

Diagnostica Prenatale: attualità e prospettive
Taranto 1 Ottobre 2016

Diagnostica prenatale dei difetti genetici
Il ruolo del genetista: la consulenza genetica

Dr Luigi Antonio Greco
Servizio di Genetica ASL Taranto

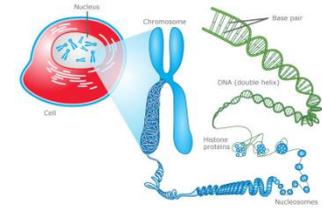


test genetici



“I test genetici sono analisi finalizzate ad individuare la presenza, l’assenza o la mutazione di un particolare cromosoma, di un gene, del prodotto di un gene o di un metabolita, indicative di una specifica modificazione genetica”.

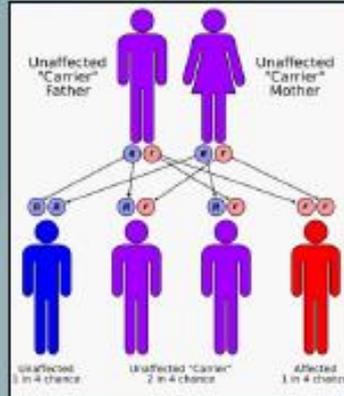
UK Human Genetic Commission (2009)



Test genetici tradizionali



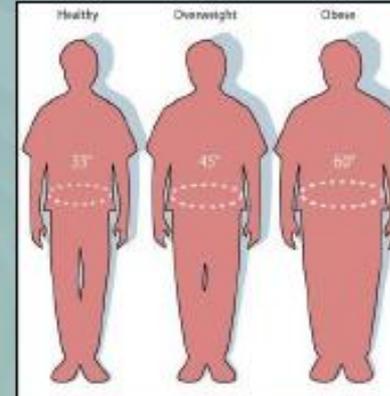
diagnostici



portatori sani



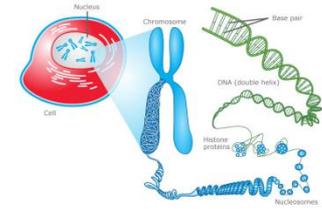
presintomatici



predittivi



di farmacogenetica



test genetico

“Il test genetico deve essere considerato un servizio integrato, nel senso che deve essere sempre preceduto e seguito da una informazione specifica (*consulenza genetica collegata al test genetico*)” svolta dal medico o biologo specialisti in Genetica Medica

*Conferenza Stato-Regioni, 15 luglio 2004,
Linee-Guida per le Attività di Genetica Medica*



Consulenza Genetica

Processo di comunicazione che affronta i problemi umani associati all'insorgenza, o al rischio di insorgenza, di un disordine genetico nella famiglia.

American Society of Human Genetics, 1975



Consulenza Genetica

La consulenza genetica è un servizio con il quale i pazienti o i familiari di un paziente, a rischio per una malattia che può essere genetica, sono informati delle conseguenze di quella malattia, della probabilità di svilupparla e di trasmetterla e delle modalità con le quali può essere prevenuta o trattata.

Consulenza Genetica

Processo di comunicazione

aspettative
storia familiare
dubbi
sentimenti
richieste



"educazione"
Probabilità di eredo-
familiarità
rischio individuale
opzioni preventive



bidirezionale



mettere il paziente in condizione di compiere scelte informate e consapevoli



Consulenza Genetica obiettivi

- Diagnosi
- Individuazione dei portatori sani
- Selezione degli individui da sottoporre ai test genetici pre- e post natali
- Calcolo del rischio di ricorrenza
- Prevenzione
- Trattamento
- Supporto di tipo psicologico per il paziente o la famiglia



Consulenza Genetica *fasi*

- Raccolta delle informazioni
 - Anamnesi personale e familiare
 - Si annotano informazioni, le più precise possibili, sui diversi componenti della famiglia, compresi i deceduti
 - Cartelle cliniche, altra documentazione sanitaria , foto

Consulenza Genetica fasi

• Costruzione dell'albero genealogico

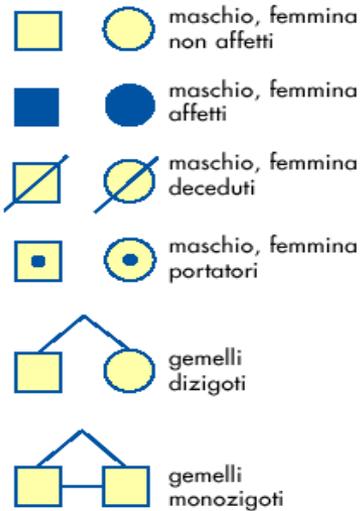
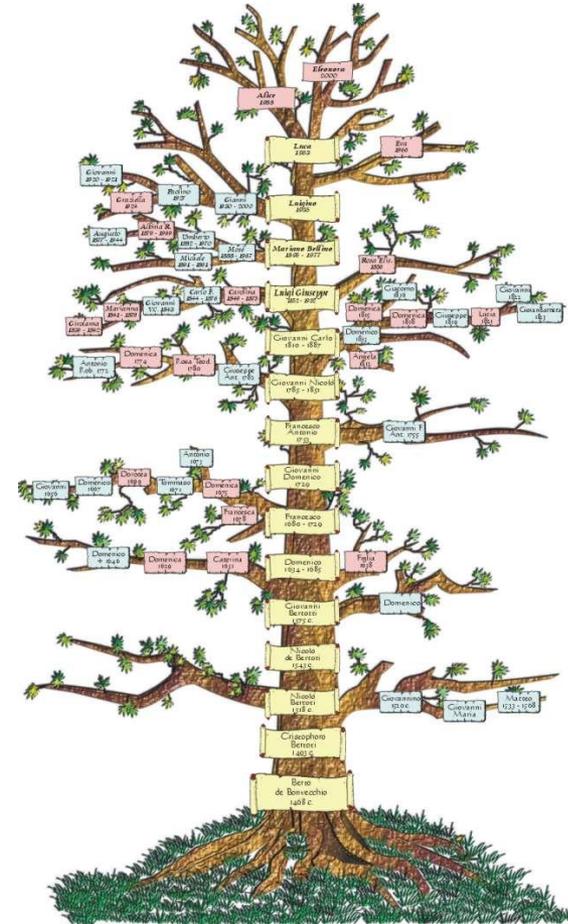
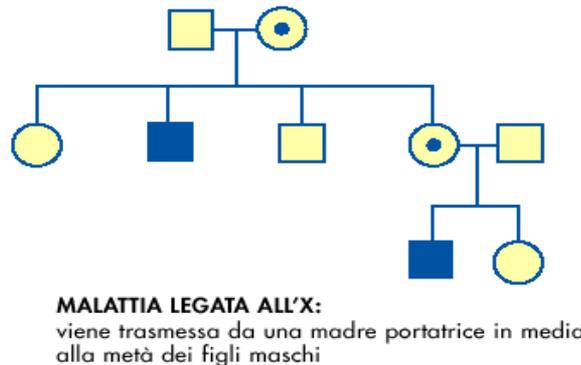
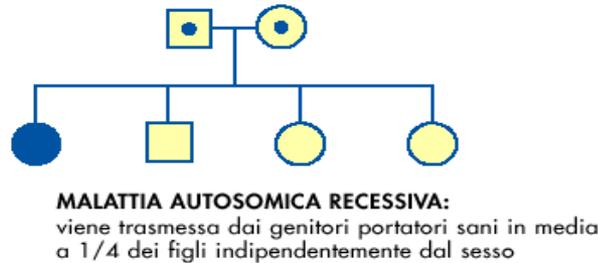


figura 1. Disegnare l'albero genealogico di una famiglia è il primo importante passo per raccogliere informazioni sulla sua storia medica e per farsi un'idea approssimativa del rischio di malattia per un particolare individuo di quella stessa famiglia. Per convenzione, nel tratteggiare l'albero familiare, si utilizzano i simboli indicati qui in alto. Di seguito sono illustrati alcuni esempi di alberi genealogici per malattie a trasmissione autosomica dominante, autosomica recessiva e legata all'X, con l'indicazione delle probabilità di trasmissione di un carattere alla progenie.





Consulenza Genetica e test genetici

Consulenza pre-test

- Identificazione dei possibili test genetici utili
- Informazione ai pazienti sul tipo di test suggerito
- Scelta del paziente riguardo al sottoporsi o meno al test

Consulenza post-test

- Comunicazione ai pazienti dei risultati del test
- Suggerimenti su eventuali protocolli terapeutici o preventivi
- Supporto psicologico



Consulenza Genetica e diagnosi prenatale

- Il 3% dei nati presenta un handicap con componente genetica
- Questo valore è il rischio minimo che ogni coppia presenta al momento della scelta riproduttiva
- La consulenza genetica deve stabilire se una coppia ha un rischio *uguale* o *superiore* al rischio di specie



Consulenza Genetica *consenso*

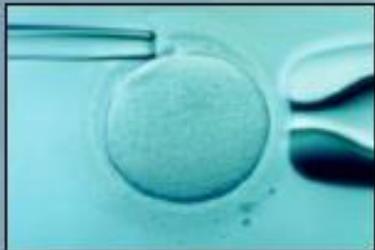
Necessità di rendere esplicito
l'**ACCORDO** tra il soggetto e il
consulente in armonia con i principi
di **SCELTA AUTONOMA**



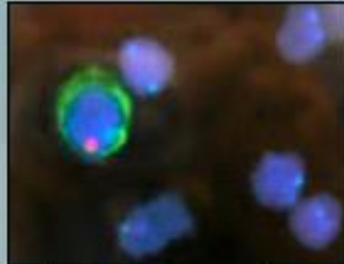
**CONSENSO
INFORMATO**



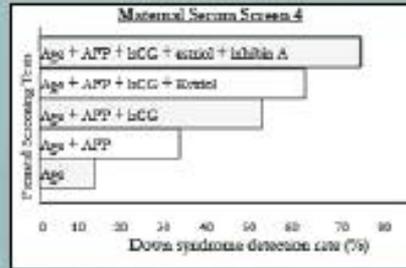
Test genetici prenatali



Analisi del globulo polare



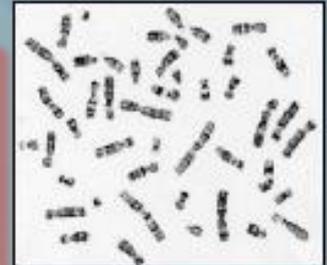
Cellule fetali circolanti



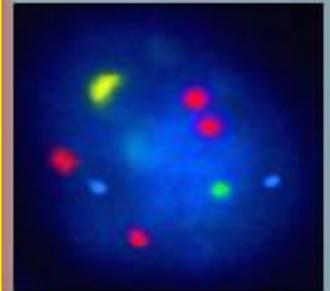
Screening biochimico



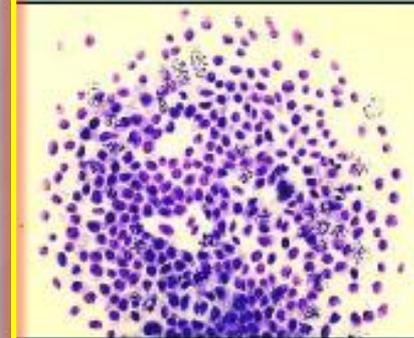
Villi coriali



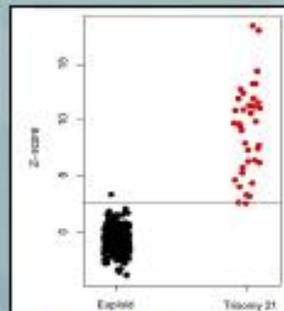
Citogenetica



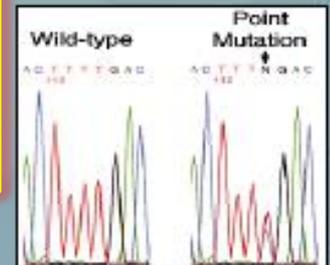
Citogenetica molecolare



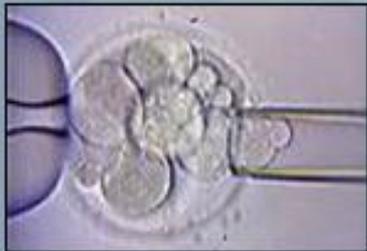
Amniociti



DNA fetale circolante

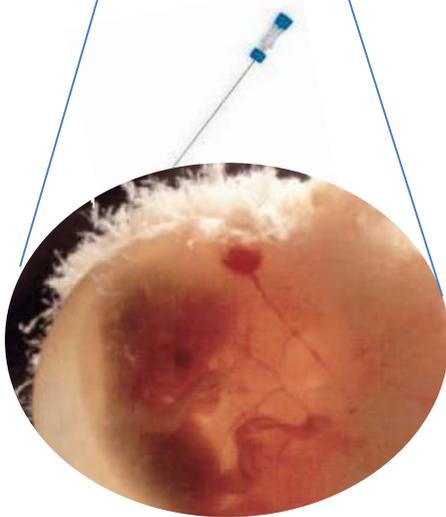
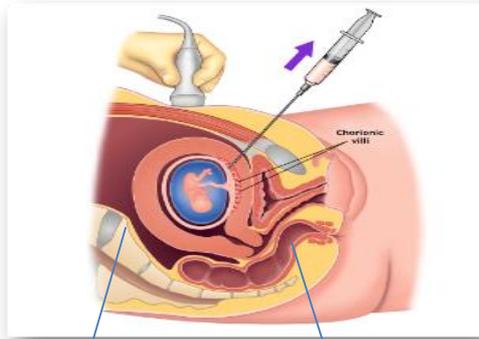


Genetica molecolare



Diagnosi preimpianto

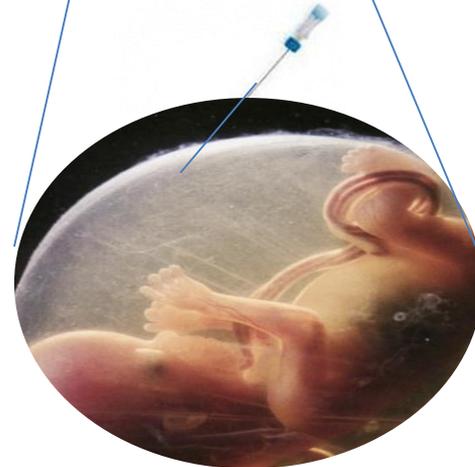
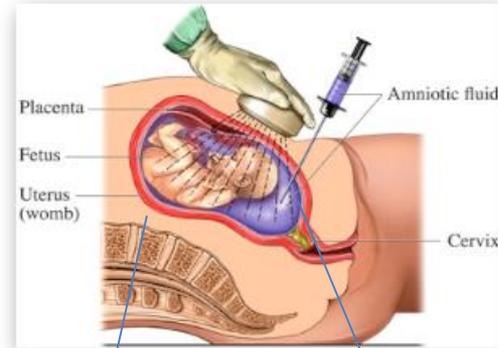
CVS



Dolori crampiformi, perdita ematica, infezione

Aborto : 2-3%

AFI



Contrazioni, perdita ematica e di liquido, infezione

Aborto : 0.5%

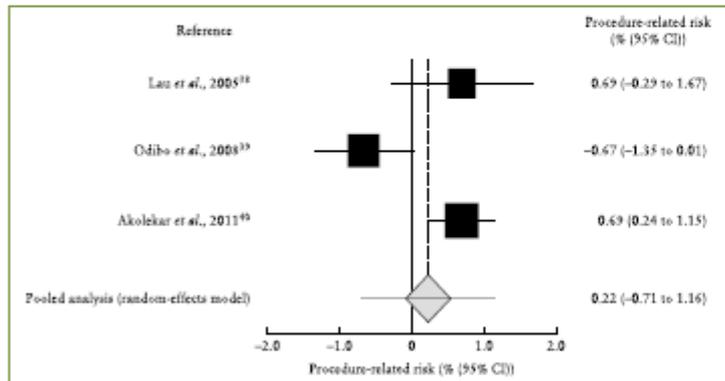
Rischio legato alla diagnosi prenatale invasiva

Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45: 16–26
 Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14636

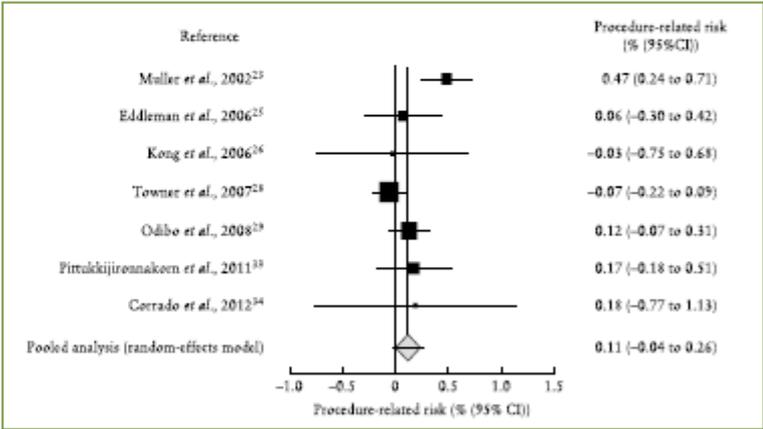
Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis

R. AKOLEKAR*†, J. BETA*, G. PICCIARELLI*, C. OGILVIE‡ and F. D'ANTONIO§

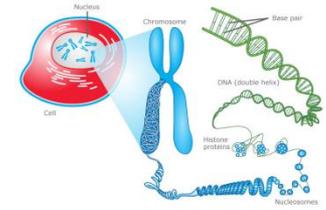
*Fetal Medicine Unit, Medway Maritime Hospital, Gillingham, Kent, UK; †Harris Birthright Research Centre, King's College Hospital, London, UK; ‡Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust and King's College, London, UK; §Fetal Medicine Unit, St George's Hospital, London, UK



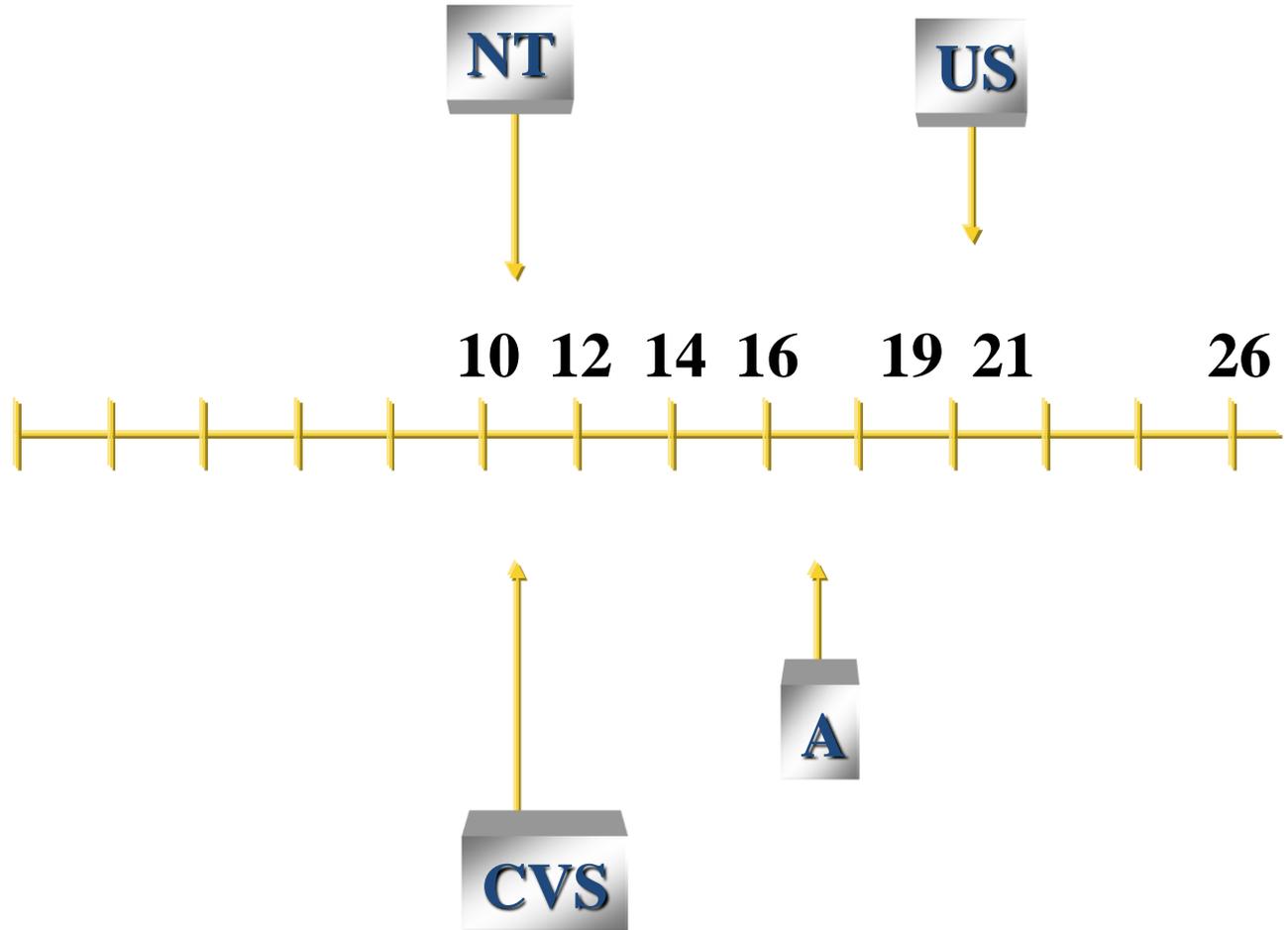
CVS 0.2%



AC 0.1%



Weeks of pregnancy





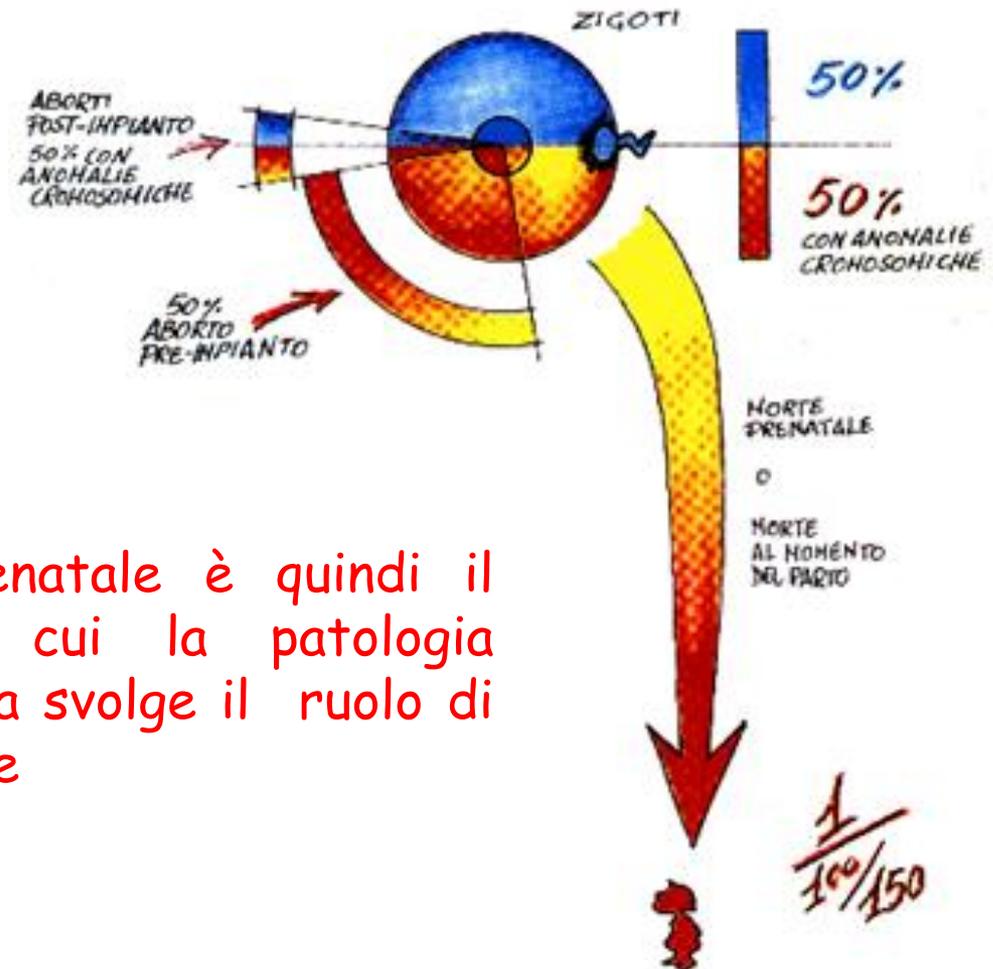
Incidenza delle anomalie cromosomiche

Tipo di anomalia	Incidenza
Aneuploidie degli autosomi	1 / 700
Trisomia 21	1 / 830
Trisomia 18	1 / 7.500
Trisomia 13	1 / 22.700
altre aneuploidie	1 / 34.000
Crom. sessuali in MASCHI	1 / 360
47,XXY	1 / 1.000
47,XYY	1 / 1.000
altre aneuploidie X o Y	1 / 2.350
Crom. sessuali in FEMMINE	1 / 580
45,X	1 / 4.000
47,XXX	1 / 900
altre aneuploidie X	1 / 2.700
Anomalie strutturali (autosomi, X e Y)	1 / 375
Bilanciate (Non Robertsoniane)	1 / 885
Bilanciate (Robertsoniane)	1 / 1.100
Sbilanciate (Non Robertsoniane)	1 / 1.800
Sbilanciate (Robertsoniane)	1 / 13.600

Patologia cromosomica

Le patologie cromosomiche, singolarmente rare, hanno un peso importante in termini di incidenza alla nascita e prevalenza nella popolazione generale

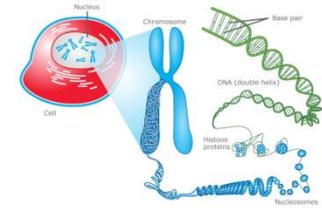
La conseguenza di gran lunga più frequente della patologia cromosomica è l'aborto



L'epoca prenatale è quindi il teatro in cui la patologia cromosomica svolge il ruolo di primo attore

Citogenetica convenzionale

Cariotipo



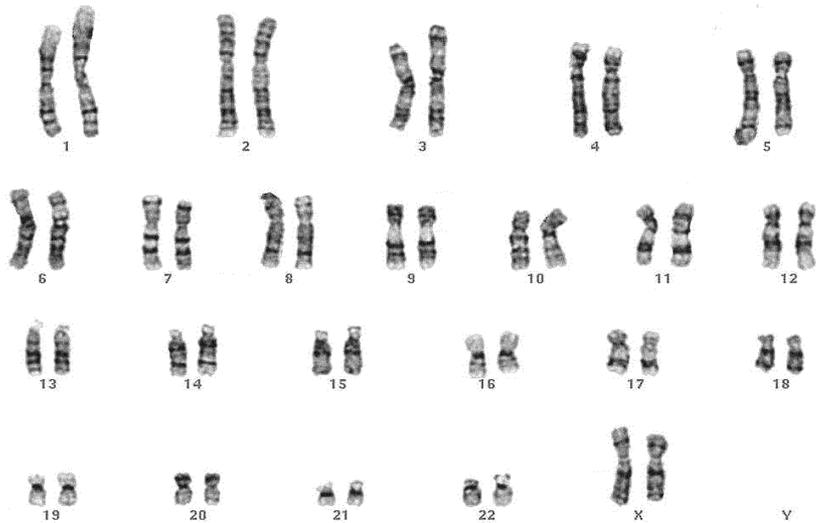
Human female G-bands



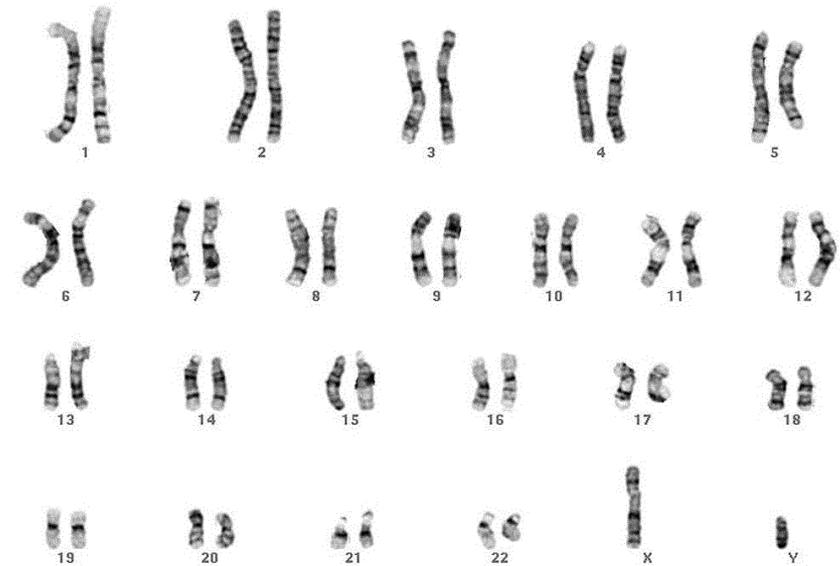
Human male G-bands

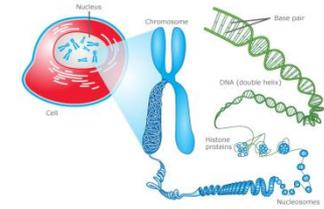


Human female G-bands

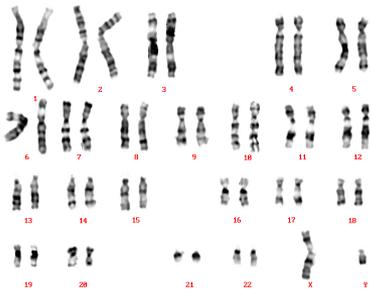


Human male G-bands





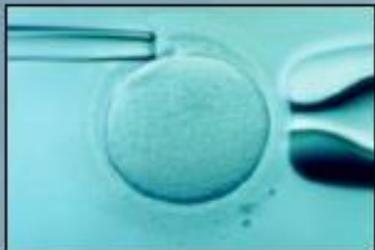
Tecniche citogenetiche e molecolari con AF/CVS



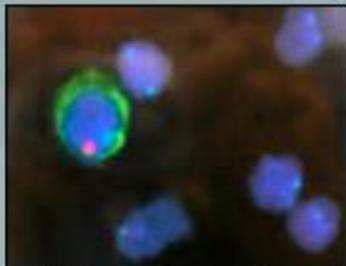
Trimester - Test	Sensitivity	Specificity
1 st – Villocentesis	99.25% ¹	98.65% ¹
2 nd - Amniocentesis	99.4% ²	99.5% ²

1. Hahnemann JM, Vejerslev LO. Accuracy of cytogenetic findings on chorionic villus sampling (CVS)-diagnostic consequences of CVS mosaicism and non-mosaic discrepancy in centres contributing to EUCROMIC 1988-1992. *Prenat Diagn* 1997;17(9):801-20
2. Mid-trimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. *JAMA* 1976;236(13):1471-6.

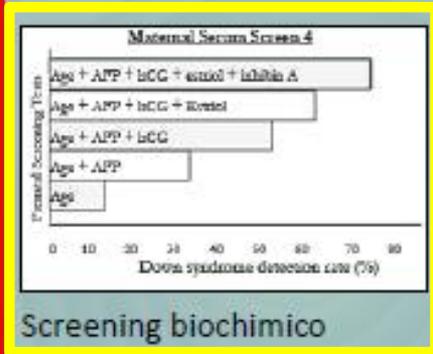
Linee di ricerca finalizzate allo sviluppo di procedure non invasive



Analisi del globulo polare



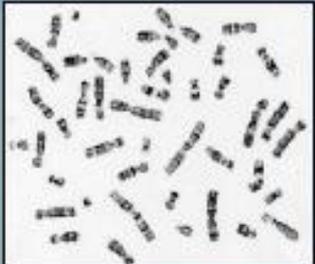
Cellule fetali circolanti



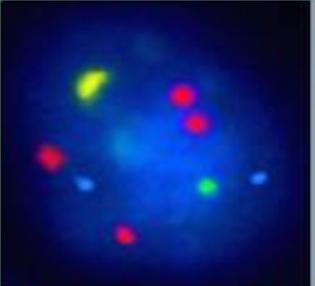
Screening biochimico



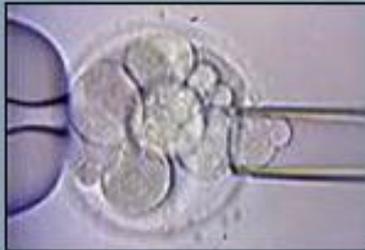
Villi coriali



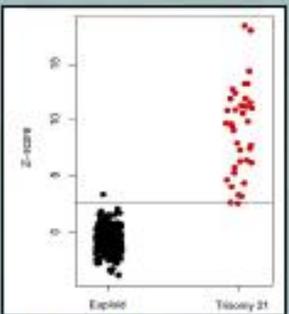
Citogenetica



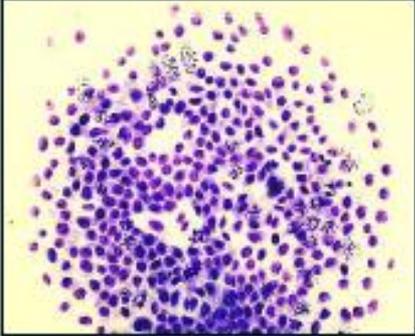
Citogenetica molecolare



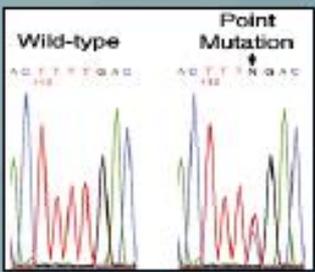
Diagnosi preimpianto



DNA fetale circolante



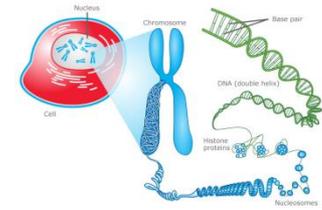
Amniociti



Genetica molecolare

Test sierologici su sangue materno

per la definizione del rischio di Sindrome di Down



DOPPIO, TRIPLO, QUADRUPLO TEST

I°-II° trimestre → valutazione di:

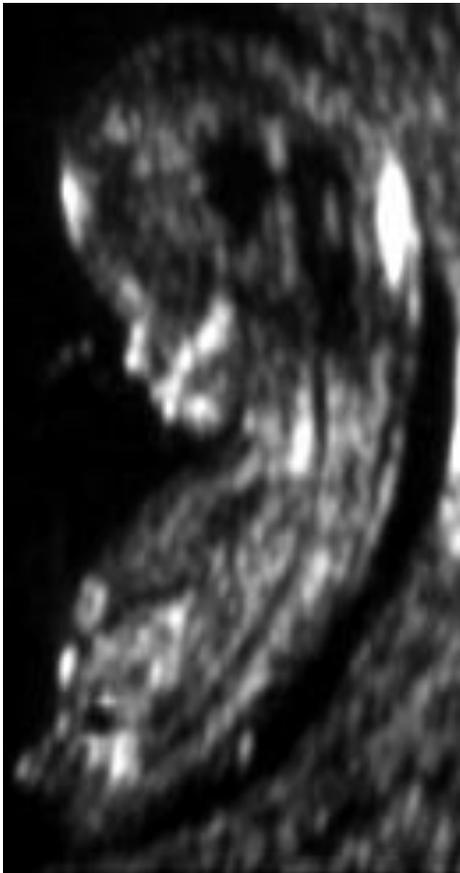
- α-fetoproteina (α-FP)
- β-hCG totale
- estradiolo non coniugato (uE3)
- inibina A

BI TEST

TRI TEST

QUADRUPLO TEST

*Screening ecografico della trisomia 21
nel I trimestre
Traslucenza Nucale (NT)*



Translucenza nucale aumentata ed outcome



Translucenza Nucale	Anomalie Cromosomiche	Cariotipo normale		Vivi & sani
		Morte fetale	Anomalie Maggiori	
<95 th centile	0.2%	1.3%	1.6%	97%
95 th -99 th centil.	3.7%	1.3%	2.5%	93%
3.5-4.4 mm	21.1%	2.7%	10.0%	70%
4.5-5.4 mm	33.3%	3.4%	18.5%	50%
5.5-6.4 mm	50.5%	10.1%	24.2%	30%
>6.5 mm	64.5%	19.0%	46.2%	15%

Limitazioni degli screening convenzionali



1 ogni 20 donne ricevono un risultato positivo

La maggior parte di questi risultati risulteranno "falsi positivi"



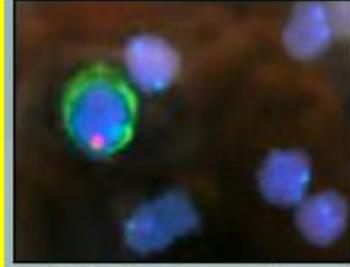
19 donne su 20 ricevono un risultato "negativo"

Considerando un tasso di rilevamento dell' 80-95%, queste donne presenteranno ancora un rischio residuo per la trisomia

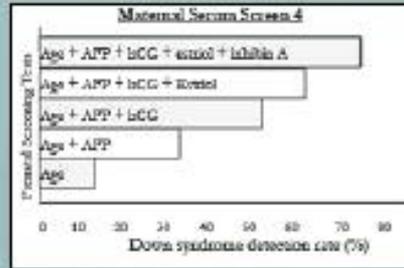
Da alcuni decenni sono state portate avanti diverse linee di ricerca finalizzate allo sviluppo di procedure non invasive con l'intento di ridurre i rischi per il feto e di anticipare i tempi della diagnosi prenatale



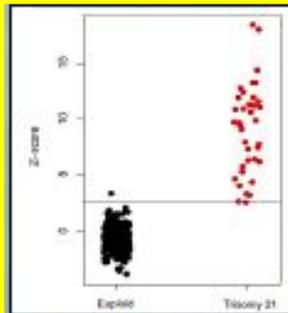
Analisi del globulo polare



Cellule fetali circolanti



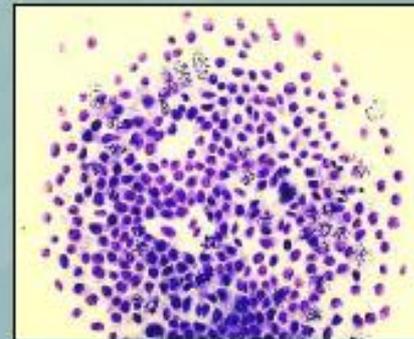
Screening biochimico



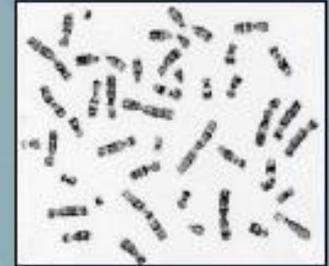
DNA fetale circolante



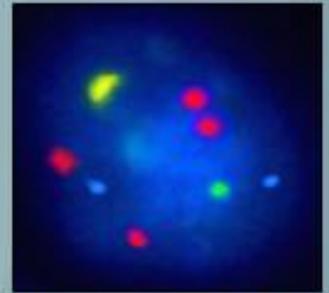
Villi coriali



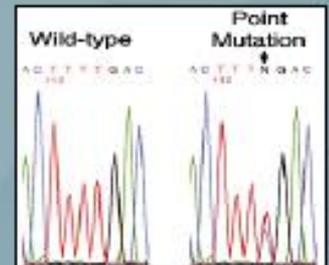
Amniociti



Citogenetica

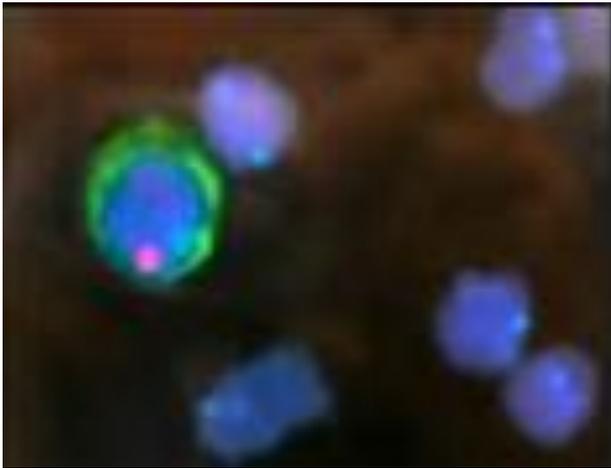


Citogenetica molecolare



Genetica molecolare

cellule fetali intatte nel circolo ematico materno



Nonostante l'impegno profuso per anni non è stato possibile sviluppare, sulle cellule fetali, un approccio diagnostico trasferibile alla pratica clinica, a causa delle difficoltà di isolamento e analisi delle cellule stesse

Early report

Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum

Y M Dennis Lo, Noemi Corbetta, Paul F Chamberlain, Vik Rai, Ian L Sargent, Christopher W G Redman, James S Wainscoat

Vol 350 • August 16, 1997

- ❖ YM Dennis Lo describe per la prima volta la determinazione del sesso fetale attraverso l'analisi del cfDNA (cell-free DNA) estratto da plasma materno, in un gruppo di donne in gravidanza con feto di sesso maschile



Nuove tecnologie

TECNOLOGIE AD ALTA SENSIBILITA'

- ❖ Digital PCR
- ❖ Massively Parallel Sequencing (MPS) sull'intero genoma o su sequenze target
- ❖ SNP-based NGS
- ❖ Digital Analysis of Selected Regions (DANSR)

+ l'applicazione di algoritmi dedicati

TEST DI SCREENING PRENATALE DELLE PIU' COMUNI

ANEUPLOIDIE FETALI (trisomia dei cromosomi 21, 13, 18,
aneuploidie dei cromosomi sessuali)

Since its introduction to clinical practice in Hong Kong in 2011, NIPT has quickly spread across the globe.

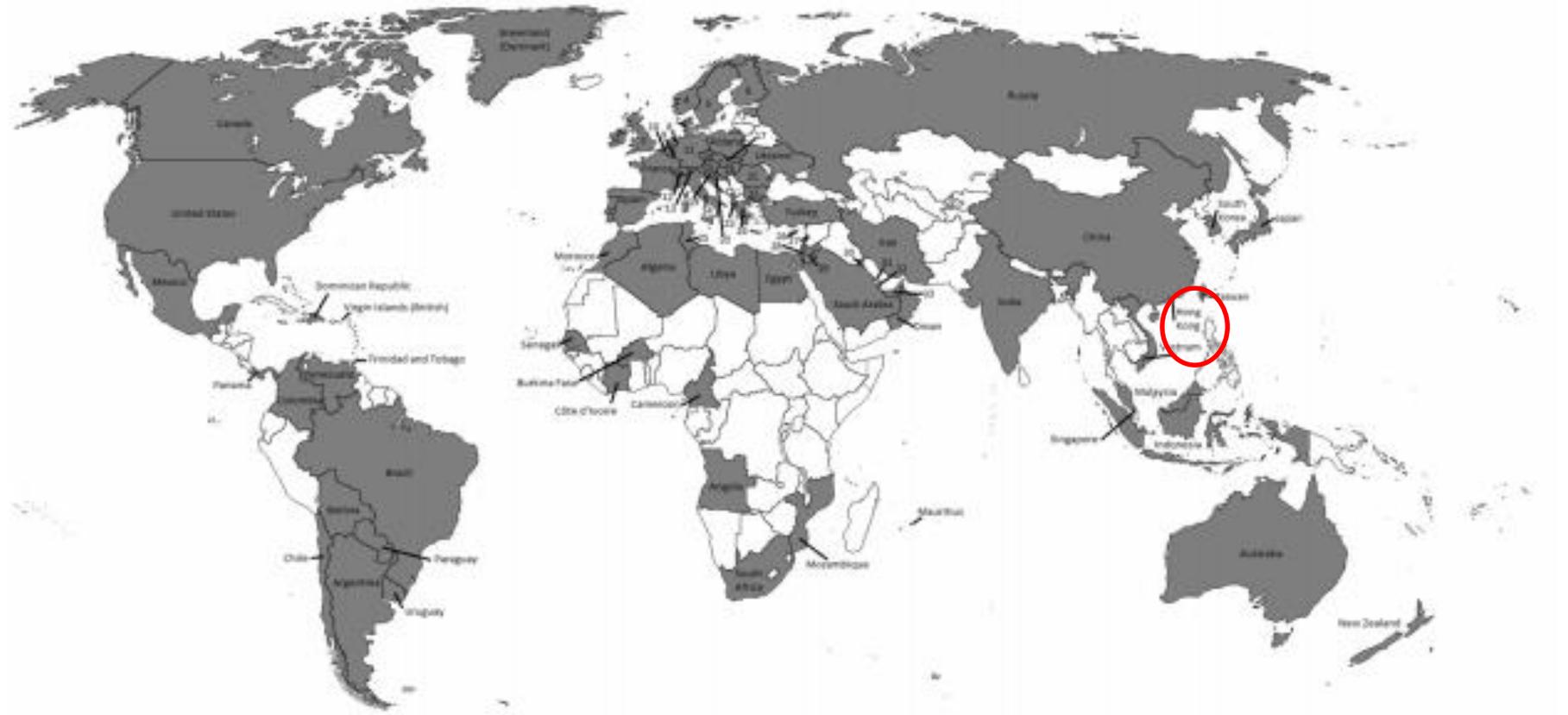


Figure 1 Global availability of noninvasive prenatal genetic testing (NIPT).
Notes: Countries where NIPT is currently marketed or in which marketing deals have been signed are presented. The list of countries was generated from Internet searches of press releases, company websites, industry trade reports, and newspapers/popular press articles between January 1, 2012 and April 30, 2014. The list is not exhaustive, as we relied only on publicly available information in English. Only commercial offerings of NIPT for chromosomal aneuploidies using cell-free fetal DNA are included. Numbered countries are as follows: 1) Portugal, 2) Ireland, 3) United Kingdom, 4) Norway, 5) Sweden, 6) Finland, 7) Denmark, 8) the Netherlands, 9) Luxembourg, 10) Belgium, 11) Germany, 12) Switzerland, 13) Liechtenstein, 14) Italy, 15) Austria, 16) Czech Republic, 17) Slovakia, 18) Hungary, 19) Slovenia, 20) Croatia, 21) Romania, 22) Bulgaria, 23) Albania, 24) Greece, 25) Tunisia, 26) Cyprus, 27) Lebanon, 28) Israel, 29) Jordan, 30) Kuwait, 31) Bahrain, 32) Qatar, and 33) United Arab Emirates.

cfDNA - CARATTERISTICHE

- Rappresenta circa il 10% (3-20%) del DNA extracellulare totale nel plasma materno.
E' presente sotto forma di frammenti di dimensioni ridotte rispetto a quelli che costituiscono la frazione materna

- La placenta ed in particolare le cellule del sinciziotrofoblasto in apoptosi ne sono la fonte principale

- Identificabile con accuratezza dopo la 7^a settimana

- La concentrazione tende ad aumentare progressivamente nel corso della gravidanza e può variare in presenza di aneuploidie fetali (diminuisce in trisomie 13 e 18, aumenta nella trisomia 21)

- L'emivita è breve (circa 16 minuti), non dosabile 2 ore dopo il parto



Lo et al, Am J Hum Genet 1998;62(4):768-75

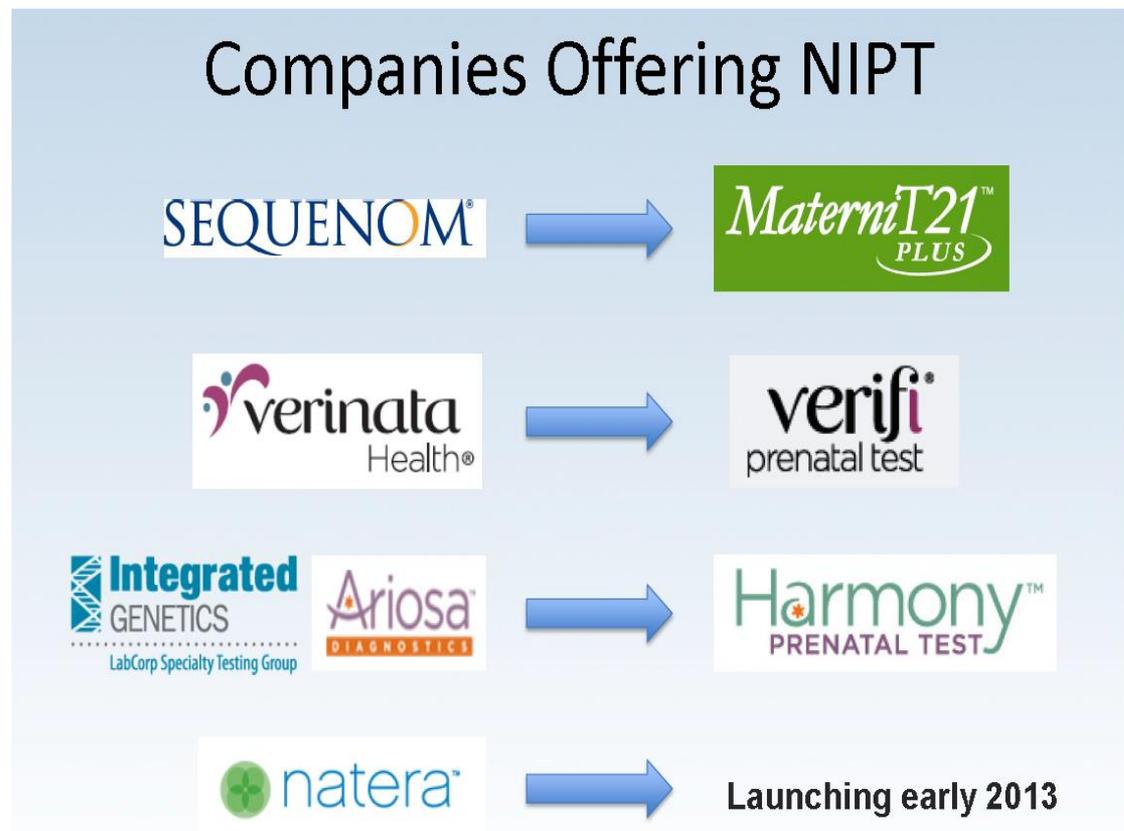
Chan et al, Clin Chem 2004;50(1):88-92

Birch et al, Clin Chem 2005;51(2):312-20

Lo et al, Am J Hum Genet 1999;64(1):218-24

Screening prenatale non invasivo nella pratica clinica

Lo screening prenatale non invasivo delle più frequenti anomalie cromosomiche di numero su cfDNA ha avuto una evoluzione incontenibile, anche in virtù della presenza di interessi commerciali



Screening prenatale non invasivo nella pratica clinica

Il trasferimento del test di screening prenatale non invasivi nella pratica clinica ed il suo ruolo nella diagnosi delle anomalie cromosomiche ha suscitato un profondo dibattito alimentato dallo sviluppo di decine di trials clinici per definirne l'attendibilità

.....
- Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2013;33:662-666.

- 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;6:251-259.

- Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012;367(23):2175-84..

- Yao H, Jiang F, Hu H, Gao Y, Zhu Z, Zhang H, Wang Y, Guo Y, Liu L, Yuan Y, Zhou L, Wang J, Du B, Qu N, Zhang R, Dong Y, Xu H, Chen F, Jiang H, Liu Y, Zhang L, Tian Z, Liu Q, Zhang C, Pan X, Yang S, Zhao L, Wang W, Liang Z. Detection of fetal sex chromosome aneuploidy by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA: initial experience in a Chinese hospital. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44:17-24.

- Yu SC, Jiang P, Choy KW, Chan KC, Won HS, Leung WC, Lau ET, Tang MH, Leung TY, Lo YM, Chiu RW. Noninvasive prenatal molecular karyotyping from maternal plasma. *PLoS One.* 2013;8:e60968.

- Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, Guo Y, Zhu Z, Lin M, Liu Q, Tian Z, Zhang H, Chen F, Lau TK, Zhao L, Yi X, Yin Y, Wang W.. Noninvasive Prenatal Testing for Trisomy 21, 18 and 13 - Clinical Experience from 146,958 Pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jan 19. doi: 10.1002/uog.14792. [Epub ahead of print]

- Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M, Baner J, Ryan A, Sigurjonsson S, Chopra N, Dodd M, Levy B, Rabinowitz M. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn.* 2012;32(13):1233-41.
.....

NIPT - RACCOMANDAZIONI



LINEE GUIDA SIEOG
Edizione 2015

Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)



The American College of
Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS



Society for
Maternal-Fetal
Medicine



STATEMENT NIPT-SIGU FEBBRAIO 2014

SIGU

Società Italiana di Genetica Umana
Italian Society of Human Genetics

**DOCUMENTO DI INDIRIZZO
SULL'IMPIEGO DI INDAGINI
PRENATALI NON INVASIVE**

AGGIORNAMENTO 2016

CONSIGLIO SUPERIORE DI SANITÀ, SEZIONE I

(PRESIDENTE PROF. ROCCO BELLANTONE)

GRUPPO DI LAVORO

"Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)"

Coordinatore:

Prof. Bruno Dallapiccola componente Sezione I CSS – Professore ordinario di Genetica Medica - Direttore Scientifico IRCCS Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", Roma - Componente Comitato Nazionale per la Bioetica (Presidenza del Consiglio dei Ministri)

Segretario tecnico:

Dott. Stefano Moriconi Dirigente medico, Segretario Sezione I del Consiglio Superiore di Sanità

Componenti:

Prof. Domenico Arduini Professore ordinario di Ginecologia e Ostetricia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università Tor Vergata, Roma

Prof. Lorenzo D'Avack Professore ordinario di Filosofia del Diritto - Facoltà di Giurisprudenza dell'Università di Roma Tre, Roma - Vice Presidente Vicario del Comitato Nazionale per la Bioetica (Presidenza del Consiglio dei Ministri)

Prof.ssa Assunta Morresi Professore associato di Chimica Fisica, Università di Perugia - Componente del Comitato Nazionale per la Bioetica (Presidenza del Consiglio dei Ministri) - Componente Comitato Nazionale per la Biosicurezza, le Biotecnologie e le Scienze per la Vita (Presidenza del Consiglio dei Ministri)

Dott. Antonio Novelli Direttore U.O.C. Laboratorio di Genetica Medica, IRCCS Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", Roma;

Prof.ssa Eleonora Porcu Vice Presidente del CSS - Professore associato - Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Bologna - Responsabile del Centro Sterilità Procreazione Medica Assistita, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

Prof. Antonio G. Spagnolo Professore ordinario di Medicina legale e delle assicurazioni - Direttore dell'Istituto di Bioetica, Facoltà di Medicina e Chirurgia "A. Gemelli", Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Esperti in audizione:

Prof. Antonio Amoroso Presidente SIGU (Società Italiana di Genetica Umana)

Dott. Giuseppe Calli Presidente SIEOG (Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica e Metodologie Biofisiche)



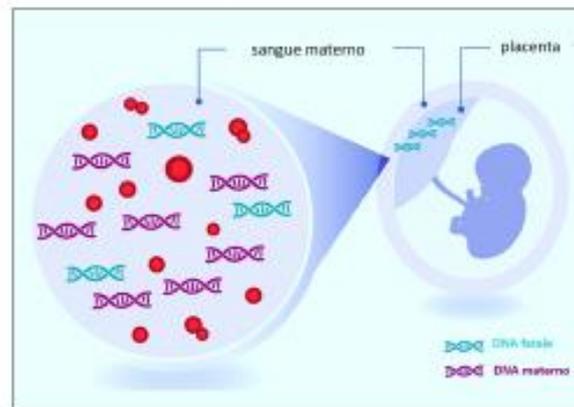
Ministero della Salute

Consiglio Superiore di Sanità

Sezione I

Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)



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

NIPT- Consulenza genetica pre-test

2. Il test deve essere preceduto da un'ecografia e dalla consulenza pre-test, che ha il compito di illustrare il significato del test e tutte le opzioni alternative disponibili per il monitoraggio della gravidanza. Prima del test deve essere acquisito il consenso della donna e specificato l'uso dei campioni biologici residui (Allegati 10.3 e 10.4).



Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(Non Invasive Prenatal Testing – NIPT)

E' necessario che le donne che intendano sottoporsi al NIPT ricevano preliminarmente un *Counselling* appropriato

- La semplicità di accesso, attraverso un prelievo venoso, rende il test molto popolare ed un uso improprio o un abuso molto probabile.
- Il test deve quindi essere SEMPRE accompagnato da consulenza genetica pre-test durante la quale i limiti ed i benefici dell'esame devono essere chiaramente esposti.
- In particolare, la consulenza genetica risulta di grande ausilio nei casi in cui l'attitudine della coppia sia orientata verso un rifiuto dell'indagine invasiva.

➔ Pertanto è compito del consulente specialista in genetica medica individuare i casi in cui il test è appropriato e rendere questo concetto chiaro ai richiedenti ←

NIPT- Consulenza genetica pre-test

Le informazioni della consulenza genetica devono pertanto chiarire che:

- ❑ Lo screening prenatale non invasivo delle più frequenti anomalie cromosomiche di numero su cfDNA non è un test di routine ma può essere una scelta della coppia dopo la consulenza genetica che includa anche un'accurata storia familiare per valutare l'appropriatezza dell'approccio diagnostico



Ministero della Salute
Consiglio Superiore di Sanità
Sezione I

Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)

NIPT- Consulenza genetica pre-test

1. Lo screening prenatale non invasivo basato sul DNA (NIPT) non è un test diagnostico. Il test verifica la possibilità che il feto sia affetto dalle più comuni aneuploidie, con una specificità e sensibilità significativamente superiori rispetto allo screening non invasivo combinato (TN+PAPP-A/ β HCG). Il NIPT definisce, su base probabilistica, la presenza nel feto di una specifica patologia indagata. **Pertanto, ogni risultato positivo deve essere confermato con una tecnica invasiva tradizionale (villocentesi /amniocentesi).**

❑ Non è un test diagnostico (*un risultato negativo non assicura assenza di patologia*), ma come test di screening presenta sensibilità e specificità elevate.

Il ruolo del test è quello di aumentare il potere predittivo degli screening prenatali convenzionali (ecografici e biochimici) nella popolazione a rischio aumentato di aneuploidie e quindi si colloca come **TEST DI SCREENING AVANZATO** per la valutazione del rischio di trisomia 21, 18 e 13.



Ministero della Salute
Consiglio Superiore di Sanità
Sezione I

Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(Non Invasive Prenatal Testing – NIPT)

In questo contesto concorre nel ridurre il ricorso alla Diagnosi Prenatale Invasiva (DPI).

NIPT- Consulenza genetica pre-test

1. Lo screening prenatale non invasivo basato sul DNA (NIPT) non è un test diagnostico. Il test verifica la possibilità che il feto sia affetto dalle più comuni aneuploidie, con una specificità e sensibilità significativamente superiori rispetto allo screening non invasivo combinato (TN+PAPP-A/ β HCG). Il NIPT definisce, su base probabilistica, la presenza nel feto di una specifica patologia indagata. **Pertanto, ogni risultato positivo deve essere confermato con una tecnica invasiva tradizionale (villocentesi /amniocentesi).**

- Un test positivo necessita di conferma diagnostica con approccio invasivo.



Ministero della Salute
Consiglio Superiore di Sanità
Sezione I

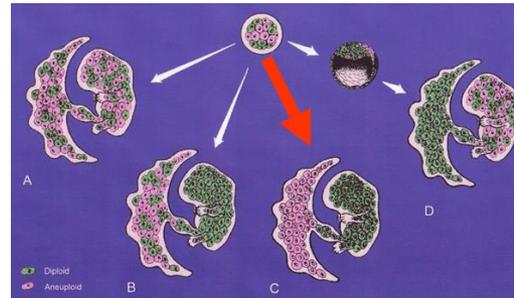
Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)

NIPT- Consulenza genetica pre-test

La presenza di **falsi positivi e negativi** è dovuta principalmente a

mosaicismi feto-placentari



vanishing twins
(gravidanze gemellari in cui uno dei due gemelli sia stato riassorbito nelle prime settimane di gestazione)



malattie tumorali materne

condizioni di mosaicismo cromosomico nella madre

MATERNAL CHR. ABNORMALITY				
Table 2. Contribution of an abnormal ChrX maternal karyotype in a prospective study of 187 discordant SCAs.				
Clinical	NIPT findings	NIPT ChrX gain	NIPT ChrX loss	Total
NIPT follow-up	Abnormal NIPT for SCA, n	63	124	187
	Normal maternal karyotype, n	57	114	171
	Abnormal maternal karyotype, n	6	10	16
	Maternal resorcer rate	9.5%	8.0%	8.5%

NIPT- Consulenza genetica pre-test

3. In almeno il 2% dei casi, il campione acquisito non è idoneo ad essere refertato. Per essere affidabile il risultato deve essere ottenuto a partire da una percentuale di DNA fetale libero non inferiore al 4% del totale del DNA libero presente nel plasma materno.



Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(Non Invasive Prenatal Testing – NIPT)

- ❑ La quantità di DNA fetale può essere insufficiente all'esecuzione del test.
Il rischio di fallimento dell'esame è di circa 1-4%.

Poiché un risultato non conclusivo o fallimento dell'esame è stato recentemente correlato con patologie fetali, nell'ambito della consulenza genetica post test dovrebbe essere consigliata in questi casi un'attenta valutazione ecografica ed eventualmente l'analisi del cariotipo fetale da valutare in team multidisciplinare.

NIPT- Consulenza genetica pre-test

4. L'indagine è al momento mirata e validata per le principali aneuploidie autosomiche (T21, T18, T13). Le anomalie cromosomiche indagate riguardano solo una parte, sia pure significativa (50-70%), delle aberrazioni cromosomiche eventualmente presenti nel feto. In rapporto alla tecnica utilizzata, si potranno in prospettiva ottenere informazioni più ampie anche su altre aneuploidie (ad es. dei cromosomi sessuali), su alcuni microriarrangiamenti e su alcune patologie mendeliane. In questo caso dovrà essere riconsiderato il razionale del test. **Il NIPT può essere effettuato sulle gravidanze gemellari bigemine, anche dopo eventuale donazione dei gameti.**

Il test è validato per le trisomie più frequenti, che rappresentano il 50-70% della patologia fetale clinicamente rilevante e non dà altre informazioni genetiche sul feto

SIGU- Documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasive -2016

- NIPT non è in grado di identificare la presenza di traslocazioni sbilanciate, delezioni e duplicazioni



Ministero della Salute
Consiglio Superiore di Sanità
Sezione I

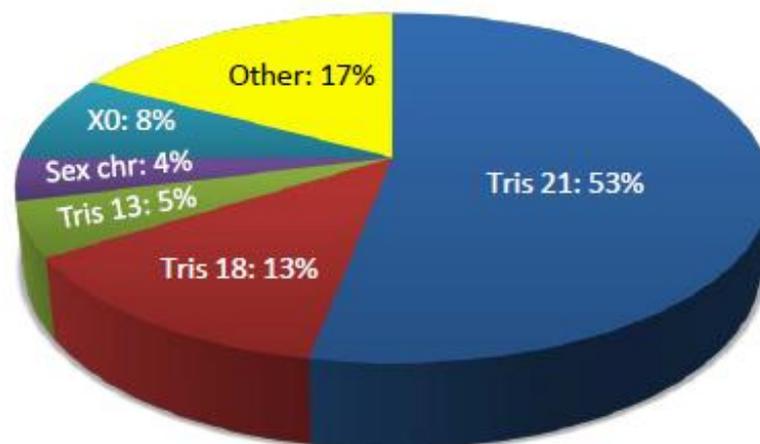
Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)

Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe

Diana Wellesley^{1,1}, Helen Dolk², Patricia A Boyd³, Ruth Greenlees², Martin Haeusler⁴, Vera Nelen⁵, Ester Garne⁶, Babak Khoshnood⁷, Berenice Doray⁸, Anke Rissmann⁹, Carmel Mullaney¹⁰, Elisa Calzolari¹¹, Marian Bakker¹², Joaquin Salvador¹³, Marie-Claude Addor¹⁴, Elizabeth Draper¹⁵, Judith Rankin¹⁶ and David Tucker¹⁷

deletions	3.13/0000
triploidies	1.26/0000
u traslocations	0.94/0000
other trisomies	0.86/0000
duplications	0.70/0000
markers	0.43/0000



NIPT- Consulenza genetica pre-test

6. Il NIPT non è sostitutivo e perciò non evita di effettuare le altre indagini cliniche, laboratoristiche e strumentali che fanno parte integrante del monitoraggio della gravidanza.

Lo screening prenatale non invasivo non sostituisce la DPI (con amniocentesi o villocentesi) che deve rimanere una opzione percorribile

In caso di anomalie ecografiche fetali resta indicata la DPI per lo studio del cariotipo fetale, integrato eventualmente da altre tecniche (array-CGH per sbilanciamenti submicroscopici patogenetici-circa 6%)

Novelli et al., 2012; Wapner et al., 2012

SIGU- Documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasive -2016



Ministero della Salute
Consiglio Superiore di Sanità
Sezione I

Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(Non Invasive Prenatal Testing – NIPT)



NIPT- Consulenza genetica pre-test



Linee-Guida

Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)

I vantaggi rispetto agli screening combinati del primo trimestre sono :

- Detection rate più alta
- Più alto valore predittivo positivo (VPP)
- Alto valore predittivo negativo (VPN) in particolare per T21 e T18 (importante per chi vuole evitare la diagnosi prenatale invasiva)
- Bassa percentuale di falsi positivi
- Minore dipendenza dall'età gestazionale (si può accedere dalla 11 settimana e per tutta la gravidanza)

Modello di Consenso Informato per gravidanza singola

Gentile Signora,

Il Test Prenatale Non Invasivo (NIPT) può essere eseguito sia nelle gravidanze naturali, sia in quelle avviate con la procreazione medicalmente assistita. Nel secondo caso lei è tenuta a precisare la tecnica applicata.

Il NIPT richiede il prelievo di 10-20 ml di sangue materno.

Nel 2% dei casi la ragione di DNA fetale (FF) nel plasma materno non è sufficiente per l'analisi.

Il test, finalizzato alla diagnosi di alcune patologie numeriche dei cromosomi, è stato validato attraverso alcuni studi internazionali che hanno arruolato larghi campioni di gravidanze.

L'identificazione di una trisomia (presenza di un cromosoma in più) attraverso il test si basa sull'analisi del DNA libero presente nel plasma materno (cfDNA), che contiene una quota di DNA di origine materna ed una quota di DNA proveniente dalla placenta del feto (cffDNA). Il test può fornire anche informazioni sul sesso del feto (presenza/assenza del cromosoma Y). Nel caso in cui il test suggerisca la presenza di una anomalia cromosomica, l'interpretazione del risultato viene demandata alla consulenza genetica e ad eventuali successivi approfondimenti diagnostici sui campioni fetali acquisiti con tecniche invasive (villocentesi, amniocentesi), per i quali sarà fornita una informazione specifica, ai fini del consenso.

Al momento, le indagini prenatali basate sull'analisi del DNA fetale presente nel plasma materno permettono di effettuare:

1) TEST PER LE TRISOMIE AUTOSOMICHE.

Questo test valuta la possibilità di identificare la presenza di feti con trisomia dei cromosomi 21,18, 13 (T21, T18, T13), a partire dalla X settimana; tali trisomie assommano al 50-70% di tutte le aneuploidie autosomiche. Il termine "trisomia" identifica una anomalia cromosomica che consiste nella presenza di tre, anziché di due, copie di un cromosoma.

- La trisomia 21 (T21) è l'aneuploidia (anomalia numerica dei cromosomi) più comune: consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 21 e si associa alla sindrome di Down.
- La trisomia 18 (T18): consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 18 e si associa alla sindrome di Edwards.
- La trisomia 13 (T13): consiste nella presenza di una copia in più di un cromosoma 13 e si associa alla sindrome di Patau.

Il test analizza direttamente il DNA libero nel sangue materno, integrando nei risultati la frazione fetale DNA (cffDNA), l'età materna (o della donatrice nel caso di ovodonazione), l'età gestazionale, a partire dai dati forniti attraverso il modulo di richiesta del test.

In ottemperanza alla normativa vigente, l'informativa e il consenso informato devono esplicitare i limiti del test insieme ai valori di incidenza del falso positivo e negativo e di VPP (valore predittivo positivo) e VPN (valore predittivo negativo)



CONCLUSIONI

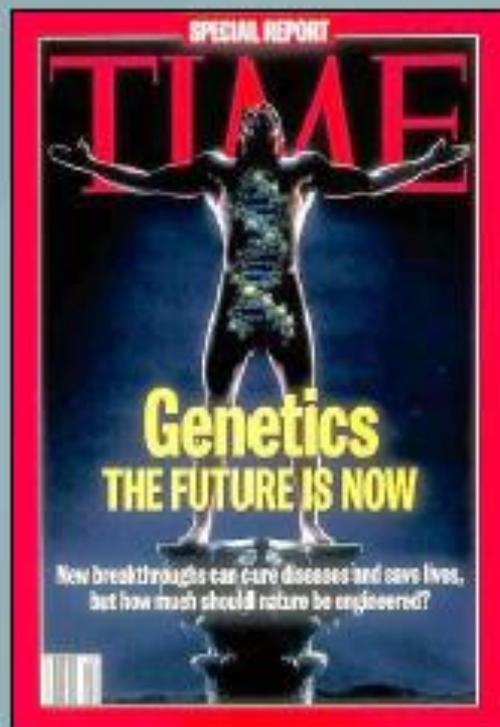
In considerazione della complessità degli scenari illustrati, il test non invasivo può, al momento, essere collocato all'interno del percorso degli screening prenatali nelle coppie a rischio aumentato, preceduto e seguito da consulenza genetica, con l'intento di aumentare in maniera considerevole l'efficienza diagnostica del percorso "combinato"

In questo contesto rappresenta un importante ausilio agli altri test ecografici e biochimici e in particolare potrebbe rivelarsi di rilevante utilità nell'evitare la diagnosi invasiva nei casi in cui lo screening prenatale convenzionale definisse un rischio aumentato dovuto ad un risultato "falso positivo", evento che si verifica nel 5% dei casi e/o quando la coppia a rischio aumentato fosse contraria all'esecuzione dei test invasivi



CONCLUSIONI

La raccolta di un numero sempre più ampio di dati e la disponibilità di nuovi trial clinici, contribuiranno ad una loro più accurata valutazione, specialmente in termini di valore predittivo positivo (VPP) e valore predittivo negativo (VPN) e, di conseguenza, potrebbero cambiare le indicazioni alla loro esecuzione.



SCIENTIFIC AMERICAN™

Subscribe News & Features Blogs Multimedia Education Citizen Science Topics

October 2010



Revolution Postponed: Why the Human Genome Project Has Been Disappointing

“Chi si aspettava risultati rivoluzionari nello spazio di una notte è rimasto probabilmente deluso, ma si dovrebbe ricordare che la genomica obbedisce alla “prima legge della tecnologia”: sovrastimiamo sempre le conseguenze immediate delle nuove tecnologie e siamo incapaci di prevedere il loro impatto nel lungo periodo”

Francis Collins: Has the revolution arrived? Nature 1 April 2010, pp 674-5

Diagnostica Prenatale: attualità e prospettive
Taranto 1 Ottobre 2016

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Dr Luigi Antonio Greco
Servizio di Genetica ASL Taranto

