

Informativa per il test PrenatalSAFE®

Che cos'è PrenatalSAFE®

Il **PrenatalSAFE®** è un test di **screening prenatale non invasivo** (NIPT) che ha come finalità la valutazione del rischio che il feto sia affetto da alcune anomalie cromosomiche. Il test **non è diagnostico**: non fornisce una certezza assoluta, ma indica la possibilità che il feto presenti determinate condizioni genetiche.

L'esame viene eseguito a partire dalla **10ª settimana di gravidanza** mediante un **prelievo di sangue materno**, dal quale si analizzano piccoli frammenti di DNA libero circolante (cell-free DNA, cfDNA), derivati dalla placenta e dal feto attraverso la placenta. Il test non comporta rischi diretti per la madre o per il feto.

A chi è rivolto PrenatalSAFE® e quando eseguirlo

PrenatalSAFE® può essere eseguito a partire dalla **10ª settimana di gravidanza** in:

- **gravidezze singole**, sia spontanee che ottenute mediante tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA);
- gravidanze gemellari bicoriali e monocoriali.
- **Gravidanze con vanishing twin** (gravidanza originariamente gemellare, ma con interruzione di una delle due)

Il test **non è validato** per gravidanze nella quali è stata riscontrata ecograficamente la presenza di più di due placenti.

PrenatalSAFE® può essere richiesto in diverse situazioni, tra le quali:

- età materna avanzata;
- **risultato a rischio intermedio** allo screening combinato del primo trimestre;
- **scelta personale della gestante** che desidera uno screening precoce, accurato e non invasivo;
- altre motivazioni **indicate dal medico curante** in base alla storia clinica o ai reperti ecografici.

Quali condizioni può identificare PrenatalSAFE®

A seconda della versione scelta, il PrenatalSAFE® può rilevare:

Trisomie autosomiche comuni, in particolare la **Trisomia 21** associata clinicamente alla Sindrome di Down, **Trisomia 18** associata clinicamente alla Sindrome di Edwards e **Trisomia 13** associata clinicamente alla Sindrome di Patau.

Aneuploidie autosomiche rare, quali trisomie (triplicazione di un intero cromosoma) di tutti i cromosomi diversi da quelli elencati tra le "trisomie comuni". Questo gruppo include le anomalie di tutti gli autosomi, tra i quali la trisomia dei cromosomi 9 e 16, nonché le trisomie 7, 8, 11, 14, 15 e 22.

Aneuploidie dei cromosomi sessuali, in particolare **Monosomia X** associata clinicamente alla Sindrome di Turner, disomia X in un feto maschio (**XXY**) associata clinicamente alla Sindrome di Klinefelter, disomia Y (**XYY**) associata clinicamente alla Sindrome di Jacobs e **XXX** associata clinicamente alla Sindrome della Tripla X.

Delezioni e duplicazioni ≥ 7 Mb ossia le anomalie cromosomiche segmentali che coinvolgono parte di un cromosoma. Le delezioni si riferiscono a una perdita di segmento cromosomico, mentre le duplicazioni si riferiscono a un guadagno (detto anche triplicazione). Esempi di tali anomalie includono la delezione 18p, la duplicazione 12p, la delezione 9p, la delezione 7q.

Microdelezioni <7 Mb comprendono il seguente elenco di microdelezioni specifiche (perdita di materiale cromosomico inferiore a 7 Mb ma superiore a 3 Mb): 1p36 (sindrome da delezione 1p36), 4p- (sindrome di Wolf-Hirschhorn), 5p- (sindrome di Cri-du-Chat), 15q11.2 (sindrome di Prader-Willi / Angelman), 22q11.2 (sindrome da delezione 22q11.2 anche nota come sindrome di DiGeorge), 8q24 (sindrome di Langer-Giedion), 11q23 (sindrome di Jacobsen) e 17p11.2 (sindrome di Smith-Magenis).

È inoltre possibile conoscere con elevata accuratezza (>99,9%) il **sexo fetale**.

Livelli di PrenatalSAFE® disponibili

PrenatalSAFE® è disponibile in diversi livelli di approfondimento, che si differenziano per il tipo di anomalie cromosomiche indagate. I livelli più semplici sono focalizzati sulle aneuploidie più comuni, mentre i livelli più estesi consentono di valutare anche anomalie cromosomiche rare, alterazioni strutturali e alcune sindromi da microdelezione. **La scelta del livello più appropriato deve essere effettuata insieme al curante o al personale sanitario**, in base alla storia clinica, ai reperti ecografici e al grado di approfondimento desiderato.

Tabella 1 livelli di PrenatalSAFE® disponibili

Test	Trisomie autosomiche comuni	SCA	RAA	DEL/DUP ≥ 7 Mb	Microdelezioni <7 Mb	Gravidanza gemellare bicoriale	Tempi di refertazione
PrenatalSAFE® 3	✓	X	X	X	X	✓	3 gg
PrenatalSAFE® 5	✓	✓	X	X	X	X	3 gg
PrenatalSAFE® 5 DiGeorge	✓	✓	X	X	✓ (22q11.2)	X	5 -7 gg
PrenatalSAFE® Plus	✓	✓	✓ (trisomie 9 e 16)	X	✓ (pannello 6 microdelezioni)	X	5 -7 gg
PrenatalSAFE® Karyo	✓	✓	✓	✓	X	✓ (no SCA)	4 - 5 gg
PrenatalSAFE® Karyo Plus	✓	✓	✓	✓	✓	X	5 - 7 gg

RAA: Anomalie cromosomiche rare; Anomalie segmentali >7 Mb; Microdelezioni.

*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.

Test eseguibili in associazione a PrenatalSAFE®

In alcuni casi, PrenatalSAFE® può essere integrato con ulteriori test, allo scopo di ampliare le informazioni ottenibili durante la gravidanza.

GeneSAFE® è un test prenatale non invasivo che valuta il rischio di alcune **malattie genetiche monogeniche fetali**, sia **ereditarie** sia **de novo**, mediante analisi del DNA fetale circolante nel sangue materno. L'associazione di PrenatalSAFE® con GeneSAFE® consente quindi di ottenere informazioni non solo sulle principali anomalie cromosomiche, ma anche sul rischio di alcune specifiche patologie genetiche monogeniche.

GeneScreen® è invece un test eseguito sui **genitori**, finalizzato a identificare l'eventuale **stato di portatore** per alcune malattie genetiche ereditarie. Non si tratta quindi di un test fetale, ma di un approfondimento utile per definire meglio il rischio riproduttivo della coppia.

RhSafe è un test prenatale non invasivo che consente di determinare il **fattore Rh(D) fetale** mediante analisi del DNA fetale circolante nel sangue materno. È un test opzionale, eseguibile **solo** in gravidanze con **gestante Rh(D) negativa e partner Rh(D) positivo**, ed è utile nella gestione delle gravidanze a rischio di incompatibilità materno-fetale Rh.

Per maggiori dettagli sui test integrativi si rimanda alle **informative dedicate**.

Tabella 2: possibili integrazioni di PrenatalSAFE® con altri test disponibili

Test	Indagini incluse					Casi particolari	
	Karyo	Karyo Plus	GeneSAFE® Complete	GeneScreen® Focus	RhSafe*	Gemellare bicoriale	Fecundazione eterologa
PrenatalSAFE® Complete	✓	X	✓	X	Opzionale	✓	✓
PrenatalSAFE® Complete Plus	X	✓	✓	X	Opzionale	X	✓
PrenatalSAFE® Full Risk	X	✓	✓	✓	Opzionale	✓#	X

* **RhSafe** è eseguibile solo in caso di **gestante Rh(D) negativa e partner Rh(D) positivo**. In gravidanza gemellare, un risultato positivo non consente di stabilire se uno o entrambi i feti siano RhD positivi.

PRENATALSAFE® FULL RISK nelle gravidanze gemellari bicoriali prevede l'esecuzione dell'analisi PrenatalSAFE Karyo e non dell'analisi PrenatalSAFE Karyo Plus.

Le combinazioni **Complete** e **Complete Plus** sono definite nella modulistica standard come associazione rispettivamente di **PrenatalSAFE® Karyo + GeneSAFE® Complete** e **PrenatalSAFE® Karyo Plus + GeneSAFE® Complete**. Il pacchetto **Full Risk** comprende invece **PrenatalSAFE® Karyo Plus + GeneSAFE® Complete + GeneScreen® Focus donna + GeneScreen® Focus uomo**.

Quali risultati possono essere ottenuti con PrenatalSAFE®

PrenatalSAFE® può mettere in evidenza uno tra i seguenti risultati:

Basso rischio: significa che la probabilità che il feto sia affetto da una delle anomalie ricercate è molto bassa, ma non nulla. La gravidanza proseguirà con il normale follow-up ecografico e clinico.

Alto rischio: significa che c'è un'alta probabilità che il feto sia affetto dalla **condizione identificata dal test**. Un risultato ad alto rischio **deve essere seguito da un test diagnostico**. Durante la gravidanza, questo è generalmente rappresentato da due analisi invasive che si eseguono in momenti diversi della gravidanza: **villocentesi** (11-13° settimana) o **amniocentesi** (16-18° settimana). Dopo la conclusione della gravidanza il test diagnostico viene generalmente eseguito su un campione ematico o altro campione (es. tampone buccale) del neonato. Il percorso diagnostico più appropriato dovrà sempre essere discusso in consulenza genetica e/o con lo specialista in diagnosi prenatale alla luce del risultato ottenuto da **PrenatalSAFE®**.

Non conclusivo: il test non ha fornito un risultato interpretabile. Le cause più frequenti possono includere una **frazione fetale insufficiente**, una **copertura di sequenziamento inadeguata** o la presenza di **artefatti/rumore nelle regioni analizzate**.

- Se il risultato inconclusivo si verifica al **primo prelievo**, viene generalmente richiesto di ripetere l'analisi su un secondo campione di sangue.
- Se il risultato rimane **non conclusivo anche al secondo prelievo**, il test non viene ulteriormente ripetuto: in questi casi è indicata una **consulenza genetica** per discutere l'iter diagnostico prenatale più appropriato ed eventualmente le possibili opzioni di diagnosi prenatale invasiva.

Non conclusivo parziale: raramente il test può risultare non conclusivo parziale; il test non ha fornito un risultato interpretabile in una o più specifiche regioni tra quelle indagate. Le restanti regioni indagate avranno prodotto uno degli esiti elencati sopra.

Metodo di analisi e performance di PrenatalSAFE®

Tutti i campioni sono analizzati con la piattaforma **VeriSeq NIPT Solution v2** (Illumina), un test di sequenziamento massivo parallelo genome-wide certificato CE-IVD. L'intero workflow, dall'estrazione alla bioinformatica, è standardizzato presso i laboratori Eurofins Genoma. L'analisi dei dati è integrata da **NIPTflow™**, un algoritmo sviluppato internamente che consente una valutazione delle anomalie cromosomiche e, in particolare, delle microdelezioni di piccole dimensioni, migliorando l'interpretazione dei risultati e riducendo i casi discordanti.

Le prestazioni di PrenatalSAFE® sono state descritte in uno studio retrospettivo su **71.883 gravidanze consecutive** pubblicato su *Prenatal Diagnosis* (Faieta et al., 2024), che ha mostrato un'elevata affidabilità del test: sensibilità clinica maggiore del 99% per le trisomie comuni, valori molto elevati anche per le aneuploidie dei cromosomi sessuali, e specificità sempre superiore al 99,9% in tutte le categorie analizzate. L'integrazione con NIPTflow™ ha contribuito a ridurre i casi discordanti e a confermare l'utilità clinica dell'approccio genome-wide anche per condizioni più rare.

La tabella seguente riassume le performance di PrenatalSAFE® nelle diverse categorie di anomalie cromosomiche investigate, riportando i valori di sensibilità e specificità osservati per ciascuna categoria.

Tabella 3 Performance relative all'analisi NIPT di aneuploidie comuni, SCAs e altre anomalie in 71883 gravidanze (Ref: Faieta M, Falcone R, Duca S, Corsetti E, Giannico R, Gigante L, Diano L, Calugi G, Spinella F, Pizzuti F. Performance del test e utilità clinica del test prenatale non invasivo esteso: Esperienza su 71.883 casi di routine non selezionati di un singolo centro. Prenat Diagn. 2024 Jul;44(8):936-945. doi: 10.1002/pd.6580. Pubblicato il 30 aprile 2024. PMID: 38686956.)

Casi positivi: 1011 Follow-up: 868	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	Trisomie comuni
Veri positivi	437	93	37	567
Falsi positivi	3	1	8	12
Veri negativi	71368	71716	71765	71229
Falsi negativi	2	0	0	2
Sensibilità (95% CI)	99.54% (98.36% - 99.94%)	100% (96.11% - 100.00%)	100% (90.51% - 100.00%)	99.65% (98.74% - 99.96%)
Specificità (95% CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.98% - 100.00%)	99.98% (99.97% - 99.99%)
PPV (95% CI)	99.32% (98.02% - 99.78%)	98.94% (94.21% - 99.97%)	82.22% (67.95% - 92.00%)	97.93% (96.41% - 98.92%)
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; Casi positivi senza follow-up esclusi dal conteggio dei positivi nella Tabella 3 (n°): T21 (49); T18 (14); T13 (10);

Tabella 4 Performance relative all'analisi NIPT delle aneuploidie dei cromosomi sessuali (Ref: Faieta M, Falcone R, Duca S, Corsetti E, Giannico R, Gigante L, Diano L, Calugi G, Spinella F, Pizzuti F. Performance del test e utilità clinica del test prenatale non invasivo esteso: Esperienza su 71.883 casi di routine non selezionati di un singolo centro. Prenat Diagn. 2024 Jul;44(8):936-945. doi: 10.1002/pd.6580. Pubblicato il 30 aprile 2024. PMID: 38686956.)

Aneuploidie dei cromosomi sessuali	X0	XXX	XXY	XYY	SCA
Veri positivi	52	27	51	26	156
Falsi positivi	13	0	3	1	17
Veri negativi	65706	65745	65718	65745	65598
Falsi negativi	1	0	0	0	1
Sensibilità (95% CI)	98.11% (89.93% - 99.95%)	100% (87.23% - 100.00%)	100% (93.02% - 100.00%)	100% (86.77% - 100.00%)	99.36% (96.50% - 99.98%)
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%)	99.97% (99.96% - 99.99%)
PPV (95% CI)	80%	100%	94.44%	96.3%	90.17% (84.73% -

	(68.23% - 88.90%)	(87.23% - 100.00%)	(84.61% - 98.14%)	(81.03% - 99.91%)	94.17%
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%)

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); SCA (36).

Tabella 5 Performance relative all'analisi NIPT di aneuploidie autosomiche rare, anomalie segmentali e microdelezioni (Ref: Faieta M, Falcone R, Duca S, Corsetti E, Giannico R, Gigante L, Diano L, Calugi G, Spinella F, Pizzuti F. Performance del test e utilità clinica del test prenatale non invasivo esteso: Esperienza su 71.883 casi di routine non selezionati di un singolo centro. Prenat Diagn. 2024 Jul;44(8):936-945. doi: 10.1002/pd.6580. Pubblicato il 30 aprile 2024. PMID: 38686956.)

Altre anomalie	RAA	Delezioni e duplicazioni ≥ 7	Microdelezioni*
		Mb	<7 Mb
Veri positivi	33	20	5
Falsi positivi	36	16	2
Veri negativi	46623	46656	28743
Falsi negativi	0	0	1
Sensibilità (95%CI)	99.99% (89.42% - 100.00%)	99.99% (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% (35.65% - 60.20%)	55.56% (38.10% - 72.06%)	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 di PrenatalSAFE®

Il PrenatalSAFE® è un **test di screening** e non un test diagnostico: i risultati indicano un rischio, non una certezza assoluta, ed esiste sempre un **rischio residuo di falsi negativi e falsi positivi (<0,1%)**. Un risultato a **basso rischio** riduce in modo significativo la probabilità di anomalia, ma non la esclude completamente.

I **principali** fattori che possono portare a risultati inattesi o discordanti sono:

- mosaicismo confinato alla placenta
- presenza di un **“vanishing twin”** (gemello riassorbito)
- **anomalie cromosomiche materne** o condizioni come tumori benigni/maligni o trapianti d'organo.

PrenatalSAFE® è destinato a fornire informazioni sui cromosomi e sulle anomalie incluse nel livello di analisi e che saranno riportate nella tabella risultato del referto; dunque, **non rileva** anomalie cromosomiche non incluse nel

livello di analisi scelto. PrenatalSAFE® non è in grado di rilevare anomalie diverse da quelle menzionate nella sezione dedicata del presente documento. A titolo esemplificativo ma non esaustivo non vengono rilevati mosaicismi cromosomici, riarrangiamenti cromosomici bilanciati, triploidie e poliploidie in genere, disomie uniparentali, difetti congeniti o genetici non cromosomici, malformazioni strutturali, infezioni prenatali.

La capacità del test di individuare un'anomalia dipende da fattori come la **frazione fetale** e la **profondità di sequenziamento**. In circa il **2–3%** dei casi il test può risultare **non conclusivo** (ad esempio per frazione fetale bassa o altri motivi tecnici).

Altri fattori possono influenzare l'attendibilità del risultato, tra i quali è importante ricordare:

- **peso materno elevato**, che può ridurre la frazione fetale (FF) che rappresenta il rapporto tra DNA libero materno e DNA fetale;
- precedenti trasfusioni o trapianti d'organo;
- presenza di **patologie materne** quali neoplasie anche di significato benigno (es. fibromi uterini).

Limiti nelle gravidanze gemellari o con vanishing twin

In **gravidanze bicoriali**, non è possibile attribuire il risultato ad un singolo feto: un referto ad alto rischio può riferirsi a uno o a entrambi i feti. Inoltre, non è possibile analizzare le **aneuploidie dei cromosomi sessuali** né le **microdelezioni**.

In **gravidanze monocoriali**, un risultato ad alto rischio viene riferito a entrambi i feti. In presenza del cromosoma Y, entrambi i feti sono considerati maschi; se il cromosoma Y è assente, entrambi sono considerati femmine.

In qualsiasi gravidanza gemellare, mono o bicoriale, con un risultato ad alto rischio, la diagnosi prenatale invasiva o i test diagnostici dopo la nascita devono essere eseguiti su entrambi i feti/neonati.

Il test non è validato per gravidanze con più di due feti. In tutte le gravidanze gemellari, in caso di risultato ad alto rischio, è raccomandata la conferma mediante **diagnosi prenatale invasiva**.

La presenza di un vanishing twin può ridurre l'attendibilità dello screening, perché il DNA del gemello che ha interrotto il proprio sviluppo può rimanere nel sangue materno anche dopo l'evento. Poiché le anomalie cromosomiche sono una causa frequente di interruzione nel primo trimestre, questa situazione può aumentare il rischio di risultati falsamente positivi. In caso di vanishing twin, la tempistica ottimale per l'esecuzione di PrenatalSAFE® può variare in relazione ai dati ecografici e all'epoca gestazionale in cui si è verificata l'interruzione.

PrenatalSAFE® nel percorso di diagnosi prenatale

PrenatalSAFE® si inserisce come parte di un percorso più ampio di diagnosi prenatale, che include strumenti ecografici, biochimici e, quando indicato, indagini invasive.

L'**ecografia del primo trimestre** rimane fondamentale per confermare la vitalità della gravidanza, la datazione corretta, il numero di feti e la corionicità, nonché per evidenziare eventuali anomalie strutturali.

Lo **screening tradizionale** del primo trimestre (ecografia e test biochimici) continua a rappresentare una tappa importante e, in alcuni protocolli, il NIPT viene offerto come approfondimento in caso di rischio intermedio o elevato (“approccio contingente”). In altri contesti, PrenatalSAFE® può essere proposto a **tutte le gestanti come test di prima scelta** (“approccio universale”).

PrenatalSAFE® non sostituisce la **diagnosi prenatale invasiva** (villocentesi o amniocentesi), che resta indicata in caso di risultati ad alto rischio o quando emergano anomalie ecografiche o fattori anamnestici specifici.

L’integrazione dei diversi strumenti diagnostici (ecografia, screening biochimico, NIPT e diagnosi invasiva) consente un percorso di diagnosi prenatale più completo, che può essere adattato alle specifiche esigenze cliniche di ciascuna gestante.

Gestione dei campioni

I campioni vengono identificati tramite un codice anonimo alfanumerico e conservati da un minimo di 3 ad un massimo di 6 mesi dopo la conclusione dell’analisi. Il campione residuo è disponibile per ulteriori accertamenti, previa valutazione dell’idoneità dello stesso ad essere utilizzato per lo specifico approfondimento richiesto.

Consenso e consulenza pre-test

È consigliato che il test PrenatalSAFE® venga eseguito dopo una **consulenza pre-test** con uno specialista competente in **genetica medica** o in **medicina fetale**. Durante questo colloquio la gestante riceve informazioni chiare e complete riguardo alle **finalità del test**, ai suoi **benefici**, ai **limiti** e alle possibili implicazioni dei risultati, con la possibilità di porre domande e chiarire eventuali dubbi.

Sulla base di queste informazioni, la gestante può esprimere il proprio **consenso informato scritto**, che rappresenta una parte integrante del percorso di screening prenatale.

Referenze

1. Faieta M, Falcone R, Duca S, et al. Test performance and clinical utility of expanded non-invasive prenatal test: experience on 71,883 unselected routine cases from one single center. *Prenat Diagn.* 2024;44(8):936–945. doi: 10.1002/pd.6580
2. **Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)**. Checklist per la consulenza pre-test NIPT. Rev.1, 2021.
3. **Ministero della Salute**. Screening del DNA fetale non invasivo (NIPT). Indicazioni e raccomandazioni per l’utilizzo in gravidanza fisiologica e in gravidanza a rischio.