

SCREENING PRENATALE SU DNA LIBERO NEL SANGUE MATERNO (NON INVASIVE PRENATAL TEST)

CE IVD



LABOGEN s.a.s. - Via Dottor Consoli, 68 - CATANIA (CT)
www.sikelianipt.it - info@sikelianipt.it - 340.4267566



NIPT (Non Invasive Prenatal Test)

Test Prenatale Non Invasivo su DNA fetale libero (cff-DNA) per lo Screening di Trisomie e Anomalie Cromosomiche Sbilanciate

SikeliaNIPT™ è un test prenatale non invasivo (*Non Invasive Prenatal Testing, NIPT*) che permette di rilevare gravi patologie fetali; in particolare (nei diversi livelli di approfondimento) possono essere individuate **anomalie cromosomiche comuni (Trisomia cromosoma 21, 18 e 13)**, **anomalie del numero dei cromosomi sessuali (SCA, Sex Chromosome Aneuploidy)**, **anomalie di tutti i cromosomi (RAA, Rare Autosomal Aneuploidy)**, **Delezioni e Duplicazioni parziali**, chiamate anche varianti del numero di copie (**CNV**, Copy Number Variation con dimensioni maggiori a 7Mb), principali **Sindromi da Microdelezioni**.

Il **NIPT (Non Invasive Prenatal Test)** rappresenta oggi il **più elevato livello di Screening** per le cromosomopatie; molto più accurato rispetto ai metodi tradizionali (Bitest e Tritest) e "destinato a diventare il principale strumento di screening per il rilevamento delle aneuploidie durante la gravidanza" (*American College of Obstetrician and Gynecologist Committee on Genetics*).

	SCREENING SIEROLOGICI		NIPT Screening Prenatale Non Invasivo: DNA libero nel sangue materno					
	BITEST (Trisomia 21)	TRITEST (Trisomia 21)	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	XO	XXX XXY XYY	Sesso Fetale
SENSIBILITA' DR Detection Rate	90%	70%	99.7% (99.1%-99.9%)	97.9% (94.9%-99.1%)	99.0% (65.8%-100%)	95.8% (70.3-99.5%)	99.8% (83.6%-100%)	>97%
FNR Falso Negativo	10%	30%	0.3% (0.9%-0.1%)	2.1% (8.1%-0.9%)	1.0% (34.2%-0.00%)	4.2% (29.7%-0.5%)	0.2% (16.4%-0.00%)	
SPECIFICITA' DR Detection Rate	95%	90%	99.9% (0.02%-0.07%)	99.9% (0.03%-0.07%)	99.9% (0.02%-0.07%)	99.8% (0.05%-0.38%)	99.9% (0.0%-0.08%)	
FNR Falso Positivo	5%	10%	0.04% (0.02%-0.07%)	0.04% (0.03%-0.07%)	0.4% (0.02%-0.07%)	0.14% (0.05%-0.38%)	0.004% (0.0%-0.08%)	

Dati Meta Analisi (35 Studi Internazionali) sulla performance di test su cf DNA nello screening di aneuploidie
(Gill et al., *Ultrasound Obstet and Gynecol*, 2017)

Il **NIPT (Non Invasive Prenatal Testing)** analizza nel sangue materno (a partire dalla 10^a settimana di gestazione) il **DNA libero** (che comprende il DNA libero materno e la frazione fetale -cffDNA di origine placentare-).

Il DNA è normalmente presente all'interno di quasi tutte le cellule del nostro organismo; durante fenomeni biologici naturali le cellule vanno incontro a lisi liberando il loro contenuto nel circolo ematico, tra cui il DNA (tagliato in frammenti) che quando presente al di fuori della cellula viene definito DNA libero o cell-free DNA (**cfDNA**), presente nel plasma di ciascuno di noi in una percentuale fisiologica.

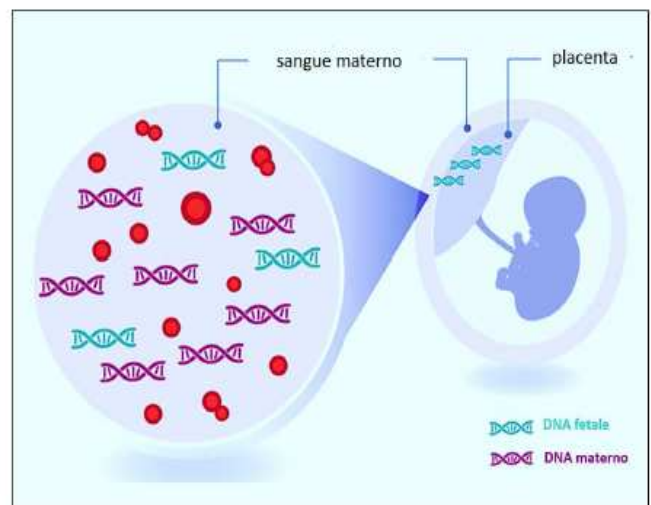
Durante la gravidanza, anche le **cellule del Citotrofoblasto Placentare** -per morte cellulare o apoptosi- vanno incontro a lisi cellulare, determinando la frammentazione del DNA.

I piccoli frammenti di DNA (**cfDNA cell free fetal DNA**) -che hanno dimensione di circa 180bp- si sospendono nel plasma materno. (grazie ai vasi placentari)

Nel plasma di una donna in gravidanza sono dunque presenti cellule fetali nucleate, DNA libero materno (**cfDNA**) e DNA libero fetale proveniente dalla placenta (**DNA fetale libero o cell-free fetal DNA -cffDNA-**). Dalla 10^a-12 settimana di gestazione si rileva una percentuale di DNA fetale libero (definita **Frazione Fetale**) mediamente del 10%.

E' un **TEST DI SCREENING** che fornisce informazioni accurate sulla gravidanza -permettendo di evitare indagini invasive non strettamente necessarie- ma per la natura di tutti i **test di Screening** e così come indicato nelle Linee Guida Nazionali ed Internazionali, anche il **NIPT** presenta la possibilità di "**falsi Positivi**" e **falsi Negativi**", pertanto il **risultato dell'analisi va valutato dallo Specialista nell'ambito del monitoraggio Clinico-Strumentale della gravidanza**.

SikeliaNIPT™ viene eseguito presso **LABOGEN s.a.s.**; utilizzando la tecnologia a più ampia casistica e performance **VeriSeq™ NIPT Solution v2 di Illumina** con Workflow di analisi ed elaborazione dei risultati completamente automatizzati e certificati CE-IVD, fornisce risultati di Screening affidabili a partire dalla 10^a settimane di gestazione, garantendo le migliori performance cliniche in termini di Sensibilità e Specificità, riduzione del numero di falsi positivi e più basso tasso di fallimenti.



Nel plasma materno in gravidanza sono presenti cellule fetali nucleate e DNA libero (cffDNA) non-cellulare proveniente dalle cellule della placenta

Da Linee Guida del Ministero della Salute, 2015

IL NIPT SI ESEGUE dalla 10^a settimana alla 20^a settimana di gestazione;

È privo di rischi per la madre e per il feto, in quanto eseguito su un semplice prelievo di sangue materno.

In caso di:

- o **gravidanza gemellare**, il prelievo di sangue materno viene eseguito a partire dalla 12^a settimana di gestazione fino alla 20^a settimana di gestazione;
- o **gravidanza iniziata come gemellare e con arresto di un feto**, il prelievo di sangue materno **deve essere eseguito almeno 6-8 settimane dopo l'arresto dell'attività fetale**; la validità del test sarà comunque ridotta.

IL NIPT È INDICATO

- o per la valutazione del Rischio di Aneuploidia sia nelle **gravidanze ad Alto Rischio** (donne con età materna superiore a 35 anni) che nelle **gravidanze a Basso Rischio** (donne con età materna inferiore a 35 anni);
- o nel caso di **Screening Sierologico Dubbio/Intermedio** (rischio combinato valutato tra 1/250 e 1/2500) e nel caso di **Screening Sierologico Positivo** (rischio combinato < 1/250); in tali casi è comunque indicata la Diagnosi Prenatale Invasiva;
- o Nelle gravidanze in cui è controindicata la Diagnosi Prenatale Invasiva (es. rischio di aborto spontaneo, ecc.).

IL NIPT PUÒ ESSERE ESEGUITO anche in caso di:

- o **Gravidanze gemellari**: però il risultato è unico per entrambi i gemelli e non è possibile distinguere la condizione del singolo feto, né il sesso del singolo feto;
- o **Gravidanze singole ottenute con fecondazione assistita** (che deve essere comunicata insieme all'età di eventuale donatrice).

IL NIPT NON È INDICATO invece in caso di

- o **Anomalie Ecografiche Fetali** (aumento NT, igroma, idrope, ecc.); le gravidanze **con riscontro ecografico di malformazioni** o di anomalie, devono essere studiate -più opportunamente- con altri tipi di indagini prenatali (quali il cariotipo fetale, CGH, NGS, ecc.) su villi coriali o liquido amniotico.

Nei casi di sospetto ecografico di patologia fetale, il NIPT potrà essere eseguito solo se richiesto specificamente dallo Specialista.

- o **Gravidanze multiple** con più di 2 feti;
- o **Vanishing Twin** o la presenza di una placenta di un feto abortito nelle prime settimane, può essere causa di discrepanza.
- o **Madre con mosaicismi cromosomici** coinvolgenti i cromosomi soggetti ad indagine;
- o **Madre affetta da tumore** (sia benigno che maligno) o che ha subito **trapianto d'organo**;
- o **Madre in terapia** immunologica, radioterapia o emotrasfusione (entro i 3 mesi precedenti) che potrebbero essere causa di patologie cromosomica di origine iatrogena.

LA METODICA ANALITICA consiste nel:

- o **Prelievo di sangue materno** eseguito in provetta **Streck Cell-Free DNA BCT® CE**, contenente agente stabilizzante per il cfDNA,
- o Trasporto del campione in Kit isotermico per materiale biologico di categoria B, nel rispetto della Normativa UN3373.
- o **Estrazione cfDNA** DNA libero circolante dal sangue materno e purificazione,
- o **Determinazione della Frazione Fetale** del DNA libero circolante rappresentata da frammenti di DNA di origine placentare (cffDNA >4% per l'esecuzione dell'analisi),
- o Analisi dei frammenti di cfDNA (rappresentato da DNA libero materno e da DNA libero di origine placentare) mediante preparazione delle librerie per la successiva fase di **Sequenziamento Paired-end dell'intero genoma** (utilizzando **VeriSeq™ NIPT Solution v2** di Illumina),
- o Valutazione del numero di copie dei cromosomi mediante **Algoritmo** avanzato,
- o L'intero flusso di analisi (Raccolta del campione, Estrazione, Preparazione, Sequenziamento, Analisi Bioinformatica) è certificato **CE-IVD**.

La tecnologia SikeliaNIPT™



La VeriSeq™ NIPT Solution v2 rilevare:

• **ANEUPLOIDIE PIU' FREQUENTI:**

✓ **Sindrome di Down -Trisomia 21-**

la trisomia più frequente alla nascita (1/700 nati), causata dalla presenza di un cromosoma 21 in più. È associata a disabilità mentali gravi o moderate

✓ **Sindrome di Edwards -Trisomia 18:-**

causata dalla presenza di un cromosoma 18 in più, è associata a gravi malformazioni e un'aspettativa di vita ridotta; il rischio di aborto spontaneo è elevato.

✓ **Sindrome di Patau -Trisomia 13:-**

causata dalla presenza di un cromosoma 13 in più, è rara (1/9.000 nati) e si associa ad elevata mortalità; i bambini affetti presentano gravi difetti cardiaci congeniti ed altre patologie; difficilmente sopravvivono oltre il primo anno di vita



Sono anomalie frequenti e rappresentano circa il **60% delle patologie cromosomiche**.

Originano –in genere- casualmente a seguito di errori durante la meiosi (formazione ovulo o spermatozoi) o di errori nelle divisioni cellulari dell'embrione e -in tale caso- danno origine a Mosaicismi (presenza di linee cellulari diverse: normali e patologiche). Il Rischio di tali patologie –e' correlato con l'aumento dell'età materna (> a 35 anni),

• **ANEUPLOIDIE DEI CROMOSOMI SESSUALI (SCA):**

sono caratterizzate da anomalie del numero dei cromosomi sessuali (X e Y) rispetto alla coppia di cromosomi presente nel normale cariotipo.

✓ **Sindrome di Turner (XO):**

caratterizzata dalla presenza di un solo cromosoma sessuale (X); l'errore avviene di solito nella spermatogenesi, si osserva la perdita del cromosoma sessuale di origine paterna nelle prime fasi dell'embriogenesi. Le caratteristiche: bassa statura, anomalie cardio-vascolari, dismorfismi facciali, anomalie mani e piedi, mancato sviluppo delle caratteristiche sessuali secondarie, ipogonadismo, sterilità.

✓ **Sindrome di Klinefelter (XXY):**

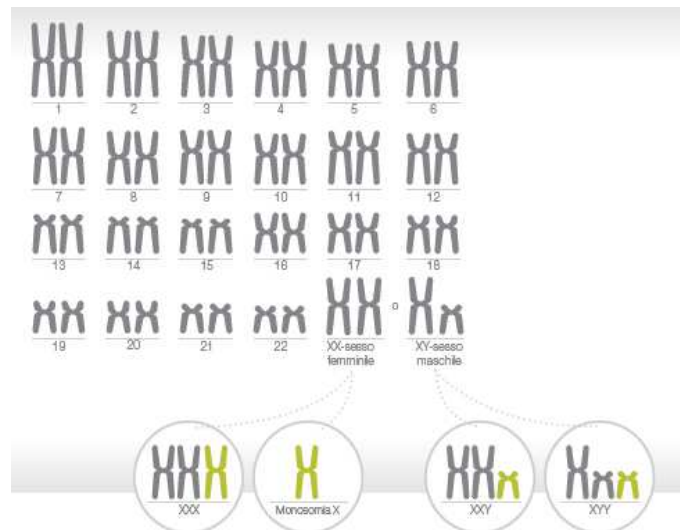
caratterizzata dalla presenza di un cromosoma sessuale X in più nei maschi. I soggetti affetti presentano una riduzione dei valori di testosterone e -se non trattati precocemente alla pubertà- possono presentare ipogonadismo ed infertilità. E' segnalato aumento del rischio di ritardo del linguaggio e disturbo dell'apprendimento.

✓ **Sindrome di Jacobs (XYY):**

dovuta alla presenza di un cromosoma Y in più nei maschi. La maggior parte degli affetti presenta alta statura con normale sviluppo sessuale e fertilità solitamente conservata. Lo sviluppo intellettuale è in genere nella norma, possono manifestarsi ritardo del linguaggio, disturbo dell'apprendimento e ipotonia muscolare.

✓ **Trisomia del cromosoma X (XXX):**

dovuta alla presenza di un cromosoma X in più nelle donne. Non comporta caratteristiche fenotipiche peculiari. Lo sviluppo puberale è normale ma in alcuni casi può osservarsi ridotta fertilità, menopausa precoce. Può essere presente un ritardo dello sviluppo psicomotorio.



Le aneuploidie dei cromosomi sessuali sono anomalie relativamente frequenti. Insieme alle trisomie più frequenti-rappresentano circa **80-85% delle patologie cromosomiche**

Il rischio di tali patologie correla con l'aumento dell'età materna, ad eccezione della Monosomia X in cui non è evidenziata tale correlazione-

• **ANEUPLOIDIE AUTOSOMICHE RARE (RAA)** caratterizzate dalla presenza di un cromosoma in piu' (Trisomia) o in meno (Monosomia) -rispetto alla coppia di cromosomi presente nel normale cariotipo-.

Sono eventi rari (solitamente causa di aborto precoce, Ritardo crescita intrauterina, morte endouterina/perinatale). L'incidenza delle Aneuploidie Autosomiche rare nei primi stadi di gravidanza è stimata intorno allo **0.34%** (spesso relegata al solo tessuto placentale)

Insieme alle trisomie piu' frequenti e alle aneuploidie dei cromosomi sessuali rappresentano circa il **90% delle patologie cromosomiche**.

• DELEZIONI / DUPLICAZIONI:

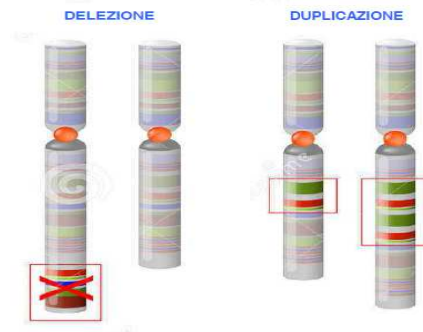
sono **anomalie cromosomiche strutturali sbilanciate**: possono riscontrarsi “*de novo*” o essere conseguenza di malsegregazione di anomalie strutturali portate da un genitore.

Sono caratterizzate dalla perdita di un tratto di cromosoma (**DELEZIONE**) o dalla presenza di più copie di un tratto di cromosoma (**DUPLICAZIONE**), determinando perdita o sovradosaggio dei geni localizzati sul tratto di cromosoma interessato.

Il test permette di evidenziare Duplicazioni e Delezioni di dimensioni superiori a 7Mb.

Il rischio di tali patologie non è correlato all'età materna.

L'incidenza delle CNV (Delezioni e Duplicazioni) nei primi stadi di gravidanza è stimata intorno a **0.10%**.



• PRINCIPALI SINDROMI DA MICRODELEZIONE:

alcune delezioni sono specifiche di regioni cromosomiche ben caratterizzate e sono associate a particolari Sindromi rare caratterizzate da anomalie cardiache, dimorfismi facciali, ritardo mentale, deficit dello sviluppo neuro cognitivo (Sindromi da Microdelezione), non sempre evidenzibili ecograficamente.

Vengono in particolare analizzate le più frequenti

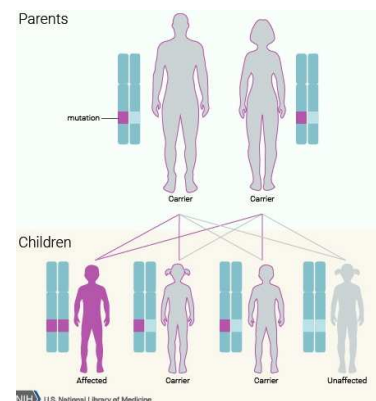
- ✓ **Sindrome di Angelman -del 15q11.2-**
Microcefalia, Atassia, Assenza di linguaggio, Ritardo Mentale
- ✓ **Sindrome Cri-du-Chat -del 5p-**
Ritardo Mentale, disturbi comportamento, ritardo crescita
- ✓ **Sindrome da delezione 1p36**
Ritardo mentale, disturbi comportamento, linguaggio limitato/assente, riduzione/perdita udito, difetti cardiaci
- ✓ **Sindrome di DiGeorge -del 22q11.2-**
Ritardo mentale –lieve/moderato, , disturbi comportamento, cardiopatia
- ✓ **Sindrome Prader-Willi -del 15q11-q13-**
Ritardo Mentale –lieve/severo, disturbi comportamento, ipotonia.

- ✓ **Sindrome di Wolf-Hirschhorn -del 4p-**
Anomalie cranio-facciali, ritardo crescita pre/postnatale, ritardo sviluppo psicomotorio, ipotonia
- ✓ **Sindrome di Jacobsen -del 11q23-**
Dismorfismo facciale, ritardo crescita pre/postnatale, ritardo psicomotorio
- ✓ **Sindrome di Langer-Giedion -del 8q24.11-**
Difetti congeniti multipli, dimorfismi facciali disabilità intellettiva
- ✓ **Sindrome di Smith-Magenis -del 17p11.2-**
Deficit cognitivo, anomalie cranio facciali, scheletriche, ritardo motorio e del linguaggio
- ✓ **Sindrome da delezione 2q37**
Ritardo dello sviluppo, malformazioni scheletriche, dimorfismi facciali.

• PATOLOGIE GENETICHE AUTOSOMICHE RECESSIVE

(ad alta incidenza), determinate da anomalie nella sequenza del DNA –**Mutazioni in specifici geni**, trasmesse ereditariamente secondo principi classici dell'ereditarietà e che si manifestano quando la mutazione è presente in entrambi gli alleli (omozigosi), mentre gli eterozigoti sono clinicamente silenti (portatori sani).

Le **COPPIE A RISCHIO PER MALATTIE GENICHE AUTOSOMICHE RECESSIVE** possono essere identificate mediante valutazione clinica, anamnesi familiare e ricerca di mutazioni dei geni responsabili delle patologie considerate (ad es.: Talassemia, Anemia falciforme, Fibrosi Cistica, Sordità CNX26, ecc.).



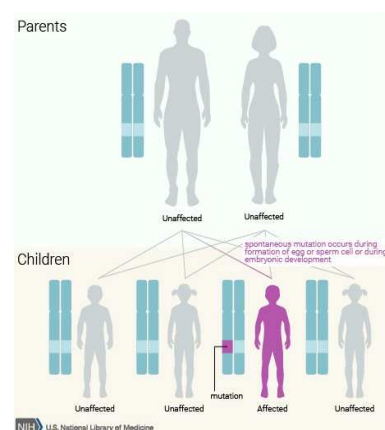
• PATOLOGIE AUTOSOMICHE DOMINANTI “de novo”

causate da alterazioni (mutazioni) che riguardano un singolo gene e che compaiono per la prima volta nella famiglia. È stato osservato che l'incidenza delle mutazioni “*de novo*” aumenta con l'aumentare dell'età dei genitori, soprattutto paterna.

Hanno complessivamente un'incidenza intorno a 1/1500 nati

Si tratta di patologie nella maggior parte dei casi rilevabili ecograficamente nel II e nel III trimestre:

- ✓ **Craniosinostosi** (Sindrome di Apart, Sindrome di Crouzon, Sindrome di Pfeiffer)
- ✓ **Patologie Sindromiche** (Sindrome di Noonan, Sindrome di Rett, Sindrome di Leopard)
- ✓ **Patologie scheletriche e Displasie** (Acondrogenesi, Acondroplasia, Displasia Tanatoforica, Ipocondroplasia, Osteogenesi Imperfecta, Sindrome di Ehlers Danlos).



SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DEL NIPT (VeriSeq™ NIPT Solution v2 di Illumina)

	Trisomie Autosomiche frequenti			Aneuploidie Cromosomi Sessuali SCA				Aneuploidie Autosomiche Rare RAA	Delezioni Duplicazioni Microdelezioni (>7Mb)
	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	XO	XXY	XYY	XXX		
Sensibilità	> 99,9 %	> 99,9 %	>99,9 %	99 %	99 %	99 %	99 %	>96,4 %	> 74,1%
Specificità	> 99,9 %	> 99,9 %	>99,9 %	99 %	99 %	99 %	99 %	> 99,8 %	> 99,8 %

CONCORDANZA CLASSIFICAZIONE SESSUALE FETALE rispetto ai risultati citogenetici					
XX	XY	XO	XXY	XYY	XXX
100%	100%	90.5%	100%	91.7%	100%

Al momento, la casistica disponibile non permette la validazione clinica di NIPT per le **Malattie Monogeniche**; pertanto, i protocolli che utilizzano il cff-DNA per analisi delle gravidanze a rischio per tali patologie sono considerati **Screening SPERIMENTALI**.

RISULTATI POSSIBILI DEL NIPT

Il **NIPT non è un test diagnostico ma un TEST DI SCREENING**; infatti, definisce la possibilità che il feto presenti una specificata patologia tra quelle indagate, anche se con Specificità e Sensibilità più elevate rispetto ad altri test di Screening.

- ✓ **Test NEGATIVO** (basso rischio) può essere generalmente rassicurante -in considerazione dell'elevata specificità e dell'elevato valore predittivo negativo del test di screening-, ma va valutato dallo Specialista nel più ampio quadro Clinico-Anamnestico e del Monitoraggio Strumentale della gravidanza. In caso di **evidenza ecografica di possibili anomalie fetali** –precedente o successiva all'analisi NIPT- è indicato l'approfondimento diagnostico con la Diagnosi Prenatale Invasiva; infatti, è valutata inferiore all'1-2% la probabilità di un risultato **Falso Negativo** (FNR: 1.5-2.0%), cioè che non venga rilevata la presenza della patologia o che il feto presenti altre patologie non evidenziabili con il test eseguito;
- ✓ **Test POSITIVO** (alto rischio) rende necessaria Consulenza Genetica e **Diagnosi Prenatale Invasiva** (Amniocentesi) per l'analisi del Cariotipo fetale e di test genetici idonei alla Diagnosi della patologia, anche se la probabilità di un risultato **Falso Positivo** (cioè che venga sospettata la presenza di una anomalia genetica che in realtà non è presente nel feto) è valutata relativamente bassa (FPR: 0.1-0.3%).

Il NIPT pertanto **non è sostitutivo della Diagnosi Prenatale Invasiva**.

Eventuali **Discordanze (tra il risultato del test NIPT e la reale costituzione fetale)** (**Falso Positivo** e **Falso Negativo**) possono essere determinate da:

- ✓ **Mosaicismo feto placentare o discrepanze feto placentali** (frequenza: 1.5-2% delle gravidanze).
Le anomalie cromosomiche (aneuploidie) sono in genere causate da anomalie alla fecondazione (feto e placenta presentano la stessa costituzione cromosomica).
Il mosaicismo (caratterizzato dalla presenza di più linee cellulari nello stesso individuo) origina da un errore durante le divisioni embrionali (mitosi), ma se l'errore mitotico avviene dopo il 10^a giorno dalla fecondazione (quando si separano embrione e placenta) il mosaicismo può determinare discordanza tra feto e placenta.

L'origine placentare dei frammenti di DNA (cffDNA) e la presenza di **Mosaicismo feto placentare o discrepanze feto placentali** (frequenza: 1.5-2% delle gravidanze) può spiegare eventuali **discordanze (tra il risultato del test NIPT e la reale costituzione fetale)** (**Falso Positivo** e **Falso Negativo**).

- **Mosaicismo generalizzato**: presenza di due o più linee cellulari con cariotipo differente sia nella placenta che nel feto.
Esiste la possibilità di risultati NIPT "**falsi Positivi**" o "**falsi Negativi**",
- **Mosaicismo confinato alla placenta**: di due o più linee cellulari con cariotipo differente nella placenta e non presenti nel feto.
Esiste la possibilità di un "**falso Positivo**"
- **Mosaicismo Fetale**: presenza di due o più linee cellulari con cariotipo differente nel feto e non presenti nella placenta.
Esiste la possibilità di un "**falso Negativo**"

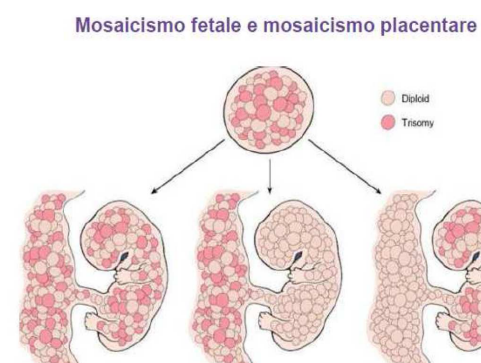
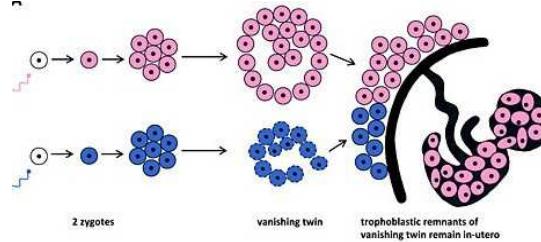


Immagine adattata da: Kalousek et al. Hum Genet. 1992 Mar;88(6):642-6.

Discordanze tra il risultato NIPT e il feto dono possibili anche per:

- Presenza di un gemello riassorbito (**Vanishing Twin** che si osserva in circa il 20% delle gravidanze IVF e in circa lo 0.2-0.6% delle gravidanze spontanee),



- **Mosaici cromosomici materni**,
- **Trasfusioni o trapianti materni**,
- **Tumori materni** (benigni e benigni),
- **Patologie materne** (es. deficit Vitamina B12, Colestasi intraepatica, malattie autoimmuni, ecc.) ,
- **Trattamenti farmacologici** a cui si è sottoposta la madre precedentemente o durante la gravidanza,
- **Rarissime condizioni genetiche materne** che al momento dell'esecuzione del test non sono note.

TEMPO CONSEGNA NIPT: 5-7 giorni lavorativi.

La tempistica potrebbe non essere rispettata per problemi tecnici o approfondimenti a seguito dei controlli interni di qualità.

LA RIPETIZIONE DEL PRELIEVO si rende necessaria (1-2% dei casi) nei casi in cui il **test non può essere chiaramente interpretato** o se la frazione di DNA libero circolante fetale nel plasma materno (**cffDNA**) **non è sufficiente per l'analisi** (<4%).

TASSO DI FALLIMENTO DEL NIPT (test non interpretabile anche dopo il secondo prelievo) è valutato intorno allo 0.5-0.7%.

VANTAGGI DEL NIPT

- Riduce il numero di test invasivi (Amniocentesi e Villocentesi) e il rischio di complicanze collegato a questi,
- Presenta basso di Falsi Positivi e di Falsi Negativi inferiore rispetto ad altri Protocolli di Screening.

LIMITI DEL NIPT

- Analizza i **frammenti di cfDNA**: questi sono rappresentati da DNA libero materno e da DNA libero di origine placentare. Tali frazioni non possono essere analizzate separatamente; l'Algoritmo valuta il numero di copie di cromosomi fetali
- Il DNA libero di origine fetale è originato dal Citotrofoblasto (placenta) e, in rari casi, può differire da quello fetale (discrepanze Feto Placentari che si riscontrano nel 1.5-2.0% delle gravidanze).
- Non viene analizzato il rischio di anomalie che interessano cromosomi non oggetto di studio, il rischio di anomalie cromosomiche di struttura dei cromosomi bilanciate (traslocazioni, inversioni);
- Non possono essere evidenziate anomalie cromosomiche a mosaico (presenza di cellule normali e cellule aneuploidi), Triploidie e Poliploidie;

Principali riferimenti bibliografici

- Bianchi DW, et al. Study Group. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol.* 119: 890–901 (2012).
- Bianchi DW. Cherchez la femme: maternal incidental findings can explain discordant prenatal cell-free DNA sequencing results. *Genet Med.* 20:910-917 (2018)
- Chatron N, Till M, Abel C, Bardel C, Ramond F, Sanlaville D, Schluth-Bolard C. Detection of rare autosomal trisomies through non-invasive prenatal testing: benefits for pregnancy management. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 53:129–130 (2019)
- Dondorp et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 23:1438-1450 (2015).
- Chan KC, Jiang P, Sun K, Cheng YK, Tong YK, Cheng SH, Wong AIC, Hudecova I, Leung TY, Chiu RWK, Lo YMD. Second generation noninvasive fetal genome analysis reveals de novo mutations, singlebase parental inheritance, and preferred DNA ends. *Proc Natl Acad Sci USA.* 113:E8159–8168 (2016).
- Haug L, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol.* 212:79.e1–9 (2015).
- Kagan KO, et al. First Trimester Screening for Common Trisomies and Microdeletion22q11.2 Syndrome Using Cell-Free DNA: A Prospective Clinical Study. *Fetal Diagn Ther.* 47:841-852 (2020)
- Gil et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017
- Gil et al. Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of The Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 53:734-742 (2019)
- Kleinfinger P et al. Strategy for Use of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing for Rare Autosomal Aneuploidies and Unbalanced Structural Chromosomal Anomalies. *J Clin Med.* 9:2466 (2020).
- Pertile MD et al. Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease. *Sci Transl Med.* 2017;9(405)
- Veriseq NIPT Solution v2, document 1000000032015 v03, September 2020
- ACOG Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2016;127 (5):e123-37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001406
- ACOG Practice Bulletin No. 226: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol.* 136:859-867 (2020).
- Ministero della Salute, Linee Guida NIPT 2015;
- Ministero della Salute Consiglio Superiore di Sanita' 09/03/2021
- SIGU documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasive. (2016), / SIGU documento di indirizzo sulla 'Conferma diagnostica dopo NIPT con risultato ad alto rischio, non informativo o sesso discordante'

SikeliaNIPT™: Livelli Analisi disponibili

BASE

		Sensibilità	Specificità
Trisomie piu' frequenti			
✓ Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
Determinazione Sesso		> 97.9 %	99 %
Le trisomie 21, 18, 13 rappresentano circa il 60% delle patologie cromosomiche			

BASE -XY

		Sensibilità	Specificità
Trisomie piu' frequenti			
✓ Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
Aneuploidie cromosomi sessuali (SCA)			
✓ XO Sindrome di Turner	1 / 2000 femmine nate	99 %	99 %
✓ XXY Sindrome di Klinefelter	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XYY Sindrome di Jacobs	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XXX Sindrome triplo X	1 / 950 femmine nate	99 %	99 %
Determinazione Sesso		> 97.9 %	99 %
Le trisomie 21, 18, 13 e le aneuploidie dei cromosomi sessuali rappresentano circa 80-85% delle patologie cromosomiche			

CARIO

		Sensibilità	Specificità
Trisomie piu' frequenti			
✓ Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
Aneuploidie cromosomi sessuali (SCA)			
✓ XO Sindrome di Turner	1 / 2000 femmine nate	99 %	99 %
✓ XXY Sindrome di Klinefelter	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XYY Sindrome di Jacobs	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XXX Sindrome triplo X	1 / 950 femmine nate	99 %	99 %
Aneuploidie di tutti gli altri cromosomi (RAA)			
✓ Trisomie / Monosomie di tutti i cromosomi	non nota	96,4 %	99.8%
Determinazione Sesso		> 97.9 %	99 %
Le trisomie 21, 18, 13, le aneuploidie dei cromosomi sessuali (SCA) e di tutti i cromosomi (RAA) rappresentano circa il 90% delle patologie cromosomiche			

Base-XY – Microdelezioni

		Sensibilità	Specificità
Trisomie piu' frequenti			
✓ Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
Aneuploidie cromosomi sessuali (SCA)			
✓ XO Sindrome di Turner	1 / 2000 femmine nate	99 %	99 %
✓ XXY Sindrome di Klinefelter	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XYY Sindrome di Jacobs	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XXX Sindrome triplo X	1 / 950 femmine nate	99 %	99 %
Determinazione Sesso		> 97.9 %	99 %
Microdelezioni (Pannello Principali Sindromi)			
✓ Sindrome da delezione 1p36	1 / 5.000 – 1 / 10.000	> 74,1%	99.8 %
✓ Sindrome di Angelmann del 15q11-13	1 / 10.000 – 1 / 20.000		
✓ Sindrome di Cri du Chat del 5p-	1 / 30.000 – 1 / 50.000		
✓ Sindrome di DeGeorge -del 22q11.2-	1 / 2.000 -1 / 4.000		
✓ Sindrome di Jacobsen -del11q23-	1 / 100.000		
✓ Sindrome di Prader Willi -del 15q11-13	1 / 25.000		
✓ Sindrome di Wof-Hirschorn del 4p	1 / 30.000 – 1 / 50.000		
✓ Sindrome di Langer-Giedion del 8q24.11	1 / 200.000		
✓ Sindrome di Smith-Magenis del 8q24.11	1 / 15.000-1 / 20.000		
✓ Sindrome da Brachidattilia del 2q37	1 / 10.000		

CARIO PIU'

		Sensibilità	Specificità
Trisomie piu' frequenti			
✓ Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
Aneuploidie cromosomi sessuali (SCA)			
✓ XO Sindrome di Turner	1 / 2000 femmine nate	99 %	99 %
✓ XXY Sindrome di Klinefelter	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XYY Sindrome di Jacobs	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XXX Sindrome triplo X	1 / 950 femmine nate	99 %	99 %
Aneuploidie di tutti gli altri cromosomi (RAA)			
✓ Trisomie / Monosomie di tutti i cromosomi autosomici	non nota	96,4 %	99,8 %
Determinazione Sesso		> 97,9 %	99 %
Delezioni e Duplicazioni cromosomiche (di dimensioni superiori a 7 Mb)		> 74,1 %	99,8 %

CARIO PIU' Microdelezioni

		Sensibilità	Specificità
Trisomie piu' frequenti			
✓ Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
✓ Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %	> 99,9 %
Aneuploidie cromosomi sessuali (SCA)			
✓ XO Sindrome di Turner	1 / 2000 femmine nate	99 %	99 %
✓ XXY Sindrome di Klinefelter	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XYY Sindrome di Jacobs	1 / 1000 maschi nati	99 %	99 %
✓ XXX Sindrome triplo X	1 / 950 femmine nate	99 %	99 %
Aneuploidie di tutti gli altri cromosomi (RAA)			
✓ Trisomie / Monosomie di tutti i cromosomi	non nota	96,4 %	99,8 %
Determinazione Sesso		> 97,9 %	99 %
Delezioni e Duplicazioni cromosomiche (> 7 Mb)		> 74,1 %	99,8 %
Microdelezioni (Pannello Principali Sindromi)			
✓ Sindrome da delezione 1p36	1 / 5.000 – 1 / 10.000	> 74,1 %	99,8 %
✓ Sindrome di Angelmann del 15q11-13	1 / 10.000 – 1 / 20.000		
✓ Sindrome di Cri du Chat del 5p-	1 / 30.000 – 1 / 50.000		
✓ Sindrome di DeGeorge -del 22q11.2-	1 / 2.000 -1 / 4.000		
✓ Sindrome di Jacobsen -del11q23-	1 / 100.000		
✓ Sindrome di Prader Willi -del 15q11-13	1 / 25.000		
✓ Sindrome di Wolf-Hirschhorn del 4p	1 / 30.000 – 1 / 50.000		
✓ Sindrome di Langer-Giedion del 8q24.11	1 / 200.000		
✓ Sindrome di Smith-Magenis del 8q24.11	1 / 15.000-1 / 20.000		
✓ Sindrome da Brachidattilia del 2q37	1 / 10.000		

GENEPAT ricerca principali patologie monogeniche

GENEPAT ricerca principali patologie monogeniche		Sensibilità	Specificità	
Patologie genetiche ad elevata incidenza		la casistica disponibile non permette la validazione clinica di NIPT per le Malattie Monogeniche; pertanto, i protocolli sono considerati Screening SPERIMENTALI		
✓ Fibrosi Cistica	1 / 2.700			
✓ Sordita' congenita (GJB2),	1 / 40 nati ipoacusia			
✓ Talassemia, Anemia Falciforme,	1 / 100.000			
✓ DMD Distrofia Muscolare Duchenne				
Craniosinostosi				
✓ Sindrome di Apert	1-9/ 100.000			
✓ Sindrome di Crouzon				
✓ Sindrome di Pfeiffer				
Patologie Sindromiche				
✓ Sindrome di Noonan	1-9 /100.000			
✓ Sindrome di Rett				
✓ Sindrome di Leopard				
Patologie Scheletriche/Displasie				
✓ Acondroplasia	1 / 25.000			
✓ Displasia Tanatoforica,				
✓ Displasia Campomelica				
✓ Osteogenesi Imperfecta				

Il pannello GENEPAT può essere eseguito singolarmente o in associazione a BASE, BASE-XY, BASE XY Microdelezioni, CARIO, CARIO PIU'

COMPLETO (CARIO PIU'-Microdelezioni GENEPT)

		Sensibilità	Specificità
COMPLETO (CARIO PIU'-Microdelezioni GENEPA			
Trisomie piu' frequenti			
✓	Trisomia 21 Sindrome di Down	1 / 700 nati	> 99,9 %
✓	Trisomia 18 Sindrome di Edwards	1 / 6000 nati	> 99,9 %
✓	Trisomia 13 Sindrome di Patau	1 / 15.000 nati	> 99,9 %
Aneuploidie cromosomi sessuali (SCA)			
✓	XO Sindrome di Turner	1 / 2000 femmine nate	99 %
✓	XXY Sindrome di Klinefelter	1 / 1000 maschi nati	99 %
✓	XYY Sindrome di Jacobs	1 / 1000 maschi nati	99 %
✓	XXX Sindrome triplo X	1 / 950 femmine nate	99 %
Aneuploidie di tutti gli altri cromosomi (RAA)			
✓	Trisomie / Monosomie di tutti i cromosomi autosomici	non nota	96,4 %
Determinazione Sesso		> 97.9 %	99 %
Delezioni e Duplicazioni cromosomiche (di dimensioni >7 Mb)		non nota	> 74,1%
Microdelezioni (Pannello Principali Sindromi)			99.8 %
✓	Sindrome da delezione 1p36	1 / 5.000 – 1 / 10.000	> 74,1%
✓	Sindrome di Angelmann del 15q11-13	1 / 10.000 – 1 / 20.000	
✓	Sindrome di Cri du Chat del 5p-	1 / 30.000 – 1 / 50.000	
✓	Sindrome di DeGeorge -del 22q11.2-	1 / 2.000 -1 / 4.000	
✓	Sindrome di Jacobsen –del11q23-	1 / 100.000	
✓	Sindrome di Prader Willi –del 15q11-13	1 / 25.000	
✓	Sindrome di Wof-Hirschorn del 4p	1 / 30.000 – 1 / 50.000	
✓	Sindrome di Langer-Giedion del 8q24.11	1 / 200.000	
✓	Sindrome di Smith-Magenis del 8q24.11	1 / 15.000-1 / 20.000	
✓	Sindrome da Brachidattilia del 2q37	1 / 10.000	
GENEPAT			La casistica disponibile non permette la validazione clinica di NIPT per le Malattie Monogeniche; pertanto, i protocolli sono considerati Screening SPERIMENTALI
Patologie genetiche ad elevata incidenza			
✓	Fibrosi Cistica	1 / 2.700	
✓	Sordita' congenita (GJB2),	1 / 40 nati ipoacusia	
✓	Talassemia, Anemia Falciforme,	1 / 100.000	
✓	DMD Distrofia Muscolare Duchenne		
Craniosinostosi			
✓	Sindrome di Apert	1-9/ 100.000	
✓	Sindrome di Crouzon		
✓	Sindrome di Pfeiffer		
Patologie Sindromiche			
✓	Sindrome di Noonan	1-9 /100.000	
✓	Sindrome di Rett		
✓	Sindrome di Leopard		
Patologie Scheletriche/Displasie			
✓	Acondroplasia	1 / 25.000	
✓	Displasia Tanatoforica,		
✓	Displasia Campomelica		
✓	Osteogenesi Imperfecta		

SikeliaNIPT™ è il test prenatale non invasivo

- ✓ **SEMPLICE:** si basa su un semplice prelievo di sangue materno, privo di qualsiasi rischio per madre e feto
- ✓ **SICURO:** offre il livello di informazioni più elevato rispetto agli Screening Sierologici tradizionali, diminuisce il ricorso a esami diagnosi invasivi (villocentesi ed amniocentesi) riducendo il rischio di complicanze correlate alla procedura invasiva
- ✓ **PRECOCE:** si può eseguire a partire dalla 10ª settimana di gestazione
- ✓ **RAPIDO** Il referto è disponibile entro 5/7 giorni lavorativi dall'arrivo del campione in laboratorio;
- ✓ **SENSIBILE** Identifica il 99% delle aneuploidie più comuni; presenta il più basso tasso di Falsi Positivi e di Falsi Negativi rispetto ad altri protocolli di screening
- ✓ **COMPLETO** clinicamente validato su migliaia di gravidanze, permette di rilevare con elevata sensibilità e specificità le Trisomie più comuni, le Anomalie cromosomiche rare, Aneuploidie dei cromosomi sessuali, Delezioni e Duplicazioni (con dimensioni superiori a 7 Mb), principali Sindromi da Microdelezione.
I nostri genetisti sono a disposizione per offrire **Consulenza Pre e Post test;**
In caso di test positivo viene eseguito il Follow Up con l'analisi su Liquido Amniotico
- ✓ **CERTIFICATO:** Utilizza la metodologia VeriSeq™ NIPT Solution v2 di Illumina, WorkFlow ed elaborazione dei risultati sono completamente automatizzati e certificati CE-IVD.

PER MAGGIORI INFORMAZIONI
sul test, modalità e consulenza



340.4267566



info@sikelianipt.it



www.sikelianipt.it

SikeliaNIPT™ è eseguito presso il laboratorio

LABOGEN s.a.s.

Via Dottor Consoli, 68 - CATANIA

Struttura Sanitaria Accreditata dalla Regione Siciliana:
Certificata secondo la Norma Internazionale ISO9001:2015