



Deliberazione Regione Puglia n.1087 del 31/07/2023

Legge Regionale 29 Dicembre 2022, n.32 “Disposizioni per formazione del bilancio di previsione 2023 e Bilancio pluriennale 2023-2025 della Regione Puglia (legge di stabilità regionale 2023)” – Art.59 “Contributo Test prenatale non invasivo (NIPT)”. Ripartizione Risorse alle ASL. INDIRIZZI OPERATIVI.

PROTOCOLLO OPERATIVO ED ORGANIZZATIVO

Il seguente Protocollo è finalizzato a definire “*le modalità di accesso, erogazione e rendicontazione del contributo*”, ai sensi del comma 4 dell’art.59 della Legge di Bilancio e della conseguente Deliberazione n.1087/2023.

In particolare, il protocollo è finalizzato a definire le modalità di appropriatezza di inclusione delle pazienti sulla base del rischio genetico. Altri criteri, di natura non strettamente sanitaria, non sono oggetto dello stesso.

=====

Modalità di ACCESSO

La selezione delle gestanti avverrà, ai sensi della Deliberazione Regionale e delle Linee Guida Ministeriali, sulla base del rischio al test combinato. In particolare, saranno selezionate le pazienti che al test combinato presentino un rischio intermedio compreso tra 1/101 e 1/1000, con possibilità, in caso di rischio tra 1/101 e 1/300, della opzione, in fase di counselling, per la diagnosi invasiva (villocentesi/amniocentesi).

L’accesso avverrà tramite le strutture di Diagnosi prenatale delle UUOCC di Ostetricia e Ginecologia della AO Vito Fazzi di Lecce, del Di Venere e degli OORR di Foggia, coordinate dalla UOC di Medicina Fetale del PO Di Venere (Centro Regionale di Riferimento). L’accesso avverrà secondo le seguenti fasi:

Fase 1 - Selezione pazienti

La selezione dei pazienti avverrà sulla base dei criteri sopra esposti presso le UUOCC sopra dette. Alla trasmissione del presente Protocollo, le Direzioni Aziendali di concerto con i Direttori delle UUOO coinvolte, individueranno i referenti che saranno responsabili della corretta applicazione: il test combinato **deve** essere eseguito da operatori accreditati e presso struttura pubblica.

A tal proposito i nominativi degli operatori, che devono essere certificati per l’esecuzione del test combinato (come da Linee Guida Ministeriali), saranno condivisi con il Direttore del Centro Di Medicina Fetale della ASL Bari (Riferimento regionale per la diagnosi della patologia fetale), in maniera da poter articolare nei dettagli e adeguatamente l’attività da svolgere attraverso riunioni mensili in cui si analizzino i risultati ottenuti e si discuta di eventuali miglioramenti laddove siano necessari. La finalità è quella di poter assicurare alle gestanti un servizio ottimale secondo i parametri di questo protocollo operativo.



Fase 2 – Prenotazione pazienti

Le gestanti con i requisiti di cui sopra riceveranno:

- Foglio informativo sul test e sui possibili risultati (allegato 1)
- Data e ora di prenotazione per esecuzione counselling pre-test e prelievo di sangue

Le gestanti saranno schedate con accesso su sistema CUPNET, tramite Agenda predisposta dal Laboratorio di Genetica che indicherà con opportuno anticipo le date mensili per le prenotazioni secondo i criteri di programmazione (vedi Fase 3).

Ogni Centro avrà accesso alla Agenda dove i pazienti saranno schedati in ordine di prenotazione con calcolo di circa 30 minuti, tra counselling e prelievo, per paziente prenotato (allegato 2).

Fase 3 – Counselling ed esecuzione del prelievo

Come da Linee Guida Ministeriali, il counselling pre-test sarà erogato **dal genetista e/o dal ginecologo esperto in medicina fetale**, nel rispetto della organizzazione che ogni singolo Centro riterrà ottimale. In tale circostanza si compilerà un foglio dati ed un consenso informato alla esecuzione del test con indicazione della scelta del paziente/della coppia circa le informazioni desiderate (allegati 3 e 4).

I prelievi vanno eseguiti **in specifici vacutainer** che saranno forniti ai Centri in quantità adeguate e con modalità che saranno dettagliate. Punto importante è che i prelievi **non sono stoccabili** per cui **vanno eseguiti tutti nello stesso giorno**. Un possibile modello organizzativo è il seguente.

Sulla base delle risorse disponibili, quantificate in circa euro 100.000/anno per Centro e costo medio di euro 500 per test, si potranno erogare circa 200 test per centro, ovvero 17-18 casi/mese, per cui si potrebbe organizzare la fase di prelievo in **due sedute mensili** (un Lunedì sì ed uno no) di 9-10 prelievi.

Poiché il numero minimo di test eseguibili è di almeno 20, è **raccomandato** che la data sia condivisa tra i Centri di Foggia e Lecce.

Fase 4 – Invio e Consegna prelievi

La Direzione sanitaria di ciascun Centro organizzerà, nel rispetto delle modalità di trasporto dei campioni biologici, il trasferimento delle provette presso la UOC di Genetica Medica della ASL Bari **con incluso il foglio dati correttamente compilato e copia del consenso informato**.

I campioni **devono** pervenire entro la giornata successiva (esempio se prelievi lunedì, il martedì).

Il centro inviante deve allegare una lista dei campioni inviati e l'operatore della UOC di Genetica Medica provvederà a verificare la esatta corrispondenza contestualmente alla accettazione.

ESECUZIONE del test

La UOC di Genetica Medica del Di Venere eseguirà il test e provvederà alla emissione del referto che invierà al referente per tale attività come da individuazione delle Direzioni Aziendali (vedi sopra).



Azienda Sanitaria Locale BARI

Dipartimento per la Gestione del Rischio
Riproduttivo e la Gravidanza a rischio



I referti saranno consegnati al corriere. Per i soli referti con anomalie si attiveranno eventuali procedure di trasmissione telematica nel rispetto dei criteri di sicurezza e di privacy.

COUNSELLING POST-TEST

Il counselling pre-test sarà erogato **dal genetista e dal ginecologo esperto in medicina fetale** secondo la organizzazione che ogni singolo Centro riterrà ottimale.

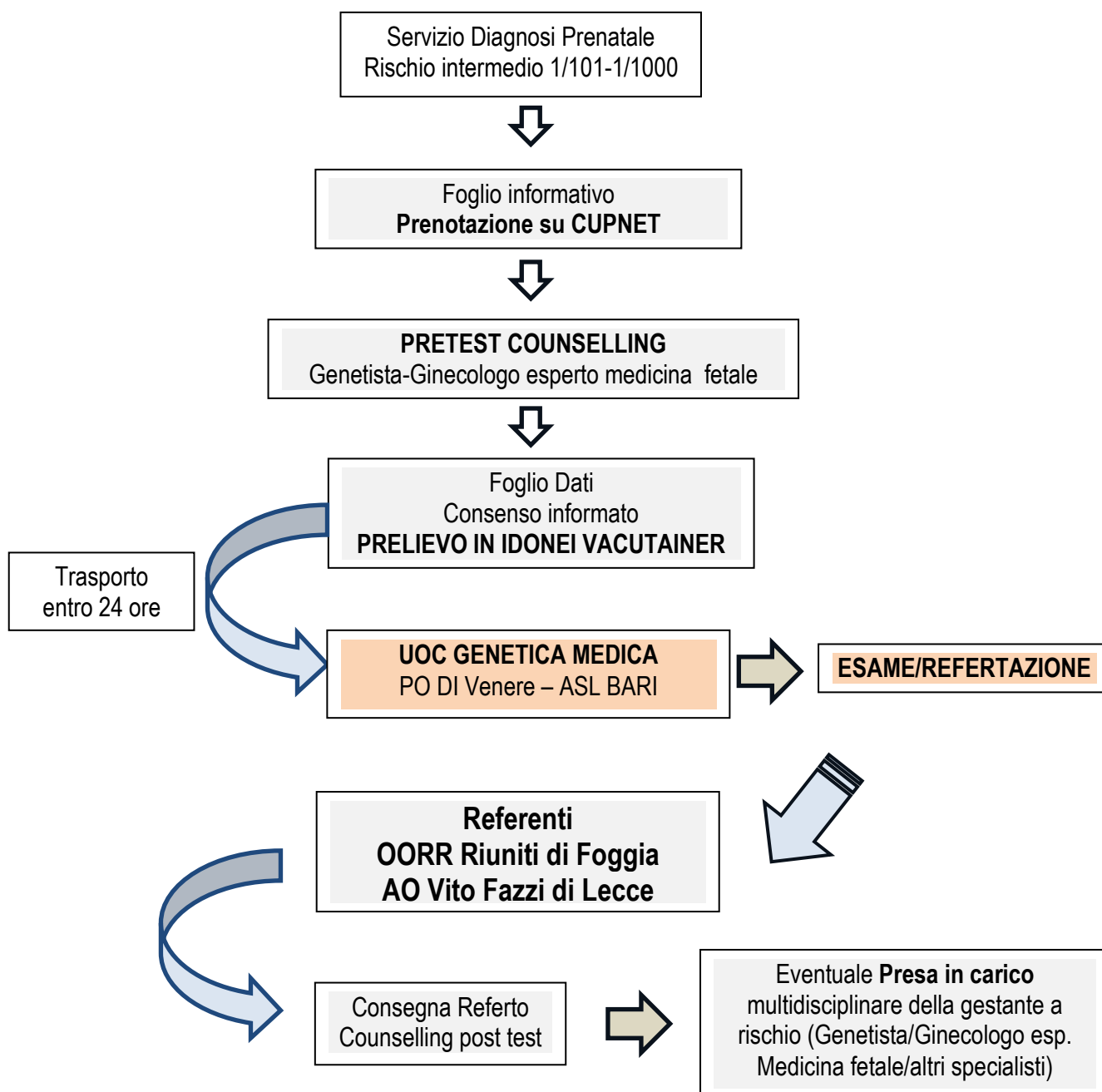
In caso di riscontro di anomalie il Centro **dovrà** garantire nelle forme opportune che il paziente/la coppia, ricevuto il counselling, possa effettuare **in sede** le eventuali procedure invasive (villocentesi o amniocentesi) indicate ed i relativi esami genetici. In ogni caso **il paziente deve essere gestito per tutto il percorso** ed è compito del referente del Centro assicurare che il paziente riceva, a seguito degli esami eseguiti, tutte le prestazioni opportune nel SSN, salvo diversa volontà del paziente stesso.



Deliberazione Regione Puglia n.1087 del 31/07/2023

PROTOCOLLO OPERATIVO ED ORGANIZZATIVO*

Diagramma di flusso



*= caselle di testo in grigio indicano tutte le fasi gestite nelle singole sedi; in arancio le uniche centralizzate.



Allegato 1

Scheda INFORMATIVA Test Prenatale Non Invasivo (NIPT)

Gentile Signora,

avrà sentito parlare della possibilità di conoscere, con una affidabilità molto elevata, attraverso un prelievo di sangue materno la probabilità che il feto possa avere una alterazione del numero dei cromosomi. Tale possibilità è legata al fatto che in gravidanza nel plasma del sangue materno, oltre al DNA materno, è presente una quota di DNA libero circolante di origine placentare (cffDNA).

Il test richiede il prelievo di 10-20 ml di sangue materno, **non prima della 10^a settimana di gestazione** (12^a nelle gravidanze gemellari), quando è presente una adeguata quantità di cffDNA, e comporta solo i piccoli rischi di un prelievo di sangue (ecchimosi nel punto di prelievo, rari casi di lipotimia)

Il test del cffDNA, comunemente chiamato Test Prenatale Non Invasivo (NIPT), è in particolar modo finalizzato alla valutazione del rischio delle principali aneuploidie cromosomiche (trisomia 21, 13, 18) ed è stato ampiamente validato da numerosi studi internazionali che hanno riportato valori di sensibilità e specificità molto elevati, rispetto ai tradizionali test di screening evidenziando una riduzione significativa nelle percentuali di falsi positivi^{1,2}. Nelle gravidanze gemellari il NIPT presenta delle limitazioni e dei valori di sensibilità inferiori, di cui si darà informazione specifica in sede di consulenza.

Essendo il NIPT un test di screening, è fortemente raccomandato dalle principali società scientifiche (SIGU, SIEOG, ACOG, SMFM, ACMG, ISPD) che:

- sia sempre preceduto ed eventualmente seguito da una **consulenza specialistica** nella quale siano chiaramente esposti i limiti ed i benefici dell'esame e i risultati del test siano interpretati nel contesto del quadro clinico complessivo della gravidanza
- che eventuali risultati positivi debbano essere **sempre** seguiti da conferma mediante diagnosi prenatale invasiva (villocentesi o amniocentesi): nessuna decisione in merito alla gravidanza dovrebbe essere presa sulla base esclusiva del risultato del NIPT

Il risultato del test è condizionato dalla quantità percentuale di DNA fetale presente nel plasma materno: l'esame ha un rischio globale di fallimento di circa 1-4%, a seconda delle casistiche, dovuto a basse percentuali di DNA fetale o ad altre cause.

Il test che viene eseguito presso la nostra struttura è un test conforme alle direttive CE-IVD, che si basa su tecnica di sequenziamento di seconda generazione (*Next Generation Sequencing - NGS*) mediante piattaforma *Illumina NextSeq™ 550Dx System (VeriSeq NIPT Solution v2)*. La metodica prevede il sequenziamento di frammenti di cffDNA presenti nel plasma materno, per generare milioni di sequenze dell'intero genoma, che vengono poi mappate su sequenza di riferimento del genoma umano.

La analisi consente di valutare **il rischio** che il feto sia affetto da:

- presenza di un cromosoma in più (**trisomia**) dei cromosomi 13 (sindrome di Patau), 18 (sindrome di Edwards) e 21 (sindrome di Down).
- aneuploidie dei cromosomi sessuali (XO, XXX, XXY e XYY) e sesso fetale.
- non corretto numero (aneuploidia) di tutti gli autosomi (*RAA: Rare Autosomal Aneuploidies*).



- sbilanciamenti genomici parziali (microdelezioni/microduplicazioni) di dimensioni pari ad almeno 7 Mb.

Per le RAA e gli sbilanciamenti genomici il test non è ancora validato dalle principali Società Scientifiche. Dati preliminari mostrano valori di sensibilità e specificità come riportato:

PERFORMANCE DEL TEST IN GRAVIDANZA SINGOLA PER TRISOMIE COMUNI
(VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert, 1000000078751 v05, Illumina, Inc)

	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13
Sensibilità	99,9%	>99%	>99%
Specificità	99,9%	>99%	>99%

Il test VeriSeq NIPT Solution v2, al pari di altri test NIPT similari:

- è un test di screening, per cui ha dei **limiti di precisione** in relazione alla anomalia studiata, come da sensibilità e specificità riportati in referto
- non è in grado di rilevare la possibile presenza di poliploidie, come la triploidia
- non è in grado di rilevare la possibile presenza di mosaicismi
- non è in grado di rilevare la possibile presenza di riarrangiamenti cromosomici bilanciati
- non è in grado di rilevare la possibile presenza di condizioni monogeniche e microdelezioni/microduplicazioni di dimensioni inferiori a 7 Mb
- non è valido per gravidanze gemellari con più di due feti
- per gli screening dell'intero genoma, determinate regioni sono escluse dall'analisi

Si sottolinea che **un risultato negativo non elimina la possibilità di una gravidanza che presenti altre anomalie cromosomiche, condizioni genetiche e/o difetti alla nascita** e che la possibile discordanza tra il risultato del NIPT ed il reale assetto genomico del feto può essere determinata da diverse cause biologiche (fattori materni e fetali), in genere non molto frequenti, quali, ad esempio: recente trasfusione di sangue materno, trapianto di organo materno, immunoterapia o terapia con cellule staminali materna, tumore maligno materno, mosaicismo materno, mosaicismo feto-placentare, morte fetale/gemello non vitale.

Riferimenti relativi al test VeriSeq NIPT

VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert (1000000078751 v05), Illumina, Inc.

Linee Guida

- SIGU. Conferma diagnostica dopo NIPT con risultato ad alto rischio, non informativo o sesso discordante, Ottobre 2020. https://www.sieog.it/wp-content/uploads/2020/12/2020_10_26_DOCUMENTO_NIPT_DEFINITIVO.pdf
- SIGU. Documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasive, 2016. https://sigu.net/wpcontent/uploads/2021/01/2016_07_01_DOCUMENTO_DI_INDIRIZZO_NIPT_versione_finale.pdf
- Ministero della Salute-Consiglio Superiore di Sanità-Sezione I. Linee-Guida Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (NIPT). 2015. https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?id=2381
- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 640. Obstet Gynecol 2015; 126:31–7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26287791/>

Bibliografia

1. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol. 2017 Apr 11. doi:10.1002/uog.17484.



Azienda Sanitaria Locale BARI

Dipartimento per la Gestione del Rischio
Riproduttivo e la Gravidanza a rischio



-
2. American College of Obstetricians and Gynecologists. Screening per le aneuploidie fetali. Practice Bulletin No.163
Obstet Gynecol. 2016; 127(5):e123-137



Allegato 2

TEST DNA FETALE
PROMEMORIA DI PRENOTAZIONE

Gentile Sig.ra _____

Il suo test DNA fetale (NIPT) è prenotato alle ore _____ del giorno _____

Quel giorno dovrà recarsi direttamente presso la **XXXX XXXXXXXXXXXX** e attendere il suo turno per sottoporsi a counselling e prelievo di sangue.

NON SERVE DIGIUNO

SE NON PUO' VENIRE CI AVVISI !!! Potrebbe dare possibilità ad un altro paziente.

Per qualsiasi ulteriore informazione o per **disdire** l'esame può chiamare la **XXXXX** Medica al **XXXXXXXX** dalle 11:00 alle 13:00 dal Lunedì al Venerdì o via mail (**XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX**)

NB: Potrà ritirare il suo referto 15 giorni dopo il prelievo:

RITIRO: _____

Sarà in ogni caso contattata laddove vi sia necessità di informarla tempestivamente del risultato.



Allegato 3

MODULO Accettazione Test Prenatale Non Invasivo (NIPT)

COD. Paz. _____ Operatore _____ Data _____

C.F. _____

COGNOME _____ NOME _____

Luogo di nascita _____ Data di nascita (GG/MM/AAAA) _____

Res. via _____ Città _____

Rec. Telefonico _____ Mail _____

BASE COMPLETO NON VUOLE CONOSCERE SESSO

Dati gestante al prelievo - **Peso** Kg _____ **Altezza** cm _____

Gravidanza singola gemellare (incluso vanishing twin) non noto

u.m. _____ Età Gestazionale (SS+G) _____

Metodo per epoca gestazionale Ecografia Data u.m. FIVET

Gravidanza FIVET? SI NO Se ovodonazione, età donatrice _____

Indicazioni all'esame

Rischio al test combinato (op. accreditato) Rischio stimato _____

Età materna Anomalia ecografica Prec. gravidanze con ab. cromosomiche

Altro _____

Data raccolta campione / / Ora :

Consenso informato Modulo Privacy Altro _____



Allegato 4

CONSENSO INFORMATO ALLA ESECUZIONE DEL NIPT

La sottoscritta Sig.ra _____ u.m. _____

nata a _____ il _____ Telefono _____

DICHIARA

di aver discusso con il Dr./Dr.ssa _____ circa le potenzialità e i limiti del test DNA fetale e ricevuto relativa scheda informativa, di aver avuto la possibilità di rivolgere tutte le domande ritenute opportune e aver ricevuto risposte esaurienti e comprensibili.

In particolare, dichiara di aver compreso che:

- Il NIPT NON è una diagnosi, ma determina una probabilità che il feto sia affetto
- è possibile che il cariotipo del feto/neonato NON corrisponda al risultato fornito dal test
- la analisi completa del cariotipo fetale richiede una diagnosi invasiva (villocentesi o amniocentesi)
- informazioni inesatte sulla gravidanza possono rendere meno affidabile il test
- il campione verrà conservato per il tempo necessario ad una eventuale verifica dei risultati. I risultati cartacei/informatici del test saranno conservati come per Legge ed accessibili solo a personale autorizzato
- nel 2% circa dei casi vi è fallimento del test per cause diverse (<1% dopo secondo prelievo)

Pertanto, sulla base delle informazioni ricevute, **la sottoscritta acconsente all'esecuzione del test DNA fetale presso la UOC di Genetica Medica della ASL BARI nella formula:**

- BASE: trisomie 13, 18 e 21- alterazioni dei cromosomi sessuali – sesso fetale
- COMPLETA: BASE + intero assetto cromosomico con sbilanciamenti genomici > 7 Mb

La sottoscritta dichiara che quanto sopra corrisponde a verità e si impegna a comunicare tempestivamente ogni eventuale cambiamento di opinione in merito.

La sottoscritta dichiara inoltre di:

- Volere NON volere che il materiale biologico residuo possa essere eventualmente utilizzato in forma anonima per validazioni di laboratorio, studi o altri scopi di ricerca
- Autorizzare NON Autorizzare ad essere contattata per eventuali studi clinici/di follow up

Luogo e Data _____ Firma _____

Il Dirigente Medico/Biologo che ha rilevato il consenso
(Timbro e Firma)



Informativa e consenso al trattamento dei dati personali

Il trattamento dei dati personali effettuato dalla UOC di Genetica Medica della ASL Bari è conforme alle disposizioni contenute nel D. Lgs. 30 giugno 2003, n. 196 - **Codice in materia di protezione dei dati personali**, nel Provvedimento dell'Autorità Garante del 24 giugno 2011 - **Autorizzazione generale al trattamento dei dati genetici** - e nel **Regolamento generale (normativa europea) per la protezione dei dati personali n. 2016/679 (General Data Protection Regulation o GDPR)** in vigore dal 25 Maggio 2018.

Il trattamento dei dati idonei a rivelare lo stato di salute per finalità di tutela della salute dell'interessato è possibile solo previa acquisizione del consenso dell'interessato stesso (art. 76 c. 1 e 82 del D.Lgs n. 196.). La mancata prestazione del consenso rende impossibile l'erogazione delle prestazioni e degli accertamenti richiesti. La UOC di Genetica Medica della ASL Bari ha adottato adeguate misure di protezione per garantire l'uso corretto e sicuro dei dati, anche nel caso di trattamento effettuato con strumenti informatici. In qualunque momento, l'interessato può accedere ai dati che lo riguardano, verificando le modalità di acquisizione e se siano esatti, completi, aggiornati e ben custoditi, e può opporsi al trattamento per motivi legittimi.

Titolare del trattamento è l'Azienda Sanitaria Locale - ASL BARI. Responsabile del trattamento è il Direttore della UOC di Genetica Medica della ASL Bari, Dott. Mattia Gentile. L'interessato, ricevuta idonea informativa, esprime il proprio consenso al trattamento dei dati personali che lo riguardano.

Cognome e Nome (in stampatello) _____

Data _____ Firma dell'interessato _____

Firma di chi rileva il consenso _____