

## **PROCEDURA OPERATIVA: DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA MEDIANTE AMNIOCENTESI**

Rev. 0/RM Del 28/03/2023	Approvata dal Comitato per il Rischio Clinico	Verificato dal Responsabile della U.O.S. Rischio Clinico e Qualità Dr. Giovanni Ruta	Autorizzato alla diffusione dalla Direzione Strategica Aziendale Commissario Straordinario Dott. Fabrizio Russo
Pag. 12			

## INDICE

<b>1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE</b> .....	<b>3</b>
<b>2. PAROLE CHIAVE</b> .....	<b>3</b>
<b>3. ABBREVIAZIONI</b> .....	<b>3</b>
<b>4. NORMATIVE DI RIFERIMENTO</b> .....	<b>3</b>
<b>5. RESPONSABILITA'</b> .....	<b>4</b>
<b>6. PROCEDURA</b> .....	<b>4</b>
<b>6.1 INTRODUZIONE</b> .....	<b>4</b>
<b>6.2 MODALITA' DI ACCESSO ALLA DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA MEDIANTE AMNIOCENTESI</b> .....	<b>5</b>
6.2.1 <i>Consulenza Genetica pre e post Test</i> .....	6
6.2.2 <i>Visita Ostetrica</i> .....	6
<b>6.3 AMNIOCENTESI</b> .....	<b>7</b>
<b>6.4 INVIO DEL CAMPIONE BIOLOGICO IN LABORATORIO</b> .....	<b>8</b>
6.4.1 <i>Registrazione dei campioni biologici</i> .....	8
6.4.2 <i>Gestione delle analisi in urgenza</i> .....	9
6.4.3 <i>Richiesta analisi aggiuntive</i> .....	9
6.4.4 <i>Fase Analitica</i> .....	9
6.4.5 <i>Validazione dei risultati</i> .....	9
6.4.6 <i>Conferma dei risultati patologici</i> .....	9
6.4.7 <i>Refertazione</i> .....	9
<b>6.5 COMUNICAZIONE E CONSEGNA DEI REFERTI</b> .....	<b>10</b>
6.5.1 <i>Comunicazione e consegna dei referti</i> .....	10
<b>7. DOCUMENTI ALLEGATI</b> .....	<b>10</b>
<b>8. FLOW CHART</b> .....	<b>11</b>

## 1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente Procedura Operativa si applica all'intero percorso diagnostico prenatale invasivo mediante "AMNIOCENTESI", condivisa tra le UOC di Ginecologia e Ostetricia dei PP.OO. di Ragusa, Modica e Vittoria e l'UOS di Genetica Medica e la Sezione di Laboratorio di Genetica Medica, entrambi afferenti all'UOC di Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II di Ragusa.

## 2. PAROLE CHIAVE

Genetica, Amniocentesi, Liquido Amniotico

## 3. ABBREVIAZIONI

- **DIR UOC** (Direttore Unità Operativa Complessa)
- **DIR UOS** (Direttore Unità Operativa Semplice)
- **RQ** (Responsabile Qualità)
- **RFSLGM** (Referenti della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica)
- **RFDP** (Referenti del Servizio di Diagnosi Prenatale)
- **DIRM** (Dirigente Medico)
- **DIRB** (Dirigente Biologo)
- **TSLB** (Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomendico)
- **INF** (Infermieri)
- **SLGM** (Sezione di Laboratorio di Genetica Medica)
- **LA** (Liquido Amniotico)
- **SIGU** (Società Italiana di Genetica Umana)
- **SIEOG** (Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica)

## 4. NORMATIVE DI RIFERIMENTO

- Linee guida per la diagnosi citogenetica consensus 2013 redatto della SIGU;
- Disciplinari SIGU;
- ISCN 2020 (International System For Human Cytogenomic Nomenclature);
- Uso appropriato delle tecniche di CMA (Chromosomal Microarray Analysis) nella diagnosi prenatale redatto e condiviso dalla SIEOG e dalla SIGU;
- Il Decreto del Ministro della sanità 10 settembre 1998, pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale n. 245 del 20 ottobre 1998, ad oggi in uso in Regione Sicilia;
- D.P.C.M. 12 gennaio 2017 di aggiornamento dei Livelli Essenziali di Assistenza

## 5. RESPONSABILITA'

FUNZIONE	COMPITI E RESPONSABILITA'
DIR UOC/UOS	Approvazione della Procedura Operativa
RQ	Verifica della conformità della Procedura Operativa ai requisiti della Norma
RFDP	Stesura e verifica dell'applicazione della Procedura Operativa e gestione della documentazione
DIRM/DIRB	Applicazione della Procedura Operativa e gestione della documentazione e Validazione analisi
TSLB e INF	Applicazione della Procedura Operativa per la parte di competenza e Validazione delle varie fasi di analisi

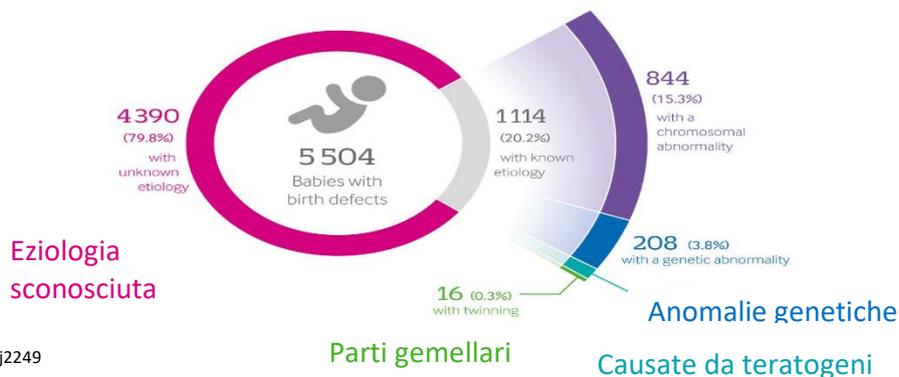
## 6. PROCEDURA

### 6.1 INTRODUZIONE

La diagnosi prenatale è volta al monitoraggio dello stato di salute e del benessere fetale dalle prime settimane fino al termine della gravidanza mediante l'utilizzo di indagini strumentali e di laboratorio.

Si stima che il 3% circa dei neonati presenti un difetto dello sviluppo, riconoscibile alla nascita o nei primi mesi di vita (cosiddetto rischio generico di popolazione) che può dipendere da cause genetiche o non genetiche (farmaci, infezioni, etc.). Questo rischio è comune a tutte le gravidanze, ma può aumentare in base all'età della coppia o a causa di altri fattori, spesso desumibili dalla storia personale e/o familiare, per cui talvolta possono essere richieste indagini mirate (ad es. analisi cromosomiche e molecolari, indagini ecografiche, ecc.)

Il rischio per difetti alla nascita nella popolazione generale è del 3-5%



Feldkamp et al. BMJ 2017;357:j2249

Le malattie di origine genetica sono malattie che derivano da una alterazione del patrimonio genetico e per la loro diagnosi vengono utilizzate metodiche di laboratorio di citogenetica e di genetica molecolare.

Le condizioni di patologia fetale di origine genetica possono essere causate da anomalie dei cromosomi o da mutazioni in singoli geni. I cromosomi sono costituiti da DNA compattato. All'interno di ciascun cromosoma sono contenuti numerosi geni. I geni sono tratti di DNA che codificano una specifica informazione. Le anomalie dei cromosomi sono dovute ad una alterazione del numero (dette anche aneuploidie) o della struttura dei cromosomi. La gravità di queste anomalie è variabile e dipende dal cromosoma coinvolto e dal tipo di alterazione. Alcune anomalie cromosomiche non sono compatibili con la vita, altre sono associate a gravi malformazioni e aspettativa di vita ridotta; altre ancora possono essere del tutto asintomatiche oppure causare infertilità. Le anomalie più frequenti sono le trisomie dei cromosomi 21, 18 e 13. Il termine "trisomia" indica un'anomalia cromosomica che consiste nella presenza di tre copie di un cromosoma rispetto alle due copie presenti in un soggetto sano. Le trisomie 21 (sindrome di Down), 18 (sindrome di Edwards) e 13 (sindrome di Patau), costituiscono da sole circa il 50-70% delle aberrazioni cromosomiche possibili nel feto.

La diagnosi prenatale INVASIVA viene indicata nei casi in cui siano presenti due condizioni fondamentali:

- 1) la patologia che s'intende diagnosticare deve essere identificabile in utero attraverso un test genetico specifico;
- 2) devono sussistere fattori di rischio genetico per la gravidanza tale da giustificare un test invasivo, non privo di rischi per la gravidanza stessa.

Le condizioni che aumentano il rischio devono essere valutate nell'ambito della consulenza ginecologica e genetica e richiedono un'accurata anamnesi e una valutazione clinico-strumentale della gravidanza.

Una volta stabilita l'esistenza di una o più condizioni di rischio (età materna avanzata, positività di un test di screening per le anomalie cromosomiche, anomalie morfologiche riscontrate all'ecografia, precedente gravidanza con feto affetto da un'anomalia cromosomica, genitore portatore di un'anomalia cromosomica strutturale o di una malattia autosomica dominante, entrambi i genitori portatori di una mutazione recessiva, madre portatrice di una malattia legata al cromosoma X), possono essere eseguite indagini di approfondimento diagnostico su cellule fetali prelevate mediante tecnica invasiva.

Le procedure più comunemente utilizzate sono la villocentesi (prelievo di villi coriali che si esegue tra l'inizio della 11<sup>a</sup> e la fine della 13<sup>a</sup> settimana di gravidanza) e l'amniocentesi (prelievo di liquido amniotico che si esegue preferibilmente tra la 16<sup>a</sup> e la 18<sup>a</sup> settimana di gravidanza), mentre la celocentesi (prelievo del liquido dalla cavità celomatica) e la cordocentesi (prelievo di sangue fetale dal cordone ombelicale), l'una precoce entro l'8<sup>a</sup> l'altra tardiva dopo la 18<sup>a</sup>, tra la 20<sup>a</sup> e la 22<sup>a</sup> settimana, sono riservate ad alcune condizioni particolari.

Le indagini mediante diagnosi prenatale invasiva permettono di identificare o di escludere direttamente una condizione genetica. Per le malattie monogeniche ereditarie la diagnosi prenatale viene effettuata in maniera "mirata", su specifiche indicazioni segnalate nell'ambito della consulenza genetica. Per i rischi di anomalie cromosomiche si effettua lo studio del *cariotipo fetale* che permette di identificare o di escludere la presenza di una alterazione di numero e di struttura (ad una bassa risoluzione) di tutti i cromosomi (23 coppie). In associazione al cariotipo e non in sostituzione dello stesso, è possibile eseguire ulteriori accertamenti diagnostici mediante l'esecuzione di *array-CGH* (Comparative Genomic Hybridization-based array) a bassa risoluzione (targhettato) nelle gravidanze a basso rischio (per es. età materna avanzata) o ad alta risoluzione in caso di indicazioni specifiche, come in presenza di riarrangiamenti cromosomici riscontrati al cariotipo o di anomalie ecografiche suggestive di patologia cromosomica. Questa tecnica consente di analizzare lo sbilanciamento del numero di copie di sequenze genomiche criptiche (microdelezioni e microduplicazioni) con un potere risolutivo superiore a quello possibile con le tecniche di citogenetica convenzionale.

In presenza di anomalie ecografiche fetali, nei casi in cui vengono formulate specifiche ipotesi diagnostiche, possono essere indicati approfondimenti diagnostici mirati. Spesso non è tuttavia possibile formulare una specifica diagnosi clinica. Proprio in questi casi, l'analisi di array-CGH offre un incremento diagnostico medio di circa il 7%, ed identifica sbilanciamenti cromosomici che non vengono rilevati con l'analisi del cariotipo. Un incremento di circa l'1% di sbilanciamenti cromosomici non rilevati dal cariotipo è stato osservato anche nelle gravidanze senza specifica indicazione (ad es. ansia materna, età materna  $\geq$  35 anni e rischio aumentato per la sindrome di Down in base ai test di screening) (vedi "Uso appropriato delle tecniche di CMA (Chromosomal Microarray Analysis) nella diagnosi prenatale" redatto e condivisa dalla SIEOG e dalla SIGU).

## **6.2 MODALITA' DI ACCESSO ALLA DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA MEDIANTE AMNIOCENTESI.**

Le gestanti che intendono sottoporsi alla diagnosi prenatale invasiva mediante AMNIOCENTESI, si possono rivolgere ai Ginecologi che operano in Strutture Sanitarie sia pubbliche (Consultori, Ambulatori, Ospedale) che private presenti nel territorio, che valutata l'indicazione alla Diagnosi Prenatale Invasiva mediante Amniocentesi per la gestante (stabiliti nel D.M. 10 settembre 1998 ad oggi ancora in uso in Regione Sicilia, in quanto il nuovo D.P.C.M. 12 gennaio 2017 non è stato ancora adottato in Regione Sicilia, in allegato), effettueranno le seguenti prescrizioni, per la gestante:

- Visita Ostetrica;
- Consulenza Genetica pre-Test (cod. 8901GEN);
- Esami ematici: HBsAg, HCV, HIV, Gruppo Sanguigno, Test di Coombs indiretto, anticorpi anti-Citomegalovirus (IgM ed IgG) e anticorpi anti-Toxplasmosi (IgM ed IgG).

Le gestanti, a seguito della prescrizione sopraindicate dovranno contattare il CUP (Centro Unico Prenotazione) dell'ASP di Ragusa per effettuare la prenotazione per l'AMNIOCENTESI. Le informazioni che le gestanti dovranno fornire agli operatori del CUP sono:

- I codici delle richieste con le suddette prescrizioni, che potranno essere compilate anche dai medici di medicina generale della gestante, sulla base di quanto indicato dettagliatamente dal ginecologo consultato privatamente dalla stessa;
- La corretta datazione dell'epoca gestazionale (per es. 12 settimane+4gg e/o data dell'Ultima Mestruazione);
- Il P.O. di appartenenza Ragusa, Modica e Vittoria dove desidera eseguire l'amniocentesi.

Il CUP procederà alla prenotazione delle suddette prestazioni tenendo conto della settimana di gestazione, inserendo le stesse in un arco di tempo che va dalla 14<sup>a</sup> settimana alla 16<sup>a</sup> settimana di gestazione. In via transitoria, fino alla attivazione del servizio di prenotazione presso il CUP, è possibile accedere al servizio contattando le UU.OO.CC. di Ginecologia e UOS Genetica Medica.

### 6.2.1 Consulenza Genetica pre e post Test

Nel giorno dell'appuntamento stabilito dal CUP, la gestante si recherà presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. del Giovanni Paolo II per effettuare la consulenza genetica pre-test. Il genetista, secondo quanto stabilito dalle linee guida per le strutture di genetica medica, e a seguito dell'anamnesi familiare e dalla ricostruzione dell'albero genealogico, prescrive il test genetico appropriato, ed effettua:

- 1) La compilazione del modulo di richiesta analisi genetica (Mod-001), ovvero un modulo contenente le informazioni anagrafiche ed anamnestiche del paziente, le indicazioni relative al tipo di materiale da esaminare, il tipo di indagine da effettuare, la data di raccolta del campione e il centro di invio con lo specialista prescrittore.
- 2) La somministrazione del consenso informato specifico per l'analisi da eseguire che deve essere sottoscritto dal paziente e dallo specialista che raccoglie il consenso (Mod-002 e/o Mod-003 e/o Mod-004 e/o eventuali consensi specifici per ulteriori analisi richieste).
- 3) Prescrizione medica (Ricetta dematerializzata o su Ricettario Regionale) con i codici relativi all'analisi da eseguire (vedi allegato).
- 4) Compilazione del Modulo di avvenuta consulenza genetica previsto dalle disposizioni Assessoriali Regionali.
- 5) In tutti i casi, indipendentemente da chi effettua la comunicazione verbale alla gestante, tutti i referti sia con esito positivo che negativo vengono consegnati direttamente alle gestanti nell'ambito della consulenza genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.

### 6.2.2 Visita Ostetrica

Il giorno dell'appuntamento stabilito dal CUP, la gestante si recherà presso l'UOC di Ginecologia e Ostetricia dei P.O. di appartenenza (Ragusa, Modica o Vittoria) per effettuare la Visita Ostetrica pre-amniocentesi, che prevede, altresì, la valutazione completa di tutte le fasi propedeutiche all'esecuzione della Diagnosi Prenatale Invasiva, la sottoscrizione del consenso informato all'esecuzione dell'esame invasivo e la seguente prescrizione:

- 1) Prescrizione medica con il codice PAC384

### 6.3 AMNIOCENTESI

Il giorno concordato per l'amniocentesi, la gestante, si recherà presso gli sportelli ticket dell'Ospedale con le prescrizioni mediche (prescrizione PAC384 e prescrizione analisi genetica), e completata la procedura amministrativa, si recherà presso l'ambulatorio di Ginecologia per sottoporsi al prelievo di Liquido Amniotico.

Ai fini di un ottimale processamento del campione in laboratorio è necessario prelevare tramite puntura transaddominale, sotto controllo ecografico, circa 20 ml di liquido amniotico, da suddividere in tre provette (sterili da 15 ml a fondo conico, trasparenti).

La componente cellulare del liquido amniotico viene raccolta e suddivisa in più colture cellulari parallele ed indipendenti; un ottimale allestimento delle colture cellulari dipende dal numero di cellule vitali presenti nel campione, per quest'ultima ragione è consigliabile effettuare il prelievo di liquido amniotico non prima della 16<sup>a</sup> settimana di gestazione (preferibilmente tra la 16<sup>a</sup>+3 e la 17<sup>a</sup>+3).

Il prelievo di liquido amniotico espone la gestante ad un rischio abortivo di circa 0.5%, che risulta essere leggermente superiore al rischio di aborto spontaneo nella stessa epoca gestazionale nelle donne che non eseguono l'amniocentesi.

L'impossibilità di pervenire ad una diagnosi può verificarsi in rarissimi casi, per motivi generalmente correlati ad una ridotta crescita delle cellule in coltura oppure alla massiva presenza di sangue o meconio.

Di solito i risultati diagnostici sono disponibili dopo circa 21 giorni dalla data di arrivo del campione in laboratorio; tuttavia i tempi relativi alla crescita cellulare in coltura possono variare notevolmente da caso a caso.

#### Preparazione dei campioni Biologici:

E' opportuno che i 20 ml di Liquido amniotico (LA) prelevato vengano aliquotati in n° 3 provette (tipo Falcon da 15 ml, tappo a vite, a fondo conico trasparenti), suddivisi come segue:

	1° provetta	2° provetta	3° provetta
20 ml di Liquido Amniotico (LA) suddivisi	circa 10 ml di LA	circa 5 ml di LA	circa 5 ml di LA

Inoltre i campioni di Liquido Amniotico devono essere sempre accompagnati dal prelievo ematico della gestante (2 provette in EDTA "da emocromo" tappo lilla) e ove possibile anche del partner (2 provette in EDTA "da emocromo" tappo lilla), al fine di:

- 1) Escludere l'eventuale contaminazione di origine materna, nei campioni di liquido amniotico lievemente ematici o francamente ematici (raccomandazioni SIGU);
- 2) Stabilire l'eventuale segregazione di una Variazione del numero di copie (CNV) riscontrata nel campione fetale.

Provetta Sangue periferico in EDTA "da emocromo" tappo lilla	1° provetta	2° provetta
Gestante	circa 3 ml di SP	circa 3 ml di SP
Partner	circa 3 ml di SP	circa 3 ml di SP



3 provette di  
Liquido amniotico  
circa 20 ml Totali

+



2 provette di  
Sangue periferico  
(Madre/Padre)

+

Documentazione  
Modulo di Richiesta  
Consensi informati

## 6.4 INVIO DEL CAMPIONE BIOLOGICO IN LABORATORIO

I campioni di materiale biologico (Liquido Amniotico e prelievi ematici) devono essere consegnati alla Sezione di Laboratorio di Genetica Medica dell'UOC Laboratorio Analisi P.O. Giovanni Paolo II di Ragusa nel giorno prestabilito e concordato tra i Responsabili del Servizio di Diagnosi Prenatale e il Responsabile del Laboratorio, qualsiasi variazione del giorno dei prelievi deve essere concordato da entrambe le parti.

**Il giorno di esecuzione dei prelievi di Liquido amniotico è il Martedì, i campioni devono essere trasportati a temperatura ambiente, lo stesso giorno dell'esecuzione del prelievo e consegnati in laboratorio entro e non oltre le ore 12:00.**

I campioni biologici devono essere sempre accompagnati dai seguenti documenti:

- 1) il modulo di richiesta analisi (Mod-001) (compilato nell'ambito della consulenza genetica);
- 2) il consenso informato relativo all'analisi da eseguire (Mod-002 e/o 004 e/o 005 o altro)
- 3) Ricevuta di pagamento delle prestazioni presso gli sportelli ticket dell'ASP di Ragusa.

\*In casi eccezionali, previo accordo con il laboratorio, il centro inviante può utilizzare una modulistica diversa rispetto a quella convenzionale a condizione contenga tutti i dati richiesti dal laboratorio accettante.

### 6.4.1 Registrazione dei campioni biologici

I campioni biologici possono essere accettati da tutti gli operatori (Dirigenti Sanitari, Biologi specializzandi e TSLB) afferenti alla sezione di laboratorio di genetica medica.

L'operatore che accetta il campione deve verificare i criteri di accettabilità del campione, ovvero:

- 1) deve controllare la corrispondenza tra il nome e cognome presente sul campione stesso e quello presente sulla richiesta di analisi relativa e sul consenso informato, l'integrità del contenitore, la quantità e l'aspetto del campione.
- 2) deve controllare la presenza di tutti i documenti necessari allo svolgimento dell'analisi.

Una volta constatata l'idoneità del campione, l'operatore appone una sigla dal sul modulo di richiesta (Mod-001) validando in tal modo la stessa.

In caso di campione **non idoneo** si procede in maniera differente in base al tipo di non conformità:

- **Non idoneità di tipo documentale:** si verifica in caso di mancanza di uno o più documenti necessari, oppure, quando c'è una discordanza tra i dati presenti sui documenti e quelli presenti sulla provetta (es. nome o cognome differenti o non corretti oppure data di nascita differente). In questi casi i campioni vengono accettati con riserva di tipo documentale ed ugualmente processati, mentre si comunica il problema al centro di invio.

La lavorazione sul campione viene eseguita in quanto si tratta un'analisi irripetibile e di campione deteriorabile. La refertazione non verrà eseguita fin quando non viene risolta la non conformità documentale.

- **Non idoneità di tipo biologico:** un campione viene considerato non idoneo, dal punto di vista biologico, se presenta le caratteristiche riportate nel Modulo 021 (in allegato) in base al tipo di esame da effettuare.

La non idoneità del campione viene segnalata sull'apposita scheda.

Quando un campione non è idoneo dal punto di vista biologico per l'indagine richiesta, si comunica la non conformità dello stesso al Direttore della UOC Ginecologia e Ostetricia e/o a un suo delegato e/o al paziente. Tale non conformità verrà annotata sul referto finale.

Indipendentemente dal tipo di non idoneità riscontrata, viene eseguita una Non Conformità dei campioni in ingresso e registrati sulla tabella delle non conformità.

Tutti i campioni in ingresso vengono registrati in entrata sul sistema gestionale di laboratorio, che prevede la registrazione univoca di tutti i campioni. Tale registrazione genera un codice univoco per ogni campione. Tale codice viene riportato anche sui rispettivi moduli di richiesta di analisi e accompagnerà il materiale in esame durante ogni singola fase di laboratorio fino alla refertazione ed archiviazione.

### 6.4.2 Gestione delle analisi in urgenza

Nella fase di registrazione dei campioni sul gestionale, vengono identificate eventuali urgenze riportate sul modulo di richiesta dallo specialista che raccoglie l'anamnesi del paziente.

Per le suddette analisi in urgenza, pur rispettando tutte le procedure analitiche d'analisi, verrà garantita una corsia preferenziale di processamento, secondo quanto previsto dalle linee guida della SIGU (Società Italiana di Genetica Umana).

### 6.4.3 Richiesta analisi aggiuntive

L'eventuale DNA genomico residuo viene conservato in laboratorio per circa un anno solare (come da autorizzazione espressa dalla gestante sul consenso informato). Tale condizione permetterà di soddisfare eventuali esigenze di analisi aggiuntive, compatibilmente con la qualità e quantità del DNA residuo.

### 6.4.4 Fase Analitica

La sezione di laboratorio di genetica medica dispone di un elenco di prestazioni, a ciascuna delle quali corrisponde un protocollo di lavoro (SOP) che descrive ogni singola fase in cui si articola il processo di analisi.

Le analisi sui campioni di liquido amniotico che vengono eseguite sono:

- QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) attraverso cui in circa 72 ore si escludono le trisomie omogenee dei cromosomi 13, 18 e 21 e si studia il sesso fetale X, Y.
- Cariotipo convenzionale (tempi di refertazione di circa 21 gg).
- Array-CGH (cariotipo molecolare *targhettato* o *genomico*) in base all'indicazione all'analisi (tempi di refertazione di circa 21gg).

Sulla base di eventuali prescrizioni aggiuntive verranno effettuate le analisi previste.

### 6.4.5 Validazione dei risultati

L'interpretazione e la validazione dei risultati delle indagini di laboratorio, vengono riportate su appositi fogli di lavoro (specificati nelle rispettive SOP), e validate con una sigla dall'operatore o dagli operatori che hanno condotto l'analisi.

### 6.4.6 Conferma dei risultati patologici

L'identificazione di risultati anomali può richiedere l'utilizzo di test di conferma differenti a seconda della metodica utilizzata e della patologia studiata. Tali procedure sono riportate all'interno di ogni singolo protocollo di lavoro (SOP) che descrive ogni fase in cui si articola il processo di analisi e le conferme eseguite.

### 6.4.7 Refertazione

Il referto da consegnare al paziente viene redatto a cura del Dirigente che ha condotto l'analisi e dal Referente della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica e deve sempre riportare:

- la data di refertazione
- i dati anagrafici del paziente (cognome, nome e data di nascita)
- il codice identificativo attribuito al campione analizzato
- la data di arrivo del campione e il tipo di materiale biologico analizzato
- l'aspetto del campione all'arrivo (dove applicabile)
- indicazioni all'indagine
- metodo e analisi eseguita
- tecnica di studio
- medico e/o struttura inviante (se campione proveniente dall'esterno)
- intestazione della struttura che esegue l'analisi
- firma del Dirigente specialista che ha eseguito l'analisi
- firma del Referente della sezione di laboratorio di genetica medica

Inoltre, devono essere indicati in maniera discorsiva e chiara per il paziente i risultati delle indagini e il commento. Per valutare se il referto è stato redatto correttamente viene effettuato un controllo incrociato tra due operatori in modo tale da effettuare un doppio check. Tale referto deve essere successivamente validato dal Dirigente che ha eseguito l'analisi e sottoscritto dal Referente della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica.

## 6.5 COMUNICAZIONE E CONSEGNA DEI REFERTI

### 6.5.1 Comunicazione e consegna dei referti

Qualsiasi comunicazione relativa all'analisi genetica (eventuale risultato patologico, variazione dei tempi di consegna dei referti o eventuale approfondimento necessario, ecc..) viene sempre preventivamente inoltrata dal Referente della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica al Direttore della UOC di Ginecologia e Ostetricia o a un suo delegato.

A seguito di ciò gli stessi concorderanno le modalità di comunicazione alla gestante.

Il Referente della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica inoltre, provvederà a fornire le informazioni di cui sopra e far pervenire copia dei referti al Direttore della UOS o a suo delegato.

In tutti i casi, indipendentemente da chi effettua la comunicazione verbale alla gestante, tutti i referti sia con esito positivo sia con esito negativo, vengono consegnati direttamente alle gestanti nell'ambito della consulenza genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.

In particolar modo sulla base degli esami stabiliti nell'ambito della Consulenza Genetica pre-test, la comunicazione dei risultati prevede:

1. Per l'analisi di QF-PCR (l'analisi in grado di identificare in circa 72 ore le trisomie omogenee dei cromosomi 13, 18 e 21 e il sesso fetale X, Y), in caso di esito negativo non prevede il ritiro del referto alle 72 ore, ma la comunicazione telefonica effettuata dal Laboratorio di Genetica e/o dalla Ginecologia, sulla base degli accordi tra le parti.  
Lo stesso esame con esito positivo prevede la comunicazione telefonica da parte del Ginecologo e il ritiro del referto consegnato direttamente alla gestante nell'ambito di una consulenza genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.
2. Per l'analisi del Cariotipo e/o di array CGH o altro (con tempi di refertazione di circa 21 gg) i referti dell'analisi genetica verranno consegnati alle gestanti nell'ambito di una consulenza genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.

I risultati vengono di norma rilasciati alla gestante, in alternativa, solo in caso di impedimento per la gestante di recarsi fisicamente in Ospedale, il referto può essere consegnato anche a terzi purché forniti di delega scritta e firmata dal delegante e fotocopia di entrambi i documenti di riconoscimento.

La consegna del referto viene registrata sul registro delle consegne o sulla copia del referto stesso che verrà conservata in apposito archivio.

## 7. DOCUMENTI ALLEGATI

**MOD-001** Modulo di richiesta analisi genetica

**MOD-002** Scheda informativa per la diagnosi citogenetica prenatale su cellule di Liquido Amniotico

**MOD-004** Scheda informativa per l'esecuzione del test mediante array-CGH Genomico per la caratterizzazione di patologie fetali della gravidanza

**MOD-005** Scheda informativa per l'esecuzione del test mediante array-CGH targhettato EASYCHIP per le gravidanze a basso rischio

**MOD-020** Indicazioni alla Diagnosi Prenatale Invasiva

**MOD-021** Caratteristiche di Conformità di tipo biologico dei campioni biologici per Test Genetici

**MOD-022** Modalità Prescrizione dei Test Genetici relativi alla Diagnosi Prenatale Invasiva

## 8. FLOW CHART

Le gestanti che intendono sottoporsi alla diagnosi prenatale invasiva mediante AMNIOCENTESI, si possono rivolgere ai Ginecologi che operano in tutte le Strutture Sanitarie sia pubbliche (Consultori, Ambulatori, Ospedale) che private presenti nel territorio, che valutata l'indicazione alla Diagnosi Prenatale Invasiva mediante Amniocentesi per la gestante (stabiliti nel D.M. 10 settembre 1998 ad oggi ancora in uso in Regione Sicilia, in quanto il nuovo D.P.C.M. 12 gennaio 2017 non è stato ancora adottato in Regione Sicilia, in allegato), effettueranno le seguenti prescrizioni, per la gestante:

- Visita Ostetrica
- Consulenza Genetica
- Esami ematici: HBsAg, HCV, HIV, Gruppo Sanguigno, Test di Coombs indiretto, anticorpi anti-Citomegalovirus (IgG ed IgM) e anticorpi anti-Toxoplasma (IgG ed IgM)

Le gestanti, a seguito della prescrizione sopraindicate dovranno contattare il CUP (Centro Unico Prenotazione) dell'ASP di Ragusa per effettuare la prenotazione per l'AMNIOCENTESI. Le informazioni che le gestanti dovranno fornire agli operatori del CUP sono:

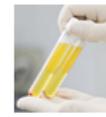
- o Le prescrizioni di cui sopra;
- o La corretta datazione dell'epoca gestazionale (per es. 12 settimane+4gg, e/o data U.M. ecc.);
- o Il P.O. di appartenenza Ragusa, Modica e Vittoria dove desiderano eseguire l'amniocentesi.

Il CUP procederà alla prenotazione delle suddette prestazioni tenendo conto della settimana di gestazione, inserendo le stesse in un arco di tempo che va dalla 14<sup>a</sup> settimana alla 16<sup>a</sup> settimana di gestazione.

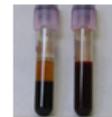
Nel giorno dell'appuntamento stabilito dal CUP, la gestante si recherà presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. del Giovanni Paolo II per effettuare la Consulenza Genetica pre-test. Il genetista, effettuerà la consulenza genetica e stabilirà il percorso diagnostico più appropriato con la prescrizione degli esami da eseguire.

Il giorno dell'appuntamento stabilito dal CUP, la gestante si recherà presso l'UOC di Ginecologia e Ostetricia dei P.O. di appartenenza (Ragusa, Modica o Vittoria) per effettuare la Visita Ostetrica pre-amniocentesi, che prevede, altresì, la valutazione completa di tutte le fasi propedeutiche all'esecuzione della Diagnosi Prenatale Invasiva, la sottoscrizione del consenso informato all'esecuzione dell'esame invasivo e la prescrizione medica con il codice PAC384

Il giorno concordato per l'amniocentesi, la gestante, si recherà presso gli sportelli ticket dell'Ospedale con le prescrizioni mediche (prescrizione PAC384 e prescrizione analisi genetica), e completata la procedura amministrativa, si recherà presso l'ambulatorio di Ginecologia per sottoporsi al prelievo di Liquido Amniotico.



3 provette di  
Liquido amniotico  
circa 20 ml Totali



2 provette di  
Sangue periferico (Madre/Padre)

Documentazione  
Modulo di Richiesta  
Consensi informati

Il giorno di esecuzione dei prelievi di Liquido amniotico è il martedì, i campioni devono essere trasportati a temperatura ambiente, lo stesso giorno dell'esecuzione del prelievo e consegnati in laboratorio entro e non oltre le ore 12:00.

QF-PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction) 4  
Analisi in 48/72 ore della trisomia dei cromosomi  
13, 18 e 21 e X, Y

Nei feti di sesso femminile in presenza di campione ematico  
l'esclusione di contaminazione materna



Cariotipo Convenzionale  
Analisi del Cariotipo Convenzionale dopo 21gg

Sindrome*	11q deletion syndrome (Jacobson)
1p36 deletion syndrome	14q12 microdeletion syndrome
1q41/q42 microdeletion syndrome	15q11q13 deletion syndrome (Prader-Willi)
2p15.1 microdeletion syndrome	15q13q13 deletion syndrome (Kagerman)
2q23.1 microdeletion syndrome	15q24 deletion syndrome
2q33.1 deletion (Glass syndrome)	15q24 duplication syndrome
2q37 deletion syndrome	16p deletion syndrome (AF6, 16)
3pter p21.3 deletion syndrome	16q24.1 microdeletion syndrome
3q29 deletion syndrome	17p13.3 deletion syndrome (Miller dieler)
3q29 duplication syndrome	17p11.2 deletion syndrome (Smith-Magenis)
4p16.3 deletion syndrome (Wolf-Hirschhorn)	17p11.2 duplication syndrome (Potocki-Lupski)
4q21 deletion syndrome	17q11.2 deletion syndrome
5p deletion syndrome (Cri du chat)	17q11.2 duplication syndrome
9q14.3 deletion syndrome	17q21.31 deletion syndrome (Koolen-De Vries)
9q38 deletion syndrome (Schoen)	17q21.31-q21.2 deletion syndrome
6q13-q24 deletion syndrome	18q11.23 deletion syndrome (DeGeorge)
7q11.23 deletion syndrome (Williams-Beuren)	22q11.2 duplication syndrome
7q11.23 duplication syndrome	22q11.2 distal deletion syndrome
8p23.1 deletion syndrome	22q11.23 deletion syndrome (Langer-Giedion)
8p23.1 duplication syndrome	22q11.23 deletion syndrome (DiGeorge)
8q21.1 deletion syndrome	22q11.23 duplication syndrome
8q21.1 microdeletion syndrome	22q11.23 distal deletion syndrome
8q24.3 deletion syndrome (Langer-Giedion)	Xp11.3 deletion syndrome
10q26.3 deletion syndrome (Kleefstra)	Xp11.23 microduplication syndrome
10p14p13 deletion syndrome (CGGeorge tipo 2)	Xq12 deletion syndrome
11p13 deletion syndrome (WAGR)	Xq22.3 deletion syndrome (AMME COMPLEX)
11p11.2 deletion syndrome (Potocki-Shaffer)	Xq28 duplication syndrome

Cariotipo Molecolare  
Analisi di array-CGH dopo 21 gg circa  
Targhettato (bassa risoluzione nelle gravidanze a basso  
rischio)  
Genomico (alta risoluzione nelle gravidanze ad alto rischio)

### COMUNICAZIONE DEI RISULTATI E CONSEGNA DEI REFERTI

Qualsiasi comunicazione relativa all'analisi genetica (eventuale risultato patologico, variazione dei tempi di consegna dei referti o eventuale approfondimento necessario, ecc..) viene sempre preventivamente inoltrata dal Referente della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica al Direttore della UOC di Ginecologia e Ostetricia o a un suo delegato.

A seguito di ciò gli stessi concorderanno le modalità di comunicazione alla gestante.

Il Referente della Sezione di Laboratorio di Genetica Medica inoltre, provvederà a fornire le informazioni di cui sopra e far pervenire copia dei referti al Direttore della UOS o a suo delegato.

In tutti i casi, indipendentemente da chi effettua la comunicazione verbale alla gestante, tutti i referti sia con esito positivo sia con esito negativo vengono consegnati direttamente alle gestanti nell'ambito della consulenza genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.

In particolar modo sulla base degli esami stabiliti nell'ambito della Consulenza Genetica pre-test, la comunicazione dei risultati prevede:

Per l'analisi di QF-PCR (l'analisi in grado di identificare in circa 72 ore le trisomie omogenee dei cromosomi 13, 18 e 21 e il sesso fetale X, Y), in caso di esito negativo non prevede il ritiro del referto alle 72 ore, ma la comunicazione telefonica effettuata dal Laboratorio di Genetica e/o dalla Ginecologia, sulla base degli accordi tra le parti.

Lo stesso esame con esito positivo prevede la comunicazione telefonica da parte del Ginecologo e il ritiro del referto consegnato direttamente alla gestante nell'ambito di una Consulenza Genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.

Per l'analisi del Cariotipo e/o di array CGH o altro (con tempi di refertazione di circa 21 gg) i referti dell'analisi genetica verranno consegnati alle gestanti nell'ambito di una Consulenza Genetica post-test presso l'UOC Laboratorio Analisi del P.O. Giovanni Paolo II nel giorno stabilito.

I risultati vengono di norma rilasciati alla gestante, in alternativa, solo in caso di impedimento per la gestante di recarsi fisicamente in Ospedale, il referto può essere consegnato anche a terzi purché forniti di delega scritta e firmata dal delegante e fotocopia di entrambi i documenti di riconoscimento.

La consegna del referto viene registrata sul registro delle consegne o sulla copia del referto stesso che verrà conservata in apposito archivio.