

Invasive testing of prenatal diagnosis

DR. MAJID KHEIROLLAHI

ASSOCIATE PROFESSOR

PH.D OF MEDICAL GENETICS

GENE AZMA MEDICAL GENETICS LAB.

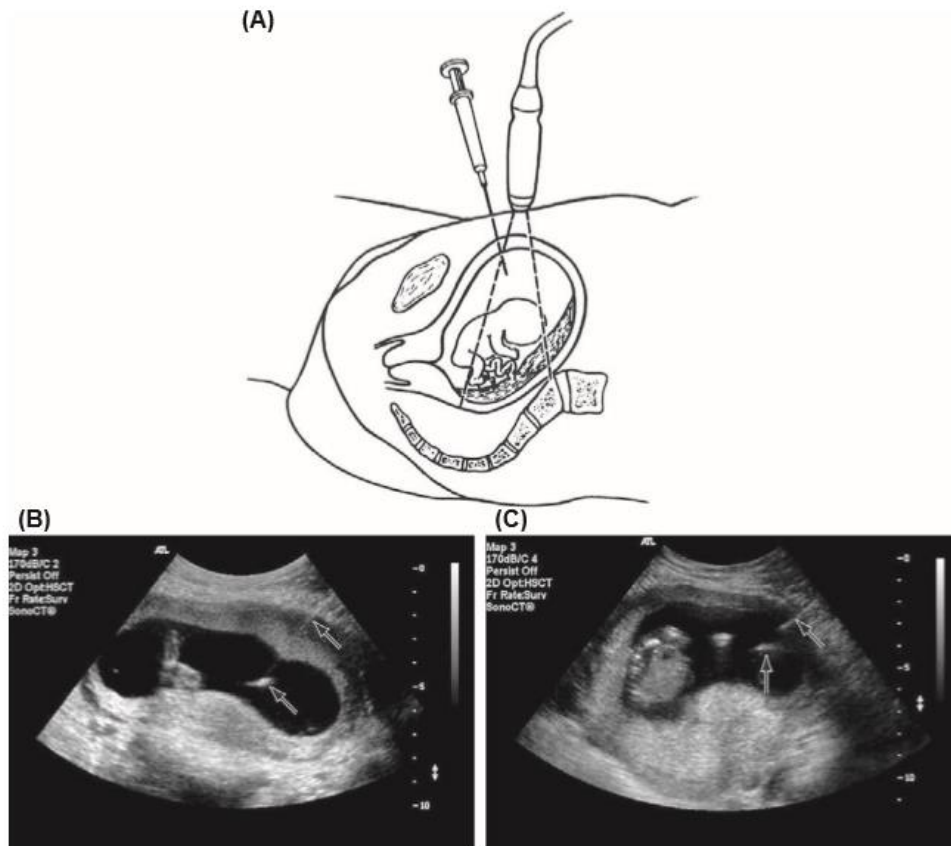
Chromosomal anomalies

پلی پلوئیدی (آنوپلوئیدی، کروموزومها مضرب صحیحی از n)	تریپلوئیدی: نارسایی در تقسیمات تخمک یا اسپرم
تعدادی (هتروپلوئیدی)	تراپلوئیدی: نارسایی در یکی از تقسیمات ابتدایی تخم
آنوپلوئیدی	منوزومی: عدم جدایی در میوز I موجب تریزومی و مونوزومی در تخم و اگر در میوز II باشد تخم در نیمی از موارد طبیعی و در بقیه موارد تریزوم و یا مونوزوم خواهد شد و اگر در هر دو تقسیم بوده و یا در هر دو والد باشد سبب مولتی زومی می گردد

ناهنجاریهای کروموزومی	واژگونی (دو شکست در یک کروموزوم)	متعادل
مستول نیمی از سقط های خودبخودی می باشد	پاری سائتریک: در دو طرف سانترومر همراه با تغییر در محل سانترومر	(فاقد اثر فنوتیپی اما ممکن است فرزندان نامتعادل گردند).
ساختمانی	متقابل: تمویض قطعات میان کروموزومهای غیر همولوگ (به صورت مترو یا هموزیگوت رخ می دهد)	تراانسلوکاسیون
	روپرت سوئین: اتصال دو کروموزوم آکروسائتریک از نزدیک محل سانترومر بازوی کوتاه با از دست رفتن این بازو	نامتعادل
	دخول: جابجایی غیر متعادل	(احتمالاً فنوتیپ ناهنجار و رشد غیر طبیعی است)

حذف: مشابه با یک منوزومی جزئی، انتهای یا میانی در اثر شکست در کروموزوم یا کراسینگ اور نابرابر میان همولوگها	مضاعف شدگی: مشابه با تریزومی جزئی، در اثر کراسینگ اور نابرابر
ایزوکروموزوم: تقسیم عرضی در سانترومر و مضاعف شدن بازوی دیگر	کروموزوم حلقوی: دو شکست در یک کروموزوم و اتصال دو انتهای شکسته شده به همدیگر که می تواند دارای سانترومر یا بدون آن باشد
کروموزوم های دی سائتریک: از دست رفتن قطعات بدون سانترومر در دو کروموزوم یا کروماتیدهای خواهری و اتصال آنها به انتهای قطعات دارای سانترومر به همدیگر	

Amniocentesis



- ▶ (A) Amniocentesis performed concurrently with ultrasound.
- ▶ (B) Ultrasonographic visualization of a transplacental amniocentesis.
- ▶ For a second-trimester amniocentesis performed at 15–20 weeks inclusive, 20–30 mL of amniotic fluid is usually aspirated.
- ▶ Three more recent studies from 2000-2006 estimated the procedure-related pregnancy loss at 0.6-0.86%

Genetic diagnosis

- ▶ Early in pregnancy, amniocentesis is used for diagnosis of chromosomal and other fetal problems such as:
 - ▶ ***Aneuploidy of chromosomes***
 - ▶ ***Structural abnormalities***
 - ▶ ***Neural tube defects (anencephaly and spina bifida) by alpha-fetoprotein levels.***

Techniques

- ▶ **Rapid tests for numerical anomaly of chromosomes 13, 18, 21, X and Y**
- ▶ QF-PCR
- ▶ FISH

- ▶ **Test for numerical and structural anomaly of all chromosomes**
- ▶ Karyotyping
- ▶ CGH-array

- ▶ **Single gene disease**
- ▶ Fragile X Syndrome
- ▶ Sanger sequencing
- ▶ Whole exome sequencing (NGS)

QF-PCR

سیستم مرکزی پارس پل - [ورود جواب پاتولوژی]

بذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱
ت. جواب: ۱۳۹۷/۰۹/۱۳

نام بیمار: معصومه شریفی/۳۳۷-۸۹۷
نام تست: QF PCR or Fish
شماره بذیرش: M97-337

تعیین نایبدرگ
تست تشخیص
Web Layout به صورت صفحه
نمایش به صورت صفحه
چاپ فقط یک صفحه
تصاویر
ICDO
دیگنایفون
نگه گزارش

نام: QF
شماره: ۱۰۴

Reason for Referral: Aneuploidy screening test was performed in order to detect any chromosomal abnormality.

Description: DNA was extracted from amniotic fluid sample, to detect a total of 21 STR markers on chromosomes 13, 18, 21, X and Y using QF-PCR kit. The results were analyzed by fragment analysis software.

Result: **This result indicates a normal XY Male sex chromosome constitution. The markers of chromosomes 13, 18 and 21 show a normal pattern.**

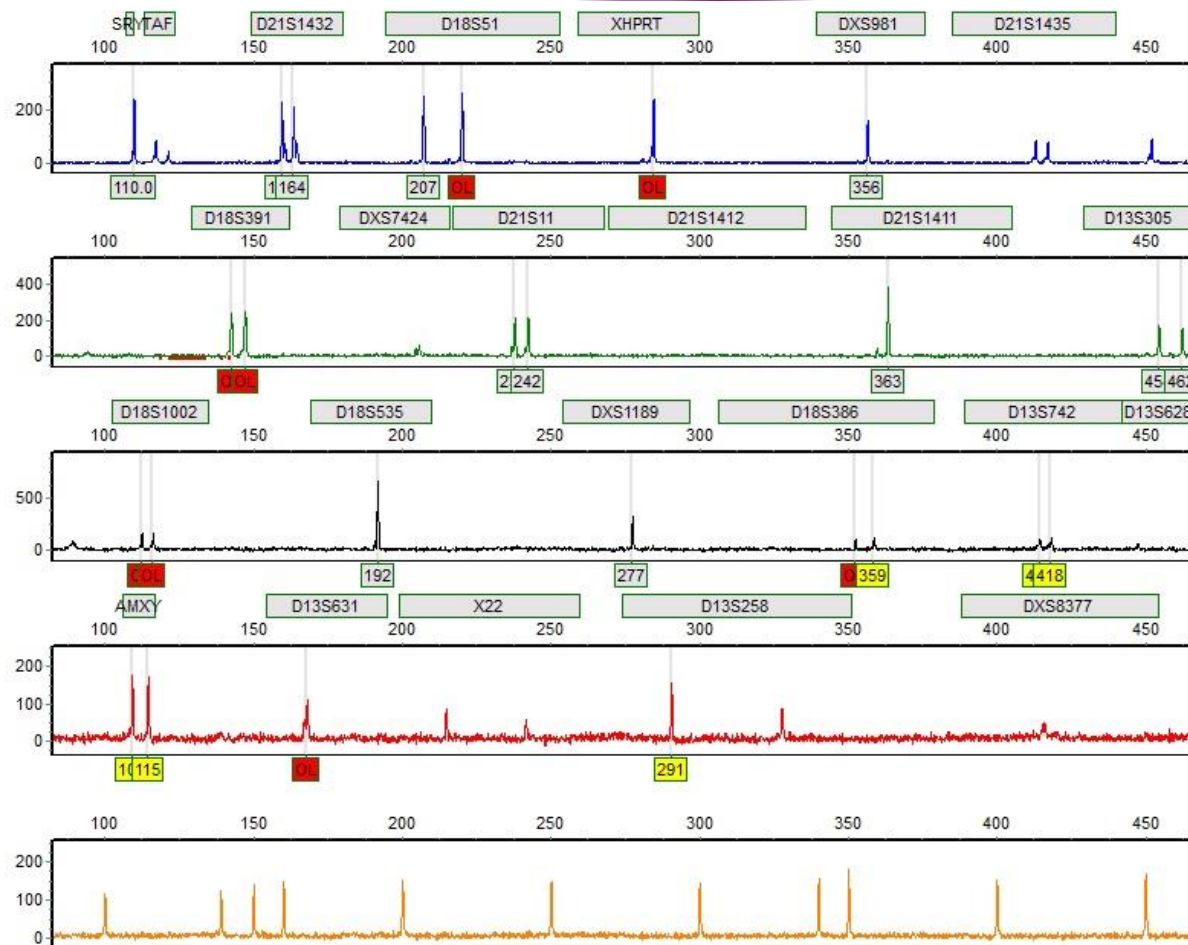
Please note that QF-PCR only detect the aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, Y and may not detect low-level mosaicism for an abnormal cell line (<15–20% abnormal cells) and this technology is not optimized for detection of deletions, duplication and partial trisomy. In addition, samples may be uninformative for all markers on one or more chromosomes. Also false-positive or negative result, as well as maternal contamination, have been demonstrated in prenatal QF-PCR analysis. Such cases are however, very rare and will be tested by alternative methods (FISH or full karyotyping).

پروسه تحویل شده
ذخیره Ctrl+S
چاپ Ctrl+P
نایبدر جواب Alt+K

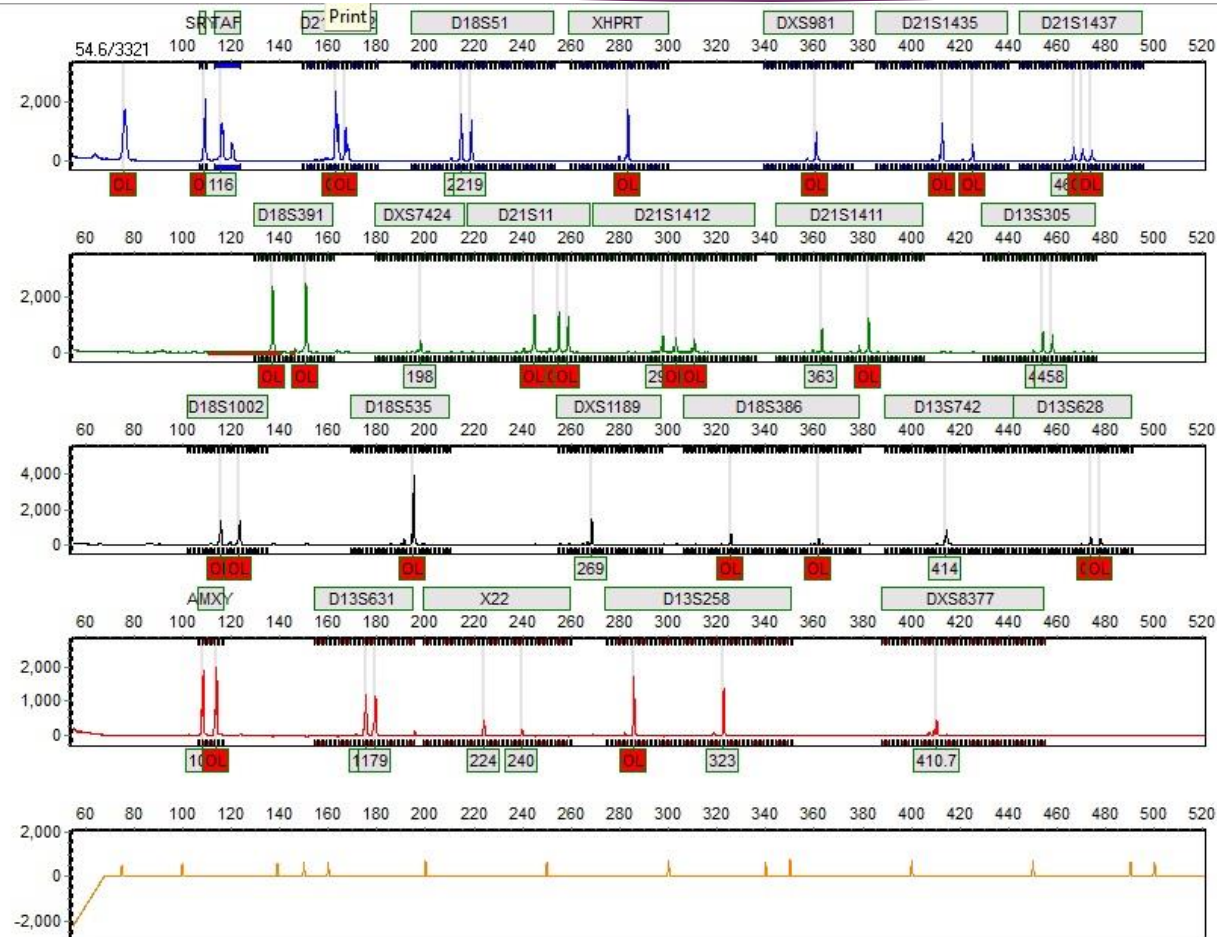
Test performed by
Ms.V. Yazdani

Confirmed by
Dr. M. Kheirollahi

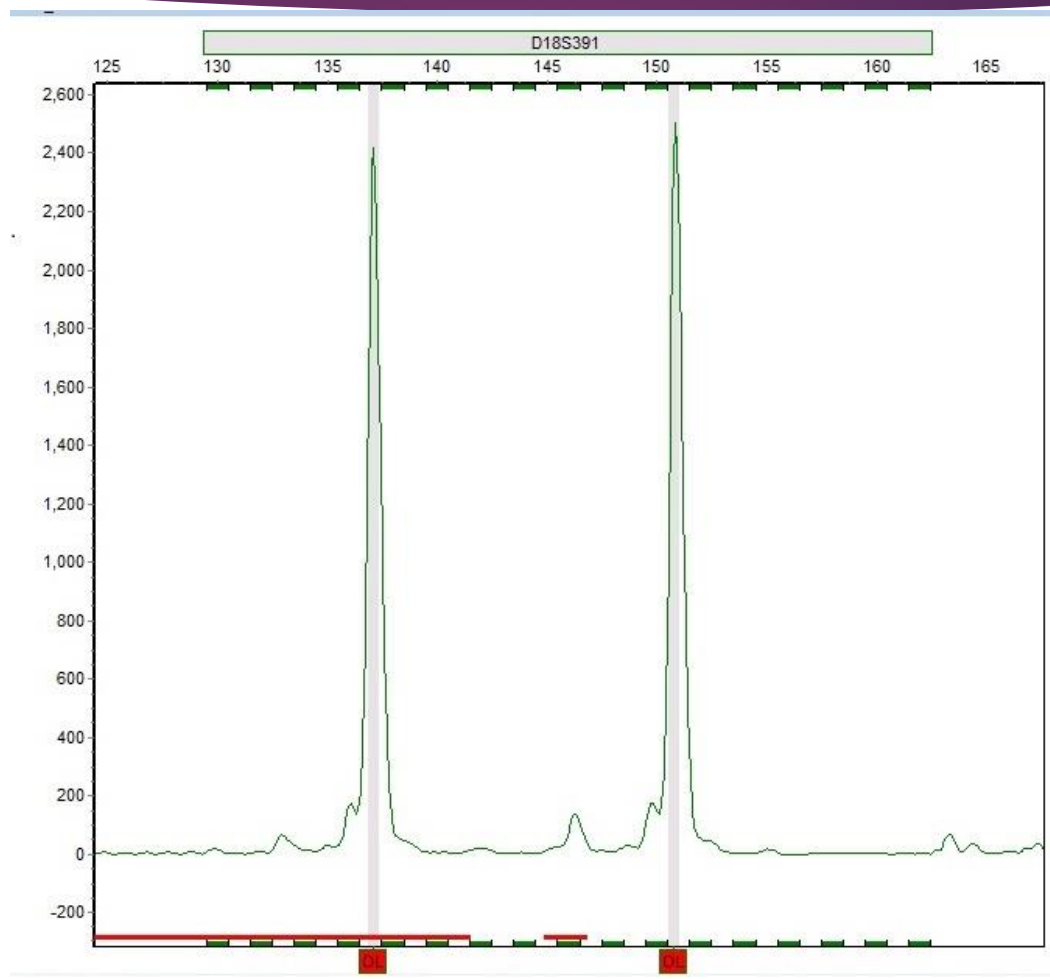
QF-PCR Normal



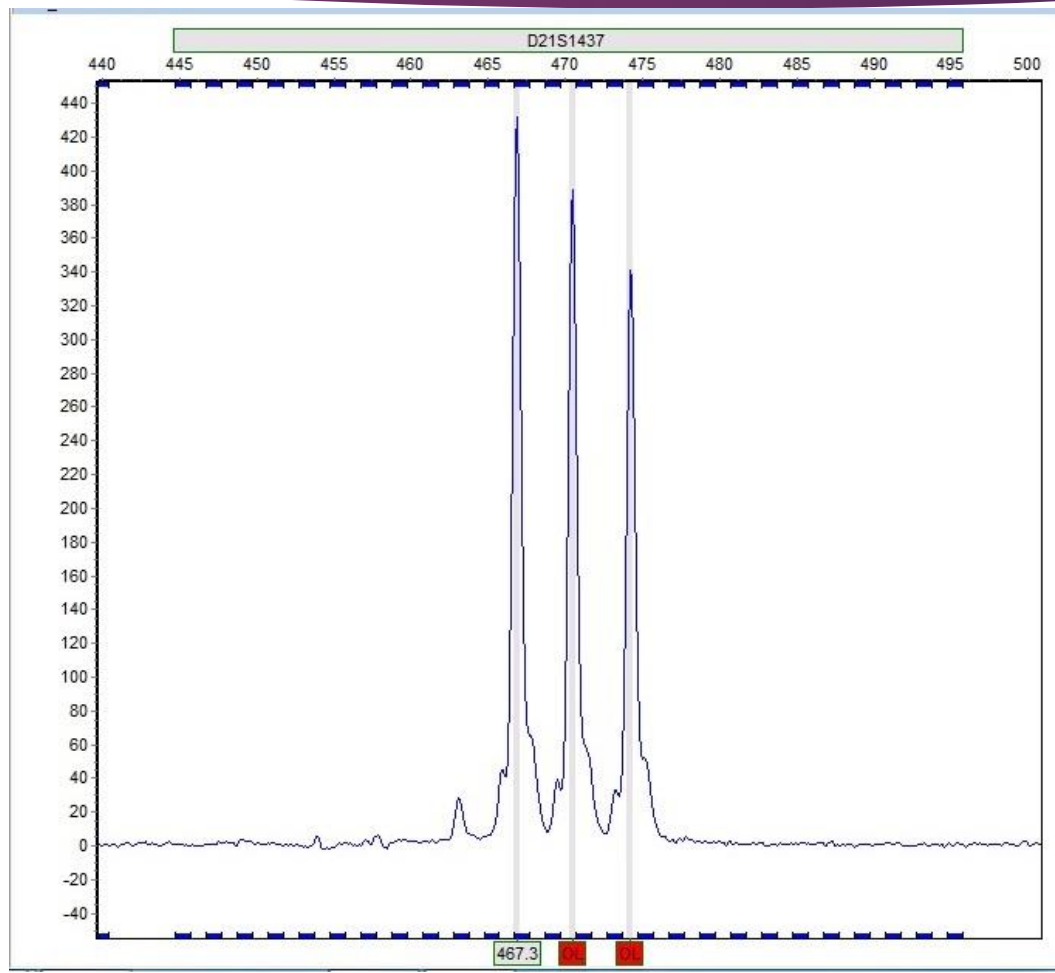
QF-PCR Trisomy 21



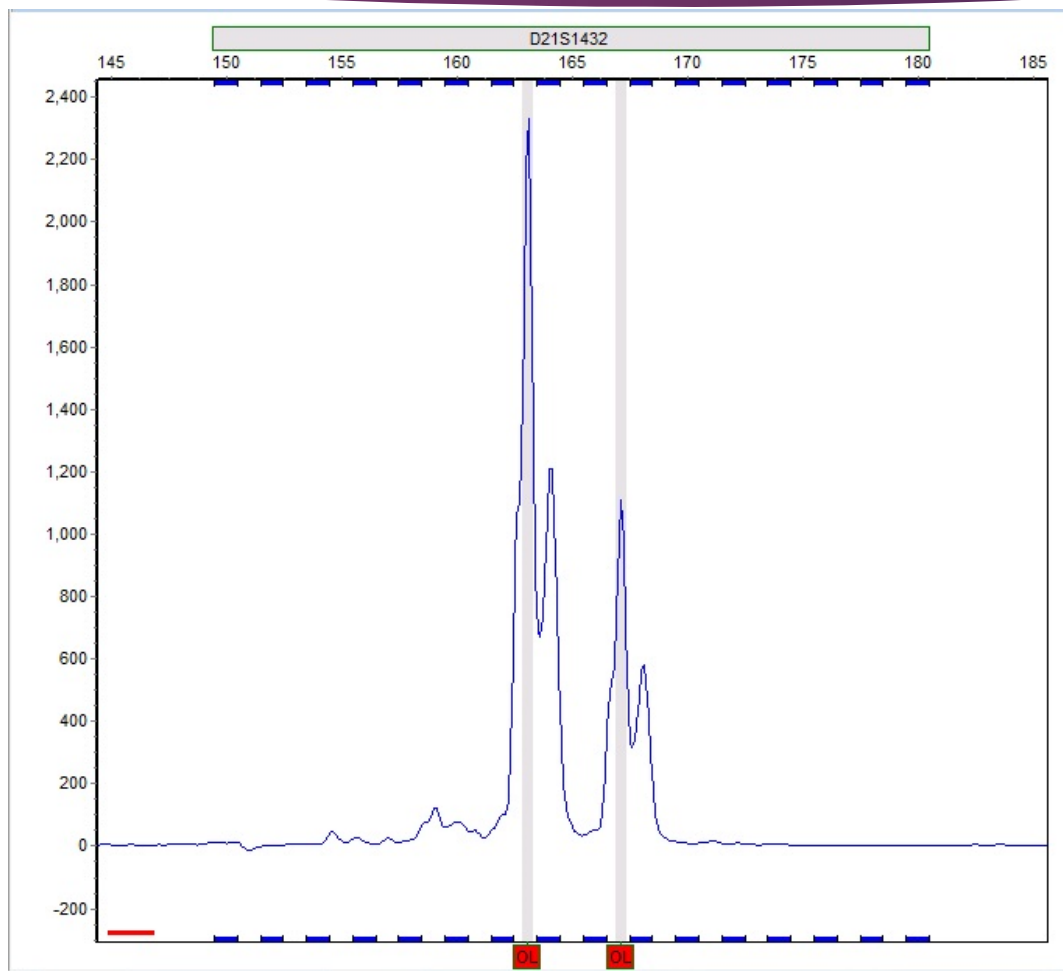
Markers chromosome 18



Markers chromosome 21



Markers chromosome 21



FISH

Fluorescent in situ hybridization

سیستم مرکزی پاریس پل - [ورود جواب باتولوژی]

بپذیرش: شماره پذیرش: **C97-444** نام تست: **FISH PND** نام بیمار: **فاطمه زندی/۴۴-۰۹۷** تاریخ پذیرش: **۱۳۹۷/۱۱/۱۱** تاریخ جواب: **۱۳۹۷/۱۱/۱۶**

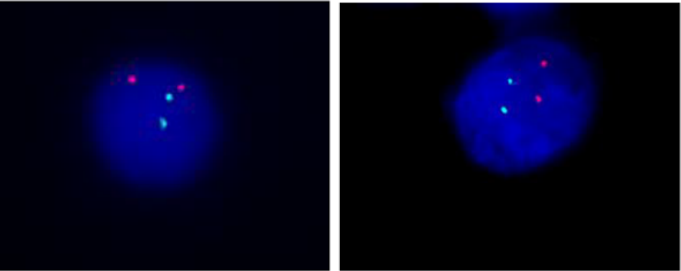
تعداد تغییرات: تعداد جاب: تعیین تاییدگر ثبت تشخیص Web Layout نمایش به صورت چاپ فقط یک صفحه

نام: شماره: ICDO دیکشناری تکه گزارش

Sign in

FILE HOME INSERT DESIGN PAGE LAYOUT REFERENCES MAILINGS REVIEW VIEW

Read Mode Print Web Layout Draft Outline Ruler Gridlines Navigation Pane Zoom 100% One Page Multiple Pages Page Width New Window Arrange All Split View Side by Side Synchronous Scrolling Reset Window Position Switch Windows Macros



Description: Fluorescent in situ hybridization was performed on uncultured amniotic fluid cells using POSEIDON prenatal probes. One slide was hybridized with PN 13/21 (13q14/21q22) probes showing 2 red signals corresponding to 2 chromosomes 21 and 2 green signals corresponding to 2 chromosomes 13.

Result/Interpretation:
Nuc ish 13q14 (D13S1195, D13S810) x2, 21q22 (D21S65) x2[10]
Two copies of chromosome 13 and chromosome 21 critical regions

Conclusion: Compatible with fetus with no Trisomy of chromosomes 13, 21

Comment: The FISH analysis does not detect structural chromosome abnormalities, mosaicism, and other numerical chromosome abnormalities (excluding 13, 21). In addition, false-positive or negative results, as well as maternal cell contamination, have been demonstrated in prenatal FISH analysis. It is recommended (e.g. American College of Medical Genetics) that irreversible therapeutic action should not be initiated on the basis of FISH results alone.

Chief Technician **Ms.V. Yazdani** Confirmed by **Dr. M. Kheirollahi**

PAGE 1 OF 1 182 WORDS ENGLISH (UNITED STATES) 100%

پروسه آماده ذخیره Ctrl+S جاب Ctrl+P تایید جواب Alt+K

Karyotype Trisomy 13

سیستم مرکزی پاریس پل - [ورود جواب پاتولوژی]

شماره پذیرش: C97-208
نام بیمار: حمیرا طاهری/ C97-208
تاریخ پذیرش: 1397/08/1
تاریخ جواب: 1397/09/05

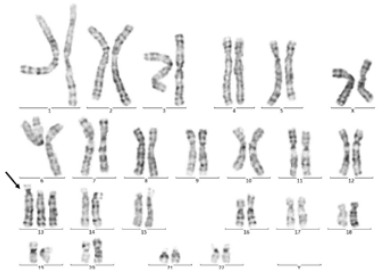
کاربر: مایع آمنیون
نوع تست: ICDO
تصاویر: دکانفون
نکته گزارش: چاپ فقط یک صفحه نمایش به صورت Web Layout ثبت تشخیص تعیین تاییدگر

تعداد چاپ: تعداد تغییرات: ۲

FILE HOME INSERT DESIGN PAGE LAYOUT REFERENCES MAILINGS REVIEW VIEW

Read Mode Print Layout Web Layout Outline Draft Ruler Gridlines Navigation Pane Zoom 100% One Page Multiple Pages Page Width New Window Arrange All Split Window View Side by Side Synchronous Scrolling Reset Window Position Switch Windows Macros

Clinical Data:
maternal age (34 years), 1/62 risk of Down syndrome and 1/2 of trisomy 13 & 18 according to first trimester screening test, high risk of trisomy 13 in cell free test
Unrelated couple



Methods:
Twenty metaphase spreads were studied from culture of amniocytes in two flasks at 450-550 band resolution on the basis of GTG technique; revealing 47 chromosomes, the extra chromosome being a chromosome no 13.

**Conclusion: 47, XX, +13
Female fetus with Patau syndrome**

Comment: Alpha feto protein level in amniotic fluid is 15799 IU/ml and within normal limits. The risk of recurrence of Patau syndrome for normal parents after one affected offspring at maternal age of 34 is 1% and increases with increasing maternal age.
Note: Prenatal diagnosis is indicated and possible for all future pregnancies. Please do not hesitate to contact us for further information.

Confirmed by
Dr. M. Kheirollahi

PAGE 1 OF 1 185 WORDS ENGLISH (UNITED STATES) 100%

پروسه تحویل شده
ذخیره Ctrl+S
تایید جواب Alt+K
چاپ Ctrl+P

Karyotype 47, XYY


سیستم مرکزی پاریس پل - [ورود جواب پاتولوژی]

شماره پذیرش: C97-203 نام تست: کاربوتاپ مایع آمنیون نام بیمار: معصومه شریفی/ C97-203 تاریخ پذیرش: 1397/08/11 تاریخ جواب: 1397/09/13

تعداد تغییرات: تعداد جاب: تعیین تاییدگر ثبت تشخیص Web Layout نمایش به صورت تصاویر ICDO درکافون تکه گزارش چاپ فقط یک صفحه نمایش به صورت تصاویر تعیین تاییدگر

نام: karyotype_Amniion شماره: 100

Unrelated couple
Gestational age: 16 weeks



Methods:
Twenty metaphase spreads were studied from culture of amniocytes in two flasks at 500-550 band resolution on the basis of GTG technique revealing 47 chromosomes with extra supernumerary Y chromosome.

Conclusion:
47, XYY
Compatible with male fetus with extra chromosome Y

Comment: Alpha *feto* protein level in amniotic fluid is 16233 IU/ml and within normal limits.
Note: Genetic counselling is indicated.
Subtle genetic changes beyond the technical resolution of the preparation, low-level and placental mosaicism, and congenital disease due to other causes are potentially possible.

Confirmed by
Dr. M. Kheirollahi

پروسه گزارش ذخیره Ctrl+S چاپ Ctrl+P تایید جواب Alt+K

PAGE 1 OF 1 153 WORDS ENGLISH (UNITED STATES) 100%

Karyotype Trisomy 21

سیستم مرکزی پارسی پل - [ورود جواب پاتولوژی]

بذیرش | پنشینی آلائی | برگه کار و جواب | کاربردی | مالی | آماری | راهبردی | تعاریف پایه | اطلاعات | خروج

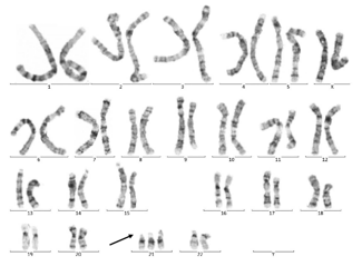
شماره پذیرش: C97-146 | نام تست: کاربوتاپ مایع آمنیون | نام بیمار: نسرین شاه وردی / ۱۴۶-۹۷ | تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱ | تاریخ جواب: ۱۳۹۷/۰۸/۰۶

تعداد چاپ: | تعداد تغییرات:

تصاویر | ICDO | درکافون | نگه گزارش

نام: karyotype_Amniot | شماره: ۱۰۰

Unrelated couple



Methods:
Ten metaphase spreads were studied from culture of amniocytes in one flask at 500-600 band resolution on the basis of GTG technique; revealing 47 chromosomes, the extra chromosome being a chromosome no 21.

Conclusion:
47, XX, +21
Female fetus with Down syndrome

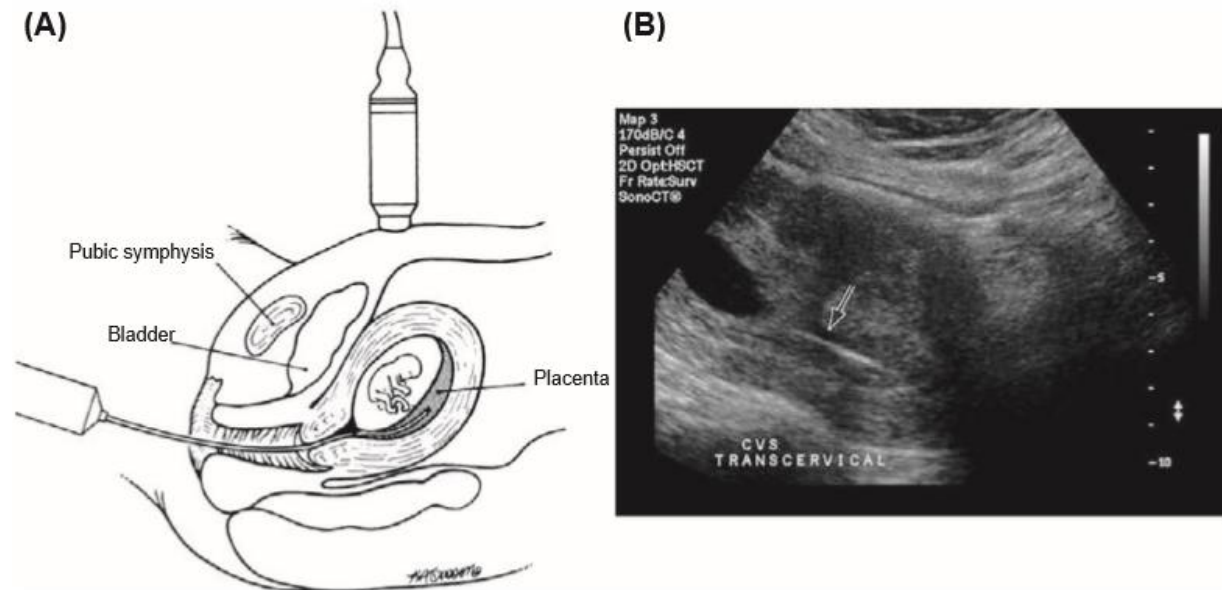
Comment: Alpha *feto* protein level in amniotic fluid is 7509 IU/ml and within normal limits.
The risk of recurrence of Down syndrome for normal parents after one affected offspring at maternal age of 39 is 1-2 % and increases with increasing maternal age.
Note: Prenatal diagnosis is indicated and possible for all future pregnancies. Please do not hesitate to contact us for further information.
Study of second culture is pending.
Subtle genetic changes beyond the technical resolution of the preparation, low-level and placental mosaicism, and congenital disease due to other causes are potentially possible.

Confirmed by
Dr. M. Kheirollahi

پروسه گزارش | ذخیره Ctrl+S | چاپ Ctrl+P | تایید جواب Alt+K

CHORIONIC VILLUS SAMPLING

- ▶ Transcervical CVS
- ▶ Transabdominal CVS
- ▶ Transvaginal CVS

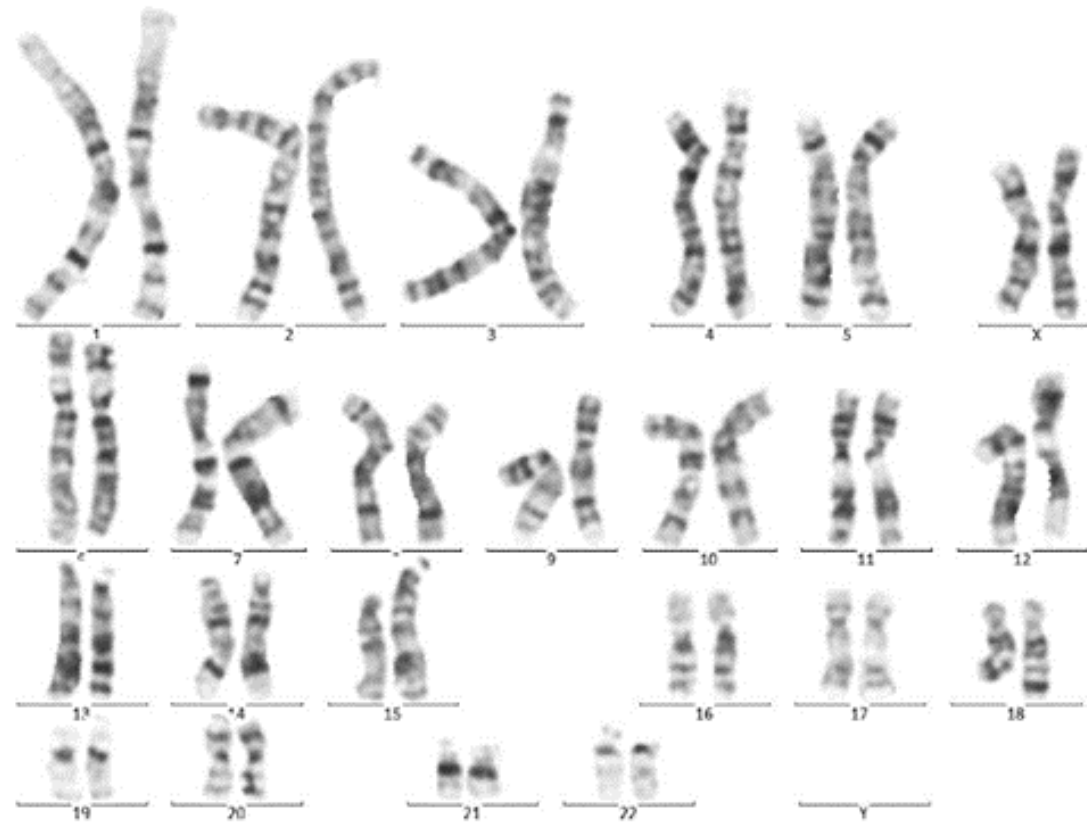


(A) Transcervical CVS. (B) Ultrasonographic visualization of transcervical CVS.

Lab Methods

- ▶ **Karyotyping**
- ▶ **PCR/Sanger Sequencing**
- ▶ **Deletion/Duplication Analysis**
- ▶ MLPA
- ▶ CGH-array
- ▶ **Next-Gen Sequencing**

Karyotyping



CGH array

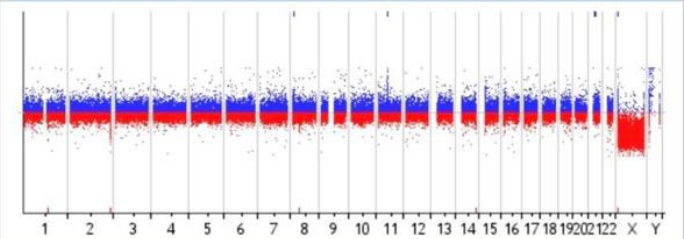
سیستم مرکزی پاریس پل - [وزود جواب پاتولوژی]

نام تست: **Micro Array (سقط)** نام بیمار: **جنین الهام اسکندری/۷۵۶-۸۹۷** شماره پذیرش: **M97-756**
 تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۰ تاریخ جواب: ۱۳۹۷/۱۱/۲۱

تعداد چاپ: تعداد تغییرات: تعیین نایدگر ثبت تشخیص Web Layout نمایش به صورت صفحه چاپ فقط یک صفحه نمایش به صورت Web Layout

نام: **Array CGH** شماره: **۱۰۲**

Conclusion:
Male with no non polymorphic genomic imbalance of known clinical significance



OA-CGH1918,D100074,Sobhan Karampoor

Whole genome oligo Array CGH was performed using [SurePrint G3 ISCA V2 8X60K](#) whole genome oligo array version 2 and was analyzed using [Agilent Cytogenomic software v4](#). The array consists of 60000 spots with overall median probe spacing of 60 Kb and higher in close to 500 targeted disease regions. The sample was hybridized against female reference (1879). The following imbalance was detected:
[arr\[GRCh37\] 21q21.1q21.2\(22938910_24165264\)x3](#)

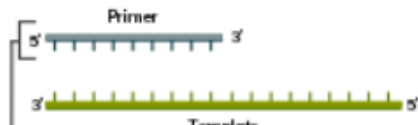
Interpretation:
Gain of 1.2 Mb on 21q21.1q21.2 is of uncertain significance (ACMG classification*). The region overlaps with no OMIM gene and was considered likely benign.
Gain of whole chromosome Y and loss of whole chromosome X compatible with male sex chromosome pattern detected.

ذخیره Ctrl+S
 چاپ Ctrl+P
 تایید جواب Alt+K
 تایید جواب Ctrl+K

PCR and Sanger sequencing

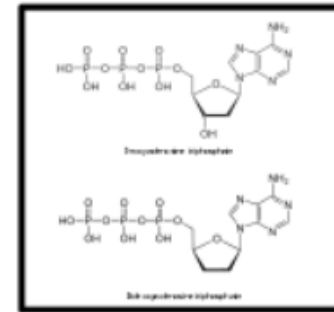
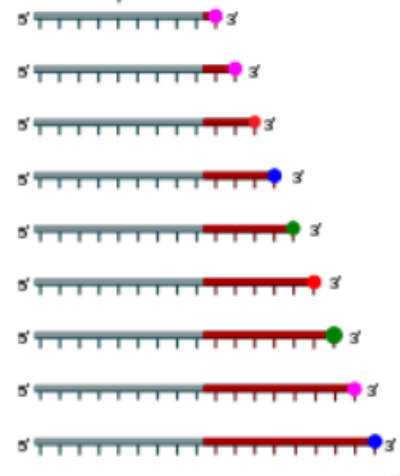
1 Reaction mixture

- ▶ Primer and DNA template
- ▶ DNA polymerase
- ▶ ddNTPs with flourochromes
- ▶ dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, and dTTP)

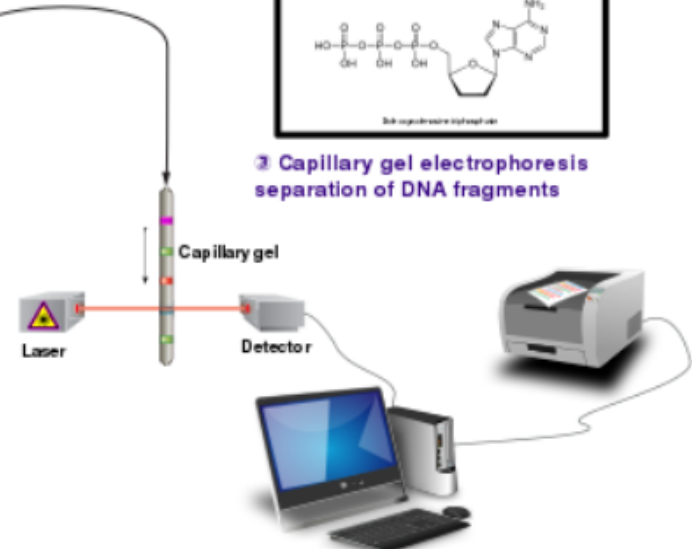


- ddNTPs
- ddTTP
- ddCTP
- ddATP
- ddGTP

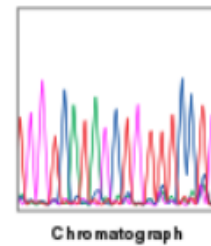
2 Primer elongation and chain termination



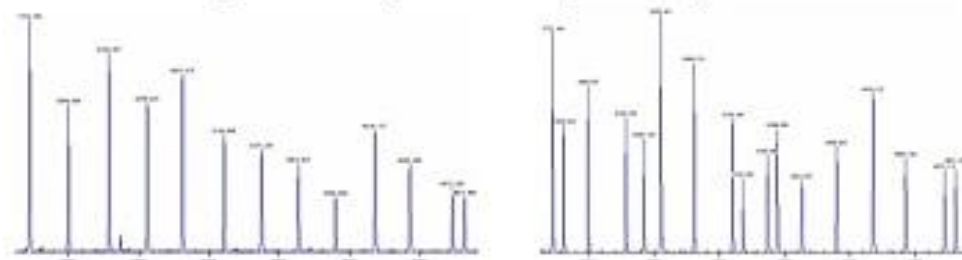
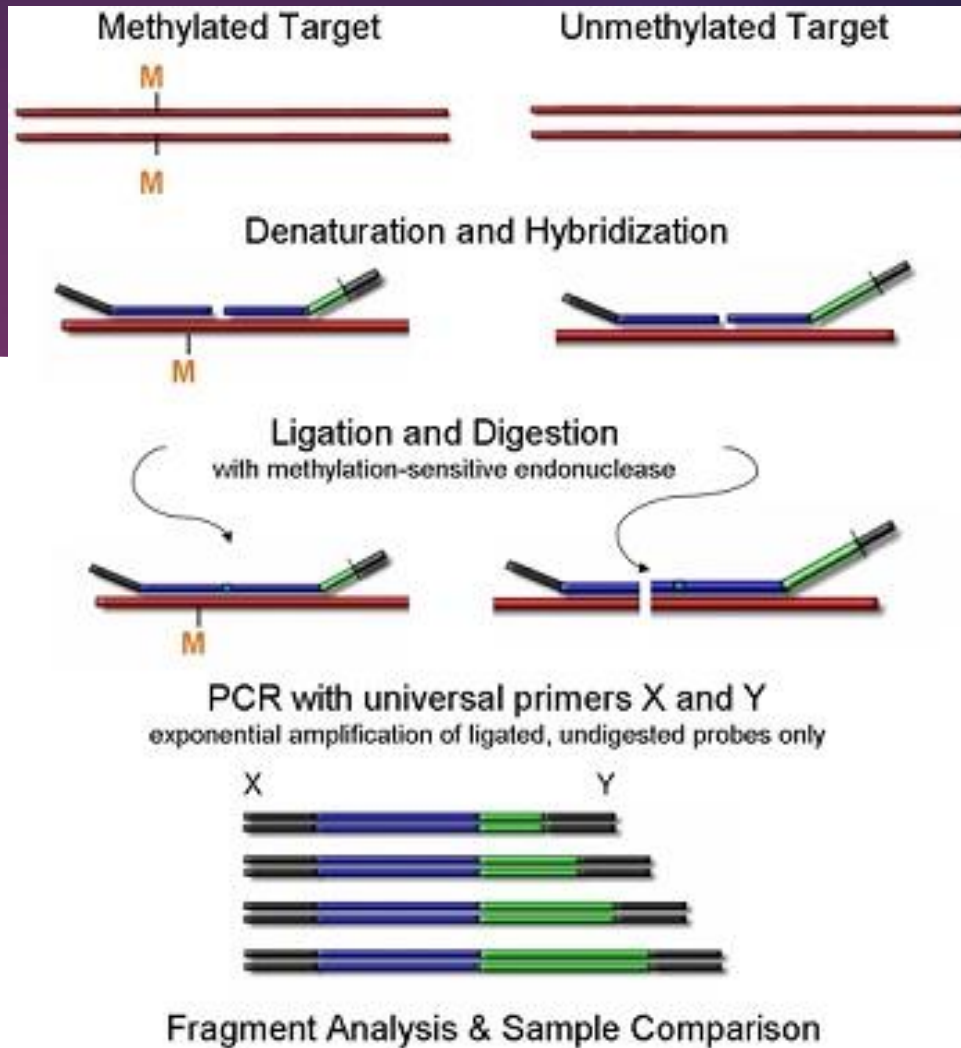
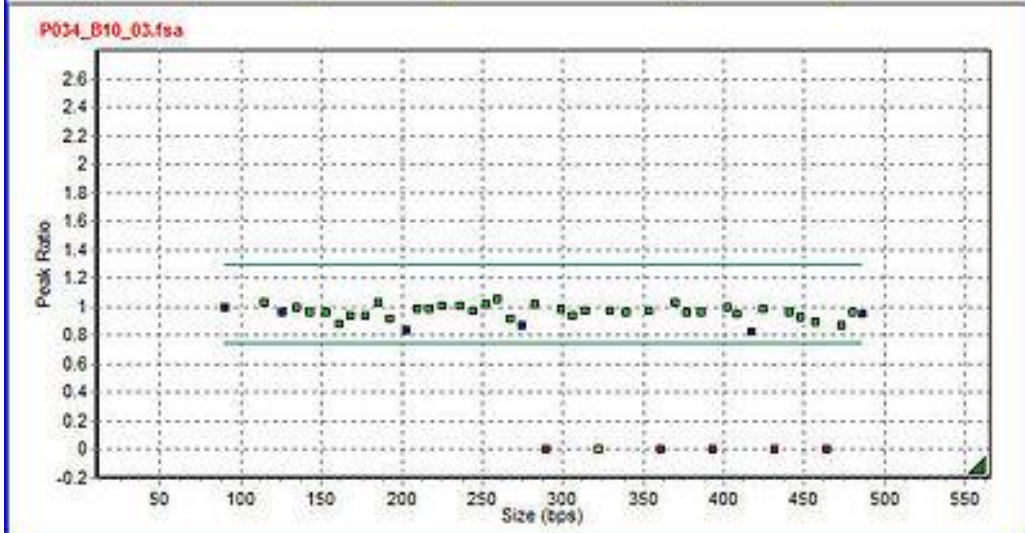
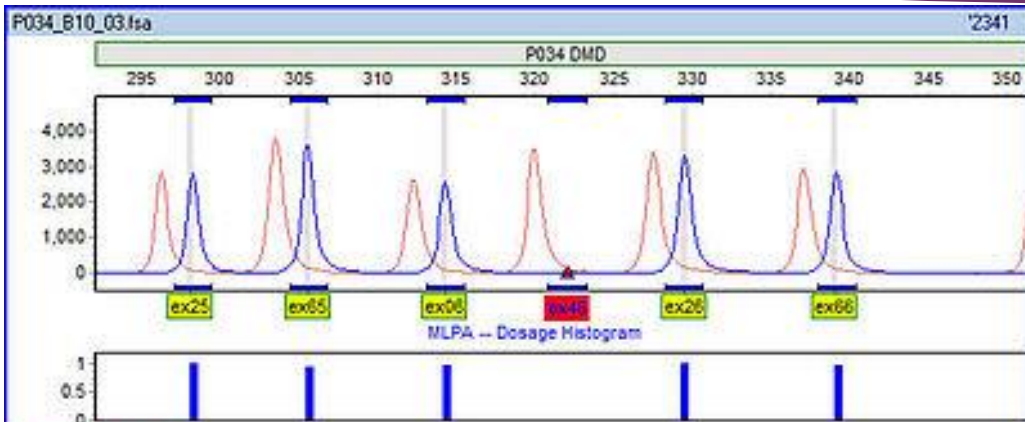
3 Capillary gel electrophoresis separation of DNA fragments



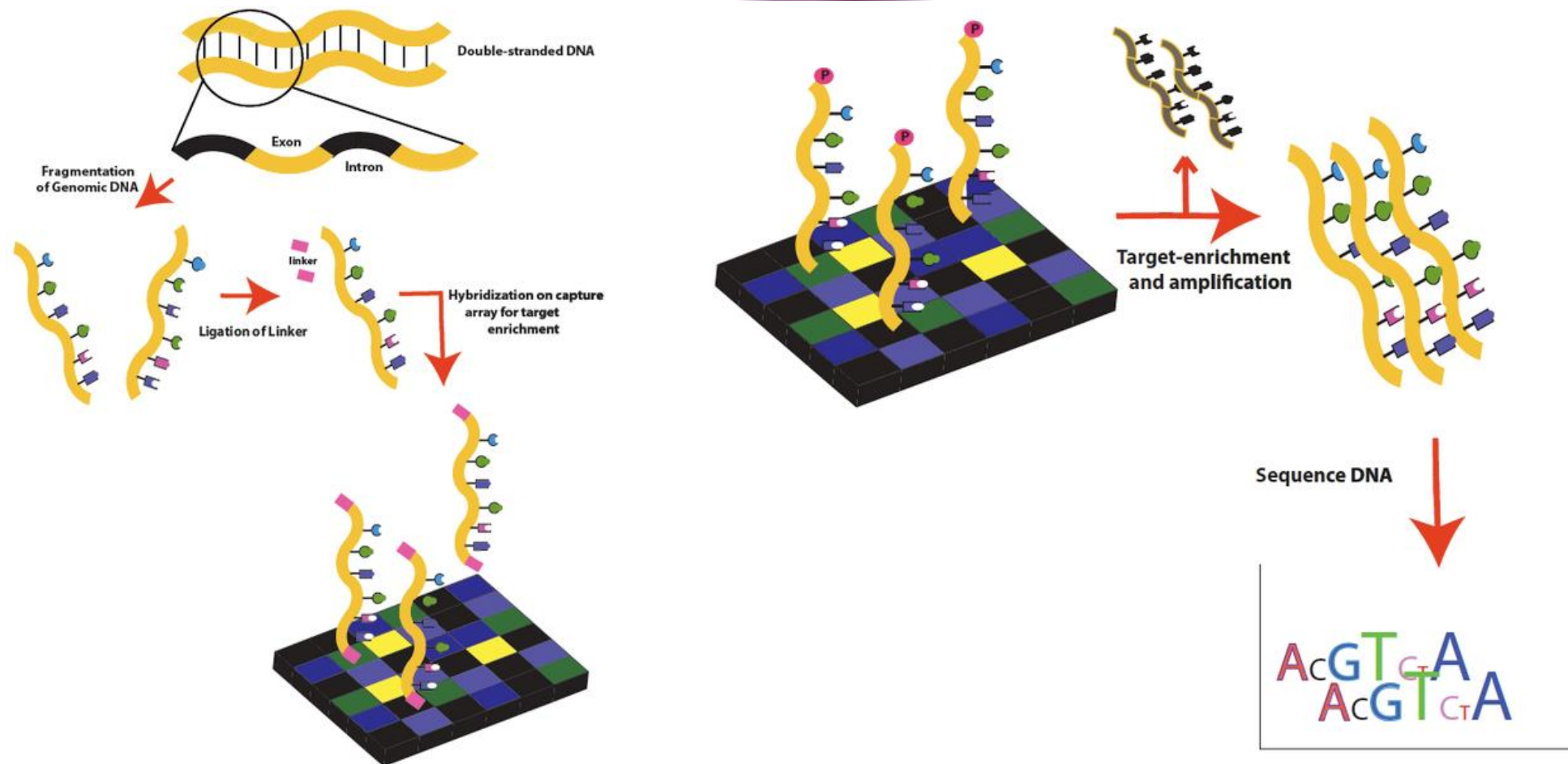
4 Laser detection of flourochromes and computational sequence analysis



MLPA



Whole exome sequencing (NGS)





مرکز تخصصی زنیک پرنسی زن آزما

بیمارستان و دارالشفاء حضرت زهرا علیه السلام

اصفهان - خیابان علامه مجلسی

031-34477902

www.zmhospital.ir

Double Marker Screening Test

ID Code 3009 10-78

Date of birth : 1365/10/22

First Name: زینب

Date of sample : 1396/10/11

Last Name: خیری

Doctor :

For Aged 31 years, First Trimester Combined Screening Test was performed. Screens for Trisomy 21, Trisomy 18 and Trisomy 13 based on the results of Nuchal Translucency, FBHCG and PAPP-A.

Age at term (years) : 31.5

T21 Prior Risk : 1 : 797

T18 Prior Risk : 1 : 8926

T13 Prior Risk : 1 : 21787

Weight (Kg) : 49

Gestational Age at Biochemistry: 12 W + 2 D

Gestational Age at Scan: 12 W + 2 D

Sono Date : 1396/10/11

Twin: No Diabetic: No

Smoker: No IVF: No

Previous Down's Child History: No

LMP Date: 1396/07/15

EDD Date (Estimated Due Date) 1397/04/23

Nasal Bone: Not Reported

CRL : 58 mm

Nuchal Translucency: 1.8 mm

TRISOMY 18 SCREENING:

The calculated risk for Trisomy 18 is below the cut off risk (1:100) which represents a low risk.

TRISOMY 13 SCREENING:

The calculated risk for Trisomy 13 is below the cut off risk (1:100) which represents a low risk.

BIOCHEMISTRY Date of sample : 1396/10/11

Test	Value	Unit	Corrected MoM
FBHCG	21	ng/ml	0.39
PAPP-A	6216	mIU/l	1.44

CALCULATED RISKS (at term)

TRISOMY 21 : 1 : 14867

TRISOMY 18 : < 1 : 30000

TRISOMY 13 : < 1 : 30000

TRISOMY 21 SCREENING:

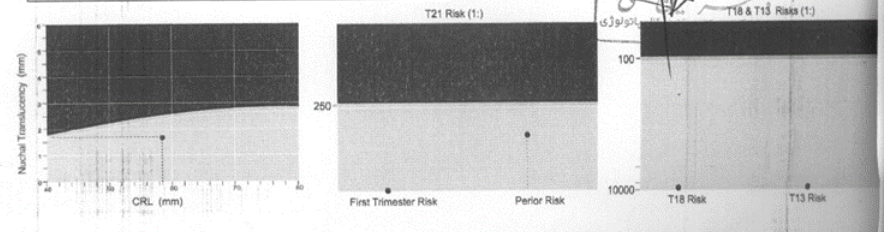
The calculated risk for Trisomy 21 is below the cut off risk (1:250) which represents a low risk.

From the results of Trisomy 21 screening test, it is expected that among 14867 women with the same results, there is one woman with Trisomy 21 pregnancy and 14866 women with normal

The calculated risk on the accuracy of the information provided by the referring physician. Please note that the risk calculations are statistical approaches and have no diagnostic value.

Comment.

پایگاه تخصصی زنیک پرنسی زن آزما
Lab. Director
معاونت تخصصی زنیک پرنسی زن آزما



نوع بیماری و سابقه ابتلا در سایر افراد فامیل (شامل پدر و مادر زن یا شوهر، نوه ها، برادر و خواهر و فرزندان خواهر و برادر):

* مادر خانم سلاطین لوسین در ۷ ماهگی
* خواهر آقا ساسان یک سقط در سه ماه اول بارداری داشته که در زمان درجسته به بارداری ادامه داشت.

آیا پدر و مادر فرد بیمار نسبت فامیلی با هم داشته اند؟

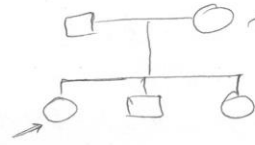
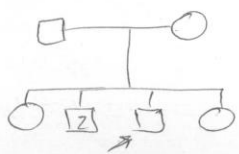
اگر توضیح خاصی دارید در این قسمت بنویسید:

رسم شجره نامه:

* بر اساس علامت احتمال جدی اعتلال شکر شیرین در
* با سکه که توصیف به انجام آزمون گرسدیده.

۱- برای حذف شیل آلائین ۵.۸ در خانم و آرائین
همین راداستند در آقا برین شود.

۲- اگر حذف شیل آلائین ۵.۸ بسیار مشکوک
۳- NGS گرسدیده



Case 2

سیستم مرکزی پاریس پل - [ورود جواب پاتولوژی]

پدیرش برنگه کار و جواب کاربردی مالی آماری راهبردی تعاریف پایه اطلاعات خروج

شماره پذیرش: 097-403 نام تست: مشاوره ژنتیک نوبت اول نام بیمار: سمیه آقامحمدی ورنوسفادرانی/097-403 نام بیمار: 26 زن ت.پذیرش: 1397/12/0 ت.جواب: 1397/12/02 تعیین نایب‌دگر ثبت تشخیص Web Layout نمایش به صورت

تعداد چاپ: تعداد تغییرات: تصاویر ICDO دیکتافون نگه گزارش

FILE HOME INSERT DESIGN PAGE LAYOUT REFERENCES MAILINGS REVIEW VIEW Sign in

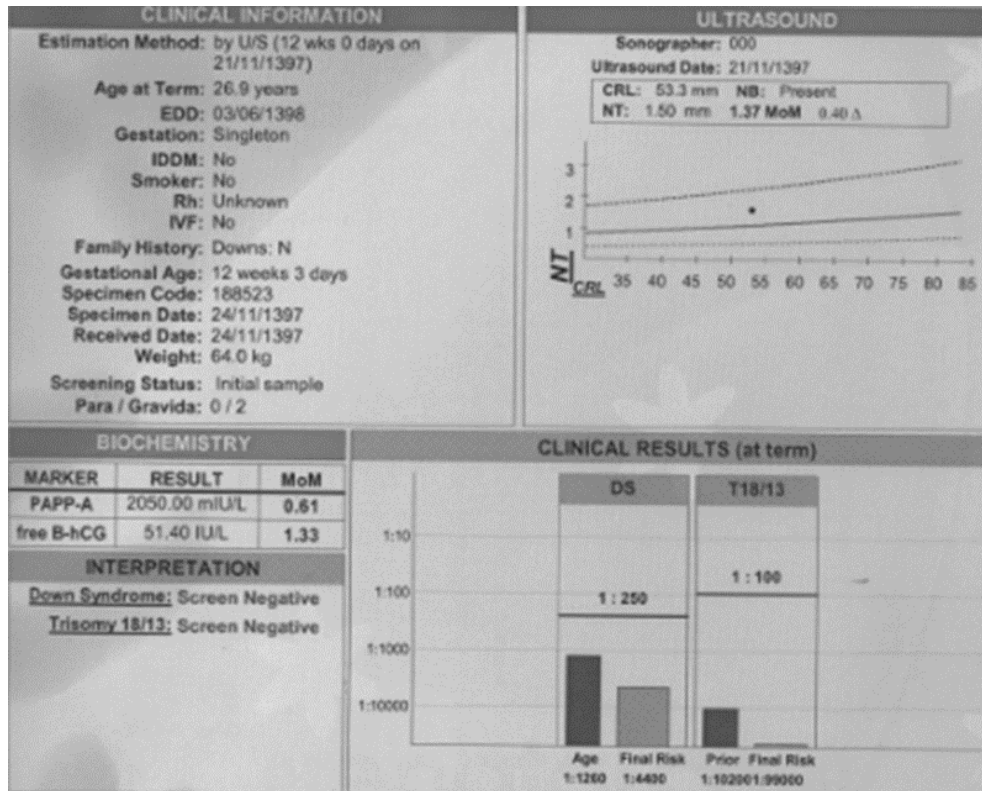
Clipboard Font Paragraph Styles Editing

پرونده ژنتیک

نام مراجعه کننده	شماره پرونده	نام و نام خانوادگی اقا	نام و نام خانوادگی خانم
امین جمشیدی	097-403	امین جمشیدی	سمیه آقامحمدی
سن 28	سن 26	سن 28	سن 26
شغل مسول برق معدن	شغل خانه دار	شغل مسول برق معدن	شغل خانه دار
مدت ازدواج 2س	نسبت فامیلی با همسر -	مدت ازدواج 2س	نسبت فامیلی با همسر -
نسبت فامیلی پدر و مادر -	نسبت فامیلی پدر و مادر -	نسبت فامیلی پدر و مادر -	نسبت فامیلی پدر و مادر -
تعداد خواهر و برادر اقا 1ب2خ	تعداد خواهر و برادر خانم 3ب1خ	تعداد خواهر و برادر اقا 1ب2خ	تعداد خواهر و برادر خانم 3ب1خ
تعداد فرزندان	تعداد دختر و پسر	تعداد فرزندان	تعداد دختر و پسر
وضعیت بارداری 13W3D	تست	وضعیت بارداری 13W3D	تست
نوع مشاوره	نوع بیماری	نوع مشاوره	نوع بیماری
آدرس شیراز اقلیدخ حافظ روبروی دانشگاه دولتی	تلفن 07144534302	آدرس شیراز اقلیدخ حافظ روبروی دانشگاه دولتی	تلفن 07144534302
نوع بیمه	کاربر	نوع بیمه	کاربر
توضیحات:	میرصفایی	توضیحات:	میرصفایی

تصاویر

پرونده، گزارش ذخیره Ctrl+S تایید جواب Alt+K چاپ Ctrl+P



Comment:

The small baby has multiple congenital anomalies:

- Strawberry haed
- Dysmorphic face
- Cleft lip and palate
- Hyperextension of head
- Severe scoliosis
- Gastrochisis

*A chromosomal abnormality is very likely.
Termination is indicated.*

Thanks



آزمایشگاه ژنتیک پزشکی

ژن آزما



GENE AZMA Laboratory



- مشاوره ژنتیک
- مشاوره پیش از ازدواج و پیش از بارداری و حین بارداری
- مشاوره موارد مربوط به سقط ، نا باروری و مرده زایی
- انجام همه آزمایشات تخصصی ژنتیک پزشکی
- آزمایشات تشخیص ژنتیک بر روی بند ناف نوزادان
- فوت شده با علت نا مشخص
- سیتوژنتیک و کاریوتیپ
- ژنتیک مولکولی تشخیصی
- تشخیص پیش از تولد و PND
- آمنیوسنتز ، CVS و NIPT
- آزمایش های NGS و پانل
- ژنتیک سرطان



موسس و مسئول فنی:
دکتر مجید خیراللهی



36269587 | 09137216113 | 36269586

خیابان شریعتی، بین چهارراه پلیس و حکیم نظامی، پلاک ۲۰۸