



Società Italiana di Genetica Umana
Italian Society of Human Genetic

Considerazioni sull'uso del Carrier Screening (CS) ed Expanded Carrier Screening (ECS) in ambito riproduttivo

Redatto da: Tavolo di lavoro costituito da membri rappresentativi dei seguenti gruppi di lavoro SIGU: Citogenetica e Citogenomica, Genetica Clinica, Genetica Molecolare, Genetica Forense, Farmacogenomica, Epigenetica e Sanità

Coordinatore: Francesca Romana Grati

Estensori: *Pietro Cavalli¹, Antonio Capalbo², Valeria Novelli³, Daniela Zuccarello⁴, Fortunato Lonardo⁵, Emiliano Giardina⁶, Olga Calabrese⁷, Domenico Bizzoco⁸, Sebastiano Bianca⁹, Giacchino Scarano⁵, Francesca Romana Grati¹⁰*

(hanno anche collaborato: Monica Miozzo, Domenico Dell'Edera, Alessandra Renieri)

1. Humanitas Research Hospital, Rozzano, Milano
2. Igenomix Italia, via Fermi 1, 30063 Marostica, (VI)
3. Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, IRCCS; Istituto di Medicina Genomica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
4. Department of Lab Medicine, Unit of Clinical Genetics and Epidemiology University Hospital of Padova
5. UOSD di Genetica Medica AORN. "San Pio" - P.O. "G. Rummo", Benevento
6. Laboratorio di Medicina Genomica – UILDMD Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Fondazione Santa Lucia-IRCCS, Roma
7. UOSD Genetica Medica, Dip. Materno-Infantile, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Modena
8. UOSD Genetica Medica, Ospedale San Giovanni Calibita-Fatebenefratelli, Roma
9. Genetica Medica, ARNAS Garibaldi, Catania
10. TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A., Impact Lab Group, Busto Arsizio (Varese)

Revisionato da: Sabrina Giglio, Silvia Russo, Roberta Russo, Giorgia Giroto



Indice

Introduzione	3
Scopo del documento	3
Definizione di Carrier Screening (CS) e Carrier Screening Esteso (ECS)	
Obiettivi dello screening del portatore	
Destinatari, tempistiche e modalità di esecuzione del test	
Tipologie di analisi impiegate: WES, Target sequencing	
Limiti dell'NGS ed utilizzo di test molecolari ancillari	
CS/ECS per quali/quante condizioni	
Refertazione	
Gestione dei secondary/incidental findings	
Stato attuale e raccomandazioni disponibili	
Costo-efficacia	
Considerazioni etiche	
Modello dell'informativa e del consenso all'analisi	
Capsule summary	
Bibliografia	
Allegati	
Allegato 1: informativa CS/ECS approvata SIGU	
Allegato 2: modello di consenso informato	
Allegato 3: modello di referto singolo negativo	
Allegato 4: modello di referto singolo positivo	



Introduzione

Questo documento della Società Italiana di Genetica Umana nasce dall'esigenza di disporre di raccomandazioni in relazione alla possibile implementazione di uno screening esteso del portatore (ECS, *expanded carrier screening*) in Italia. Nello specifico e per dare un'idea della dimensione della problematica, limitatamente alle condizioni autosomico recessive, EURORDIS stima che il 6-8% della popolazione europea sia colpita da una malattia rara (EURORDIS Rare Diseases Europe 2018) e, in particolare, che le condizioni recessive costituiscano una parte significativa di questa percentuale.¹ I disordini recessivi rendono conto di circa il 20% della mortalità infantile e fino a circa il 10% dei ricoveri pediatrici.^{1,2} Dati recenti stimano in oltre 1300 le malattie genetiche recessive,³ sia autosomiche che X-Linked, e in 30 affetti ogni 10000 nati. Il rischio di concepire un figlio con una malattia genetica recessiva è all'incirca pari all'1-2% per ogni coppia appartenente alla popolazione normale.³

Il termine "screening" si riferisce tradizionalmente all'impiego di un test (strumentale o di laboratorio) su di una popolazione normale allo scopo d'identificare individui presintomatici. Tali soggetti dovranno poi essere sottoposti a test diagnostici per la conferma dei risultati del test di screening.

Diversamente, lo "screening del portatore" ha lo scopo di determinare un possibile stato di portatore (eterozigote) di una specifica variante genetica in individui asintomatici e quindi di individuare quelli in grado di trasmettere tali varianti alla prole al fine di facilitare le scelte riproduttive. In genere, questo tipo di test genetico (screening) non richiede una conferma molecolare sul soggetto analizzato.

È importante sottolineare che il termine "screening" utilizzato in questo documento relativo allo "screening del portatore" o "carrier screening" (CS) e allo "screening esteso del portatore" o "expanded carrier screening" (ECS) presenta una valenza ed un significato differenti rispetto a quelli definiti dalla World Health Organization (WHO)⁴ ed universalmente intesi con il termine "screening".

Scopo del documento

Lo scopo di questo documento è di fare il punto della situazione e fornire ai genetisti clinici, genetisti di laboratorio e alle figure sanitarie nell'ambito della riproduzione umana, informazioni aggiornate e linee di indirizzo riguardo l'utilizzo del CS e dell'ECS. Il documento identifica e sviluppa gli argomenti rilevanti da considerare e trattare nell'ambito del CS ed ECS al fine di comprendere la complessità di questo test e le sue implicazioni cliniche. Il documento ha anche lo scopo di fornire dei modelli di informative, consensi informati e referti approvati da SIGU per supportare un utilizzo coerente e clinicamente utile di questo test.



1. Definizione di Carrier Screening (CS) e Carrier Screening Esteso (ECS)

Con il termine “screening del portatore” o “carrier screening” (CS) si indica un test genetico volto all’identificazione di soggetti portatori di patologie recessive. Questo tipo di test è rivolto sia ad individui singoli, sia a coppie in età riproduttiva, con storia familiare negativa per malattie genetiche.

L’individuazione di un rischio genetico specifico dovrebbe invece essere seguita da un inquadramento specifico nell’ambito di una consulenza genetica.

Tale approccio di screening è volto ad individuare portatori di patologie genetiche che presentano una frequenza elevata nella popolazione generale o in specifiche sottopopolazioni con rischio elevato (es. popolazioni in zone malariche con elevata frequenza di emoglobinopatie/talassemie, popolazioni note per elevata frequenza di specifiche condizioni genetiche). In quest’ultimo caso esso il CS viene anche definito “*ancestry-based*”.

Per “**screening esteso del portatore**” o “**expanded carrier screening**” (ECS) si intende un test genetico più esteso che ha lo scopo d’identificare i portatori di decine, talora centinaia, di condizioni genetiche recessive sia autosomiche che X-linked. Tale approccio di screening viene definito “pan-etnico” o universale, in quanto non basato esclusivamente sull’appartenenza ad una popolazione ad aumentato rischio per una o più specifiche condizioni genetiche. Va tuttavia sottolineato che al momento della redazione di questo documento non esiste alcuna raccomandazione da parte di Società scientifiche per l’impiego universale dell’ECS per tutte le coppie.^{5,6}

2. Obiettivi dello screening del portatore

L’obiettivo principale dello screening del portatore universale dovrebbe essere quello di facilitare la scelta riproduttiva.^{2,3}

Pertanto, l’efficacia dei programmi CS/ECS dovrebbe essere misurata valutando quanto questi riescano ad ottimizzare la scelta informata e il processo decisionale riproduttivo da parte della coppia piuttosto che dimostrando la possibile riduzione del numero di nascite di bambini affetti.^{1,3}

3. Destinatari del test, tempistiche e modalità di esecuzione del test

I destinatari del test sono tutte le coppie in età riproduttiva intenzionate ad intraprendere un percorso procreativo, naturale o tramite fecondazione medicalmente assistita (PMA).

Un possibile utile impiego del CS/ECS è rivolto alle coppie consanguinee, data la maggiore probabilità di trasmissione di condizioni recessive. Inoltre, nello specifico ambito della PMA, il CS/ECS riveste un ruolo



importante per i percorsi di donazione di gameti (fecondazione eterologa), dal momento che un singolo donatore può dare origine ad un maggior numero di concepimenti rispetto al percorso omologo.

Infatti, l'aumento del tasso procreativo del donatore, in particolare per i donatori di gameti maschili, si associa probabilisticamente ad un maggior rischio fetale per condizioni recessive, necessitando quindi di particolare attenzione. Mentre per le donatrici di gameti femminili andrebbe posta maggiore attenzione alle malattie XL-recessive, possibilmente arricchendo il pannello di CS/ECS per tali condizioni.

Per quanto riguarda le tempistiche, si ritiene di privilegiare il momento preconcezionale perché consente l'individuazione di un rischio riproduttivo prima di una eventuale gravidanza ed, quindi, una possibile scelta tra differenti opzioni riproduttive, oppure la programmazione di un adeguato percorso di diagnosi prenatale/test genetico preimpianto.³ Pertanto, il test dovrebbe essere disponibile per una coppia che sta programmando una gravidanza (considerando la natura autonoma e volontaria della partecipazione allo screening). È comunque possibile effettuare un CS/ECS nelle primissime settimane gestazionali (non oltre la 12^a) ed in ogni caso con tempi compatibili con una possibile procedura diagnostica invasiva prenatale. Pur possibile, non dovrebbe quindi essere incoraggiato l'ECS nel periodo prenatale, dati i tempi necessari per la valutazione clinica dei risultati e l'organizzazione di un eventuale percorso di diagnostica prenatale. Ovviamente, in questi casi l'unica via percorribile è il test di CS/ECS contestuale, al fine di contenere al massimo i tempi di refertazione.

Le modalità di esecuzione di CS ed ECS prevedono infatti due tipi di approccio: contestuale (ambedue i partner eseguono contemporaneamente il test) oppure sequenziale (estensione del test al secondo partner, generalmente l'uomo, in caso di positività del primo). Pertanto, in caso di test di screening richiesto ed effettuato dopo l'inizio della gravidanza, l'approccio contestuale sembra essere quello in grado di garantire tempistiche più ridotte e informazioni più complete.

4. Tipologie di analisi impiegate: WES, Target sequencing

Per analizzare le varianti genetiche di rilevanza per un CS/ECS si utilizza una combinazione di varie tecnologie e metodologie analitiche, in modo da identificare la maggior parte delle varianti genetiche clinicamente significative. Tale analisi può essere effettuata tramite l'utilizzo di un pannello di geni scelti "ad hoc", oppure analizzando l'intero esoma (WES - Whole Exome Sequencing) e filtrando poi per i geni di interesse.

I pannelli genici generalmente offrono una migliore copertura e riproducibilità analitica rispetto all'analisi, per gli stessi geni, effettuata mediante WES.

Nella scelta tra pannello e WES, è opportuno verificare che venga rispettata una sensibilità analitica non inferiore al 85% in caso di test su singolo soggetto e al 70% in caso di test di coppia, per ogni gene/condizione inclusa nell'analisi di CS/ECS, per cui il rischio residuo, in caso di test negativo in entrambi i partner, sia ridotto in maniera efficace.⁷

Si raccomanda che i laboratori che utilizzano tecnologia next-generation sequencing (NGS) eseguano una validazione preclinica per verificare che il sistema garantisca elevati livelli di accuratezza nella chiamata delle varianti. In linea generale, i parametri qualitativi di riferimento sono: almeno 30X di copertura per la variante considerata, eterozigosità >35% e *base call quality score* ≥20.⁸⁻¹¹



Le varianti puntiformi identificate con protocolli di sequenziamento precedentemente validati e con *performance* analitiche note, che raggiungono sufficienti parametri di QC (Quality Control), non richiedono in linea generale una conferma con diversa metodologia di laboratorio.⁸⁻¹³

5. Limiti dell'NGS ed utilizzo di test molecolari ancillari

Nonostante per eseguire un CS/ECS si cerchi, per motivi economici, di effettuare l'analisi di tutti i geni con metodo NGS, spesso è necessario complementare il test con altre metodologie per rilevare varianti patogenetiche in regioni genomiche complesse da sequenziare a causa delle caratteristiche della sequenza (regioni a ridotta *mappability*) o per la presenza di pseudogeni.

Studi recenti suggeriscono che le variazioni del numero delle copie (CNVs), rappresentano una porzione minoritaria ma non marginale delle possibili varianti rilevate per uno specifico gene. Ove possibile, dunque, è consigliato eseguire l'analisi delle CNVs, per aumentare la resa diagnostica del test per alcuni geni, quali ad esempio il gene *DMD*.^{14,15} A tal proposito, tecniche quali multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), quantitative (q)PCR e real-time (rt)PCR, sono frequentemente utilizzate per rilevare CNV patogenetiche di geni con elevata frequenza di portatori sani nella popolazione, altresì non rilevabili con protocolli convenzionali di NGS. Un CS/ECS con validità clinica non può prescindere dall'analisi di queste specifiche condizioni (es. *FRAXA* e *SMA*) che vengono indagate con metodiche diverse dal NGS.

Infine, approcci basati su SNP array, utilizzati per CS/ECS, vengono ad oggi considerati obsoleti e inappropriati a causa della scarsa accuratezza analitica e ridotta validità clinica (basso *coverage* di varianti per gene) ed elevato tasso di falsi positivi.¹⁶

6. Quali/quante condizioni?

Attualmente l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) raccomanda lo screening genetico pan-etnico solamente per la fibrosi cistica (CF), mentre l'American College of Medical Genetics (ACMG) raccomanda, in aggiunta a questo, anche lo screening per l'atrofia muscolare spinale (SMA).

Inoltre, entrambe le organizzazioni raccomandano di utilizzare, per la costruzione di un pannello CS/ECS, criteri chiari e condivisi, piuttosto che l'aumento indiscriminato, puramente numerico, delle condizioni analizzate.

In particolare, il laboratorio che offre un pannello CS/ECS deve considerare con attenzione non solo i geni da includere, ma anche quelli che vengono esclusi, ed inoltre tenere conto dell'origine etnica della popolazione e del singolo individuo a cui il pannello viene offerto.

Recentemente, il criterio relativo all'inclusione in un pannello CS/ECS, specifico solo per patologie autosomiche recessive che abbiano una frequenza del portatore maggiore/uguale a 1/100,⁵ seppure da molti condiviso, è stato messo in discussione. Infatti, il criterio di inclusione delle patologie nel CS/ECS basato unicamente sulla frequenza attesa del portatore non appare adeguato, sia perché non è sempre possibile definire con precisione l'origine etnica della popolazione in esame,¹⁷ sia per l'assenza di un adeguato supporto bibliografico.



Per tale motivo, è opportuno che la selezione dei geni-malattia inclusi in un CS/ECS tenga conto di tutti i seguenti criteri:

1. la patologia deve essere associata ad un fenotipo ben definito (ben documentata correlazione genotipo-fenotipo)
2. la patologia deve determinare un effetto sfavorevole sulla qualità/durata di vita
3. la patologia deve essere causativa di deficit a livello cognitivo e/o fisico
4. la patologia deve richiedere un intervento medico e/o chirurgico
5. la patologia deve presentare un esordio precoce (ovvero, patologie ad esordio tardivo non dovrebbero essere incluse nei pannelli)
6. deve essere disponibile un adeguato percorso di diagnosi prenatale/test genetico preimpianto.

A fronte di proposte e offerte dirette al consumatore di pannelli dedicati all'indagine di numerosissime patologie, giova ricordare che il criterio di scelta di un pannello non deve tener conto tanto del numero delle condizioni analizzate, quanto della sua validità analitica (sensibilità, specificità, e PPV), validità clinica (accuratezza nell'individuare l'assenza o la presenza di una condizione) e della sua utilità clinica (probabilità di un *outcome* clinico favorevole dopo l'esecuzione del test), che costituiscono elementi fondamentali nella prospettiva di prevenzione e scelta riproduttiva consapevole.¹⁸

Riassumendo, al di là del numero e della tipologia delle condizioni analizzate, è dunque indispensabile che lo sviluppo e l'impiego di un pannello CS/ECS avvengano solamente dopo un'attenta valutazione di:

- validità clinica
- possibilità di intervento sulle conseguenze cliniche (*actionability*)
- rilevanza clinica delle condizioni indagate
- conoscenza delle patologie analizzate
- gravità del fenotipo
- età di insorgenza della patologia
- disponibilità di diagnosi prenatale/test genetico preimpianto
- frequenza dei portatori nella popolazione di riferimento.

7. Refertazione dei risultati di un CS/ECS

In accordo con il documento congiunto dell'ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics), PQF (Perinatal Quality Foundation), ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists), SMFM (Society for Maternal-Fetal Medicine) e della NSGC (National Society of Genetic Counselors),⁵ il laboratorio che esegue l'analisi deve riportare nel referto solo geni e varianti che abbiano una chiara patogenicità, e fornire informazioni sul quadro clinico associato. Nel referto, infatti, devono essere riportate solo le varianti di classe 4 e 5 mentre quelle d'incerto significato (classe 3) non devono essere segnalate.

Inoltre, conoscendo la sensibilità analitica del test e la frequenza delle varianti, deve essere comunicato il rischio residuo (RR), che rappresenta la possibilità che l'individuo sia comunque portatore anche in seguito ad un test genetico negativo.

Il rischio residuo è calcolabile come prodotto della frequenza del portatore nella popolazione in esame x (1-detection rate per quella popolazione).



Il rischio residuo è correlabile a molteplici fattori e pertanto può non essere sempre preciso, soprattutto per condizioni più rare: regioni genomiche non completamente caratterizzate, gruppi etnici con frequenze alleliche specifiche, origine etnica dichiarata imprecisa o variegata, limiti della tecnologia utilizzata per l'analisi, tipologia di analisi impiegata, differente/complessa interpretazione delle varianti, sensibilità del test eseguito. Va sottolineato che, seppur nei limiti espressi sopra, è opportuno riportare una stima del valore del rischio residuo nel referto, specificando se siano stati analizzati entrambi i partner o meno e la frequenza di portatori sani per ogni singolo gene analizzato nella popolazione a cui appartiene il soggetto.

A titolo esemplificativo, si prega di prendere visione del modello di referto allegato al presente documento.

Infine, com'è noto, l'interpretazione delle varianti costituisce un processo in continua evoluzione e quindi è possibile una loro rivalutazione per una possibile riclassificazione.

8. Stato attuale del CS/ECS in Italia: raccomandazioni disponibili e criticità

La maggior parte dell'offerta di CS/ECS avviene oggi su base commerciale ed è spesso proposta direttamente al consumatore senza la consulenza genetica da parte di personale sanitario adeguatamente formato. Tale situazione, se da un lato rafforza l'autonomia personale e quindi la possibilità di scelta da parte dell'individuo, dall'altro espone il soggetto che si sottopone al test al rischio di ricevere informazioni incomplete, sia sulle caratteristiche analitiche che sui limiti dell'analisi, oltre a sollevare numerosi interrogativi sulla gestione e follow-up del soggetto o coppia che risulta positiva all'indagine.

La consulenza genetica è invece parte integrante dell'offerta diagnostica, e deve informare adeguatamente la coppia in epoca preconcezionale dell'esistenza di test di screening del portatore. A prescindere dal metodo di screening utilizzato, pannello genico/WES, il test di screening del portatore non può prescindere da una consulenza genetica pre-test. Inoltre, il ruolo del genetista clinico prevede anche la presa in carico della coppia, a seguito del risultato del test (consulenza post-test). Nel caso di un risultato positivo del CS/ECS in uno o entrambi i membri della coppia la consulenza post-test è fondamentale per valutare, caso per caso, la necessità e l'opportunità di eseguire test di conferma e/o di approfondimento.

Il passaggio da CS a ECS, e quindi la possibilità di allargare lo screening del portatore a molteplici condizioni ereditarie ben caratterizzate, è supportata da diverse Società scientifiche in diversi documenti³. Il problema principale riguardante il CS/ECS è legato alla sua iniziale applicazione in un contesto privo di raccomandazioni/suggerimenti/condivisioni. Esiste, infatti, una grande eterogeneità di pannelli disponibili sul mercato che permettono di analizzare numerose e differenti patologie non esclusivamente recessive. Nel 2018, Chokoshvili et al. riportano i dati di 16 laboratori che offrono ECS,²¹ la maggior parte dei quali in USA, per la maggioranza forniti da aziende private (13/16, pari al 81%). I risultati di questa indagine mostrano che il numero delle condizioni indagate varia da 41 a 1792. Tuttavia, solamente tre condizioni sono comuni a tutti i pannelli offerti (Fibrosi cistica; m. di Niemann-Pick; malattia delle urine a scioppo d'acero) e si evidenziano inoltre notevoli differenze sia nell'interpretazione delle varianti individuate che nella metodologia di laboratorio utilizzata.



In un altro articolo recente il 73% delle condizioni analizzate per ECS non erano in linea con le raccomandazioni dell'ACOG.²² A tale proposito, infatti, l'ACOG si è espressa raccomandando di limitare lo screening esteso a condizioni ereditarie che presentano una frequenza del portatore superiore a 1/100, pari ad una frequenza di malattia di 1/40.000.⁶ Questa raccomandazione non trova una condivisione da parte di tutti. Per esempio, in Israele viene considerata meritevole di attenzione una patologia genetica che presenta una frequenza di 1/15.000 alla nascita.²³

Attualmente, le raccomandazioni dell'ACOG sembrano essere le sole a rappresentare una barriera contro le strategie aggressive di marketing che regolano il mercato dei test genetici in questo settore.²⁴ Tuttavia, in tali raccomandazioni mancano molti elementi specifici, quali i *cut-off* di frequenza delle portatrici di condizioni X-Linked recessive. A tal proposito, si suggerisce di utilizzare per queste condizioni un tasso di portatrici superiore a 1/10000 donne, assimilandolo al rischio fetale delle condizioni autosomiche recessive, pari a 1/40000.

Studi recenti hanno però evidenziato che il *cut-off* di 1/100 può essere considerevolmente limitante per la resa diagnostica di un pannello di CS/ECS. Quindi, una ragionevole flessibilità è auspicabile nell'interpretazione delle raccomandazioni correnti.^{17,25-27} In generale, si considera ragionevole includere condizioni che soddisfino tutti i requisiti già riportati per la composizione del pannello CS/ECS, anche considerando una frequenza del portatore inferiore a quanto suggerito, se questo non aggiunge costi significativi al percorso e quindi non ne limiti l'accessibilità. Al contrario, accade anche che condizioni, presenti nella popolazione con elevata frequenza, non vengano incluse nel pannello CS/ECS perché la metodologia di analisi è diversa da quella utilizzata per i restanti geni analizzati e quindi comporta un aumento significativo del costo totale del test. E' evidente che tali situazioni riducono di molto l'utilità clinica del test.

Va quindi raccomandato che il costo del CS/ECS non debba essere il parametro essenziale nella decisione di includere o meno un gene nel pannello, e che l'utilità clinica debba essere uno degli obiettivi principali del test, assieme alla accessibilità da parte della popolazione.

D'altra parte, va rammentato che un pannello di ECS dovrebbe tenere in considerazione il fatto che, delle 1300 condizioni recessive, autosomiche e X-Linked attualmente identificate, non sono più di un centinaio quelle che hanno una prevalenza superiore o uguale a 1/100.000, pari ad una frequenza del portatore di 1/158.²⁸

E' necessario infine ribadire che, più della numerosità delle condizioni inserite in un pannello di screening, è fondamentale che ne siano valutate a priori la validità analitica e clinica, l'utilità clinica, le implicazioni legali, etiche e sociali. Attualmente sembra invece che queste raccomandazioni non siano prese in grande considerazione. Sarebbe invece opportuno utilizzare programmi/pannelli di CS/ECS che possano fornire al medico ed alla coppia le informazioni tecniche previste nell'approccio CCE Framework²⁹ (ACCE Framework; [cdc.gov › genomics › gtesting › acce](https://cdc.gov/genomics/gtesting/acce)).

9. Valutazione Costo-efficacia

L'analisi costo-efficacia valuta il costo e i benefici clinici di interventi medici. Condensa ogni confronto tra gli interventi in un unico numero (rapporto costo-efficacia incrementale ICER) che sintetizza il costo (ad es.



dollari) per unità di risultato delle prestazioni sanitarie (ad es. anni di vita guadagnati). Questo quadro consente confronti fra interventi che massimizzano la salute dei pazienti e allo stesso tempo allocano in modo ottimale le risorse sanitarie limitate della società.

In letteratura solo due lavori hanno esaminato l'analisi costo-efficacia dei pannelli CS/ECS.

Il primo lavoro ha valutato il rapporto costo-efficacia attraverso la creazione di un modello di albero decisionale,³⁰ confrontando lo screening sequenziale NGS del portatore per 14 condizioni raccomandate da linee guida internazionali *versus* nessuno screening. Nell'albero decisionale sono utilizzati come parametri la prevalenza del portatore per ciascuna patologia, l'etnia del soggetto, la sensibilità dello screening, i processi sanitari, i comportamenti dei pazienti, costi e servizi sanitari. Lo studio, utilizzando il livello di soglia di costo-efficacia di \$ 50.000 per anno di vita utilizzato negli USA, considera efficace il CS/ECS con un costo di circa \$ 30.000 per anno di vita.

Il secondo lavoro di Beauchamp K.A et al. analizza l'impatto clinico e il rapporto costo-efficacia di un pannello ECS di 176 condizioni utilizzando un modello di albero decisionale che confronta lo screening minimo (screening 23 mutazioni SMA) e l'ECS.³¹ La proporzione di portatori e l'incidenza delle patologie è stata ricavata dall'osservazione di > 40.000 soggetti volontariamente sottoposti a ECS ed analizzati da Myriad, mentre i dati sui costi e sulla perdita di anni di vita sono stati aggregati dalla letteratura e da un database US dei costi di cura. La robustezza del modello è stata valutata utilizzando analisi di sensibilità unidirezionali e probabilistiche. Lo studio stima che una gravidanza su 300 avrà come esito un feto affetto da una delle condizioni cliniche analizzate. Il trattamento delle condizioni è stimato costare in media \$ 1.100.000 *lifetime* con un costo di circa \$ 3.900 per nascita (comprendendo sia nascite sane che affette). Lo studio, utilizzando il comune parametro di soglia di costo-efficacia di riferimento di \$ 50.000 per anno di vita, osserva che l'ECS risulta conveniente, qualora il costo del pannello sia inferiore a \$ 500 o se si considerano i risparmi sui costi non sostenuti per gli affetti.

Per una contestualizzazione italiana degli studi costo-efficacia del CS/ECS è necessario ricordare che la modellizzazione richiede la ricerca di numerosi dati, alcuni molto difficili o forse impossibili da ricavare in maniera univoca: la scelta di un pannello (e conseguentemente quali e quante patologie verranno "intercettate") con relativi dati di sensibilità e costi; le scelte "riproduttive" (DP, IVG, IVF, PGT-M) e i costi relativi per le coppie "ad alto rischio" probabilmente diverse da quelle riferite nei modelli US (i cui riferimenti sono peraltro criticabili); infine, qualora considerato nella modellizzazione, il risparmio per le nascite affette evitate, i dati circa l'aspettativa di vita della popolazione generale e dei soggetti affetti dalle diverse patologie ed i costi sanitari per anno di vita, sostenuti dalla sanità pubblica.

In conclusione, nonostante gli studi pubblicati su questo argomento siano esigui, soprattutto per l'enorme difficoltà di modellizzazione e per il reperimento degli indicatori che variano da Paese a Paese, sembrano concordi nel ritenere che l'esecuzione di CS/ECS in contesto di sanità pubblica costituisce un notevole risparmio sia in termini economici che di sofferenza individuale e familiare.

Si auspica che le considerazioni contenute nel presente documento vengano analizzate dalla Sanità Pubblica, al fine di rendere disponibile il CS/ECS, almeno per le patologie più frequenti e su cui c'è accordo scientifico, alla popolazione generale mediante il Sistema Sanitario Nazionale (SSN).



10. Considerazioni etiche

I programmi di CS/ECS, sia che vengano sviluppati ed eseguiti in forma privatistica o tramite il SSN, devono tener conto di una serie di considerazioni etiche che originano dalle peculiari caratteristiche di questo test e della popolazione cui sono destinati.

Esistono una serie di parametri a cui un programma di CS/ECS deve far riferimento per essere eticamente accettabile dalla Società, e sono:

1. Il programma di screening dovrebbe rispondere a un bisogno ben riconosciuto
2. Lo scopo dello screening dovrebbe essere definito dall'inizio
3. La popolazione target dovrebbe essere ben definita
4. Dovrebbe essere disponibile una chiara evidenza scientifica della efficacia del programma di screening
5. Il programma dovrebbe integrare informazione, analisi, servizi clinici connessi e gestione del soggetto destinatario
6. La qualità del programma dovrebbe essere garantita da organismi di controllo del settore con meccanismi per minimizzare i potenziali rischi dello screening
7. Il programma dovrebbe assicurare una scelta informata, confidenzialità e rispetto dell'autonomia
8. Il programma dovrebbe promuovere equità e accesso allo screening per l'intera popolazione target
9. Una valutazione periodica del programma dovrebbe essere pianificata fin dall'inizio
10. I benefici potenziali dello screening dovrebbero superare gli eventuali svantaggi.

In particolare, l'utilizzo del CS/ECS in ambito preconcezionale pone questioni etiche rilevanti, che possono essere sintetizzate in tre concetti chiave che sono: giustizia, autonomia, valutazione delle conseguenze.

Giustizia

Uno dei dibattiti correlati al concetto di giustizia è la prioritizzazione.

Come e a chi dovrebbero essere indirizzate le risorse economiche della Società nell'ambito dell'assistenza sanitaria preconcezionale? E nei confronti delle altre risorse del sistema sanitario? In tempi di limitate risorse economiche, soprattutto nel campo sanitario, risorse destinate ad altri settori potrebbero essere reindirizzate verso la medicina preconcezionale/prenatale, a scapito di altri settori ritenuti meno strategici e meno impattanti sul SSN. Inoltre, nel caso dell'esecuzione del CS/ECS solo in specifiche categorie di persone (per esempio, solo coppie che affrontano un percorso di fecondazione assistita, o solo donatori di gameti), con l'esclusione della popolazione generale in età fertile, si verrebbe a creare uno stato di ingiustizia e iniquità sociale difficilmente giustificabile.

Un altro tema che riguarda la giustizia è quello relativo ai fenomeni di stigmatizzazione e discriminazione sociale. È possibile che un soggetto portatore di un carattere genetico recessivo possa essere soggetto a stigmatizzazione sociale o peggio, in caso di falle nella privacy dei dati genetici, a fenomeni di discriminazione lavorativa, assicurativa o economica. Questo assume particolare rilevanza in caso di malattie genetiche a espressività variabile e penetranza incompleta, o in cui i portatori possono essere lievemente sintomatici.

Autonomia



Fino agli anni '80, scopo primario dello screening riproduttivo era da molti operatori sanitari considerato in termini di prevenzione, ovvero la capacità dello stesso di ridurre la prevalenza di nati con patologie gravi. Non sorprende che questa enfasi sulla prevenzione abbia sollevato ben presto serie preoccupazioni etiche, determinando lo spostamento dell'obiettivo primario dello screening prenatale dal concetto di prevenzione al cosiddetto paradigma dell'autonomia. Esso implica che lo screening debba consentire alle singole donne (e ai loro partner) di fare scelte riproduttive autonome ed informate.²

Il concetto di autonomia decisionale e di autodeterminazione è fortemente legato ai fenomeni di medicalizzazione e routinizzazione, ovvero quando una pratica fisiologica come la riproduzione deve subire l'intervento della medicina e tale pratica viene vissuta come una normale routine. Infatti, è stato dimostrato che quando in medicina una determinata pratica è considerata come lo standard di trattamento, sembra che questo modifichi la percezione delle persone riguardo a quella specifica pratica. Questa percezione potrebbe alterare la scelta autonoma delle persone che decidono di sottoporsi a questo tipo di screening e conseguentemente alterare le loro scelte riproduttive.

Inoltre, la natura del CS/ECS aggiunge ulteriore complessità, soprattutto in caso di utilizzo di pannelli genici estesi, con specifiche problematiche legate alla scelta informata e all'autonomia del soggetto che vi si sottopone. Infatti, con l'avvento di pannelli sempre più estesi, la stima del rischio diventerà sempre più difficile per le coppie e per i professionisti della salute che eseguiranno la consulenza relativa al test. Tale difficoltà è aumentata in caso di malattie con ridotta penetranza o espressività variabile. Per tale motivo sarà necessario un'attenzione particolare, ed una riflessione, in merito alle procedure di inclusione di determinati geni nei pannelli ed in merito al percorso che la coppia deve seguire.

Valutazione delle conseguenze

L'utilizzo del CS/ECS in programmi di salute preconcezionale causa un incremento della medicalizzazione della vita sociale. Ciò comporta un cambiamento della percezione di come le persone concepiscono la pianificazione della gravidanza e la genitorialità.

Questo aumentato controllo sul rischio riproduttivo correlato alla costituzione genetica individuale fa sorgere la questione della responsabilità parentale. Se queste nuove possibilità di test genetici consentono ai futuri genitori di prevenire il concepimento di bambini con determinate malattie, in assenza di un costo economico e morale sproporzionato, si potrebbe dedurre che il programma di screening esplicitamente li inviti ad agire in linea con quel bisogno di responsabilità, e a non porsi problematiche morali. La responsabilità parentale di impedire la nascita di un figlio con grave malattia genetica, che sarebbe causa di sofferenza sia per la coppia che per il bambino, si scontra con il dovere dei genitori di proteggere quel bambino fin dall'inizio, ovvero dall'idea di un concepimento.

Si tratta di un conflitto difficilmente risolvibile. Inoltre, prendere misure preventive da parte della coppia può essere percepito come una esperienza altamente stressante. Per esempio, il percorso di diagnosi preimpianto esige molto dalla coppia, sia dal punto di vista emozionale, che pratico, e in alcuni casi, finanziario. È infatti importante tenere a mente che un numero significativo di coppie che scelgono questo percorso rimangono involontariamente senza figli. Molte coppie, infatti, non considerano la donazione dei gameti come una alternativa alle pratiche di diagnosi preimpianto, poiché non accettano la genitorialità non genetica.

Infine, è necessario soffermarsi su quali siano gli obiettivi dei programmi di screening riproduttivo.



L'obiettivo dichiarato della maggior parte dei CS/ECS è quello di "identificare le coppie portatrici che hanno un rischio del 25% di avere figli affetti da una malattia genetica, aumentando la loro autonomia riproduttiva, nell'ottica di prendere una decisione consapevole, e conseguentemente riducendo la morbilità e la mortalità perinatale".

Viene da domandarsi se l'obiettivo primario sia l'autonomia riproduttiva o considerazioni relative alla salute pubblica.

Infatti, bisogna tenere presente che, se da un lato si dà ampia discrezionalità alla coppia di compiere una scelta ragionata per il proprio percorso riproduttivo, dall'altro è innegabile che aumentare la salute della popolazione, riducendo la prevalenza di disabilità e malattie nella popolazione pediatrica comporta una notevole riduzione dei costi dello stato sociale e della sanità pubblica. La coppia, dopo un test CS/ECS positivo, con conseguente potenziale rischio di malattia per il figlio, potrebbe sentirsi in dovere di intervenire per impedire quella nascita, quasi si sentisse obbligata da un percorso che invece di aumentare l'autonomia decisionale della coppia, la riduce, facendole percorrere un cammino obbligato. È importante sottolineare che questi due obiettivi possono essere in contrapposizione e allo stesso tempo andare di pari passo, ottenendo il doppio risultato di un miglioramento della condizione del singolo individuo, della coppia, così come dell'intera collettività sociale.

In conclusione, l'ECS fa sorgere una serie di interrogativi etici che invitano alla riflessione su come un programma di tale genere dovrebbe essere implementato.

I principali argomenti riguardano il concetto di giustizia che riguarda la prioritizzazione, la discriminazione e la stigmatizzazione. Tra le conseguenze più elevanti del CS/ECS, la medicalizzazione è di primario interesse soprattutto se si dovesse pensare di implementare il programma nel SSN.

Se il CS/ECS diventasse stabilmente parte delle prestazioni SSN, alcuni aspetti della vita privata (non prettamente legati alla sfera patologica) diventerebbero parte del SSN, determinando la necessità che anche questa problematica venga perlomeno discussa con la parti coinvolte.

Concetti come l'autonomia, il consenso informato e la routinizzazione sono centrali nella discussione del CS/ECS e hanno bisogno di essere attentamente considerati.³²⁻⁴²

11. Modello d'informativa e di consenso all'analisi

Il processo informativo per i richiedenti CS/ECS è assai più complesso rispetto ai casi in cui viene prescritto un test genetico per un'unica patologia e, d'altra parte, non è possibile illustrare centinaia di condizioni diverse fra loro. Per tale motivo è difficile pensare che si possa fornire un'informazione dettagliata per tutte le condizioni esaminate.

Quindi la diffusione dell'offerta di CS/ECS pone importanti questioni che riguardano la sua validità analitica, la validità clinica, l'utilità clinica, le sue implicazioni etiche, sociali e medico-legali.

A titolo esemplificativo, la SIGU ha redatto un'apposita informativa (allegato 1) che può essere utilizzata a scopo informativo da quei centri/laboratori che eseguono il CS/ECS secondo le indicazioni inserite nel presente documento.



Tutti questi aspetti dovrebbero venire attentamente valutati e discussi con i candidati al test durante la consulenza e prima di acquisire il consenso all'analisi mediante apposita modulistica (allegato 2).

Infine, si sottolinea l'importanza della consulenza genetica post-test relativa al risultato, sia esso positivo che negativo, anche a fini medico-legali, in quanto un risultato negativo potrebbe determinare un falso senso di rassicurazione, sino alla errata percezione, da parte della coppia, di essere del tutto immune dal rischio di trasmissione di condizioni genetiche alla prole.

12. Capsule Summary

"Raccomandazioni SIGU su CS/ECS"

- La proposta/esecuzione del test genetico per CS e ECS deve venire inserita in un percorso di consulenza genetica riproduttiva, pre- e post-test, secondo le raccomandazioni nazionali ed internazionali per i test genetici. La SIGU raccomanda l'utilizzo dell'Informativa al test e del modulo di Consenso Informato approvati dalla Società (allegati 1 e 2).
- I criteri per la selezione dei geni-malattia da includere in un CS/ECS sono:
 1. la patologia deve essere associata ad un fenotipo ben definito (ben documentata correlazione genotipo/fenotipo)
 2. la patologia deve determinare un effetto sfavorevole sulla qualità/durata di vita
 3. la patologia deve essere causativa di deficit a livello cognitivo e/o fisico
 4. la patologia deve richiedere un intervento medico e/o chirurgico
 5. la patologia deve presentare un esordio precoce (ovvero, patologie ad esordio tardivo non dovrebbero essere incluse nei pannelli)
 6. disponibilità di un adeguato percorso di diagnosi prenatale/preimpianto.
- È inoltre importante tenere conto della validità analitica, della validità clinica e dell'utilità clinica del pannello così composto. Altri criteri di valutazione per l'inclusione sono: la gestione delle possibili conseguenze cliniche (*actionability*), la rilevanza clinica delle condizioni indagate, la conoscenza delle patologie analizzate, e la frequenza dei portatori nella popolazione di riferimento.
- In caso di positività, devono essere refertate solamente le varianti di classe IV e V.
- In caso di test negativo, è opportuno riportare nel referto una stima del valore del rischio residuo per il singolo e la coppia (allegati 3 e 4).



13. Bibliografia

1. Rowe CA, Wright CF. Expanded universal carrier screening and its implementation within a publicly funded healthcare service. *J Community Genet.* 2020;11:21-38.
2. de Wert G, van der Hout S, Goddijn M, Vassena R, Frith L, Vermeulen N, Eichenlaub-Ritter U; ESHRE Ethics Committee. The ethics of preconception expanded carrier screening in patients seeking assisted reproduction. *Hum Reprod Open.* 2021;2021:hoaa063.
3. Henneman L, Borry P, Chokoshvili D, Cornel MC, van El CG, Forzano F, Hall A, Howard HC, Janssens S, Kayserili H, Lakeman P, Lucassen A, Metcalfe SA, Vidmar L, de Wert G, Dondorp WJ and Peterlin B on behalf of the European Society of Human Genetics (ESHG). Responsible implementation of expanded carrier screening. *EJHG* 2016; 24: e1- e12.
4. Wilson, James Maxwell Glover, Jungner, Gunnar & World Health Organization. Principles and practice of screening for diseases. Public Health Paper N° 35. Ed. Geneve, 1968.
5. Edwards JE, Feldman G, Goldberg J, Gregg AR, Norton ME, Rose NC, Schneider A, Stoll K, Wapner R, Watson MS. Expanded Carrier Screening in Reproductive Medicine-Points to Consider: A Joint Statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine. *Obstet Gynecol* 2015; 125:653-62.
6. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 690: carrier screening in the age of genomic medicine. *Obstet Gynecol.* 2017;129(3): e35-e40
7. ACOG. Carrier Screening for Genetic Conditions. Committee Opinion. Number 691, March 2017.
8. Baudhuin LM, Lagerstedt SA, Klee EW, Fadra N, Oglesbee D, Ferber MJ. Confirming Variants in Next-Generation Sequencing Panel Testing by Sanger Sequencing. *J Mol Diagn* 2015; 17:456-61.
9. Sikkema-Raddatz B, Johansson LN, de Boer EN, Almomani R, Boven LG, van den Berg MP, van Spaendonck-Zwarts Y, van Tintelen JP, Sijmons RH, Jongbloed JDH, et al; Targeted Next-Generation Sequencing Can Replace Sanger Sequencing in Clinical Diagnostics. *Hum Mutat* 2013; 34:1035-42.
10. Lee H, Deignan JL, Dorrani N, Strom SP, Kantarci S, Quintero-Rivera F, Das K, Toy T, Harry B, Yourshaw M, et al; Clinical Exome Sequencing for Genetic Identification of Rare Mendelian Disorders. *JAMA* 2014; 312:1880-87.
11. Beck TF, Mullikin JC, Program NCS, & Biesecker LG. Systematic evaluation of sanger validation of next-generation sequencing variants. *Clinical Chemistry* 2015; 62, 647-54.
12. 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVea GA. A Map of Human Genome Variation From Population-Scale Sequencing. *Nature* 2010; 467:1061-73.
13. Yurgelun MB, Allen B, Kaldete RR, Bowles KR, Judkins T, Kaushik P, Roa BB, Wenstrup RJ, Hartman AR, Syngal S. Identification of a Variety of Mutations in Cancer Predisposition Genes in Patients With Suspected Lynch Syndrome. *Gastroenterology* 2015; 149:604-13.
14. Beauchamp KA, Muzzey D, Wong KK, Hogan GJ, Karimi K, Candille SI, Mehta N, Mar-Heyming R, Kaseniit KE, Kang HP, et al; Systematic Design and Comparison of Expanded Carrier Screening Panels. *Genet Med* 2018; 20:55-63.



15. C. Capalbo A, Fabiani M, Caroselli S, Poli M, Girardi L, Patassini C, Favero F, Cimadomo D, Vaiarelli A, Simon C, Rienzi LF, Ubaldi FM. Clinical validity and utility of preconception expanded carrier screening for the management of reproductive genetic risk in IVF and general population. *Hum Reprod*. 2021:deab087.
16. Tandy-Connor S, Gultinan J, Krempely K, LaDuca H, Reineke P, Gutierrez S, Gray P, Tippin Davis B. False-positive Results Released by Direct-To-Consumer Genetic Tests Highlight the Importance of Clinical Confirmation Testing for Appropriate Patient Care. *Genet Med* 2018; 20:1515-1521
17. Ben-Shachar R, Svenson A, Goldberg JD, Muzzey D. A Data-Driven Evaluation of the Size and Content of Expanded Carrier Screening Panels. *Genet Med* 2019; 21:1931-39.
18. Johansen Taber KA, Beauchamp KA, Lazarin GA, Muzzey D, Arjunan A, and Goldberg JD. Clinical utility of expanded carrier screening: results-guided actionability and outcomes. *Genet Med* 2019; 21: 1041-1048.
19. ACMG Board of Directors. The use of ACMG secondary findings recommendations for general population screening: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2019; 21:1467-1468.
20. Il sequenziamento del DNA di nuova generazione: indicazioni per l'impiego clinico. Documento SIGU. 3 marzo 2016
21. Chokoshvili D, Borry P, Vears DF. A Systematic Analysis of Online Marketing Materials Used by Providers of Expanded Carrier Screening. *Genet Med* 2018; 20: 976-984.
22. Stevens B, Krstic N, Jones M, Murphy L, Hoskovec J. Finding Middle Ground in Constructing a Clinically Useful Expanded Carrier Screening Panel. *Obstet Gynecol* 2017; 130:279-284
23. Haque IS, Lazarin GA, Kang HP, Evans EA, Goldberg JD, Wapner RJ. Modeled Fetal Risk of Genetic Diseases Identified by Expanded Carrier Screening. *JAMA* 2016; 316:734-42.
24. Gregg AR, Expanded Carrier Screening. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2018; 45, 103-112.
25. Capalbo A, Valero RA, Jimenez-Almazan J, Pardo PM, Fabiani M, Jiménez D, Simon C, Rodriguez JM. Optimizing Clinical Exome Design and Parallel Gene-Testing for Recessive Genetic Conditions in Preconception Carrier Screening: Translational Research Genomic Data From 14,125 Exomes. *PLoS Genet* 2019; 15: e1008409.
26. Guo MH, Gregg AR. Estimating Yields of Prenatal Carrier Screening and Implications for Design of Expanded Carrier Screening Panel. *Genet Med* 2019; 21:1940-1947.
27. Nguengang Wakap S, Lambert DM, Olry A, Rodwell C, Gueydan C, Lanneau V, Murphy D, Le Cam Y, Rath A. Estimating Cumulative Point Prevalence of Rare Diseases: Analysis of the Orphanet Database. *Eur J Hum Genet* 2020; 28:165-173.
28. Beauchamp KA, Johansen Taber KA, Grauman PV, Spurka L, Lim-Harashima J, Svenson A, Goldberg JD, Muzzey D. Sequencing as a First-Line Methodology for Cystic Fibrosis Carrier Screening. *Genet Med* 2019; 21:2569-2576.
29. Haddow JE, Palomaki GE. ACCE: a model process for evaluating data on emerging genetic tests. In: Khoury M, Little J, Burke W editors. *Human genome epidemiology: a scientific foundation for using genetic information to improve health and prevent disease*. Oxford, UK: Oxford University Press 2004; p. 217-33.
30. Azimi M, Schmaus K, Greger V, Neitzel D, Rochelle R, Dinh T. Carrier screening by next-generation sequencing: health benefits and cost effectiveness. *Mol Genet Genomic Med*. 2016; 29:292-302.



31. Beauchamp KA, Johansen Taber KA, Muzzey D. Clinical impact and cost-effectiveness of a 176-condition expanded carrier screen. *Genet Med* 2019; 21:1948-1957.
32. van der Hout S, Dondorp W, de Wert G. The aims of expanded universal carrier screening: Autonomy, prevention, and responsible parenthood. *Bioethics* 2019; 33:568-576.
33. Kihlbom U. Ethical issues in preconception genetic carrier screening. *Ups J Med Sci* 2016;121:295-298.
34. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Dery V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ* 2008; 86:317-19.
35. Rogowski WH, Grosse SD, Schmidtke J, Marckmann G. Criteria for fairly allocating scarce health-care resources to genetic tests: which matter most? *Eur J Hum Genet* 2014; 22:25-31.
36. Salihu HM, Salinas A, Mogos M. The missing link in preconceptional care: the role of comparative effectiveness research. *Matern Child Health J* 2013; 17:776-82.
37. Munthe C. A new ethical landscape of prenatal testing: individualizing choice to serve autonomy and promote public health: a radical proposal. *Bioethics* 2015; 29:36-45.
38. Shakespeare T. *Disability rights and wrongs*. London: Routledge 2006.
39. Verweij M. Medicalization as a moral problem for preventative medicine. *Bioethics* 2009; 13:89-113.
40. de Jong A, Dondorp WJ, Frints SG, de Die-Smulders CE, de Wert GM. Advances in prenatal screening: the ethical dimension. *Nat Rev Genet* 2011; 12:657-63.
41. John S. Efficiency, responsibility and disability: philosophical lessons from the savings argument for prenatal diagnosis. *Politics Philosophy & Economics* 2014; 14:3-22.
42. Wilkinson S. Prenatal screening, reproductive choice, and public health. *Bioethics* 2015; 29:26-35.



14. Allegati

Allegato 1: informativa CS/ECS approvata SIGU

CARRIER SCREENING o TEST DEL PORTATORE

Cosa significa "carrier" o "portatore"?

Il "carrier" in genetica è un portatore sano di una malattia genetica.

Che cosa è un "carrier screening"?

Il "carrier screening" è un test genetico che consente di conoscere il proprio eventuale stato di portatore sano delle malattie genetiche che vengono analizzate nel test.

Cosa sono il DNA, i geni e le malattie genetiche?

Il DNA è la molecola che contiene tutte le informazioni per definire le caratteristiche del nostro organismo, e che consente di trasmettere le informazioni da una generazione all'altra.

Le informazioni per ogni singola caratteristica sono scritte nei GENI, che sono tratti specifici di DNA.

Le malattie genetiche sono patologie causate dall'alterazione di un gene. Le patologie che sono oggetto di questo test presentano una modalità di trasmissione AUTOSOMICA RECESSIVA (in cui la malattia si manifesta se sono alterate 2 copie del gene), e X-LINKED (in cui il gene che causa la malattia si trova sul cromosoma X).

Il "carrier screening" analizza malattie recessive (di cui possiamo essere portatori sani) o X-linked (di cui le donne possono essere portatrici sane).

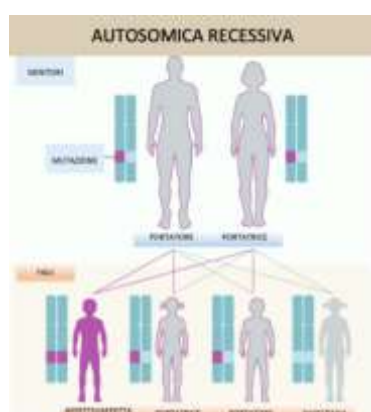


Figura 1: Modello di trasmissione delle malattie Autosomiche Recessive (Rischio di prole affetta: 25%)

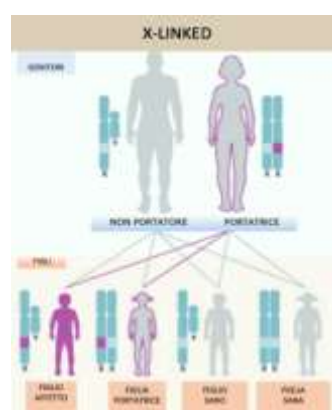


Figura 2: Modello di trasmissione delle malattie legate al cromosoma X (Rischio di prole maschile affetta: 50%)

Non ho nessun malato di malattie genetiche in famiglia: vuol dire che NON sono un "carrier"?



Ciascun individuo della popolazione è portatore sano di almeno 2 o 3 malattie genetiche trasmissibili tra le diverse migliaia ad oggi conosciute. I portatori sani di patologie genetiche sono quasi sempre asintomatici e nella maggior parte dei casi non hanno alcuna storia familiare che lasci supporre la presenza di alcuna di tali patologie. Almeno l'80% delle coppie che generano un figlio affetto da patologie genetiche recessive non hanno storia familiare conclamata.

Ma se non faccio nessun "carrier screening", che rischio ho di avere un figlio malato?

Secondo l'OMS la frequenza mondiale delle malattie genetiche è di 1 su 100 neonati. Queste malattie rappresentano il 20% delle cause della mortalità infantile nei Paesi sviluppati e sono la causa del 18% degli interventi medico-chirurgici negli ospedali pediatrici.

Una gravidanza su 550 può esitare nella nascita di un bambino affetto da malattie recessive o X-linked che potrebbero essere prevenute con un test come il "carrier screening".

Un bambino malato su 550 non mi sembra un rischio così alto... Non è meglio fare il test per la sindrome di Down in gravidanza, che è tanto frequente?

Questo rischio, che sembra basso, diventa molto alto se paragonato al rischio di avere un bambino con Sindrome di Down (1/800) o con spina bifida (1/1000).

Inoltre, conoscere lo stato di portatore consente alla coppia, già prima della gravidanza, di valutare insieme al medico quali strategie adottare per prevenire la trasmissione della malattia ai figli.

Se faccio il "carrier screening" avrò di sicuro un bambino sano?

È importante precisare che, a prescindere dal tipo di test che si decida di utilizzare, in nessun caso possono essere individuate tutte le malattie di cui siamo portatori sani, anche perché alcune malattie genetiche insorgono a causa di una mutazione inaspettata che avviene al concepimento e che non potrà in nessun caso essere intercettata dal test del portatore. Esisterà sempre un rischio residuo dopo l'esecuzione di questo test, che verrà dettagliato nel referto conclusivo. Inoltre, vi sono altre condizioni (es: dominanti de novo, mosaicismi germinali) che non sono indagate dal carrier screening ma che hanno un impatto sulla salute del nascituro.

Devo fare una fecondazione assistita: posso fare questo test?

La richiesta di eseguire il test può essere formulata da tutti coloro che desiderano conoscere con maggiore precisione il proprio stato di portatore, indipendentemente dal fatto che si riproducano in maniera naturale o assistita. Nel caso di fecondazione assistita eterologa (eseguita mediante l'utilizzo di gameti donati), spesso questo test viene eseguito anche sul donatore/trice, per consentire un migliore "match genetico" tra questi e il partner della coppia.

Ecco i casi più comuni in cui si esegue questo test:

- Quando si sta pianificando una gravidanza
- Quando si vuole conoscere il rischio per la coppia di trasmettere una patologia genetica
- Quando l'appartenenza ad un gruppo etnico rappresenta un rischio elevato per una certa patologia
- Quando esiste consanguineità tra i partner
- Quando la coppia deve ricorrere a fecondazione assistita eterologa



- Se sei un donatore/donatrice di gameti

Come faccio a sottopormi al test?

Quando possibile, è opportuno effettuare un adeguato percorso informativo e formativo, auspicabilmente nell'ambito di una consulenza di genetica medica o durante una visita pre-concezionale, in cui viene fornita una approfondita spiegazione del test a cui si verrà sottoposti. Successivamente, il soggetto si sottopone ad un prelievo di sangue o swab buccale da cui verrà estratto il DNA e su cui verranno eseguite le indagini genetiche prescelte, attraverso l'utilizzo delle metodiche più avanzate.

Il test del portatore può essere effettuato contemporaneamente nei due partner (test simultaneo) oppure ad uno solo dei due (generalmente la donna, in modo da poter indagare anche le malattie legate al cromosoma X). In tal caso l'esame viene esteso al partner solo in caso di positività (test sequenziale).

Il tempo di refertazione varia da 2 a 4 settimane, in base alla complessità del test.

Ci sono tanti tipi diversi di "carrier screening": come faccio a scegliere?

Il laboratorio che eseguirà l'analisi le illustrerà, con apposite brochure informative, le tipologie di test disponibili, con i relativi dati di sensibilità, accuratezza e limitazioni. Le patologie incluse nei test sono state scelte sulla base dei criteri fornite dal Position Statement SIGU su CS/ECS 2021.

Che risultato devo aspettarmi dal test?

Il test avrà come esito la presenza o assenza di varianti del DNA patogenetiche. In caso di loro presenza, verrà calcolato il rischio riproduttivo della coppia per la specifica patologia e riceverà un'appropriata consulenza genetica in cui le verranno dettagliatamente spiegati i risultati dell'analisi. In caso di assenza di varianti, verrà calcolato il rischio residuo di essere comunque portatore sano.

Io e il partner siamo risultati positivi per una malattia genetica: adesso cosa facciamo?

Nel caso in cui entrambi i partner risultino portatori della stessa malattia genetica, o la donna portatrice di una patologia legata alla X, la coppia potrà decidere se monitorare la gravidanza per verificare l'eventuale trasmissione al feto della patologia mediante diagnosi prenatale invasiva (villocentesi o amniocentesi), o procedere con tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA) e diagnosi genetica preimpianto (PGT), al fine di trasferire in utero solo l'embrione risultato non affetto dalla malattia. Altre alternative sono la donazione eterologa oppure la decisione di adottare.

Il laboratorio presso cui effettuerà il test è a sua completa disposizione per qualsiasi chiarimento o specifica. Non esiti a chiedere maggiori informazioni!



Allegato 2: modello di consenso informato per screening (CS) o screening esteso (ECS) del portatore

Lo screening del portatore è un test genetico che ha lo scopo di individuare individui e coppie che presentano variazioni del patrimonio genetico in grado di determinare un aumento del rischio di avere figli con malattie genetiche.

Lo scopo del test è di rilevare la presenza di varianti in geni con ereditarietà autosomica recessiva, nonché nei geni associati al cromosoma X nelle donne. Se entrambi i membri di una coppia sono portatori di VARIANTI nello stesso gene con ereditarietà autosomica recessiva, vi sarà un aumento del rischio (25%) di concepire un bambino affetto da quella specifica patologia. Se una donna è portatrice di VARIANTI in geni a trasmissione X-Linked recessiva, il 50% dei figli maschi sarà a rischio di essere affetto da quella specifica malattia genetica.

L'ECS non può comprendere tutte le malattie genetiche, e la scelta viene effettuata secondo vari criteri, oggetto di specifica informativa. Il test, nonostante sia in grado di rilevare un elevato numero di VARIANTI, non può rilevare tutte le VARIANTI patogenetiche dei geni studiati, a causa di limiti tecnici o fenomeni biologici. Ne consegue che un risultato normale ottenuto con questo test riduce notevolmente, ma non annulla, il rischio di concepire un figlio con malattie genetiche.

Sulla base delle informazioni ricevute, sia direttamente che tramite specifico documento scritto, informazioni che dichiara di aver pienamente compreso, avendo inoltre avuto la possibilità di porre domande e ricevere adeguati chiarimenti, essendo anche stato informato che il presente consenso può essere revocato in qualsiasi momento, io sottoscritto/a:

Cognome		Nome	
Data di nascita		Luogo di nascita	
C.F.		Telefono	

ACCONSENTO:

	Si	No
Al prelievo del materiale biologico per l'esecuzione delle indagini richieste		
A conoscere i risultati delle indagini richieste		
A conoscere eventuali informazioni in termini di terapia, prevenzione o consapevolezza sulle scelte riproduttive		
Alla conservazione del campione biologico ed al suo utilizzo, nel rispetto della normativa vigente, per ulteriori accertamenti diagnostici da me richiesti		
Alla conservazione dei risultati delle analisi e del campione biologico ed al loro utilizzo, anonimizzati, per scopi di studio e ricerca		



DICHIARO:

Di aver preso visione delle informative allegata a tale consenso e di aver compreso i limiti e i vantaggi dei test elencati nelle informative.

In particolare, dichiaro di avere compreso che un risultato negativo riduce ma non annulla il rischio di avere un figlio affetto da una malattia genetica, comprese quelle indagate dal test (rischio residuo).

Io sottoscritto/a autorizzo il trattamento dei dati personali in base al "Codice in materia di protezione dei dati personali" D.Lgs 196/2003, modificato dal D.Lgs 101/2018 (art. 2-septies) come richiesto dal Regolamento Europeo Protezione Dati (EU-RGPD 679/2016).

Luogo e data Firma del Paziente

Consenso raccolto da: Firma

REVOCA DEL CONSENSO

Il sottoscritto.....REVOCA il consenso sopra riportato

Luogo e data Firma del Paziente



Allegato 3: modello di referto singolo negativo

Data:

Nome:

Cognome:

Data di nascita:

N° di registrazione:

Data prelievo:

Tipo di campione:

Provenienza:

SCREENING ESTESO DEL PORTATORE

Indicazione all'indagine:

Screening preconcezionale

Metodi utilizzati:

Esempio: Sequenziamento massivo parallelo (Next Generation Sequencing - NGS) con protocollo IonAmpliSeqExome RDY (ThermoFisherScientific) su ION S5 System; PCR/Analisi di sequenza

Risultati

Il sig. XXX risulta negativo all'analisi molecolare delle mutazioni nei geni indagati ⁽¹⁾.

Patologia	Gene (OMIM)	Rischio a priori ⁽²⁾	Risultato	Rischio residuo	Rischio di coppia (partner* non testato)	Rischio di coppia (partner* testato e negativo)	Rischio di coppia (partner* testato e positivo)
Fibrosi cistica	CFTR (*602421)	1:20	negativo	1:343	1:34.300	1:470.000	1:1.372
Atrofia Muscolare Spinale	SMN1 (*600354)	1:45	negativo	1:700	1:112.000	1:1.960.000	1:2.800
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	
xxx	Xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	



Società Italiana di Genetica Umana
Italian Society of Human Genetic

Rischio riproduttivo

Sulla base delle analisi effettuate il rischio riproduttivo di coppia risulta inferiore a XXX:XXXX. I rischi riproduttivi residui specifici per le patologie considerate da questa analisi, sono riportati in tabella.

*rischio calcolato sulla popolazione generale. Il rischio potrebbe essere stimato diversamente se la coppia è consanguinea o appartenente a particolari gruppi etnici.

⁽¹⁾ L'elenco delle mutazioni rilevabili con la presente analisi è riportato nella sezione dettagli tecnici

⁽²⁾ Il rischio a priori rappresenta la frequenza del portatore riportata nella popolazione di riferimento del soggetto o nella popolazione mondiale.



Allegato 4: modello di referto singolo positivo

Data:

Nome:

Cognome:

Data di nascita:

N° di registrazione:

Data prelievo:

Tipo di campione:

Provenienza:

SCREENING ESTESO DEL PORTATORE

Indicazione all'indagine:

Screening preconcezionale

Metodi utilizzati:

Esempio: Sequenziamento massivo parallelo (Next Generation Sequencing - NGS) con protocollo IonAmpliSeqExome RDY (ThermoFisherScientific) su ION S5 System; PCR/Analisi di sequenza

Risultati

Il sig. XXX risulta eterozigote per la mutazione XXX all'interno del gene XXX⁽¹⁾.

Patologia	Gene (OMIM)	Rischio a priori ⁽²⁾	Risultato	Rischio residuo	Rischio di coppia (partner* non testato)	Rischio di coppia (partne* testato e negativo)	Rischio di coppia (partner* testato e positivo)
Fibrosicistica	CFTR (*602421)	1:20	negativo	1:343	1:34.300	1:470.000	1:1.372
Atrofia Muscolare Spinale	SMN1 (*600354)	1:50	eterozigote	-	1:200	1:2.800	1:4
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	
xxx	xxx (*00000)	xxx	negativo	xxx		xxx	



Società Italiana di Genetica Umana
Italian Society of Human Genetic

Rischio riproduttivo

Esempio: Sulla base delle analisi effettuate il rischio riproduttivo di coppia per Atrofia Muscolare Spinale (OMIM # 253300) è pari a 1:2800. I rischi riproduttivi residui, per le altre patologie considerate da questa analisi, sono riportati in tabella. Il presente referto dovrà essere valutato nell'ambito di una consulenza genetica.

*rischio calcolato sulla popolazione generale. Il rischio potrebbe essere stimato diversamente se la coppia è consanguinea o appartenente a particolari gruppi etnici.

⁽¹⁾ L'elenco delle mutazioni rilevabili con la presente analisi è riportato nella sezione dettagli tecnici

⁽²⁾ Il rischio a priori rappresenta la frequenza del portatore riportata nella popolazione di riferimento del soggetto o nella popolazione mondiale.