



# CHECKLIST PER LA CONSULENZA PRE-TEST DEL TEST GENETICO PRENATALE NON INVASIVO SU DNA FETALE CIRCOLANTE NEL SANGUE MATERNO (NIPT/CELL-FREE DNA TEST)

**Redatto da:** GdL di Citogenetica e Citogenomica; GdL SIGU Sanità

**Coordinatori:** Francesca Romana Grati; Elisabetta Lenzini

**Estensori:** Francesca Romana Grati, Sabine Stioui

**Revisionato da:** Laura Bernardini, Domenico Bizzoco, Simona Cavani, Elisabetta Lenzini, Elisabetta Pelo, Stefania Zampatti, Laura Cardarelli, Silvana Gueneri, Antonio Novelli, Maria Carla Pittalis, Giocchino Scarano

## Indice

<b>Introduzione</b> .....	2
<b>Scopo del documento</b> .....	2
<b>1. Prima del NIPT/cfDNA test</b> .....	2
1.1. Ecografia.....	2
1.2. Raccolta dati anamnestici.....	2
<b>2. Informazioni sul NIPT/cfDNA test</b> .....	3
2.1 Aspetti generali.....	3
2.2 Descrizione del test.....	4
2.3 Accuratezza del test, valore predittivo positivo e condizioni indagate.....	5
2.4 Frazione fetale e risultati non conclusivi.....	5
2.5 Risultati incidentali.....	6
<b>3. Tabella riassuntiva dei punti essenziali da trattare</b> .....	7
<b>4. Allegati</b> .....	8
4.1. Allegato 1 - Esempio di informativa per NIPT/cfDNA test per Trisomie 21,18,13 e sesso fetale ....	8
4.2. Allegato 2 - Esempio di scheda anamnestica.....	10
<b>Bibliografia</b> .....	11



## Introduzione

L'utilizzo nella pratica clinica dei test basati su cell-free DNA (cfDNA), anche detti 'NIPT', ha portato ad una crescente consapevolezza tra i professionisti di quanto sia cruciale un'adeguata consulenza pre-test; da una parte per consolidare le eventuali informazioni in possesso della gestante e dall'altra per garantirle una scelta consapevole, informandola adeguatamente sulle caratteristiche e sui limiti del test.

La consulenza genetica prenatale associata al test deve essere fornita da uno specialista che abbia capacità comunicativa e competenza utilizzando un approccio non direttivo e costituisce, dunque, un'occasione unica per chiarire i dubbi, comprendere le implicazioni, le opportunità e i limiti dell'analisi e consentire alla gestante di maturare scelte informate.

È possibile che nel colloquio pre-test emergano situazioni di rischio procreativo prevedibile a priori che richiedano una valutazione dedicata (familiarità per patologie mendeliane, gestante/partner portatore di traslocazione cromosomica bilanciata, ecc.). E' quindi possibile che, sulla base dell'esito della consulenza genetica pre-test, venga posta indicazione ad eseguire diagnosi prenatale invasiva, indagini ecografiche di secondo livello o altri opportuni approfondimenti. È quindi importante che coloro che propongano questa tipologia di test siano competenti sia sui principi generali del test che sulle specifiche tecniche di laboratorio.

## Scopo del documento

Questo documento ha lo scopo di elencare e descrivere sinteticamente i punti essenziali da trattare con la gestante che manifesta l'interesse a sottoporsi al NIPT/test su cfDNA. Data la natura del documento, non sono state riportate in modo esteso le spiegazioni scientifiche riguardanti gli aspetti da trattare con la gestante. Si faccia quindi riferimento alla bibliografia citata come fonte per ulteriori approfondimenti.

## 1. Prima del NIPT/cfDNA test

### 1.1. Ecografia

La conferma ecografica che vi sia una gravidanza in corso e la determinazione della parità sono essenziali prima di discutere e pianificare qualsiasi test in gravidanza.<sup>1,2</sup>

Benché il NIPT possa tecnicamente essere eseguito dalla 9°-10° settimana di gestazione, la corretta datazione ecografica della gravidanza è un passaggio fondamentale prima di effettuare il test al fine di aumentare la probabilità che sia presente una quantità sufficiente di cfDNA fetale nel sangue materno. L'ecografia del primo trimestre mirata alla visualizzazione della presenza e numero dei feti e della loro attività cardiaca, datazione della gravidanza, misurazione della translucenza nucale (NT) e, in caso di gravidanza multipla, definizione di corionicità ed amnionicità, andrebbe comunque eseguita pur se non contestualmente al test. L'evidenza ecografica di anomalie strutturali potrebbe indicare di non intraprendere un percorso di screening giustificando il ricorso ad una diagnosi prenatale invasiva (villocentesi o amniocentesi).<sup>1,2</sup>

### 1.2. Raccolta dati anamnestici

Prima di fornire alla gestante i dettagli sul cfDNA test, è utile chiedere se sia già informata sull'argomento (da precedenti gravidanze, siti web, opuscoli). È essenziale che, nell'ambito della consulenza genetica pre-test per NIPT, vengano raccolte informazioni su eventuali condizioni genetiche che potrebbero aumentare il rischio di patologia fetale e in tal caso dare indicazione a percorsi diagnostici diversi (familiarità per patologie mendeliane,



Società Italiana di Genetica Umana  
Italian Society of Human Genetic

gestante/partner portatore di anomalie cromosomiche numeriche e strutturali come, ad esempio, traslocazioni ed inversioni).

Nella raccolta dei dati anamnestici per il NIPT, in particolare, sono rilevanti le seguenti informazioni:

**Precedenti gravidanze:**

- numero ed esito delle precedenti gravidanze;
- precedenti aborti spontanei e/o morti perinatali, epoca di interruzione (settimana di gestazione) ed eventuale causa se conosciuta (con particolare attenzione ad eventuali perdite embrio-fetali recenti);
- precedenti feti/figli con anomalie cromosomiche;
- esecuzione della diagnosi prenatale invasiva in precedenti gravidanze e risultato;
- cariotipo della coppia se noto.

**Gravidanza attuale:**

- peso e altezza della gestante (per calcolo indice di massa corporea - BMI);
- etnia;
- data dell'ultima mestruazione;
- modalità di concepimento (spontaneo/PMA – Procreazione Medicalmente Assistita) e, in caso di PMA:
  - origine dei gameti (autologa o eterologa)
  - età della donna/donatrice al momento del pick-up dell'ovocita
  - tecnica PMA applicata
  - numero degli embrioni trasferiti
- esecuzione ecografia I trimestre ed esito;
- numero di feti;
- visualizzazione/non visualizzazione di un gemello riassorbito (vanishing twin);
- eventuale esecuzione di altro screening prenatale nella gravidanza in corso e risultato;
- presenza/assenza di tumori materni (anche benigni, come leiomiomi/fibromi)
- effettuazione di trapianto allogenico d'organo/terapia con cellule staminali allogeniche
- presenza/assenza di malattie autoimmuni e/o infiammatorie;
- esecuzione recente di trasfusioni, immunoterapia, radioterapia;
- terapia in corso con eparina a basso peso molecolare;
- motivazione della richiesta dell'esame (es.: età materna avanzata, ansia materna, screening ecografico, test combinato a rischio aumentato/intermedio per aneuploidie, precedente feto con anomalia cromosomica, etc.)

Queste informazioni sono utili al laboratorio per iniziare il processamento del campione stesso e per valutare l'idoneità all'analisi; sono importanti per il consulente per inquadrare e discutere con la gestante possibili condizioni che potrebbero essere causa di risultati ad alto rischio, falsi positivi, non informativi/conclusivi o di bassa frazione fetale che saranno discussi con la gestante. Dati incompleti potrebbero anche determinare un ritardo nella refertazione.

## 2. Informazioni sul NIPT/cfDNA test

### 2.1 Aspetti generali

Nell'ambito dei percorsi prenatali, il NIPT/test di screening su cfDNA è rivolto ad individuare quelle gravidanze a maggior rischio di aneuploidie fetali e ad offrire alla gestante la possibilità di eseguire ulteriori indagini. Un risultato "ad alto rischio" o "positivo" di un NIPT/cfDNA test implica, quindi, la necessità di offrire un esame diagnostico che ne



Società Italiana di Genetica Umana  
Italian Society of Human Genetic

consenta l'eventuale conferma.<sup>3</sup> Un risultato "a basso rischio" o "negativo" generalmente non necessita di una presa in carico specifica se non quella prevista dal percorso prenatale per la gravidanza fisiologica (es: ecografia del II trimestre, etc.).

È pertanto molto importante che sia ben chiaro alla gestante che il NIPT è un test di screening (quindi probabilistico) e non un test diagnostico. Per quanto siano elevate la sua sensibilità e specificità, non è infatti esente da falsi negativi e falsi positivi. Un risultato "a basso rischio", anche se ottenuto con i test proposti come "genomici", non implica la certezza di un feto sano né garantisce che non possa comunque essere affetto da una delle patologie indagate dal test. Esiste pertanto un rischio residuo specifico per ogni gestante per patologie cromosomiche clinicamente significative, che dipende dal rischio a priori e dalle caratteristiche dell'esame eseguito.<sup>1,2,3</sup> I mosaicismi fetoplacentari, la pregressa esistenza di un gemello riassorbito (vanishing twin) e la presenza di anomalie cromosomiche materne costitutive o somatiche (inclusi i tumori occulti e i fibromi) possono essere alcune fra le cause di falso positivo.<sup>3</sup> Ne consegue che anche un risultato "ad alto rischio" non sia una certezza di feto realmente affetto.

In alcune realtà il NIPT/cfDNA test viene offerto come screening di approfondimento dopo un risultato a rischio medio/alto allo screening del I trimestre (ad es.: test combinato, bitest) (approccio contingente). In altri contesti viene proposto l'approccio 'universale' che prevede invece l'utilizzo del NIPT/cfDNA test come test di prima scelta, rivolto a tutte le gestanti.<sup>2,4,5</sup>

Da tutte queste considerazioni risulta quindi essenziale che vengano fornite alla gestante le seguenti informazioni:

- il NIPT è un test di screening che fornisce risultati probabilistici di rischio (alto o basso rischio);
- il NIPT non è un test diagnostico e non è sostitutivo della diagnosi prenatale invasiva;
- eseguire il NIPT è una scelta facoltativa;
- ambito in cui viene proposto il NIPT (approccio contingente o universale) e cosa questo implichi;
- tipo di anomalie cromosomiche indagate dal test e limiti del test;
- descrizione dei principali fattori biologici che possono essere causa di risultati discordanti;
- esiti possibili e breve descrizione del referto a basso o ad alto rischio;
- necessità di conferma diagnostica dei risultati ad alto rischio;
- tipi di indagini invasive e rischio di aborto;
- significato di un risultato a basso rischio in termini di rischio residuo e di aderenza al percorso clinico prenatale di routine;
- tempi di refertazione.

## 2.2 Descrizione del test

Le metodologie con cui viene eseguito il NIPT possono variare da laboratorio a laboratorio. Il test può essere eseguito utilizzando diverse tecnologie e due tipi di approccio all'analisi: "targeted" (o mirato) o "genome-wide" (o genomico).<sup>5</sup>

Lo scopo di tutti i test è comunque l'analisi dei frammenti di DNA libero circolante presenti nel sangue materno che derivano principalmente dall'apoptosi delle cellule materne e, in minor parte, da quelle placentari (citotrofoblastiche), che nella maggior parte dei casi, ma non sempre, sono geneticamente identiche alle cellule del feto. Poiché con le metodiche attuali risulta tecnicamente impossibile separare fisicamente questi due tipi di DNA circolanti, i NIPT li analizzano simultaneamente entrambi. Il test analizza qualitativamente o quantitativamente, a seconda del metodo, i frammenti di DNA derivati dai vari cromosomi di interesse e determina se vi sia, per ogni particolare cromosoma, una deviazione rispetto all'atteso che, qualora si verificasse, indicherebbe un'aumentata probabilità di sbilanciamento per il cromosoma di interesse.<sup>5</sup>



Società Italiana di Genetica Umana  
Italian Society of Human Genetic

È quindi essenziale che vengano fornite alla gestante le seguenti informazioni e che queste siano presenti anche nel referto:

- tipologia di test adottato dal laboratorio (targeted o genome-wide, piattaforma tecnologica, metodologia);
- modalità di espressione del rischio nei risultati: rapporto numerico, percentuale, verbale (alto o basso rischio), grafico, più di un metodo, etc.

## 2.3 Accuratezza del test, valore predittivo positivo e condizioni indagate

Le qualità di un test di screening vengono spesso descritte in termini di sensibilità e specificità.<sup>5</sup> I test sul cfDNA presentano livelli elevati di sensibilità e specificità soprattutto per le principali aneuploidie:<sup>6</sup>

- 99,7% (I.C. 95%: 99,1-99,9%) e 99,96% (I.C. 95%: 0,02-0,08%) per la T21,
- 98,2% (I.C. 95%: 95,5-99,2%) e 99,95% (I.C. 95%: 0,03-0,07%) per la T18,
- 99,0% (I.C. 95%: 65,8-100%) e 99,96% (I.C. 95%: 0,02-0,07%) per la T13.

Per contro gli screening tradizionali, basati su ecografia ed indagini biochimiche, hanno una sensibilità dell'81–96% con tassi di falsi positivi del 2-5%.<sup>7,8</sup>

Per la donna in gravidanza è però indispensabile rispondere anche alla domanda principale riguardante il significato di un risultato ad alto o basso rischio: "Come posso essere sicura che mio figlio non abbia un'anomalia cromosomica quando il test di screening è negativo?" oppure "Quale è la probabilità di avere un bambino affetto quando il test di screening è positivo?". Il valore predittivo negativo (VPN) ed il valore predittivo positivo (VPP) aiutano nel rispondere a tali quesiti.<sup>5</sup> A differenza della sensibilità e della specificità, il VPP è fortemente dipendente dalla prevalenza della malattia nella popolazione e, quindi, dal rischio a priori. Infatti, scegliendo di indagare condizioni che, prese singolarmente, sono rare o rarissime aumenterà progressivamente il rischio di falso positivo e quindi di sottoporsi ad un prelievo invasivo inutile.<sup>1-3</sup>

Ciascun laboratorio, in base alla metodologia in uso, dovrebbe determinare i propri valori di specificità, sensibilità, VPN e VPP per ciascuna condizione indagata. Riferirsi a performance dello stesso test eseguito altrove non è appropriato dato che le condizioni di esecuzione (manutenzioni, conservazione dei reagenti, training degli operatori, etc.) possono variare da laboratorio a laboratorio. È accettabile riportare le performance interne determinate tramite validazioni analitiche oppure tramite audit retrospettivi delle performance cliniche.

È opportuno che vengano fornite alla gestante le seguenti informazioni:

- sensibilità, specificità e valore predittivo positivo per ogni condizione indagata e, possibilmente, nella popolazione specifica (singola, gemellare, alto rischio, ...)
- condizioni indagate dal test, prognosi e prevalenza, e implicazioni nel caso in cui si decida di non sottoporsi allo screening (es: diagnosi tardiva o mancata diagnosi);
- condizioni indagabili nelle gravidanze singole ed in quelle gemellari e come il risultato verrà riportato in queste ultime.

## 2.4 Frazione fetale e risultati non conclusivi

La Frazione Fetale (FF) è la percentuale di frammenti di cfDNA placentare in rapporto al cfDNA totale circolante nel sangue materno. Poiché il NIPT mira a identificare piccole variazioni nel numero di frammenti genomici riconducibili alla presenza di un'aneuploidia fetale, l'affidabilità del risultato è strettamente dipendente dal livello di FF.<sup>3</sup> Dato che il calcolo statistico del rischio al di sotto di determinate percentuali di FF non è attendibile, alcuni software/algoritmi



Società Italiana di Genetica Umana  
Italian Society of Human Genetic

di analisi non forniscono un risultato. Ne deriva che la soglia minima della FF dovrebbe essere determinata e ottimizzata individualmente.<sup>3</sup>

Risultati non conclusivi possono essere determinati oltre che da una bassa FF da altre cause di tipo biologico, correlabili al tipo di tecnologia utilizzata o ai parametri di qualità adottati da ciascun laboratorio.<sup>3</sup>

È quindi essenziale che vengano fornite alla gestante le seguenti informazioni:

- se il test misura o meno la FF e se la riporta nel referto;
- cut-off minimo di FF adottato dal laboratorio;
- tasso interno dei risultati non conclusivi possibilmente divisi tra bassa FF e scarsa qualità, e tra primo e secondo prelievo;
- descrizione dei principali fattori noti che possono essere causa di risultati non conclusivi (per bassa FF o per scarsa qualità)
- policy del laboratorio riguardo ai risultati non conclusivi.

## 2.5 Risultati incidentali

In rare circostanze e a seconda del test utilizzato, il cfDNA test può sollevare sospetti sulla presenza di condizioni materne o fetali diverse da quelle per le quali viene eseguito il test. Ad esempio, ciò avviene quando le aneuploidie dei cromosomi sessuali rilevate dal cfDNA test sono di origine materna anziché fetali, oppure quando si ottiene un risultato complesso riferibile ad un possibile tumore materno.<sup>3,9,10</sup> Il cfDNA test non è validato per lo screening di queste condizioni.

È quindi essenziale che vengano trattate con la gestante le seguenti informazioni:

- possibilità e incidenza di risultati inattesi;
- qualora la gestante desideri essere informata di eventuali esiti inattesi è opportuno che lo segnali in sede di consulenza e lo esprima nel consenso;
- possibilità che eventuali risultati inattesi implichino l'esecuzione di accertamenti medici sulla donna e/o sul feto e/o sul neonato, che potrebbero protrarsi anche nel periodo post-natale.



### 3. Tabella riassuntiva dei punti essenziali da trattare

<b>Raccolta dei dati anamnestici</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Vedi modello di scheda anamnestica allegata</li></ul>
<b>Informazioni generali sul NIPT/cfDNA test</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• il NIPT è un test di screening che fornisce risultati probabilistici di rischio (alto o basso rischio);</li><li>• il NIPT non è un test diagnostico e non è sostitutivo della diagnosi prenatale invasiva;</li><li>• eseguire il NIPT è una scelta facoltativa;</li><li>• ambito in cui viene proposto il NIPT (approccio contingente o universale) e cosa questo implichi;</li><li>• tipo di anomalie cromosomiche indagate dal test e limiti del test;</li><li>• descrizione dei principali fattori biologici che possono essere causa di risultati discordanti;</li><li>• esiti possibili e breve descrizione del referto a basso o ad alto rischio;</li><li>• necessità di conferma diagnostica dei risultati ad alto rischio;</li><li>• tipi di indagini invasive e rischio di aborto;</li><li>• significato di un risultato a basso rischio in termini di rischio residuo e di aderenza al percorso clinico prenatale di routine;</li><li>• tempi di refertazione.</li></ul>
<b>Descrizione del test</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• tipologia di test adottato dal laboratorio (targeted o genome-wide, piattaforma tecnologica, metodologia);</li><li>• modalità di espressione del rischio nei risultati: rapporto numerico, percentuale, verbale (alto o basso rischio), grafico, più di un metodo, etc..</li></ul>
<b>Accuratezza del test, valore predittivo positivo e condizioni indagate</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• sensibilità, specificità e valore predittivo positivo per ogni condizione indagata e, possibilmente, nella popolazione specifica (singola, gemellare, alto rischio, ...)</li><li>• condizioni indagate dal test, prognosi e prevalenza, e implicazioni nel caso in cui si decida di non sottoporsi allo screening (es: diagnosi tardiva o mancata diagnosi);</li><li>• condizioni indagabili nelle gravidanze singole ed in quelle gemellari e come il risultato verrà riportato in queste ultime.</li></ul>
<b>Frazione fetale e risultati inconclusivi</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• se il test misura o meno la FF e se la riporta nel referto;</li><li>• cut-off minimo di FF adottato dal laboratorio;</li><li>• tasso interno dei risultati non conclusivi possibilmente divisi tra bassa FF e scarsa qualità, e tra primo e secondo prelievo;</li><li>• descrizione dei principali fattori noti che possono essere causa di risultati non conclusivi (per bassa FF o per scarsa qualità)</li><li>• policy del laboratorio riguardo ai risultati non conclusivi.</li></ul>
<b>Risultati incidentali</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• possibilità e incidenza di risultati inattesi;</li><li>• qualora la gestante desideri essere informata di eventuali esiti inattesi è opportuno che lo segnali in sede di consulenza e lo esprima nel consenso;</li><li>• possibilità che eventuali risultati inattesi implicino l'esecuzione di accertamenti medici sulla donna e/o sul feto e/o sul neonato, che potrebbero protrarsi anche nel periodo post-natale.</li></ul>



## 4. Allegati

### 4.1. Allegato 1 - Esempio di informativa per NIPT/cfDNA test per Trisomie 21,18,13 e sesso fetale

*(tale modello viene fornito a titolo esemplificativo e può essere modificato a seconda delle circostanze, dei target cromosomici offerti e dei contesti in cui viene inserito il test)*

Gentile Signora,

prima di effettuare il test di screening NIPT (Non Invasive Prenatal Test) su DNA fetale circolante nel sangue materno, è indispensabile che Lei sia informata e comprenda in modo appropriato che cosa è l'analisi alla quale può sottoporsi, le opportunità, i limiti, le eventuali alternative possibili e le implicazioni etiche e giuridiche, al fine di potere effettuare una scelta consapevole. Nel caso in cui alcune informazioni non Le risultino chiare, Lei potrà chiedere approfondimenti allo specialista durante i colloqui di consulenza.

#### Test prenatale non invasivo NIPT/cfDNA test: che cosa è?

Il NIPT/cfDNA test è **una indagine di laboratorio** che può essere effettuata, per ottenere alcune informazioni sul corredo cromosomico del feto, in gestanti a partire dalla 9-10a settimana di gestazione. Non è un'analisi obbligatoria, e perciò Lei potrà liberamente scegliere se sottoporsi o meno al test.

Il test viene definito "**non invasivo**" in quanto consiste in un prelievo standard di sangue alla madre (circa 10-20 ml). Il sangue prelevato contiene DNA libero circolante (cfDNA), una percentuale di DNA di origine materna ed una percentuale di DNA della placenta di derivazione embrionale. Il DNA è il "codice" che identifica le caratteristiche genetiche individuali, il DNA è contenuto nei cromosomi e il NIPT, andando ad indagare il DNA circolante, è in grado di **definire la probabilità** della presenza nel feto di alcune patologie cromosomiche.

**Non si tratta quindi di un test diagnostico**, in quanto l'analisi **non fornisce una certezza** riguardo la presenza o l'assenza nel feto delle patologie cromosomiche indagate (che di seguito saranno precisate), **ma di un test di screening probabilistico**, in quanto **definisce la probabilità, e perciò il rischio**, che il feto ne possa essere affetto. Non è pertanto sostitutivo delle altre indagini cliniche, laboratoristiche e strumentali che fanno parte integrante del monitoraggio della gravidanza, inclusa la diagnosi prenatale invasiva.

Un risultato ad **alto rischio** Le sarà comunicato e spiegato attraverso una **consulenza genetica**, nel corso della quale saranno discussi e concordati eventuali successivi **approfondimenti diagnostici** a cui Lei potrà sottoporsi utilizzando tecniche invasive (ad es. **villocentesi o amniocentesi**), ovvero tecniche basate sull'acquisizione diretta di materiale fetale.

#### Prestazioni e limiti del test prenatale non invasivo NIPT/cfDNA test [scrivere il nome del test applicato]

Il test [scrivere il nome del test] eseguito presso [nome del laboratorio] presenta le seguenti prestazioni e limiti:

- È possibile analizzare sia gravidanze singole che gemellari (con non più di 2 feti) ottenute spontaneamente o con fecondazione in vitro anche con donazione eterologa dei gameti. In tale caso è necessario comunicare questa informazione riportando l'età della donatrice, la tecnica PMA applicata e il numero degli embrioni trasferiti [**questa frase può cambiare a seconda dei test**].
- Il test misura la probabilità che il feto sia affetto da una trisomia tre copie invece di due di un cromosoma) dei cromosomi 21,18, 13. La trisomia 21 (T21) si associa alla sindrome di Down; la trisomia 18 (T18) si associa alla sindrome di Edwards; la trisomia 13 (T13) si associa alla sindrome di Patau;
- La trisomia 21 (sindrome di Down) è uno delle anomalie cromosomiche più comuni identificate alla nascita. Si associa ad un aumento del rischio di aborto spontaneo o morte fetale intrauterina. Gli individui con sindrome di Down hanno disabilità intellettiva da lieve a moderata, tratti caratteristici del viso e possono avere condizioni mediche curabili, come difetti congeniti cardiaci, basso tono muscolare e bassi livelli della funzionalità tiroidea;
- Le trisomie 18 e 13 sono significativamente meno frequenti a termine gravidanza rispetto alla trisomia 21. C'è un aumento del rischio di aborto spontaneo o morte fetale intrauterina, e spesso ci sono più anomalie congenite rilevabili



all'ecografia. Nei rari casi in cui la gravidanza arriva a termine i neonati con trisomia 18 e trisomia 13 hanno gravi disabilità fisiche e intellettive e la loro sopravvivenza oltre un anno di età è rara.

- Il test [*quantifica/non quantifica*] e [*riporta/non riporta*] nel referto la frazione fetale in ogni campione; il livello minimo di frazione fetale considerata è [%]; nelle gravidanze gemellari il test misura entrambe le frazioni fetali e riporta il risultato solo se entrambi raggiungono il livello minimo di [%] [*questa frase può cambiare a seconda dei test*]

- Le performance sono:

	Sensibilità (%) (95%CI)	Specificità (%) (95%CI)	VPP (%) (95%CI)
Trisomia 21	XX% (XX-XX%)	XX% (XX-XX%)	XX% (XX-XX%)
Trisomia 18	XX% (XX-XX%)	XX% (XX-XX%)	XX% (XX-XX%)
Trisomia 13	XX% (XX-XX%)	XX% (XX-XX%)	XX% (XX-XX%)

- L'accuratezza nella valutazione del sesso fetale XX% (XX-XX%) (gravidanze singole) e XX% (XX-XX%) (gravidanze gemellari);
- **Nelle gravidanze gemellari** le performance del test per T21 non sono completamente note e i dati sono insufficienti per differenziare gravidanze monooriali/omozigoti e bicoriali/dizigoti. Dati preliminari indicherebbero performance per la T21 simili a quelle delle gravidanze singole; il risultato ottenuto è unico per entrambi i gemelli ed esprime una probabilità distribuita tra i due feti. Un risultato ad alto rischio non consente di definire quale dei due sia affetto e neppure quale abbia una probabilità più elevata di patologia cromosomica. Relativamente al sesso fetale, il risultato femminile indica la probabile presenza di due feti con sesso femminile, mentre il risultato maschile indica la probabile presenza di almeno 1 feto con sesso maschile [*questa frase può variare a seconda del metodo usato*].
- **Il test non identifica tutti i feti con patologia cromosomica** in quanto è mirato alla valutazione delle sole trisomie 21,18,13 in forma omogenea. Esiste pertanto un rischio residuo per altre patologie cromosomiche clinicamente significative non indagate dal test (microdelezioni/microduplicazioni e altre patologie cromosomiche e geniche) che è specifico per ogni gestante e che può essere ridotto significativamente solo con la diagnosi prenatale invasiva (cariotipo fetale ed eventuali approfondimenti);
- **Il test non identifica tutti i feti affetti dalle trisomie indagate:** la probabilità di un risultato falso negativo (cioè che non venga rilevata la presenza di un'anomalia genetica effettivamente presente) è [*percentuale interna*] a seconda della trisomia indagata.
- Il test può sospettare la presenza di una trisomia che di fatto non c'è: il rischio di falso positivo è globalmente del [*percentuale interna*] %; per tale ragione il risultato positivo del test di screening dovrebbe essere eventualmente confermato con una diagnosi invasiva (villocentesi o amniocentesi).
- Condizioni biologiche presenti nella madre e/o nel feto/placenta possono causare **un risultato discordante dalla reale costituzione fetale (falsi positivi e negativi)**; esse sono: mosaicismi feto-placentari, gemello riassorbito/evanescente, trasfusioni o trapianti materni, anomalie cromosomiche materne, tumori (anche benigni) materni (es: fibromi, ...). Queste condizioni biologiche giustificano la sensibilità e la specificità del test sempre inferiori al 100% e l'indicazione ad eseguire conferma diagnostica invasiva dopo un risultato ad alto rischio;
- Nel [%] dei casi il test non fornisce un risultato, per bassa percentuale di DNA fetale o per altre cause legate alla bassa qualità dei risultati. Nei casi in cui al primo prelievo vi sia un risultato non conclusivo verrà richiesto un secondo prelievo; in circa il [%] di questi, il test consente di ottenere un risultato su secondo prelievo.
- Il test **non individua/può individuare** risultati inattesi correlati a condizioni materne o fetali diverse da quelle indagate dal test, ed è sua facoltà esprimere il desiderio di esserne messa a conoscenza.
- In caso di risultato non conclusivo [*verrà/NON verrà*] rimborsato il costo del test.
- I tempi di refertazione sono di circa XX giorni.



## 4.2. Allegato 2 - Esempio di scheda anamnestica

### SCHEDA GESTANTE PER RACCOLTA DATI NIPT/cfDNA TEST

(tale modello, fornito a titolo esemplificativo, è da allegare al consenso informato e può essere modificato a seconda delle circostanze, dei target cromosomici offerti e dei contesti in cui viene inserito il test)

#### DATI PERSONALI

Cognome: \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_

nata a: \_\_\_\_\_ il: \_\_\_\_\_ C.F.: \_\_\_\_\_

residente in: \_\_\_\_\_ Provincia: \_\_\_\_\_ CAP: \_\_\_\_\_

indirizzo: \_\_\_\_\_ tel.: \_\_\_\_\_

INVIANTE: Clinico di riferimento: \_\_\_\_\_ - Struttura: \_\_\_\_\_

#### ANAMNESI

SI  NO Anomalie congenite (anche corrette chirurgicamente) \* / altre patologie\*

SI  NO Malattie autoimmuni\*/ infiammatorie\*

SI  NO Tumore\* (anche fibromi)

SI  NO Trapianto allogenico\* / terapia con cellule staminali allogeniche\*

SI  NO Recenti trasfusioni / radioterapia / immunoterapia / terapia con eparina/altre terapie in corso\*

\*da inserire nelle note: tipologia, anno di insorgenza/esecuzione

#### DATI PRECEDENTI GRAVIDANZE

N° parità: \_\_\_\_\_

SI  NO Precedenti aborti spontanei/ morti perinatali - N°/epoca gestazionale/anno/cariotipo: \_\_\_\_\_

SI  NO Precedente prole affetta: \_\_\_\_\_

SI  NO Diagnosi prenatale invasiva in precedenti gravidanze – Tipo e risultato: \_\_\_\_\_

SI  NO Cariotipo della coppia: \_\_\_\_\_

#### DATI GRAVIDANZA IN CORSO

Peso: \_\_\_\_\_ Altezza: \_\_\_\_\_ BMI: \_\_\_\_\_ Parità: \_\_\_\_\_ U.M.: \_\_\_\_\_ U.S.: \_\_\_\_\_ Se IVF, data trasfer.: \_\_\_\_\_ Epoca gestaz.: \_\_\_\_\_

SI  NO Fecondazione assistita – Tecnica: \_\_\_\_\_ N° embrioni trasferiti: \_\_\_\_\_

SI  NO Ovociti propri – Età della donna al prelievo degli ovociti: \_\_\_\_\_

SI  NO Ovodonazione – Età della donatrice (può non essere necessario per alcuni test): \_\_\_\_\_

SI  NO Ecografia I trim./ altro screening prenatale - Tipo e risultato: \_\_\_\_\_

SI  NO Vanishing twin

#### DATI PRELIEVO

Motivazione di esecuzione del NIPT: \_\_\_\_\_

Data prelievo: \_\_\_\_\_ Ora: \_\_\_\_\_ Quantità: \_\_\_\_\_

Test richiesto:  T13 – T18 – T21  Sesso fetale  \_\_\_\_\_

Note: \_\_\_\_\_

Data raccolta dati: \_\_\_\_\_ Firma leggibile del sanitario che ha raccolto i dati: \_\_\_\_\_



## Bibliografia

1. Consiglio Superiore di Sanità, "Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non Invasive Prenatal Testing – NIPT)" (2015) [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2381\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2381_allegato.pdf) ;
2. SIGU Società Italiana di Genetica Umana, 'Documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasivi' (2016) <https://www.sigu.net/show/documenti/5/1/linee%20guida%20e%20raccomandazioni?page=0>;
3. SIGU Società Italiana di Genetica Umana, 'Documento di indirizzo sulla conferma diagnostica dopo NIPT con risultato ad alto rischio, non informativo o sesso discordante' Approvato da: Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica e Metodologie Biofisiche (SIEOG), Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO) e Associazione Ostetrici e Ginecologi Ospedalieri Italiani (AOGOI) (2020). <https://www.sigu.net/commissioni/more/sezione-id/5/area/Documenti> )
4. SIGU Società Italiana di Genetica Umana, 'Proposta di protocollo di screening prenatale per la valutazione del rischio di aneuploidie dei cromosomi 21, 18, 13' (2018) <https://www.sigu.net/>
5. Consiglio Superiore di Sanità, "Impatto socio-economico del test del cfDNA/NIPT in Sanità pubblica" <http://docplayer.it/187610825-Ministero-della-salute.html>
6. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 50:302-314 (2017)
7. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimester. *N England J Med.* 341: 461-467 (1999);
8. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 191:45-67 (2004)
9. van der Meij KRM, Sistermans EA, Macville MVE, Stevens SJC, Bax CJ, Bekker MN, Bilardo CM, Boon EMJ, Boter M, Diderich KEM, de Die-Smulders CEM, Duin LK, Faas BHW, Feenstra I, Haak MC, Hoffer MJV, den Hollander NS, Hollink IHIM, Jehes FS, Knapen MFCM, Kooper AJA, van Langen IM, Lichtenbelt KD, Linskens IH, van Maarle MC, Oepkes D, Pieters MJ, Schuring-Blom GH, Sikkel E, Sikkema-Raddatz B, Smeets DFCM, Srebniak MI, Suijkerbuijk RF, Tan-Sindhunata GM, van der Ven AJEM, van Zelderen-Bhola SL, Henneman L, Galjaard RH, Van Opstal D, Weiss MM; Dutch NIPT Consortium. TRIDENT-2: National Implementation of Genome-wide Non-invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands. *Am J Hum Genet.* 105:1091-1101 (2019)
10. Wang Y, Chen Y, Tian F, Zhang J, Song Z, Wu Y, Han X, Hu W, Ma D, Cram D, Cheng W. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Clin Chem.* 2014 Jan;60(1):251-9