


INFORMATIVA PER SCREENING NON INVASIVO SU DNA CIRCOLANTE NEL SANGUE MATERNO PER L'INDAGINE DELLE TRISOMIE 21,18,13, ANEUPLOIDIE DEI CROMOSOMI SESSUALI E SESSO FETALE (Harmony Prenatal Test CE-IVD)
 R822-GM-OG-22 Rev.15 del 13/05/2021

SCOPO DEL TEST

Il test oggetto di questo consenso permette di valutare il rischio nel concepito per trisomie 13,18,21, nonché l'analisi opzionale del sesso del feto e della valutazione del rischio delle aneuploidie dei cromosomi sessuali (X,Y) attraverso la quantificazione del DNA libero circolante nel plasma materno. Il test Harmony può essere eseguito in gravidanze a partire da almeno 10+0 settimane di gestazione, singole o gemellari (non più di 2 gemelli), anche ottenute mediante tecniche di fecondazione assistita eterologa.

PRESTAZIONI E LIMITI DI HARMONY PRENATAL TEST (CE-IVD)

- 1) **Quantifica accuratamente la frazione fetale in ogni campione**, integrandola nell'algoritmo per il calcolo del rischio e la riporta nel referto.
- 2) **Le performance cliniche prospettiche** in termini di sensibilità, specificità e valore predittivo positivo (95%CI) del test eseguito presso il laboratorio TOMA calcolati non considerando tutti i casi senza follow-up sono i seguenti (audit Dicembre 2020):

<i>Anomalia Cromosomica</i>	<i>Sensibilità (%) (95%CI)</i>	<i>Specificità (%) (95%CI)</i>	<i>VPP (%) (95%CI)</i>
Trisomia 21	99.17 (95,44-99.98)	99.99 (99.97-100)	97.5 (92.75-99.19)
Trisomia 18	100 (75,29-100)	99.99 (99.97-100)	86.7 (61.91-96.29)
Trisomia 13	100 (54.07-100)	99.95 (99.92-99.98)	31.6 (21.14-44.28)
Monosomia X	100 (15.81-100)	99.98 (99.96-99.99)	28.6 (14.27-49.00)
47,XXX	100 (54.07-100)	99.97 (99.94-99.99)	46.2 (29.01-64.26)
47,XXY	100 (71.51-100)	99.98 (99.95-99.99)	64.7 (45.17-80.32)
47,XYY	100 (54.07- 100)	100 (99.99-100)	100 (60.97-100)
Sesso fetale	Accuratezza (%): 99.99 (99.97-100) (singole) e 100 (99.41-100) (gemellari)*		

**basato sui casi discordanti segnalati all'ecografia o alla nascita dal clinico/genitori.*

Le prestazioni del test eseguito presso il laboratorio TOMA sono sovrapponibili a quelle riportate nei lavori scientifici. Gli intervalli di confidenza ampi sono dovuti alla bassa numerosità conseguente alla rarità delle condizioni nella popolazione indagata. Nelle gravidanze gemellari, a causa della loro rarità, le performance del test per T21 non sono completamente note e i dati sono insufficienti per differenziare gravidanze monocoriali/omozigoti e bicoriali/dizigoti; i dati preliminari indicherebbero performance per la T21 simili a quelle delle gravidanze singole.

3) Harmony Prenatal Test presenta i seguenti limiti:

- **Anomalie indagate e non indagate:** il test è mirato alla valutazione delle trisomie 21,18,13 in forma omogenea. Il test per il sesso fetale e per le anomalie del numero dei cromosomi sessuali è opzionale. Il test per aneuploidie dei cromosomi sessuali può essere richiesto solo in gravidanze singole. Il test non valuta il rischio di mosaicismo per le aneuploidie indagate e di altre condizioni diverse da quelle che non sono oggetto dell'indagine prescelta;
- **Rischio residuo:** le trisomie 21,18,13 rappresentano in media il 50% della patologia cromosomica fetale evidenziabile tramite cariotipo standard associata a conseguenze clinicamente significative; tale percentuale varia al variare dell'età materna. A questa si aggiunge anche un rischio di patologia cromosomica fetale per condizioni non rilevabili con cariotipo standard ma solo tramite microarray che è pari a circa 1/100-1/200 a tutte le età materne. Esiste pertanto un rischio residuo per altre patologie cromosomiche clinicamente significative non indagate dal test che è specifico per ogni gestante e che può essere virtualmente ridotto a zero solo con la diagnosi prenatale invasiva (*Grati et al, Am J Med Genet A 2010; Ferreira, Grati et al, 2016*);
- **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 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 (*Grati et al, Genet Med 2014*). 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 ad alto rischio:** per le ragioni sopra esposte, in caso di risultato di alto rischio si raccomanda un colloquio con il clinico o genetista medico e la conferma diagnostica del risultato attraverso l'analisi del cariotipo fetale



- (*Grati et al, Prenatal Diagnosis 2015; Società Italiana di Genetica Umana (SIGU) Documento di indirizzo su NIPT, Luglio 2016; Linee Guida Consiglio Superiore di Sanità, Giugno 2015*);
- **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 con **vanishing twin** documentato;
 - Nelle **gestanti** note per essere **affette da aneuploidia dei cromosomi 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;
- **Gravidanze gemellari:** non possono essere richiesti i test per le **aneuploidie dei cromosomi sessuali** perché **non validati**. Verrà riportato un unico risultato di rischio per trisomie 13, 18, 21 per entrambi i gemelli. 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 1 feto con sesso maschile. Il risultato del test va interpretato nell'ambito della corionicità;
- **Risultati non conclusivi:** il test per le trisomie 13,18,21 non è conclusivo nel 3.8% circa dei casi al primo prelievo (80% per scarsa qualità; 20% per bassa frazione fetale) e pertanto verrà richiesto un secondo prelievo senza costi aggiuntivi; in circa il 70% di questi il test fornisce un risultato su 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 0.7%. Nel 1% dei casi il test per i cromosomi sessuali non è conclusivo in presenza di un risultato conclusivo per le trisomie 13,18,21: in tali casi il test non verrà ripetuto. 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 (≥ 70 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 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.

CONCLUSIONI

- Harmony Prenatal Test è opzionale. Non deve essere considerato un test diagnostico e, pertanto, non è sostitutivo della diagnosi prenatale mediante villocentesi o amniocentesi; il test Harmony costituisce una rivalutazione, molto accurata, del rischio personale per le condizioni oggetto del test con prestazioni e limiti espressi ai punti 1, 2 e 3;
- Harmony Prenatal Test CE-IVD è effettuato presso il lab. TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A. accreditato e convenzionato con SSN, accreditato ISO 9001:2015, Qualità in Medicina di Laboratorio (rev. 2013) e SIGUCERT (Sistema di Gestione per la Qualità nei Laboratori di Genetica Medica);
- Il test Harmony è stato validato internamente secondo le raccomandazioni dell'EurogenTest (*Mattocks et al, 2010*), del Consiglio Superiore di Sanità (CSS), della Società Italiana di Genetica Umana (SIGU) e della Società Italiana di Ecografia Ginecologica e Ostetrica (SIEOG);
- I tempi di refertazione sono di circa 15 giorni;
- Tutti i risultati ottenuti dal test sono da considerarsi strettamente confidenziali e sottoposti al vincolo del segreto professionale.
- Per maggiori informazioni/approfondimenti su quanto qui indicato, potrà rivolgersi al Responsabile della Sezione Specializzata del Laboratorio TomaLab.



CHECKLIST PER CONSULENZA PRETEST HARMONY

ANAMNESI DELLA COPPIA E DELLA GESTANTE

La coppia:

- Ha avuto precedenti aborti o figli/feti con anomalie cromosomiche o malformati (anche con altri partner)? NO SI[^]
- Cariotipo materno (se noto): _____
- Cariotipo paterno (se noto): _____

La gestante è/stata affetta da o sottoposta a:

- Malattie immunitarie/autoimmuni, ipertensione, diabete, tumore (benigno/maligno), altro ...? NO SI[^] (specificare)
- Malformazioni cardiache (anche corrette chirurgicamente)? NO SI[^]
- Anomalie del palato? NO SI[^]
- Malformazioni renali? NO SI[^]
- Epilessia? NO SI[^]
- Fibromi uterini? NO SI[^] (indicare dimensioni e localizzazione)
- Trasfusioni in gravidanza? NO SI[^] (indicare a che settimana di gestazione)
- Trapianti d'organo? NO SI[^] (specificare quale e quando)

Altre informazioni sulla gestante:

- Terapia farmacologica in gravidanza? Se sì descrivere quale (farmaco e dosaggio) NO SI[^]
- Terapia con Eparina (a basso peso molecolare)? NO SI[^] (indicare l'ora e data dell'ultima somministrazione)
- Esposizione ad agenti mutageni/teratogeni (lavoro a contatto con sostanze chimiche o radiazioni) NO SI[^]
- Fattore Rh materno: Rh POSITIVO Rh NEGATIVO

^DESCRIZIONE, COMMENTI E NOTE AGGIUNTIVE:

ANAMNESI DELLA GRAVIDANZA

Vanishing twins

- eseguite due ecografie e non vi è riduzione delle camere gestazionali
- eseguita una sola ecografia
- non ha con sé le due ecografie (6-8 + 11-13 settimane) e riferisce assenza di riduzione delle camere gestazionali
- non ha con sé le due ecografie (6-8 + 11-13 settimane) e riferisce riduzione delle camere gestazionali (*Informativa e consenso test Harmony_vanishing twin*)

Se gravidanze IVF

L'attuale gravidanza è stata ottenuta tramite: ICSI FIVET Indicare N. embrioni trasferiti: _____



Luogo e data

Firma dell'interessato.....

Pag. 4 a 4