

ESAME DI SCREENING NON INVASIVO DEDICATO ALL' ANALISI DEL "DNA FETALE" DA "SANGUE MATERNO"

PREMESSA

Il test NIPT (Non Invasive Prenatal Testing) è un test sicuro per il feto e per la madre, che consente lo screening prenatale non invasivo delle principali anomalie cromosomiche fetali [Trisomia 21, 18, 13 e aneuploidie dei cromosomi sessuali (X e Y)] mediante analisi del DNA fetale dal sangue materno (cffDNA).

Il test viene eseguito a partire da un semplice **prelievo ematico** sulla gestante, la cui età gestazionale sia di almeno **10 settimane** (ovvero riferite al giorno dell' ultima **mestruazione**). NON OCCORRE IL DIGIUNO.

Consulenza Genetica Pre- e Post-Test

Il nostro centro offre IN SEDE il servizio di consulenza genetica , al fine spiegare ai pazienti le finalità del test, i risultati ottenibili ed i risultati emersi al completamento dell'esame, in particolar modo nei casi di riscontro patologico e con rischio elevato di patologia cromosomica.

=====

Finalità del test

PrenatalSAFE è un test di **screening prenatale** non invasivo che, analizzando il DNA fetale libero circolante presente nel sangue materno, può valutare il rischio di aneuploidie fetali (*) comuni in gravidanza, quali quelle relative ai cromosomi 21, 18 e 13.

Il test include anche l'opzione dell'analisi di aneuploidie legate ai cromosomi sessuali (X e Y). (*) Le aneuploidie sono anomalie cromosomiche caratterizzate da alterazioni del numero dei cromosomi, cioè da un numero maggiore o minore di cromosomi rispetto al numero standard.

Si parla, ad esempio, di **trisomia**, quando si riscontra la presenza di un cromosoma in più o di **monosomia**, quando si riscontra l'assenza di un cromosoma.

Il test prevede anche un livello di approfondimento che consente di valutare aneuploidie e alterazioni cromosomiche strutturali fetali a carico di ogni cromosoma.

Il PRENATALSAFE può essere eseguito secondo diverse tipologie (e relativa tariffa diversa):

PrenatalSAFE "3"

- Il test PrenatalSafe 3 valuta le aneuploidie dei cromosomi 21, 18 e 13.

PrenatalSAFE "5"

- Il test PrenatalSafe 5 valuta le aneuploidie dei cromosomi 21, 18 e 13 e dei cromosomi sessuali (X e Y) e comprende la determinazione del sesso fetale (opzionale).

PrenatalSAFE "PLUS"

- Il test PrenatalSafe Plus valuta oltre alle aneuploidie dei cromosomi 21, 18 e 13 e dei cromosomi sessuali (X e Y), anche la trisomia **dei cromosomi 9 e 16** (opzionale) e consente di individuare la presenza nel feto di alterazioni cromosomiche strutturali submicroscopiche, quali alcune comuni sindromi da microdelezione. **E' consigliabile ricorrere all'utilizzo del test per le microdelezioni, ritenuto un approfondimento di secondo livello ,solo in determinati contesti clinici (per esempio in presenza di dubbi ecografici suggestivi di sindrome da microdelezione cromosomica), per i quali è giustificato tale approfondimento.** L'esame comprende inoltre la determinazione del sesso fetale (opzionale).

PrenatalSAFE KARYO

- Il test PrenatalSafe Karyo, invece, consente di rilevare aneuploidie e alterazioni cromosomiche strutturali fetali (**delezioni e duplicazioni segmentali >10 Mb**) a carico di ogni cromosoma . L'esame comprende inoltre la determinazione del sesso fetale (opzionale). *Il test può essere integrato con il **GeneSafe , test di screening multigenico non invasivo , che analizzando il DNA libero fetale nel sangue della gestante (cffDNA), rileva la presenza di mutazioni responsabili di gravi patologie genetiche.***

PrenatalSAFE KARYO PLUS

- Il test PrenatalSafe KaryoPLUS , rispetto al precedente, consente in più di individuare la presenza nel feto di 9 tra le più comuni **sindromi da microdelezione**, oltre alle aneuploidie e alterazioni cromosomiche strutturali fetali (**delezioni e duplicazioni segmentali >7 Mb**) a carico di ogni cromosoma, con un "coverage" di 60 Milioni di letture . **E' consigliabile ricorrere all'utilizzo del test, ritenuto un approfondimento di secondo livello, solo in determinati contesti clinici (per esempio in presenza di dubbi ecografici suggestivi di sindrome da microdelezione cromosomica), per i quali è giustificato un tale approfondimento.**

=====

Aneuploidie cromosomiche valutabili con il test PrenatalSAFE

TRISOMIA 21: E' causata dalla presenza di una copia in più del cromosoma 21 ed è anche conosciuta come **Sindrome di Down**. E' la più comune causa genetica di ritardo mentale. Si stima che la trisomia 21 sia presente in 1/700 nati.

TRISOMIA 18: E' causata dalla presenza di una copia in più del cromosoma 18 ed è conosciuta anche come **Sindrome di Edwards**; si associa ad un'elevata abortività. E' causa di grave ritardo mentale. Neonati affetti da trisomia 18 hanno spesso difetti cardiaci congeniti, nonché altre condizioni patologiche che riducono la loro aspettativa di vita. Si stima che la trisomia 18 sia presente in 1/5000 nati.

TRISOMIA 13: E' causata dalla presenza di una copia in più del cromosoma 13 ed è conosciuta anche come **Sindrome di Patau**; si associa ad un'elevata abortività. Neonati affetti da trisomia 13 hanno spesso difetti cardiaci congeniti ed altre condizioni patologiche. La sopravvivenza oltre l'anno di età è rara. Si stima che la trisomia 13 sia presente in 1/16000 nati.

Sindrome di Turner o Monosomia X (45,X): Questa sindrome è causata dalla mancanza di una copia del cromosoma X (da cui il nome "monosomia X"). Ne sono affette solo le donne, che presentano una statura inferiore alla media. Alcune hanno difetti cardiaci o renali, problemi di udito, e difficoltà di apprendimento.

Altre aneuploidie dei cromosomi sessuali riscontrabili con l'esame sono: **Trisomia X (XXX)**; **Sindrome di Klinefelter (XXY)**; **Sindrome di Jacobs (XYY)**.

Il test PrenatalSafe Karyo, invece, consente di rilevare aneuploidie e alterazioni cromosomiche strutturali fetali (**delezioni e duplicazioni segmentali >10 Mb**) a carico di ogni cromosoma.

ANEUPLOIDIE COMUNI	ALTRE ANEUPLOIDIE CROMOSOMICHE MENO FREQUENTI
<ul style="list-style-type: none"> • Trisomia 21 (Sindrome di Down) • Trisomia 18 (Sindrome di Edwards) • Trisomia 13 (Sindrome di Patau) • Monosomia X (Sindrome di Turner) • XXX (Trisomia X) • XXY (Sindrome di Klinefelter) • XYY (Sindrome di Jacobs) 	<ul style="list-style-type: none"> • Trisomia 1 • Trisomia 4 • Trisomia 5 • Trisomia 7 • Trisomia 9* • Trisomia 12 • Trisomia 16* • Trisomia 22* <p>* A maggiore incidenza tra le aneuploidie fetali meno frequenti.</p>

La presenza nel feto della **trisomia dei cromosomi 9, 16, 22**, nella forma completa, è incompatibile con la vita ed esita generalmente in aborti spontanei. **Le forme a mosaico, non rilevabili dal test, possono generare sopravvivenza postnatale.**

ALTERAZIONI CROMOSOMICHE STRUTTURALI

Con il **PrenatalSAFE® Karyo** è inoltre possibile individuare anche **alterazioni di struttura** dei cromosomi.

Le **anomalie strutturali** originano dalla rottura di uno o più cromosomi e, poiché queste rotture possono teoricamente avvenire ovunque nel genoma, il numero di potenziali riarrangiamenti è praticamente infinito. Tali alterazioni provocano perdita/guadano di materiale genetico, perciò vengono identificate in soggetti con fenotipo clinico. I principali tipi di anomalie strutturali sono:

- 1) Le **delezioni**, che consistono nella perdita di un segmento di un cromosoma, che può essere terminale o interstiziale. Di solito le sindromi da delezione interessano segmenti relativamente grandi di cromosoma (> 10 Mb = Megabasi).
- 2) Le **duplicazioni** consistono nella presenza di due copie di un segmento di cromosoma, e pertanto costituiscono delle trisomie parziali (> 10 Mb = Megabasi).

SINDROMI DA MICRODELEZIONI VALUTATE DAL TEST PRENATALSAFE PLUS

Il test PrenatalSafe Plus prevede la possibilità di eseguire un approfondimento di **secondo livello** che consente di individuare la presenza nel feto di 6 fra le più comuni Sindromi da microdelezione. **Le Sindromi da microdelezione** sono anomalie cromosomiche caratterizzate dalla perdita (**microdelezione**) di un tratto cromosomico di piccole dimensioni e, di conseguenza, dei geni localizzati su quel frammento cromosomico. Queste alterazioni causano sindromi di importanza clinica variabile a seconda del cromosoma coinvolto, della regione cromosomica interessata e delle relative dimensioni. Le principali sindromi ad microdelezione investigate comprendono:

- **Sindrome di Di George** (delezione 22q11.2): è una malattia dovuta ad una microdelezione nella regione cromosomica 22q11.2, ed è caratterizzata dall'insieme di diverse malformazioni: ipoplasia del timo e delle ghiandole paratiroidi, cardiopatia congenita e dimorfismi del viso caratteristici. L'incidenza mondiale è di 1:2.000-1:4.000 nati vivi. La maggior parte dei casi non è trasmessa per via ereditaria (de novo) ma si rileva la trasmissione da un genitore portatore di delezione 22q11 in circa il 7% dei casi.

- **Sindrome Cri-du-chat** (delezione 5p): è una malattia cromosomica dovuta alla delezione di una porzione variabile del braccio corto del cromosoma 5 (5p-). I segni clinici principali comprendono il pianto acuto monotono (da cui origina il nome della sindrome del 'miagolio del gatto'), la microcefalia, tratti caratteristici del volto e il grave ritardo psicomotorio e mentale. L'incidenza varia tra 1:15.000 e 1:50.000 nati vivi. La maggior parte dei casi non è trasmessa per via ereditaria (de novo) ma la trasmissione da un genitore non malato, portatore di una traslocazione bilanciata è rilevata in circa il 10% dei casi.

- **Sindrome di Prader-Willi/ Angelman** (delezione 15q11.2): queste due sindromi coinvolgono lo stesso tratto cromosomico (regione critica 15q11.2-q13), ma presentano manifestazioni differenti a seconda che il cromosoma interessato sia di origine materna o paterna:

- 1) La sindrome di **Prader-Willi** è una condizione caratterizzata principalmente da bassa statura, obesità, ipotonia muscolare, alterazioni endocrinologiche, dismorfismi del volto e ritardo di sviluppo psicomotorio. La malattia colpisce 1:25.000 nati.

- 2) La Sindrome di **Angelman** è una malattia neurologica caratterizzata da grave ritardo mentale e dismorfismi facciali caratteristici. La sua prevalenza è stimata tra 1:10.000 e 1:20.000.

- **Sindrome da delezione 1p36**: è un'anomalia cromosomica causata da una delezione eterozigote parziale della parte distale del braccio corto del cromosoma 1, con punti di rottura tra 1p36.13 e 1p36.33, caratterizzata da dismorfismi facciali tipici, ipotonia, ritardo dello sviluppo, deficit cognitivo ed altre condizioni patologiche a esordio prenatale. Incidenza di 1/5000-10000 nati vivi. Nella maggior parte dei casi non è trasmessa per via ereditaria (de novo).

- La Sindrome di **Wolf-Hirschhorn** (delezione 4p): è una malattia dello sviluppo, determinata da una delezione del braccio corto del cromosoma 4 (regione 4p16.3), e caratterizzata da segni craniofacciali caratteristici, ritardo della crescita prenatale e postnatale, deficit cognitivo, grave ritardo dello sviluppo psicomotorio, convulsioni e ipotonia. La prevalenza è di 1:50.000 nati. Interessa più spesso le femmine rispetto ai maschi (2:1). Nella maggior parte dei casi non è trasmessa per via ereditaria (de novo).

Il test **PrenatalSafe KaryoPLUS** prevede la possibilità di eseguire un approfondimento di secondo livello che consente di individuare la presenza nel feto di **9** tra le più comuni **sindromi da microdelezione**, oltre alle aneuploidie e alterazioni cromosomiche strutturali fetali (**delezioni e duplicazioni segmentali >7 Mb**) a carico di ogni cromosoma, con un "coverage" di 60 milioni di reads. Comprende le 6 del PrenatalSafePlus più le seguenti 3:

- La **Sindrome di Jacobsen** è causata da una delezione del braccio lungo del cromosoma 11 (11q23). Caratterizzata da ritardo dello sviluppo, facies caratteristica, malattie emorragiche e alcuni disturbi del comportamento. La prevalenza è di 1:100.000 nati. Nella maggior parte dei casi non è trasmessa per via ereditaria (de novo).

- La **Sindrome di Langer-Giedion** o sindrome tricornofalangeale tipo 2, è causata da una microdelezione del braccio lungo del cromosoma 8 (regione 8q24.11-q24.13), che porta alla perdita di almeno due geni: TRPS1 e EXT1. Caratterizzata da deficit cognitivo, associato a varie anomalie, compresa la cute ridondante, le esostosi cartilaginee multiple, la facies caratteristica e le epifisi falangeali "a cono". Sono stati descritti anche ritardo di crescita, microcefalia, ipotonia e problemi uditivi. Si trasmette come carattere autosomico dominante, ma sono stati descritti soprattutto casi sporadici.

TEST PRENATALE DI SCREENING

- La **Sindrome di Smith-Magenis** è una malattia genetica complessa con deficit cognitivo variabile, disturbi del sonno, anomalie craniofacciali e scheletriche, disturbi psichiatrici, ritardo motorio e del linguaggio. La prevalenza mondiale è di 1/15.000-25.000. Sono comuni il deficit cognitivo lieve-moderato, il ritardo significativo del linguaggio, la ridotta sensibilità al dolore, la neuropatia periferica, i disturbi del sonno (caratteristici) e i comportamenti disadattivi (capricci/scatti d'ira, ricerca costante dell'attenzione, aggressività, disobbedienza, distrazione e comportamenti autolesionistici). La SMS è una malattia sporadica da delezione 17p11.2 del gene RA11 (retinoic acid-induced 1; 90% dei casi) o da mutazione del gene stesso (10%).

Nota importante: queste sindromi possono essere determinate anche da mutazioni geniche non rilevabili con il test.

Come viene effettuato il test PrenatalSAFE

Durante la gravidanza alcuni "frammenti" del **DNA del feto** circolano nel sangue materno. Il DNA fetale è rilevabile a partire dalla 5° settimana di gestazione. La sua concentrazione aumenta nelle settimane successive e scompare subito dopo il parto. Il test viene eseguito mediante il prelievo di un campione ematico della gestante con un'età gestazionale di almeno **10 settimane**.

Tramite una particolare e complessa analisi di laboratorio, viene isolato il **DNA fetale dal sangue materno (cffDNA)** al fine di identificare eventuali anomalie cromosomiche, come appunto le aneuploidie, mediante tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS) e analisi bioinformatiche avanzate.

Per l'esecuzione di tale test il campione viene inviato presso il Laboratorio Eurofins GENOMA Group di Roma (Sede laboratori: Via di Castel Giubileo 11 , 00138 Roma - RM).

=====

Tipologia dei risultati ottenibili con il test PrenatalSAFE

“POSITIVO” – Presenza di aneuploidia o alterazione cromosomica strutturale: indica che il test ha rilevato nel feto un’aneuploidia o un’alterazione cromosomica strutturale a livello di uno (o più) dei cromosomi investigati. L’affidabilità del risultato viene riportato nella sezione “Risultati” del referto e nella sezione “Accuratezza del test” della relazione tecnica.

Tale risultato indica che il feto presenta una specifica anomalia cromosomica, **ma non assicura che il feto abbia tale condizione**. Il *follow-up* consigliato è un test di diagnosi prenatale invasiva, come il prelievo dei villi coriali (villocentesi) o l’ amniocentesi. Il nostro genetista (o in generale uno specialista in genetica), in sede di consulenza genetica, spiegherà in maniera dettagliata il risultato del test e consiglierà di confermare il risultato mediante diagnosi prenatale invasiva. **In nessun modo è possibile avvalersi della Legge 194/78 sulla interruzione volontaria della gravidanza senza prima aver confermato il risultato del test mediante amniocentesi o villocentesi.**

“NEGATIVO” - Assenza di aneuploidia o alterazione cromosomica strutturale: indica che il test non ha rilevato la presenza di aneuploidie o alterazioni cromosomiche strutturali a livello dei cromosomi esaminati. L’affidabilità del risultato viene riportato nella sezione “Risultati” del referto e nella sezione “Accuratezza del test” della relazione tecnica. **Tale risultato indica che il feto non presenta aneuploidie o alterazioni cromosomiche strutturali a livello dei cromosomi investigati, ma non assicura che il feto sia sano per tali anomalie.**

Infatti, a causa della fisiologia placentare, tale risultato potrebbe non riflettere un reale stato di normalità del feto.

NOTA BENE : In alcuni casi (circa il 2%) il test potrebbe produrre un **risultato non ottimale o non conclusivo**. In tali evenienze verrà richiesto alla gestante il prelievo di un nuovo campione ematico al fine di ripetere l’esame. Anche dopo la ripetizione, il test potrebbe non produrre un risultato conclusivo. In questi casi, è consigliato di ricorrere a metodi di diagnosi prenatale alternativi, quali per esempio l’amniocentesi o la villocentesi, **in quanto in letteratura scientifica è stato riportato un aumento dell’incidenza di aneuploidie fetali nei campioni con risultato non conclusivo, per esempio a causa di bassa frazione fetale.**

In altri casi, l’esame potrebbe fornire un risultato che indica un **sospetto** di presenza di aneuploidia o alterazione cromosomica strutturale (**risultato borderline**). In tale evenienza verrà consigliato di confermare il risultato mediante diagnosi prenatale invasiva, così come per il risultato positivo.

Nel caso in cui venga richiesta l’analisi del sesso del feto, può essere fornito anche questo risultato.

Nelle **gravidanze gemellari**, verrà riportato un unico risultato per entrambi i feti. Il sesso fetale, in queste gravidanze, viene indicato come maschile o femminile, basandosi sulla presenza o assenza del cromosoma Y.

Attendibilità del test (sensibilità e specificità)

L'esame ha dimostrato, in **studi di validazione preclinica**, un'attendibilità superiore al **99%** nel rilevare le aneuploidie cromosomiche comuni in gravidanza (**trisomia 21, trisomia 18, trisomia 13**) e del **95%** per rilevare la **Monosomia X**, con percentuali di falsi positivi **<0.1%**. **Sebbene l'errore del test sia molto basso, tuttavia non può essere escluso.**

L'esame prenatale non invasivo che analizza il DNA fetale libero circolante isolato da un campione di sangue materno è un **test di screening** e non è un test diagnostico.

Benché questo test sia molto accurato, **i risultati non sono diagnostici** e devono essere valutati nel contesto del quadro clinico della gestante e dell'anamnesi familiare.

Inoltre, **l'esame non è sostitutivo** della diagnosi prenatale invasiva (Villocentesi o Amniocentesi).

Limiti dell'ESAME

a) Il test non può escludere la presenza di tutte le anomalie cromosomiche fetali. **Quindi l'analisi non è sostitutiva della diagnosi prenatale invasiva (Villocentesi o Amniocentesi).**

b) Il test è stato validato su gravidanze singole o gemellari, monozigotiche o dizigotiche, con almeno 10 settimane di gestazione. (per PSAFE3 E PSAFE5 , vedere linee Guida)

c) L'esame inoltre non è in grado di evidenziare **riarrangiamenti cromosomici bilanciati, alterazioni parziali dei cromosomi analizzati, alterazioni cromosomiche strutturali, mosaicismi cromosomici fetali e/o placentari a bassa percentuale (cioè la presenza di due linee cellulari con differente assetto cromosomico, con una linea cellulare scarsamente rappresentata), mutazioni puntiformi, difetti di metilazione, poliploidie.**

Il test non evidenzia altre malformazioni o difetti non specificamente ricercati.

In particolare, l'esame non evidenzia la presenza di malattie genetiche ereditarie a trasmissione mendeliana.

d) Nella gravidanza gemellare **non è possibile valutare le aneuploidie dei cromosomi sessuali** ma solo quelle relative ai cromosomi 21,18,13. E' tuttavia possibile riscontrare la presenza/assenza del cromosoma Y. 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. Ciò potrebbe interferire nella qualità dei risultati, determinando falsi positivi nel caso in cui la causa dell'aborto fosse dovuta alla presenza nel suddetto feto di aneuploidie cromosomiche a carico di uno dei cromosomi investigati. Similmente, potrebbe determinarsi una incongruenza nei risultati del sesso (es. diagnosi di sesso maschile, in cui la presenza del cromosoma Y è originata dal DNA feto abortito).

e) Nei casi di **gravidanze pregresse**, esitate in aborto spontaneo di uno o più feti o aborto terapeutico a causa di diagnosi di feto affetto da cromosomopatia, potrebbe essere presente nel sangue materno anche il DNA fetale libero del feto abortito. Ciò potrebbe interferire nella qualità dei risultati, determinando falsi positivi nel caso in cui la causa dell'aborto fosse dovuta alla presenza nel suddetto feto di aneuploidie cromosomiche a carico di uno dei cromosomi

investigati. Similmente, potrebbe determinarsi una incongruenza nei risultati del sesso (es. diagnosi di sesso maschile, in cui la presenza del cromosoma Y è originata dal DNA feto abortito).

f) L'esistenza di una condizione tumorale (metastasi) nella gestante potrebbe determinare risultati del test falsi positivi.

g) Il test è basato sulla quantificazione dei frammenti di DNA fetale libero circolante nel sangue materno, che sono di origine placentare. Pertanto, a causa di condizioni di **mosaicismo cromosomico** (frequenza: 1-2%) potrebbero esservi discordanze nei risultati (falsi positivi o falsi negativi) che giustificano la sensibilità e specificità del test <100%. In particolare, il test potrebbe produrre un risultato positivo (aneuploidia rilevata), ma tale anomalia cromosomica potrebbe essere confinata alla placenta a causa del mosaicismo cromosomico, e quindi il feto potrebbe infine risultare con cariotipo normale al controllo in diagnosi prenatale invasiva (**falso positivo**). Viceversa, il test potrebbe produrre un risultato negativo (aneuploidia non rilevata), ma a causa del mosaicismo cromosomico il DNA fetale privo di aneuploidia potrebbe essere confinato alla placenta, e quindi il feto potrebbe infine risultare con cariotipo aneuploide al controllo in diagnosi prenatale invasiva (**falso negativo**).

h) Il sesso fetale viene indicato come maschile o femminile, basandosi sulla presenza o assenza del cromosoma Y, ma non dà informazioni sulla presenza o assenza del gene SRY.

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

l) Esiste la possibilità di identificare con questo test, anomalie dei cromosomi sessuali presenti nella madre (omogenee o a mosaico) che possono interferire con l'accuratezza dei risultati riguardanti i cromosomi sessuali fetali.

m) Benché questo test sia molto accurato, **i risultati non sono diagnostici** e devono essere valutati nel contesto del quadro clinico della paziente ed alla anamnesi familiare.

Un risultato "NEGATIVO" riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia un' aneuploidia dei cromosomi esaminati ma non può garantire che i cromosomi siano effettivamente normali o che il feto sia sano.

n) Non è possibile eseguire questo test a donne portatrici esse stesse di aneuploidie.

In estrema sintesi, il test si limita a fornire indicazioni sul rischio che sia presente nel feto una aneuploidia e/o un'alterazione strutturale dei cromosomi esaminati.

Un risultato "NEGATIVO" non può garantire che i cromosomi siano effettivamente normali o che il feto sia sano.

=====

Alternative diagnostiche prenatali

L'esame prenatale non invasivo che analizza il DNA fetale presente nel sangue materno è solo una delle opzioni per la gestante per determinare il rischio di patologie cromosomiche durante la gravidanza. Esistono altri "screening" effettuabili in questo periodo.

Un'indagine citogenetica approfondita può essere ottenuta solamente mediante "diagnosi prenatale invasiva", che può essere eseguita su villi coriali o su liquido amniotico.

Il **prelievo dei villi coriali** o **villocentesi** è effettuato tra la XI e la XII settimana di gestazione e comporta un rischio di aborto di circa 1%.

Il prelievo di liquido amniotico o **amniocentesi** viene eseguito mediante puntura transaddominale ecoguidata tra la XVI e la XVIII settimana di gravidanza e comporta un rischio di aborto di circa 0,5-1%.

Le suddette indagini possono fornire un'analisi cromosomica completa del feto e sono fortemente raccomandate, in particolar modo, alle pazienti con età superiore ai 35 anni, o appartenenti ad un gruppo a rischio.

=====

Confronto del "detection rate" tra "PrenatalSAFE" e "cariotipo fetale molecolare" (ovvero tra indagine NON invasiva ed indagine invasiva)

Il test **PrenatalSAFE[®] 3 e 5** permettono di evidenziare, rispettivamente, il **71%** e l'**83.1%** delle anomalie cromosomiche riscontrabili in gravidanza.

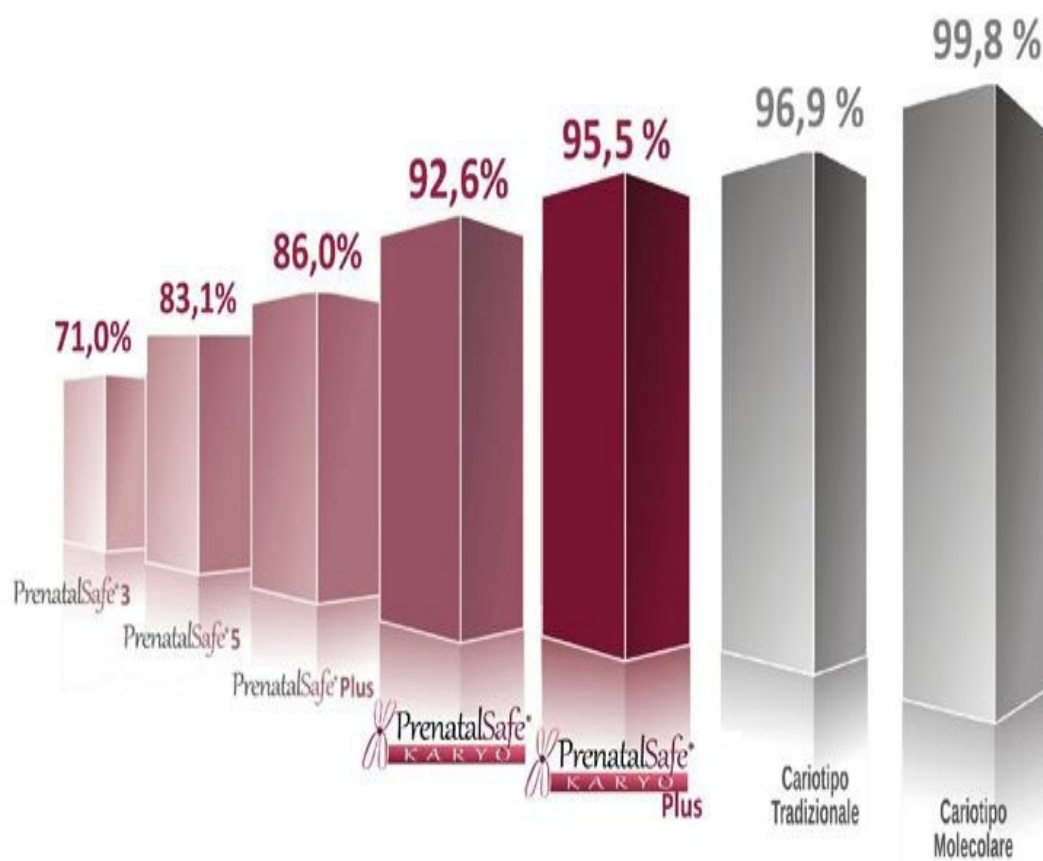
Con test **PrenatalSAFE[®] Plus** il *detection rate* diviene l'**86%**.

Il **PrenatalSAFE[®] Karyo**, invece, consente di rilevare il **92.6%** delle anomalie cromosomiche evidenziabili in gravidanza..

Il **PrenatalSAFE[®] KaryoPlus** consente di rilevare il **95,5%** delle anomalie cromosomiche evidenziabili in gravidanza.

Il **cariotipo fetale tradizionale** invece, ottenuto mediante tecniche di diagnosi prenatale invasiva, consente di rilevare **96.9%** delle anomalie cromosomiche riscontrabili in gravidanza, mentre il **cariotipo fetale molecolare** – array-CGH (l'esame prenatale considerato il *gold standard*) sempre eseguito su cellule fetali prelevate con amniocentesi o villocentesi, permette di rilevare il **99.8%** delle anomalie cromosomiche riscontrabili in gravidanza. (Wellesley, D, et al., 2012; Wapner et al., 2012; Fiorentino et al., 2011; 2013).

TEST PRENATALE DI SCREENING



NOTA BENE: i test per lo studio delle sindromi da microdelezioni non hanno ancora ricevuto la validazione con “International Statements” da parte delle Società scientifiche Internazionali e Nazionali (VEDI LINEE GUIDA DEL MINISTERO DELLA SALUTE MAGGIO 2015, AGGIORNAMENTI SIGU 2016).

In conclusione, in base alle considerazioni sopra riportate, il test non è sostitutivo della diagnosi prenatale invasiva.

Consulenza Genetica Pre- e Post-Test

Il nostro centro offre IN SEDE il servizio di consulenza genetica , al fine spiegare ai pazienti le finalità del test, i risultati ottenibili ed i risultati emersi al completamento dell'esame, in particolar modo nei casi di riscontro patologico e con rischio elevato di patologia cromosomica.

Privacy

Tutti i dati dei pazienti sono trattati con estrema riservatezza e secondo le vigenti leggi sulla Privacy (Decreto Legislativo 30 giugno 2003, n° 196 e successivi). I risultati dei test saranno comunicati solo agli operatori sanitari coinvolti nell'espletamento del test o al genetista (ove necessario). Inoltre, i risultati del test potranno essere rilasciati a chi, per legge, può avere accesso ad essi.

Conservazioni dei campioni

I campioni biologici sono identificati con codice a barre e ID numerico, quindi nessun dato identificativo viene associato alla provetta.

In ogni caso, trascorsi 30 giorni dall'emissione del referto i campioni biologici saranno smaltiti secondo la normativa vigente.

Materiale / Campione

Campione di sangue venoso da vena brachiale. Non occorre il digiuno.

Tempi di attesa per i risultati

I tempi stimati sono di circa 10 giorni lavorativi. Tali termini, tuttavia non sono perentori e potrebbero prolungarsi in caso di necessità di ripetizioni dell'esame o di approfondimenti diagnostici, in caso di dubbi interpretativi oppure in caso di risultati in prima battuta non ottimali.

Bibliografia

**LINEE GUIDA DEL MINISTERO DELLA SALUTE MAGGIO 2015: “Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non Invasive Prenatal Test –NIPT)”
Aggiornamento SIGU 2016**

1. Bianchi DW, Parsa S, Bhatt S, Halks-Miller M, Kurtzman K, Sehnert AJ, Swanson A. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing: clinical laboratory experience and biology. *Obstet Gynecol*. 2015 Feb;125(2):375-82.
2. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, Madankumar R, Saffer C, Das AF, Craig JA, Chudova DI, Devers PL, Jones KW, Oliver K, Rava RP, Sehnert AJ; CARE Study Group. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med*. 2014 Feb 27;370(9):799-808.
3. Rava RP, Srinivasan A, Sehnert AJ, Bianchi DW. Circulating fetal cell-free DNA fractions differ in autosomal aneuploidies and monosomy X. *Clin Chem*. 2014 Jan;60(1):243-50.
4. Bianchi DW, Prosen T, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Rava RP, Sehnert AJ; Maternal Blood is Source to Accurately diagnose fetal aneuploidy (MELISSA) Study Group. Massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in 113 cases of fetal nuchal cystic hygroma. *Obstet Gynecol*. 2013 May;121(5):1057-62.
5. Futch T, Spinosa J, Bhatt S, de Feo E, Rava RP, Sehnert AJ. Initial clinical laboratory experience in noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy from maternal plasma DNA samples. *Prenat Diagn* 2013, 33, 569–574.
6. Srinivasan et al. Noninvasive Detection of Fetal Subchromosome Abnormalities via Deep Sequencing of Maternal Plasma *American Journal of Human Genetics* 2013, 92:167-176
7. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, et al. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 2012;119:890–901.
8. Sehnert AJ, Rhees B, Comstock D, et al. Optimal detection of fetal chromosomal abnormalities by massively parallel DNA sequencing of cell-free fetal DNA from maternal blood. *Clin Chem* 2011;57:1042–9.

Tween Pregnancy

9. Clinical laboratory experience with noninvasive prenatal testing in twin gestations. Poster presentation from the 2015 Annual Meeting of the Society for Maternal- Fetal Medicine.
10. Verinata Health, Inc. (2012) Analytical Validation of the verifi Prenatal Test: Enhanced Test Performance For Detecting Trisomies 21, 18 and 13 and the Option for Classification of Sex Chromosome Status. Redwood City, CA

Studi di Validazione e determinazione della LOD

11. Fiorentino F, Spinella F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, Cottone G, Nuccitelli A, Sessa M, Baldi M. Feasibility of noninvasive prenatal testing for common fetal aneuploidies in maternal serum with low levels circulating fetal cell-free DNA fraction. *Prenat Diagn* 2015; 35 Suppl. 1: pag 1
12. S. Bono, F. Pizzuti, M. Mariano, A. Polverari, S. Duca, G. Cottone, A. Nuccitelli, M. Sessa, F. Spinella, M. Baldi, F. Fiorentino. Massively Parallel Sequencing (MPS) reliably identifies trisomy 21, 18, and 13 in maternal plasma with low-level fetal cell-free DNA fractions. Poster presentation from the European Society of Human Genetics (ESHG) meeting Glasgow 2015.
13. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, Cottone G, Nuccitelli A, Sessa M, Baldi M, Diano L, Spinella F. The importance of determining the limit of detection of non invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016 (in press).

Studi di Validazione PrenatalSAFE® Plus , PrenatalSAFE® Karyo e PrenatalSAFE® KaryoPlus

14. Bayindir et al., *Eur J Hum Genet* 2015; 23:1286-1293.
15. Chen et al. *Prenat Diagn* 2013; 33:584–590
16. Yu et al. *PLoS One* 2013 17;8(4):e60968

TEST PRENATALE DI SCREENING

17. Zhao et al. Clin Chem 2015; 61:608-616
18. Srinivasan et al. Am J Hum Genet 2013; 92:167-176.
19. Helgeson et al. Prenat Diagn 2015; 35:999-1004
20. Lefkowitz et al. Am.J.Obstet. Gynecol. 2016
21. Fiorentino et al.ESHG conference 2016,poster presentation
22. Fiorentino et al.ISPD conference 2016,poster presentation
23. Fiorentino et al "The clinical utility of Genome-Wide non invasive Prenatal Screening, Prenat Diagn 2017

Altri riferimenti bibliografici:

24. Wellesley et al., 2012 Eur J Hum Genet. 20:521-526.
25. Wapner et al., 2012 N Engl J Med. 367:2175-2184.
26. Fiorentino et al., 2011 Prenat Diagn. 31:1270-1282.
27. Fiorentino et al., 2013 Eur J Hum Genet. 21:725-730.