

INFORMATIVA AL TEST DI SCREENING PRENATALE NON INVASIVO DI ANEUPLOIDIE, ALTERAZIONI CROMOSOMICHE STRUTTURALI E MALATTIE GENETICHE FETALI MEDIANTE ANALISI DEL DNA FETALE DAL SANGUE MATERNO

Finalità del test PrenatalSafe®

PrenatalSafe® è un esame prenatale **non invasivo** che, analizzando il DNA fetale libero circolante isolato da un campione di sangue materno, valuta la presenza di aneuploidie fetalì comuni in gravidanza, quali quelle relative al cromosoma **21 (Sindrome di Down)**, al cromosoma **18 (Sindrome di Edwards)**, al cromosoma **13 (Sindrome di Patau)** ed ai cromosomi sessuali (**X e Y**), quali per esempio la **Sindrome di Turner** (Monosomia del cromosoma X). Il test prevede inoltre un livello di approfondimento che consente di valutare aneuploidie ed alterazioni cromosomiche strutturali a carico di ogni cromosoma del feto, con risultati molto simili all'analisi del cariotipo fetale mediante tecniche invasive di diagnosi prenatale.

Il test **PrenatalSafe® 3** valuta le aneuploidie dei cromosomi **21, 18, 13** e comprende la determinazione del sesso fetale (opzionale).

Il test **PrenatalSafe® 5** valuta le aneuploidie dei cromosomi **21, 18, 13**, dei cromosomi sessuali (**X e Y**) e comprende la determinazione del sesso fetale (opzionale). **Si ricorda che questa analisi non può essere prescritta per gravidanze gemellari bicipitali.**

Il test **PrenatalSafe 5 DiGeorge** valuta le aneuploidie dei cromosomi **21, 18, 13**, dei cromosomi sessuali (**X e Y**) e comprende la determinazione del sesso fetale (opzionale) unitamente alla ricerca della Sindrome di DiGeorge. **Si ricorda che questa analisi non può essere prescritta per le gravidanze gemellari bicipitali.**

Il test **PrenatalSafe® Plus**, oltre alle aneuploidie dei cromosomi **21, 18, 13** e dei cromosomi sessuali (**X e Y**), valuta 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**. L'esame comprende inoltre la determinazione del sesso fetale (opzionale). **Si ricorda che questa analisi non può essere prescritta per gravidanze gemellari bicipitali.**

Il test **PrenatalSafe® Karyo** consente di rilevare aneuploidie e alterazioni cromosomiche strutturali fetalì a carico di ogni cromosoma, con risultati molto simili alla determinazione del **cariotipo fetale** eseguito con tecniche invasive di diagnosi prenatale. L'esame comprende la determinazione del sesso fetale (opzionale).

Il test **PrenatalSafe® Karyo Plus** rappresenta un'evoluzione del test **PrenatalSafe® Karyo** e aggiunge alle potenzialità di quest'ultimo la possibilità di individuare la presenza nel feto di alterazioni cromosomiche **strutturali** submicroscopiche, quali alcune comuni sindromi da microdelezione. L'esame comprende la determinazione del sesso fetale (opzionale). **Si ricorda che questa analisi non può essere prescritta per gravidanze gemellari bicipitali.**

Il test **PrenatalSafe® Complete** aggiunge alle potenzialità di **PrenatalSafe® Karyo** e **PrenatalSafe® Karyo Plus** la possibilità di individuare nel feto **gravi malattie genetiche, a trasmissione ereditaria** (es. Fibrosi Cistica, Beta **Talassemia**, etc.) o ad **insorgenza de novo** (es. Acondroplasia, Ipocondroplasia, **Sindrome di Noonan**, **Craniosinostosi**, etc.).

Il test **PrenatalSafe® Complete** e **PrenatalSafe® Complete Plus**, costituiti dall'unione del test **PrenatalSafe® Karyo** e **PrenatalSafe® Karyo Plus** con il test **GeneSafe™ Complete**, forniscono il **più approfondito** livello d'informazione ottenibile in gravidanza mediante un test di screening prenatale non invasivo.

I test **PrenatalSafe®** possono essere integrati con il test **RhSafe®**, un esame prenatale non invasivo che, analizzando il DNA fetale isolato da un campione di sangue della gestante, consente di determinare il Fattore Rh(D) fetale. Il test **RhSafe®** è opzionale e viene eseguito (su richiesta) in gestanti Rh(D) negative con partner maschile Rh(D) positivo.

Aneuploidie cromosomiche valutate dal test PrenatalSafe®

TRISOMIA 21: È causata dalla presenza di una copia in più del cromosoma 21 ed è anche conosciuta come **Sindrome di Down**. È la causa genetica più comune di ritardo mentale e si stima che sia presente in **1/700 nati**, sebbene il rischio che una donna possa avere una gravidanza con trisomia 21 è strettamente correlato alla sua età al momento del concepimento e può quindi variare nel corso della vita di una donna.

TRISOMIA 18: È causata dalla presenza di una copia in più del cromosoma 18. Conosciuta anche come **Sindrome di Edwards**, si associa ad alto rischio di aborto ed è 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 **1/5.000 nati**, sebbene il rischio che una donna possa avere una gravidanza con trisomia 18 è strettamente correlato alla sua età al momento del concepimento e può quindi variare nel corso della vita di una donna.

TRISOMIA 13: È causata dalla presenza di una copia in più del cromosoma 13. Nota anche come Sindrome di Patau, si

associa ad alto rischio di aborto. Neonati affetti da trisomia 13 hanno numerosi difetti cardiaci e altre condizioni patologiche e ciò comporta il fatto che la sopravvivenza oltre l'anno di età sia rara. Si stima che la trisomia 13 sia presente in **1/16.000 nati**, sebbene il rischio che una donna possa avere una gravidanza con trisomia 13 è strettamente correlato alla sua età al momento del concepimento e può quindi variare nel corso della vita di una donna.

Aneuploidie dei cromosomi sessuali

PrenatalSafe® analizza i cromosomi sessuali (X e Y) fornendo informazioni in merito al sesso fetale e alle aneuploidie di questi cromosomi. Il test è in grado di identificare diverse aneuploidie dei cromosomi sessuali, tra le quali la più frequente è la **Monosomia X** che si associa clinicamente ad una condizione nota come Sindrome di Turner. La **Sindrome di Turner** interessa, per definizione, solo individui di sesso femminile che presentano una statura inferiore alla media e difficoltà riproduttive in associazione, non costante, ad altre manifestazioni cliniche quali cardiopatie congenite, ipacusia neurosensoriale, anomalie renali quali rene a ferro di cavallo e predisposizione ad alcune malattie autoimmunitarie (tiroidite, diabete, celiachia, etc.). Altre aneuploidie dei cromosomi sessuali riscontrabili con l'esame sono la **Trisomia X (XXX)**, la **Sindrome di Klinefelter (XXY)** e la **Sindrome di Jacobs (XYY)**.

PrenatalSafe 5 DiGeorge è in grado di evidenziare le trisomie dei cromosomi 13, 18, 21 e le aneuploidie dei cromosomi sessuali, unitamente alla ricerca della delezione (3 Mb) a carico del cromosoma 22 nella regione q11.2, causativa delle Sindrome di DiGeorge. La Sindrome di DiGeorge è una malattia 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.

PrenatalSafe® Plus è inoltre in grado di evidenziare la **trisomia dei cromosomi 9 e 16** (opzionale). Trisomie complete di questi due cromosomi sono incompatibili con la vita ed esitano generalmente in aborti spontanei, mentre le forme a mosaico possono essere compatibili con la vita extrauterina.

Il test **PrenatalSafe® Karyo**, oltre alle più comuni aneuploidie fetali identificabili in gravidanza, consente di analizzare tutti i cromosomi e quindi di rilevare anche aneuploidie più rare.

Esempi di aneuploidie cromosomiche meno frequenti rilevabili con PrenatalSafe® Karyo:

- Trisomia 1 • Trisomia 9*
- Trisomia 4 • Trisomia 12
- Trisomia 5 • Trisomia 16*
- Trisomia 7 • Trisomia 22*

* A maggiore incidenza tra le aneuploidie fetali meno frequenti.

Alterazioni cromosomiche strutturali (delezioni e duplicazioni segmentali) valutate dal test PrenatalSafe® Karyo:

Con il **PrenatalSafe® Karyo** è possibile individuare anche **alterazioni di struttura** su tutti i cromosomi del feto. 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/acquisizione di materiale genetico, perciò vengono generalmente identificate in soggetti con manifestazioni cliniche di entità variabile. I principali tipi di anomalie strutturali sono:

- 1) **Le delezioni:** 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 3 copie di un segmento di cromosoma e pertanto costituiscono delle trisomie parziali.
- 3) **I riarrangiamenti complessi:** consistono nella presenza di delezioni/duplicazioni a carico di due o più segmenti cromosomici. Esse possono originare de novo nel concepimento o essere la conseguenza dello sbilanciamento di una traslocazione bilanciata presente in un genitore (**traslocazione sbilanciata**).

Sindromi da microdelezione valutate dal test PrenatalSafe® Plus

PrenatalSafe® Plus prevede la possibilità di eseguire un approfondimento di secondo livello, che consente di individuare la presenza nel feto di **6** tra le più comuni **sindromi da microdelezione**.

Le sindromi da microdelezione sono anomalie cromosomiche caratterizzate dalla perdita di un tratto cromosomico di piccole dimensioni (microdelezione) 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 da microdelezione investigate comprendono:

- **Sindrome di DiGeorge** (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**.
- **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**.
- **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 se il cromosoma interessato sia di origine materna o paterna. La sindrome di **Prader-Willi** è una condizione caratterizzata principalmente da bassa statura, obesità, ipotonie muscolare, alterazioni endocrinologiche, dimorfismi del volto e ritardo di sviluppo psicomotorio. Questa sindrome colpisce **1/25.000 nati**. La sindrome di **Angelman** è una malattia neurologica caratterizzata da grave ritardo mentale e dimorfismi 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. È caratterizzata da dimorfismi facciali tipici, ipotonie, ritardo dello sviluppo, deficit cognitivo, convulsioni, cardiopatie, sordità e ritardo della crescita a esordio prenatale. È considerata una delle più comuni sindromi da delezione cromosomica, con un'incidenza di **1/5.000-10.000 nati vivi**.
- 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 ipotonie. La prevalenza è di **1/50.000 nati** e interessa più spesso le femmine rispetto ai maschi (2:1).

È consigliabile ricorrere all'utilizzo del **PrenatalSafe® Plus solo in determinati contesti clinici** (esempio dubbi ecografici suggestivi di sindrome da microdelezione cromosomica) per i quali risulta giustificato un approfondimento diagnostico di secondo livello.

Sindromi da microdelezione valutate dal test PrenatalSafe® Karyo Plus

PrenatalSafe® Karyo Plus consente di individuare la presenza nel feto di **9 sindromi da microdelezione**:

Sindrome da microdelezione	Regione cromosomica	Prevalenza (alla nascita)
Sindrome di DiGeorge	delezione 22q11.2	1/2.000 - 1/4.000
Sindrome Cri-du-chat	delezione 5p15.3	1/15.000 - 1/50.000
Sindrome di Prader-Willi	delezione 15q11.2	1/25.000
Sindrome Angelman	delezione 15q11.2	1/10.000 - 1/20.000
Sindrome da delezione 1p36	delezione 1p36	1/5.000 – 1/10.000
Sindrome di Wolf-Hirschhorn	delezione 4p16.3	1/20.000 - 1/50.000
Sindrome di Jacobsen	delezione 11q23-q24.3	1/100.000
Sindrome di Langer-Giedion	delezione 8q24.11-q24.13	1/200.000
Sindrome di Smith-Magenis	delezione 17p11.2	1/15.000 - 1/25.000

• La **Sindrome di Jacobsen** è causata da una delezione del braccio lungo del cromosoma 11 (11q23). È caratterizzata da ritardo dello sviluppo, facies caratteristica, malattie emorragiche e alcuni disturbi del comportamento. La prevalenza è di **1/100.000 nati**.

• La **Sindrome di Langer-Giedion** o sindrome tricorinofalangeale di 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. È 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, ipotonie e problemi uditivi.

• 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 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 RAI1 (retinoic acid-induced 1; 90%) o da mutazione del gene stesso (10%).

È consigliabile ricorrere all'utilizzo del **PrenatalSafe® Karyo Plus solo in determinati contesti clinici** (esempio dubbi ecografici suggestivi di sindrome da microdelezione cromosomica) per i quali risulta giustificato un approfondimento diagnostico di secondo livello. Le sindromi da microdelezione sono generalmente sporadiche, ossia accadono sul singolo concepimento come evento casuale. Più raramente e solo per alcune delle condizioni identificabili con il **PrenatalSafe® Karyo Plus** le microdelezioni sono trasmesse da uno dei due genitori.

Malattie genetiche indagate dal test GeneSafe™ Complete

Il test **GeneSafe™ Complete**, effettua lo screening nel feto sia di **malattie genetiche a trasmissione ereditaria (GeneSafe™ Inherited)** che ad insorgenza de novo (**GeneSafe™ de novo**).

In particolare, il test **GeneSafe™ Inherited** permette di individuare mutazioni su **4 geni** responsabili di **4 malattie genetiche a trasmissione ereditaria** frequentemente riscontrate nella popolazione italiana, quali la **Fibrosi Cistica**, l'**Anemia Falciforme**, la **Beta Talassemia** e la forma più comune di **Sordità Ereditaria**. I geni investigati dal test **GeneSafe™ Inherited** e le relative patologie genetiche, sono riportati nella tabella sottostante.

Tabella 1: Lista dei geni indagati dal test GeneSafe™ Inherited e delle patologie associate

Malattie genetiche ereditarie individuate da GeneSafe™ Inherited	Gene
Fibrosi Cistica	CFTR
Beta Talassemia	HBB
Anemia Falciforme	HBB
Sordità Ereditaria autosomica recessiva tipo 1A	CX26(GJB2)
Sordità Ereditaria autosomica recessiva tipo 1B	CX30(GJB6)

Il test **GeneSafe™ de novo** permette di rilevare mutazioni su **25 geni** associati a **44 malattie monogeniche** non ereditate dai genitori, ma che possono insorgere in modo casuale per la prima volta nel feto e in questi casi denominate de novo. Tali mutazioni non sono rilevabili con i test di screening pre-concezionali eseguiti sui genitori poiché a carattere non ereditario. Le suddette mutazioni de novo possono determinare nel bambino **displasie scheletriche, difetti cardiaci, anomalie congenite multiple e/o deficit intellettivi**. I geni investigati dal test **GeneSafe™ de novo** e le relative patologie genetiche, sono riportati nella tabella sottostante.

Le patologie indagate dal test **GeneSafe™ de novo** spesso non sono rilevabili alle indagini ecografiche del primo trimestre (alcune sono rilevabili ecograficamente solo al secondo o al terzo trimestre) e sono indipendenti dall'età materna. Il test **GeneSafe™ de novo** può identificare alcune malattie genetiche che possono essere associate ad **età paterna avanzata** (es. Acondroplasia, sindrome di Pfeiffer, di Apert, di Crouzon, Osteogenesis Imperfecta, etc.), in quanto causate da errori genetici che insorgono durante il processo di spermatogenesi.

Tabella 2: Lista delle malattie genetiche ad insorgenza de novo indagate dal test GeneSafe™ de novo

Malattie Sindromiche	
Sindrome di Alagille	JAG1
Sindrome di CHARGE	CHD7
Sindrome di Cornelia de Lange tipo 5	HDAC8
Sindrome di Cornelia de Lange tipo 1	NIPBL
Sindrome di Rett	MECP2
Sindrome di Sotos tipo1	NSD1
Sindrome di Bohring-Opitz	ASXL1
Sindrome di Schinzel-Giedion	SETBP1
Oloprosencefalia	SIX3
Craniosinostosi	
Sindrome di Antley-Bixler senza anomalie genitali o disordini della steroidognesi	FGFR2
Sindrome di Apert	
Sindrome di Crouzon	
Sindromedi Jackson-Weiss	
Sindrome di Pfeiffer, tipo 1	
Sindrome di Pfeiffer, tipo 2	
Sindrome di Pfeiffer, tipo 3	
Sindrome di Noonan	
Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 1	BRAF
Sindrome di Noonan-simile con o senza leucemia mielomonocitica giovanile	CBL
Sindrome di Noonan /cancers	KRAS
Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo e 3	MAP2K1
Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 4	MAP2K2
Sindrome di Noonan 6/cancers	NRAS
Sindrome Noonan 1/ Sindrome di LEOPARD/cancers	PTPN11
Sindrome di Noonan 5/Sindrome di LEOPARD 2	RAF1
Sindrome di Noonan 8	RIT1
Sindrome Noonan-simile con capelli caduchi in fase anagen	SHOC2
Sindrome di Noonan 4	SOS1
Patologie scheletriche	
Acondrogenesi tipo 2	COL2A1
Acondroplasia	FGFR3
Sindrome CATSHL	
Sindromedi Crouzon con acanthosis nigricans	
Ipocondroplasia	
Sindrome di Muenke	
Displasia tanatofora, tipo I	COL1A1
Displasia tanatofora, tipo II	
Sindrome di Ehlers-Danlos, classica	
Sindrome di Ehlers-Danlos, tipo VIIA	
Osteogenesi imperfetta, tipo I	
Osteogenesi imperfetta, tipo II	COL1A2
Osteogenesi imperfetta, tipo III	
Osteogenesi imperfetta, tipo IV	
Sindrome di Ehlers-Danlos, forma cardiaco-valvolare	
Sindrome di Ehlers-Danlos, tipo VIIB	
Osteogenesi imperfetta, tipo II	
Osteogenesi imperfetta, tipo III	
Osteogenesi imperfetta, tipo IV	

Chi può sottoporsi al test PrenatalSafe®

Tutte le donne in gravidanza con un'età gestazionale di almeno **10 settimane**. Il test può essere eseguito sia in caso di gravidanze singole che gemellari, ottenute sia mediante concepimento naturale che con tecniche di procreazione medicalmente assistita, omologhe o eterologhe.

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 e la sua concentrazione aumenta nelle settimane successive, scomparendo

subito dopo il parto. La quantità di DNA fetale circolante dalla 9°-10° settimana di gestazione è sufficiente per garantire l'elevata specificità e sensibilità del test. Il test viene eseguito mediante il prelievo di un campione ematico della gestante con un'età gestazionale di almeno **10 settimane**. Il test è eseguito analizzando il DNA libero circolante (cfDNA) nel sangue materno mediante l'innovativa tecnologia di sequenziamento massivo parallelo (MPS) dell'intero genoma fetale, utilizzando sequenziatori Next Generation Sequencing (NGS) ILLUMINA. Le sequenze cromosomiche vengono quindi quantificate attraverso un'**avanzata analisi bioinformatica**, per determinare la presenza di eventuali aneuploidie cromosomiche fetal, identificate da un sovrannumero di sequenze allineabili a uno specifico cromosoma. Similmente si procede all'analisi per rilevare le varianti patologiche causa di malattie genetiche ereditarie o de novo.

Risultati ottenibili con il test PrenatalSafe®

"POSITIVO" - Aneuploidia o alterazione cromosomica strutturale rilevata: indica che il test ha prodotto un risultato compatibile con un'aneuploidia o un'alterazione cromosomica strutturale fetale a livello di uno (o più) dei cromosomi investigati. Tale risultato, tuttavia, non è diagnostico e quindi 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 genetista di Eurofins Genoma (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 caso 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" - Aneuploidia o alterazione cromosomica strutturale non rilevata: indica che il test non ha rilevato aneuploidie o alterazioni cromosomiche strutturali a livello dei cromosomi esaminati. Tale risultato, tuttavia, non assicura che il feto sia sano per tali anomalie. Infatti, a causa della fisiologia placentare, il risultato ottenuto potrebbe non riflettere un reale stato di normalità del feto.

In alcuni casi (circa l'1%) 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 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 fetal 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 aneuploidia cromosomica fetale (**risultato borderline**). In tale evenienza verrà consigliato di confermare il risultato mediante diagnosi prenatale invasiva, così come per il risultato positivo.

Il sesso fetale verrà riportato nel referto nel caso in cui sia richiesto.

Nelle gravidanze gemellari verrà riportato un unico risultato per entrambi i feti. In questi casi il sesso fetale viene indicato come maschile o femminile, basandosi sulla presenza o assenza del cromosoma Y.

Risultati ottenibili con il test GeneSafe™ Complete

"POSITIVO": indica che il test **ha rilevato** una o più varianti a livello di uno o più geni investigati. Nel caso delle patologie indagate con il **GeneSafe™ de novo** il riscontro di una variante patogenetica indica che il feto presenta un elevato rischio per la specifica malattia associata, ma non assicura che il feto abbia tale condizione. Nel caso delle patologie indagate con il **GeneSafe™ Inherited** il riscontro di due varianti patogenetiche indica che il feto presenta un elevato rischio per la specifica malattia associata, ma non assicura che il feto abbia tale condizione. Sempre nel caso delle patologie indagate con il **GeneSafe™ Inherited** è possibile il riscontro di una sola variante patogenetica, compatibile con uno stato di portatore, in relazione ai limiti della metodica (vedi sezione Limiti del test GeneSafe). In caso di alto rischio il follow-up consigliato è un test di diagnosi prenatale invasiva, come la villocentesi o l'amniocentesi. Il genetista di Eurofins Genoma (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 caso è possibile avvalersi della Legge 194/78 sull'interruzione volontaria della gravidanza senza prima aver confermato il risultato del test mediante amniocentesi o villocentesi.

Il test **GeneSafe™** identifica esclusivamente varianti **con significato patologico noto**. Il test non ricerca varianti **con significato benigno**, cioè quelle prive di significato patologico, e varianti **con significato clinico incerto**, cioè quelle non ancora note o caratterizzate dalla comunità medico-scientifica.

"NEGATIVO": indica che il test **non ha rilevato** nel feto alcuna variante, de novo o ereditata dai genitori, a significato patologico noto nei geni esaminati. Tale risultato è compatibile con un **basso rischio, cioè**, riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia le malattie genetiche esaminate, ma non può garantire che il feto non presenti le suddette patologie. In alcuni casi (circa 1%) 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. In altri casi, al fine di una interpretazione ottimale dei risultati, si rende necessario esaminare anche un campione paterno. Per quest'ultimo esame non è prevista una specifica refertazione.

Accuratezza del test PrenatalSafe®

L'esame ha dimostrato, in studi di validazione, un'attendibilità superiore al **99%** nel rilevare le aneuploidie cromosomiche comuni in gravidanza (**trisomia 21, trisomia 18, trisomia 13, aneuploidie dei cromosomi sessuali**), con percentuali di falsi positivi e falsi negativi <0,1%. Sebbene l'errore del test sia contenuto, tuttavia esso non è inesistente. Di seguito si riportano le performance del test **PrenatalSafe®**

Tabella 3. Performance relative all'analisi NIPT di aneuploidie comuni, SCAs e altre anomalie in 71883 gravidanze

Casi positivi n= 1011 Totale follow-up n=868	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	SCA	Altre anomalie*	Performance complessive
Veri positivi	437	93	37	156	58	781
Falsi positivi	3	1	8	17	54	83
Veri negativi	71392	71775	71828	65598	46577	70872
Falsi negativi	2	0	0	1	1	4
Sensibilità (95% CI)	99.54% (98.36% - 99.94%)	100% (96.11% - 100.00%)	100% (90.51% - 100.00%)	99.36% (96.50% - 99.98%)	98.31% (90.91% - 99.96%)	99.49% (98.70% - 99.86%)
Specificità (95% CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.98% - 100.00%)	99.97% (99.96% - 99.99%)	99.88% (99.98% - 99.91%)	99.88% (99.86% - 99.91%)
PPV (95% CI)	99.32% (97.92% - 99.78%)	98.94% (92.91% - 99.85%)	82.22% (69.82% - 90.24%)	90.17% (85.08% - 93.66%)	51.79% (45.08% - 58.42%)	90.39% (88.36% - 92.11%)
NPV (95% CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.99% - 100.00%)

CI: Intervalli di Confidenza; SCA: Aneuploidie dei cromosomi sessuali.

Casi positivi senza follow-up esclusi dal conteggio dei positivi nella Tabella 3 (n°): T21 (49); T18 (14); T13 (10); SCA (36); altre anomalie (34).

*Sono incluse Aneuploidie autosomiche rare, anomalie segmentali e microdelezioni.

Tabella 4. Performance relative all'analisi NIPT delle aneuploidie dei cromosomi sessuali

Aneuploidie dei cromosomi sessuali	X0	XXX	XXY	XYY
Veri positivi	52	27	51	26
Falsi positivi	13	0	3	1
Veri negativi	65724	65775	65747	65776
Falsi negativi	1	0	0	0
Sensibilità (95% CI)	98.11% (89.93% - 99.95%)	100% (87.23% - 100.00%)	100% (93.02% - 100.00%)	100% (86.77% - 100.00%)
Specificità (95% CI)	99.98% (99.97% - 99.99%)	100% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.99% - 100.00%)
PPV (95% CI)	80% (69.88% - 87.34%)	100% (99.99% - 100.00%)	94.44% (84.57% - 98.14%)	96.3% (78.55% - 99.46%)
NPV (95% CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)

CI: Intervalli di confidenza; SCA: Aneuploidie dei cromosomi sessuali. Casi positivi senza follow-up esclusi dal conteggio dei positivi nella Tabella 4 (n°): X0 (18); XXX (6); XXY (7); XYY (5).

Tabella 5. Performance relative all'analisi NIPT di aneuploidie autosomiche rare, anomalie segmentali e microdelezioni

Altre anomalie	RAA	Anomalie segmentali (>7 Mb)	Microdelezioni* (anomalie segmentali <7 Mb)
Veri positivi	33	20	5
Falsi positivi	36	16	2
Veri negativi	46630	46681	28743
Falsi negativi	0	0	1
Sensibilità (95%CI)	100% (89.42% - 100.00%)	100% (83.16% - 100.00%)	83.33% (35.88% - 99.58%)
Specificità (95%CI)	99.92% (99.89% - 99.95%)	99.97% (99.96% - 99.99%)	99.99% (99.99% - 100.00%)
PPV (95%CI)	47.83% (39.81% - 55.96%)	55.56% (43.37% - 67.11%)	71.43% (37.40% - 91.27%)
NPV (95%CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)

CI: Intervalli di confidenza; RAA: Anomalie cromosomiche rare.

Casi positivi senza follow-up esclusi dal conteggio dei positivi nella Tabella 5 (n°): RAA (25); Anomalie segmentali >7Mb (7); Microdelezioni (2).

*Sindromi da microdelezioni investigate: Sindrome di DiGeorge, Sindrome di Cri-du-chat, Sindrome di Prader-Willi, Sindrome di Angelman Syndrome, Sindrome da Delezione 1p36, Sindrome di Wolf-Hirschhorn, Sindrome di Jacobsen, Sindrome di Langer-Giedion e Sindrome di Smith-Magenis.

Limiti del test PrenatalSafe®

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 benché questo test sia molto accurato, i **risultati non sono diagnostici** e devono essere valutati nel contesto del quadro clinico della gestante e della anamnesi familiare. Inoltre, l'esame non è sostitutivo della diagnosi prenatale invasiva (villocentesi o amniocentesi).

Il test è stato validato su gravidanze singole e gemellari, monozigoti o dizigoti, a partire dalla 10° settimana di gestazione.

Il test non può escludere la presenza di tutte le anomalie cromosomiche fetali. **PrenatalSafe® 3** valuta solo le aneuploidie a carico dei cromosomi 13, 18, 21, **PrenatalSafe® 5** valuta anche le aneuploidie dei cromosomi sessuali (X e Y); **PrenatalSafe® Plus** valuta anche le aneuploidie dei cromosomi 9 e 16; le aneuploidie di altri cromosomi sono identificabili solo con il test **PrenatalSafe® Karyo**.

Il test **PrenatalSafe® Karyo** evidenzia il **92,6%** delle anomalie cromosomiche fetali rilevabili in epoca prenatale e il **96,2%** di quelle riscontrate alla nascita.

Il test **PrenatalSafe® Karyo Plus** evidenzia il **95,5%** delle anomalie cromosomiche fetali rilevabili in epoca prenatale e il 99,1% di quelle riscontrate alla nascita.

Il test **PrenatalSafe®** non è in grado di evidenziare riarrangiamenti cromosomici bilanciati, mosaicismi cromosomici fetali e/o placentari (cioè la presenza di due linee cellulari con differente assetto cromosomico), mutazioni puntiformi, difetti di metilazione e 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.

Le alterazioni parziali dei cromosomi analizzati e le alterazioni cromosomiche strutturali possono essere evidenziate solo con i test **PrenatalSafe® Karyo**. Il limite di risoluzione stimato del test è **10 Mb**, sovrapponibile a quello del cariotipo citogenetico (tradizionale) a 400 bande (circa 7-10 Mb). Il test **PrenatalSafe® Karyo Plus** ha un limite di risoluzione stimato di **7 Mb** ed evidenzia alterazioni cromosomiche strutturali ad una risoluzione di circa **3 Mb** a livello delle regioni cromosomiche associate alle sindromi da microdelezione investigate.

Nelle **gravidanze gemellari bioriali** non è possibile distinguere la condizione del singolo feto, di valutare le aneuploidie dei cromosomi sessuali né di evidenziare la presenza di microdelezioni. È tuttavia possibile riscontrare la presenza/assenza del cromosoma Y. Nel caso in cui venga individuata la presenza del cromosoma Y, non è possibile discernere se solo uno o entrambi i feti siano di sesso maschile. Nelle gravidanze che sono iniziate come gemellari o plurime, seguite dall'aborto 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 risultati 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 un'incongruenza nei risultati del sesso (es. diagnosi di sesso maschile, in cui la presenza del cromosoma Y è originata dal DNA del feto abortito).

L'esistenza di una condizione tumorale nella gestante potrebbe determinare risultati del test falsi positivi. 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 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 risultare con cariotipo aneuploide al controllo in diagnosi prenatale invasiva (falso negativo) o dopo la nascita.

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.

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.

Il test può rilevare anomalie cromosomiche della gestante presenti in forma omogenea o a mosaico con conseguente riduzione dell'accuratezza del test. In presenza di un'anomalia cromosomica della gestante il test non può dare informazioni circa la presenza della stessa nel feto e potrà essere consigliato un approfondimento diagnostico invasivo nonché degli accertamenti ulteriori sulla gestante stessa.

Un risultato **“NEGATIVO - Aneuploidia o alterazione cromosomica strutturale non rilevata”** riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia una aneuploidia o un'alterazione cromosomica strutturale a livello dei cromosomi esaminati, ma non può garantire che i cromosomi siano effettivamente normali o che il feto sia sano.

Per i limiti sopra esposti, in caso di risultato positivo si raccomanda di eseguire un colloquio con un genetista e la conferma del risultato attraverso l'analisi del cariotipo su liquido amniotico.

Limiti del test GeneSafe™

Questo esame valuta solo le malattie genetiche ed i geni elencati nella Tabella 1 (**GeneSafe™ Inherited**) e nella Tabella 2 (**GeneSafe™ de novo**). Il test non evidenzia altre malattie genetiche o geni non specificamente investigati. L'esame inoltre non è in grado di evidenziare:

- mutazioni localizzate nelle regioni introniche oltre ± 5 nucleotidi dai breakpoints;
- delezioni, inversioni o duplicazioni maggiori di 20 bp;
- mosaicismi.

L'esame potrebbe non rilevare inserzioni/delezioni a bassa percentuale in corrispondenza di regioni polinucleotidiche costituite da una serie ripetuta dello stesso nucleotide in sequenza. In caso di genitori biologici entrambi portatori della stessa identica variante genetica nei geni compresi nel GeneSafe™ Inherited è possibile una riduzione dell'attendibilità, in relazione alla percentuale di frazione fetale riscontrata e potrebbe essere suggerito un ulteriore approfondimento mediante indagine invasiva.

GeneSafe™ 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).

Il test è stato validato su gravidanze singole o gemellari, monozigotiche o dizigotiche, con almeno 10 settimane di gestazione.

Nelle **gravidanze gemellari** non è possibile distinguere la condizione del singolo feto. 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/falsi negativi. L'esistenza di una condizione tumorale nella gestante potrebbe determinare risultati del test falsi positivi dovuti a mutazioni del DNA tumorale circolante (ctDNA) a livello di geni coinvolti nel processo di cancerogenesi (es. BRAF, KRAS, NRAS).

Un risultato **“NEGATIVO” - Basso rischio** riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia le malattie genetiche esaminate, ma non può garantire che il feto sia sano.

Non è possibile eseguire questo test a donne portatrici di una mutazione nei geni investigati nella Tabella 2 (**GeneSafe™ de novo**).

Il test **GeneSafe™** identifica esclusivamente varianti **con significato patologico noto**. Il test non ricerca **varianti con significato benigno**, prive di significato patologico, e **varianti con significato clinico** incerto, cioè quelle non ancora note o caratterizzate dalla comunità medico-scientifica. L'interpretazione delle varianti genetiche si basa sulle più recenti conoscenze disponibili al momento dell'analisi. Tale interpretazione potrebbe cambiare in futuro con l'acquisizione di nuove informazioni scientifiche e mediche sulla struttura del genoma ed influire sulla valutazione

stessa delle varianti.

Per i limiti sopra esposti, in caso di risultato positivo si raccomanda di eseguire un colloquio con un genetista.

PrenatalSafe®: Tempi di Refertazione

I tempi stimati di refertazione variano a seconda del tipo di esame richiesto:

Tipo di esame	Procedura FAST	Procedura STANDARD
PrenatalSAFE® 3	3 gg.	3 gg.
PrenatalSAFE® 5	3 gg.	3 gg.
PrenatalSAFE® 5 DiGeorge	5 gg.	7 gg.
PrenatalSAFE® Plus	5 gg.	7 gg.
PrenatalSAFE® Karyo	4 gg.	5 gg.
PrenatalSAFE® Karyo Plus	5 gg.	7 gg.
PrenatalSAFE® COMPLETE	4(10-15) gg. ***	5(10-15) gg. ***
PrenatalSAFE® COMPLETE Plus	5(10-15) gg. ***	7(10-15) gg. ***
GeneSAFE™		10-15 gg

*** Il referto del test **PrenatalSafe® COMPLETE** si compone di due diversi referti: il primo riferito all'analisi non invasiva del cariotipo fetale che verrà fornito in 4 gg lavorativi, e il secondo relativo alle patologie genetiche ereditarie e/o ad insorgenza de novo che sarà disponibile tra i 10 e i 15 gg lavorativi.

I tempi di refertazione sopra indicati, tuttavia, non sono perentori e potrebbero prolungarsi in caso di ripetizioni dell'esame, madre biologica portatrice di patologia recessiva (indagata nel **GeneSafe™ Inherited**), risultati non ottimali, approfondimenti dell'esame o dubbi interpretativi.

Alternative al test PrenatalSafe®: la diagnosi prenatale invasiva

L'esame prenatale non invasivo che analizza il DNA fetale presente nel sangue materno è solo una delle opzioni per la gestante per determinare la presenza di patologie cromosomiche fetalì durante la gravidanza.

Esistono diversi altri esami effettuabili in gravidanza, in particolare lo studio del cariotipo mediante analisi citogenetica (cariotipo fetale tradizionale) o mediante array (cariotipo fetale molecolare) può essere eseguito su prelievo di liquido amniotico o di villo coriale. Il prelievo dei villi coriali (tessuto placentare che, pur essendo separato dal feto, ne contiene lo stesso DNA) o villocentesi è effettuato tra la 11° e la 12° settimana di gestazione e consiste nel prelievo transaddominale e sotto controllo ecografico di un piccolo campione di villi coriali. Tale prelievo comporta un rischio di aborto inferiore al 2%. Il prelievo del liquido amniotico o amniocentesi viene eseguito mediante puntura transaddominale ecoguidata tra la 16^ e la 18^ settimana di gravidanza e comporta un rischio di aborto inferiore all'1%.

Sul prelievo di villi coriali e di liquido amniotico è possibile eseguire non solo lo studio del cariotipo fetale ma anche di altre condizioni genetiche. L'indicazione a tali indagini può essere di diverso tipo e va discussa con il curante e/o nel corso di una consulenza genetica dedicata.

Confronto del *detection rate* tra PrenatalSafe® e cariotipo fetale

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** la detection rate diviene l'**86%**. Il **PrenatalSafe® Karyo**, invece, consente di rilevare il **92.6%** delle anomalie cromosomiche evidenziabili in gravidanza ed il **96.2%** di quelle riscontrate alla nascita.

Il test **PrenatalSafe® Karyo Plus** evidenzia il **95,5%** delle anomalie cromosomiche fetalì rilevabili in epoca prenatale e il 99.1% di quelle riscontrate alla nascita, raggiungendo un livello di detection rate molto simile a quello del **cariotipo fetale tradizionale (96.9%)**, ottenuto mediante tecniche di diagnosi prenatale invasiva. Il **cariotipo fetale molecolare** – array-CGH (l'esame prenatale considerato il gold standard) eseguito su cellule fetalì 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).

Il test GeneSafe™ come integrazione al test PrenatalSafe™

Il test **GeneSafe™** fornisce informazioni in merito alla presenza/assenza di mutazioni relative a specifiche malattie monogeniche riscontrabili nel feto, ma non fornisce alcuna informazione rispetto alle aneuploidie fetalì, né rispetto

alle anomalie cromosomiche strutturali. Al fine di ottenere la maggiore quantità di informazione possibile, mediante tecniche di screening prenatale non invasive, è utile abbinare il test **GeneSafe™** al test **PranatalSafe™ Karyo**. Quest'ultimo test è in grado di individuare aneuploidie e anomalie strutturali cromosomiche su tutto il cariotipo fetale, fornendo un'informazione molto simile a quella ottenibile mediante analisi prenatale invasiva.

Analisi integrative al test PrenatalSafe™

Su specifica richiesta è possibile associare al test **PrenatalSafe®** anche il test **RhSafe®**.

Il test RhSafe® è un esame prenatale non invasivo che, analizzando il DNA fetale isolato da un campione di sangue della gestante, consente di determinare il Fattore Rh(D) fetale. Il test si applica solo in gravidanze con gestanti Rh (D) negativo e partner Rh (D) positivo.

Il Fattore Rhesus (Rh)

I globuli rossi umani presentano sulla loro superficie gli antigeni responsabili dei gruppi sanguigni AB0 e gli antigeni che costituiscono il **Fattore Rhesus (Rh)**. Tra gli antigeni del fattore Rh, il D è il più importante dal punto di vista clinico. Si definiscono **Rh positivi** i soggetti che presentano l'antigene D sulla superficie dei globuli rossi, sono **Rh negativi** i soggetti che non lo presentano (circa il 15% della popolazione caucasica).

L'RhD svolge un ruolo fondamentale in quella che viene chiamata **incompatibilità materno-fetale**. Se il feto è **Rh(D) positivo (Rh+)** e la gestante **Rh(D) negativa (Rh-)** è probabile che i globuli rossi del feto con l'antigene Rh entrino nel circolo sanguigno materno. In assenza di opportune precauzioni durante la gravidanza, c'è il rischio che la gestante sviluppi una reazione immunitaria producendo anticorpi contro i globuli rossi del feto (**sensibilizzazione o alloimmunizzazione**), che rimarranno presenti nel suo sangue. In caso di una seconda gravidanza con un feto Rh(D) positivo, gli anticorpi materni diretti contro gli antigeni eritrocitari del feto possono passare attraverso la placenta e aggredire i globuli rossi fetal, che verranno poi distrutti in quanto riconosciuti come "estranei". Si determina quindi la cosiddetta **malattia emolitica del feto e del neonato (HDFN)**.

L'incompatibilità materno-fetale non si presenta quando entrambi i genitori sono Rh negativi, oppure se la madre è Rh positiva e il padre Rh negativo.

Come evitare il rischio di sensibilizzazione

Per prevenire la sensibilizzazione, la gestante può sottoporsi a immunoprofilassi con **immunoglobuline anti-D**, durante la gravidanza e dopo il parto.

I vantaggi del test RhSafe®?

Il test per la determinazione precoce **non invasiva** del **fattore Rh (D)** fetale, mediante l'analisi del DNA fetale libero nel sangue materno, è un esame affidabile e utile, divenuto ormai una routine della gestione delle gravidanze caratterizzate dall'incompatibilità materno-fetale.

Il test consente di **identificare le gravidanze a rischio** per la malattia emolitica del feto e del neonato e quindi di ridurre il ricorso alla profilassi anti-D nei casi in cui il feto risulti Rh(D) negativo come la madre.

Chi può sottoporsi al test RhSafe®?

Tutte le donne in gravidanza Rh (D) negative con un'età gestazionale di almeno **10 settimane**. Il test **RHSafe®** viene eseguito (su richiesta) solo in gravidanze con gestante Rh(D) negativa e partner maschile Rh(D) positivo. Per l'esecuzione del test è necessario produrre i referti attestanti il fattore Rh della coppia. Nel caso in cui i referti in questione non verranno prodotti entro 30 giorni dalla data di accettazione del campione, l'esame non verrà eseguito.

Come si effettua il test RhSafe®?

Il **DNA fetale** libero viene inizialmente isolato dalla componente plasmatica del sangue materno. Successivamente, attraverso un processo tecnologico avanzato ad elevata sensibilità, il DNA viene **amplificato mediante tecnica Real Time PCR**. L'analisi genetica automatizzata consente di identificare la presenza/assenza di sequenze di DNA appartenenti al gene RHD e permette, quindi, di definire se il feto è Rh(D) positivo (presenza del gene RHD) o negativo (assenza del gene RHD) in donne Rh (D) negative.

Tempi di attesa per i risultati

I tempi stimati di refertazione sono di circa 10 giorni lavorativi. Tali termini, tuttavia, non sono perentori e potrebbero prolungarsi in caso di ripetizioni dell'esame, risultati non ottimali, approfondimenti del test o dubbi interpretativi.

Limiti del test RhSafe®

Il test RhSafe® è un test di screening e non è un test diagnostico. L'esame non è sostitutivo della diagnosi prenatale invasiva (villocentesi o amniocentesi). Un risultato "NEGATIVO - Assenza del gene RHD." riduce notevolmente le possibilità che il feto sia RhD positivo, ma non può garantire la concordanza di tale risultato con il reale genotipo fetale. L'assenza del segnale relativo all'amplificazione del gene RHD potrebbe essere dovuta ad assenza o bassa quantità di DNA fetale rilevabile nel sangue materno o ad una sua degradazione. L'affidabilità del risultato è quindi correlata alla quantità di DNA fetale disponibile nel campione in esame, dipendente dalla settimana di gestazione della paziente e dalla qualità del DNA fetale presente nel campione biologico. Alcuni frammenti del gene RHD possono essere riscontrati in gestanti con fenotipo Rh-, questo può verificarsi per via di uno pseudogene (RHD Ψ) o di una variante d(C)ce haplotype, entrambi presenti soprattutto nella popolazione africana. Questi genotipi possono dare dei falsi positivi tramite l'analisi genetica del RHD. A causa della presenza di varianti localizzate nei siti di annealing dei primer, sono possibili anche falsi negativi, specialmente nelle popolazioni meno studiate. Per questo motivo è sempre consigliato eseguire il genotipo RhD al momento del parto. Non è possibile eseguire questo test su gestanti RhD Positive. Nel caso di gravidanza gemellare un risultato positivo non permette di definire se uno o entrambi i feti presentino il gene RHD. Il rischio di immunizzazione materno fetale sussiste tuttavia anche se solo uno dei due feti è RhD positivo. La sensibilità e la specificità dell'esame sono superiori al 99% [Runkel et al., BMC Pregnancy and Childbirth (2020) 20:83]. Il rischio di errore diagnostico stimato è circa l'1%.

Informativa Pre-Test

Il nostro centro offre gratuitamente il servizio di informativa pre-test, sia telefonico che presso le sedi dei laboratori del Gruppo Eurofins Genoma, al fine spiegare alla gestante le finalità del test, i benefici, i limiti e i risultati ottenibili.

Consulenza Genetica

Il nostro centro offre gratuitamente il servizio di consulenza genetica, sia pre-test sia post-test, presso le sedi dei laboratori del Gruppo Eurofins Genoma, al fine spiegare alla gestante le finalità del test, i risultati ottenibili e i risultati emersi al completamento dell'esame, in particolar modo nei casi di riscontro patologico, con rischio elevato di patologia cromosomica.

Privacy

Tutti i vostri dati verranno trattati con estrema riservatezza e secondo le vigenti leggi sulla Privacy (Reg. EU 679/2016). 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 possono essere rilasciati a chi, per legge, può avere accesso a essi.

Conservazioni dei campioni

I campioni biologici sono identificati con codice a barre e ID alfa-numerico; quindi, nessun dato identificativo viene associato alla provetta. È quindi impossibile che chiunque possa risalire ai dati personali.