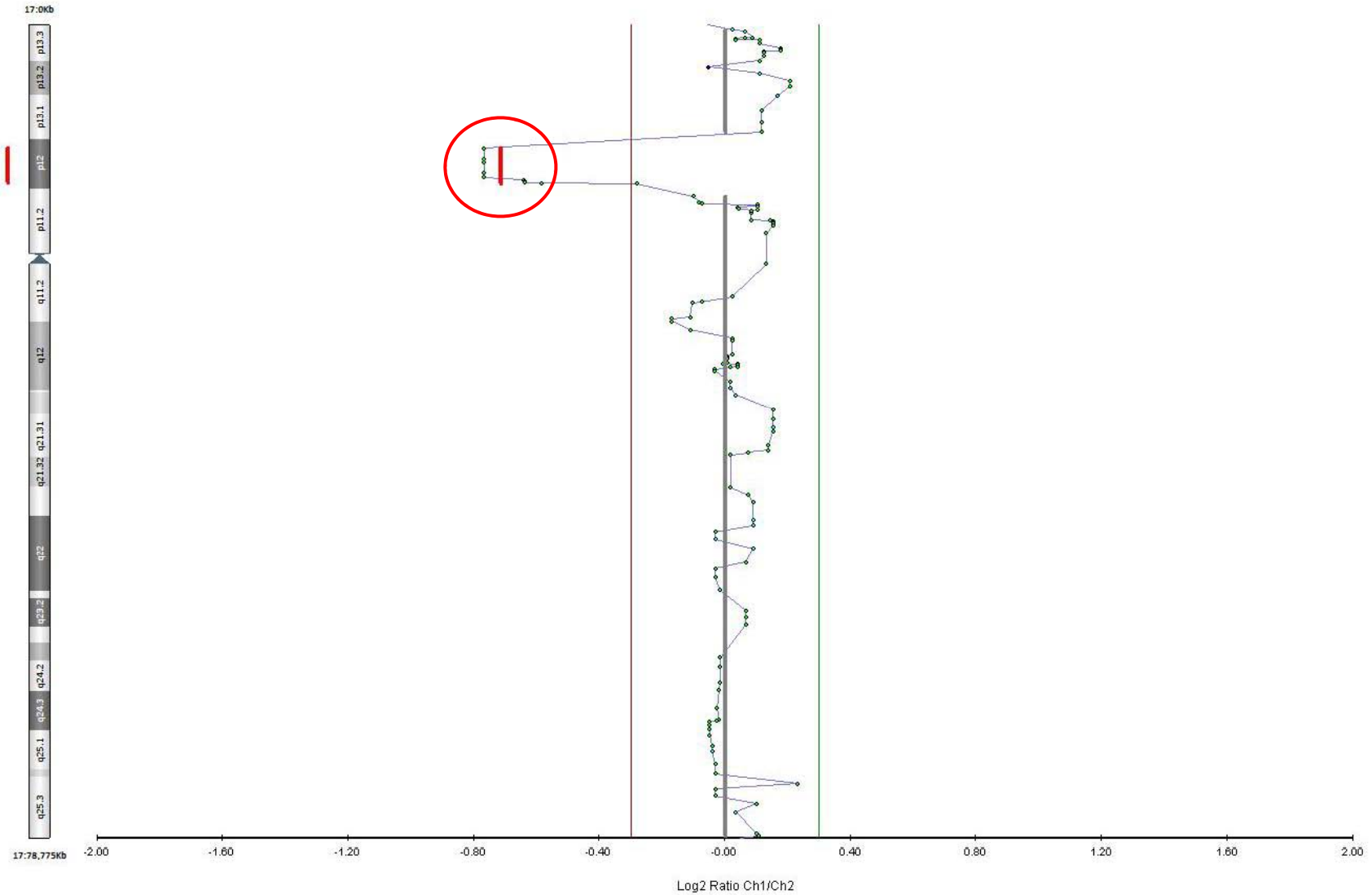
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a deletion causing DMD



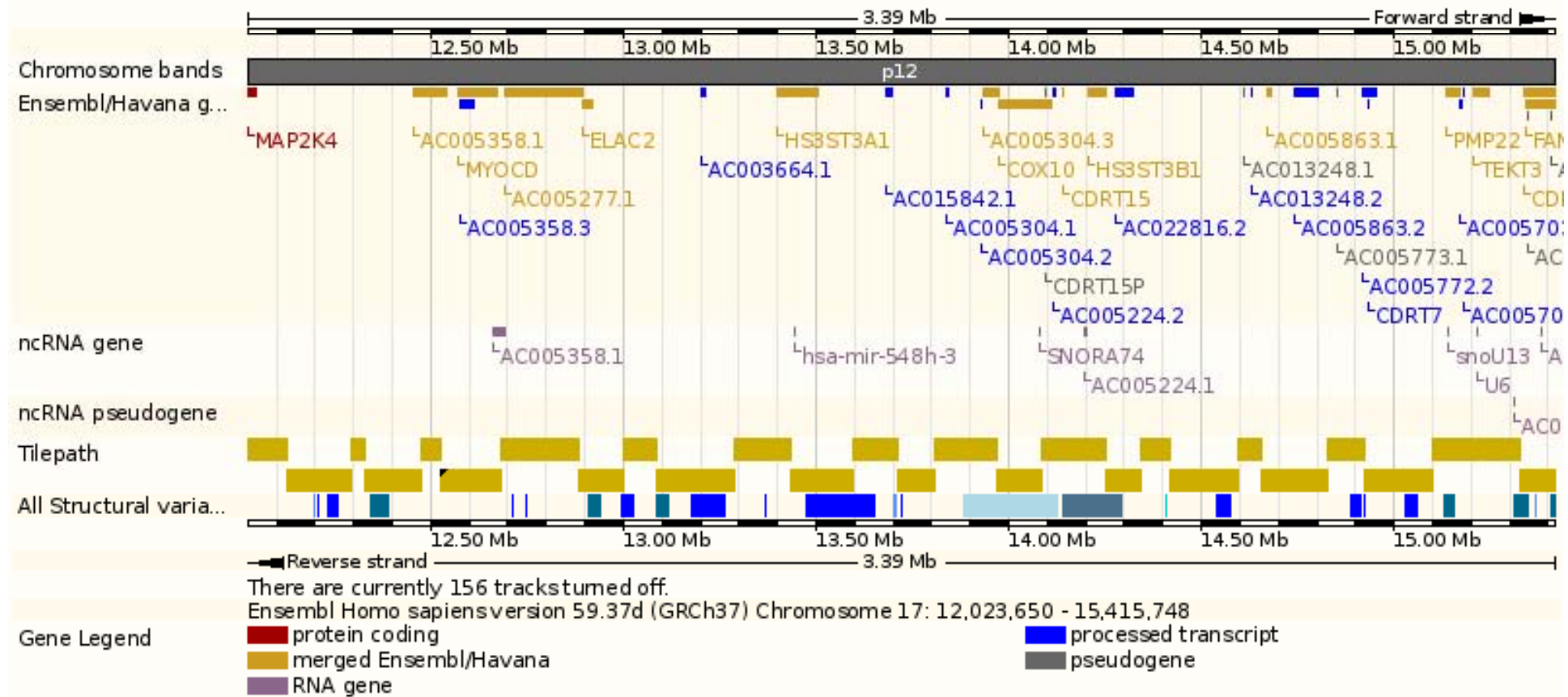
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a 3.4 Mb deletion causing Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP)



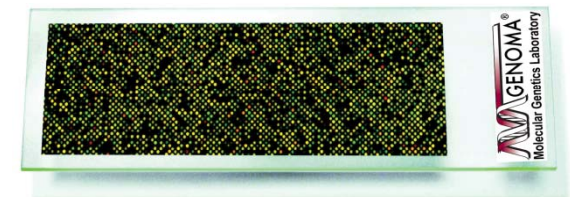
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a 3.4 Mb deletion causing Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP)



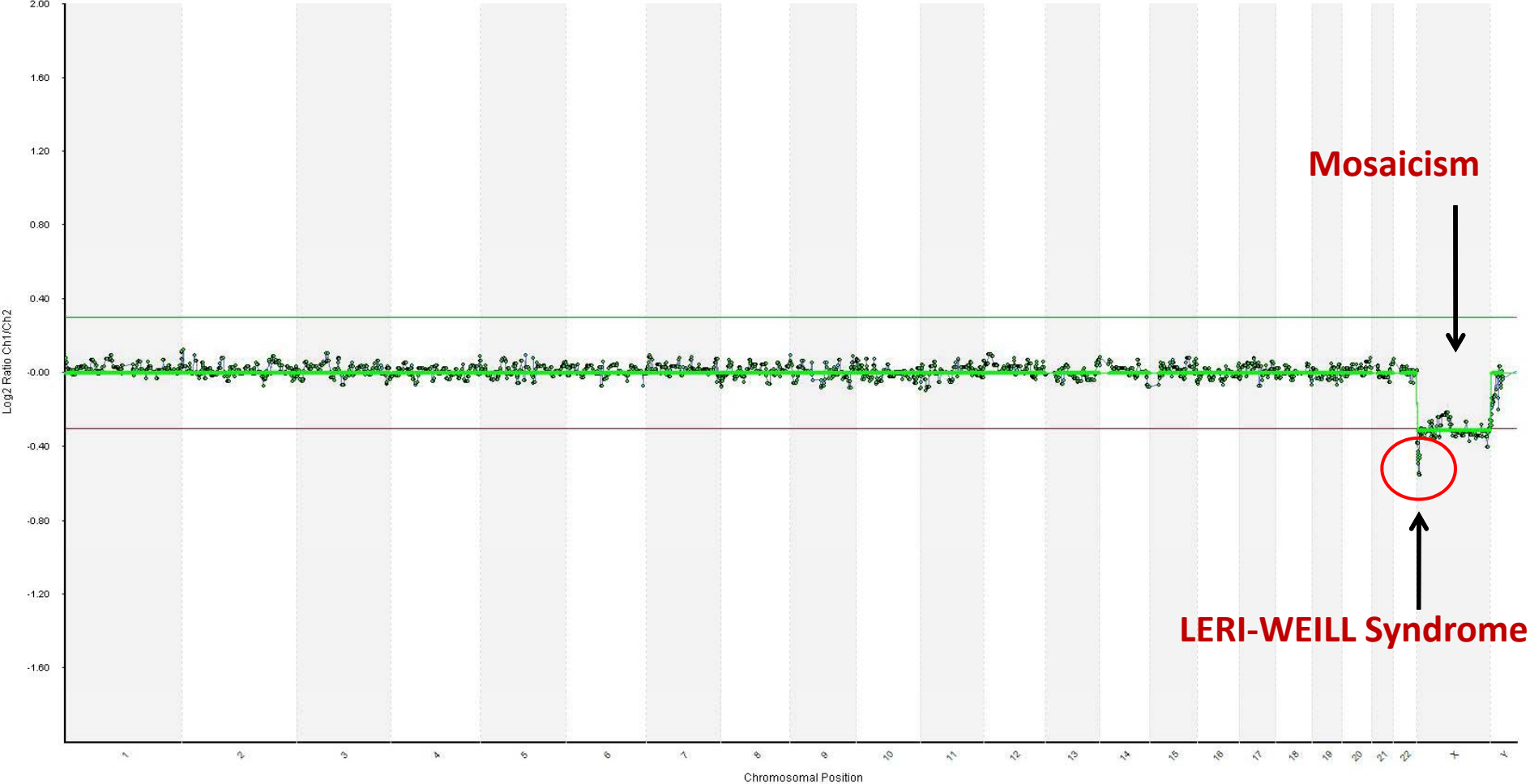
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a 3.4 Mb deletion causing Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP)



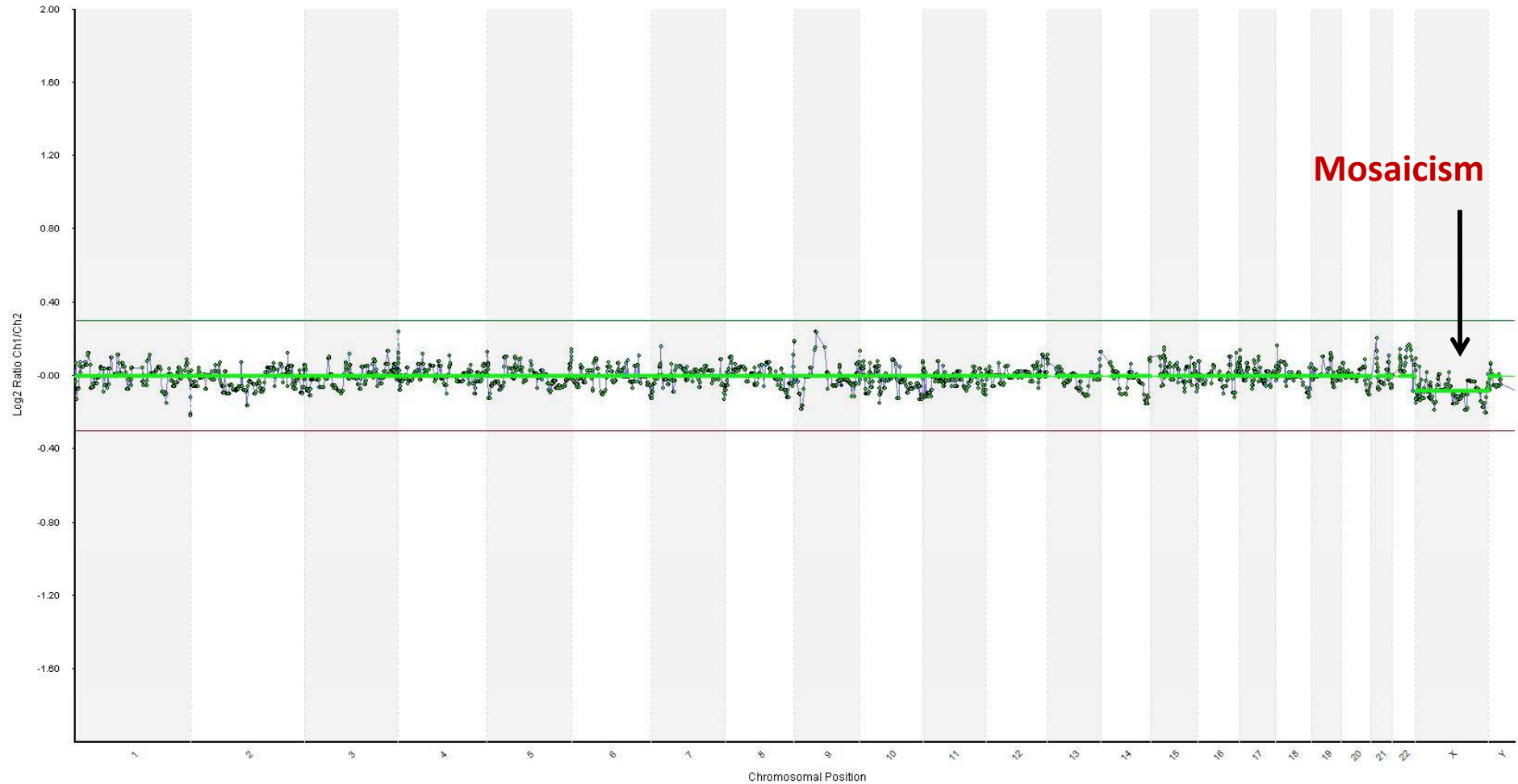
Casi prenatali con mosaicismi



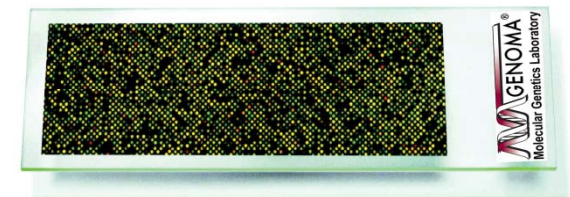
DNA (Amniotic fluid) from a fetus X0 mosaic (13%) + LERI-WEILL Syndrome



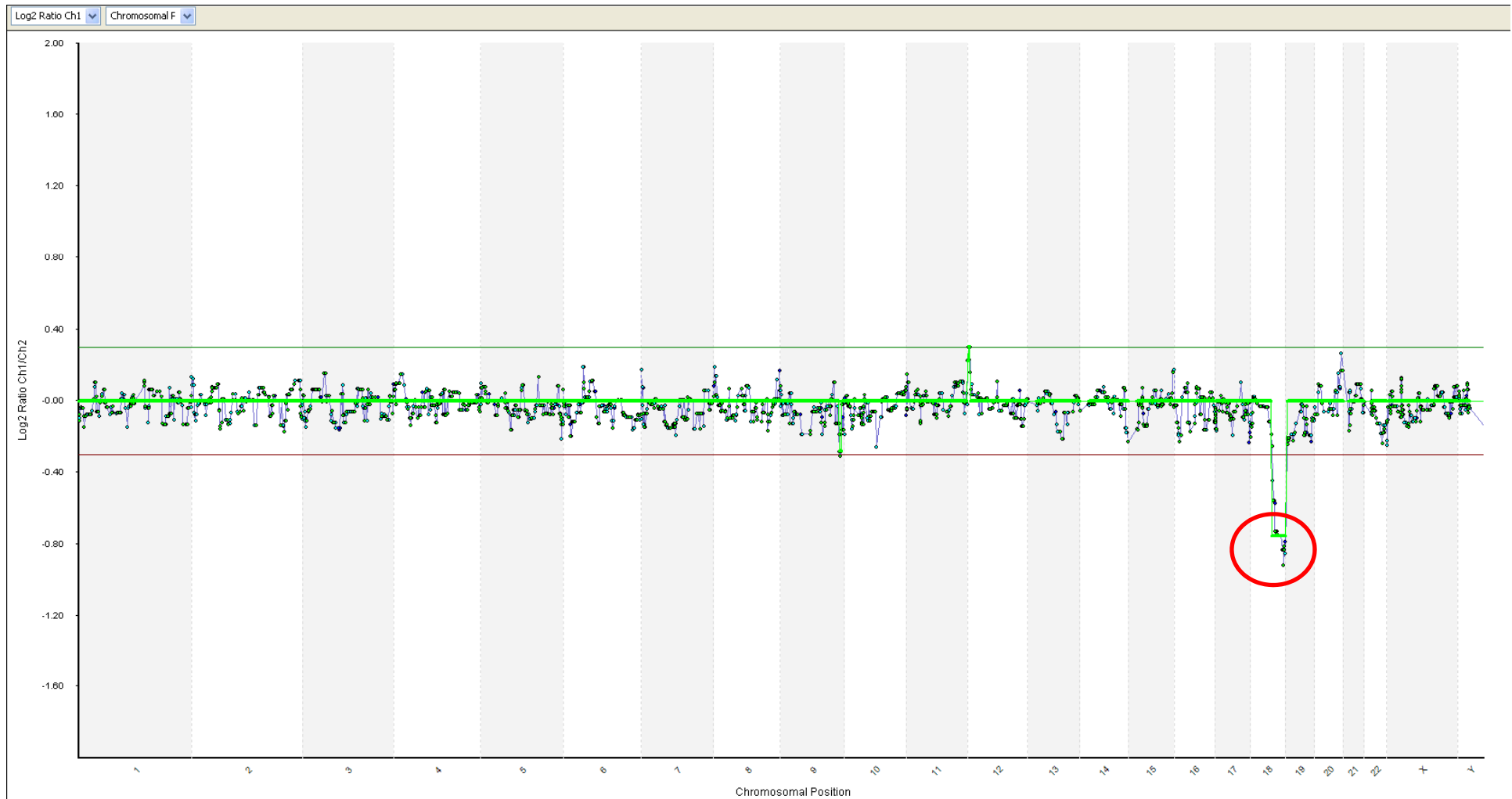
DNA (Amniotic fluid) from a fetus X0 mosaic (10%)



Casi prenatali con altri tipi di anomalie cromosomiche

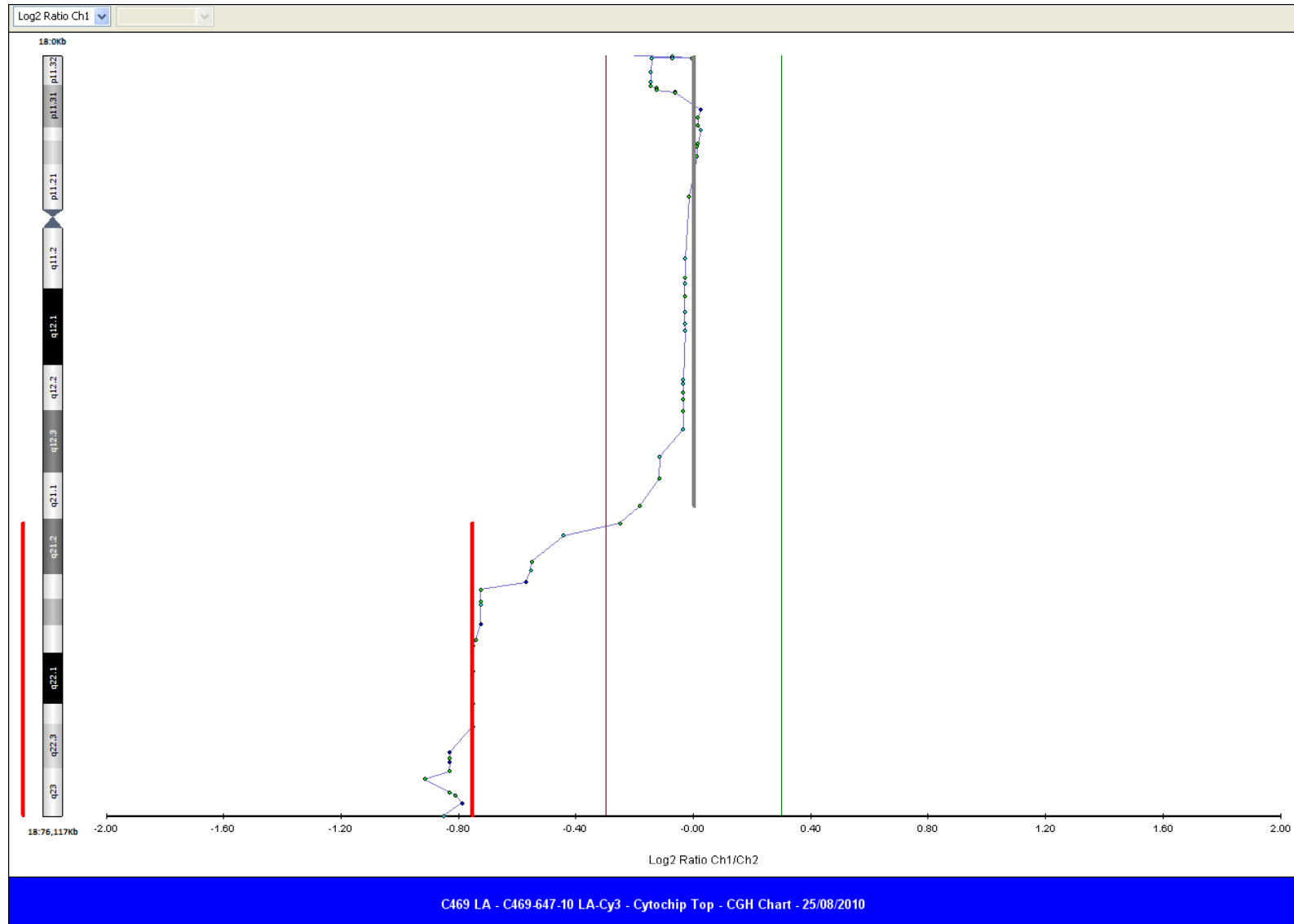


DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a partial chr 18 deletion

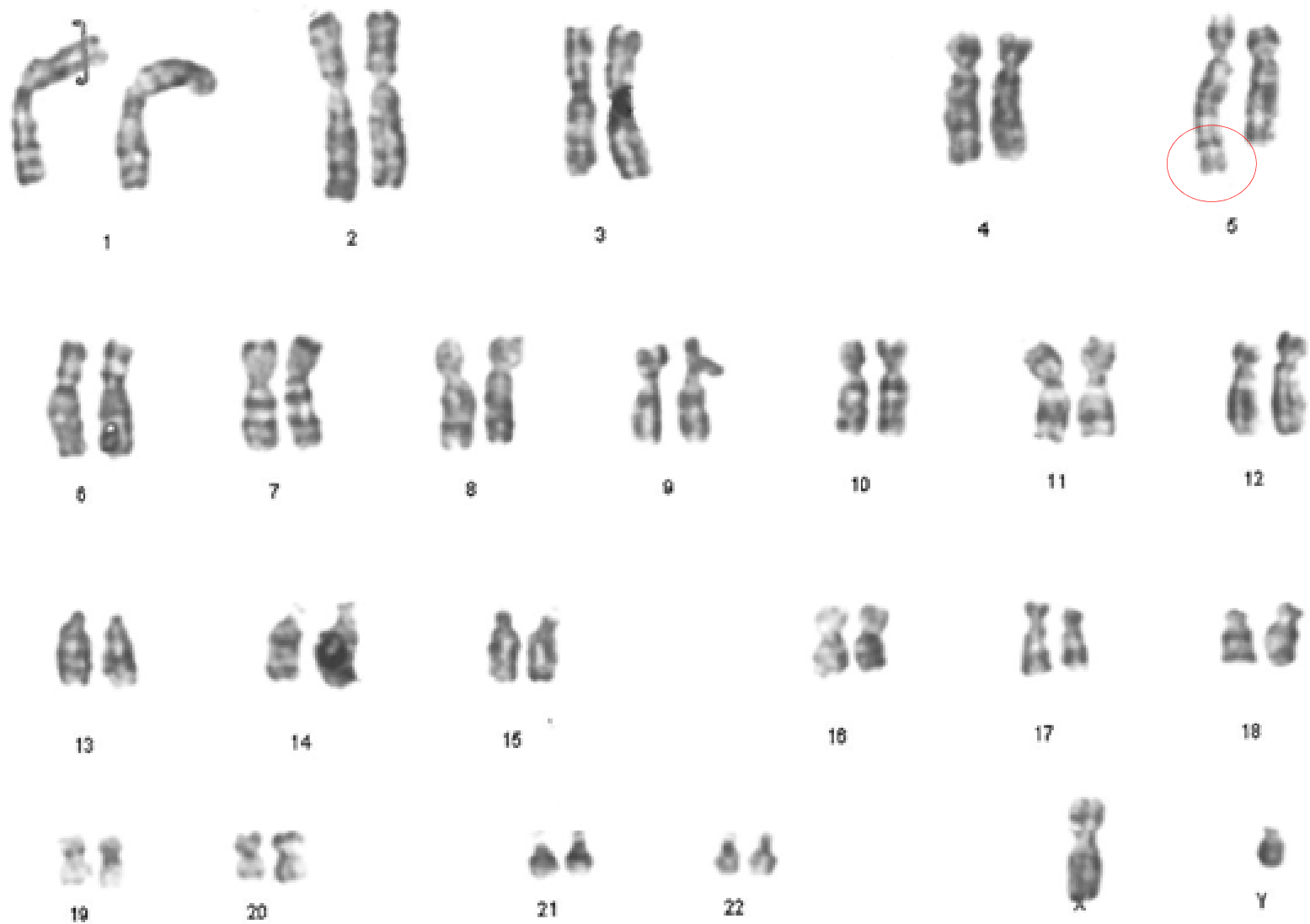


C469 LA - C469-647-10 LA-Cy3 - Cytoscan Top - Fused Chart - 25/08/2010

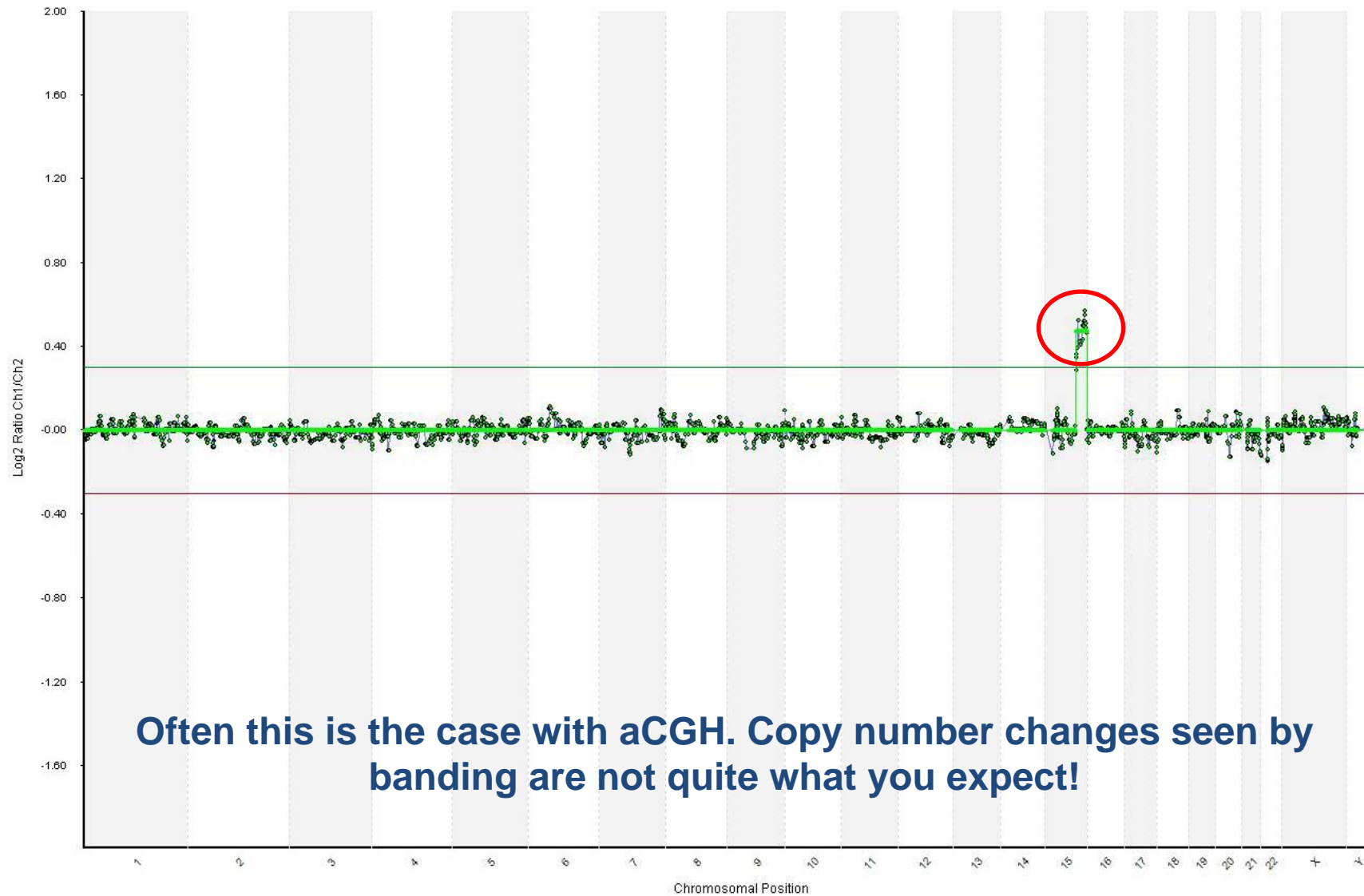
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a partial chr 18 deletion



Karyotype from a fetus with a suspected partial dupl chr 5q



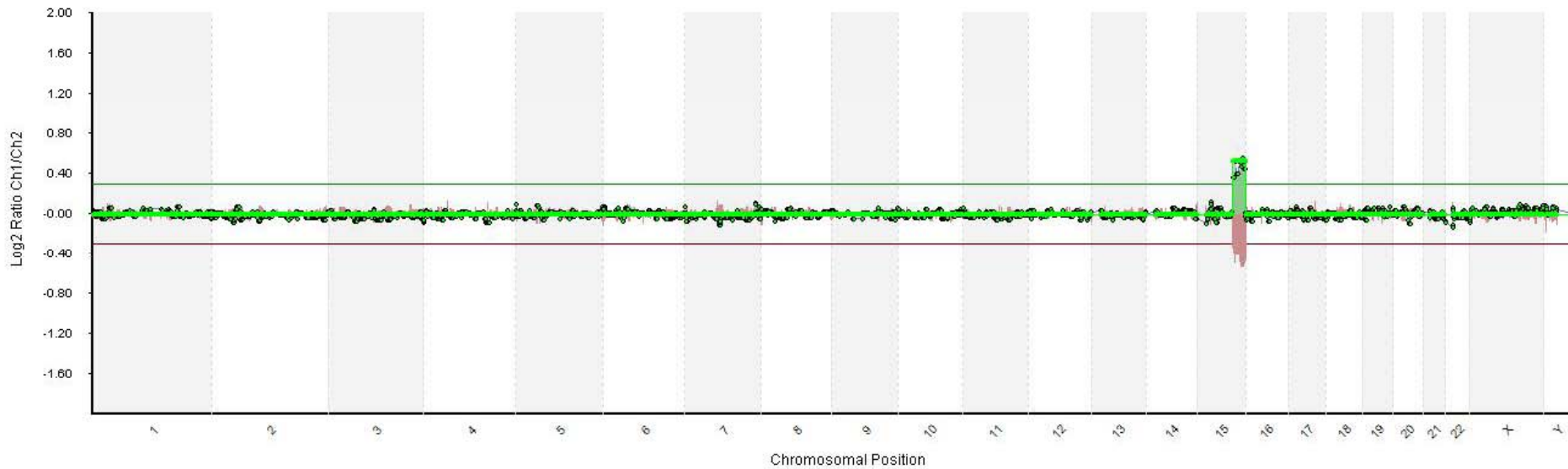
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a suspected partial dupl chr 5q, diagnosed as dup15(q24.1->qter) by array-CGH



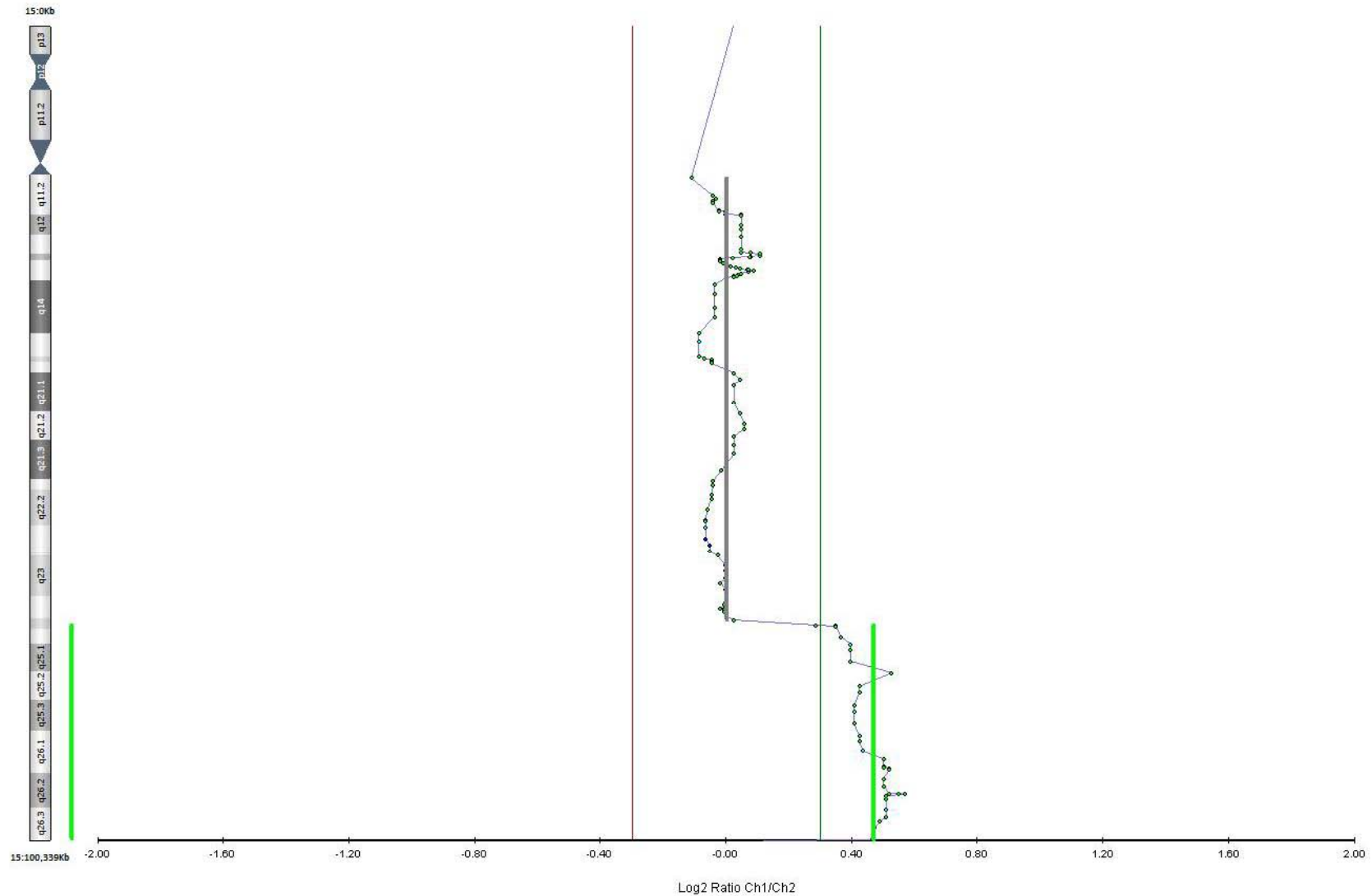
Often this is the case with aCGH. Copy number changes seen by banding are not quite what you expect!

DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a suspected partial dupl chr 5q, diagnosed as dup15(q24.1->qter) by array-CGH

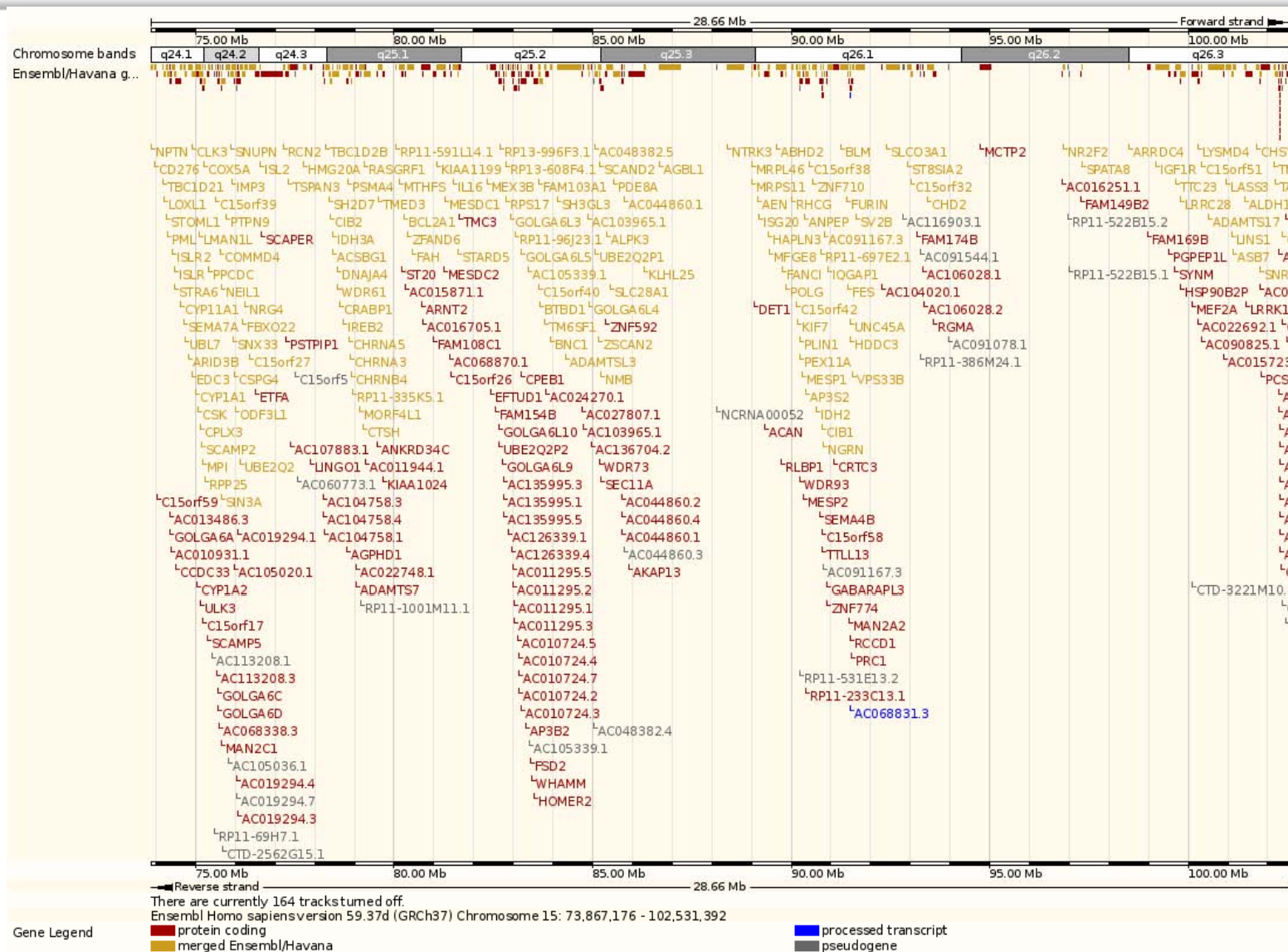
Dye-Swap



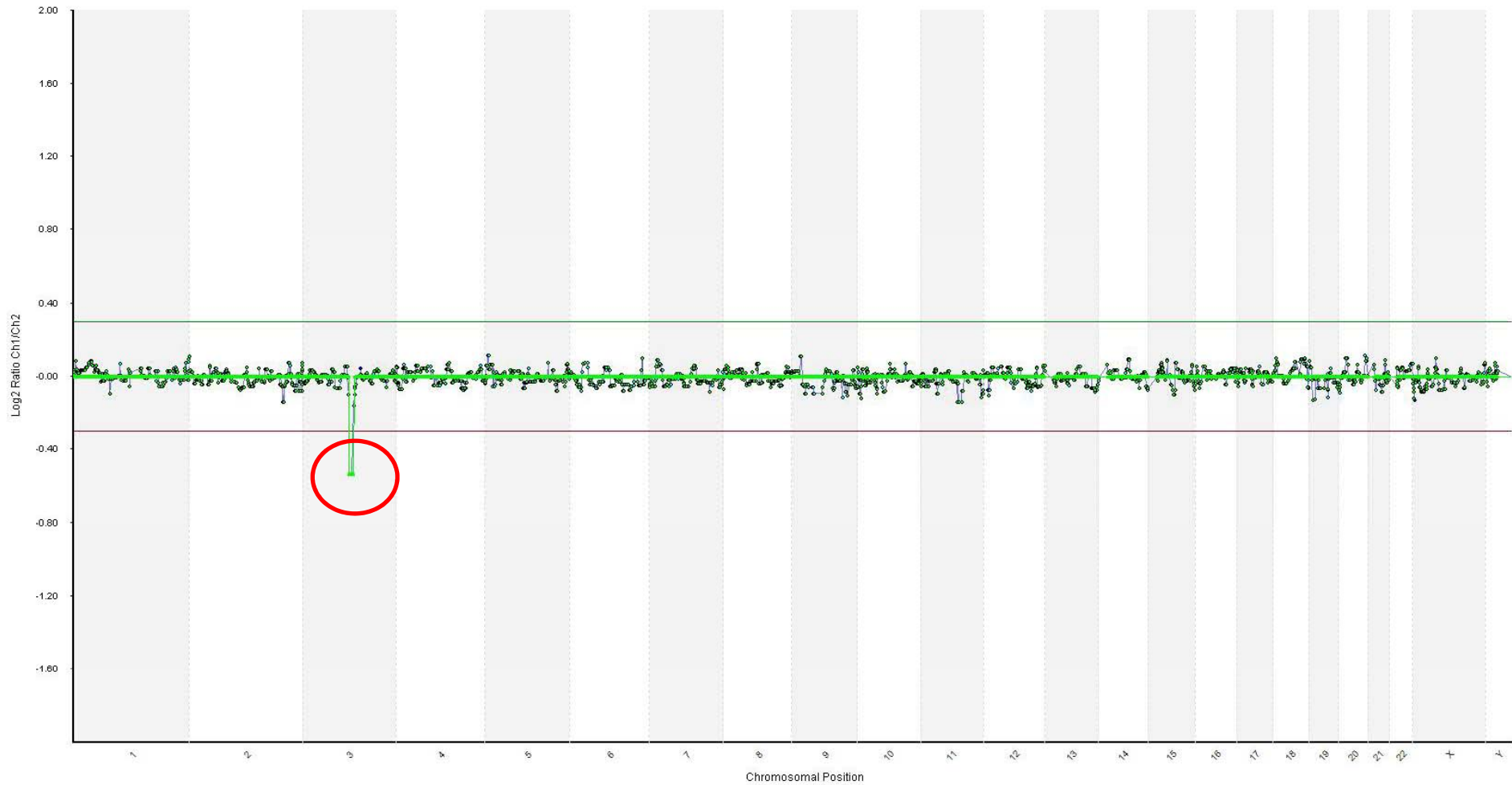
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a suspected partial dupl chr 5q, diagnosed as dup15(q24.1->qter) by array-CGH



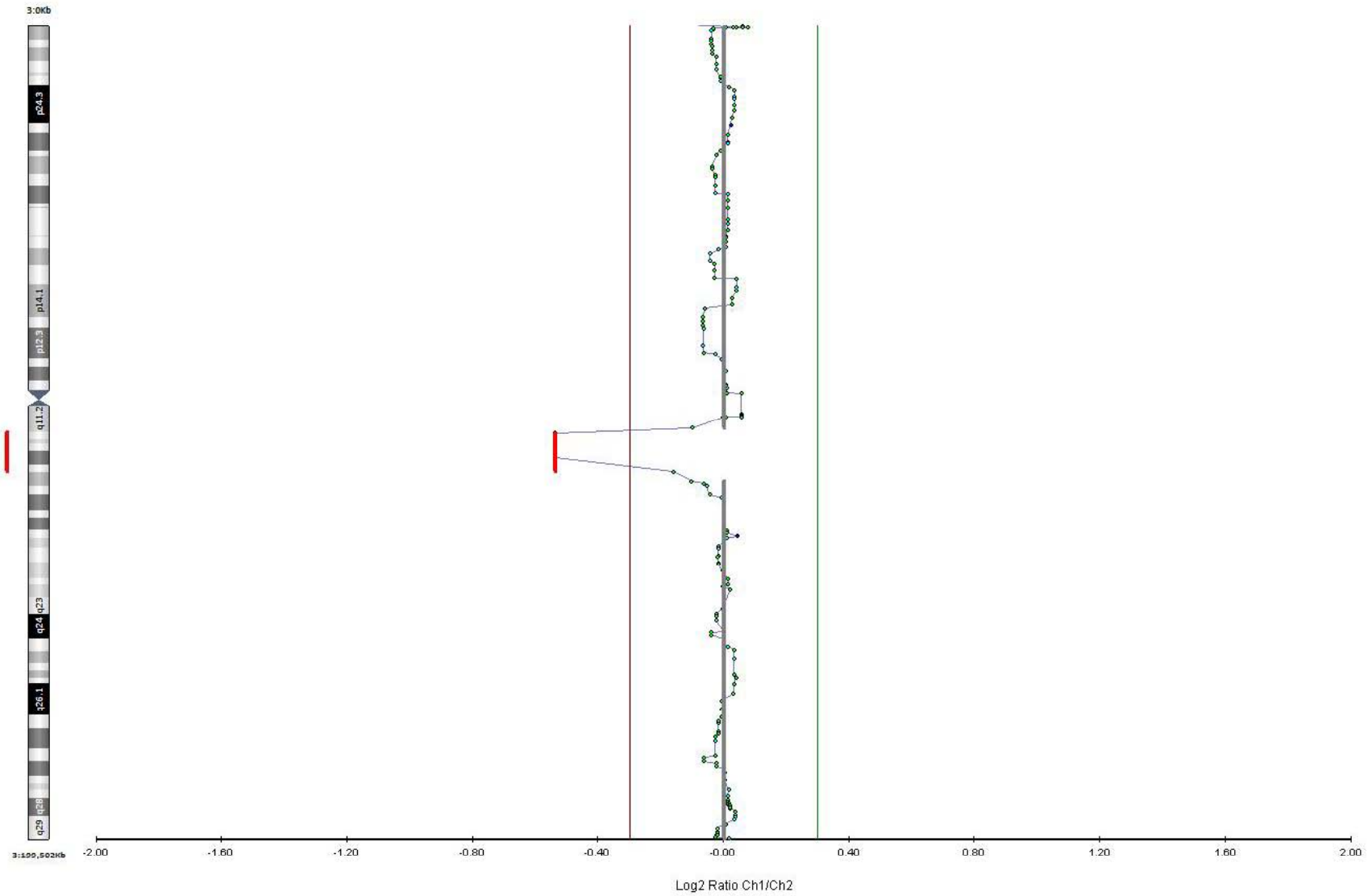
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a suspected partial dupl chr 5q, diagnosed as dup15(q24.1->qter) by array-CGH



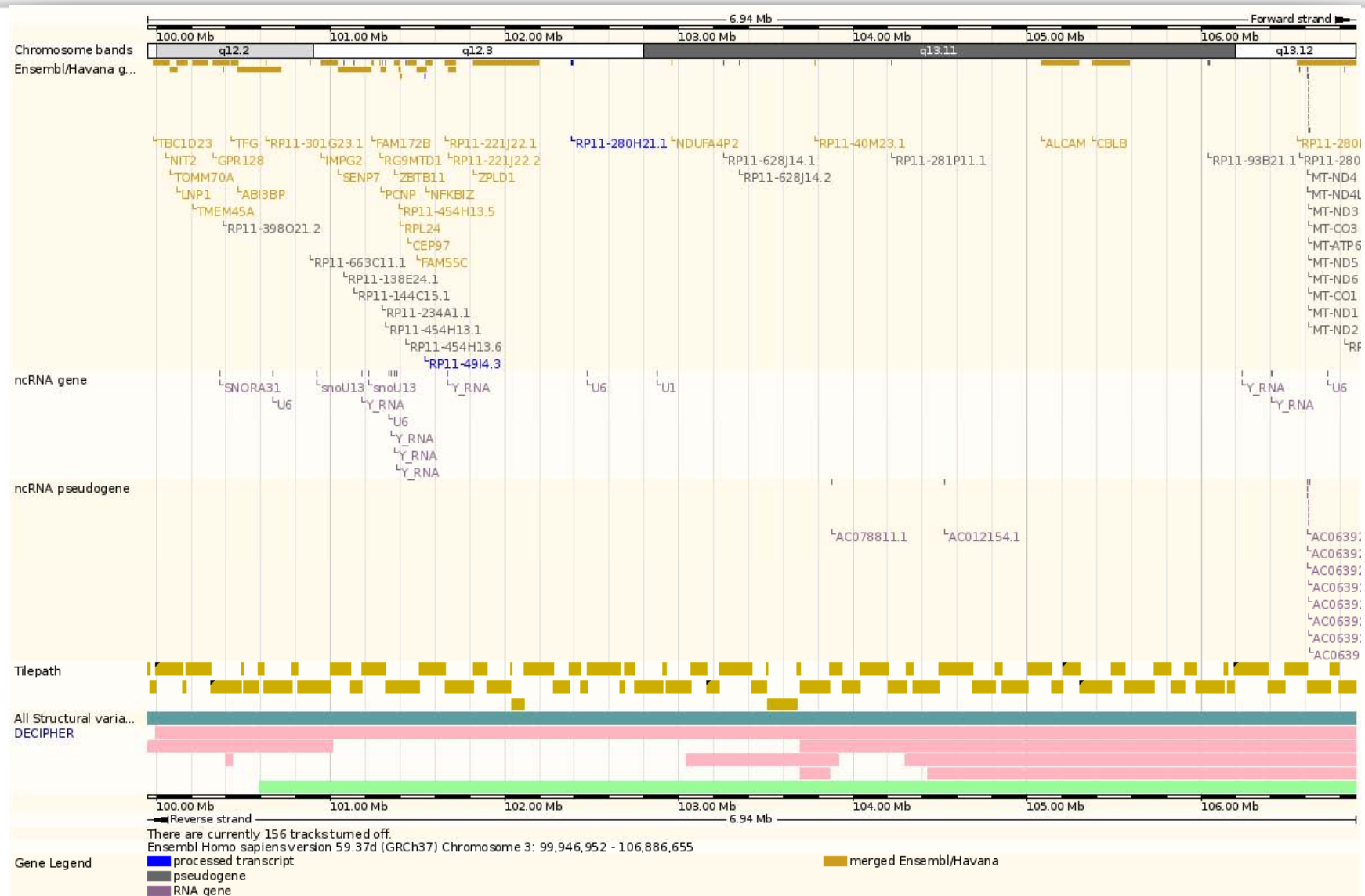
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a 7 Mb del3q12.2::q13.12



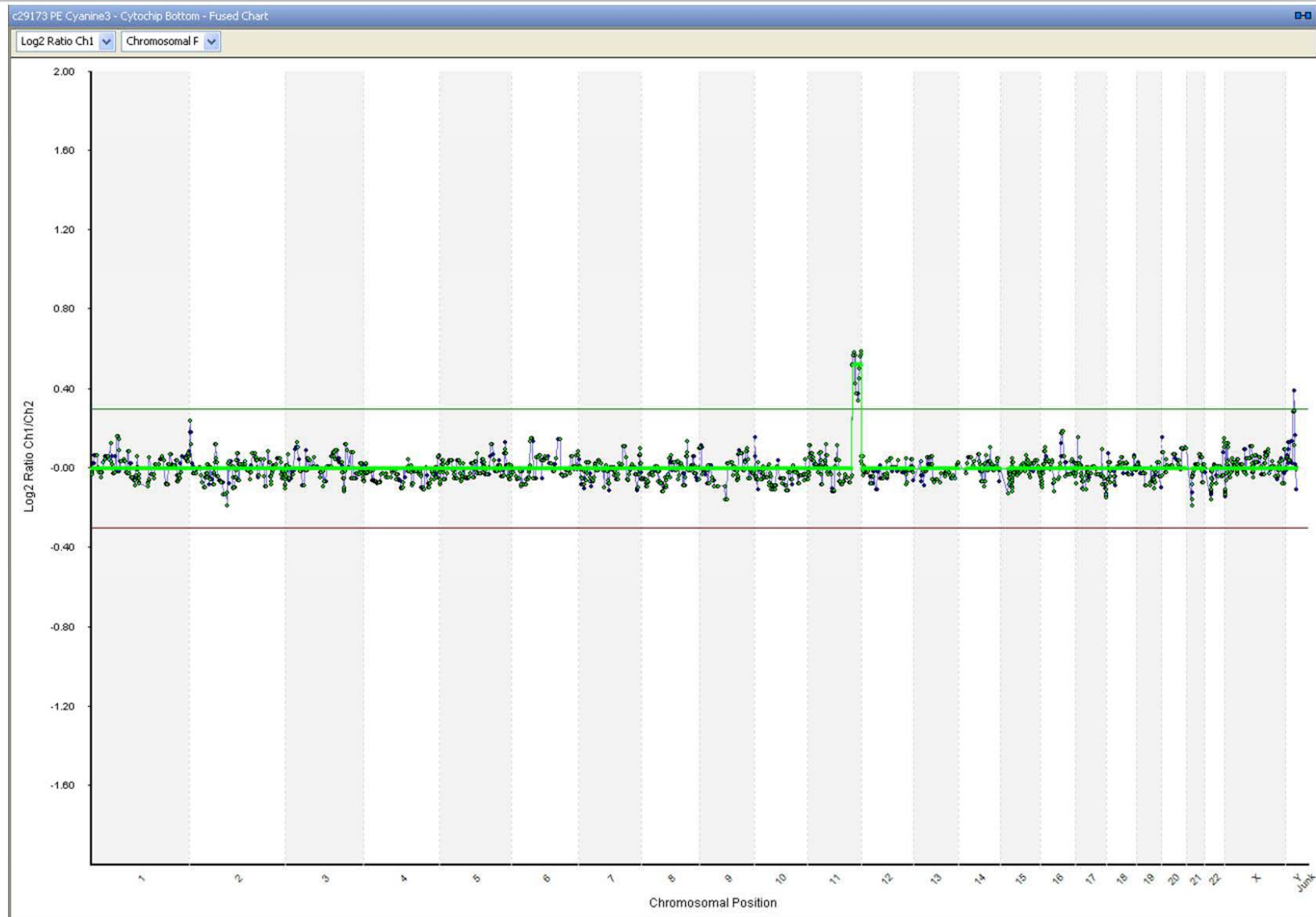
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a 7 Mb del3q12.2::q13.12



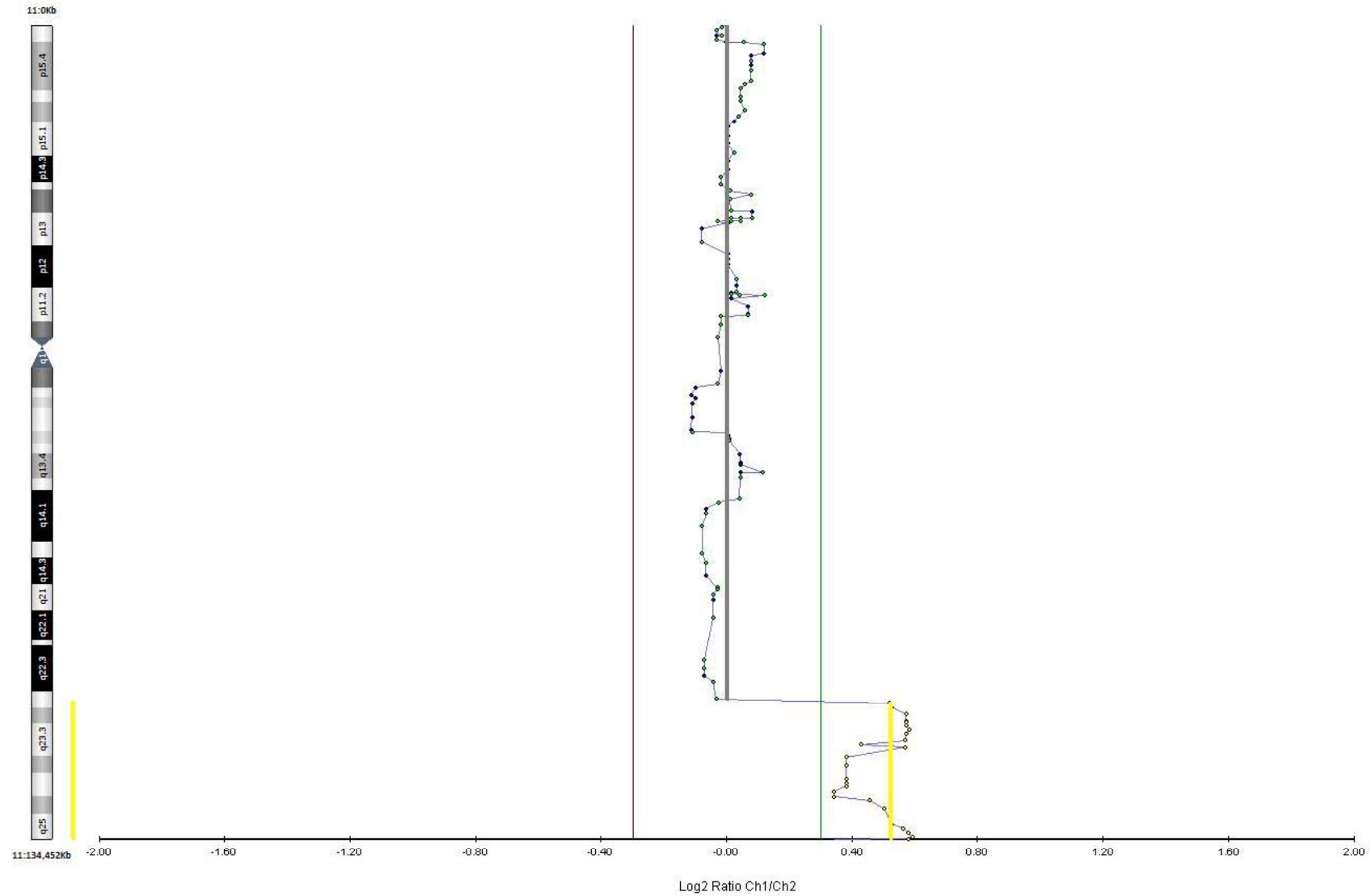
DNA (Amniotic fluid) from a fetus with a 7 Mb del3q12.2::q13.12



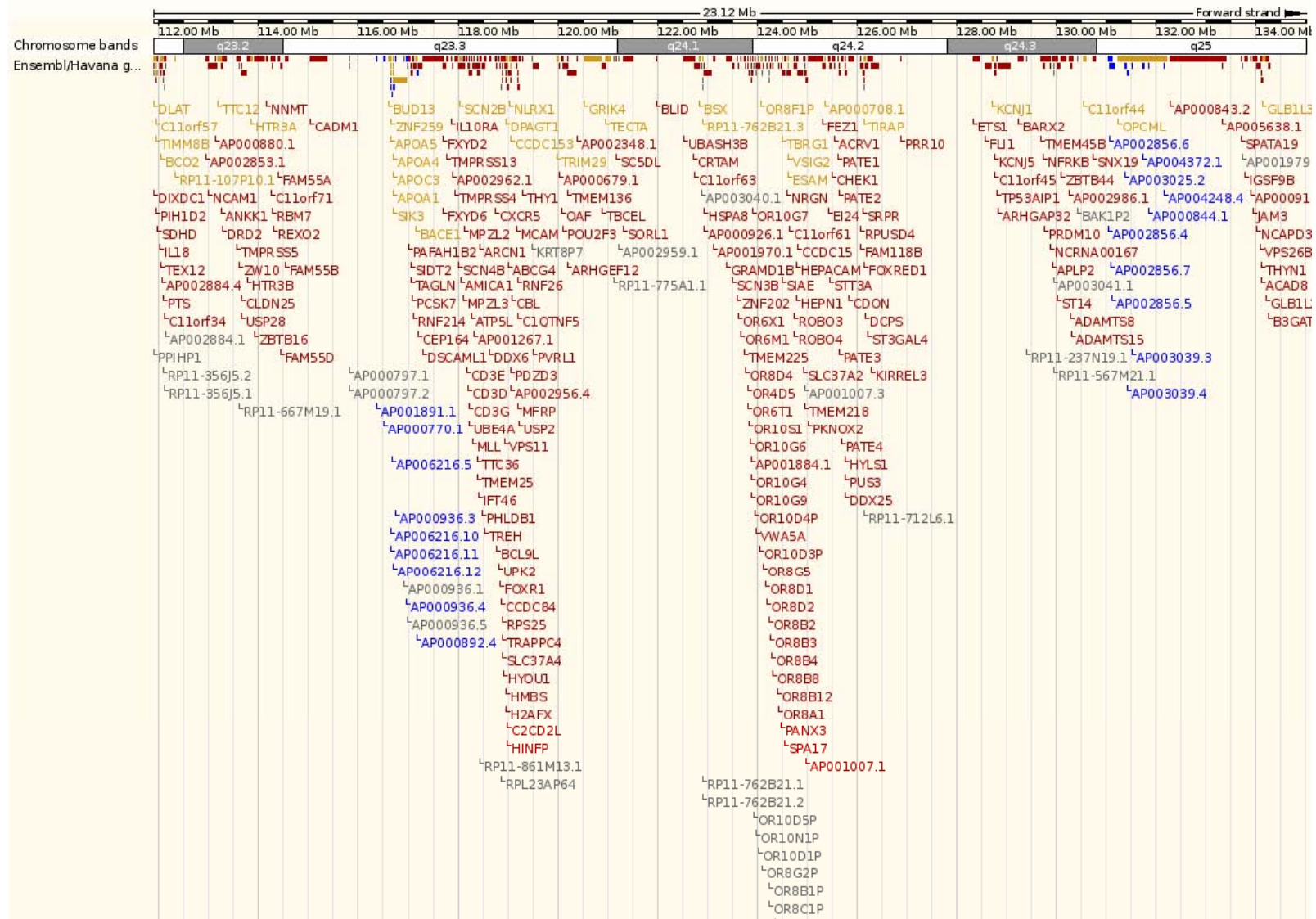
DNA (blood) from a child with a 23 Mb Duplication q23.2-qter



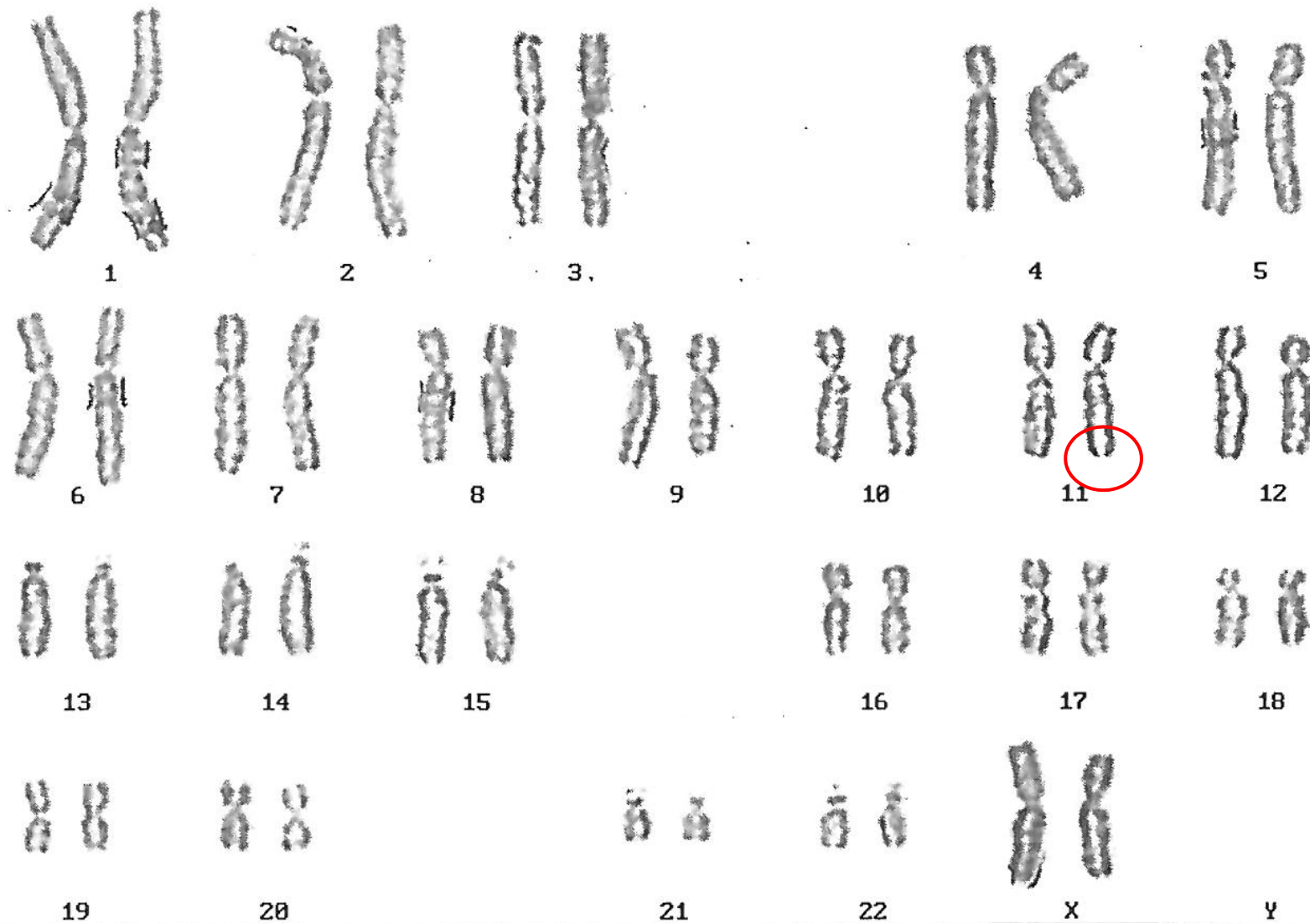
DNA (blood) from a child with a 23 Mb Duplication q23.1-qter



DNA (blood) from a child with a 23 Mb Duplication q23.2-qter



DNA (blood) from a child with a 23 Mb Duplication q23.2-qter
Misdiagnosis in traditional karyotype from amniotic fluid



Richiesta informazioni



Dr. Francesco Fiorentino

Direttore del Laboratorio GENOMA
fiorentino@laboratoriogenoma.it

Dr.ssa Marina Baldi – Genetista

Direttore della Sezione di Citogenetica
baldi@laboratoriogenoma.it

Dr. ssa Mariateresa SESSA

Resp. del Laboratorio di Citogenetica
sessa@laboratoriogenoma.it

Dr. Andrea Nuccitelli

Resp. del Laboratorio di Biologia
Molecolare
nuccitelli@laboratoriogenoma.it

Dr. ssa Debora Bonvissuto

Responsabile Marketing
bonvissuto@laboratoriogenoma.it

Dr. Giovanni Spuria

Direttore Amministrativo
spuria@laboratoriogenoma.it

Dr. Giovanni Scaramuzzo

Resp. Commerciale
scaramuzzo@laboratoriogenoma.it

Sito web istituzionale

www.laboratoriogenoma.eu

Sito web tematico

www.diagnosiprenatale.com