



**SIGO**  
SOCIETA' ITALIANA  
DI GINECOLOGIA E OSTETRICIA

**Gruppo di Interesse Speciale Scientifico  
(G.I.S.S.)**

**Diagnosi Prenatale Non Invasiva e Invasiva**

In collaborazione con

Associazione Ginecologi Universitari Italiani - AGUI

Associazione Ostetrici e Ginecologi Ospedalieri Italiani - AOGOI

Osservatorio Nazionale sulla salute della Donna - ONDA

Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica - SIEOG

Società Italiana di Fertilità e Sterilità - SIFES

Società Italiana di Genetica Umana - SIGU

Società Italiana di Medicina Perinatale -SIMP



## **Linea guida pubblicata nel Sistema Nazionale Linee Guida**

**Roma, 20 settembre 2023**

SIGO - Società Italiana di Ginecologia ed Ostetricia e GISS - Gruppo di Interesse Speciale Scientifico, in collaborazione con: AGUI, AOGOI, ONDA, SIEO, SIFES, SIGU, SIMP

# INDICE

<b>PANEL DEGLI ESPERTI E COMITATO ESECUTIVO .....</b>	<b>1</b>
<b>CHAIR E GRUPPO METODOLOGICO .....</b>	<b>1</b>
<b>COMITATO PROMOTORE .....</b>	<b>1</b>
<b>GRUPPI DI LAVORO .....</b>	<b>1</b>
DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA.....	1
DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA.....	1
SEGRETERIA DEI GRUPPI DI LAVORO .....	2
<b>PANEL DI ESPERTI DELEGATI DALLE SOCIETÀ SCIENTIFICHE E STAKEHOLDER.....</b>	<b>2</b>
<b>REVISORI ESTERNI .....</b>	<b>2</b>
<b>SINTESI DELLE RACCOMANDAZIONI .....</b>	<b>3</b>
<b>DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA.....</b>	<b>3</b>
<b>DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA .....</b>	<b>4</b>
<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>6</b>
<b>OBIETTIVI .....</b>	<b>6</b>
<b>METODOLOGIA PER L'ELABORAZIONE DELLA LINEA GUIDA.....</b>	<b>6</b>
GRUPPI DI LAVORO .....	7
FORMULAZIONE DEI QUESITI CLINICI.....	7
REVISIONE SISTEMATICA DELLA LETTERATURA .....	7
<b>DALLA REVISIONE SISTEMATICA ALLE RACCOMANDAZIONI .....</b>	<b>8</b>
<b>REVISIONE ESTERNA.....</b>	<b>9</b>
<b>AGGIORNAMENTO DELLA LINEA GUIDA.....</b>	<b>9</b>
<b>DIFFUSIONE DELLA LINEA GUIDA .....</b>	<b>9</b>
<b>REPORTING .....</b>	<b>9</b>
<b>IMPLEMENTAZIONE ED APPLICABILITÀ DELLA LINEA GUIDA.....</b>	<b>10</b>
<b>Bibliografia Metodologia.....</b>	<b>10</b>
<b>P.I.C.O., RACCOMANDAZIONI, ANALISI DELLA LETTERATURA E INTERPRETAZIONE DELLE PROVE .</b>	<b>12</b>
<b>DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA.....</b>	<b>12</b>
PATIENTS INTERVENTION COMPARISON OUTCOME - P.I.C.O. ....	12
<b>Bibliografia Linee Guida per Diagnosi Prenatale non invasiva.....</b>	<b>26</b>
Altra bibliografia .....	26
<b>DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA .....</b>	<b>28</b>
PATIENTS INTERVENTION COMPARISON OUTCOME - P.I.C.O. ....	28

**Bibliografia Linee Guida per Diagnosi Prenatale invasiva..... 44**  
Altra bibliografia .....45  
***ELENCO DEGLI ALLEGATI ..... 49***

Le Linee Guida raccolgono raccomandazioni prodotte dopo una sistematica valutazione della letteratura e discussione con panel di esperti, devono essere utilizzate per aiutare i clinici e le pazienti nell'effettuare scelte e trattamenti appropriati nelle specifiche condizioni.

Le raccomandazioni di questa Linea Guida non intendono indicare una gestione clinica ed un trattamento come obbligatorio, ma devono essere valutate con riferimento a ciascuna specifica condizione clinica, alle risorse disponibili e alle limitazioni presenti, nonché alle specifiche condizioni della popolazione. La Linea Guida presentata è elaborata sulla base della metodologia standardizzata GRADE seguendo gli standard definiti dal Sistema Nazionale Linee Guida (SNLG) descritti nel Manuale metodologico per la produzione di Linee Guida di pratica clinica del Centro Nazionale per l'Eccellenza Clinica, la Qualità e la Sicurezza delle Cure (CNEC) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

## PANEL DEGLI ESPERTI E COMITATO ESECUTIVO

### CHAIR E GRUPPO METODOLOGICO

**Enrico M. Ferrazzi – Coordinatore GISS.** Professore Ordinario, Direttore Clinica Ostetrica e Ginecologica, UOC di Ostetricia Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Università degli Studi di Milano, Milano

**Fabio Parazzini – Metodologo.** Professore Ordinario, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Università degli Studi di Milano, Milano

**Chiara Formigoni – Documentalista e Bibliotecaria biomedica.** Direttivo GIDIF-RBM, Como

### COMITATO PROMOTORE

**Enrico M. Ferrazzi – Coordinatore GISS.** Professore Ordinario, Direttore Clinica Ostetrica e Ginecologica, UOC di Ostetricia Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Università degli Studi di Milano, Milano

**Tamara Stampalija – Professore Associato, Direttore SSD Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale,** IRCCS Burlo Garofolo, Università degli Studi di Trieste, Trieste

**Tullio Ghi - Professore Ordinario, Direttore Clinica Ostetrica e Ginecologica,** Università degli Studi di Parma

### GRUPPI DI LAVORO

#### DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA

**Tamara Stampalija – con ruolo di coordinatore.** Professore Associato, Direttore SSD Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale, IRCCS Burlo Garofolo, Università degli Studi di Trieste, Trieste

**Daniela Anzelmo – Dirigente Medico, Consultorio Familiare Caltanissetta 2**

**Valentina De Robertis – Dirigente Medico UOC Medicina Fetale e Diagnosi Prenatale, Ospedale Di Venere, ASL BA, Bari**

**Marco De Santis – Dirigente Medico, Dipartimento di Salute della Donna e dell'Infanzia, Area Salute della Donna, Fondazione IRCCS Policlinico Universitario Agostino Gemelli, Roma**

**Antonio Novelli – Direttore, Laboratorio di Genetica Medica, Unità di Ricerca di Citogenomica Traslazionale, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma**

**Maddalena Morlando - Ricercatrice Ginecologia e Ostetricia, Università degli Studi della Campania “Luigi Vanvitelli”, Napoli**

**Andrea Sciarrone - Dirigente Medico, Responsabile SSD di Ecografia Ostetrica e Ginecologica e Diagnosi Prenatale, Città della Salute e della Scienza, Torino**

**Paolo Volpe - Dirigente Medico, Direttore UOC Medicina Fetale e Diagnosi Prenatale, Ospedale Di Venere, ASL BA, Bari**

#### DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

**Tullio Ghi - con ruolo di coordinatore.** Professore Ordinario, Direttore Clinica Ostetrica e Ginecologica, Università degli Studi di Parma

**Giancarlo Conoscenti - Dirigente Medico, Divisione di Ostetricia e Ginecologia, Azienda Ospedaliera per l’Emergenza Cannizzaro, Catania**

**Elvira Di Pasquo** – Dirigente Medico, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Unità di Ostetricia e Ginecologia, Università degli Studi di Parma, Parma

**Sabrina Giglio** - Dipartimenti di Scienze Mediche e Sanità Pubblica e Genetica Medica, Ospedale Binaghi, Cagliari

**Claudio Giorlandino** - Medico Chirurgo Specialista in Ginecologia e Ostetricia, Roma

**Giovanni Monni** - Dirigente Medico, Direttore Struttura Complessa Fisiopatologia della Riproduzione Umana e Diagnosi Prenatale P.O. Microcitemico “A. Cao”, ARNAS Brotzu, Cagliari

**Fabrizio Taddei** - Dirigente Medico, Direttore UOC Ginecologia e Ostetricia, Ospedale di Rovereto e Trento ASST Trento, Trento

---

#### SEGRETERIA DEI GRUPPI DI LAVORO

**Moira Barbieri** – Medico in Formazione Specialistica in Ginecologia ed Ostetricia, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Università degli Studi di Milano, Milano

#### PANEL DI ESPERTI DELEGATI DALLE SOCIETÀ SCIENTIFICHE E STAKEHOLDER

**Andrea Dall’Asta, AGUI** - Dipartimento di Metabolismo, Digestione e Riproduzione, Istituto di Biologia della Riproduzione e dello Sviluppo, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Unità di Ostetricia e Ginecologia, Università degli Studi di Parma, Parma

**Elsa Viora, AGOI** - Unità di Ecografia Ostetrico-Ginecologica, Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale Sant’Anna, Torino

**Tiziana Frusca, SIEOG** - Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Università di Parma, Parma

**Antonio Ragusa, SIGO** - Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale Fatebenefratelli, Isola Tiberina, Roma

**Maurizio Guido, SIFES** - Ospedale San Salvatore L’Aquila, UOC Ginecologia e Ostetricia, L’Aquila

**Achille Iolascon, SIGU** - Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; CEINGE Biotecnologie Avanzate, Napoli

**Herbert Valensise, SIMP** - Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Università di Roma Tor Vergata, Roma, Italia; Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Policlinico Casilino, Roma

**Nicoletta Orthmann, ONDA** - Coordinatore medico-scientifico Fondazione Onda - Osservatorio Nazionale sulla Salute della Donna e di genere

#### REVISORI ESTERNI

**Federico Prefumo** - Direttore UOC Ostetricia e Ginecologia, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova

**Rinaldo Zanini** – Membro Comitato Percorso Nascita Nazionale. Già Direttore del Dipartimento gestionale Materno Infantile, Azienda Ospedaliera “Provincia di Lecco”, Lecco.

# SINTESI DELLE RACCOMANDAZIONI

## DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA

**Raccomandazione 1.** *Si raccomanda di offrire a tutte le donne con gravidanza singola il test combinato come esame di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti (trisomie 21, 18 e 13).*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità, una di moderata qualità.

**Raccomandazione 2.** *Si raccomanda di offrire il test combinato a tutte le donne, indipendentemente dall'età materna.*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità ed una di moderata qualità.

**Raccomandazione 3.** *Per motivi di costo-efficacia e di fattibilità, si suggerisce che il cfDNA/NIPT non sostituisca il test combinato come screening primario per le anomalie cromosomiche più frequenti.*

Raccomandazione NEGATIVA CONDIZIONATA.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità.

**Raccomandazione 4.** *Si suggerisce l'utilizzo del cfDNA/NIPT come screening contingente nelle donne risultate ad alto rischio dopo test combinato, in particolare quelle che, in prima istanza, non desiderano eseguire diagnosi prenatale invasiva e dopo un adeguato counseling (tempistiche della risposta, diagnosi di altre anomalie genetiche attraverso diagnosi prenatale invasiva).\**

Raccomandazione POSITIVA CONDIZIONATA.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità e da quanto espresso dal Consiglio Superiore di Sanità.

\* Per rischi  $\geq 1:10$  dopo il test combinato, translucenza nucale  $\geq 3.5$  mm o in presenza di anomalie congenite maggiori è raccomandata l'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva per elevata prevalenza di anomalie cromosomiche e genetiche

**Raccomandazione 5.** *Nelle donne gravide a rischio intermedio ( $\geq 1:1000$ ) di aneuploidie al test combinato, si suggerisce di utilizzare il cfDNA/NIPT come test contingente. La scelta dell'utilizzo di cfDNA/NIPT come test contingente nella fascia 1:11-1:1000 versus 1:101-1:1000 dipende dalle risorse disponibili, da scelte di politica sanitaria e da valutazioni discusse con la paziente.*

Raccomandazione POSITIVA CONDIZIONATA.

Raccomandazione adattata da una Linea Guida di alta qualità e da quanto espresso dal Consiglio Superiore di Sanità.

**Raccomandazione 6.** *Si raccomanda di effettuare l'ecografia del I trimestre con misurazione della translucenza nucale anche nelle donne che sono risultate a basso rischio per aneuploidie al cfDNA/NIPT.*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.  
Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità.

## DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

**Raccomandazione 1.** *Nelle donne che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva per rischio aumentato di aneuploidie fetali, si raccomanda l'esecuzione di test rapidi (QF-PCR, FISH) in associazione al cariotipo standard o al profilo CHROMOSOMAL MICROARRAY ANALYSIS (CMA)). Decisioni cliniche basate sul risultato positivo dei test rapidi riguardo alla eventuale interruzione della gravidanza dovrebbero essere prese solo in uno dei seguenti casi:*

- 1. analisi cromosomica convenzionale su metafase patologica;*
- 2. profilo chromosomal microarray analysis (CMA) anormale;*
- 3. anomalie strutturali del feto.*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.  
Raccomandazione adattata da una Linea Guida di qualità alta e una Linea Guida di qualità moderata.

**Raccomandazione 2.** *È raccomandato offrire una consulenza genetica a tutte le donne con riscontro ecografico di translucenza nucale  $\geq 3.5$  mm nel I trimestre o di anomalia strutturale fetale maggiore indipendentemente dal risultato dei test di screening.*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.  
Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità e una di qualità moderata.

**Raccomandazione 3.** *Si raccomanda di offrire la consulenza genetica peri-concezionale a tutte le donne che presentano un rischio a priori aumentato per una condizione genetica fetale, a seguito di anamnesi personale o familiare e/o altri test genetici, al fine di informare e consigliare la coppia in merito ai disordini diagnosticabili in epoca prenatale e allo specifico tipo di test da eseguire (consulenza pre-test), e al fine di interpretare i risultati del test una volta disponibili (consulenza post-test).*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.  
Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità e una di qualità moderata.

**Raccomandazione 4.** *Nelle donne con infezioni note da HBV, HCV o HIV che presentano una chiara indicazione alla diagnosi prenatale, si raccomanda di valutare attentamente il rapporto rischio/beneficio alla luce della possibile trasmissione dell'agente patogeno al feto. Nei casi in cui si proceda all'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva, si raccomanda eseguire amniocentesi rispetto a villocentesi, evitando quando possibile l'inserimento dell'ago attraverso la placenta.*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.  
Raccomandazione adattata da Linee Guida di qualità alta e una di qualità moderata.

**Raccomandazione 5.** *Sulla base delle limitate evidenze esistenti, non è suggerita la sospensione della profilassi antiaggregante e/o anticoagulante prima di sottoporsi a procedura di diagnosi prenatale invasiva.*

Raccomandazione NEGATIVA CONDIZIONATA.

Raccomandazione adattata da una Linea Guida di qualità moderata.

**Raccomandazione 6.** *È raccomandato che le procedure di diagnosi prenatale invasiva vengano eseguite in centri che possano garantire apparecchiatura e spazi adatti, adeguato training degli operatori, adeguato auditing delle procedure e possibilità di consulenze interdisciplinari.*

Raccomandazione POSITIVA FORTE.

Raccomandazione adattata da una Linea Guida di qualità alta e una Linea Guida di qualità moderata.

# METODOLOGIA

## OBIETTIVI

Obiettivo di queste Linee Guida è fornire raccomandazioni in merito al corretto utilizzo della Diagnosi Prenatale, in rapporto a diverse condizioni cliniche, agli operatori sanitari, in particolare medici ostetrici ginecologi e ostetriche, a medici di medicina generale, a specialisti in medicina legale, nonché alla popolazione in generale e alle donne in gravidanza o desiderose di gravidanza con un livello di rischio variabile in base al rischio biologico dei gameti.

## METODOLOGIA PER L'ELABORAZIONE DELLA LINEA GUIDA

Il processo di sviluppo delle raccomandazioni della Linea Guida sulla Diagnosi Prenatale è stato conforme agli standard definiti dal Sistema Nazionale Linee Guida (SNLG), descritti nel Manuale Metodologico per la Produzione di Linee Guida di Pratica Clinica del CNEC (*Centro Nazionale per l'Eccellenza Clinica 2019*) ed è stato curato dal Gruppo Metodologico seguendo la flowchart riportata nel medesimo manuale (Figura 1).

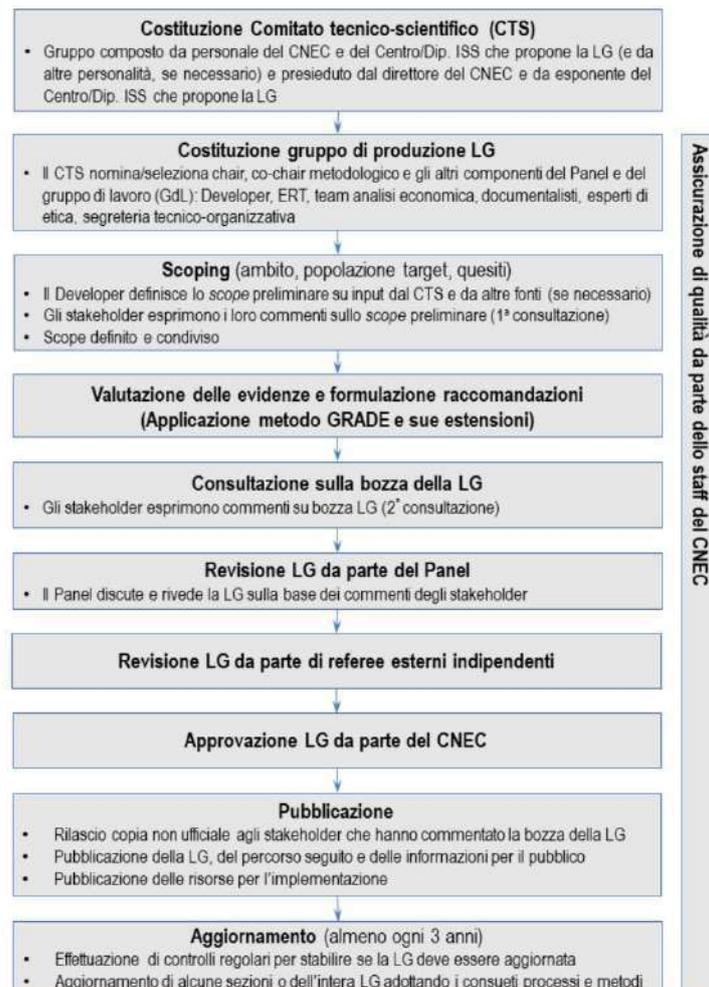


Figura 1. Fasi del processo di produzione di una Linea Guida ISS. Disponibile da: <https://www.iss.it/web/guest/-/snlg-manuale-metodologico>

---

## GRUPPI DI LAVORO

La SIGO come Società Scientifica che si occupa di Ginecologia e Ostetricia e che periodicamente pubblica proprie Linee Guida ha ottenuto l'accreditamento presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) al fine di proporre al CNEC le nuove Linee Guida sulla Diagnosi Prenatale.

Il Comitato Promotore, pertanto, ha nominato un Gruppo di Lavoro multidisciplinare con specialisti in Ginecologia e Ostetricia ed esperti di ecografia. Tutte le Società Scientifiche potenzialmente interessate all'argomento sono state contattate; le Società, aderenti alla proposta, hanno nominato un loro referente che è entrato a far parte del Gruppo di Lavoro multidisciplinare delle Linee Guida.

---

## FORMULAZIONE DEI QUESITI CLINICI

Sono state individuate in particolare due tematiche da affrontare: diagnosi prenatale non invasiva e diagnosi prenatale invasiva. Per ciascuna tematica è stato nominato un Gruppo di Lavoro composto da 6-7 membri e da un coordinatore, con il mandato di formulare i quesiti clinici e proporre gli outcome. I Gruppi di Lavoro e il Panel di Esperti hanno partecipato ad una riunione metodologica iniziale, organizzata dal Gruppo Metodologico.

La formulazione di quesiti clinici a cui rispondere in forma di raccomandazione è stata fatta secondo il modello P.I.C.O. (Popolazione, Intervento, Comparatore, Outcome). Nel corso di incontri successivi, i quesiti P.I.C.O. formulati dai Gruppi di Lavoro sono stati discussi e condivisi con il Panel di Esperti concordando insieme i P.I.C.O..

Gli *outcome* identificati per ciascun P.I.C.O. sono stati sottoposti alla valutazione e votazione da parte del Panel di Esperti, mantenendo l'anonimato e adottando una scala numerica che consentiva di assegnare un punteggio da 1 a 9, in accordo con il metodo GRADE. È stato fissato un numero massimo di 7 *outcome* per ciascuna domanda. La media di punteggi ricevuti da ciascun *outcome* ha consentito di individuare tre categorie (*Allegato 0*):

- 1- "*outcome* critico per formulare una decisione" (punteggio medio 7-9)
- 2- "*outcome* importante ma non critico per formulare una decisione" (punteggio medio 4-6)
- 3- "*outcome* di limitata importanza per formulare una decisione" (punteggio medio 1-3)

Gli *outcome* valutati come critici ed importanti sono stati successivamente utilizzati per formulare le raccomandazioni.

---

## REVISIONE SISTEMATICA DELLA LETTERATURA

Le prove scientifiche a supporto delle raccomandazioni di queste Linee Guida sono state ricercate mediante una ricerca sistematica della letteratura a partire dalle Linee Guida pubblicate di alta o media qualità, partendo dai quesiti P.I.C.O.. Qualora non si fossero reperite tali Linee Guida, si sarebbe attivata una ricerca delle revisioni sistematiche e metanalisi o infine attraverso la ricerca di trial primari di alta qualità. Le procedure di ricerca sistematica della letteratura sono state effettuate dalla bibliometrista professionale nel marzo 2022 e a partire dal 2015. Considerando il

prolungarsi dei lavori, è stata successivamente eseguita una revisione sistematica nell'aprile 2023 per valutare eventuali nuove prove scientifiche.

### **Ricerca e selezione di Linee Guida**

Per il reperimento delle Linee Guida di possibile interesse la ricerca bibliografica è stata condotta su Medline/PubMed ed Embase, nonché sulle banche dati di Linee Guida e sui siti internet reputati pertinenti l'ambito di interesse specifico. In Medline/PubMed ed Embase la ricerca è stata condotta per Medical Subject Heading (MeSH) e per parola libera, utilizzando il field "Text Word", in modo tale da consentire un'estrazione più sensibile dei risultati. Nei siti web, invece, la *research strategy* è stata costruita per parola libera. I criteri di inclusione adottati sono stati la lingua inglese/italiana e la data di pubblicazione successiva al 2015. Eventuali documenti indicati dai componenti dei Gruppo di Lavoro come meritevoli di essere considerati, sono stati aggiunti alla base di prove scientifiche. Il dettaglio delle *research strategy* e le flow chart PRISMA relative ai P.I.C.O. dei singoli gruppi sono riportate nell'*Allegato 1*. La check-list compilata e il risultato della valutazione con AGREE II delle Linee Guida identificate da parte di due valutatori indipendenti per ciascun Gruppo di Lavoro è riportata all'interno dell'*Allegato 2*.

L'*Allegato 3* riporta la sintesi tabellare delle singole raccomandazioni adottate e/o adattate, estratte dalle Linee Guida identificate con direzione, forza e livello di qualità delle evidenze laddove presente.

### **DALLA REVISIONE SISTEMATICA ALLE RACCOMANDAZIONI**

La formulazione delle raccomandazioni ha seguito un processo predefinito che si è sviluppato nel corso di 5 riunioni coordinate dal Coordinatore e tenutesi tra maggio 2021 e ottobre 2022, con un significativo rallentamento dei lavori dovuto agli impegni di molti dei sanitari nella pandemia da SARS-CoV-2. I due Gruppi di Lavoro hanno preparato un documento con la proposta delle raccomandazioni per ciascun P.I.C.O. da sottoporre al Panel di Esperti. Le riunioni sono state registrate e/o documentate. In particolare:

1) Prima di ogni riunione ciascun membro del Panel di Esperti ha ricevuto, oltre alla bozza di raccomandazione per ciascun P.I.C.O. (positiva forte, positiva condizionata, negativa condizionata, negativa forte), la bibliografia di riferimento, nonché una discussione delle prove scientifiche utilizzate relativamente ad efficacia e sicurezza degli interventi considerati.

2) A ciascun membro del Panel di Esperti è stato chiesto di esprimere il proprio giudizio. Per ciascun dominio era possibile esprimere "completo accordo", "parziale accordo" e "completo disaccordo". In caso di accordo parziale o disaccordo, il rispondente era invitato ad aggiungere una nota giustificativa. La struttura della scheda è nell'*Allegato 4*.

Le votazioni delle schede sono state fatte on-line su piattaforma Google Form e sono riportate nell'*Allegato 5*. Relativamente ai quesiti per i quali non sono riportate evidenze sui costi (P.I.C.O. 1, 2, 3 e 6 della diagnosi non invasiva), il Panel di Esperti ha valutato le raccomandazioni basandosi sul documento ministeriale riguardante il NIPT (disponibile da: [https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_3097\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_3097_allegato.pdf)).

La votazione è stata preceduta e seguita da riunioni, documentate e registrate, volte a sviluppare la discussione su concordanze alle raccomandazioni ed eventuali opinioni differenti sui diversi

criteri considerati. In particolare, nel corso delle riunioni sono stati discussi, relativamente ai temi individuati, i punti sui quali il giudizio “completamente d’accordo” non era stato espresso da almeno l’85% dei membri del Gruppo di Lavoro. Al termine delle riunioni, per ciascun quesito, il Gruppo di Lavoro ha condiviso la formulazione delle raccomandazioni proposte.

Lo sviluppo delle raccomandazioni è avvenuto, secondo il metodo GRADE (Andrews et al. 2013), considerando il bilancio tra effetti desiderabili e indesiderabili di diverse alternative di intervento. In caso di relativa incertezza nella valutazione di tale bilancio, il Gruppo di Lavoro esprime una raccomandazione “condizionata” a favore o contro il trattamento. Nel caso in cui invece il bilancio sia nettamente a favore o contro l’intervento la raccomandazione è “forte”. Tuttavia, le raccomandazioni non possono essere interpretate come standard terapeutici nemmeno quando sono “forti” poiché sono da intendere come supporto informativo di un processo decisionale che deve avvenire tra la singola donna e il singolo medico.

## REVISIONE ESTERNA

La bozza conclusiva della Linea Guida contenente le raccomandazioni votate dal Panel di Esperti è stata inviata a due Revisori Esterni allo scopo di raccogliere commenti e proposte di modifica o di integrazione.

## AGGIORNAMENTO DELLA LINEA GUIDA

Un aggiornamento della Linea Guida è previsto nel 2025, a carico il Direttivo della SIGO ricontattando le Società Scientifiche che hanno partecipato alla elaborazione di queste Linee Guida e sottoponendo nuovamente al Panel la richiesta di eventuali modifiche sulla base di evidenze emerse e tenendo in considerazione eventuali modifiche di normative sanitarie.

Al Coordinatore è affidato l’incarico di richiedere un aggiornamento prima del 2025, qualora comparissero in letteratura nuove evidenze, o intervenissero modificazioni altamente significative nella organizzazione sanitaria e nei suoi costi, tali da rendere necessaria una revisione di alcuni o tutti i P.I.C.O.

## DIFFUSIONE DELLA LINEA GUIDA

La Linea Guida se approvata sarà pubblicata sul sito dell’ISS e sarà oggetto di pubblicazione sul sito della SIGO e sul sito web delle Società Scientifiche che hanno collaborato alla stesura. La Linea Guida verrà inoltre trascritta in formato pubblicabile e sottoposta ad una rivista peer-reviewed internazionale.

## REPORTING

La Linea Guida è stata redatta secondo le indicazioni della AGREE Reporting Checklist (<https://www.agreetrust.org/resource-centre/agree-reporting-checklist>).

---

## INDIPENDENZA EDITORIALE

Per la stesura della presente Linea Guida non è stato ricevuto alcun finanziamento esterno. All'atto dell'insediamento nel gruppo, tutti gli autori della Linea Guida hanno compilato il modulo per la dichiarazione di eventuali conflitti d'interesse, adattato dal Manuale Metodologico per la Produzione di Linee Guida di pratica clinica dell'SNLG. In particolare, nel corso della prima riunione, sono stati resi pubblici e discussi gli eventuali interessi rilevanti o potenzialmente rilevanti di tutti i membri. Nel caso in cui un autore avesse dichiarato di avere avuto negli ultimi dieci anni interessi potenzialmente in conflitto con lo scopo della Linea Guida e in grado di comprometterne la obiettività di giudizio, era previsto di applicare l'esclusione dell'autore.

## IMPLEMENTAZIONE ED APPLICABILITÀ DELLA LINEA GUIDA

Per monitorare l'implementazione delle raccomandazioni contenute in questa Linea Guida, verranno utilizzati indicatori di processo e di esito riportati nella tabella sottostante.

INDICATORI DI ESITO	Numero di falsi negativi e numero di falsi positivi al test combinato
	Numero di procedure invasive e numero di aborti spontanei del primo trimestre post-procedura invasiva (entro 7 giorni)
INDICATORI DI PROCESSO	Percentuale di donne con riscontro di NT > 3.5 mm che eseguono la consulenza genetica
	Percentuale di pazienti al di sopra dei 35 anni che accedono alla diagnosi prenatale invasiva rispetto a quelle che si sottopongono ad un test di screening (fonte rapporto CEDAP del sistema di monitoraggio del percorso nascita).

Per facilitare l'accessibilità delle presenti Linee Guida, al termine della pubblicazione delle stesse, verrà prodotto un sommario delle raccomandazioni volto ai medici ed un sommario *user-friendly* per l'utenza. Il materiale verrà pubblicato sul sito web delle Società Scientifiche promotrici.

## BIBLIOGRAFIA METODOLOGIA

- Andrews, J., Guyatt, G., Oxman, A.D., et al. (2013) GRADE guidelines: 14. Going from evidence to recommendations: the significance and presentation of recommendations. *J Clin Epidemiol.* 66: 719-25.
- Centro Nazionale per l'Eccellenza Clinica, la Qualità e la Sicurezza delle Cure dell'Istituto Superiore di Sanità, (2019). Manuale Metodologico per la Produzione di Linee Guida di Pratica Clinica [online]. Centro Nazionale per l'Eccellenza Clinica, la Qualità e la Sicurezza dell'Istituto Superiore di Sanità. [Consultato il 14 luglio 2021]. Disponibile da: [https://snlg.iss.it/wp-content/uploads/2019/04/MM\\_v1.3.2\\_apr\\_2019.pdf](https://snlg.iss.it/wp-content/uploads/2019/04/MM_v1.3.2_apr_2019.pdf)
- de Vet, H.C.W., Eisinga, A., Riphagen, I.I., et al. (2008). Chapter 7: Searching for Studies. In: The Cochrane Collaboration. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy - Draft Version 0.4 [online]. The Cochrane Collaboration. [Consultato il 14 luglio 2021].

<https://methods.cochrane.org/sites/methods.cochrane.org.sdt/files/public/uploads/Chapter07-Searching-%28September-2008%29.pdf>

- Higgins, J.P.T., Thomas, J., Chandler, J., et al. (2021). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions - version 6.2 [online]. The Cochrane Collaboration. [Consultato il 14 luglio 2021]. Disponibile da: [www.training.cochrane.org/handbook](http://www.training.cochrane.org/handbook).

## P.I.C.O., RACCOMANDAZIONI, ANALISI DELLA LETTERATURA E INTERPRETAZIONE DELLE PROVE

### DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA

PATIENTS INTERVENTION COMPARISON OUTCOME - P.I.C.O.

**Domanda 1.** *Nella popolazione di donne con gravidanza singola, il test combinato è più accurato ed efficace per lo screening delle anomalie cromosomiche più frequenti, rispetto all'ecografia standard del I trimestre a 11-13 settimane di gestazione con misura della translucenza nucale?*

**P:** Donne con gravidanza singola

**I:** Test combinato

**C:** Ecografia standard del I trimestre a 11-13 settimane di gestazione con misura della translucenza nucale

**Outcome 1:** Sensibilità per trisomie 21, 18 e 13

**Outcome 2:** Specificità per trisomie 21, 18 e 13

**Outcome 3:** Falsi positivi per trisomie 21, 18 e 13\*

**Outcome 4:** Falsi negativi per trisomie 21, 18 e 13\*

**Outcome 5:** Numero di procedure invasive

**Outcome 6:** Diagnosi di altre anomalie

\*si definisce caso falso positivo donna portatrice di feto non affetto a cui viene offerta procedura diagnostica invasiva e caso falso negativo donna portatrice di feto affetto a cui non viene offerta la procedura di diagnostica invasiva.

**Raccomandazione 1.** *Si raccomanda di offrire a tutte le donne con gravidanza singola il test combinato come esame di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti (trisomie 21, 18 e 13).*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità ed una di moderata qualità.

<b>Domanda 2.</b> <i>Nelle donne in gravidanza di età superiore a 35 anni il test combinato è più accurato ed efficace nello screening delle trisomie 13, 18 e 21, rispetto alla diagnosi prenatale invasiva?</i>
<b>P:</b> Donne con gravidanza singola di età superiore ai 35 anni
<b>I:</b> Test combinato
<b>C:</b> Diagnosi prenatale invasiva
<b>Outcome 1:</b> Sensibilità per trisomie 21, 18 e 13
<b>Outcome 2:</b> Specificità per trisomie 21, 18 e 13
<b>Outcome 3:</b> Falsi positivi per trisomie 21, 18 e 13*
<b>Outcome 4:</b> Falsi negativi per trisomie 21, 18 e 13*
<b>Outcome 5:</b> Numero di procedure invasive
<b>Outcome 6:</b> Diagnosi di altre anomalie
<b>Outcome 7:</b> Diagnosi di altre anomalie cromosomiche

\* si definisce caso falso positivo donna portatrice di feto non affetto a cui viene offerta procedura diagnostica invasiva e caso falso negativo donna portatrice di feto affetto a cui non viene offerta la procedura di diagnostica invasiva.

**Raccomandazione 2.** *Si raccomanda di offrire il test combinato per lo screening delle trisomie 13, 18 e 21 a tutte le donne, indipendentemente dall'età materna,*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità ed una di moderata qualità.

## **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove per i P.I.C.O. 1 e 2**

Essendo P.I.C.O. 1 e 2 correlati, l'analisi della letteratura e l'interpretazione delle prove è stata considerata congiuntamente.

Il rischio per le aneuploidie fetali aumenta con l'avanzare dell'età materna, tuttavia può manifestarsi a qualsiasi età. La trisomia 21 rappresenta l'anomalia cromosomica più frequentemente identificata in epoca prenatale, seguita dalle trisomie 18 e 13. Nell'insieme, queste tre trisomie rappresentano circa il 66% delle aneuploidie maggiori identificate in epoca prenatale (*Hui et al. 2017*), anche se la prevalenza dipende dall'età media della popolazione analizzata.

In passato, l'età materna  $\geq 35$  anni era considerata un'indicazione per la diagnosi prenatale invasiva. Tuttavia, col tempo si è assistito ad un progressivo miglioramento dei test di screening in termini di performance, nonché ad un progressivo aumento delle donne che partoriscono oltre i 35 anni. I dati della letteratura riportano che il tasso di donne che partoriscono  $\geq 35$  anni è passato da 4.57% nel 1980 a 14% nel 2002 (*Resta et al. 2005*) al 28% nel 2005 con tendenza a crescere (<https://www.epicentro.iss.it>). In questo contesto, l'esecuzione dell'amniocentesi a tutte le donne in gravidanza  $\geq 35$  anni risulterebbe in una detection rate per la trisomia 21 del 50% con il 27% di falsi positivi e un valore predittivo positivo di 0,2/100, ossia circa 500 procedure invasive per un caso di trisomia 21.

Negli anni '90 è stato introdotto nella pratica clinica il test combinato, eseguito tra 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione, che consiste nella combinazione di diversi parametri per il calcolo del rischio delle tre trisomie più frequenti. I parametri considerati sono: età materna, lo spessore della translucenza nucale e il dosaggio della componente libera della gonadotropina corionica umana ( $\beta$ -HCG) e della proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A). I dati della letteratura riportano che la sensibilità del test combinato per la trisomia 21 è di 80-90% per un tasso di falsi positivi di 5% e il valore predittivo positivo del 7-10%. Una revisione sistematica di 65 studi riporta la sensibilità per la trisomia 18 di 91.9% con tasso di falsi positivi di 3.5% e di 83.1% per trisomia 13 con tasso di falsi positivi di 4.4% (*Metcalfe et al. 2014*). Il tasso di procedure invasive riportato in letteratura in seguito al test combinato è di 59/1000 (*Department of Health; Australian Government 2020*). È stato riportato che il rischio di anomalie cromosomiche fetali diverse dalle trisomie più comuni è di circa 2% nelle pazienti con un test combinato ad alto rischio (*KSMFM 2021; Livello 2++; Grado A; Linea Guida di alta qualità*).

Le Linee Guida raccomandano l'applicazione di un protocollo predefinito per l'esecuzione dell'ecografia del I trimestre qualora la donna desideri eseguire il test di screening per le aneuploidie fetali nonché un programma di controllo qualità della misurazione della translucenza nucale (*SIEOG-ISS 2021; Raccomandazione positiva forte; Linea Guida di alta qualità*). Sia l'applicazione di un protocollo predefinito che il programma di controllo qualità della misurazione della translucenza nucale hanno un effetto positivo sulla performance del test di screening (numero delle procedure invasive, sensibilità e specificità). Inoltre, la misurazione della translucenza nucale e l'esecuzione dell'ecografia del I trimestre secondo un protocollo predefinito portano vantaggi in termini di identificazione di altre anomalie congenite, come specificato nel P.I.C.O. 6.

In conclusione, i dati della letteratura dimostrano che la performance di uno screening basato sulla sola età materna è inferiore rispetto alla performance del test combinato. Per questo motivo, le Linee Guida di alta qualità e una di qualità moderata raccomandano che tutte le donne, indipendentemente dalla loro età, dovrebbero essere informate relativamente alla possibilità di eseguire il test combinato e delle possibili implicazioni (*KSMFM 2021; Livello 2++; Grado A; Linea Guida di alta qualità*) (*ACOG 2020, Livello A; Linea Guida di alta qualità*) (*Department of Health;*

*Australian Government 2020; CBR\*\*; Linea Guida di alta qualità) (RANZCOG 2019; Consensus based; Linea Guida di moderata qualità) (RANZCOG 2018; Level III-3; Grade C; Linea Guida di alta qualità) (SOCG-CCMG 2017; II-A; Linea Guida di alta qualità).* Questa raccomandazione viene ulteriormente supportata dal fatto che con il D.P.C.M. 12 gennaio 2017 di aggiornamento dei Livelli Essenziali di Assistenza in merito a “Assistenza specialistica ambulatoriale per le donne in stato di gravidanza e tutela della maternità” ha introdotto il test combinato come una prestazione di Livelli Essenziali di Assistenza, mentre non è più esclusa dalla partecipazione al costo l’esecuzione dell’amniocentesi per donne  $\geq 35$  anni precedentemente compresa nel D.M. 10 settembre 1998. Le Linee Guida raccomandano inoltre che il test venga preceduto da un counseling informativo che è opportuno effettuare nel I trimestre, possibilmente in occasione della prima visita da parte del medico ginecologo o ostetrica, per permettere alla donna di discutere le possibili opzioni. L’informazione dovrebbe includere le possibili alternative di screening (cfDNA/NIPT) e diagnostiche (villocentesi/amniocentesi) discutendo le caratteristiche, la accuratezza, i vantaggi, i limiti i possibili rischi connessi ai vari test e i costi per i test non previsti dai Livelli Essenziali di Assistenza così come attuati nei diversi Servizi Sanitari Regionali. Queste raccomandazioni sono in linea con le raccomandazioni della Linee Guida dell’Istituto Superiore di Sanità sulla Gravidanza Fisiologica (*ISS-SNLG, gravidanza fisiologica 2011*). Nel caso di una prima consultazione specialistica dopo la 13° settimana, potrà essere discussa la possibilità di ricorrere al quadruplo test come prima linea di screening (hCG, Alfa fetoproteina, uE3, inibina A) (*ISS- SNLG, gravidanza fisiologica 2011*).

*\*\*CBR – Recommendation formulated in the absence of quality evidence (Where a systematic review of the evidence was conducted as part of the search strategy).*

**Domanda 3.** *Nelle donne con gravidanza singola, che chiedono di essere sottoposte allo screening prenatale per le anomalie cromosomiche più frequenti, il cfDNA/NIPT è più accurato e costo-efficace rispetto al test combinato o ad altre procedure di screening?*

**P:** Donne con gravidanza singola

**I:** cfDNA/NIPT per le trisomie 21,18 e 13 come test universale (seguito dalla diagnosi prenatale invasiva nel caso di alto rischio)

**C:** Test combinato

**Outcome 1:** Sensibilità per trisomie 21 18 e 13

**Outcome 2:** Specificità per trisomie 21, 18 e 13

**Outcome 3:** Falsi positivi per trisomie 21, 18 e 13\*

**Outcome 4:** Falsi negativi per 21, 18 e 13\*

**Outcome 5:** Numero di procedure invasive

**Outcome 6:** % no result

**Outcome 7:** Costi

\* si definisce caso falso positivo donna portatrice di feto non affetto a cui viene offerta procedura diagnostica invasiva e caso falso negativo donna portatrice di feto affetto a cui non viene offerta la procedura di diagnostica invasiva.

**Raccomandazione 3.** *Per motivi di costo-efficacia e di fattibilità, nelle donne con gravidanza singola si suggerisce che il cfDNA/NIPT non sostituisca il test combinato come screening primario per le anomalie cromosomiche più frequenti.*

Raccomandazione negativa condizionata.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità.

**Domanda 4.** Nelle donne con gravidanza singola, ad alto rischio di aneuploidie al test combinato, *Il cfDNA/NIPT come test contingente per le trisomie 21,18 e 13 è più accurato ed efficace rispetto alla diagnosi prenatale invasiva ?*

**P:** Donne gravide ad alto rischio di aneuploidie al test combinato (gravidanza singola)

**I:** cfDNA/NIPT per le trisomie 21,18 e 13 come test contingente (seguito dalla diagnosi prenatale invasiva nel caso di alto rischio)

**C:** Diagnosi prenatale invasiva

**Outcome 1:** Sensibilità per trisomie 21 18 e 13

**Outcome 2:** Specificità per trisomie 21, 18 e 13

**Outcome 3:** Falsi positivi per trisomie 21, 18 e 13\*

**Outcome 4:** Falsi negativi per 21, 18 e 13\*

**Outcome 5:** Numero di procedure invasive

**Outcome 6:** % no result

**Outcome 7:** Timing della procedura invasiva

\*si definisce caso falso positivo donna portatrice di feto non affetto a cui viene offerta procedura diagnostica invasiva e falso negativo donna portatrice di feto affetti a cui non viene offerta la procedura di diagnostica invasiva

**Raccomandazione 4.** Si suggerisce l'utilizzo del cfDNA/NIPT come screening contingente nelle donne risultate ad alto rischio dopo test combinato e, in particolare, in quelle che non desiderano eseguire diagnosi prenatale invasiva, dopo un adeguato counseling (tempistiche della risposta, diagnosi di altre anomalie genetiche attraverso diagnosi prenatale invasiva).\*

Raccomandazione positiva condizionata.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità e da quanto espresso dal Consiglio Superiore di Sanità.

\*Per rischi  $\geq 1:10$  dopo il test combinato, translucenza nucale  $\geq 3.5$  mm o in presenza di anomalie congenite maggiori è raccomandato proporre la diagnosi prenatale invasiva per elevata prevalenza di anomalie cromosomiche e genetiche.

**Domanda 5.** *Per le donne con gravidanza singola, identificate a rischio intermedio di trisomia 13, 18, 21 dopo test combinato, l'utilizzo del cfDNA/NIPT in aggiunta al test combinato è più accurato e costo- efficace rispetto al solo test combinato?*

**P:** Donne gravide a rischio intermedio di aneuploidie al test combinato (gravidanza singola)

**I:** cfDNA/NIPT per le trisomie 21,18 e 13 come test contingente (seguito dalla diagnosi prenatale invasiva nel caso di alto rischio),

**C:** Solo test combinato

**Outcome 1:** Sensibilità per trisomie 21 18 e 13

**Outcome 2:** Specificità per trisomie 21, 18 e 13

**Outcome 3:** Falsi positivi per trisomie 21, 18 e 13\*

**Outcome 4:** Falsi negativi per 21, 18 e 13\*

**Outcome 5:** Numero di procedure invasive

**Outcome 6:** Costi

\*si definisce caso falso positivo donne portatrice di feto non affetto a cui viene offerta procedura diagnostica invasiva e falso negativo donna portatrice di feto affetti a cui non viene offerta la procedura di diagnostica invasiva

**Raccomandazione 5.** *Nelle donne gravide a rischio intermedio ( $\geq 1:1000$ ) di aneuploidie al test combinato, si suggerisce di utilizzare il cfDNA/NIPT come test contingente. La scelta dell'utilizzo di cfDNA/NIPT come test contingente nella fascia 1:11-1:1000 versus 1:101-1:1000 dipende dalle risorse disponibili, da scelte di politica sanitaria e da valutazioni discusse con la paziente.*

Raccomandazione positiva condizionata.

Raccomandazione adattata da una Linea Guida di alta qualità e da quanto espresso dal Consiglio Superiore di Sanità.

## **Analisi della letteratura ed interpretazione delle prove per i P.I.C.O. 3, 4 e 5**

Essendo P.I.C.O. 3, 4 e 5 correlati, l'analisi della letteratura e l'interpretazione delle prove è stata considerata congiuntamente.

Da circa dieci anni, si sta diffondendo sempre di più l'utilizzo di cell free DNA (cfDNA) chiamato anche non invasive prenatal testing (NIPT), come test di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti. I dati della letteratura indicano che il cfDNA/NIPT è il test di screening con la miglior performance per le trisomie 21, 18 e 13 nelle gravidanze singole, come riportato nella Tabella 1.

	Sensibilità	Falsi positivi
Trisomia 21	99.7% (IC 95% 99.1-99.9%)	0.04% (IC 95% 0.02-0.07%)
Trisomia 18	97.9% (IC 95% 94.9-99.1%)	0.04% (IC 95% 0.03-0.07%)
Trisomia 13	99.0% (IC 95% 65.8-100%)	0.04% (IC 95% 0.02-0.07%)

Tabella 1. Performance del cfDNA/NIPT per le trisomie 13, 18 e 21 nelle gravidanze singole. Dati ottenuti da una metanalisi (Gil et al. 2017). IC, intervallo di confidenza.

Il valore predittivo positivo aumenta con l'aumentare della prevalenza della patologia e, pertanto, con l'età materna avanzata. Così, per esempio, il valore predittivo positivo nelle donne di 25 anni è 33%, 13% e 9% per trisomia 21, 18 e 13, mentre nelle donne di  $\geq 40$  anni è 87%, 68% e 57% rispettivamente (ACOG 2015). Anche se caratterizzato da un'ottima performance, il cfDNA/NIPT può presentare sia falsi positivi che falsi negativi. La performance del test può essere influenzata dalla presenza di mosaicismo placentare, vanishing twin, alterazioni cromosomiche materne e presenza di neoplasie materne. Per questo motivo, è importante informare la paziente che si tratta di un test di screening e non di un test diagnostico. In tutti i casi di cfDNA/NIPT positivi è necessario eseguire una procedura diagnostica invasiva di conferma prima di qualsiasi decisione irrevocabile (SOCG-CCMG 2017; II-1B; Linea Guida di alta qualità) (RANZCOG 2018; consensus-based recommendation; Linea Guida di alta qualità).

Il vantaggio indiscusso del cfDNA/NIPT è il basso tasso di falsi positivi che implica una significativa riduzione delle procedure invasive rispetto al test combinato (10/1000 vs 59/1000) e, pertanto, una riduzione del tasso di aborti post-procedura (Department of Health; Australian Government 2020). Nella popolazione generale, in circa l'1-3% dei casi il cfDNA/NIPT non fornirà un risultato ("no result") a causa di una bassa frazione fetale e/o a causa di un'inadeguatezza qualitativa. In circa 50% dei casi di "no result" al primo prelievo, la ripetizione del prelievo porterà ad un risultato. L'evenienza di "no result" è più frequente nelle donne con obesità, con prevalenza di 20% nelle donne con peso  $>113$ kg e di 50% nelle donne con peso  $>159$  kg. Pertanto, nelle pazienti con grave obesità (IMC  $>35$ ) il cfDNA/NIPT non rappresenta il test di screening ottimale. A parte l'obesità materna, nel caso di "no result" la probabilità di una trisomia 18 o 13 è aumentata (circa 5%) (Norton et al. 2012). Pertanto, nei casi di "no result" al prelievo ripetuto è raccomandata una consulenza genetica per discutere con la paziente il percorso più appropriato discutendo anche la possibilità di un test diagnostico (ACOG 2020; Level A; Linea Guida di alta qualità) (CSS 2021).

L'introduzione di cfDNA/NIPT come modello primario di screening certamente porterebbe dei vantaggi in termini di una miglior performance del programma di screening (alta detection rate, ridotto numero di falsi positivi, ridotto numero di procedure invasive, ridotto numero di aborti post-procedura). Tuttavia, al momento attuale, a causa di costi ancora elevati, l'introduzione di

questo test come test di screening primario risulterebbe in un incremento significativo dei costi, non supportato da un rapporto costo/beneficio positivo. In letteratura è stato riportato il quadruplicarsi dei costi del programma per lo screening per le aneuploidie maggiori con cfDNA/NIPT come screening primario (Okun et al. 2014). Occorre poi considerare che l'ecografia eseguita per la misurazione della traslucenza nucale deve comunque essere associata al cfDNA/NIPT, in quanto questa aggiunge la possibilità di identificare il rischio per altre patologie fetali (SOCG-CCMG 2017; III; Linea Guida di alta qualità) (SIEOG 2021; Linea Guida di alta qualità). Considerato l'elevato costo dell'attuazione di uno screening primario con cfDNA/NIPT, è stato proposto l'utilizzo di cfDNA/NIPT come test contingente, ossia in seguito a rischio alto o intermedio ottenuto con il test combinato ( $\geq 1:1000$ ). L'implementazione del cfDNA/NIPT come test contingente ha portato ad un miglioramento della performance dei programmi di screening nazionali portando ad un incremento di detection rate per le tre trisomie più frequenti e un abbassamento dei falsi positivi e del numero di procedure invasive. Uno studio italiano che ha valutato l'impatto economico dell'introduzione del cfDNA/NIPT come test contingente (rischio  $\geq 1:1000$ ) ha evidenziato come tale tipologia di screening avrebbe portato ad un incremento di 3% di detection rate per le trisomie di fronte ad una riduzione del 71% del numero di procedure invasive (Prefumo et al 2019). In questo contesto, l'introduzione del cfDNA/NIPT come test contingente per rischio  $\geq 1:1000$  sarebbe anche vantaggioso sul piano della economia sanitaria per una riduzione della spesa a breve termine.

Nel 2021 è stato pubblicato il testo prodotto dal Gruppo di Lavoro del Consiglio Superiore di Sanità relativamente a "Screening del DNA fetale non invasivo (NIPT) in sanità pubblica" (CSS 2021). La produzione delle raccomandazioni della presente Linea Guida non può prescindere da quanto espresso dal Consiglio Superiore della Sanità. Nel documento sono presenti diverse valutazioni di impatto economico sul Sistema Sanitario Nazionale a seconda di modelli di utilizzo clinico di cfDNA/NIPT, ossia screening universale vs test contingente, Tabella 2 (CSS 2021). Nel caso del test contingente sono stati presi in considerazione i modelli con fascia di rischio 1:11-1:1000 e 1:101-1:1000. Il cfDNA/NIPT come test contingente comporterebbe un costo aggiuntivo di 13.6/18.8 milioni di euro vs 95.2/101.2 milioni di euro nel caso di uno screening universale con cfDNA/NIPT.

Strategia	Fattibilità	Sensibilità	Falsi +	Villocentesi	Costi	Impatto sul budget rispetto a Test Combinato universale
<b>Test Combinato universale</b>	100%	90,0%	5,0%	5,3%	55.900.000 €	0 €
<b>Test cfDNA/NIPT universale (Modello 1)</b>						
Nessuna altra indagine in caso di "no result" (Modello 1a)	98% (*)	97,5%	0,1%	0,4%	151.153.800 €	95.253.800 €
Villocentesi in caso di "no result" (Modello 1b)	98% (*)	99,5%	2,1%	2,4%	157.153.800 €	101.253.800 €
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:11-1:1000 (Modello 2.1)</b>						
Nessuna altra indagine in caso di "no result" (Modello 2.1a)	100%	97,3%	0,6%	0,8%	69.477.100 €	13.577.100 €
Villocentesi in caso di "no result" e rischio $\geq 1:250$ (Modello 2.1b)	100%	97,9%	0,6%	0,8%	69.536.500 €	13.636.500 €
<b>Test combinato + cfDNA/NIPT se rischio 1:101-1:1000 (Modello 2.2)</b>						
Nessuna altra indagine in caso di "no result" (Modello 2.2a)	100%	97,8%	3,5%	3,8%	74.607.400 €	18.707.400 €
Villocentesi in caso di "no result" e rischio $\geq 1:250$ (Modello 2.2b)	100%	97,9%	3,5%	3,8%	74.654.800 €	18.754.800 €

(\*) Gravidanze gemellari (2%) escluse dallo screening universale con cfDNA: riduzione della fattibilità a 96%

Tabella 2. La tabella rappresenta diversi tipi di strategia assimilabili allo scenario italiano, su un campione di 500.000 gravidanze e per un costo stimato di cfDNA/NIPT di 300 euro (prodotto da CSS 2021).

Rimane inteso che le stime dei vari costi dei programmi di screening dipendono da diversi fattori, quali per esempio: il costo dei test di screening (cfDNA/NIPT, test combinato), il costo delle procedure invasive (villocentesi, amniocentesi), il costo delle analisi genetiche, il tipo di costi considerati (costi a breve e/o lungo termine), etc.

La raccomandazione del Gruppo di Lavoro del CSS è di inserire il test cfDNA/NIPT nei Livelli Essenziali di Assistenza e/o nei percorsi regionali della gravidanza fisiologica come indagine di seconda scelta, per lo screening delle trisomie 13, 18 e 21 e pertanto di utilizzare il cfDNA/NIPT come screening contingente dopo il test combinato (CSS 2021). Tale approccio, come specificato nel documento del CSS, presenta migliori evidenze internazionali di costo-efficacia, ha un impatto minore sulla spesa per l'individuazione delle principali aneuploidie e supera il problema dei "no result" (CSS 2021). Tuttavia, sono stati presi in esame due cut-off, 1:11 e 1:101, a partire dai quali proporre il cfDNA/NIPT come screening contingente (CSS 2021). Il rationale per cui non proporre cfDNA/NIPT per un rischio  $\geq 1:10$  dopo il test combinato sta nel fatto che questo gruppo è caratterizzato da un'elevata prevalenza di feti affetti da problematiche cromosomiche quali trisomie 13, 18 e 21 o da altre problematiche cromosomiche/genetiche non identificabili con cfDNA/NIPT (CSS 2021). Pertanto, nel gruppo di donne con rischio  $\geq 1:10$  dopo il test combinato è raccomandato proporre la diagnosi prenatale invasiva. La scelta dell'utilizzo di cfDNA/NIPT come test contingente nella fascia 1:11-1:1000 versus 1:101-1:1000 dipende dalle risorse disponibili e da scelte di politica sanitaria come spiegato in dettaglio nel documento del CSS e riassunto nella Tabella 2.

Nel caso di applicazione del cfDNA/NIPT assume particolare importanza il counseling pre-test. Come sottolineato nel documento del Consiglio Superiore di Sanità, in occasione della consulenza andrebbero discussi non solo il rischio delle anomalie cromosomiche, ma anche i benefici e i limiti dei diversi test disponibili (diagnostici o di screening) tenendo conto anche del contesto clinico della gravidanza, delle risorse assistenziali disponibili e dell'orientamento della paziente (CSS 2021). È stato riportato che il rischio di anomalie cromosomiche fetali diverse dalle trisomie più comuni è di circa 2% nelle pazienti che presentano il test combinato ad alto rischio e cfDNA/NIPT a basso rischio (KSMFM 2021; Level 2++, Grade B; Linee Guida di alta qualità).

L'utilizzo di cfDNA/NIPT, oltre alle tre anomalie cromosomiche più frequenti, e a seconda della tecnologia di analisi utilizzata, permette di indagare altre condizioni genetiche quali per esempio aneuploidie dei cromosomi sessuali, microdelezioni (<10Mb), sbilanciamenti genomici di grosse dimensioni ( $\geq 7-10$ Mb), alcuni tipi di malattie monogeniche e le triploidie. Le criticità sollevate relativamente all'utilizzo di cfDNA/NIPT per la ricerca delle condizioni genetiche diverse dalle tre trisomie più frequenti sono: la mancanza di un'appropriate valutazione della validità, della performance e dell'utilità clinica soprattutto nella popolazione generale di gravide e/o per le condizioni genetiche rare; mancanza di follow-up adeguato negli studi di validazione; implicazioni etiche e di difficoltà nella gestione clinica.

In conclusione:

- Lo screening con il cfDNA/NIPT ha una accuratezza superiore al test combinato per le trisomie 13, 18 e 21. Tuttavia, in considerazione del basso valore predittivo positivo nel gruppo delle donne a basso rischio, della possibilità del "no result", nonché delle implicazioni economiche e di fattibilità, le Linee Guida di alta qualità non raccomandano questo test di screening come test di prima scelta per tutte le donne per motivi di costo-efficacia e di fattibilità (KSMFM 2021; Level 2++, Grade B; Linee Guida di alta qualità) (SOCG-CCMG 2017; III; Linea Guida di alta qualità) in linea con quanto raccomandato dal Consiglio Superiore di Sanità (CSS 2021).

- Le Linee Guida di alta qualità raccomandano di informare tutte le donne in merito a cfDNA/NIPT anche in relazione ad altri percorsi di diagnosi prenatale invasiva e di screening (*KSMFM 2021; Level 2++, Grade B; Linea Guida di alta qualità*) (*ACOG 2020; Level A; Linea Guida di alta qualità*) (*RANZCOG2018; Level III-3; Grade C; Linea Guida di alta qualità*).
- Nel caso in cui lo screening venga accettato dalla paziente, andrebbe evitato l'approccio di screening multipli eseguiti simultaneamente in quanto aumenterebbe il tasso di falsi positivi ma non la detection rate (*ACOG 2020; Level A; Linea Guida di alta qualità*) (*RANZCOG 2018, consensus based recommendation; Linea Guida di alta qualità*) (*SOCG-CCMG 2017; II-1A; Linea Guida di alta qualità*).
- Nel caso di test combinato ad alto rischio, considerata l'alta performance del cfDNA/NIPT per le trisomie 13, 18 e 21, tale test di screening rappresenta una ragionevole alternativa per le pazienti che non desiderano, in prima istanza, eseguire la diagnosi prenatale invasiva. Questo tipo di approccio migliorerebbe la performance dello screening mantenendo pure i vantaggi dello screening tradizionale (che comprende anche l'effettuazione dell'ecografia del I trimestre). Tuttavia, alla paziente dovrebbe essere spiegato che il risultato non implica la conferma o l'esclusione di una aneuploidia fetale, che l'esecuzione di cfDNA/NIPT potrebbe ritardare la diagnosi definitiva e, pertanto, contestualmente dovrebbe essere eseguito il counseling relativamente a diagnosi prenatale invasiva (*KSMFM 2021; Level 2++; Grade A; Linea Guida di alta qualità*) (*ACOG 2020; Level B; Linea Guida di alta qualità*) (*RANZCOG 2018; consensus-based recommendation; Linea Guida di alta qualità*). Per rischio  $\geq 1:10$  dopo il test combinato, translucenza nucale  $\geq 3.5$  mm o in presenza di anomalie congenite maggiori è raccomandata l'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva considerata l'elevata prevalenza di problematiche cromosomiche o genetiche (*CSS 2021*). La scelta dell'utilizzo di cfDNA/NIPT come test contingente nella fascia 1:11-1:1000 versus 1:101-1:1000 dipende dalle risorse disponibili e da scelte di politica sanitaria (*CSS 2021*).
- Non essendo fattibile al momento attuale uno screening universale con cfDNA/NIPT, il modello contingente sembra il modello con il miglior potenziale per aumentare la performance dello screening mantenendo i benefici del test combinato incluso quello dell'effettuazione dell'esame ecografico (*SOCG-CCMG 2017; III; Linea Guida di alta qualità*). L'applicazione del cfDNA/NIPT in un modello di test contingente per donne con rischio  $\geq 1:1000$  è quanto viene raccomandato dal Consiglio Superiore di Sanità.
- Le Linee Guida di alta qualità non raccomandano l'utilizzo di cfDNA/NIPT per lo screening di microdelezioni o delezioni/duplicazioni (*KSMFM 2021; Level 2++; Grade B; Linea Guida di alta qualità*) (*SOCG-CCMG 2017; II-2B; Linea Guida di alta qualità*) (*RANZCOG 2018, consensus-based recommendation; Linea Guida di alta qualità*).
- In linea con quanto raccomandato dal Gruppo di Lavoro del Consiglio Superiore di Sanità, lo screening per le anomalie dei cromosomi sessuali non è ancora considerato appropriato (*CSS 2021*).

**Domanda 6.** *Nelle donne con gravidanza singola, a basso rischio per aneuploidie al cfDNA/NIPT è raccomandata l'ecografia del I trimestre con la misurazione della translucenza nucale?*

**P:** Donne con gravidanza singola a basso rischio per aneuploidie al cfDNA/NIPT

**I:** Ecografia del I trimestre con misurazione della translucenza nucale

**C:** Nessuna ecografia del I trimestre

**Outcome 1:** Ricalcolo del rischio di aneuploidie

**Outcome 2:** Diagnosi di altre anomalie genetiche

**Outcome 3:** Diagnosi di altre anomalie congenite

**Raccomandazione 6.** *E' raccomandato comunque effettuare l'ecografia del I trimestre con misurazione della translucenza nucale anche nelle donne che sono risultate a basso rischio per aneuploidie al cfDNA/NIPT.*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità.

## **Analisi della letteratura ed interpretazione delle prove per il P.I.C.O. 6**

Il cfDNA/NIPT può essere eseguito a partire dalla 10° settimana di gestazione. Dopo tale settimana, la maggior parte delle donne avrà una frazione fetale >4%. Prima della 9° settimana di gestazione, il tasso di successo è di 72.6% (ACOG 2020). La possibilità di eseguire così precocemente lo screening per le anomalie cromosomiche più frequenti ha messo in discussione l'utilità dell'ecografia del I trimestre eseguita tra 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione con o senza la misurazione della translucenza nucale.

I dati della letteratura indicano diversi vantaggi dell'ecografia eseguita tra 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione. Tra questi una più accurata datazione della gravidanza rispetto all'ultima mestruazione, nonché un'individuazione precoce delle gravidanze multiple. Infatti, Linee Guida di alta qualità raccomandano l'offerta di un'ecografia di screening a tutte le donne in gravidanza nel corso del primo trimestre (ISS-SNLG-SIEOG 2021; raccomandazione positiva forte; Linea Guida di alta qualità).

La valutazione dello spessore della translucenza nucale, con o senza il test combinato, è parte integrante dell'ecografia del I trimestre tra 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione. La misurazione isolata della translucenza nucale permette di identificare il 75% dei feti affetti da trisomia 21 per un tasso di falsi positivi di 5%. La translucenza nucale aumentata, oltre ad anomalie cromosomiche, si associa ad un rischio aumentato di sindromi genetiche e di anomalie congenite fetali, in particolare ad anomalie congenite cardiache. Il rischio di patologia aumenta all'aumentare dello spessore della translucenza nucale. Per questo motivo, Linee Guida di alta qualità, nel caso di translucenza nucale >99°percentile (>3,5 mm) raccomandano l'esecuzione di consulenza genetica e di diagnosi prenatale invasiva con tecniche di CMA (Chromosomal Microarray Analysis) (SOCG-CCMG 2017; raccomandazione II-2A; Linea Guida di alta qualità) (KSMFM 2021; Level 2++; Grade A; Linea Guida di alta qualità). Nel caso di translucenza nucale >3,5 mm e analisi del cariotipo/CMA negativi e in presenza di altri segni ecografici per le RASopatie, è indicata la ricerca di mutazioni genetiche per le RASopatie (SIGU-SIEOG 2017). Inoltre, Linee Guida di alta qualità raccomandano l'esecuzione di ecografia dettagliata nel II trimestre (ecografia di riferimento) e dell'ecocardiografia nei feti con la translucenza nucale aumentata nel I trimestre (KSMFM 2021; Level 2++; Grade A; Linea Guida di alta qualità) (ACOG 2020; Level A; Linea Guida di alta qualità) (SIEOG-ISS 2021; raccomandazione positiva forte; Linea Guida di alta qualità). Il Gruppo di Lavoro del Consiglio Superiore di Sanità raccomanda che il cfDNA/NIPT sia preceduto da un controllo ecografico nell'ambito del test combinato per valutare in prima istanza la translucenza nucale (CSS 2021). Nel caso di un riscontro di una anomalia congenita non è indicato procedere con cfDNA/NIPT.

Nel caso in cui lo screening venga accettato dalla paziente, andrebbe evitato l'approccio di screening multipli eseguiti simultaneamente in quanto aumenterebbe il tasso di falsi positivi ma non la detection rate (ACOG 2020; Level A; Linea Guida di alta qualità) (RANZCOG 2018, consensus based recommendation; Linea Guida di alta qualità) (SOCG-CCMG 2017; II-1A; Linea Guida di alta qualità).

Con il progressivo miglioramento delle apparecchiature ecografiche, nonché dell'esperienza degli operatori, negli ultimi decenni si è assistito al progressivo incremento nella detection rate di anomalie congenite con l'ecografia eseguita a 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione, pur non essendo la ricerca delle anomalie congenite l'obiettivo dell'ecografia del I trimestre. Soprattutto nel caso di anomalie congenite a prognosi infausta, l'identificazione precoce può avere importanti risvolti per la paziente/coppia. Nel caso di riscontro di una anomalia congenita fetale, indipendentemente dal risultato del test di screening eseguito in precedenza, la donna dovrebbe eseguire consulenza genetica e dovrebbe essere proposta diagnosi prenatale invasiva (SOCG-CCMG 2017; II-2B; Linea

*Guida di alta qualità*) (KSMFM 2021; Level 2++; Grade A; *Linea Guida di alta qualità*). Per questi motivi, Linee Guida di alta qualità raccomandano di offrire l'ecografia del I trimestre tra 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione anche alle pazienti che hanno scelto di eseguire cfDNA/NIPT come screening primario (SOCG-CCMG 2017; II-1A; *Linea Guida di alta qualità*). La diagnosi di anomalie congenite strutturali o genetiche potrebbe essere ritardata o misconosciuta nel caso in cui l'ecografia a 11<sup>+0</sup>-13<sup>+6</sup> settimane di gestazione non fosse eseguita insieme a cfDNA/NIPT.

- American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics; Committee on Genetics; Society for Maternal-Fetal Medicine (2020) Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities: ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstet Gynecol*, 136(4):e48-e69. doi: 10.1097/AOG.0000000000004084. PMID: 32804883.
- Department of Health; Australian Government (2020) Pregnancy Care Clinical Practice Guidelines.  
[Consultato il 20 marzo 2022] Disponibile da: <https://www.health.gov.au/resources/pregnancy-care-guidelines>
- KSMFM (2021) Choe SA, Seol HJ, Kwon JY, Park CW, Kim M, Lee JY, Kim MA, Hwang HS, Na S, Shim JY, Kim K, Ryu HM. Clinical Practice Guidelines for Prenatal Aneuploidy Screening and Diagnostic Testing from Korean Society of Maternal-Fetal Medicine: (1) Prenatal Aneuploidy Screening. *J Korean Med Sci*;36(4):e27. doi: 10.3346/jkms.2021.36.e27. PMID: 33496086; PMCID: PMC7834900.
- RANZCOG (2018) The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Prenatal screening and diagnostic testing for fetal chromosomal and genetic conditions. [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzocg.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Prenatal-Screening-and-Diagnostic-Testing-for-Fetal-Chromosomal-and-Genetic-Conditions.pdf>
- RANZCOG (2019) The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Prenatal screening for fetal genetic or structural conditions. [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzocg.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Prenatal-Assessment-of-Fetal-Structural-Conditions.pdf>
- SIEOG-ISS (2021) Linee Guida per ecografia ostetrica e ginecologica. Società Italiana di Ecografia Ostetrico Ginecologica e Metodologie Biofisiche per Istituto Superiore di Sanità. [Consultato il 12 marzo 202] Disponibile da: [https://snlg.iss.it/wp-content/uploads/2021/11/LG-SIEOG-2021\\_def.pdf](https://snlg.iss.it/wp-content/uploads/2021/11/LG-SIEOG-2021_def.pdf)
- SOCG-CCMG (2017) Audibert F, De Bie I, Johnson JA, Okun N, Wilson RD, Armour C, Chitayat D, Kim R. No. 348-Joint Society of Obstetricians and Gynecologist of Canada and Genetics Committee and the Canadian College of Medical Geneticists Guideline: Update on prenatal screening for fetal aneuploidy, fetal anomalies, and adverse pregnancy outcomes. *J Obstet Gynecol Canad*;39(9):805-817. doi: 10.1016/j.jogc.2017.01.032. Erratum in: *J Obstet Gynaecol Can*. 2018 Aug;40(8):1109. PMID: 28859766.

## ALTRA BIBLIOGRAFIA

- ACOG (2015) Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstetrics Gynecol*;126(3):e31-e37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001051. PMID: 26287791.
- CSS Consiglio Superiore di Sanità. Ministero della Salute (2021) Screening del DNA fetale non invasivo (NIPT) in sanità pubblica. [Consultato il 12 marzo 2022] Disponibile da: [https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_3097\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_3097_allegato.pdf)
- Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH (2017) Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*;50(3):302-314. doi: 10.1002/uog.17484. Epub 2017 Jul 27.

- Hui L, Hutchinson B, Poulton A, Halliday J (2017) Population-based impact of noninvasive prenatal screening on screening and diagnostic testing for fetal aneuploidy. *Genet Med* ;19(12):1338-45. doi: 10.1038/gim.2017.55. Epub 2017 May 18. PMID: 28518169.
- ISS Istituto Superiore della Sanità (2011) Linee Guida. Gravidanza Fisiologica. [Consultato il 14 marzo 2022] Disponibile da: [https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1436\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1436_allegato.pdf)
- Metcalfe A, Hippman C, Pastuck M, Johnson JA (2014) Beyond Trisomy 21: Additional Chromosomal Anomalies Detected through Routine Aneuploidy Screening. *J Clin Med*;3(2):388-415. doi: 10.3390/jcm3020388. PMID: 26237381; PMCID: PMC4449689.
- Norton ME, Brar H, Weiss J, Karimi A, Laurent LC, Caughey AB, Rodriguez MH, Williams J 3rd, Mitchell ME, Adair CD, Lee H, Jacobsson B, Tomlinson MW, Oepkes D, Holleman D, Sparks AB, Oliphant A, Song K (2012) Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol*;207(2):137.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2012.05.021. Epub 2012 Jun 1. PMID: 22742782.
- Okun N, Teitelbaum M, Huang T, Dewa CS, Hoch JS (2014) The price of performance: a cost and performance analysis of the implementation of cell-free fetal DNA testing for Down syndrome in Ontario, Canada. *Prenat Diagn*;34(4):350-6. doi: 10.1002/pd.4311. Epub 2014 Jan 28. PMID: 24395030.
- Prefumo F, Paolini D, Speranza G, Palmisano M, Dionisi M, Camurri L (2019) The contingent use of cell-free fetal DNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 in pregnant women within a national health service: A budget impact analysis. *PLoS One*;14(6):e0218166. doi: 10.1371/journal.pone.0218166. PMID: 31188879; PMCID: PMC6561575.
- Resta RG (2005) Changing demographics of advanced maternal age (AMA) and the impact on the predicted incidence of Down syndrome in the United States: Implications for prenatal screening and genetic counseling. *Am J Med Genet A*;133A(1):31-6. doi: 10.1002/ajmg.a.30553. PMID: 15637725.
- SIGU-SIEOG (2017) Uso appropriato delle tecniche di CMA (Chromosomal Microarray Analysis) nella diagnosi prenatale. [Consultato il 21 marzo 2022] Disponibile da: <https://www.sieog.it/wp-content/uploads/2017/06/Uso-appropriato-delle-tecniche-di-CMA-Chromosomal-Microarray-Analysis-nella-diagnosi-prenatale.pdf>
- Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L (2012) Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*;367(23):2175-84. doi: 10.1056/NEJMoa1203382. PMID: 23215555; PMCID: PMC3549418.

## DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

PATIENTS INTERVENTION COMPARISON OUTCOME - P.I.C.O.

**Domanda 1.** *Nelle donne che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva per rischio aumentato di aneuploidie fetali l'esecuzione di test rapidi è preferibile rispetto al test convenzionale (QF-PCR, FISH)?*

**P:** Donne che si sottopongono a diagnosi invasiva per riscontro di rischio di aneuploidia aumentato (positività del test di screening, malformazioni)

**I:** Test rapido

**C:** Test convenzionale

**Outcome 1:** Accuratezza e precocità nella diagnosi di aneuploidia

**Outcome 2:** Riduzione dei costi

**Outcome 3:** Soddisfazione della paziente

**Outcome 4:** Ricadute psicologiche per la madre in caso di diagnosi più rapida

**Outcome 5:** Possibilità di ricorso a interruzione della gravidanza in tempi più rapidi

**Raccomandazione 1.** *Nelle donne che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva per rischio aumentato di aneuploidie fetali, si raccomanda l'esecuzione di test rapidi (QF-PCR, FISH) in associazione al cariotipo standard o al profilo CHROMOSOMAL MICROARRAY ANALYSIS (CMA). Decisioni cliniche basate sul risultato positivo dei test rapidi riguardo alla eventuale interruzione della gravidanza dovrebbero essere prese solo in uno dei seguenti casi:*

- 1. analisi cromosomica convenzionale su metafase patologica;*
- 2. profilo chromosomal microarray analysis (CMA) anormale;*
- 3. anomalie strutturali del feto.*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da una Linea Guida di qualità alta e una Linea Guida di qualità moderata.

## **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove per il P.I.C.O 1**

La Fluorescence in Situ Hybridisation Analysis (FISH) e la Quantitative Fluorescent-Polymerase Chain Reaction (QF-PCR) sono test genetici proposti come sostituti/integrativi del cariotipo convenzionale per la diagnosi rapida delle comuni aneuploidie incluse quelle dei cromosomi sessuali.

La FISH utilizza delle sonde fluorescenti per cromosomi o specifiche regioni cromosomiche (es. 22q11.2) per identificare il numero di copie presenti in un campione. L'analisi per la ricerca delle comuni aneuploidie (13, 18, 21, X, Y) viene effettuata su cellule in interfase non coltivate e fornisce, pertanto, risultati in 24-48 ore; al contrario, la ricerca di specifiche microdelezioni o microduplicazioni (es. 22q11.2) viene effettuata su cellule in metafase e, pertanto, necessita di un intervallo temporale di 7-14 giorni.

La QF-PCR è una metodologia che si basa sulla amplificazione di marcatori polimorfici localizzati sul cromosoma di interesse per determinare il numero delle copie di quello specifico cromosoma presenti nel campione in tempi più rapidi e con costi inferiori rispetto al cariotipo convenzionale. Per i test rapidi la presenza di falsi positivi o falsi negativi è stata occasionalmente riportata e, pertanto, eventuali risultati anomali non dovrebbero essere considerati diagnostici (*Toutain J et al., 2010*) (*Tepperberg J et al., 2001*) (*Bryndorf T et al., 2000*).

Nei casi in cui l'analisi del villo coriale con il metodo diretto a seguito di NIPT ad alto rischio sia sostituita, nella pratica di laboratorio, da quella mediante QF-PCR oltre all'ovvia necessità che il cromosoma per cui il NIPT ha dato il rischio aumentato sia compreso tra quelli indagati, si deve ricordare che questa tecnica non consente di evidenziare mosaicismi in bassa percentuale. Un profilo normale di QF-PCR in presenza di un cariotipo normale su coltura a lungo termine non permetterà di escludere la presenza nel citotrofoblasto di aneuploidie a mosaico a bassa percentuale di rappresentazione. Al contrario, un profilo di QF-PCR patologico, pur in presenza di un cariotipo su coltura a lungo termine omogeneamente aneuploide, non sarà dirimente nel distinguere tra la presenza di una anomalia omogenea o a mosaico in alta percentuale nel citotrofoblasto. Per tali ragioni, nell'indagine citogenetica su villi coriali, la combinazione di QF-PCR e metodo della coltura a lungo termine ha minori capacità nell'individuare eventuali mosaicismi nel prelievo da villocentesi, rispetto all'abbinamento di metodo diretto e coltura con conseguente maggior rischio di scorretta classificazione della costituzione cromosomica del feto (*SIEOG-ISS 2021*).

Linee Guida di qualità alta (*ACOG Practice Bulletin n 162 2016; Level B; Linea Guida di qualità alta*) e moderata (*ISUOG 2016; Level 4; Linea Guida di qualità moderata*) suggeriscono che decisioni cliniche basate sul risultato positivo dei test rapidi riguardo alla eventuale interruzione della gravidanza dovrebbero includere almeno uno dei seguenti reperti aggiuntivi: 1. Analisi cromosomica convenzionale su metafase patologica; 2 profilo CGH-array anormale; 3. Reperti ecografici anomali, soprattutto quando compatibili con il risultato del test rapido. Queste indicazioni sono condivise da Raccomandazioni internazionali di gruppi di esperti – Practice Guidelines (*SOGC-CCMGn 2011*).

Il solo test rapido positivo (QF-PCR o FISH) non è ritenuto sufficiente per considerare una richiesta di interruzione volontaria in una gravidanza con rischio aumentato di aneuploidie in cui non ricorra almeno una delle tre condizioni menzionate sopra.

**Domanda 2.** *Nelle donne in cui è stata riscontrata una anomalia strutturale fetale, inclusa NT  $\geq 3,5$  mm, è indicata l'esecuzione della consulenza genetica?*

**P:** Donne che si sottopongono a diagnosi invasiva per anomalie strutturali fetali (inclusa NT  $>3,5$ mm)

**I:** Consulenza genetica

**C:** nessuna consulenza genetica

**Outcome 1:** Accuratezza nella diagnosi di anomalie cromosomiche

**Outcome 2:** Corretta definizione della prognosi fetale

**Outcome 3:** Soddisfazione della paziente

**Outcome 4:** Ricadute psicologiche per la madre in caso di diagnosi

**Outcome 5:** Possibilità di ricorso a interruzione della gravidanza

**Outcome 6** Implicazioni per le gravidanze successive (rischio di ricorrenza)

**Raccomandazione 2.** *E' raccomandato offrire una consulenza genetica a tutte le donne con riscontro ecografico di translucenza nucale  $\geq 3,5$  mm nel I trimestre o di anomalia strutturale fetale maggiore, indipendentemente dal risultato dei test di screening.*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità alta e una di qualità moderata.

## **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove per il P.I.C.O. 2**

La translucenza nucale (NT) valutata nel contesto dell'esame di screening del I trimestre rappresenta un marcatore sonografico che, usato in combinazione con l'età materna e la biochimica sierica (test combinato), concorre a determinare il rischio di aneuploidia del feto. La combinazione di questi parametri per il calcolo del rischio delle tre trisomie più frequenti ha una sensibilità per la trisomia 21 dell'80-90% con tasso di falsi positivi del 5%. Quando la NT è utilizzata da sola per modificare il rischio di base legato all'età materna, la sua detection rate è approssimativamente del 70% (Aldred Sk et al 2017). Inoltre, al di sopra del cut-off di 3,5 mm, gli studi riportano un rischio aumentato di malformazioni fetali, sindromi e outcome avverso della gravidanza indipendente dal risultato dei test genetici eseguiti e proporzionale allo spessore della NT.

Anomalie cromosomiche sono diagnosticabili in circa il 20-30% dei feti con NT aumentata; l'incidenza di queste risulta correlata con lo spessore della NT variando da circa il 7% nei feti con NT tra il 95° e il 99° percentile per l'epoca gestazionale, al 20% per valori di NT tra 3,5 e 4,4 mm, al 50% per valori di NT tra 5,5-6,4 mm e al 75% per valori di NT >8,5mm (Kagan Ko et al., 2006).

Una metanalisi del 2015 ha dimostrato che circa il 5% dei feti con NT  $\geq$  3,5 mm e cariotipo normale presenta anomalie rilevabili al CGH-array. Nel caso in cui a questa condizione di NT aumentata si associ una anomalia strutturale ecografica, l'incidenza di anomalie cromosomiche diagnosticabili con CGH-array può arrivare fino all'11% (Grande M et al. 2015) (Leung TY et al. 2011).

Nei feti con NT aumentata e cariotipo e CGH-array normali la consulenza genetica può essere utile per valutare l'indicazione ad eseguire il test per anomalie monogeniche appartenenti alla famiglia delle RASopatie mediante tecnologia Next-Generation Sequencing (NGS) modulata su un panel di geni specifici (multigene panel). Uno studio di Bardi et al. Ha dimostrato che nei feti cromosomicamente normali con NT >99° percentile l'incidenza di disordini monogenici è intorno al 3,3% e di questi più della metà è rappresentata da RASopatie. L'incidenza di malattie monogeniche aumenta fino al 10-14% nei casi con anomalie associate. Nello stesso studio circa il 6% dei feti con anomalia strutturale identificata ecograficamente e normale cariotipo presentava anomalie rilevabili mediante array-CGH (Bardi F et al.; 2020).

In un recente studio, la ricerca delle RASopatie è raccomandata in tutti i casi con NT  $\geq$ 5mm, anche in assenza di anomalie associate (Stuurman et al. 2019). Come step finale, nei feti con cariotipo e CGH-array normali, nei feti con NT aumentata o malformazioni strutturali specifiche o multiple la consulenza genetica può esser mirata a valutare l'indicazione ad eseguire il Clinical Exome Sequencing (CES 10 Mb), il Whole Exome Sequencing (WES risoluzione 40 Mb) o il Whole Genomic Sequencing (WGS 3000 Mb).

In circa il 3-4% dei feti con CGH array normale e NT aumentata il sequenziamento dell'esoma consente di identificare anomalie; questa percentuale aumenta fino al 24-34% in caso di idrope, versamenti o anomalie del sistema linfatico o anomalie multiple associate. Pertanto, il sequenziamento dell'esoma può essere preso in considerazione in feti con fenotipo anomalo suggestivo di disordine monogenico non noto, in feti con anomalie congenite che interessano più di un sistema o apparato o in caso di anomalia apparentemente isolata ma che può sottendere differenti meccanismi patologici (es. idrope fetale) (Petrovski S et al. 2019), (Pauta M et al. 2022), (Sparks TN et al 2020).

Sulla base di queste evidenze, le Linee Guida di qualità moderata/alta (SOGC-CCMG 2017; Level II-2A; Linea Guida di qualità alta); (KSMFM 2021a; LEVEL 2+ GRADE A; Linea Guida di alta qualità); (ACOG 2020; Level A; Linea Guida di alta qualità); (RANZCOG 2018; Consensus based recommendation; Linea Guida di moderata qualità) raccomandano che alle donne il cui feto abbia un riscontro di NT aumentata o di anomalia strutturale fetale maggiore debba essere offerta una

consulenza genetica per discutere il rischio di sindromi cromosomiche/genetiche, i possibili test genetici da effettuare e le loro possibili implicazioni diagnostiche, il rischio residuo di altre sindromi genetiche o di outcome avverso della gravidanza.

**Domanda 3.** *Nelle gravidanze che, a seguito di anamnesi e/o altri test genetici, presentano un rischio a priori aumentato di una condizione genetica fetale, è indicata l'esecuzione della consulenza genetica in fase peri-concezionale?*

**P:** Donne con il feto identificato ad aumentato rischio di una condizione genetica

**I:** Consulenza genetica

**C:** nessuna consulenza genetica

**Outcome 1:** Accuratezza nella diagnosi di anomalie genetiche

**Outcome 2:** Corretta definizione della prognosi fetale

**Outcome 3:** Soddisfazione della paziente

**Outcome 4:** Ricadute psicologiche per la madre in caso di diagnosi

**Outcome 5:** Possibilità di ricorso a interruzione della gravidanza

**Outcome 6** Implicazioni per le gravidanze successive (rischio di ricorrenza)

**Raccomandazione 3.** *Si raccomanda di offrire la consulenza genetica peri-concezionale a tutte le donne che presentano un rischio a priori aumentato per una condizione genetica fetale a seguito di anamnesi personale o familiare e/o altri test genetici al fine di informare e consigliare la coppia in merito ai disordini diagnosticabili in epoca prenatale e allo specifico tipo di test da eseguire (consulenza pre-test) e al fine di interpretare i risultati del test una volta disponibili (consulenza post-test).*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di alta qualità e una di qualità moderata.

### **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove del P.I.C.O. 3**

I test genetici prenatali non sono in grado di identificare tutte le anomalie genetiche e dovrebbero, pertanto, essere orientati dal rischio individuale e dalle preferenze della coppia. Linee guida di qualità alta (ACOG n 162 del 2016; Level C; Linea Guida di qualità alta); (RANZCOG 2019; Consensus based recommendation; Linea Guida di qualità alta); (RANZCOG 2017; Consensus based recommendation; Linea Guida di qualità alta) e moderata (ISUOG 2016; Level 4; Linea Guida di qualità moderata) identificano come ad aumentato rischio di sindromi genetiche le seguenti condizioni:

- Età materna e/o paterna avanzata
- Genitore portatore di anomalie genetiche inclusi: disordini autosomici-recessivi o dominanti, disordini legati al cromosoma X, riarrangiamenti cromosomici, aneuploidie o mosaicismi
- Precedente figlio affetto da anomalia strutturale
- Precedente figlio con trisomia autosomica o aneuploidia dei cromosomi sessuali

**Età materna e/o paterna avanzata:** anche se l'età materna avanzata rappresenta un fattore di rischio per aneuploidia, l'età da sola non è sufficiente per indicare uno screening genetico. Similmente, l'età paterna avanzata si associa ad un aumentato rischio di disordini monogenici come l'acondroplasia, la sindrome di Apert e di Crouzon legato soprattutto a mutazioni stocastiche che avvengono durante la spermiogenesi. Pertanto, ad oggi, non esiste un panel specifico di mutazioni associate all'età paterna avanzata e si raccomanda di seguire la gravidanza secondo i normali screening.

**Genitore portatore di anomalia genetica:** I disordini con trasmissione autosomica dominante hanno un rischio di trasmissione alla prole del 50%. Nei disordini autosomici-recessivi i genitori non manifestano la patologia ma sono portatori del gene affetto; se entrambi i genitori sono portatori il rischio del feto di essere affetto è del 25%. Tra le patologie con ereditarietà autosomica recessiva più note ci sono la fibrosi cistica e la talassemia.

Nelle patologie legate al cromosoma X, l'ereditarietà è strettamente correlata al sesso del nascituro essendo i maschi più severamente affetti rispetto alle femmine. Se una donna è portatrice di una patologia legata all'X ha un rischio del 25% di generare un figlio affetto. La più nota patologia legata all'X è la sindrome dell'X-fragile.

Ci sono, inoltre, alcune patologie che hanno un pattern di trasmissione etnia-specifico come la malattia di Tay-Sachs, la malattia di Niemann-Pick tipo A, l'anemia di Fanconi tipo C, la sindrome di Bloom, la malattia di Canavan e la mucopolidiosi tipo IV che sono più frequenti tra gli Ebrei Ashkenazi. In questa popolazione può, quindi, essere indicato richiedere dei test addizionali.

Ad eccezione dello screening per le emoglobinopatie che viene proposto universalmente (ISS-SNLG 2011; Linee Guida ministeriali), la ricerca dello stato di portatore per le altre patologie può essere indicato in relazione alla anamnesi familiare.

Le Linee Guida di qualità moderata/alta (RANZCOG 2019; Consensus based recommendation; Linea Guida di qualità alta) (RANZCOG 2017; Consensus based recommendation; Linea Guida di qualità alta); (ISUOG 2016; Level 4; Linea Guida di qualità moderata) raccomandano una consulenza genetica nel caso in cui entrambi i membri della coppia risultano essere portatori del gene patologico o una donna risulta essere portatrice di una malattia X-linked; la consulenza è orientata a discutere il rischio specifico del feto e la possibilità di accedere ad una diagnosi prenatale invasiva per determinare lo stato di portatore e, eventualmente, il sesso fetale.

Nel caso in cui ci si trovi in una fase pre-concezionale, l'opzione di una diagnosi preimpianto deve essere discussa con la coppia.

**Precedente figlio affetto da anomalia strutturale:** La maggior parte dei difetti strutturali sono isolati (non si associano a sindrome genetica nota) e hanno una patogenesi multifattoriale e multigenica. Generalmente, il rischio di ricorrenza è stimato intorno al 2-3% potendo variare in funzione del numero di individui affetti nella famiglia e del tipo di anomalia riscontrata (*Lie RT et al. 1994*). In questi casi le Linee Guida esistenti supportano l'indicazione clinica all'esecuzione di una consulenza genetica pre/periconcezionale per stabilire la presenza di una condizione genetica sottostante e stimare il rischio di ricorrenza.

**Precedente feto con trisomia autosomica o aneuploidia dei cromosomi sessuali o triploidia:** Il rischio di ricorrenza dopo una gravidanza affetta da aneuploidia è stimato essere 1.6-8.2 volte maggiore rispetto al rischio di base legato all'età materna ed è un rischio che può interessare tutti i cromosomi, non solo quelli precedentemente affetti. (*Warburton D et al. 2014*), (*De Souza E et al. 2009*). Per quanto riguarda la triploidia, se è presente un unico antecedente non rappresenta una indicazione a consulenza genetica rappresentando, nella maggior parte dei casi, un evento stocastico a basso rischio di ricorrenza; tuttavia, alcuni *case report* hanno dimostrato che nei casi di triploidia ricorrente è possibile rintracciare un meccanismo genetico sottostante (*Fontoura Oliveira A et al. 2021*).

Infine, una condizione di aumentato rischio cromosomico può derivare anche dal risultato di un **test genetico eseguito nel I trimestre**. Il test combinato ha un tasso di falsi positivi intorno al 5% mentre per lo screening mediante DNA fetale circolante il tasso di falsi positivi è di circa l'1/1000 per le comuni aneuploidie (*Kagan KO et al. 2018*). In quest'ultimo caso, diversi fattori possono essere responsabili di un risultato falsamente positivo tra cui il mosaicismo placentare, aneuploidie materne, vanishing twin, tumori materni. Pertanto, a seguito di un test di screening positivo la consulenza genetica dovrebbe essere orientata a discutere con la coppia lo specifico risultato e concordare in base all'esito il tipo di procedura invasiva (amniocentesi vs villocentesi) e la tipologia di analisi genetica da eseguire sul materiale prelevato.

**Domanda 4.** Nelle donne gravide con **infezioni croniche (HBV, HCV, HIV)**, con indicazione alla diagnosi prenatale invasiva, il rischio di trasmissione della malattia al feto deve essere valutato prima di scegliere se eseguire la procedura e quale procedura eseguire?

- Tipo di prelievo (amniocentesi vs villocentesi)
- Metodica del prelievo (transamniotico vs transplacentare)
- Assunzione terapia materna

**P:** Donne gravide con malattie infezioni croniche (HBV, HCV, HIV)

**I:** Diagnosi prenatale invasiva

**C:** Non esecuzione di diagnosi invasiva

**Outcome 1:** Tasso di trasmissione della malattia al feto

**Raccomandazione 4.** Nelle donne con infezioni note da HBV, HCV o HIV che presentano una chiara indicazione alla diagnosi prenatale, si raccomanda di valutare attentamente il rapporto rischio/beneficio alla luce della possibile trasmissione dell'agente patogeno al feto. Nei casi in cui si proceda all'esecuzione della diagnosi prenatale invasiva è raccomandato eseguire amniocentesi rispetto a villocentesi evitando quando possibile l'inserimento dell'ago attraverso la placenta.

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di qualità alta e una di qualità moderata.

## **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove dei P.I.C.O. 4**

Nelle donne con infezione nota da HBV, HCV o HIV il rischio di trasmissione sembra essere differente a seconda del tipo di agente patogeno e della sua carica. Pertanto, linee guida di qualità alta (*RCOG 2021; Good practice point Evidence level 4; Linea Guida di qualità alta*); (*KSMFM 2021b; Level 2++ GRADE B; Linea Guida di qualità alta*); e moderata (*ISUOG 2016; Level 4; Linea Guida di qualità moderata*), (Asian Pacific association for the study of liver (APASL) guidelines: hepatitis B virus in pregnancy, 2021; Grading of evidence C, grading of recommendation 2) suggeriscono di discutere ed individualizzare il rapporto rischio/beneficio anche sulla base del tipo di infezione.

### **1) Infezione cronica da HBV**

Il rischio di trasmissione al feto dell'HBV a seguito dell'esecuzione di procedure invasive è ritenuto essere basso. Uno studio su 642 neonati che ha comparato il rischio di trasmissione nelle donne sottoposte o non sottoposte ad amniocentesi ha dimostrato un aumento complessivo del rischio di trasmissione (6.35% vs 2.53%) (*Yi W et al. 2013*) (*RANZCOG 2019*).

Tuttavia, questo stesso studio ha dimostrato che, stratificando il campione sulla base della carica virale, nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata tra i due gruppi per cariche virali  $<7 \log_{10}$  copie/ml. Nelle donne con carica virale al di sopra di questo cut-off, il tasso di trasmissione nelle donne sottoposte ad amniocentesi è stato riportato intorno al 50%.

Inoltre, il rischio di trasmissione non sembra essere aumentato nelle donne HBeAg-negative rispetto ai controlli (rischio stimato intorno all'1.5-3%), mentre il rischio è aumentato nelle donne HBe-Ag positive (*Towers CV et al. 1999*) (*Grosheide PM et al. 1994*). Nelle donne con alta carica virale la terapia antivirale potrebbe essere considerata prima della procedura invasiva.

### **2) Infezione cronica da HCV**

Nelle donne con infezione cronica da HCV il rischio di trasmissione perinatale è stimato intorno al 5% e sembra soprattutto interessare le donne con elevata carica virale e/o co-infezione con HIV (*RANZCOG 2020*); (*SFMF 2017*).

Esistono pochi studi sulle donne con infezione HCV sottoposte a diagnosi invasiva. In uno studio su 16 donne con livelli HCV-RNA rilevabili nel siero e sottoposte ad amniocentesi, il liquido amniotico è risultato positivo a seguito della procedura in un solo caso (6.3%) e nessun neonato è risultato essere infetto (*Delamare C et al. 1999*) (*Poiraud S et al. 2001*).

In conclusione, seppure la letteratura esistente non sembri documentare un aumento del rischio di trasmissione, le donne dovrebbero essere informate che i dati sul rischio di trasmissione a seguito di procedura invasiva sono limitati.

### **3) Infezione da HIV**

L'amniocentesi rappresenta un fattore di rischio maggiore e indipendente di trasmissione perinatale dell'infezione nelle donne affette da HIV, aumentandone di circa 4 volte il rischio (*Tess BH et al. 1998*). L'introduzione della terapia antiretrovirale combinata (HAART) ha ridotto radicalmente questo rischio (*Peters H et al. 2017*) (*Florida M et al. 2017*) (*Simões M et al. 2013*).

Uno studio spagnolo ha comparato il rischio di trasmissione in 366 donne HIV-positivo sottoposte ad amniocentesi prima e dopo il 1997 (anno di implementazione della terapia HAART). Il tasso di trasmissione nelle donne sottoposte e non ad amniocentesi era 30% (3/10) vs 16,2% (40/247)), prima del 1997 e 0% (0/18) vs 3,7% (3/81) dopo il 1997 (*Maiques V et al. 2003*). Uno studio francese

(*Ekoukou D et al. 2008*) e uno italiano (*Somigliana E et al. 2005*) hanno successivamente confermato questi dati, riportando un tasso di trasmissione rispettivamente dello 0% e del 3,3% dopo il 1997. Infine, uno studio francese ha dimostrato la superiorità della terapia HAART anche rispetto alla sola terapia con zidovudina, riportando un rischio di trasmissione a seguito di amniocentesi di 0% vs 6,1% (*Mandelbrot L et al. 2009*).

Riguardo la carica virale, le Linee Guida RCOG (*RCOG 2010*) sul management delle donne con HIV in gravidanza definiscono una carica virale < 50 copie/mL come non rilevabile. Nelle donne con carica virale al di sopra di questo cut-off è indicato iniziare la terapia con HAART e, se possibile, post-porre l'amniocentesi fino a quando la carica virale sia non rilevabile. Se la donna è già in terapia HAART, è consigliabile una terapia antiretrovirale peri-procedurale.

In conclusione, il rischio di trasmissione non sembra essere aumentato nelle donne HIV positive che si sottopongono a diagnosi prenatale invasiva se 1) la carica virale è non rilevabile; 2) la donna assume terapia HAART.

**Domanda 5.** *Nelle donne con indicazione alla diagnosi prenatale invasiva che assumono anticoagulanti/antiaggreganti, è indicata la sospensione dei farmaci prima della procedura?*

**P:** Donne gravide che assumono anticoagulanti/antiaggreganti che devono sottoporsi alla diagnosi invasiva

**I:** Sospensione del trattamento anticoagulante

**C:** Continuazione della terapia anticoagulante

**Outcome 1:** Perdita fetale

**Outcome 2:** Incidenza di complicanze della gravidanza (pPROM, corioamniositi, sanguinamento genitale, parto pretermine)

**Outcome 3:** Morbilità materna

**Raccomandazione 5.** *Sulla base delle limitate evidenze esistenti, non è suggerita la sospensione della profilassi antiaggregante e/o anticoagulante prima di sottoporsi a procedura di diagnosi prenatale invasiva.*

Raccomandazione negativa condizionata.

Raccomandazione adattata da Linee Guida di qualità moderata.

### **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove del P.I.C.O. 5**

Non ci sono dati di letteratura in merito alla sospensione della profilassi anticoagulante e/o antiaggregante per sottoporsi a procedure di diagnosi prenatale invasiva. Le raccomandazioni esistenti derivano da studi su procedure invasive effettuate su altri organi (es. biopsia epatica) (*Patel JJ et al. 2012*) (*ISUOG 2016*; Level 4; Linea Guida di qualità moderata).

Nelle pazienti che assumono farmaci antiaggreganti e/o anticoagulanti a dosi profilattiche non sembra essere clinicamente giustificata la loro sospensione prima della procedura. Viceversa, la non assunzione di una dose del farmaco può essere consigliabile soprattutto nelle pazienti che assumono anticoagulanti a dose terapeutica nelle quali il rapporto rischio/beneficio andrà valutato anche mediante consultazione con figure professionali specifiche (es. angiologo, ematologo...).

**Domanda 6.** *Le procedure di diagnosi invasiva eseguite in una struttura dotata di standard minimi di qualità danno risultati migliori rispetto alle stesse procedure eseguite nei centri che sono sprovvisti dei suddetti standard?*

**P:** Centri presso i quali vengono praticate procedure di diagnosi invasiva

**I:** Presenza di requisiti

**C:** Assenza di requisiti specifici

**Outcome 1:** Perdita fetale

**Outcome 2:** Efficacia del prelievo

**Outcome 3:** Accuratezza del prelievo

**Outcome 4:** Complicazioni ostetriche/materne

**Outcome 5:** Morbilità materna

**Outcome 6:** Grado di soddisfazione della paziente

**Outcome 7:** Miglioramento del percorso diagnostico-terapeutico

**Raccomandazione 6.** *E' raccomandato che le procedure di diagnosi prenatale invasiva vengano eseguite in centri che possano garantire apparecchiatura e spazi adatti, adeguata formazione degli operatori, adeguato auditing delle procedure e possibilità di consulenze interdisciplinari.*

Raccomandazione positiva forte.

Raccomandazione adattata da una Linea Guida di qualità alta e una Linea Guida di qualità moderata.

## **Analisi della letteratura e interpretazione delle prove del P.I.C.O. 6**

### **1) Apparecchiatura e spazi adatti per procedura (ambulatorio chirurgico, aghistrumentazione...)**

È raccomandato eseguire procedure di diagnosi prenatale invasiva in strutture dotate di strumentazione adatta e spazi idonei a garantire i principi di asepsi per minimizzare il rischio di infezioni materne e fetali (*ISUOG 2016; Level 4; Linea Guida di qualità moderata*) (*RCOG 2021; Level 4; Linea Guida di qualità alta*). L'utilizzo a scopo profilattico degli antibiotici non è raccomandato prima o dopo una procedura di diagnosi prenatale invasiva. Sebbene nel 2009 un singolo studio randomizzato abbia dimostrato una riduzione del rischio di rottura prematura delle membrane e di aborto post-amniocentesi, non esistono al momento dati di qualità sufficientemente alta per supportare l'esecuzione della profilassi antibiotica prima di una procedura di diagnosi prenatale invasiva.

### **2) Auditing**

È raccomandato che ogni Centro stili la propria casistica per il controllo di qualità tenendo conto dei seguenti parametri:

- numero minimo di procedure/anno (100/centro)
- numero di campioni con materiale insufficiente
- numero di campioni con liquido amniotico ematico
- numero di procedure con più di un inserimento di ago
- tasso di perdita della gravidanza entro 14 giorni dalla procedura (<0.5%)
- numero di colture da amniocentesi o villocentesi per le quali non è stato possibile ottenere adeguata coltura (<0.5%)
- altri esiti della gravidanza (aborti e loro intervallo dalla procedura, perdita di liquido amniotico, parto pretermine, pPROM)
- tasso di esecuzione di profilassi anti-D nelle donne Rh negative (100%)
- Inoltre, è raccomandato che in ogni centro in cui vengono eseguite procedure invasive fornisca:
  - registro adeguatamente compilato delle procedure per facilitare l'audit
  - audit locali annuali con possibilità di mettere a disposizione i dati per verifiche esterne

### **3) Formazione degli operatori**

È auspicabile che la formazione per le procedure invasive inizi su un simulatore. Il numero minimo di procedure necessario per contenere il rischio di complicazioni è stimato intorno a 100, eseguite sotto supervisione. Le linee guida ACOG del 2021 raccomandano di eseguire almeno 20 procedure per operatore per mantenere la competenza (*RCOG 2021; Level 4; Linea Guida di qualità alta*).

### **4) Possibilità di consulenze interdisciplinari**

Prima della procedura invasiva è raccomandato eseguire un adeguato counselling alla paziente/coppia che può essere effettuato dal ginecologo, dal genetista o da una ostetrica dedicata a seconda delle indicazioni cliniche (vedi Domanda 3). Una consulenza post-procedura è raccomandata nei casi di risultato anomalo e deve coinvolgere oltre al genetista e al ginecologo

anche lo psicologo ed eventualmente specialisti nelle varie branche pediatriche (*ISUOG 2016; Level 4; Linea Guida di qualità moderata*). Pertanto, è raccomandato eseguire procedure invasive nei centri che possono mettere a disposizione tali competenze professionali.

- American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics; Committee on Genetics; Society for Maternal-Fetal Medicine (2016) Prenatal Diagnostic Testing for Genetic Disorders. *Obstet Gynecol*;127(5):e108-e122. doi: 10.1097/AOG.0000000000001405. PMID: 26938573.
- American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics; Committee on Genetics; Society for Maternal-Fetal Medicine (2020) Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities: ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstet Gynecol*, 136(4):e48-e69. doi: 10.1097/AOG.0000000000004084. PMID: 32804883.
- APASL (2022). Kumar M, Abbas Z, Azami M, Belopolskaya M, Dokmeci AK, Ghazinyan H, Jia J, Jindal A, Lee HC, Lei W, Lim SG, Liu CJ, Li Q, Al Mahtab M, Muljono DH, Niriella MA, Omata M, Payawal DA, Sarin SK, Ségéral O, Tanwandee T, Trehanpati N, Visvanathan K, Yang JM, Yuen MF, Zheng Y, Zhou YH. Asian Pacific association for the study of liver (APASL) guidelines: hepatitis B virus in pregnancy. *Hepatol Int*. 2022 Apr;16(2):211-253. doi: 10.1007/s12072-021-10285-5. Epub 2022 Feb 3. PMID: 35113359.
- Department of Health; Australian Government (2020) Pregnancy Care Clinical Practice Guidelines. [Consultato il 20 marzo 2022] Disponibile da: <https://www.health.gov.au/resources/pregnancy-care-guidelines>
- ISUOG (2016) Ghi T, Sotiriadis A, Calda P, Da Silva Costa F, Raine-Fenning N, Alfirevic Z, McGillivray G. International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. Practice guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis; *Ultrasound Obstet Gynecol*.;48(2):256-68. doi: 10.1002/uog.15945. PMID: 27485589.
- KSMFM (2021a) Choe SA, Seol HJ, Kwon JY, Park CW, Kim M, Lee JY, Kim MA, Hwang HS, Na S, Shim JY, Kim K, Ryu HM. Clinical Practice Guidelines for Prenatal Aneuploidy Screening and Diagnostic Testing from Korean Society of Maternal-Fetal Medicine: (1) Prenatal Aneuploidy Screening. *J Korean Med Sci*.;36(4):e27. doi: 10.3346/jkms.2021.36.e27. PMID: 33496086; PMCID: PMC7834900.
- KSMFM (2021b) Lee JY, Kwon JY, Na S, Choe SA, Seol HJ, Kim M, Kim MA, Park CW, Kim K, Ryu HM, Hwang HS, Shim JY. Clinical Practice Guidelines for Prenatal Aneuploidy Screening and Diagnostic Testing from Korean Society of Maternal-Fetal Medicine: (2) Invasive Diagnostic Testing for Fetal Chromosomal Abnormalities. *J Korean Med Sci*. 2021 Jan 25;36(4):e26. doi: 10.3346/jkms.2021.36.e26. PMID: 33496085
- RANZCOG (2017). The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Pre-pregnancy counselling; [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: [https://ranzcof.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Pre-pregnancy-Counselling-C-Obs-3a-Board-approved\\_March-2022.pdf](https://ranzcof.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Pre-pregnancy-Counselling-C-Obs-3a-Board-approved_March-2022.pdf)
- RANZCOG (2018) The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Prenatal assessment of fetal structural conditions. [Consultato il 16 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzcof.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Prenatal-Assessment-of-Fetal-Structural-Conditions.pdf>
- RANZCOG (2018) The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Prenatal screening and diagnostic testing for fetal chromosomal and genetic conditions. [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzcof.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Prenatal-Screening-and-Diagnostic-Testing-for-Fetal-Chromosomal-and-Genetic-Conditions.pdf>

- RANZCOG (2019). The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Reproductive carrier screening; [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: [https://ranzcoг.edu.au/RANZCOG\\_SITE/media/RANZCOG-MEDIA/Women%27s%20Health/Statement%20and%20guidelines/Clinical-Obstetrics/Genetic-carrier-screening\(C-Obs-63\)New-March-2019\\_1.pdf?ext=.pdf](https://ranzcoг.edu.au/RANZCOG_SITE/media/RANZCOG-MEDIA/Women%27s%20Health/Statement%20and%20guidelines/Clinical-Obstetrics/Genetic-carrier-screening(C-Obs-63)New-March-2019_1.pdf?ext=.pdf)
- RANZCOG (2019) The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecology. Prenatal screening for fetal genetic or structural conditions. [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzcoг.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Prenatal-Assessment-of-Fetal-Structural-Conditions.pdf>
- RCOG (2022) Navaratnam K, Alfirevic Z. Amniocentesis and chorionic villus sampling: Green-top Guideline No. 8 July 2021: Green-top Guideline No. 8. *BJOG*;129(1):e1-e15; . doi: 10.1111/1471-0528.16821. PMID: 34693616.
- SOCG-CCMG (2017) Audibert F, De Bie I, Johnson JA, Okun N, Wilson RD, Armour C, Chitayat D, Kim R. No. 348-Joint Society of Obstetricians and Gynecologist of Canada and Genetics Committee and the Canadian College of Medical Geneticists Guideline: Update on prenatal screening for fetal aneuploidy, fetal anomalies, and adverse pregnancy outcomes. *J Obstet Gynecol Canad*;39(9):805-817. doi: 10.1016/j.jogc.2017.01.032. Erratum in: *J Obstet Gynaecol Can*. 2018 Aug;40(8):1109. PMID: 28859766.

---

#### ALTRA BIBLIOGRAFIA

- Alldred SK, Takwoingi Y, Guo B, Pennant M, Deeks JJ, Neilson JP, Alfirevic Z (2017) First trimester ultrasound tests alone or in combination with first trimester serum tests for Down's syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev*;3(3):CD012600. doi: 10.1002/14651858. PMID: 28295158.
- Bardi F, Bosschieter P, Verheij J, Go A, Haak M, Bekker M, Sikkel E, Coumans A, Pajkrt E, Bilardo C (2020) Is there still a role for nuchal translucency measurement in the changing paradigm of first trimester screening? *Prenat Diagn*;40(2):197-205. doi: 10.1002/pd.5590. PMID: 31697852.
- Bryndorf T, Lundsteen C, Lamb A, Christensen B, Philip J (2000) Rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidies by interphase fluorescence in situ hybridization: a one-year clinical experience with high-risk and urgent fetal and postnatal samples. *Acta Obstet Gynecol Scand*;79(1):8-14. PMID: 10646809.
- CIRSE - Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe Endorsement (2012) Patel IJ, Davidson JC, Nikolic B, Salazar GM, Schwartzberg MS, Walker TG, Saad WA. Consensus guidelines for periprocedural management of coagulation status and hemostasis risk in percutaneous image-guided interventions. *J Vasc Interv Radiol*;23(6):727-36. doi: 10.1016/j.jvir.2012.02.012. PMID: 22513394.
- Delamare C, Carbonne B, Heim N, Berkane N, Petit JC, Uzan S, Grangé JD (1999) Detection of hepatitis C virus RNA (HCV RNA) in amniotic fluid: a prospective study. *J Hepatol*;31(3):416-20. doi: 10.1016/s0168-8278(99)80031-2. PMID: 10488698.
- De Souza E, Halliday J, Chan A, Bower C, Morris JK (2009) Recurrence risks for trisomies 13, 18, and 21. *Am J Med Genet A*;149A(12):2716-22. doi: 10.1002/ajmg.a.33099. PMID: 19921649.
- Ekoukou D, Khuong-Josses MA, Ghibaud N, Mechali D, Rotten D (2008) Amniocentesis in pregnant HIV-infected patients. Absence of mother-to-child viral transmission in a series of

- selected patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*;140(2):212-7. doi: 10.1016/j.ejogrb.2008.04.004. PMID: 18584937.
- Floridia M, Masuelli G, Meloni A, Cetin I, Tamburrini E, Cavaliere AF, Dalzero S, Sansone M, Alberico S, Guerra B, Spinillo A, Chiadò Fiorio Tin M, Ravizza M; Italian Group on Surveillance on Antiretroviral Treatment in Pregnancy (2017) Amniocentesis and chorionic villus sampling in HIV-infected pregnant women: a multicentre case series. *BJOG*;124(8):1218-1223. doi: 10.1111/1471-0528.14183. PMID: 27319948.
  - Fontoura Oliveira A, Torrão MM, Nogueira R, Ferreira M (2021) Recurrent fetal triploidy: is there a genetic cause? *BMJ Case Rep*;14(3):e239843. doi: 10.1136/bcr-2020-239843. PMID: 33653854.
  - Giorlandino C, Cignini P, Cini M, Brizzi C, Carcioppolo O, Milite V, Coco C, Gentili P, Mangiafico L, Mesoraca A, Bizzoco D, Gabrielli I, Mobili L (2009) Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis (APGA): a single-centre open randomised controlled trial. *Prenat Diagn*;29(6):606-12. doi: 10.1002/pd.2256. PMID: 19294678.
  - Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, Borrell A (2015) Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*;46(6):650-8. doi: 10.1002/uog.14880. PMID: 25900824.
  - Grosheide PM, Quartero HW, Schalm SW, Heijtkink RA, Christiaens GC (1994) Early invasive prenatal diagnosis in HBsAg-positive women. *Prenat Diagn*;14(7):553-8. doi: 10.1002/pd.1970140707. PMID: 7971756.
  - ISS Istituto Superiore della Sanità (2011) Linee Guida. Gravidanza Fisiologica. [Consultato il 14 marzo 2022]  
Disponibile da: [https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_1436\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1436_allegato.pdf)
  - Kagan KO, Sroka F, Sonek J, Abele H, Lüthgens K, Schmid M, Wagner P, Brucker S, Wallwiener D, Hoopmann M (2018) First-trimester risk assessment based on ultrasound and cell-free DNA vs combined screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol*;51(4):437-444. doi: 10.1002/uog.18905. PMID: 28925570.
  - Kagan KO, Avgidou K, Molina FS, Gajewska K, Nicolaides KH (2006) Relation between increased fetal nuchal translucency thickness and chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*;107(1):6-10. doi: 10.1097/01.AOG.0000191301.63871.c6. PMID: 16394033.
  - Leung TY, Vogel I, Lau TK, Chong W, Hyett JA, Petersen OB, Choy KW (2011) Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and apparently normal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol*;38(3):314-9. doi: 10.1002/uog.8988. PMID: 21400624.
  - Lie RT, Wilcox AJ, Skjaerven R (1994) A population-based study of the risk of recurrence of birth defects. *N Engl J Med*;331(1):1-4. doi: 10.1056/NEJM199407073310101. PMID: 8202094.
  - Maiques V, García-Tejedor A, Perales A, Córdoba J, Esteban RJ (2003) HIV detection in amniotic fluid samples. Amniocentesis can be performed in HIV pregnant women? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*;108(2):137-41. doi: 10.1016/s0301-2115(02)00405-0. PMID: 12781400.
  - Mandelbrot L, Jasseron C, Ekoukou D, Batallan A, Bongain A, Pannier E, Blanche S, Tubiana R, Rouzioux C, Warszawski J; ANRS French Perinatal Cohort (EPF) (2009) Amniocentesis and mother-to-child human immunodeficiency virus transmission in the Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les Hépatites Virales French Perinatal Cohort. *Am J Obstet Gynecol*;200(2):160.e1-9. doi: 10.1016/j.ajog.2008.08.049. PMID: 18986640.

- Mujezinovic F, Alfirevic Z (2012) Technique modifications for reducing the risks from amniocentesis or chorionic villus sampling. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;8(8):CD008678.
- Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Borrell A (2022) Diagnostic yield of exome sequencing in fetuses with multisystem malformations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*;59(6):715-722. doi: 10.1002/uog.24862. PMID: 35041238.
- Peters H, Francis K, Harding K, Tookey PA, Thorne C (2017) Operative vaginal delivery and invasive procedures in pregnancy among women living with HIV. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*;210:295-299. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.12.016. PMID: 28092853.
- Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, Stosic M, Wou K, Bier L, Spiegel E, Brennan K, Stong N, Jobanputra V, Ren Z, Zhu X, Mebane C, Nahum O, Wang Q, Kamalakaran S, Malone C, Anyane-Yeboah K, Miller R, Levy B, Goldstein DB, Wapner RJ (2019) Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet*;393(10173):758-767. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32042-7. PMID: 30712878.
- Poiraud S, Cohen J, Amiot X, Berkane N, Flahauif A, Dussaix E (2001) Mother to child transmission of hepatitis C virus: a case-control study of risk factors. *Gastroenterology*;Suppl A:A-366.
- RANZCOG (2019) Management of Hepatitis B in pregnancy. [Consultato il 22 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzocg.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Management-of-Hepatitis-B-in-pregnancy-C-Obs-50.pdf>
- RANZCOG (2020) Management of Hepatitis C in pregnancy. [Consultato il 22 marzo 2022] Disponibile da: <https://ranzocg.edu.au/wp-content/uploads/2022/05/Management-of-Hepatitis-C-in-Pregnancy-C-Obs-51.pdf>
- SIGU (2020). Conferma diagnostica dopo NIPT con risultato ad alto rischio, non informativo o sesso discordante. [Consultato il 15 marzo 2022] Disponibile da: [https://www.sieog.it/wp-content/uploads/2020/12/2020\\_10\\_26\\_DOCUMENTO\\_NIPT\\_DEFINITIVO.pdf](https://www.sieog.it/wp-content/uploads/2020/12/2020_10_26_DOCUMENTO_NIPT_DEFINITIVO.pdf)
- Simões M, Marques C, Gonçalves A, Pereira AP, Correia J, Castela J, Guerreiro C (2013) Amniocentesis in HIV pregnant women: 16 years of experience. *Infect Dis Obstet Gynecol*;2013:914272. doi: 10.1155/2013/914272. PMID: 23970821.
- SMFM (2017). Hughes BL, Page CM, Kuller JA. Hepatitis C in pregnancy: screening, treatment, and management. *Am J Obstet Gynecol*;217(5):B2-B12. doi: 10.1016/j.ajog.2017.07.039. Epub 2017 Aug 4. PMID: 28782502.
- SOGC GENETICS COMMITTEE; CCMG PRENATAL DIAGNOSIS COMMITTEE; Langlois S, Duncan A (2011) Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. *J Obstet Gynaecol Can*;33(9):955-960. doi: 10.1016/S1701-2163(16)35022-8. PMID: 21923994.
- Somigliana E, Bucci AM, Tibaldi C, Alberico S, Ravizza M, Savasi V, Marini S, Matrone R, Pardi G; Italian Collaborative Study on HIV Infection in Pregnancy (2005) Early invasive diagnostic techniques in pregnant women who are infected with the HIV: a multicenter case series. *Am J Obstet Gynecol*;193(2):437-42. doi: 10.1016/j.ajog.2004.12.087. PMID: 16098867.
- Sparks TN, Lianoglou BR, Adami RR, Pluym ID, Holliman K, Duffy J, Downum SL, Patel S, Faubel A, Boe NM, Field NT, Murphy A, Laurent LC, Jolley J, Uy C, Slavotinek AM, Devine P, Hodoglouglu U, Van Ziffle J, Sanders SJ, MacKenzie TC, Norton ME (2020) Exome Sequencing for Prenatal Diagnosis in Nonimmune Hydrops Fetalis. *N Engl J Med*;383(18):1746-1756. doi: 10.1056/NEJMoa2023643. PMID: 33027564.

- Stuurman KE, Joosten M, van der Burgt I, Elting M, Yntema HG, Meijers-Heijboer H, Rinne T (2018) Prenatal ultrasound findings of rasopathies in a cohort of 424 fetuses: update on genetic testing in the NGS era. *J Med Genet*;56(10):654-661. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105746. PMID: 31040167.
- Tepperberg J, Pettenati MJ, Rao PN, Lese CM, Rita D, Wyandt H, Gersen S, White B, Schoonmaker MM (2001) Prenatal diagnosis using interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): 2-year multi-center retrospective study and review of the literature. *Prenat Diagn*;21(4):293-301. doi: 10.1002/pd.57. PMID: 11288120.
- Tess BH, Rodrigues LC, Newell ML, Dunn DT, Lago TD (1998) Breastfeeding, genetic, obstetric and other risk factors associated with mother-to-child transmission of HIV-1 in Sao Paulo State, Brazil. Sao Paulo Collaborative Study for Vertical Transmission of HIV-1. *AIDS*;12(5):513-20. doi: 10.1097/00002030-199805000-00013. PMID: 9543450.
- Toutain J, Epiney M, Begorre M, Dessuant H, Vandebossche F, Horovitz J, Saura R (2010) First-trimester prenatal diagnosis performed on pregnant women with fetal ultrasound abnormalities: the reliability of interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) on mesenchymal core for the main aneuploidies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*;149(2):143-6. doi: 10.1016/j.ejogrb.2009.12.015. Epub 2010 Jan 4. PMID: 20045588.
- Towers CV, Asrat T, Rumney P (2001) The presence of hepatitis B surface antigen and deoxyribonucleic acid in amniotic fluid and cord blood. *Am J Obstet Gynecol*;184(7):1514-8. doi: 10.1067/mob.2001.114866. PMID: 11408875.
- Warburton D, Dallaire L, Thangavelu M, Ross L, Levin B, Kline J (2004) Trisomy recurrence: a reconsideration based on North American data. *Am J Hum Genet*;75(3):376-85. doi: 10.1086/423331. PMID: 15248154.
- Yi W, Pan CQ, Hao J, Hu Y, Liu M, Li L, Liang D (2014) Risk of vertical transmission of hepatitis B after amniocentesis in HBs antigen-positive mothers. *J Hepatol*;60(3):523-9. doi: 10.1016/j.jhep.2013.11.008. PMID: 24269471.

Allegato 1: Strategie P.I.C.O. e votazione outcome

Allegato 2: Strategie di ricerca e PRISMA flow di selezione degli studi

Allegato 3: AGREE II Linee Guida internazionali

Allegato 4: Sintesi tabellare delle Raccomandazioni delle Linee Guida internazionali

Allegato 5: Struttura della Scheda per votazione

Allegato 6: Votazione del Panel di esperti