

INFORMATIVA E CONSENSO

TEST PRENATALE NON INVASIVO LUCE

INFORMATIVA TEST PRENATALE NON INVASIVO LUCE

SCOPO DEL TEST

LUCE, il Test Prenatale non Invasivo (NIPT), noto anche come **test del DNA fetale**, è un'analisi di laboratorio che può essere effettuata sulle donne in gravidanza per ottenere alcune informazioni sull'assetto cromosomico fetale. I nostri cromosomi sono 46 e gli errori più comuni che si possono rilevare nel prodotto del concepimento sono le anomalie del numero dei cromosomi, dette Aneuploidie (le più comuni sono le trisomie), o alcune anomalie della struttura dei cromosomi dette Microdelezioni o Microduplicazioni. Queste alterazioni cromosomiche fetali sono responsabili di sindromi cromosomiche complesse con disabilità (es. Sindrome di Down).

Il NIPT non è un test diagnostico, in quanto non ci dà la certezza della diagnosi di patologia cromosomica fetale ma si tratta di un test di screening. In medicina i test di screening sono in grado di definire una probabilità, in questo caso di determinare che il feto sia affetto dalle patologie genetiche di seguito elencate.

Il test LUCE permette di valutare nel concepito le seguenti anomalie cromosomiche: trisomie 13,18,21, valutazione del sesso fetale, valutazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali (X,Y), di duplicazioni e delezioni ($\geq 7\text{Mb}$) di tutti i cromosomi e di aneuploidie autosomiche rare (RAA) di tutti gli autosomi attraverso il sequenziamento dell'intero genoma del DNA fetale libero circolante nel plasma materno. Il test LUCE può essere eseguito in gravidanze a partire da almeno 10+0 settimane di gestazione, singole o gemellari (non più di due gemelli) anche ottenute mediante tecniche di fecondazione in vitro omologa o eterologa.

PRESTAZIONI E LIMITI DEL TEST LUCE (CE-IVD)

- Il test fornisce una stima della frazione fetale (FFE, Fetal Fraction Estimation)** cioè la percentuale di DNA fetale libero circolante nel plasma della gestante) per ciascun campione, utilizzando le statistiche generate durante il sequenziamento. La soglia minima è del 3% per tutte le condizioni indagate. Nelle gravidanze gemellari la frazione fetale è unica per entrambi i gemelli.
- Le performance cliniche** riportate nei lavori scientifici basati su dati ottenuti da più di 60000 campioni¹⁻⁵ sono le seguenti:

Anomalia Cromosomica	Sensibilità ^a (%) (95%CI)	Specificità ^a (%) (95%CI)	Sesso Fetale e Anomalie dei cromosomi sessuali (SCA) ¹	Concordanza (%)
Trisomia 21 ^{b1}	> 99.9 (97.1-100)	99.90 (99.63-99.97)	XX	100
Trisomia 18 ¹	> 99.9 (97.1-100)	99.90 (99.64-99.97)	XY	100
Trisomia 13 ¹	> 99.9 (97.1-100)	99.90 (99.64-99.97)	XO	90.5
RAA ^{c1}	96.4 (82.3-99.4)	99.80 (99.49-99.92)	XXX	100
Delezioni e duplicazioni parziali $\geq 7\text{Mb}^1$	74.1 (55.3-86.8)	99.80 (99.49-99.92)	XXY	100
			XYY	91.7

1 Pertile MD, Flowers N, Vavrek D, et al. Performance of a paired-end sequencing-based noninvasive prenatal screening test in the detection of genome-wide fetal chromosomal anomalies. Clin Chem. 2021;67(9):1210-1219. doi: 10.1093/clinchem/hvab067.

2 Borth H, Teubert A, Glaubitz R, et al. Analysis of cell-free DNA in a consecutive series of 13,607 routine cases for the detection of fetal chromosomal aneuploidies in a single center in Germany. Arch Gynecol Obstet. 2021;303:1407-1414. doi: 10.1007/s00404-020-05856-0.

3 Eiben B, Borth H, Kuter N, et al. Clinical experience with noninvasive prenatal testing in Germany: analysis of over 500 high-risk cases for trisomy 21, 18, 13, and monosomy X. Obstet Gynecol Rep. 2021;5:1-7.

4 Kleinfinger P, Lohmann L, Luscan A, et al. Strategy for use of genome-wide non-invasive prenatal testing for rare autosomal aneuploidies and unbalanced structural chromosomal anomalies. J Clin Med. 2020;9(8):2466. doi: 10.3390/jcm9082466.

5 Harasim T, Neuhann T, Behnecke A, et al. Initial Clinical Experience with NIPT for Rare Autosomal Aneuploidies and Large Copy Number Variations. J Clin Med. 2022; 11(2):372. https://doi.org/10.3390/jcm11020372

a. Basic screen performance is reported for T21, T18, and T13 and excludes 16 samples with known mosaics and 49 samples affected with anomalies for the genome-wide screen only; genome-wide screen performance is reported for RAA and CNVs¹

b. Seven twin pregnancies reported correctly as T21 are not shown in the table.¹

c. RAA excludes chromosomes 21, 18, and 13.¹

- Il test LUCE presenta i seguenti limiti:**

- ✓ **Anomalie indagate e non indagate:** lo screening di base è mirato alla valutazione delle trisomie 21,18,13 in forma omogenea, lo screening dell'intero genoma è mirato alla valutazione di duplicazioni e delezioni ($\geq 7\text{Mb}$) di tutti i cromosomi e di aneuploidie autosomiche rare (RAA) di tutti gli autosomi. Il test per il sesso fetale e per le anomalie del numero dei cromosomi sessuali è opzionale, quindi la scelta deve essere comunicata chiaramente e fleggata. Il test non è in grado di rilevare la presenza di poliploidie (es. triploidia) e riarrangiamenti cromosomici bilanciati (es. Traslocazioni cromosomiche);
- ✓ **Rischio residuo:** Il test non identifica tutti i feti con patologia cromosomica. Esiste pertanto un rischio residuo per altre patologie cromosomiche clinicamente significative non indagate dal test (microdelezioni/microduplicazioni e altre patologiche geniche) che è specifico per ogni gestante e che può essere ridotto significativamente solo con la diagnosi prenatale invasiva (cariotipo fetale ed eventuali approfondimenti su prelievo di villo coriale o di liquido amniotico);
- ✓ **Falsi positivi e negativi:** i test su DNA circolante sono basati sulla quantificazione dei frammenti di DNA di origine placentare e materna che circolano liberi da cellule nel sangue della gestante; pertanto, a causa di condizioni biologiche

INFORMATIVA E CONSENSO

TEST PRENATALE NON INVASIVO LUCE

che possono coinvolgere la placenta o la madre, il test può fornire un risultato discordante dalla reale costituzione fetale. Fonti biologiche di discordanza ad oggi note sono: mosaicismi feto-placentari, gemello riassorbito/evanescente, trasfusioni o trapianti materni, anomalie cromosomiche materne, tumori (anche benigni) materni (es. fibromi/miomi). Queste condizioni biologiche giustificano la sensibilità e la specificità del test sempre inferiori al 100% e la raccomandazione a preferire una tipologia di screening non basata su DNA circolante quando tali condizioni sono note prima del test;

- ✓ **Gestione dei risultati anomali:** per le ragioni sopra esposte, in caso di un risultato anomalo si raccomanda un colloquio con il clinico o genetista medico e la conferma diagnostica del risultato attraverso l'analisi del cariotipo fetale mediante metodica invasiva.
- ✓ **Quando NON è indicata l'applicazione dello screening su DNA circolante:**
 - In caso di **anomalie ecografiche fetali**: in queste gravidanze è indicata l'esecuzione di una diagnosi prenatale invasiva con l'applicazione di test molecolari supplementari su DNA fetale puro mirati all'identificazione della causa genetica della anomalia ecografica;
 - In **gestanti trapiantate, trasfuse, affette da tumore** (anche benigno) e **affette da malattie autoimmuni**
 - In caso di **vanishing twin** (gemello evanescente) documentato: poichè non ci sono dati circa le tempistiche di degradazione del DNA libero circolante del gemello riassorbito, è possibile evidenziare alterazioni nell'attendibilità del test. Questo vale sia per le aneuploidie autosomiche sia per le aneuploidie dei cromosomi sessuali (possibile discordanza tra sesso fetale indicato dal test e dato ecografico);
 - In caso di presenza di **mosaicismo materno, feto-placentare e confinato alla placenta**;
 - In caso di presenza di **CNVs materne**;
 - Nelle **gestanti** note per essere **affette da anomalie cromosomiche (autosomiche e sessuali)** a mosaico o in forma omogenea prima del test;
 - Nelle coppie in cui uno o entrambi i membri sono portatori accertati di anomalie cromosomiche;
- ✓ **Test per lo screening dell'intero genoma***: l'analisi può identificare le delezioni e duplicazioni >7Mb. Inoltre, il rilevamento di anomalie genomiche è limitato alle regioni coperte dal test. Pertanto, non si possono escludere anomalie in regioni differenti.
- ✓ **Gravidanze gemellari**: può essere eseguito sia il pannello base sia il pannello esteso ma non è possibile ricercare le aneuploidie dei cromosomi sessuali. Verrà riportato un unico risultato per trisomie 13, 18, 21 per entrambi i gemelli; pertanto, in caso di positività, non sarà possibile discriminare quale feto (o entrambi i feti) sia portatore dell'aneuploidia. In aggiunta alle trisomie può essere richiesto il solo sesso fetale: il risultato femminile indica la probabile presenza di due feti con sesso femminile; il risultato maschile indica la probabile presenza di almeno un feto con sesso maschile.
- ✓ **Risultati non conclusivi**: il test nel 1.3% circa dei casi sul primo prelievo per le trisomie 13,18,21 e monosomia X non è conclusivo, pertanto verrà richiesto un secondo prelievo senza costi aggiuntivi. In circa l' 83.4% si otterrà un risultato sul secondo prelievo. Se il test non fornisce alcun risultato anche dopo secondo prelievo esso non verrà più ripetuto. Il tasso di non informatività del test al secondo prelievo è 0.4% (*Bernd E. et al, Obstetrics and Gynecology Reports, 2021*). Alcune condizioni sono note per essere associate ad una aumentata probabilità di fallimento del test, altre invece sono ancora sconosciute. Tra quelle note vi sono: vanishing twin, peso materno aumentato ($\geq 70\text{kg}$), tumori materni (anche fibromi uterini), alcune malattie autoimmuni materne, anomalie cromosomiche materne, somministrazione di eparina a basso peso molecolare, gravidanze gemellari e da PMA, mosaicismi feto-placentari o combinazioni di questi fattori (*Sarno et al, UOG 2015; Bianchi D, GiM 2017*). Pertanto, in consulenza genetica non sarà sempre possibile fornire una spiegazione circa le cause dell'assenza di risultato.

In caso di risultato non conclusivo NON verrà rimborsato il costo del test.

*** Nell'analisi dell' intero genoma sono escluse le anomalie del numero dei cromosomi sessuali e determinazione del sesso fetale.**

CONCLUSIONI

- Il test LUCE, come tutti i test NIPT, è uno strumento di screening e non un test diagnostico. Ciò significa che fornisce un'indicazione del rischio di presenza di alcune anomalie cromosomiche nel feto, ma non una diagnosi definitiva.
- Non è da considerarsi sostitutivo della diagnosi prenatale mediante villocentesi o amniocentesi;
- Il test LUCE possiede la marcatura CE IVD, viene effettuato presso il laboratorio Toma Advanced Biomedical Assays SPA;
- I tempi di refertazione sono di circa 7 giorni lavorativi;
- Tutti i risultati ottenuti dal test LUCE sono da considerarsi strettamente confidenziali e sottoposti al vincolo del segreto professionale.
- Per maggiori informazioni/approfondimenti su quanto qui indicato, potrà rivolgersi al Laboratorio di Genetica Molecolare di TomaLab.

INFORMATIVA E CONSENSO

TEST PRENATALE NON INVASIVO LUCE

INFORMATIVA Rh FETALE:

I globuli rossi umani presentano sulla loro superficie gli antigeni responsabili dei gruppi sanguigni ABO 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 fetali, 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.

Attualmente l'immunoprofilassi anti-D rappresenta l'unica gestione offerta in Italia a tutte le donne RhD- sia con feti positivi, RhD+, a cui è clinicamente indicata la profilassi, sia con feti RhD- a cui la profilassi non è necessaria. L'utilizzo dell'immunoprofilassi anti-D non è di per se privo di rischi in quanto un derivato del sangue.

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.

PRESTAZIONI E LIMITI DI RHD TEST (CE-IVD)

4. **Il test può essere eseguito in tutte le donne in gravidanza Rh (D) negative con un'età gestazionale di almeno 10 settimane.**
Il test RH viene eseguito (su richiesta) solo in gravidanze con gestante Rh(D) negativa e partner maschile Rh(D) positivo. 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.
5. **Le performance cliniche:** la sensibilità dell'esame è $\geq 99,9\%$ (95% - CI [99.86%;99.99%]), mentre la specificità è $\geq 99,8\%$ (95% - CI [99.48%;99.98%]).
6. **Il test RH presenta i seguenti limiti:**
 - ✓ Il test RH è un test di screening e non è un test diagnostico.
 - ✓ 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.
 - ✓ **Falsi positivi e negativi:** a causa della presenza di varianti localizzate nei siti di annealing dei primer, sono possibili anche falsi negativi.
 - ✓ Il test RH non permette di discriminare tra il gene RHD dallo pseudogene (RhD Ψ).
 - ✓ Il test RH non può essere effettuato nelle gravidanze gemellari perchè non validato.
 - ✓ Il test Rh non può essere utilizzato per la determinazione del gruppo sanguigno RHD nei donatori di sangue e nei riceventi.

INFORMATIVA E CONSENSO TEST PRENATALE NON INVASIVO LUCE

CONSENSO INFORMATO LUCE e Rh FETALE

La sottoscritta (cognome e nome) _____
nata il _____ a _____
residente a _____ in via/piazza _____ n° _____
CF _____
Tel _____ e-mail _____

DICHIARA:

- Di aver ricevuto informazioni circa limiti e vantaggi delle opzioni alternative inerenti alla diagnosi prenatale invasiva tramite amniocentesi e villocentesi e non intende perseguire tale percorso invasivo;
- Di aver ricevuto un'informazione dettagliata e di aver potuto discutere sugli aspetti dei test sopracitati;
- Di avere compreso le prestazioni del test ed i suoi limiti;
- Di avere compreso che il test LUCE verrà ripetuto gratuitamente solo una seconda volta solo in caso di fallimento dei cromosomi 13,18,21; non verrà ripetuto in caso di fallimento coinvolgente i soli cromosomi sessuali e/o sesso fetale in presenza di un risultato per i cr13,18,21; **in caso di risultato non conclusivo NON verrà rimborsato il costo del test;**
- Di aver compreso che in consulenza non sarà sempre possibile fornire una spiegazione circa le cause cliniche/biologiche dell'eventuale fallimento del test;
- Di avere compreso che il suo Ginecologo curante potrebbe essere informato da TOMA circa i risultati del test.

ACCONSENTE QUINDI A:

- Trattare i miei dati personali, sensibili, genetici; SI ☐ NO ☐
- Rendere partecipe dei risultati delle indagini diagnostiche i seguenti soggetti: SI ☐ NO ☐
 - Familiare: _____ SI ☐ NO ☐
 - Medico Dr: _____ SI ☐ NO ☐
- Di essere informato di eventuali risultati inattesi (se presenti) delle indagini effettuate sul sopraccitato campione biologico che possano avere un beneficio in termini di terapia, prevenzione, o consapevolezza delle scelte riproduttive; SI ☐ NO ☐
- Utilizzare il materiale biologico e i miei dati, nel rispetto della normativa vigente in materia di protezione dei dati personali, per approfondimenti ai fini diagnostici; SI ☐ NO ☐
- Presso altri centri, anche al di fuori della UE: _____ SI ☐ NO ☐
- Che il sopraccitato campione biologico venga conservato ed utilizzato, con garanzia della massima riservatezza, per ulteriori accertamenti diagnostici; SI ☐ NO ☐
- Che il sopraccitato campione biologico, relative immagini e referti vengano conservati ed utilizzati, con garanzia di massima riservatezza, per studi e ricerche finalizzate alla tutela della collettività in campo medico, biomedico ed epidemiologico, con particolare riferimento a programmi per la verifica della qualità delle prestazioni dei laboratori di analisi cliniche (disposizione di richiesta obbligatoria, quale requisito di accreditamento di Regione Lombardia e conservazione/utilizzo solo previo consenso utenti. Nota RL G1.2018.0016748 del 24-05-2018). SI ☐ NO ☐

Pertanto, in base all'informativa ricevuta, che ritengo completa ed esaustiva, accetto che il materiale biologico prelevato sia utilizzato per l'analisi genetica.

Luogo e data _____

Firma dell'interessata _____

Firma e timbro del Medico Specialista che ha raccolto il consenso _____

La sottoscritta _____

REVOCA il consenso sopra riportato nei punti: _____

Firma _____