

Prenatal diagnosis



Congenital Abnormalities



⌘ Definition: Abnormalities of the neonate, evident at birth. (With the use of antenatal diagnostic tests, these same defects may be detected before birth, and are still classified as congenital defects)

Test di screening

Test diagnostici

Test diagnostici

test che consentono di stabilire una diagnosi o di confermare un sospetto clinico in un individuo già affetto.

Possono essere effettuati durante il periodo prenatale o durante tutto l'arco di vita post-natale.

test genetico

l'analisi a scopo clinico di DNA, RNA, cromosomi, proteine, metaboliti o altri prodotti genici per evidenziare genotipi, mutazioni, fenotipi o cariotipi correlati o meno con patologie ereditabili umane.

La diagnosi prenatale generalmente si può porre in due gruppi di situazioni di rischio:

a) *gravidanze in cui il rischio procreativo è prevedibile “a priori”*, ad esempio:

- età materna avanzata;
- genitore portatore eterozigote di anomalie cromosomiche strutturali;
- genitori portatori di mutazioni geniche

b) *gravidanze in cui il rischio di feto affetto si evidenzia durante la gestazione*, ne sono esempi:

- le malformazioni evidenziate all' ecografia;
- aumentato rischio che il feto sia affetto da sindrome di Down o altra anomalia cromosomica sulla base di screening biochimici
- malattie infettive materne insorte in gravidanza.

Diverse centinaia di malattie genetiche sono oggi diagnosticabili mediante tecniche di genetica molecolare; in questi casi il trofoblasto e' il tessuto di elezione per effettuare la diagnosi prenatale, in quanto e' possibile ottenere DNA in breve tempo ed in quantita' adeguata per l'esecuzione di diagnosi molecolari.

Tuttavia, per alcuni tipi di malattie ereditarie la diagnosi di elezione si basa tuttora su test biochimici su cellule di colture del trofoblasto o di amniociti.

Generalmente la diagnosi prenatale viene richiesta per le più frequenti malattie genetiche (talassemia; fibrosi cistica, sindrome dell' X-fragile, ecc.) o per mutazioni di difetti genici identificati in specifiche famiglie.

Presupposti indispensabili per affrontare correttamente un' indagine fetale per evidenziare malattie genetiche sono i seguenti:

- precisa identificazione del difetto responsabile della malattia e/o dello stato di portatore dei genitori;
- corretta valutazione del rischio procreativo;
- identificazione del metodo più idoneo da utilizzare in epoca prenatale sia per il prelievo di materiale fetale, sia per i test genetici.

Quali malattie sono diagnosticabili in epoca prenatale?

Esistono 4 gruppi principali di patologie fetali, nelle quali è possibile la diagnosi prenatale:

- anomalie cromosomiche

- malattie geniche (tra cui gli errori congeniti del metabolismo e le emoglobinopatie)

- malformazioni congenite

- infezioni fetali

- **Anomalie cromosomiche:** Queste malattie sono causate da alterazioni nel numero (anomalie numeriche o aneuploidie) o nella struttura (anomalie strutturali) dei cromosomi. Possono essere in linea pura, cioè presenti in tutte le cellule dell'individuo o, più raramente, in mosaico, cioè solo in una percentuale variabile di cellule, ed interessare gli autosomi o i cromosomi sessuali .
- **Malattie geniche:** più di 7000 malattie conosciute sono legate ad alterazioni a livello di singoli geni, codificanti la sintesi di proteine strutturali o funzionali anomale.

Tabella. 1 Sindromi cromosomiche più frequenti

Anomalia e Sindrome	Intelligenza	Principali segni generali	Fertilità	Prognosi
Trisomia 21 (S. di Down)	Ritardo mentale (QI=25-50)	Ipotonia, brachicefalia, microcefalia facies tipica, difetti cardiaci nel 40%	Sterilità maschile, subfertilità femminile	Attesa di vita ridotta (<40-50 anni) per la cardiopatia e la predisposizione alla leucemia acuta,
Trisomia 18 (S. di Edwards)	Grave ritardo mentale	Grave ritardo di crescita, facies tipica; difetti cardiaci > 50%, renali 10-50%, intestinali 10-50%	Non raggiungono l'età fertile	Generalmente incompatibile con la vita postnatale
Trisomia 13 (S. di Patau)	Grave ritardo mentale	Oloprosencefalia, anomalie facciali, difetti neurologici nel 50%, cardiaci 80%, renali nel 30%	Non raggiungono l'età fertile	Generalmente incompatibile con la vita postnatale
S. di Klinefelter (47,XXY)	QI normale o lievemente ridotto	Ipogonadismo in soggetto di sesso maschile	Sterilità	Attesa di vita normale. Possibili problemi comportamentali
S. di Turner (45,X)	QI generalmente normale	Sesso femminile. Disgenesia ovarica; bassa statura; pterigium colli; coartazione aortica	Sterilità (fertilità possibile in caso di mosaico)	Attesa di vita normale.
S. del doppio Y (47,YYY)	QI generalmente normale	Sesso. Alta statura	Fertilità normale	Attesa di vita normale. Possibili problemi comportamentali
S. del triplo X (47,XXX)	QI normale o lievemente ridotto	Aspetto fisico normale	Fertilità normale	Attesa di vita normale. Possibili problemi comportamentali

Tabella 2 - Principali malattie geniche diagnosticabili in epoca prenatale con analisi del DNA

Malattia	Modo di trasmissione
Talassemia alfa e beta	AR
Fibrosi cistica	AR
Malattia di Gaucher	AR
Distrofia muscolare di Duchenne	XLR
Sindrome del cromosoma X fragile	XLR
Emofilia A\B	XLR
Sindrome di Marfan	AD
Malattia di Tay-Sachs	AR
GM1- Gangliosidosi	AR
GM2-Gangliosidosi	AR
Rene policistico dell' adulto tipo 1	AD
Ipofosfatasia	AR
MPSI Pfaundler-Hurler	AR
MPAIII Pfaundler-Hurler	AR
MPSIV Morquio	AR
Sindrome surreno genitale	AR
Malattia di Krabbe	XLR
MPS II Hunter	XLR
Sindrome di Wiskott-Aldrich	XLR
Sindrome di Lowe	XLR
Malattia di Niemann-Pick	AR
Deficit di alfa-1-antitripsina	AR
Acidemia propionica	AR
Condrodisplasia puntata	AR
Atrofia muscolare spinale SMA II	AR

AR= autosomica recessiva; AD= autosomica dominante; XLR= X-linked recessiva

- **Malformazioni congenite:** circa il 2% dei neonati è affetto da un difetto morfologico, che può interessare un singolo organo o distretto del corpo, o presentarsi in associazione ad altre malformazioni e spesso anche a deficit mentali e motori, configurando talora vere e proprie sindromi. Le cause di tali problematiche possono essere molteplici e comprendono anomalie cromosomiche, difetti genetici, esposizione a teratogeni (farmaci, radiazioni, virus o malattie materne come il diabete o l'epilessia).

- **Infezioni fetali:** Alcuni agenti infettivi possono rendersi responsabili di infezioni nel prodotto di concepimento, tali da produrre anomalie, disfunzioni d'organo, difetti dell'accrescimento e talora anche la morte in utero. Le principali tra queste, che possono essere anche diagnosticabili in epoca prenatale con differenti modalità (analisi del DNA, indagini immunoematologiche, evidenziazione diretta o in coltura dell'agente patogeno, dimostrazione ecografica di eventuali anomalie fetali) sono rappresentate da: rosolia, toxoplasmosi, infezione da citomegalovirus, varicella, infezione da parvovirus B19.

Tabella 4: Fattori di rischio nelle anomalie congenite

MALATTIE DIAGNOSTICABILI	FATTORE DI RISCHIO PRINCIPALE
Anomalie numeriche dei cromosomi somatici o sessuali	Non disgiunzione meiotica o mitotica, favorita dalla età materna
Anomalie strutturali dei cromosomi	Genitore portatore di anomalia cromosomica strutturale bilanciata (molti casi insorgono però de novo)
Malattia genica a trasmissione autosomica dominante*	Genitore affetto dalla malattia (portatore del gene)
Malattia genica a trasmissione autosomica recessiva*	Genitori entrambi portatori sani del gene patologico (spesso riconosciuti dopo nascita di un figlio o parente affetto)
Malattia genica a trasmissione X-linked (legata al cromosoma X)*	Madre portatrice del cromosoma X con il gene patologico (spesso identificata attraverso un parente maschio affetto: figlio, fratello o padre)
Infezione fetale	Infezione materna recente in gravidanza

*legata ad un difetto genico noto, identificabile mediante analisi biochimiche o del DNA

Tabella 5: Frequenza della sindrome di Down osservata alla nascita in funzione dell'età materna

Età materna	Frequenza alla nascita	Età materna	Frequenza alla nascita
20	1\1025	33	1\386
21	1\1012	34	1\318
22	1\994	35	1\258
23	1\971	36	1\206
24	1\942	37	1\163
25	1\906	38	1\127
26	1\881	39	1\98
27	1\863	40	1\76
28	1\751	41	1\58
29	1\683	42	1\44
30	1\610	43	1\33
31	1\535	44	1\25
32	1\459	45	1\19

da Snijders RJM et al., Prenat Diagnos 14:543-52; 1994.

Tabella 6: Incidenza alla nascita delle principali anomalie cromosomiche

ANOMALIE CROMOSOMICHE	INCIDENZA ALLA NASCITA / 1000
Trisomia 13 (S. di Patau): 47, +13	0,07
Trisomia 18 (S. di Edwards): 47, +18	0,12
Trisomia 21 (S. di Down): 47, +21	1,5
Altre anomalie autosomiche	0,4
S. di Klinefelter : 47,XXY o mosaici	2,0
S. di Turner, 45,X o mosaici	0,4
S. del triplo X, 47,XXX	0,65
S. del doppio Y: 47,XYY	1,5
TUTTE LE ANOMALIE CROMOSOMICHE	6,6

Dai dati di Emery AE e Rimoin DL (1983) e Fuhrmann WA e Vogel F (1983)

INDICAZIONI CROMOSOMICHE	<p>Età materna avanzata (> 35 anni)</p> <p>Genitore portatore di anomalia cromosomica bilanciata</p> <p>Positività ad un test di screening prenatale</p> <p>Motivazioni personali</p>
INDICAZIONI AD ANALISI BIOCHIMICHE O DEL DNA §	<p>Genitori portatori di malattia genica recessiva</p> <p>Genitore affetto da malattia genica dominante</p> <p>Madre portatrice di malattia X-linked</p> <p>Rischio di infezione fetale (diagnosticabile con analisi del DNA)</p>

§ analisi eseguibili generalmente previo studio familiare dei casi e spesso solo in alcuni laboratori specializzati per singole malattie geniche.

- età materna avanzata (>35 anni)

Chi sottoporre ad indagine invasiva ?

- precedente figlio affetto da anomalia

cromosomica

- genitore portatore di riarrangiamento

strutturale dei cromosomi

- familiarità per malattie genetiche

- diagnosi di sesso per malattia genetica legata

al cromosoma X

- familiarità per malattie congenite del

metabolismo

- anomalie strutturali del feto all'esame

Maternal Age	Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13
15 - 19	1:1600	1:17000	1:33000
20 - 24	1:1400	1:14000	1:25000
25 - 29	1:1100	1:11000	1:20000
30 - 34	1:700	1:7100	1:14000
35 - 39	1:240	1:2400	1:4800
40 - 44	1:70	1:700	1:1600
45 - 49	1:20	1:650	1:1500

Antenatal Diagnosis



⌘ Methods available

☑ ultrasound

☑ amniocentesis

☑ chorionic villous sampling

☑ cordocentesis

Antenatal Diagnosis



⌘ SCREENING ≠ DIAGNOSIS

Antenatal Diagnosis

⌘ Diagnostic tests

- ☑ ultrasound
- ☑ amniocentesis
- ☑ CVS
- ☑ cordocentesis

⌘ Screening tests

- ☑ ultrasound
 - ☒ nuchal translucency (NT)
- ☑ maternal serum
 - ☒ 2nd trimester
 - ☒ 1st trimester
- ☑ ? fetal cells in maternal circulation (in the future)

Amniocentesi



A cosa Serve:

- ⌘ Serve soprattutto per identificare alterazioni Numeriche e di struttura dei Cromosomi (Cromosomopatie) .
- ⌘ Nei casi in cui venga diagnosticato una cromosomopatia la coppia può richiedere l'aborto terapeutico qualora il proseguimento della gravidanza, costituisca un grave pericolo per la salute fisica e psichica della madre (Legge n. 194/78).

Amniocentesi (Classica)

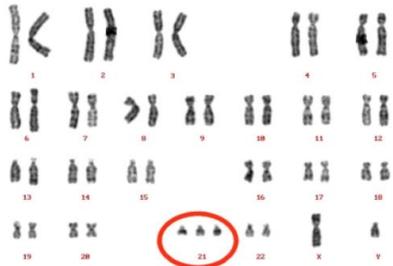
Prelievo di liquido amniotico mediante una puntura con ago sottile attraverso la parete addominale. sotto controllo ecografico. Non è necessaria l' anestesia. Non occorre digiuno.

Verrà richiesta la firma per il consenso informato.

La gestante dovrà portare copia del gruppo sanguigno documentato da un laboratorio.

Verrà eseguita la Profilassi anti D alle gestanti Rh negative.

Di solito si esegue Ambulatoriamente intorno alla 16 - 17 settimane di gravidanza.



Mapa cromosomica di un feto affetto da Trisomia 21

(Evidenziati i 3 cromosomi 21)

Amniocentesi e Villocentesi

Liquido amniotico

Villi coriali

Prelievo
attraverso
la parete uterina
(amniocentesi e villocentesi)



AMNIOCENTESI

Indicazioni:

Età materna uguale o superiore a 35 anni alla data del concepimento

Rischio aumentato rilevato con test di screening

Precedente figlio con anomalie cromosomiche

Esami complementari che vengono eseguiti insieme:

Dosaggio Alfafetoproteina del liquido amniotico per la diagnosi di difetti del tubo neurale o della parete addominale del feto.

Rischi dell'amniocentesi

il rischio di aborto viene generalmente quantificato nello 0,5-0,7%, cioè un caso ogni 150-200 procedure. Il rischio è legato soprattutto alla rottura delle membrane che può occorrere entro 2-3 giorni dall'esame. Tale rottura appare legata principalmente ad una intrinseca fragilità delle membrane oppure ad infezioni latenti che si riaccendono con il trauma del prelievo.

Altre possibili complicanze sono le infezioni (amniotiti), lo scolo intermittente di liquido ed i danni fetali (eccezionali).

.

Antenatal Diagnosis

⌘ Diagnostic tests - **CVS**

- ☑ Performed between 10+ and 12 weeks',
(although placental biopsy can be used until early 3rd trimester)
- ☑ Trans abdominal or trans cervical approach
- ☑ Placental tissue obtained
 - ☒ karyotype
 - ☒ genetic testing (known gene defects)
- ☑ Risk of miscarriage: $\pm 1\%$

PRELIEVO DEI VILLI CORIALI

_Il prelievo dei villi coriali consiste in un prelievo di tessuto placentare. Tale struttura deriva dallo stesso uovo fecondato che si differenzia in embrione, placenta e membrane. Il patrimonio genetico contenuto nelle cellule placentari è quindi identico a quello dell'embrione e può essere utilizzato per gli stessi scopi dell'amniocentesi.

Come si esegue : L'esame viene eseguito sotto controllo ecografico, per via *transaddominale*, e prevede che il sottile ago sia spinto lungo la placenta, parallelamente alle membrane per minimizzare il rischio di perforazioni, e quindi si aspirino i villi con un ripetuto movimento di va e vieni. l'esame è pressochè indolore e dura solamente pochi secondi (circa 20).

Il materiale aspirato viene subito posto in una capsula sterile per valutarne la quantità e, qualora questa sia insufficiente, si procede ad una seconda aspirazione (eventualità rarissima).

PRELIEVO DEI VILLI CORIALI



Indicazioni : Le indicazioni più frequenti sono l'analisi citogenetica e l'analisi del DNA fetale. Con il materiale prelevato si allestiscono due colture cellulari, la prima delle quali ci consente di avere, dopo soli tre giorni, un risultato preliminare che ha una attendibilità del 95%. A distanza di qualche altro giorno avremo il risultato definitivo, con un rischio di fallimento colturale inferiore all'1% e paragonabile, quindi, a quello dell'amniocentesi.

Per quanto riguarda l'analisi del DNA le principali indicazioni, come per l'amniocentesi, sono

Emoglobinopatie ,Fibrosi cistica ,Malattia di Duchenne ,X-fragile
accertamento di paternità e moltissime altre, più rare, per le quali si rimanda ai trattati specifici.

In questi casi i tempi diagnostici possono variare fra 7-15 gg.

Rischi della tecnica : Come per l'amniocentesi non esistono rischi materni. Per quanto riguarda il rischio di aborto correlato alla procedura, sulla base dei dati più recenti sembra attestarsi attorno allo 0,7-1%. Più tardivamente viene eseguita la villocentesi, minore sarà il rischio, infatti dopo le 12 settimane i rischi sono veramente bassissimi, probabilmente inferiori a quelli dell'amniocentesi. In realtà il prelievo dei villi coriali è senza dubbio una tecnica che richiede esperienza ed abilità maggiori rispetto all'amniocentesi, e ciò appare evidente se si considera l'enorme differenza nelle dimensioni nei due bersagli (placenta - liquido amniotico). Quindi i risultati ed i rischi sono sensibilmente diversi a seconda dell'esperienza e della manualità dell'operatore.

Per quanto riguarda le sporadiche segnalazioni registrate in passato a proposito di possibili malformazioni fetali correlate alla procedura, bisogna chiarire che l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha stabilito che tale pericolo non sussiste qualora l'esame venga eseguito da un operatore esperto dopo la 10[°] settimana di gestazione.

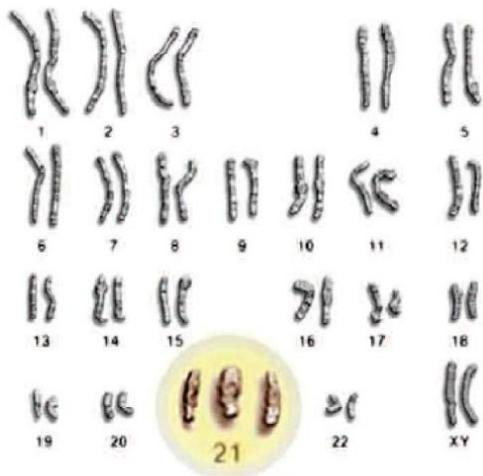


Precauzioni : Come per tutte le procedure invasive l'utilizzo di antispastici, progesterone o tocolitici può essere indicato a partire dal giorno precedente il prelievo e fino a tre o quattro giorni dopo la sua esecuzione.

E' inoltre sconsigliato eseguire l'esame se sono in corso episodi febbrili o minacce d'aborto.

In caso di madre con emogruppo negativo è consigliata l'esecuzione dell'immunoprofilassi anti-D.

Il Cariotipo Fetale TRADIZIONALE



- ✓ **FINALITA'**: evidenziare la presenza di eventuali anomalie cromosomiche fetali.
- ✓ **TECNICA**: comporta la **coltura delle cellule fetali** presenti nel liquido amniotico o nei villi coriali e la valutazione dell'assetto cromosomico tramite l'analisi al microscopio dei cromosomi

Il Cariotipo Fetale TRADIZIONALE

Difficoltà Tecniche

TEMPI LUNGI DI ATTESA PER I RISULTATI

- ✓ Le **colture cellulari** impongono **lunghi tempi di attesa (15-20 giorni)**, necessari per lo sviluppo delle colonie di cellule fetali.
- ✓ E' possibile ottenere una risposta rapida (24/48 ore) **preliminare** dalle aneuploidie cromosomiche più comuni (cromosomi 13, 18, 21, X e Y), mediante la tecnica QF-PCR, ma i risultati sono **parziali** e comunque necessitano di una **conferma** dal cariotipo.

RISCHIO DI MANCANZA DI CRESCITA DELLA COLTURA

- ✓ A volte è possibile che le cellule poste in coltura **non crescano** adeguatamente, con conseguente necessità di ripetizione del prelievo al fine di allestire nuove colture cellulari.
- ✓ Questo problema avviene **1 volta su 500** in caso di cariotipo da liquido amniotico e **1 volta su 100** in caso di cariotipo da villi coriali.

Il Cariotipo Fetale MOLECOLARE

RISULTATI IN SOLI 3 GIORNI



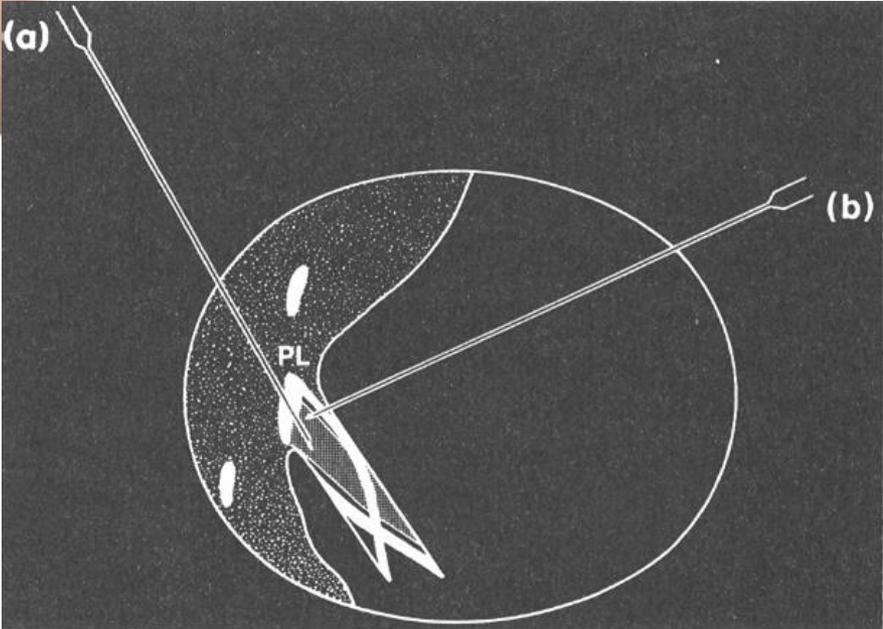
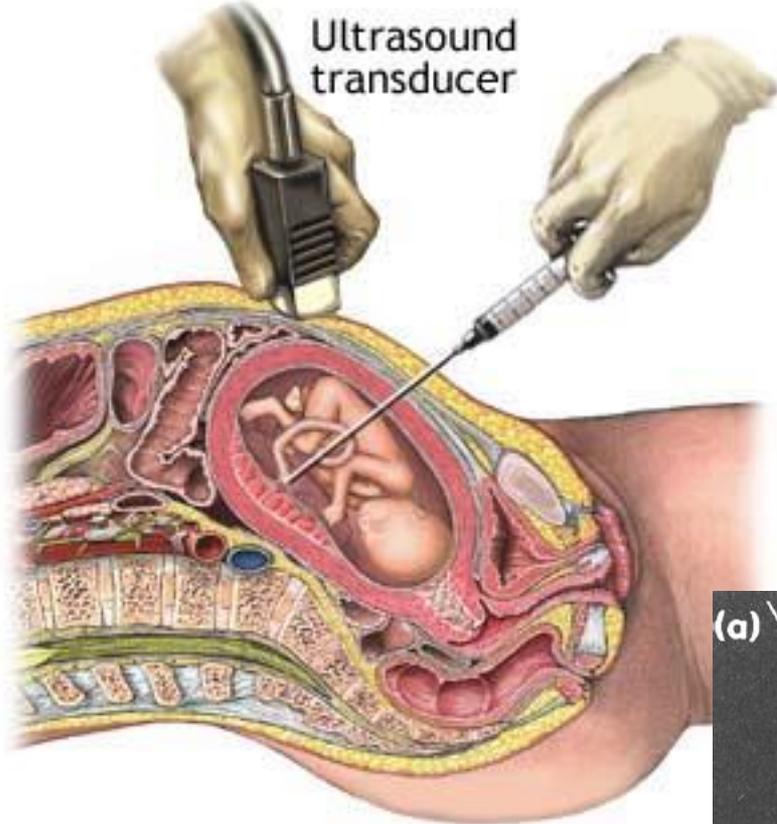
- ✓ Impiegando una tecnica molecolare, che **non necessita di coltura cellulare**, con il Cariotipo Molecolare è possibile ottenere un'analisi cromosomica approfondita in soli **2-3 giorni**, a differenza dei 15-20 giorni necessari con la tecnica tradizionale, riducendo al minimo i tempi di attesa dei risultati.
- ✓ Con indubbi vantaggi:
 - ❖ Esclusione di patologie cromosomiche entro pochi giorni dal prelievo
 - ❖ Riduzione dell'ansietà della gestante
 - ❖ Possibilità di gestire in largo anticipo un'eventuale intervento terapeutico, in caso di risultato patologico

Antenatal Diagnosis

☒ Diagnostic tests - **cordocentesis**

- ☒ (aka PUBS or funicentesis)
- ☒ 22G needle into the umbilical vein
- ☒ 2-3 mls of fetal blood extracted
- ☒ can be examined for
 - ☒ karyotype
 - ☒ Hb concentration (useful in fetal hydrops and Rh disease)
 - ☒ blood gases and pH (used mainly experimentally)
 - ☒ virtually any test done on human blood (but normal values not always available)
- ☒ miscarriage rate :1-2%

CORDOCENTESIS



CORDOCENTESIS

Cordocentesis or percutaneous umbilical blood sampling (PUBS) can be used to obtain fetal blood from as early as 12 weeks gestational age until term, but is usually used after 16 weeks.

Indications for cordocentesis include: fetal karyotyping when congenital malformations or intrauterine growth retardation are identified by ultrasound, viral infections, hematological abnormalities including Rh or other immune hemolytic disease, maternal or fetal platelet disorders, and inborn errors of metabolism.

In addition, physiological assessment of the fetus can be evaluated by measuring components such as fetal blood gases, glucose, and lactate. The procedure can be used for fetal therapy when intravascular transfusions are required, as well as for the introduction of medications for fetal treatment and in the future for fetal therapy protocols.

CORDOCENTESIS: PROCEDURE

- Cordocentesis is an ultrasound-guided freehand or needle guide technique which allows insertion of a 22 gauge spinal needle into the umbilical cord vessels at either the placental insertion of the umbilical cord or into a free loop of umbilical cord.
- Fetal chromosomes can usually be obtained within 48 to 72 hours by culturing fetal white blood cells.
- The technique will vary depending on the placental position as well as fetal position and activity. Depending on the indications for the test and the gestational age of the fetus, one to three ml of blood are removed for analysis.
- Confirmation of fetal blood is required and can be done by an initial Apt test (a bedside test for differentiating fetal from maternal hemoglobin) followed by laboratory confirmation of fetal hemoglobin (Kleihauer).
- The reported success rates for cordocentesis range from 93.7 to 98.5 percent.

ADVANTAGES OF CORDOCENTESIS

The major advantage of cordocentesis is that it allows direct access to the fetus, not only for diagnostic but also for therapeutic management.

DISADVANTAGES AND RISKS OF CORDOCENTESIS

A) PREGNANCY LOSS

Procedure-related pregnancy loss following cordocentesis has been linked to several factors, including procedure indication, fetal distress (bradycardia), and prolonged cord bleeding.

The procedure indication greatly increases the risk of procedure-related pregnancy loss. The procedure-related pregnancy loss risk with fetal anomalies or intrauterine growth restriction is approximately 3.2 percent compared to 1.25 percent in a group of fetuses with normal growth and anatomy. The incidence of post-cordocentesis pregnancy loss with normal fetal structures, abnormal fetal structures, fetal physiological assessment (IUGR), and nonimmune hydrops, excluding therapeutic abortions, was reported to be one, seven, 14, and 25 percent respectively. Other reported factors increasing the risk of fetal loss include longer procedures (more than 14 minutes) and placental position (anterior placenta increased over posterior placenta).

B) FETAL BRADYCARDIA

Fetal bradycardia (fetal distress) at or following the procedure may result in fetal morbidity and mortality. The risk of fetal bradycardia is variable but can be estimated at five to 10 percent. The risk of bradycardia is greater when the umbilical artery is punctured (17%) compared with venous puncture (2%).

C) BLEEDING

Bleeding from the cord puncture site varies from 10 to 40 percent but in the majority of cases the duration is less than 90 seconds.

Metodi di ricalcolo del rischio di anomalia cromosomica fetale

- Triplo test (estriolo+alfaFP+HCG)
- Quadruplo test (triplo test+inibina)
- Translucenza nucale (NT)
- Bitest (free-betaHCG+PAPP-A)
- Test combinato (bitest+NT)
- Test integrato (NT+PAPP-A+quadruplo)

Tabella 3. Test disponibili per la definizione del rischio di sindrome di Down

(Da Saperidoc, disponibile all'indirizzo: <http://www.saperidoc.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/35>)

	<i>NT</i> 10-13 sett*	<i>hCG</i> 10-12 sett*	<i>PAPP-A</i> 10-12 sett*	<i>hCG</i> 14-20 sett*	<i>AFP</i> 14-20 sett*	<i>uE3</i> 14-20 sett*	<i>inibina A</i> 14-20 sett*
Traslucenza nucale (NT)	X						
Test combinato	X	X	X				
Doppio test				X	X		
Triplo test				X	X	X	
Quadruplo test				X	X	X	X
Test integrato sierologico			X	X	X	X	X
Test integrato	X		X	X	X	X	X
	primo trimestre			secondo trimestre			

* si intendono sempre settimane complete

Tabella 4. Valutazione della sicurezza dei vari test diagnostici per la sindrome di Down⁹

<i>Test</i>	<i>Tasso di falsi positivi (FPR)</i>	<i>Numero di perdite di feti non affetti per 100.000 donne</i>	<i>Numero diagnosticato di feti con sindrome di Down per perdite fetali correlate alla procedura</i>
Combinato	6,1%	44	3,9
Doppio	13,1%	94	1,8
Triplo	9,3%	67	2,6
Quadruplo	6,2%	45	3,8
Siero integrato	2,7%	19	9,1
Integrato	1,2%	9	19,2

Antenatal Diagnosis

⌘ Diagnostic &/or Screening tests **Ultrasound (US)**

- ☑ No known risk to fetus
- ☑ can be performed at any stage of pregnancy (although embryo not visible until ± 5 weeks' gestation)
- ☑ requires expensive equipment and good training of personnel
- ☑ Cannot diagnose all congenital abnormalities (due to nature of abnormality, timing of US, size of mother, position of fetus, skill of operator)

Antenatal Diagnosis - ultrasound



- ⌘ Diagnostic test: 18-20 week US
 - ☑ offered to all pregnant women
 - ☑ in most studies detects 50-60% of major abnormalities
 - ☑ Detects structural abnormalities, rarely functional abnormalities
 - ☑ is additionally useful in determining gestational age (± 1 week), number of fetuses and placental site

Antenatal Diagnosis - ultrasound



- ⌘ Screening test: Nuchal translucency (NT)
 - ☑ performed between 10 and 14 weeks'
 - ☑ will detect 54-72% of Down Syndrome (DS) fetuses
 - ☑ enlarged NT measurement more common in fetuses with heart defects

LO SCREENING ECOGRAFICO (TRASLUCENZA NUCALE)

La traslucenza nucale è una piccola raccolta di liquido che si trova sotto la pelle della zona cervico-dorsale in tutti gli embrioni fra le 10 e le 14 settimane di gravidanza. Le ragioni della presenza di tale falda liquida non sono ancora ben chiare, ma si è visto che in presenza di un aumento dello spessore della traslucenza cresce anche il rischio che il feto sia affetto da alcune patologie congenite quali le cromosomopatie, le cardiopatie ed altre sindromi genetiche o malformative.



LO SCREENING BIOCHIMICO

- Possibilità di stimare il rischio che il feto sia affetto da una anomalia dei cromosomi, o da difetti di chiusura della colonna vertebrale come la spina bifida.
- Il calcolo si effettua dosando, nel sangue materno, delle sostanze prodotte dal feto e dalla placenta:
 - HCG, alfafetoproteina, estriolo non coniugato, **TRI TEST** individua circa il 60% dei Down, 5% di falsi positivi.
 - frazione libera beta della HCG (Free-Beta HCG), estriolo non coniugato **DUO TEST**, individua il 70% dei Down sempre con un 5% di falsi positivi.

Anni "90

9-14a settimana di gravidanza,

Dosaggio della Free-Beta HCG e della Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A) presenti nel sangue materno come indicatori precoci del rischio nel primo trimestre

Screening Combinato del primo trimestre (**ULTRASCREEN®**),

- Programma computerizzato che consente l'integrazione dei dati relativi alla biochimica (dosaggio Free-Beta HCG e PAPP-A proteina A plasmatica associata alla gravidanza, sul sangue materno) ,alla misurazione della traslucenza nucale ed all'età materna, ottenendo quello che da molti anni ed ancora oggi è il miglior metodo di screening per la ricerca dei casi a rischio per le anomalie dei cromosomi.
- 11-13 settimana
- L'ultrascreen® consente di individuare il 90% dei casi di anomalie dei cromosomi (Trisomia 21, Trisomia 18, Tris. 13, S. di Turner, et al...) con un 5% di falsi positivi



SCA-TEST®

versione 2.0

Screening Computerizzato Aneuploidie

Screening ecografico e/o biochimico per il calcolo del rischio di aneuploidia fetale nel primo e/o secondo trimestre (valutazione integrata del rischio di aneuploidia fetale associata alla ricerca del DNA fetale)

Cos'è lo SCA-TEST

Lo SCA-TEST è lo Screening Ecografico e/o Biochimico Multiplo e Computerizzato per il Calcolo del Rischio di Aneuploidia Fetale nel Primo e nel Secondo Trimestre di Gravidanza, riconosciuto e pubblicato sulle Linee Guida Nazionali del Programma Nazionale Linee Guida (PNLG).

Il programma ha consolidate potenzialità di calcolo molto articolate e differenziate. Esso consente di eseguire screening completi e combinati attraverso metodi di analisi matematica molto sofisticati che permettono di:

1. eseguire lo screening morfobiometrico del primo trimestre di gravidanza;
2. eseguire il calcolo del rischio nel primo trimestre limitatamente ai parametri biochimici di free beta-hCG e PAPP-A (BI-TEST) misurati con metodiche ed analiti diversificati;
3. eseguire il calcolo COMBINATO biochimico/ biofisico del primo trimestre di gravidanza;
4. eseguire lo screening morfobiometrico del secondo trimestre di gravidanza (sonogramma genetico);
5. eseguire un calcolo del rischio nel secondo trimestre limitatamente ai parametri biochimici AFP, μ E3, hCG, (TRI-TEST);
6. eseguire il calcolo COMBINATO biochimico/ biofisico del secondo trimestre di gravidanza (aggiungendo al tri-test il valore dello screening ecografico del secondo trimestre);
7. eseguire, da ultimo, il calcolo multiplo e combinato di tutte le osservazioni sopra elencate.

Test Ideale per analizzare il patrimonio genetico fetale

- Non invasivo
- Senza rischi materni e fetali
- Accurato
- Basso costo
- Eseguitabile in epoca precoce di gestazione
- Risposta in tempi brevi
- Applicabile su ampia scala

Maternal blood sampling for fetal blood cells

This is a new technique that makes use of the phenomenon of fetal blood cells gaining access to maternal circulation through the placental villi. Ordinarily, only a very small number of fetal cells enter the maternal circulation in this fashion (not enough to produce a positive Kleihauer-Betke test for fetal-maternal hemorrhage).

The fetal cells can be sorted out and analyzed by a variety of techniques to look for particular DNA sequences, but without the risks that these latter two invasive procedures inherently have.

Fluorescence in-situ hybridization (FISH) is one technique that can be applied to identify particular chromosomes of the fetal cells recovered from maternal blood and diagnose aneuploid conditions such as the trisomies and monosomy X.

The problem with this technique is that it is difficult to get many fetal blood cells. There may not be enough to reliably determine anomalies of the fetal karyotype or assay for other abnormalities.

DNA fetale nel circolo materno

PRO

- Riscontro di DNA fetale libero circolante
- Possibilità di eseguire indagini a carattere genetico sul DNA fetale
- Invasività: prelievo ematico materno

CONTRO

- Difficoltà tecniche nel differenziare il DNA fetale da quello materno
- Possibile oggi solo l'analisi genica in feti maschi (cromosoma Y)
- Metodica sperimentale
- Costi elevati

Prospettive

- La presenza di quantità elevate di DNA fetale nel sangue materno sembra associato ad un aumentato rischio di sindrome di Down
- Proposta di utilizzare tale parametro come ulteriore test di screening