

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 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 della 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.

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); 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, 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 sovrapponibile a quello del cariotipo citogenetico (tradizionale) a 400 bande (circa 7-10 Mb). Il test **PrenatalSAFE® Karyo Plus** 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 Dizigotiche** non è possibile distinguere la condizione del singolo feto, né di valutare le aneuploidie dei cromosomi sessuali. E' 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 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 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 una incongruenza nei risultati del sesso (es. diagnosi di sesso maschile, in cui la presenza del cromosoma Y è originata dal DNA feto abortito).

L'esistenza di una condizione tumorale (**metastasi**) 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 infine 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 infine risultare con cariotipo aneuploide al controllo in diagnosi prenatale invasiva (falso negativo).

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, in considerazione del maggiore *detection rate*.

Esiste la possibilità d'identificare con questo test, anomalie dei cromosomi sessuali presenti nella madre (omogenee o a mosaico) che possono interferire con l'accuratezza dei risultati riguardanti i cromosomi sessuali fetali.

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.

Non è possibile eseguire questo test a donne portatrici esse stesse di aneuploidie.

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 nelle Tabelle precedenti. 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.

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.

L'esistenza di una condizione tumorale (**metastasi**) 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 per malattia genetica**" riduce notevolmente le possibilità che il feto abbia le malattie genetiche esaminate, ma non può garantire che il feto sia sano.

Il test **GeneSAFE™** identifica esclusivamente mutazioni **con significato patologico noto**. Il test non ricerca **varianti con significato benigno**, cioè quelle riscontrabili in individui normali e sono 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 e la conferma del risultato attraverso l'analisi genetica su liquido amniotico o villi coriali.