

TEST DI SCREENING PER LA TRISOMIA 21 MEDIANTE ANALISI DEL cfDNA SUL SANGUE MATERNO E POTENZIALI PROBLEMATICHE MEDICO-LEGALI

Andrea Sciarrone , Tiziana Frusca , Domenico Corea, Giuseppe Ettore , Andrea Paganelli, Luca Savelli, Anna Aprile , Antonella Argo, Marco Carucci .

Comitato medico legale SIEOG

Giuseppe Rizzo , Giuseppe Cali, Federico Prefumo, Dorella Franchi , Giuseppe Maria Maruotti, Valentina De Robertis , Tullio Ghi, Ambra Iuculano , Elisa Pappalardo, Roberta Zanarotti, Francesco Labate.

Direttivo SIEOG 2015-2017

INTRODUZIONE

Negli ultimi 15 anni lo screening per le anomalie cromosomiche, ed in particolare per la trisomia 21, è diventato una pratica molto diffusa nei paesi industrializzati e dotati di un sistema sanitario moderno. Nonostante il fatto che l'implementazione di tale metodica ha comportato un costante aumento della individuazione della patologia cromosomica in epoca prenatale e di conseguenza ha consentito il ricorso ad una eventuale interruzione di gravidanza in caso di conferma al test diagnostico , è stato osservato un aumento delle richieste di risarcimento correlate alla nascita di un feto affetto da cromosomopatia, ed in particolare da una trisomia 21, dopo un esito negativo del test di screening. I contenziosi in oggetto , che si sono conclusi in diversi casi a favore delle coppie di genitori dei bambini affetti dalla patologia, sono stati fondati prevalentemente sulla ampiezza dell'informazione che la coppia aveva ricevuto dal ginecologo curante in merito ai test di screening e alle metodiche di diagnosi prenatale invasiva, ritenuta in certi casi insufficiente , e sul fatto che fosse disponibile o meno la prova dell'avvenuta opera informativa da parte del sanitario .

LO SCREENING DELLA TRISOMIA 21 MEDIANTE ANALISI DEL CFDNA SUL SANGUE MATERNO : BREVE DISAMINA DELLE CONOSCENZE SCIENTIFICHE E DELLE LINEE GUIDA DISPONIBILI PER LA PRATICA CLINICA QUOTIDIANA

Lo screening non invasivo della trisomia 21 basato sull'analisi del DNA libero fetale sul sangue materno o cell free DNA (cfDNA) (denominato comunemente anche NIPT) sta introducendo rapidamente una rivoluzione nella pratica ostetrica. Infatti a dispetto del fatto che esso è fruibile nella maggior parte delle realtà sanitarie attraverso canali privati, molte donne richiedono una informazione in merito al test al proprio ginecologo o la ricevono attivamente insieme a quella relativa ai test di screening "classici" e alla diagnosi prenatale invasiva e decidono successivamente di sottoporsi al test. Aspetti estremamente favorevoli di questo test sono rappresentati dalla non invasività unita a sensibilità e specificità molto elevate e certamente maggiori rispetto ai test tradizionali, almeno per la trisomia 21, con una riduzione del ricorso alla diagnosi prenatale invasiva e, di conseguenza, delle possibili perdite fetali ad essa correlate.

Una caratteristica relativa alle evidenze scientifiche su questa metodica di screening è che, a causa della rapidità con cui vengono condotte a termine le ricerche cliniche, i documenti prodotti dalle varie società scientifiche e contenenti raccomandazioni o buone pratiche mediche, finiscono per diventare rapidamente obsoleti e necessitanti di un aggiornamento-

I primi studi avevano dimostrato una utilità di questo test di screening prevalentemente in gravidanze a rischio elevato per trisomia 21 (es. per età materna > 35 anni , test di screening convenzionali positivi , precedente figlio affetto da trisomia 21 , soggetti portatori di traslocazione robertsoniana). Gli studi più recenti indicano invece una concreta possibilità di utilizzo anche nella popolazione di gravide a basso rischio. A questo proposito basti citare una recente metanalisi

condotta su 37 studi , effettuati sia su una popolazione di gravide ad alto rischio che su una popolazione di gravide a basso rischio, che ha dimostrato una detection rate per la trisomia 21 del 99,2%, per la trisomia 18 del 96,3%, e per la trisomia 13 del 91% (1) . E' importante ricordare che da questa metanalisi sono stati esclusi i casi di mosaicismo , di cariotipi complessi o campioni con una bassa frazione di DNA fetale e questo può avere in qualche modo aumentato la detection rate e ridotto i falsi positivi. In una successiva metanalisi di 41 studi (2) è stata rilevata una sensibilità del 99,3%, del 97,4% e del 97,4 % rispettivamente per le trisomie 21, 18 e 13 . La specificità è risultata del 99,9% per tutte e tre le trisomie. Il valore predittivo positivo per la trisomia 21 nelle gravidanze ad alto rischio è risultato del 91% mentre nella popolazione di gravide a basso rischio è risultato dell'82% ; valori inferiori sono stati rilevati per le altre 2 trisomie .

Le linee guida disponibili hanno sostanzialmente seguito nel tempo gli orientamenti derivanti dagli studi condotti mediante tale metodica di screening. Infatti l'ACOG (*American Congress of Obstetricians and Gynecologist*) in un *Committee Opinion* del 2012 (3) aveva raccomandato di limitare l'impiego di questa metodologia di screening alle gravidanze a rischio. Tale filosofia di impiego del test è stata seguita anche dall'ISUOG (*International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*) (4) In questo senso anche le uniche linee guida disponibili sul nostro territorio nazionale e pubblicate nel 2015 a cura del Ministero della Salute (5) contengono le stesse raccomandazioni. Man mano però che ulteriori ricerche sono state portate a termine, le linee guida hanno cambiato orientamento adeguandosi ai risultati riportati dagli studi più recenti. Nel settembre del 2015 un *Committee Opinion* congiunto ACOG e SMFM (*Society of Materno-Fetal Medicine*)(6) ha riportato come, confrontando la performance delle metodiche di screening tradizionali e le limitazioni del cfDNA sul sangue materno, le prime rimanevano le metodiche di prima scelta per la maggior parte della popolazione di donne gravide a basso rischio. Peraltro le due Società scientifiche, riconoscendo che le gravide possono scegliere di effettuare il cfDNA indipendentemente dalla classe di rischio a cui appartengono, hanno ritenuto opportuno che il test venisse discusso con la persona assistita in termini di benefici e limitazioni, in un contesto in cui venissero illustrati e spiegati i diversi test di screening e le diverse indagini diagnostiche.

Anche l'ISPD (*International Society of Prenatal Diagnosis*) che in precedenza aveva raccomandato che lo screening mediante cfDNA su sangue materno venisse riservato alle gravidanze a rischio, nel 2015 ha aggiornato le proprie raccomandazioni elencando le diverse metodiche di screening disponibili per la popolazione generale delle gravide e comprendendo fra esse anche il test cfDNA fra i test di prima linea o in combinazione con le altre metodologie di screening (7).

Sul nostro territorio nazionale, oltre alle linee guida del Ministero della Salute redatte nel 2015 che ribadivano, come già riportato, di limitare l'offerta di questo test di screening alle gravidanze ad alto rischio, è stato stilato un documento, frutto dell'impegno di un folto gruppo di lavoro Regionale multidisciplinare sui test prenatali non invasivi dell'Emilia Romagna , composto da rappresentanti della Sanità, esperti in gestione , legali, studiosi di etica e rappresentanti dei cittadini , pubblicato dall'Azienda Sanitaria e Sociale Regionale il 28/12/2015 (8); in tale documento sono state sottoposte ad analisi tutte le evidenze scientifiche disponibili e nelle conclusioni è stato raggiunto un consenso unanime, fondato sulla base di una valutazione costi/benefici clinici, nel raccomandare l'offerta del cfDNA sul sangue materno in sostituzione al test combinato nell'attuale percorso prenatale della Regione Emilia-Romagna per la popolazione generale di donne in gravidanza che desiderano sottoporsi a indagini prenatali per lo screening di aneuploidie fetali. Tuttavia tale raccomandazione attende ancora una verifica di fattibilità in relazione ai costi economici che dovrebbero essere sostenuti dal Sistema Sanitario Nazionale nel caso in cui questo test dovesse sostituire il test combinato .

ATTUALI TENDENZE GIURISPRUDENZIALI RELATIVE A SCREENING DELLA TRISOMIA 21 E DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA .

E' importante sottolineare come negli ultimi 5 anni la Corte di Cassazione ha redatto alcune sentenze relative a casi in cui la nascita di un neonato affetto da trisomia 21 o da malformazione era al centro di vertenze in cui la parte attrice lamentava una mancata o non corretta informazione sulle metodiche di screening della trisomia 21 , sui loro limiti e sulla possibilità di poter eseguire la diagnosi prenatale invasiva. La prima sentenza che prendiamo in considerazione in questo documento è la n° 16754 / 2012 (9), in cui la Corte di Cassazione ha affermato che *“Onere del medico risultava quello di provvedere a una completa informazione circa le possibilità (tutte le possibilità) di indagini diagnostiche, più o meno rischiose, e circa le percentuali di false negatività offerte dal test prescelto (“test in ipotesi da suggerire, non certo da eseguire sic et simpliciter, in guisa di scelta sostitutiva e di assunzione del rischio parimenti sostitutivo”), onde consentire alla gestante una decisione il più aderente possibile alla realtà della sua gestazione”*. In questa sentenza la Suprema Corte ribadisce l'importanza dell'informazione preliminare su metodiche di screening e diagnosi prenatale finalizzata a consentire alla persona assistita in stato di gravidanza una scelta consapevole e centrata sui bisogni propri e della propria famiglia. Tale orientamento viene ribadito in una sentenza successiva relativa alla stessa fattispecie (Cassazione 25528/2013) (10): anche in questo caso il ginecologo ha suggerito un test combinato dissuadendo la persona assistita da scelte in merito ad una diagnosi prenatale invasiva, somministrando alla gravida una informazione non corretta in merito alle capacità del test di screening non invasivo la cui efficacia veniva erroneamente paragonata a quella dell'amniocentesi. La Corte di Cassazione ha confermato l'orientamento dei giudici della Corte d'Appello che avevano riscontrato profili di colpa professionale a carico del medico che derivavano *«dall'essersi egli stesso affidato, dopo aver dissuasato la gestante dal praticare l'amniocentesi, ad altri esami d'incerto significato e che per le modalità con le quali furono condotti non erano idonei ai fini della diagnosi della sindrome di Down»*, rassicurando quindi la donna sul rischio di malformazioni del feto e, dunque, impedendole di effettuare *«a ragion veduta le proprie scelte»* in merito ad una diagnosi prenatale invasiva. In un'altra recente pronuncia la Suprema Corte (n. 11364/ 2014) (11) ha affrontato il caso di un ginecologo che, per obiezione di coscienza, non ha informato la gravidanza della presenza di anomalie fetali impedendo quindi, sostanzialmente il ricorso alla legge 194/78. Una importante conseguenza è consistita nel fatto che tale comportamento da parte del sanitario è stato riconosciuto come dolosamente omissivo dalla suprema Corte e causa diretta dell'impossibilità di autodeterminarsi della persona assistita ; questo ha comportato il conseguente venir meno delle garanzie assicurative che garantiscono solo, ovviamente, gli eventi colposi e non quelli intenzionalmente determinati. La Suprema Corte ha poi continuato nel suo iter giungendo, per una fattispecie analoga (nascita di neonato affetto da trisomia 21 dopo test combinato negativo), alla sentenza n° 24220 del 2/10/2015 (12) in cui viene descritto, in modo maggiormente articolato, che è opportuno eseguire una consulenza pre-test quanto più informativa ed esaustiva possibile e che l'onere di provare che l'informazione sia avvenuta correttamente spetta all'operatore sanitario. La Corte di Cassazione ribadisce infatti che *“Il consenso ad eseguire ovvero, come nella specie, a non eseguire un determinato intervento medico o chirurgico va acquisito previa informazione completa ed effettiva delle possibilità offerte dalla scienza medica; Compete al sanitario l'individuazione degli esami diagnostici e delle terapie (o dell'intervento chirurgico) da praticare nel caso concreto, ma , contrariamente a quanto ritenuto dal giudice di merito , egli non può esimersi dal prospettare la possibilità, nota alla scienza, di esami o terapie (o interventi) alternativi o complementari, pur se comportanti dei costi e dei rischi maggiori, essendo rimessa al paziente la valutazione dei costi e dei rischi (cfr. Cass. n. 19731/14), previa adeguata prospettazione degli uni e degli altri da parte del medico”*. Questo periodo della sentenza definisce sostanzialmente quali sono i cardini del contenuto e della modalità dell'informazione stessa in quanto, non solo essa deve essere completa ma deve essere resa in una modalità non paternalistica, e senza alcun pregiudizio

in merito a quelli che possono essere costi o rischi maggiori di quanto ritenuto opportuno proporre , in quanto tale valutazione non spetta all'operatore sanitario ma viene demandata esclusivamente alla persona assistita. Un altro dato importante è che la sentenza riconosce *“assenza di colpa del Sanitario per la mancata prescrizione alla gestante di esami diagnostici non imposti dalle sue condizioni di salute né suggeriti dai protocolli medici nel caso specifico”* poiché ribadisce che *“nel caso in esame viene discussa la violazione dell'obbligo di informare la paziente degli esami diagnostici effettuabili per conoscere preventivamente le patologie fetali ; Tale obbligo si pone a monte dell'esecuzione della prestazione medica ulteriore consistente nella verifica degli esiti di esami già effettuati e nella valutazione della necessità di approfondimenti; quindi la condotta omissiva che viene imputata al medico riguarda la mancanza di informazioni nei confronti della paziente gestante”*.

Avvicinandosi poi alla problematica dell'onere probatorio relativo all'informazione la Suprema Corte riporta che *“l'inadempimento dell'obbligo di informazione assume autonomo rilievo nel rapporto contrattuale , - a prescindere dalla correttezza o meno del trattamento sanitario eseguito - o dalla prova che il danneggiato avrebbe rifiutato l'intervento (es. amniocentesi) se adeguatamente informato”*, e afferma che *“a fronte dell'allegazione, da parte del paziente , dell'inadempimento dell'obbligo di informazione, è il medico gravato dall'onere della prova di aver adempiuto tale obbligazione (ex cass 2847/10; ex cass 20984 /12, ex cass 19229 /13) “*. Quindi alla fine del ragionamento stabilisce che *“il medico deve dare la prova di avere adempiuto a tale obbligo , restando a suo carico , in caso contrario , la responsabilità per lesione del diritto del paziente all'autodeterminazione anche in merito alle scelte diagnostiche”* .

Si precisa inoltre che in tema di onere probatorio incide la natura del rapporto medico –persona assistita; in particolare esso continua ad essere di natura contrattuale fra persona assistita e struttura sanitaria erogante la prestazione o fra persona assistita e Medico, nel caso in cui quest'ultimo abbia agito nell'adempimento di una obbligazione contrattuale assunta con la persona assistita stessa (ex art.7 comma 1 , legge n° 24 / 8-3-2017 (13); in questi casi l'onere della prova resta a carico del sanitario /struttura erogante la prestazione .

Le sentenze fin qui analizzate ribadiscono l'importanza di una corretta, ampia e chiara informazione su tutte le metodiche, di screening e di diagnosi, che possono essere impiegate in gravidanza per l'individuazione delle patologie genetiche, da veicolare in modo attivo alla persona assistita, senza preconcetti da parte del medico di qualsivoglia natura (legati per esempio alla propria condizione di obiettore di coscienza, alla falsa convinzione che la gravida è troppo giovane per presentare un rischio concreto di malattia cromosomica fetale, o al fatto che alcuni test di screening o invasivi non possano essere effettuati attraverso il Servizio Sanitario Nazionale): solo una informazione adeguata ed esaustiva consente infatti alla persona assistita di seguire la strada ritenuta da lei stessa maggiormente opportuna e idonea al proprio progetto genitoriale.

E' quindi desumibile da quanto riportato nelle sentenze appena analizzate che il negare alla gravida, per qualsivoglia motivo, informazioni importanti per le sue scelte in merito allo screening e alla diagnosi prenatale o fornire una informazione scorretta o non completa su tipi, scopi e limiti delle varie metodiche impiegabili può portare, in caso di esito avverso del processo assistenziale (vale a dire una mancata individuazione di una condizione di rischio aumentato , con conseguente mancata messa in atto di una metodica di diagnosi prenatale invasiva e quindi, in definitiva, una mancata diagnosi) all'instaurarsi di giudizio mirato al riconoscimento in capo al Sanitario (ginecologo curante o ostetrica) o alla Struttura Sanitaria presso cui è stato gestito clinicamente l'iter della gravidanza (a seconda della tipologia del rapporto medio –paziente) di un inadempimento contrattuale fonte poi di rilevanti risarcimenti.

POSSIBILI PROBLEMATICHE MEDICO-LEGALI RELATIVE ALL'ESAME DEL cfDNA SU SANGUE MATERNO.

Con una sempre più capillare implementazione del cfDNA nello screening prenatale le problematiche etiche e medico-legali possono manifestarsi pesantemente sotto diversi profili. Alcuni autori pongono, ad esempio, il problema relativo all'informazione resa da un medico che ha sollevato obiezione di coscienza o nei confronti di una persona assistita con particolari convinzioni morali contrarie a pratiche abortive (14). Diverso e meritevole di una breve disamina è il potenziale e pericoloso impiego del cfDNA senza fini strettamente medici, come quello della selezione dei feti in base al sesso che pone problemi etici di grande importanza. Inoltre possono verificarsi problematiche relative alla privacy, qualora più sanitari si occupino di membri di una famiglia estesa numericamente e che può apprendere dell'esistenza di un membro affetto da una patologia potenzialmente in grado di interessare altri familiari. Con l'evoluzione della tecnologia impiegata nell'esame cfDNA e con l'estensione delle condizioni patologiche indagabili potrebbero sorgere altre problematiche correlate all'ampliamento o alla limitazione del quantitativo di informazioni che i futuri genitori potrebbero ottenere sul nascituro. Una ulteriore problematica è quella della occasionale scoperta di condizioni tumorali nella donna e della mancanza di linee guida relative al counselling pre-test, al comportamento dei laboratori e al counselling post-test in questi casi (14). Tutte queste problematiche pongono interrogativi rilevanti per ricerche future e sono la dimostrazione di una certa preoccupazione serpeggiante nella classe medica e fra gli esperti di etica e diritto nei confronti di questa promettente tecnologia.

Lasciando da parte però quelle che possono essere le problematiche etiche riguardanti una più sottile selezione dei feti affetti da patologie genetiche o un impiego potenziale (e criticabile) sulla selezione del sesso del nascituro in assenza di rischi per patologie legate al sesso, si ritiene che questa nuova metodologia di screening nasconda altri potenziali rischi medico-legali di una certa rilevanza.

1) INFORMAZIONE SULLA DISPONIBILITÀ DEL TEST :

La pratica di una informazione corretta in merito alle malattie genetiche ed in particolare alla possibilità di conoscerne la presenza prima della nascita, riposa su due punti fondamentali che sono la diagnosi prenatale invasiva ed i test di screening. La prima è considerabile con il vero "gold standard" in quanto è altamente accurata e presenta un bassissimo tasso di fallimenti. Inoltre essa è in grado di diagnosticare un numero notevole di malattie genetiche, molto maggiore rispetto ai test di screening classici e al test sul cfDNA sul sangue materno. Attualmente l'informazione relativa alla diagnosi prenatale invasiva, anche se gravata da un certo rischio di aborto, è da considerarsi una pratica assistenziale corretta e supportata da linee guida specifiche (comprese quelle attuali della SIEOG, ed 2015) nonché giuridicamente raccomandata anche in considerazione delle conclusioni a cui sono giunte le recenti sentenze della Cassazione.

Certamente però, nell'ambito di una adeguata informazione, non possono e non devono essere negate alla gravida notizie riguardanti le possibili alternative alla diagnosi prenatale invasiva, come i test di screening, che devono essere tenuti ben distinti da quelli diagnostici in sede di counseling reso alla persona assistita. Si ritiene quindi che nell'ambito della pratica di ottenimento di un corretto consenso informato in merito a questa parte dell'assistenza alla gravidanza, il sanitario (Ginecologo curante e Ostetrica che si occupano della gestione clinica della gravidanza) abbia il dovere di informare attivamente e spiegare rischi, benefici e possibili alternative ad una certa procedura diagnostica e abbia quindi il dovere di informare la paziente anche della disponibilità del cfDNA, riservando un adeguato spazio per la veicolazione di tali informazioni durante il primo controllo clinico.

A questo proposito si ritiene importante attirare l'attenzione dei sanitari sulle possibili conseguenze di una mancata informazione su di una tipologia di screening come il cfDNA caratterizzata da una sensibilità elevatissima nei confronti della trisomia 21 a fronte di un falso negativo di un test convenzionale comportante una mancata diagnosi e quindi l'impossibilità per la persona assistita di

poter usufruire delle procedure della legge 194/78. E' possibile infatti che la non completa informazione in merito ai test di screening disponibili, in quanto non estesa al test cfDNA, unita alla sensibilità molto elevata nei confronti della trisomia 21 di quest'ultimo test di screening (prossima al 100%), in caso di nascita di un neonato affetto, possa costituire un importante motivo di doglianza da parte della persona assistita e possa risultare, in caso di contenzioso medico legale, argomento sufficiente far pendere il "piatto della bilancia" in proprio favore.

Un altro possibile motivo di contenzioso potrebbe invece essere dato, sempre dopo una mancata informazione su tale test di screening a priori o dopo un test combinato o integrato positivo per trisomia 21, se la persona assistita scegliesse di effettuare una DPN invasiva seguita poi, malauguratamente, da un aborto; in quest'ultimo caso la doglianza potrebbe consistere nel non aver potuto scegliere di effettuare un test di screening (il cfDNA per l'appunto) che forse avrebbe potuto ridurre il rischio di trisomia 21 e indurla, o quanto meno consentirle di scegliere di non effettuare una DPN invasiva (14).

Si ricorda peraltro che dell'avvenuta opera informativa il sanitario potrebbe dovere successivamente fornire la prova di averla resa correttamente, e quindi è opportuno l'impiego di strumenti quali ad esempio il foglio di consenso / preparato dalla SIEOG, e disponibile anche sul sito della Società Scientifica, che deve essere controfirmato dalla persona assistita.

2) INFORMAZIONE INADEGUATA SUL TEST :

Il cfDNA è un test di screening (almeno fino ad ora) e questa è la principale informazione che deve essere veicolata, senza "edulcorazioni" alla gravida. Quindi il principale concetto che va chiarito alla persona assistita è che tale accertamento non sostituisce l'amniocentesi o la villocentesi in quanto non è un test diagnostico. Questo punto è di fondamentale importanza ed è a volte quello su cui si constatano inadeguate conoscenze da parte della persona assistita.

Un punto su cui bisogna insistere durante la consulenza pre-test è quello relativo alla necessità di prendere in considerazione la diagnosi prenatale invasiva in caso di test di screening positivo, raccomandando alla gravida di non prendere decisioni in merito ad una interruzione della gravidanza sulla base della sola risposta del test di screening.

Questo concetto non va solo tenuto in considerazione nella fase di informazione pre-test ma anche di refertazione del test, di consulenza post-test e nella fase in cui si riporta il risultato del test sulla refertazione di altri esami, ad esempio sul diario clinico.

Un esito positivo del test andrà sempre integrato dall'offerta della diagnosi prenatale invasiva per giungere ad una diagnosi che il cfDNA non può fornire.

Un risultato negativo del test, invece, dovrà essere refertato come basso rischio di patologia e altamente predittivo di normalità per le patologie ricercate (con i limiti specifici per ciascuna di esse) e non con una frase che attesta "tout court", non prudentemente, l'assenza vera e propria della patologia.

Inoltre il cfDNA è un test per lo screening di un numero contenuto di patologie genetiche, ed in particolare presenta una elevata sensibilità e specificità soprattutto nei confronti della trisomia 21. Nella fase della consulenza pre-test è assolutamente necessario rendere edotta la gravida di tutto ciò e che un esito negativo del test stesso non può fornire informazioni su disordini genetici diversi da quelli alla cui ricerca esso è indirizzato.

Un altro punto fondamentale della consulenza pre-test è la raccomandazione di effettuare una ecografia prima di eseguire il cfDNA test, in particolare fra 11 e 13 settimane di età gestazionale (vedi oltre).

3) COUNSELLING POST-TEST :

A parte i casi in cui l'esito del test è negativo, nel qual caso il contenuto del counselling è stato già trattato in uno dei precedenti paragrafi, è assolutamente necessario che la persona assistita conosca nella fase del counselling pre-test che in caso di test positivo (rischio aumentato) verrà offerta una diagnosi prenatale invasiva per conseguire un risultato diagnostico di esclusione o di presenza della

patologia genetica, in modo che la gravida sia preparata alla possibilità che il test venga positivo e possa già cominciare a riflettere su tale evenienza ai fini di una scelta corretta; tali concetti, in caso di test positivo, se adeguatamente veicolati in precedenza e opportunamente recepiti e compresi, consentono una consulenza post-test più agile e una scelta più agevole da parte della donna nei confronti dell'opportunità di una diagnosi prenatale invasiva.

4) QUANDO ESEGUIRE IL cfDNA:

Sebbene le Ditte che offrono il cfDNA, propongano l'esecuzione del test a partire dalla 10 settimana di gestazione, per i vantaggi che una diagnosi precoce può offrire, è bene informare e motivare la paziente sulla importanza di eseguire il cfDNA dopo una ecografia da effettuarsi fra 11 e 13 settimane per la datazione della gravidanza, per la eventuale diagnosi di gemellarità e delle sue complicazioni (es. vanishing twin, in grado di influenzare l'affidabilità del test). Durante lo screening ecografico sarà anche possibile individuare malformazioni fetali di rilevante impatto sull'outcome fetoneonatale, come ad esempio acrania, body stalk anomaly, megavesicica, grossolani encefaloceli, onfalocelo. Quindi la non effettuazione dell'esame ecografico e di conseguenza la mancata evidenziazione di tali condizioni porterebbe la paziente ad effettuare inutilmente un test mediante cfDNA, sobbarcandosi dei relativi costi economici senza alcun giovamento.

È dibattuto il ruolo clinico della misurazione della translucenza nucale nelle gestanti che si sottopongono a screening delle aneuploidie fetali. Diversi esperti sostengono l'importanza di mantenere la valutazione ecografica dello spessore della plica nucale nell'esame ecografico del I trimestre abbinato allo screening mediante cfDNA su sangue materno e di offrire la determinazione del cariotipo fetale indipendentemente dall'esito dell'esame ematico in tutti i casi con translucenza nucale aumentata con eventuale approfondimento mediante metodica CMA (Chromosomal Microarray analysis) se la misura della translucenza è >3.5 mm. Un grosso studio inglese di coorte su popolazione ad alto rischio (Khalil et al Fet Diagn Ther 2015) ha mostrato che l'esecuzione della villocentesi per valori di NT superiori a 3 mm rispetto alla sua esecuzione solo nei casi con NIPT positivo determina un miglioramento della detection rate nei riguardi delle principali aneuploidie dall'89% al 95% circa ma un aumento di 10 volte nel tasso di procedure invasive (dal 2 al 22%).

D'altra parte in un recente documento prodotto dalla SMFM (Am J Obstet Gynecol. 2017 Mar;216(3):B2-B7. doi: 10.1016/j.ajog.2017.01.005) se si riconosce una potenziale utilità alla misurazione della plica nucale prima di procedere a NIPT per aiutare la coppia nella scelta tra lo screening e la diagnosi prenatale invasiva, viene espressamente raccomandato di non eseguire la l'ecografia per la sola misura della translucenza nucale nelle gestanti che hanno già eseguito lo screening mediante cfDNA con rischio basso dal momento che il valore predittivo negativo di questo ultimo test per le principali trisomie è così alto da rendere limitato il ruolo addizionale della translucenza nucale. Pur prendendo atto delle incertezze ancora presenti nella letteratura specialistica in merito a tali problematiche si ritiene opportuno raccomandare, in attesa di nuove evidenze, l'effettuazione di una ecografia a 11-13 settimane per valutazione della translucenza nucale prima dell'effettuazione dell'esame cfDNA.

5) QUALE PIATTAFORMA DI INDAGINE SCEGLIERE :

A questo proposito vi sono alcune problematiche fondamentali :

- le diverse metodiche di laboratorio offerte dai vari *providers*;
- le diverse piattaforme configuranti un test "classico" (rivolto a trisomia 21, 18, 13, e cromosomi sessuali) o "esteso" (caratterizzato da una aggiunta sulla valutazione di eventuali microdelezioni in numero e tipologia definita).

Attualmente non sono disponibili lavori scientifici deponenti a favore dell'una o dell'altra tipologia di metodica di screening, anzi in tutti i contributi disponibili della letteratura non si sono riportate differenze, in termini di sensibilità, delle varie metodiche impiegate (15). Si ricorda comunque

che è opportuno scegliere laboratori che riportino sempre sul referto la frazione di DNA fetale (il cut-off per un risultato affidabile del test è $\geq 4\%$) .

Per quanto attiene al secondo punto , in considerazione peraltro delle raccomandazioni attualmente redatte dalle varie Società Scientifiche interessate all'argomento e in considerazione del fatto che le piattaforme cosiddette "allargate" (vale a dire non orientate allo screening delle sole più importanti cromosomopatie (tr. 21, 13 , 18 e cromosomi sessuali) ma mirate allo screening , oltre che delle prime, di un numero più o meno ampio di malattie genetiche) non sono attualmente raccomandate per la indisponibilità attuale di dati certi sulla loro performance (6), si ritiene opportuno orientarsi verso una piattaforma idonea a *screenare* le condizioni patologiche maggiormente frequenti (le tre trisomie 21, 18 e 13 e le anomalie dei cromosomi sessuali), informandone correttamente la gravida e discutendo con lei le opzioni alternative a questa scelta ed i relativi vantaggi e svantaggi.

RACCOMANDAZIONI

- L'informazione sul cfDNA è attualmente dovuta a tutta la popolazione delle gravide nel contesto di una opera informativa estesa dalla diagnosi prenatale invasiva (da intendersi come unico mezzo per conseguire un risultato diagnostico), a tutte le tipologie di test di screening e può essere veicolata alla persona assistita al primo controllo clinico effettuato da parte del sanitario che si occuperà della sorveglianza e della gestione clinica della gravidanza stessa.
- Nell'ambito dell'informazione sulle varie metodiche di screening è necessario discutere con la persona assistita i diversi tassi di sensibilità e specificità .
- Il contenuto dell'informazione deve essere comprensivo della diagnosi prenatale invasiva (in termini di patologie indagabili , rischi e tempi per disporre dell'esito) e delle diverse tipologie di screening . E' importante informare la persona assistita sul concetto di rischio.
- E' opportuno consigliare di effettuare il test dopo ecografia di screening del primo trimestre, per escludere condizioni cliniche rilevanti e di conseguenza non far eseguire inutilmente un esame costoso .
- E' necessario rispondere ad eventuali domande poste dalla persona assistita
- Le informazioni vanno somministrate adeguando le modalità al livello di comprensione della persona assistita
- E' necessario superare l'ostacolo della barriera linguistica
- E' assolutamente necessario durante l'informazione mantenere una modalità non direttiva ed evitare prese di posizione a favore o a sfavore dell'una o dell'altra metodica di screening o diagnostica e soprattutto evitare una modalità paternalistica nel rapportarsi con la persona assistita limitando le sue possibilità di autodeterminazione verso una scelta realmente informata (tale comportamento da parte del sanitario, oltre a non essere in accordo con i dettami del Codice Deontologico e a non costituire una pratica eticamente corretta, presenta un elevato rischio medico -legale)
- L'informazione deve essere resa verbalmente e può essere agevolata dall'impiego di supporti scritti di cui la persona assistita può prendere visione ;
- E' opportuno concludere l'opera di informazione con la sottoscrizione di un consenso informato da parte della persona assistita e del sanitario che ha reso l'informazione da cui possano evincersi , anche a posteriori, le scelte della persona assistita in merito a quanto proposto
- Non bisogna trascurare la fase della consulenza post-test sia in caso di esito positivo (alto rischio) che in caso di esito negativo (basso rischio) .
- Un test positivo per una delle anomalie cromosomiche ricercate richiede una consulenza specifica ed esperta e l'offerta della diagnosi prenatale invasiva per confermare la presenza

di una anomalia cromosomica ; anche un test non informativo richiede una consulenza specifica (16)

- I test cosiddetti “estesi “ (vale a dire indirizzati allo screening di altre patologie cromosomiche oltre a quelle “ classiche”) sono attualmente in fase di valutazione e alcuni risultati attualmente disponibili in letteratura non hanno ancora ricevuto una chiara validazione .
- Per le gravidanze gemellari sono disponibili dati specifici in merito alla performance di tale test come screening e alcuni di questi dati sono promettenti , ma attualmente le casistiche disponibili non sono numericamente adeguate per suggerire una estensione sicura di tale test a questa popolazione di gravide, per cui il test combinato resta attualmente la scelta migliore per lo screening della trisomia 21 in questa tipologia di gravidanze.

CONCLUSIONI

La importante mole di dati acquisiti, ed in via di acquisizione, relativi allo screening delle anomalie cromosomiche mediante analisi del fcDNA su sangue materno dimostra che la comunità scientifica si trova davanti ad un importante strumento di lavoro che nei prossimi anni vedrà certamente ulteriori sviluppi e tentativi fattivi di implementazione nella pratica clinica da parte dei diversi sistemi sanitari operanti nei vari luoghi del pianeta.

Nel momento attuale , che potremmo definire “*intermedio* “, è necessario non trascurare quanto acquisito in termini di conoscenza e ricordare che da un lato la letteratura specialistica e dall’altro le tendenze giurisprudenziali attuali e il diritto all’autodeterminazione della persona assistita rendono non opportuno tralasciare l’informazione relativa a questa tipologia di screening anche nel nostro paese.

BIBLIOGRAFIA

1)Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta- analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45:249–266.

2)Taylor –Phillips S, Freeman K , Geppert J et al : Accuracy o from invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis, *BMJ, Open* 6:2016

3)American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2012;120:1532–1534.

4) Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non invasive Prenatal Testing-NIPT), Ministero della Salute, Maggio 2015

5)Consensus statement on the impact of non –invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. ISUOG , *Ultrasound Obstet Gynecol* 44:122, 2014

6) American College of Obsetricians and Gynecologist Committee on Genetics. Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2015;126:e31–e37.

7)Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn.* 2015;35:725–734.

- 8) Gruppo di Lavoro Regionale Test Prenatali Non Invasivi (NIPT), resoconto delle attività marzo–giugno 2015, Regione Emilia Romagna Agenzia Sanitaria e Sociale Regionale , 28/12/2015.
- 9) Corte di Cassazione III civile , Sentenza n° 16754, 2/10/2012
- 10) Corte di Cassazione III civile , Sentenza n° 25528, 10/12/2013
- 11) Corte di Cassazione III civile , Sentenza 11364, 22/5/ 2014
- 12) Corte di Cassazione III civile, sentenza n° 24220 del 2/10/2015
- 13) Legge n° 24 /8-3-2017 http://www.gazzettaufficiale.it/atto/stampa/serie_generale/originario
- 14) Toews M, Caulfield T: Physician liability and Non-Invasive Prenatal Testing, J Obstet Gynaecol Can 36:907,2014
- 15) Grace MR, Hardisty E, Dotters.Katz SK et al : Cell-Free DNA Screening: Complexities and challenges of clinical implementation , Obstet Gynecol Survey, 71:477, 2016.
- 16) Grati FR , Kagan KO: No test result rate of cfDNA analysis and its influence on test performance metrics, Ultrasound Obstet Gynecol, 2016 (ahead of print)
- 17) Hartwig TS, Ambye L , Sørensen A and Jørgensen FS: Discordant non-invasive Prenatal Testing (NIPT)- a systematic review. Prenatal Diagnosis, 2017