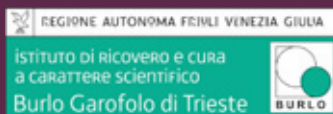


Percorsi di Diagnosi Prenatale

Libretto Informativo

Struttura Semplice Dipartimentale di Ricerca
Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale
Responsabile Prof.ssa Tamara Stampalija



Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico
materno-infantile Burlo Garofolo
Ospedale di alta specializzazione e di rilievo nazionale
per la salute della donna e del bambino

Via dell'Istria 65/1-34137 Trieste - Tel. 040 3785111

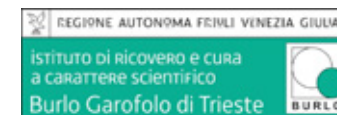
www.burlo.trieste.it

Percorsi di Diagnosi Prenatale

Libretto Informativo

Struttura Semplice Dipartimentale di Ricerca
Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale
Responsabile Prof.ssa Tamara Stampalija

É vietata la riproduzione anche parziale dei contenuti
senza il consenso degli autori.



Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico
materno-infantile "Burlo Garofolo" Ospedale di alta
specializzazione e di rilievo nazionale per la salute
della donna e del bambino.

Via dell'Istria 65/1-34137 Trieste - Tel. 040 3785111

www.burlo.trieste.it

Presentazione

La diagnosi prenatale rappresenta un percorso volto a monitorare lo stato di salute e di benessere fetale durante il corso della gravidanza e si avvale di un insieme di indagini strumentali, di laboratorio e di professionalità multidisciplinari.

L'avvento di nuove tecnologie nell'ambito di diagnostica prenatale ha portato ad un ampliamento delle possibilità diagnostiche e di screening, ma dall'altro lato ha reso più complesso il percorso informativo da parte dei sanitari e decisionale da parte della donna/coppia. La disponibilità di numerosi test di screening o diagnostici e di esami ecografici simili, ma non uguali nella metodica, nei tempi di esecuzione e nei risultati, a volte può rendere la scelta difficoltosa.






Questo libretto si pone l'obiettivo di fornire informazioni sui percorsi di diagnosi prenatale. Il desiderio è di fornire uno strumento utile per approfondimenti, affinché la decisione di sottoporsi o meno alle varie metodiche di diagnosi prenatale sia consapevole delle possibilità, dei limiti e degli eventuali rischi connessi alle metodiche stesse. Tuttavia, le informazioni riportate devono necessariamente andare ad integrarsi con il colloquio prenatale con il Ginecologo, l'Ostetrica o il Medico di Medicina Generale volti anche a riconoscere condizioni particolari in cui si renderà necessaria l'esecuzione di consulenze specifiche e/o di indagini particolari.

Ad integrazione di questo libretto, la SSSR Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale organizza un incontro collettivo informativo in cui vengono spiegati i percorsi principali di diagnosi prenatale. Tale incontro rappresenta un'occasione di confronto con un esperto in diagnostica prenatale.

Trieste, Gennaio 2019

Prof.ssa **Tamara Stampalija**

Indice

| | | |
|--|---|----|
|  | 1. Nozioni generali | 8 |
|  | 2. Test di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti | 28 |
|  | 3. Metodiche Diagnostiche Prenatali Invasive | 52 |
|  | 4. Ecografia ostetrica | 72 |
|  | 5. Altre informazioni utili | 86 |

1

NOZIONI GENERALI

Che cosa è la Diagnosi Prenatale?

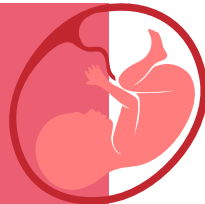
La diagnosi prenatale è una branca dell'ostetricia volta al monitoraggio dello stato di salute e del benessere fetale dalle prime settimane fino al termine della gravidanza mediante l'utilizzo di indagini strumentali e di laboratorio. Lo strumento più utilizzato in diagnosi prenatale è l'**ecografia ostetrica** che costituisce il primo approccio alla valutazione del feto e dei suoi annessi.

Le condizioni di patologia fetale, su cui si può formulare un sospetto diagnostico o una diagnosi di certezza, possono essere di **origine non-genetica** o di **origine genetica**.

Condizioni più frequenti di patologia fetale

Origine non-genetica

- Malformazioni congenite
- Infezioni
- Ritardo di crescita, eccetera



Origine genetica

- Anomalie dei cromosomi
- Microdelezioni o microduplicazioni
- Malattie monogeniche



Che cosa sono le malattie di origine non-genetica?

Le malattie di origine non-genetica comprendono tutte quelle patologie per cui non vi è un accertato nesso con una alterazione cromosomica o genetica. Tali malattie comprendono **malformazioni congenite**, ossia anomalie dello sviluppo di un organo, **ritardo di crescita intrauterino**, **infezioni**, eccetera.

La diagnosi di queste patologie avviene prevalentemente attraverso l'ecografia ostetrica e, in condizioni particolari, mediante altre indagini strumentali quali per esempio la risonanza magnetica nucleare. Questo tipo di malattie e di indagini strumentali verrà descritto dettagliatamente in un capitolo a parte (Capitolo 4).

Che cosa sono le malattie di origine genetica?

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 citogenetiche e genetiche che saranno descritte nei paragrafi successivi.

Che cosa sono i cromosomi e i geni?

I cromosomi sono i "contenitori" delle informazioni genetiche. Nella specie umana i cromosomi sono

46 per ogni cellula, divisi in 23 coppie (**corredo cromosomico**). La 23^a coppia di cromosomi differenzia i due sessi (XX – femmina; XY – maschio). Ogni coppia di cromosomi è formata da un cromosoma di origine materna e uno di origine paterna acquisiti al momento del concepimento. La Figura 1a rappresenta l'analisi citogenetica del corredo cromosomico, il cosiddetto **cariotipo** o **mappa cromosomica**. Semplificando, si può immaginare la mappa cromosomica come una libreria in cui abbiamo 46 libri disposti in 23 coppie, come rappresentato nella Figura 1b.

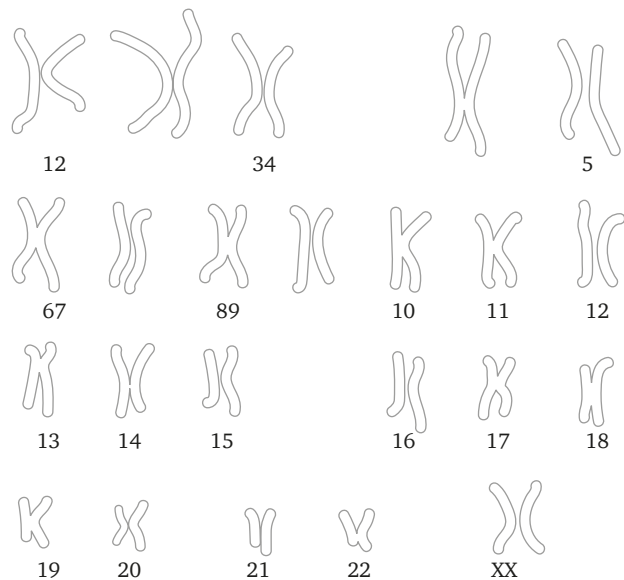


Figura 1a:
Esempio di un cariotipo femminile regolare (sono rappresentate 23 coppie di cromosomi).

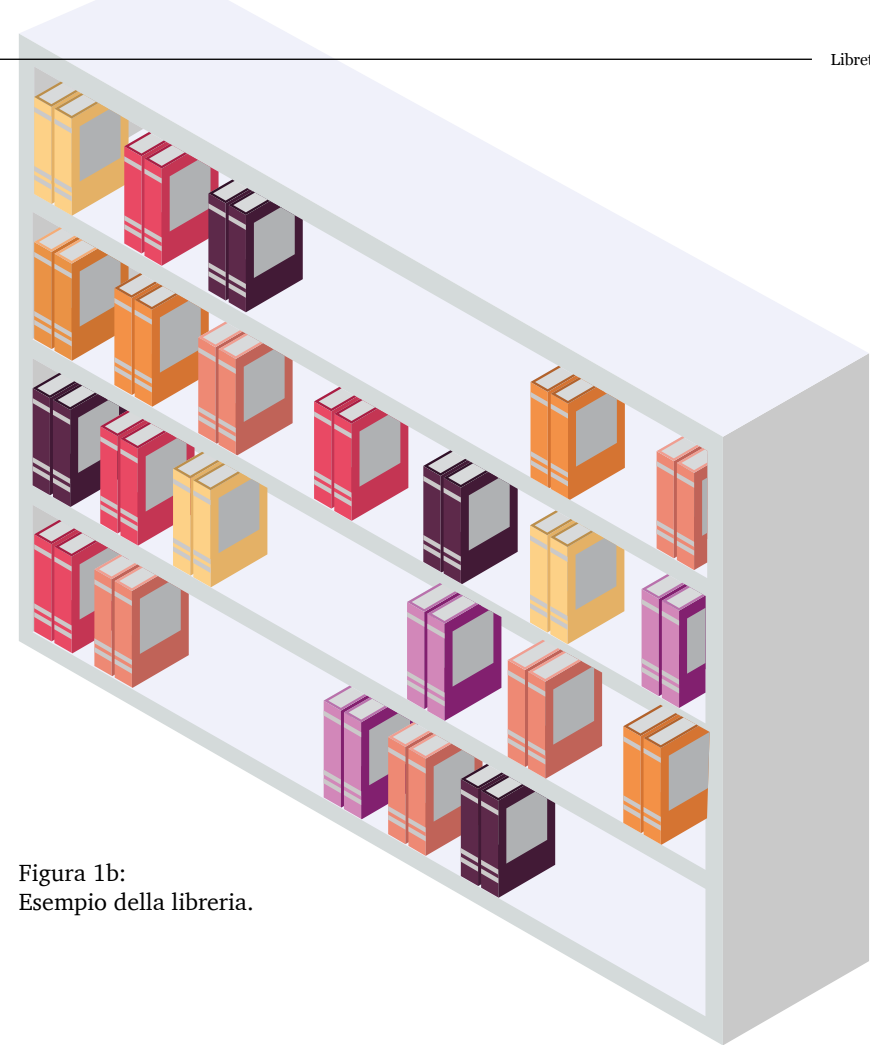


Figura 1b:
Esempio della libreria.

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. Riprendendo l'esempio della libreria, **è possibile immaginare il DNA** **compattato come le pagine di ciascun libro**, e i geni come le parole di ciascuna pagina – Figura 2.

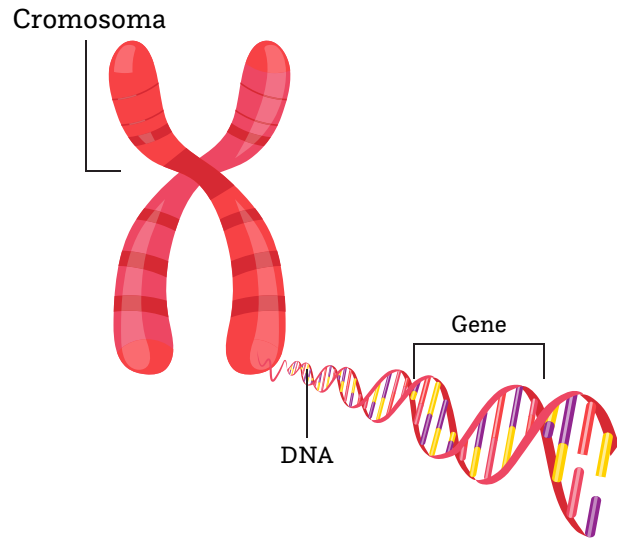


Figura 2:
Esempio di un cromosoma costituito da DNA compattato e da geni.



Si può immaginare il DNA compattato come le pagine di ciascun libro e i geni come le parole di ciascuna pagina.



In linea generale è possibile riconoscere tre grossi sottogruppi di malattie di origine genetica:

ANOMALIE DEI
CROMOSOMI

Alterazione del numero
o della struttura dei
cromosomi

SINDROMI DA
MICRODUPLICAZIONE O
MICRODELEZIONE

Piccoli tratti di DNA che
mancano o sono duplicati

MALATTIE
MONOGENETICHE

Alterazione del
singolo gene

Che cosa sono le anomalie dei cromosomi?

Le anomalie dei cromosomi, dette anche aneuploidie, sono dovute ad una alterazione del numero o della struttura dei cromosomi. Riprendendo l'esempio della libreria, è una alterazione del numero dei libri o della loro forma. Le anomalie dei cromosomi rappresentano la malattia genetica più frequente colpendo quasi l'1% dei neonati. La diagnosi è possibile mediante l'esecuzione del cariotipo fetale su villi coriali (ottenuti mediante villocentesi) o amniociti (ottenuti mediante amniocentesi).

La gravità delle anomalie cromosomiche è variabile e dipende dal cromosoma coinvolto e dal tipo di alterazione. Alcune anomalie cromosomiche sono precocemente letali in quanto associate alla presenza di gravi malformazioni, mentre altre anomalie si correlano ad un'aspettativa e ad una qualità di vita meno sfavorevoli, comportando handicap fisici e mentali di minore entità; altre ancora possono essere del tutto asintomatiche oppure causare infertilità.

Quali sono le anomalie cromosomiche più frequenti?

Le anomalie cromosomiche più frequenti sono la trisomia 21, 18 e 13.

Il termine "trisomia" indica la presenza di un cromosoma in più (sovranumerario), mentre il numero indica il cromosoma coinvolto.

Le trisomie 21, 18 e 13 costituiscono da sole circa il 50-70% delle anomalie del cariotipo (Figura 3), motivo per cui la maggior parte dei test di screening per le anomalie cromosomiche è volta alla ricerca di queste aneuploidie. La frequenza delle tre trisomie più frequenti dipende dall'età materna.

Seguono per frequenza le **anomalie dei cromosomi sessuali**.

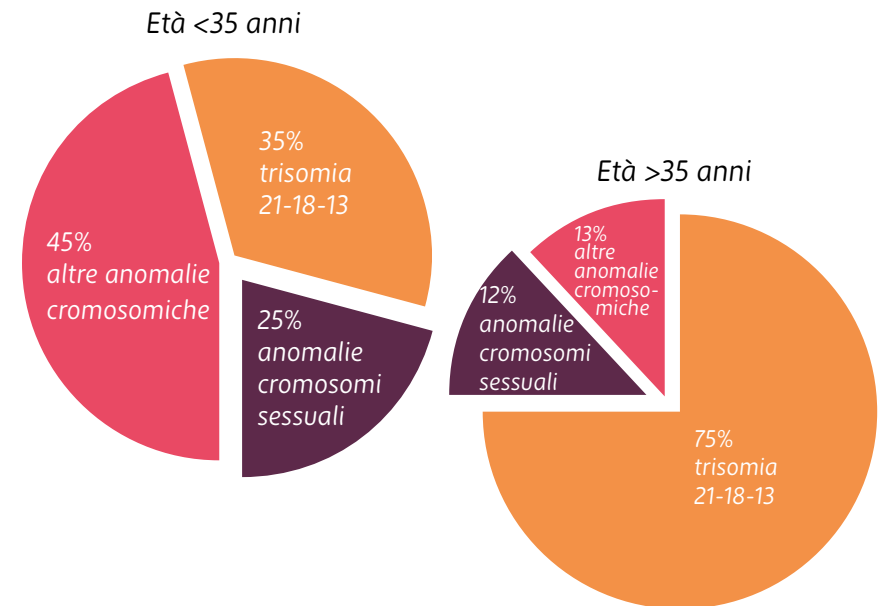


Figura 3:

Le trisomie 13, 18 e 21 sono le anomalie cromosomiche più frequenti e rappresentano circa il 50-70% delle anomalie del cariotipo. La loro frequenza varia a seconda dell'età materna.

Che cosa è la trisomia 21 o sindrome di Down?

La trisomia 21, o la sindrome di Down, è caratterizzata dalla presenza di un cromosoma 21 in più (anziché due) come rappresentato nella Figura 4.

È la causa genetica più frequente di ritardo mentale e si associa ad un aumentato rischio di malformazioni congenite (malformazioni cardiache, intestinali, ecc). Colpisce, nella popolazione generale, circa un neonato su 800.

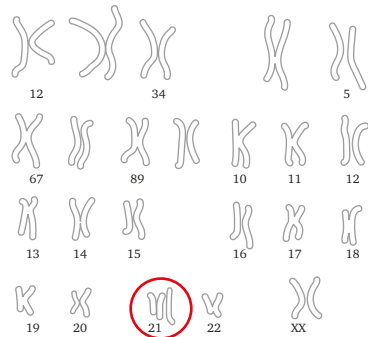


Figura 4:
Esempio di trisomia 21.

La trisomia 21 si può presentare in due modi:

- **insorgenza ex-novo (96%)**: in questo caso sono presenti 47 cromosomi con 3 cromosomi 21 separati ed è una condizione non ereditata dai genitori;
- **traslocazione sbilanciata (4%)**: in questo caso, il cromosoma 21 soprannumerario è traslocato (“unito”) su un altro cromosoma (trisomia 21 per traslocazione). In circa la metà dei casi, la condizione è ereditata da uno dei due genitori che presenta una traslocazione bilanciata, ovvero senza perdita o guadagno del materiale, del cromosoma 21.

Che cosa sono la trisomia 18 e la trisomia 13?

Anche la trisomia 18 (o sindrome di Edwards) e trisomia 13 (o sindrome di Patau) sono anomalie dei cromosomi dovute alla presenza di un cromosoma soprannumerario in sede 18 e 13 rispettivamente (Figura 5). Entrambe le condizioni sono il più delle volte letali, caratterizzate da un grave ritardo mentale e da malformazioni multiple.

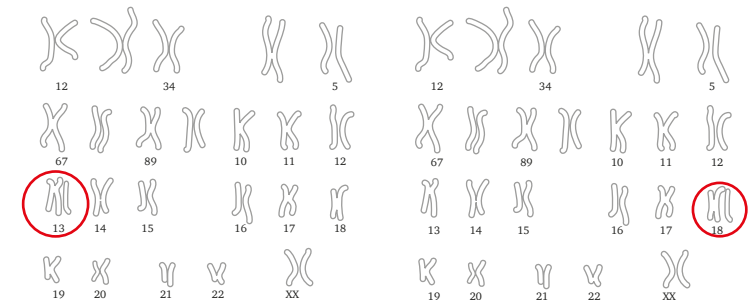


Figura 5: Esempio di una trisomia 13 e una trisomia 18.

Che cosa sono le anomalie dei cromosomi sessuali?

Le anomalie dei cromosomi sessuali sono alterazioni in eccesso o in difetto del loro numero, dando le seguenti condizioni:

- **polisomie**: 47XXX, 47XXY, 47XYY. Questo tipo di anomalie cromosomiche sono generalmente associate ad una sintomatologia lieve o nessuna sintomatologia;
- **monosomie**: 45X0 o sindrome di Turner, condizione in cui manca un cromosoma X, che può presentare uno spettro variabile di manifestazioni cliniche.

Chi è a maggior rischio di avere un bambino affetto da un'anomalia cromosomica?

Considerando che nessuna gravidanza è del tutto esente dal rischio di una anomalia cromosomica, ci sono alcune condizioni che aumentano il rischio di avere un figlio affetto da alcune anomalie cromosomiche, quali la trisomia 21, 18 e 13.

Le condizioni che aumentano il rischio di una anomalia cromosomica sono:

- **Età materna avanzata;**
- **Presenza di un test di screening per le anomalie cromosomiche positivo;**
- **Presenza di anomalie morfologiche riscontrate all'ecografia;**
- **Precedente gravidanza con feto affetto da un'anomalia cromosomica;**
- **Genitore portatore di un'anomalia cromosomica strutturale.**

Tuttavia, la comparsa di un'anomalia dei cromosomi è un evento, nella maggior parte dei casi, casuale e può verificarsi in un qualsiasi momento della vita riproduttiva.



Non esiste un'età al di sotto della quale il rischio per le anomalie cromosomiche sia assente, anche se quest'ultimo aumenta all'aumentare dell'età materna.



Le trisomie 13, 18 e 21 da sole costituiscono circa il 50-70% delle anomalie cromosomiche indagabili con il cariotipo fetale. La prevalenza di tali anomalie cromosomiche è correlata all'età della donna.

Che cosa sono le sindromi da microdelezione e da microduplicazione?

Le sindromi da microdelezione e microduplicazione sono anomalie genetiche caratterizzate dalla perdita (microdelezione) o dalla acquisizione (microduplicazione) di un piccolo tratto di DNA.

Tornando all'esempio della libreria, sono condizioni in cui mancano pagine del libro (microdelezioni), o ci sono pagine duplicate (microduplicazioni) come rappresentato nella Figura 6.

Sia le microdelezioni che le microduplicazioni possono causare sindromi genetiche clinicamente riconoscibili e di variabile importanza clinica (es. sindrome di DiGeorge o delezione 22q11.21, eccetera). Esistono numerose sindromi da microdelezione e microduplicazione.

Le sindromi da microdelezione o da microduplicazione sono piuttosto rare nella popolazione generale con una prevalenza variabile da un caso su 2.000 a un caso su 50.000 nati vivi.

A differenza delle anomalie del numero dei cromosomi, tali sindromi non sono correlate all'aumento dell'età materna.



SINDROMI DA
MICRODUPLICAZIONE O
MICRODELEZIONE

Piccoli tratti di DNA che
mancano o sono duplicati

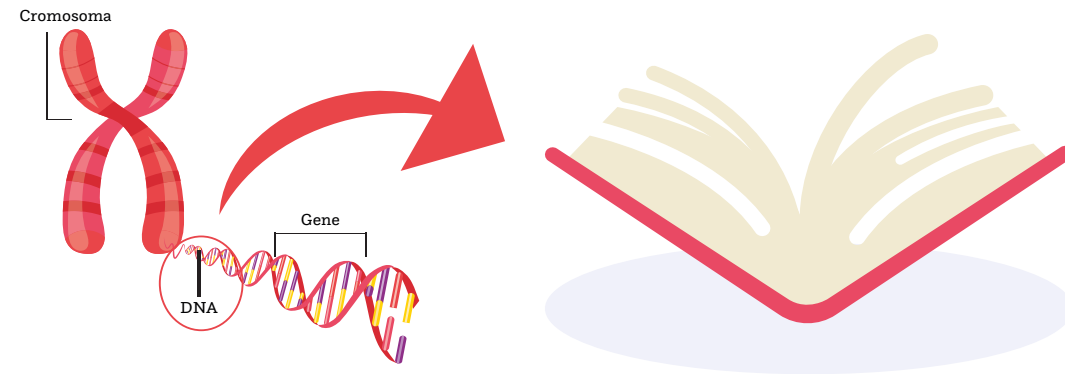


Figura 6: Le sindromi da microdelezioni o microduplicazioni sono caratterizzate dalla perdita (microdelezione) o dalla acquisizione (microduplicazione) di un piccolo tratto di DNA ossia, tornando all'esempio della libreria, sono condizioni in cui mancano pagine del libro (microdelezioni) o ci sono pagine duplicate (microduplicazioni).



La diagnosi di queste anomalie non è effettuabile mediante l'analisi del cariotipo, bensì con l'utilizzo di specifiche analisi di approfondimento (analisi Array). La loro ricerca non viene eseguita di routine, ma su indicazioni particolari (in seguito ad una consulenza genetica, in presenza di segni ecografici specifici, eccetera).

Che cosa sono le malattie monogeniche?

Le malattie monogeniche sono dovute ad alterazioni di uno o più geni (tratti di DNA che specificano una singola informazione). Tornando all'esempio della libreria sono condizioni in cui una o più parole sono scritte in modo sbagliato come rappresentato nella Figura 7.

Sono responsabili di numerosissime sindromi cliniche, singolarmente rare nella popolazione generale, ma caratterizzate prevalentemente da **trasmissione ereditaria** ed elevati rischi di ricorrenza. Tuttavia, le malattie genetiche possono anche **insorgere ex novo**. Alcuni esempi di malattie genetiche sono: fibrosi cistica, talassemia, distrofia muscolare, eccetera.

Le malattie monogeniche vengono trasmesse, secondo diverse modalità, dai genitori ai figli o perché il genitore stesso è affetto da una malattia genetica oppure perché entrambi i genitori sono "portatori sani" di un gene alterato (senza quindi presentare, in genere, i sintomi della malattia) e trasmettono al feto entrambi i geni alterati. Diversamente, le malattie monogeniche insorte ex novo consistono in una mutazione non presente nei genitori, ma insorta nel feto che, a sua volta può trasmetterla ai propri figli.

Al momento attuale non è disponibile un'indagine di laboratorio che consenta di identificare tutte le malattie monogeniche e non tutte sono diagnosticabili in epoca prenatale.



MALATTIE
MONOGENETICHE

Alterazione del
singolo gene



Figura 7: Le malattie monogeniche sono dovute ad alterazione di uno o più geni, ossia, tornando all'esempio della libreria sono condizioni in cui una o più parole sono scritte in modo sbagliato.

La diagnosi prenatale delle malattie monogeniche ereditarie viene effettuata in maniera "mirata", su indicazione specifica posta dal Genetista.

Che cosa sono i test di screening e i test diagnostici?

I metodi di diagnosi prenatale per la ricerca delle anomalie cromosomiche più frequenti comprendono i test di screening o i test diagnostici.

I test di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti sono esami che individuano nella popolazione generale i casi che hanno una maggiore probabilità di presentare una malattia dei cromosomi, distinguendo quindi gravidanze a basso ed alto rischio per queste condizioni. I test di screening sono per definizione non invasivi. Attualmente esistono diversi tipi di test di screening per le anomalie cromosomiche: i più frequenti verranno descritti di seguito.

Il test diagnostico per le anomalie genetiche è un test che individua o esclude direttamente la presenza di una certa malattia genetica. Le metodiche diagnostiche sono nel contempo invasive poiché prevedono il prelievo di materiale fetale o placentare per l'esecuzione di analisi genetiche (cariotipo, array, o altre analisi genetiche specifiche).



La diagnosi di anomalie cromosomiche è possibile solo tramite l'analisi dei cromosomi del feto (cariotipo fetale o indagine citogenetica) mediante le tecniche di diagnosi prenatale invasiva (villocentesi, amniocentesi o cordocentesi).

2

TEST DI SCREENING
PER LE ANOMALIE
CROMOSOMICHE
PIÙ FREQUENTI

I test di screening per le anomalie cromosomiche più frequenti individuano nella popolazione generale i casi che hanno una maggiore probabilità di presentare una malattia dei cromosomi, distinguendo quindi gravidanze a basso ed alto rischio per queste condizioni. Questi esami si basano su valutazioni statistiche e non forniscono una diagnosi.

Il vantaggio di un test di screening è di essere innocuo per la madre e il feto, mentre lo svantaggio è di poter risultare falsamente alterato (*falsi positivi*) o falsamente rassicurante (*falsi negativi*). La proporzione di falsi positivi e falsi negativi dipende dal tipo di test utilizzato.

Il primo parametro utilizzato quale strumento di screening per la sindrome di Down è stato *l'età materna* sulla base dell'osservazione di un'associazione tra la sindrome di Down ed età avanzata della madre.

La Tabella 1 riporta la frequenza della sindrome di Down e di tutte le anomalie cromosomiche a termine di gravidanza in funzione dell'età materna.

Ad esempio, a 35 anni il rischio di avere un figlio affetto dalla sindrome di Down è di un caso su 351 a termine di gravidanza. In altri termini, su 351 donne di 35 anni una di esse avrà un figlio affetto.

Sempre a 35 anni di età, il rischio di avere un figlio affetto da una qualsiasi anomalia cromosomica risulta, invece, di un caso su 192.

| età materna | rischio di trisomia 21 | rischio di tutte le anomalie cromosomiche |
|-------------|------------------------|---|
| 20 | 1508 | 500 |
| 25 | 1333 | 455 |
| 26 | 1269 | 455 |
| 27 | 1190 | 445 |
| 28 | 1096 | 455 |
| 29 | 974 | 455 |
| 30 | 885 | 323 |
| 31 | 765 | 323 |
| 32 | 651 | 323 |
| 33 | 540 | 286 |
| 34 | 438 | 238 |
| 35 | 351 | 192 |
| 36 | 277 | 156 |
| 37 | 215 | 127 |
| 38 | 165 | 102 |
| 39 | 126 | 83 |
| 40 | 95 | 66 |
| 41 | 72 | 53 |
| 42 | 54 | 42 |
| 43 | 40 | 33 |
| 44 | 29 | 27 |
| 45 | 29 | 21 |
| 46 | 29 | 17 |

Tabella 1:

Frequenza della sindrome di Down e di tutte le anomalie cromosomiche a termine di gravidanza in funzione dell'età materna (rischio 1: _____).

Per poter capire al meglio il concetto di rischio, la Figura 8 rappresenta il rischio di 1:100, ossia di 1%. In linea generale si può affermare che più alto è il numero e più basso è il rischio. Tuttavia, la percezione del rischio è del tutto soggettiva.

% di veri positivi: 1 su 100

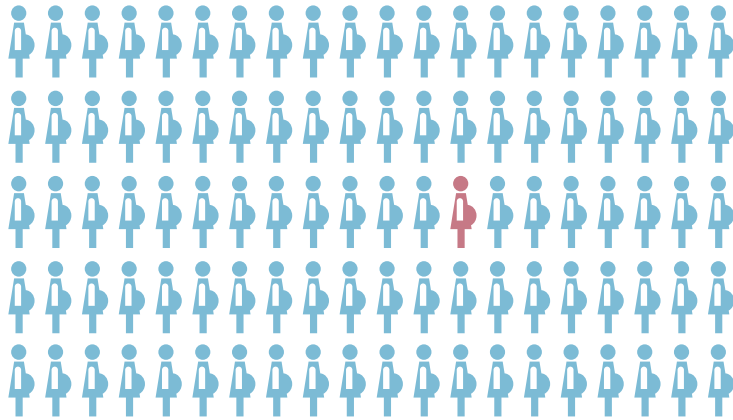


Figura 8:
Rappresentazione del rischio 1:100, ossia 1%. Questo rischio implica la probabilità che su 100 gravidanze, una donna avrà il feto affetto da sindrome di Down. Quindi il rischio viene espresso in termini di probabilità.

Uno screening basato unicamente sull'età materna permette di identificare solo una piccola parte di feti affetti (circa il 30%, a seconda dell'età materna media della popolazione), in quanto la maggior parte dei casi si verifica in donne di età inferiore a 35 anni.

Al fine di migliorare la performance dello screening per le anomalie cromosomiche più frequenti, negli

ultimi 30 anni sono stati introdotti altri parametri di valutazione, di tipo ecografico, biochimico o genetico, utilizzati in un unico momento nel primo trimestre o in momenti successivi nel corso del primo e del secondo trimestre.

Certamente, lo screening prenatale delle malattie dei cromosomi è un argomento in continua evoluzione grazie all'introduzione di metodologie nuove. L'offerta dei test di screening è piuttosto ampia: le opzioni possibili sono numerose e, di fatto, a volte confondenti potendo rendere il percorso informativo e decisionale, a volte, molto complesso.

In linea generale si può affermare che:

- I test di screening oggi proposti, ancorché con accuratezza variabile, valutano la probabilità che il feto sia affetto da anomalie cromosomiche più frequenti, ossia trisomia 21, 18 o 13;
- Tali anomalie rappresentano circa il 50-70% di tutte le anomalie cromosomiche indagabili con il cariotipo fetale.

A chi proporre il test di screening?

Il test di screening è indicato per le donne in gravidanza, indipendentemente dalla loro età, che, dopo aver ricevuto l'informazione adeguata, lo richiedono (Linee Guida SIEOG 2015, Linee Guida Ministeriali sulla Gravidanza Fisiologica).

Infatti, come sottolineato anche dalle Linee Guida ministeriali, è fondamentale che a tutte le donne in gravidanza vengano illustrate con accuratezza le possibilità e i limiti dei test di screening disponibili e secondo le più recenti nozioni scientifiche. Di seguito verranno illustrati i test di screening, al momento attuale, più utilizzati e/o efficaci.

Test di screening Test combinato

In che cosa consiste il test combinato?

Il test combinato si basa sulla combinazione dell'*età materna* con dei dati ecografici (*translucenza nucale*) e biochimici (*β-HCG libera e PAPP-A*) ottenuti da un prelievo di sangue materno (Figura 9).



Figura 9:
Rappresentazione schematica di come viene calcolato il test combinato.

La misurazione della *translucenza nucale*, consiste nella misurazione dello spessore dei tessuti molli a livello della nuca del feto (Figura 10a). *La translucenza nucale appare più ispessita nei feti affetti da anomalie cromosomiche più frequenti (trisomia 21, 13 e 18)*, (Figura 10b).



Figura 10.a:
Esempio della misurazione della
translucenza nucale normale (freccia
gialla).



Figura 10.b:
Esempio della misurazione della
translucenza nucale aumentata
(freccia gialla).



Figura 11.a:
Osso nasale presente.



Figura 11.b:
Osso nasale assente.

Con il test combinato si ottiene una stima del rischio che il feto sia affetto dalla trisomia 21, 18 e 13. In questo modo, alla donna verrà fornito un rischio “pre-test” basato sulla sola età materna e uguale per tutte le donne di quella specifica età, ed un rischio “post-test” basato sulla valutazione dell’età materna associata ai valori della translucenza nucale e della biochimica materna, che è il rischio individuale e specifico per quella determinata gravidanza.

Alcuni programmi di screening considerano anche la valutazione dell’osso nasale fetale, in termini di presenza o assenza. Il rationale di questa osservazione consiste nel fatto che i feti affetti dalla sindrome di Down spesso non presentano l’osso nasale nel I trimestre di gravidanza. Pertanto, l’assenza dell’osso nasale aumenta il rischio di sindrome di Down. La Figura 11 presenta un feto con osso nasale correttamente rappresentato e un feto con osso nasale assente.

Va ricordato che per alcune etnie potrebbe essere normale non visualizzare l’osso del naso nel I trimestre, come pure in circa lo 1-2% della popolazione caucasica. Inoltre, in una piccola quota di pazienti potrebbe essere tecnicamente non possibile valutare la presenza o l’assenza dell’osso nasale (epoca gestazionale troppo precoce, obesità materna, eccetera).

Qual è l’accuratezza del test combinato?

Il test combinato ha una capacità di identificare circa l’85-90% dei feti affetti da trisomia 21 con circa il 5% di falsi positivi.

I *falsi positivi* indicano la situazione in cui il test di screening risulta ad alto rischio, ma la condizione di patologia non viene confermata dal test diagnostico (villocentesi o amniocentesi). L’aggiunta dell’osso nasale aumenta la sensibilità del test combinato a circa 90-94%.

Per quanto concerne l'attendibilità del risultato è molto importante che il test venga eseguito da operatori esperti e certificati, che seguono protocolli codificati e che sappiano fornire una corretta informazione sul valore da attribuire ai risultati degli esami.

Quando viene eseguito il test combinato?

La misurazione della translucenza nucale deve essere eseguita tra la 11° e 13° settimana di gestazione, mentre il prelievo sanguigno può essere eseguito prima, contestualmente o dopo la misurazione della translucenza nucale, a seconda dell'organizzazione del Centro che esegue il test combinato.

Che cosa significa test combinato ad alto rischio?

In accordo a quanto stabilito dai nuovi Livelli Essenziali di Assistenza, il cut-off stabilito per definire la popolazione ad alto rischio è di 1:300. Tale valore stabilisce la soglia al di sopra della quale è consentito l'accesso alla diagnosi prenatale invasiva in regime di esenzione dalla partecipazione alla spesa sanitaria.



Se il test combinato risulta ad alto rischio, questo non implica una certezza di una anomalia dei cromosomi, piuttosto una maggiore probabilità. L'unico modo per appurare con certezza se il feto è veramente affetto da un'anomalia cromosomica, è quello di eseguire un test diagnostico invasivo (la villocentesi o, più tardivamente, l'anniocentesi).

Negli ultimi anni sono stati introdotti nuovi test di screening (*ricerca di DNA libero fetale su sangue materno*, vedi paragrafo successivo) che, avendo una performance superiore al test combinato, possono essere proposti come indagine di II livello (ossia di approfondimento) nei casi con test combinato ad alto rischio. Tuttavia, non essendo questo un esame diagnostico ed essendo limitato alla ricerca di anomalie cromosomiche più frequenti, questa possibilità va discussa individualmente.

Che cosa significa test combinato a basso rischio?

Il test combinato a basso rischio significa che la donna risulta a basso rischio di avere un figlio affetto da anomalie cromosomiche indagate (trisomia 21, 13 o 18), per quanto non lo si possa escludere in maniera assoluta.



Infatti, anche in presenza di un test combinato a basso rischio persiste un **rischio residuo** che il feto sia affetto dalla trisomia 21, 18 o 13 e solo l'esecuzione di accertamenti invasivi consente di escludere con certezza in epoca prenatale un'anomalia cromosomica.

Che cosa significa test combinato a rischio intermedio?

Alcune scuole hanno identificato una fascia di rischio intermedio compresa tra l'alto e il basso rischio (da 1:300 a 1:1.000) in cui sembrano concentrarsi maggiormente i risultati falsamente negativi del test combinato. In tali condizioni possono essere proposti ulteriori accertamenti (ecografici [ecografia premorfologica-genetic sonogram], biochimici [biochimica del II trimestre] o genetici [DNA libero fetale nel sangue materno]) allo scopo di migliorare la sensibilità del test. Tuttavia, non esiste al momento attuale uniformità di vedute su quale sia la migliore strategia da adottare in questi casi.

Che cosa significa translucenza nucale aumentata?

La translucenza nucale sopra i valori di riferimento non è di per sé una malformazione anatomica, ma piuttosto un marker ecografico che aumenta il rischio di diverse patologie tra cui la trisomia 21, ma

anche altre anomalie cromosomiche, malformazioni congenite, sindromi genetiche, eccetera. Per tale motivo, nel caso di translucenza nucale aumentata sono indicati percorsi diagnostici specifici in centri con comprovata esperienza.

Nel caso di translucenza nucale aumentata, è indicata una consulenza specifica da parte di un esperto in diagnosi prenatale e un genetista in centri con comprovata esperienza, e qualora la donna lo desideri, sono indicati approfondimenti genetici diagnostici specifici, e controlli ecografici mirati.



Quali sono i limiti del test combinato?

Il test combinato non è un test diagnostico di certezza, potendo dare sia falsi positivi (circa 5%) sia falsi negativi (nella nostra esperienza circa 1 ogni 3000-4000 test eseguiti). Inoltre, il test combinato non stima il rischio di altre anomalie dei cromosomi o dei geni, al di fuori delle trisomie 21, 13 e 18, di cui il feto potrebbe essere affetto.



Test di screening Ricerca di DNA fetale libero su sangue materno (NIPT – Non Invasive Prenatal Testing)

Che cosa è la ricerca del DNA fetale libero su sangue materno?

Negli ultimi anni stanno assumendo rilevante interesse i test non invasivi basati sulla ricerca del DNA fetale libero su sangue materno (cffDNA – cell free fetal DNA) basati sulla scoperta che una quota di DNA fetale, *in realtà di origine placentare*, passa nel circolo materno (Figura 12).

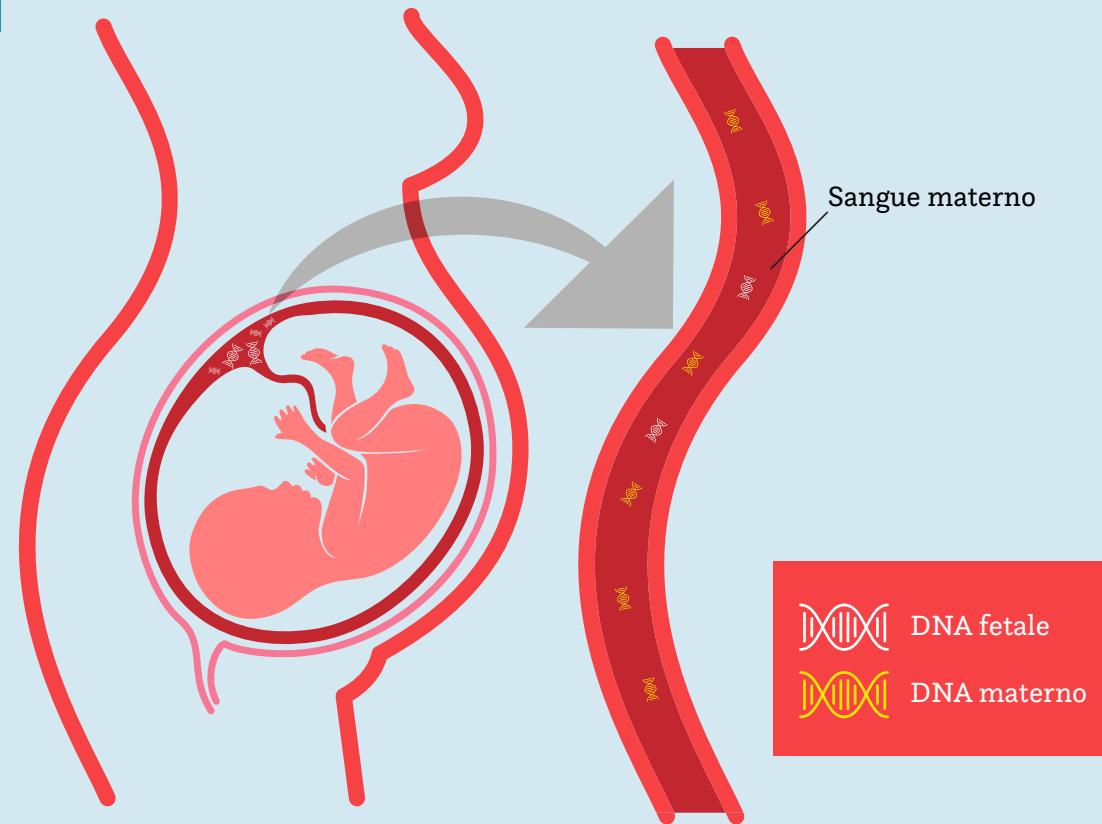


Figura 12:
Figura grafica che rappresenta il passaggio di DNA dalla placenta nel circolo materno.

Il cffDNA costituisce una frazione variabile, tra 3-20%, del DNA totale extracellulare rilevabile nel circolo materno. La concentrazione di cffDNA aumenta con il progredire della gravidanza e può variare in presenza di anomalie cromosomiche fetali.

Il NIPT consiste nell'identificazione e successiva quantificazione di cffDNA che circola nel sangue materno. La presenza della parola "DNA fetale" può indurre all'erronea conclusione che il test abbia un valore diagnostico e non di screening. In realtà, ci sono due motivi principali per cui il NIPT non è un esame diagnostico. Il primo è che, il cosiddetto DNA fetale proviene dallo strato più esterno della placenta, e potendo a volta verificarsi discrepanze tra i cromosomi della placenta e del feto. Il secondo motivo è che, nonostante il test isoli il cffDNA presente nel sangue materno, la valutazione del rischio si basa sulla presenza di quantità in eccesso o in difetto del cffDNA rispetto a valori di riferimento e non sulla valutazione diretta del DNA.

Il NIPT è un esame di screening e non un esame diagnostico per le anomalie cormosomiche.

Quando si esegue NIPT?

Il test si può eseguire a partire dalla 10° settimana compiuta di gravidanza. Il risultato è disponibile dopo circa 7-10 giorni lavorativi dal prelievo del sangue.

Al momento attuale, nella maggior parte delle realtà italiane, il test si può eseguire solo ad esclusivo carico della paziente, anche se alcune Regioni hanno introdotto o stanno valutando la sua introduzione in esenzione dalla partecipazione della paziente in caso di test combinato ad alto rischio e/o rischio intermedio.

In che cosa consiste il test?

Il test consiste in un prelievo sanguigno materno. Per la precocità e semplicità di esecuzione, si potrebbe eseguire NIPT prima dell'ecografia del I trimestre (11-13 settimane di gestazione) e della misura della translucenza nucale.



Tuttavia, come indicato da tutte le Linee Guida delle maggiori Società Scientifiche, è fondamentale che il test venga preceduto da un'ecografia, possibilmente con la misurazione della translucenza nucale (pertanto tra la 11-13° settimana), e da una consulenza pre-test (Linee Guida Ministeriali sull'utilizzo di NIPT, Maggio 2015).

Perché è importante eseguire l'ecografia della 11°-13° settimana di gestazione e la misurazione della translucenza nucale prima di NIPT?

L'ecografia tra la 11-13° settimana ha lo scopo di misurare la translucenza nucale e la possibilità di evidenziare la presenza di eventuali malformazioni fetali maggiori e di alcune condizioni che non rendono opportuna l'esecuzione di NIPT (aborto spontaneo, vanishing twin, eccetera).

Per esempio, nel caso di un riscontro di *translucenza nucale aumentata* oppure di *malformazioni fetali maggiori* è indicato proporre l'esecuzione di una procedura diagnostica invasiva (villocentesi o amniocentesi), mentre l'esecuzione di NIPT non sarebbe indicata.

Perché è importante eseguire una consulenza pre-test?

La consulenza pre-test è finalizzata ad illustrare le caratteristiche e il significato del test, i vantaggi e i limiti dello stesso, nonché le opzioni alternative disponibili per il monitoraggio della gravidanza.

Quali malattie possono essere indagate con NIPT?



Il test è stato validato ed è raccomandato da tutte le maggiori Società Scientifiche per stimare la probabilità che il feto sia o meno affetto dalle più comuni anomalie cromosomiche (trisomia 21, 13 e 18) e, eventualmente, dalle anomalie dei cromosomi sessuali.

Tuttavia, alcune Aziende propongono la ricerca di panel più o meno allargati di altre condizioni di anomalie genetiche (altri cromosomi, microdelezioni, microduplicazioni, malattie monogeniche). Per esempio, i più frequenti sono i panel di microdelezioni associate ad alcune sindromi clinicamente riconoscibili (ad es. delezione 22q11.21, delezione 1p36, delezione 5p, delezione 15q11) o di altre trisomie.

Di fondamentale importanza è ricordare che il test è stato validato su un ampio numero di campioni solo per la trisomia 21, 13 e 18, per cui i risultati ottenuti per le altre anomalie cromosomiche o genetiche sono di dubbia attendibilità, per la scarsità dei casi testati. Inoltre, gli eventuali esiti positivi potrebbero risultare di difficile interpretazione per la varietà nella manifestazione clinica post-natale di alcune di queste sindromi, soprattutto se in assenza di altri segni ecografici.

Per tali motivi, attualmente le Linee Guida delle Società scientifiche nazionali ed internazionali, sono concordi nel considerare come appropriata e validata l'esecuzione del NIPT applicata solo alla ricerca delle principali trisomie (21, 18 e 13) e non per la ricerca di altre anomalie cromosomiche o microdelezioni/microduplicazioni.



Risultati di poco inferiori sono stati riportati per le trisomie 18 e 13, mentre la performance del test è più bassa per le anomalie dei cromosomi sessuali.

Per essere affidabile il test deve prevedere la determinazione della *frazione fetale*, cioè la quantità di DNA fetale libero rilevata nel campione di plasma analizzato rispetto al DNA totale. In circa il 2% dei casi la frazione fetale risulta, per varie motivazioni (per esempio obesità), inferiore al limite stabilito dal laboratorio che esegue l'analisi. Ne consegue l'impossibilità di eseguire l'analisi e di fornire una stima del rischio.

Quanto è attendibile il test?

NIPT attualmente rappresenta il più efficace test di screening con una sensibilità, ossia la capacità di riconoscere un caso affetto da trisomia 21, superiore al 99% e un tasso di falsi positivi, cioè di casi risultati positivi al test che non sono di fatto affetti, inferiori allo 0.1% (Figura 13).

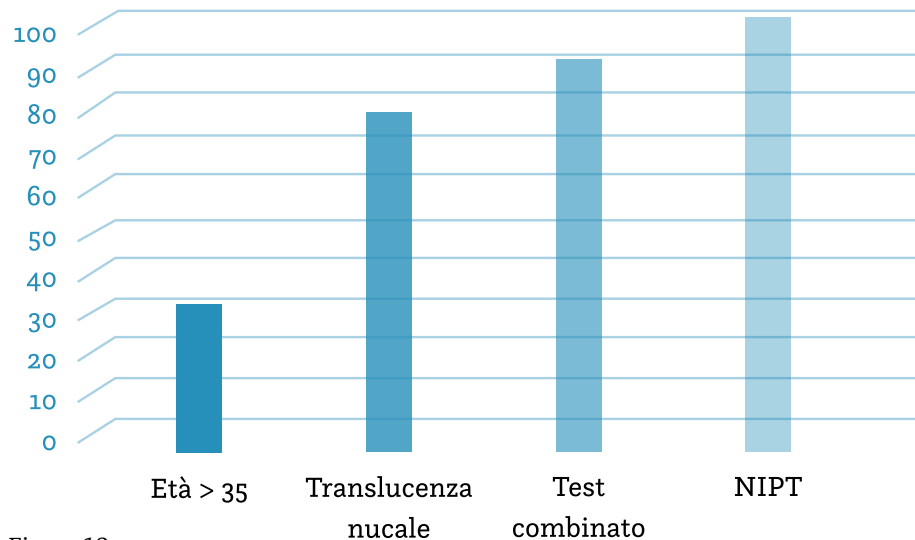


Figura 13:
La Figura rappresenta la capacità identificativa per la trisomia 21 dei vari test di screening.

Che cosa significa test positivo?

Il test definisce su base probabilistica la presenza di una anomalia dei cromosomi indagati, pertanto ogni risultato positivo deve poi essere confermato con una metodica di prelievo tradizionale (preferibilmente l'amniocentesi).

Che cosa significa test negativo?

Un risultato negativo deve essere considerato rassicurante circa l'assenza di una trisomia dei cromosomi indagati in considerazione dell'eccellente performance del test. Tuttavia tale risultato può rivelarsi falsamente normale in quanto il test fa riferimento alle caratteristiche genetiche della placenta che, in casi molto rari, possono discordare da quelle del feto.

Quali sono i vantaggi del test?

L'indubbio vantaggio è che si tratta di un *test non-invasivo*.

Inoltre, al momento attuale, rappresenta *il più efficace test di screening per la trisomia 21 riducendo significativamente la necessità di eseguire i test invasivi*.

Quali sono i limiti del test?

Le trisomie 21, 18 e 13 oggetto del test rappresentano solo una parte, seppure significativa (50-70%, in relazione all'età materna) di tutte le anomalie cromosomiche evidenziabili invece attraverso la determinazione del cariotipo fetale ottenuto mediante villocentesi o amniocentesi. Estendendo l'analisi alla ricerca delle anomalie dei cromosomi sessuali la sensibilità sale al 70-85%, sempre in relazione all'età della donna.

Il test non deve essere considerato equivalente all'esecuzione del cariotipo fetale mediante villocentesi o amniocentesi sia perché il risultato positivo deve essere comunque confermato mediante la diagnostica prenatale invasiva sia perché le

anomalie dei cromosomi oggetto del test rappresentano solo una parte di tutte le anomalie del cariotipo fetale standard evidenziabili attraverso la villocentesi o l'amniocentesi.



A chi è indicato il test?

Il test può essere eseguito da donne in gravidanza, indipendentemente dalla loro età, che, dopo aver ricevuto l'informazione adeguata, lo richiedono. Tuttavia, le Linee Guida delle principali Società Scientifiche nazionali ed internazionali sono d'accordo nell'affermare che il test si dovrebbe integrare con le attuali strategie di screening e non sostituirle. Inoltre, come già sottolineato in precedenza, il test andrebbe eseguito dopo la misurazione della translucenza nucale.



3

METODICHE
DIAGNOSTICHE
PRENATALI INVASIVE

A differenza dei test di screening per la sindrome di Down che hanno la caratteristica di esprimere statisticamente un rischio alto o basso di malattia e di essere non invasivi, gli esami di diagnosi prenatale invasiva, permettono di identificare o di escludere direttamente una condizione genetica, tra cui anche le anomalie del cariotipo fetale.

Per la sua esecuzione è necessario eseguire una puntura sull'utero, sotto guida ecografica, per prelevare il materiale necessario per eseguire la diagnosi. L'esecuzione di questi esami, a differenza degli esami non invasivi, comporta un **rischio di complicanze**, identificati principalmente in un rischio di aborto (compreso tra 0.1-1%), mentre altri rischi per la madre e il feto, seppur possibili, sono di fatto estremamente rari. Pertanto, è opportuno che nel decidere l'esecuzione di questi esami la donna valuti con il suo Medico di fiducia o un esperto in diagnosi prenatale il **rapporto rischio/beneficio** del singolo esame e quindi la sua **indicazione**.

Quali sono le metodiche di diagnosi prenatale invasiva?

Le procedure più comunemente utilizzate sono la **villocentesi** (prelievo di villi coriali) e **l'amniocentesi** (prelievo di liquido amniotico), mentre la **cordocentesi** (prelievo di sangue fetale dal cordone ombelicale) è riservata ad alcune condizioni particolari.

Quali anomalie sono individuabili con le metodiche di diagnosi prenatale invasiva?

Di routine si effettua lo studio del cariotipo fetale che permette di identificare o di escludere la presenza di una alterazione di numero e di struttura di tutti i cromosomi (23 coppie).

In presenza di **indicazioni particolari** è possibile eseguire **ulteriori accertamenti diagnostici**:

- in presenza di malformazioni fetali potrebbe essere indicata l'esecuzione di Array per la ricerca di microdelezioni o microduplicazioni (villocentesi, amniocentesi, cordocentesi);
- nel caso di positività ai test infettivologici si può ricercare l'agente infettivo su liquido amniotico (amniocentesi) o nel sangue fetale (cordocentesi);
- nel caso di anamnesi positiva per malattie genetiche, su indicazione del genetista, si può ricercare la mutazione genetica (villocentesi, amniocentesi, cordocentesi).

La diagnosi di anomalie cromosomiche è possibile solo tramite l'analisi dei cromosomi del feto (cariotipo fetale o indagine citogenetica) mediante le tecniche di diagnosi prenatale invasiva (villocentesi, amniocentesi o cordocentesi).

Come già sottolineato in precedenza, la ricerca delle malattie genetiche, microdelezioni o microduplicazioni, anche se fattibile, si esegue solo su indicazioni particolari e non di routine.

Le ultime raccomandazioni della Società Italiana di Ecografia (SIEOG) e di Genetica Umana (SIGU) in merito agli Array (metodica che ricerca le microdelezioni e le microduplicazioni) reputano comunque opportuno un percorso informativo relativamente alla possibilità di eseguire tale indagine senza particolari indicazioni per le coppie che esprimono la loro volontà di approcciarsi ad un percorso di diagnostica invasiva.

La motivazione sta nel fatto che l'analisi Array è in grado di identificare circa 1.5% di anomalie genetiche in più rispetto al cariotipo fetale nei casi in cui non ci sia un'apparente indicazione (Raccomandazioni SIGU-SIEOG, Maggio 2017). Tuttavia, per la complessità dell'argomento e per eventuali approfondimenti è indicata una consulenza dedicata con un esperto in Diagnosi Prenatale o un Gentista.



Villocentesi

Che cosa è la villocentesi?

La villocentesi consiste nell'aspirazione di una piccola quantità di villi coriali (tessuto placentare). A parte alcune eccezioni, esaminare il corredo genetico dei villi coriali equivale ad esaminare quello del feto. Tale tessuto può essere utilizzato per diverse analisi genetiche.

La villocentesi rappresenta la tecnica di prima scelta per lo studio del DNA nella diagnosi di malattie ereditarie legate al difetto di un gene. Queste analisi vengono effettuate su specifica indicazione del genetista nel caso in cui esista un rischio significativo per una determinata malattia genetica (per es. fibrosi cistica, distrofia muscolare, eccetera).

Quando viene eseguita la villocentesi?

Il prelievo si effettua solitamente *dall'11° alla 13° settimana di gravidanza*, anche se è possibile eseguirlo in epoche gestazionali più avanzate.

Come viene eseguita la villocentesi?

L'esame viene eseguito in regime ambulatoriale ed è preceduto da uno studio ecografico atto a valutare il battito cardiaco fetale, datare la gravidanza e misurare la translucenza nucale.

Il prelievo si esegue per via addominale e sotto costante guida ecografica dopo aver accuratamente disinfettato l'addome materno, preparato il campo sterile ed identificato il punto più idoneo ad effettuare il prelievo (Figura 14).

La tecnica utilizzata presso il nostro Centro prevede l'utilizzo di un doppio ago: ago guida (18G) e ago per il prelievo (20G). Solitamente si aspirano 15-20 mg di villi coriali che vengono poi inviati al laboratorio per l'analisi.

Dopo il prelievo viene controllata la presenza del battito cardiaco fetale e, dopo un breve periodo di osservazione (circa un'ora), la paziente può ritornare al proprio domicilio.

A volte la quantità di villi coriali prelevata non è sufficiente per l'analisi e in tal caso si rende necessario effettuare un secondo prelievo ai fini di ottenere una congrua quantità (vedi successivamente).

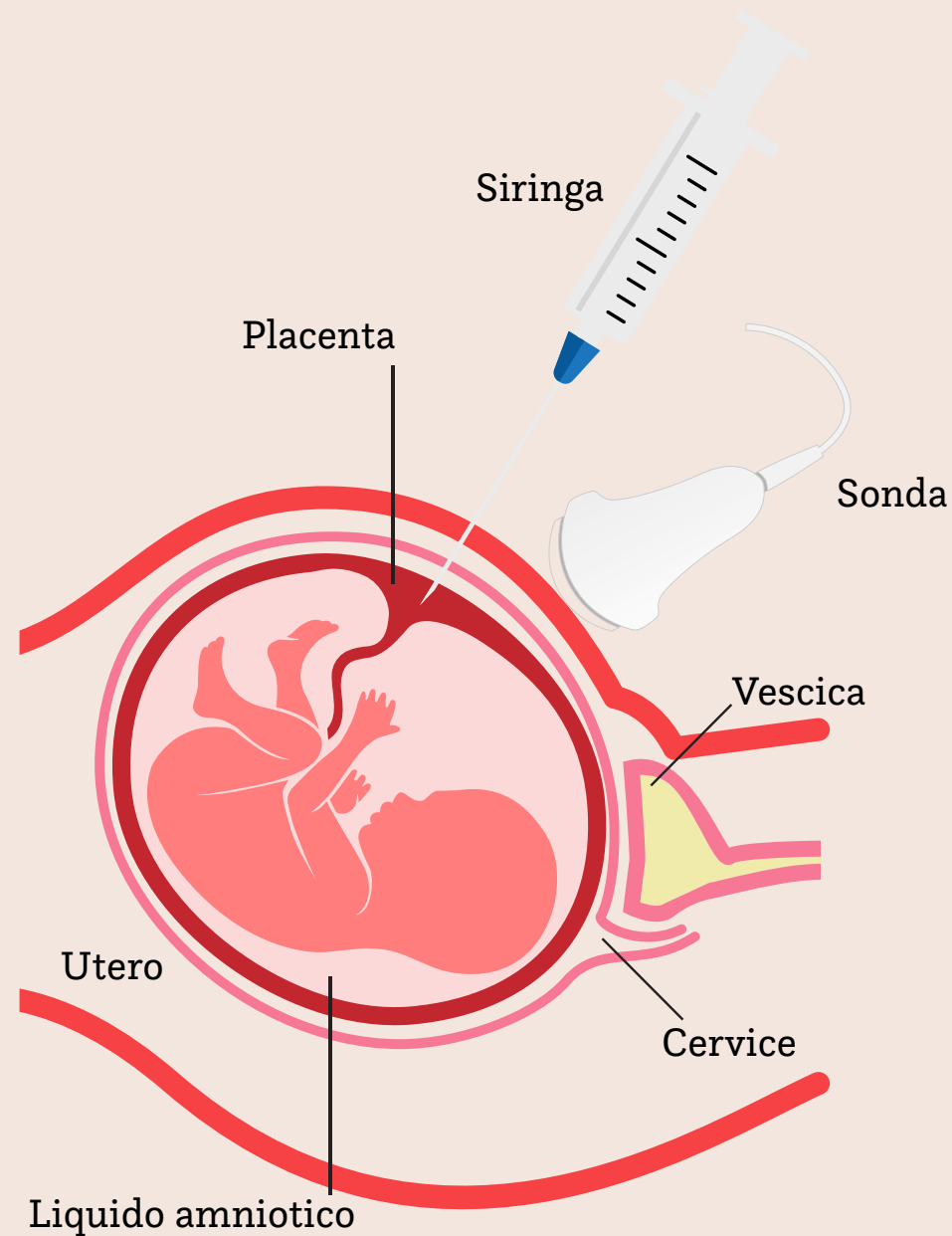


Figura 14:
Esempio di una villocentesi.

Amniocentesi

Che cosa è l'amniocentesi?

L'amniocentesi consiste nel prelievo di liquido amniotico in cui sono sospese cellule di desquamazione provenienti dal sacco amniotico e dal feto (cute, tubo digerente, tratto respiratorio e urogenitale). Tali cellule possono essere utilizzate per diverse analisi genetiche. Inoltre, può essere effettuata la ricerca di alcuni agenti infettivi.

Normalmente, il prelievo si effettua a partire dalla **15^o settimana** compiuta di gravidanza.

Come viene eseguita l'amniocentesi?

L'esame viene eseguito in regime ambulatoriale ed è preceduto da uno studio ecografico volto a valutare il battito cardiaco fetale e datare la gravidanza. **Non viene eseguito lo studio dell'anatomia fetale.**

Il prelievo si esegue per via addominale e sotto costante guida ecografica dopo aver accuratamente disinfettato l'addome materno, preparato il campo sterile ed identificato il punto più idoneo ad effettuare il prelievo (Figura 15).

La tecnica utilizzata presso il nostro Centro prevede l'utilizzo di un ago sottile (21G). Solitamente si aspirano 16-20 ml di liquido amniotico che viene poi inviato al laboratorio per l'analisi.

Dopo il prelievo viene controllata la presenza del battito cardiaco fetale e, dopo un breve periodo di osservazione (circa un'ora), la paziente può ritornare al proprio domicilio.

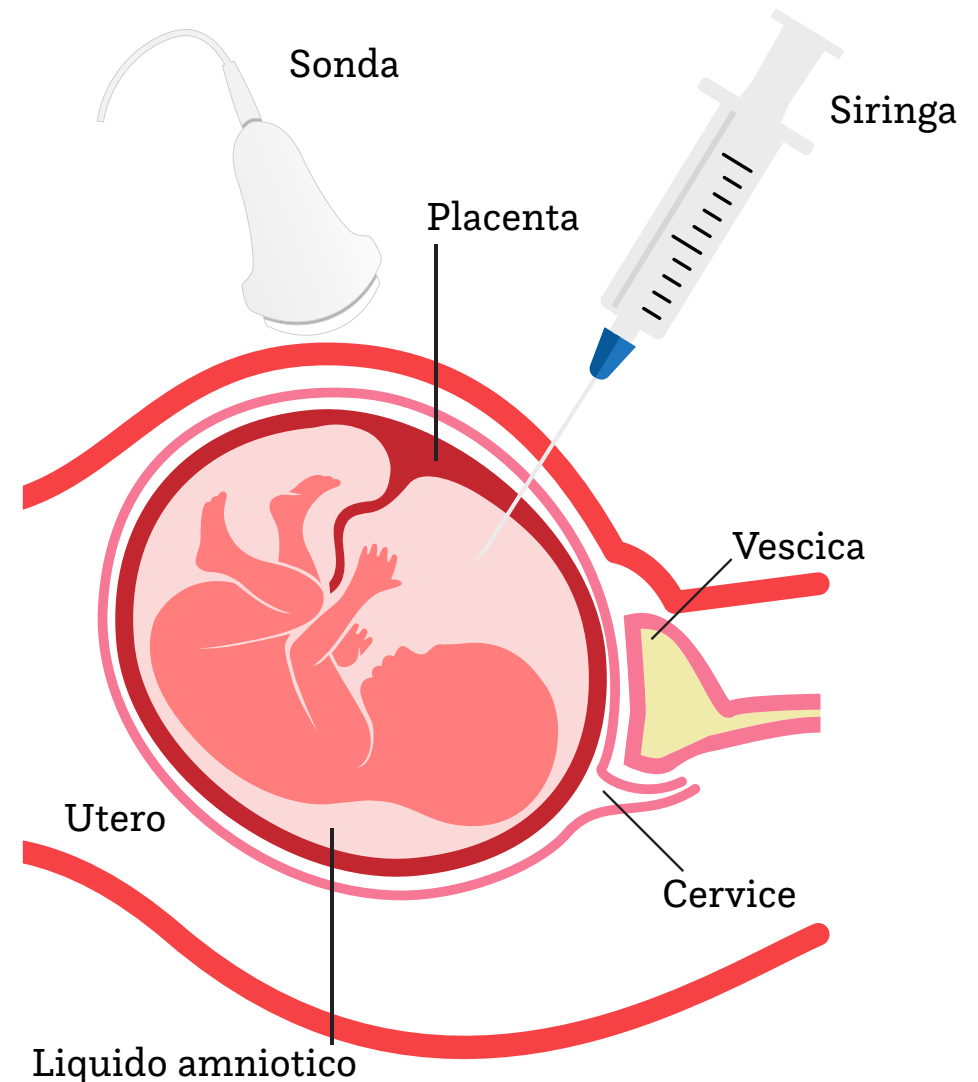


Figura 15:
Esempio di un'amniocentesi.

Si tratta di esami dolorosi?

La villocentesi e l'amniocentesi sono esami solitamente ben tollerati e, pertanto, non richiedono l'anestesia locale. La sensazione generalmente avvertita equivale a quella di una iniezione intramuscolare. In particolare, nel caso di villocentesi, la tecnica del doppio ago risulta essere molto ben tollerata.

Quali sono i possibili sintomi dopo il prelievo?

Dopo il prelievo è generalmente riferita una dolenzia "simil mestruale" destinata a ridursi e scomparire in breve tempo.

In caso di dolori e malessere intensi, perdite ematiche o di liquido amniotico dai genitali o febbre dopo l'esame è opportuno effettuare un controllo ginecologico.



Quali sono i rischi connessi all'esecuzione della villocentesi e dell'amniocentesi?

Rischio di aborto. L'unico studio randomizzato del 1986 ha attribuito all'amniocentesi un rischio aggiuntivo di circa 1% di aborto. La letteratura più recente ha di molto ridimensionato tale rischio.

Secondo i risultati derivanti da alcuni studi recenti entrambe le metodiche non sembrerebbero associate ad un rischio statisticamente significativo di aborto. L'opinione prevalente è che, in mani esperte, il rischio di aborto connesso alla villocentesi o all'amniocentesi sia sostanzialmente sovrapponibile a quello di donne che non eseguono alcuna procedura. Tuttavia, la maggior parte delle Linee Guida delle Società Scientifiche più importanti riporta ancora il rischio di aborto aggiuntivo per entrambe le metodiche dello 0.5-1% (Linee Guida SIEOG 2015). Infatti, è questa la percentuale riportata nel consenso informato.

In presenza di alcune condizioni di rischio per la gravidanza, quali per esempio fibromi o malformazioni uterine, perdite ematiche, distacchi o ematomi, algie, o altri, il rischio di aborto dopo una procedura invasiva è aumentato, ancorché difficilmente quantificabile. In questi casi è opportuna una valutazione individuale con un esperto in Diagnosi Prenatale.

Rischi materni. Seppure possibili, i rischi materni sono di fatto estremamente rari. In casi assolutamente eccezionali sono stati segnalati danni, anche molto gravi, in relazione a complicanze di varia natura (soprattutto infettiva). Il rischio di sepsi materna, con conseguenze a volte gravissime, è stimato in meno di un caso su 1.000 amniocentesi.

Rischi fetali. Anche i rischi fetali sono estremamente rari, e dopo l'introduzione dell'ecografia pressoché inesistenti.

Come viene effettuata l'analisi citogenetica del cariotipo fetale e quali sono i tempi di risposta dell'esame?

Il villo coriale è costituito da due differenti tessuti che vengono analizzati separatamente: il primo con il metodo "diretto" che permette di analizzare le cellule in divisione spontanea, il secondo con la "coltura". L'esito completo dell'esame viene fornito in media dopo 21 giorni.

Per quanto concerne l'amniocentesi si allestisce la coltura cellulare per l'analisi dei cromosomi e l'esito definitivo viene fornito in media dopo circa 21 giorni dal prelievo.

Sia sul villo coriale che sul liquido amniotico sono eseguibili altri tipi di indagini genetiche diagnostiche su indicazioni particolari e con tempistiche diverse.

Esiste la possibilità di dover ripetere l'esame o di eseguire altri accertamenti invasivi?

Per quanto concerne la villocentesi in 1-2% dei casi il risultato dell'esame non raggiunge i criteri sufficienti per formulare una diagnosi per cui è necessario ripetere il prelievo o eseguire un'amniocentesi.

Le cause potrebbero essere legate ad una **quantità insufficiente** di villi coriali prelevati, alla **mancata crescita cellulare in coltura**, o altre cause più rare.

In circa 1-2% dei casi l'analisi citogenetica potrebbe mostrare la presenza di un **mosaicismo cellulare**, ossia una condizione caratterizzata dalla presenza di cellule con corredo cromosomico normale associata a cellule con anomalie cromosomiche, combinate secondo varie modalità. In questi casi l'analisi citogenetica non consente una definizione diagnostica precisa per cui può essere opportuno, previa consulenza genetica, procedere all'amniocentesi per il chiarimento diagnostico.

Pertanto, bisogna tener presente che nel caso della villocentesi, in un 2-4% dei casi potrebbe rendersi necessaria anche l'esecuzione di una amniocentesi.

Per quanto concerne l'amniocentesi in casi molto rari 0.2% e per motivazioni generalmente intrinseche alle caratteristiche del liquido prelevato (es. **liquido amniotico tinto**, ecc), si può verificare il fallimento dell'esame citogenetico per cui, per ottenere un risultato, è necessario ripetere il prelievo.

Anche nel caso dell'amniocentesi può essere riscontrata una condizione di **mosaicismo cellulare**, condizione che consiste nella presenza di cellule con corredo cromosomico normale e di cellule con anomalie cromosomiche combinate secondo varie modalità: in tali situazioni è indicata una **consulenza genetica**.

Quale è l'attendibilità del risultato dell'esame?

L'accuratezza diagnostica dell'analisi del cariotipo è molto elevata. Tuttavia, non è escludibile a priori la possibilità di un risultato **falsamente positivo** (falsamente patologico) o **falsamente negativo** (falsamente normale), seppure in casi estremamente rari.

Per quanto concerne la **villocentesi** qualora l'analisi venga effettuata con il solo metodo diretto, per scarsità del materiale o per fallimento della coltura, la possibilità di falso negativo è da considerarsi molto rara (da un caso su 1.000 a un caso su 3.000). Utilizzando invece, come avviene nella maggior parte dei casi, l'analisi diretta insieme a quella colturale, i risultati falsamente negativi sono ancora più rari, di fatto eccezionali, stimati in un caso su 20.000. Non è altresì escludibile la possibilità di un risultato falsamente positivo nell'1.5% circa dei casi, quasi sempre dovuto alla presenza di mosaicismi placentari (vedi paragrafo precedente) e, raramente, per una anomalia cromosomica non a mosaico.

Anche per **l'amniocentesi** il risultato dell'esame del cariotipo è altamente attendibile. Il rischio di falso negativo, per lo più riconducibile alla contaminazione da parte di cellule materne, è stimato in un caso su 5.000 esami (Linee Guida SIEOG 2015).

Quali precauzioni è bene adottare prima della villocentesi o dell'amniocentesi?

Non sono richieste precauzioni né terapie mediche particolari.

Le Linee Guida delle principali Società Scientifiche non raccomandano (SIEOG, SCOG) o non fanno alcuna menzione (RCOG, ACOG) sulla necessità di medicazione farmacologica di routine pre o post-procedura prenatale invasiva.

Non sono necessari il digiuno o il riempimento vescicale.

Quali esami sono necessari prima della villocentesi o dell'amniocentesi?

Emogruppo e Rh. È necessario conoscere il gruppo sanguigno della gestante. Qualora questo risulti **Rh negativo**, è necessario eseguire il test di Coombs indiretto in data non antecedente ad un mese ed esibire il gruppo sanguigno del partner. Alle gravide con fattore Rh negativo dopo l'indagine viene proposta la profilassi anti-D (somministrazione di immunoglobuline per via intra-muscolare).

Nelle donne già immunizzate con test di Coombs positivo il prelievo di villi coriali è controindicato.

Esami infettivologici. Per quanto concerne gli esami infettivologici (HIV, HCV, HBsAg), le Linee Guida SIEOG 2015 riportano che non vi sono indicazioni ad effettuare uno screening infettivologico prima di eseguire la villocentesi o l'amniocentesi.

Tuttavia, se la gestante è infetta e l'infezione è presente nel sangue materno, è possibile che l'infezione stessa passi dalla madre al feto a seguito del prelievo. Questo rischio dipende da diversi fattori: tipo di infezione, carica virale, terapia in atto (nel caso di HIV), eccetera. Pertanto, e soprattutto per l'infezione da HIV, sarebbe opportuno conoscere lo stato infettivologico per poter eseguire una consulenza adeguata e mettere in atto tutte le azioni preventive possibili.

È opinione prevalente che in caso di positività ai test infettivologici, invece della villocentesi, sia preferibile eseguire l'amniocentesi (possibilmente eseguendo il prelievo senza attraversare la placenta) allo scopo di ridurre il rischio di trasmissione al feto della malattia infettiva materna.

Quali precauzioni è bene adottare dopo la villocentesi o l'amniocentesi?

Presso la nostra struttura dopo il prelievo vengono generalmente consigliati 3 giorni di riposo (non a letto) e, successivamente, la graduale ripresa delle proprie attività.



TEST DI SCREENING, TEST DIAGNOSTICO INVASIVO O NESSUN TEST?

Il momento fondamentale che deve guidare la scelta se effettuare un test di screening, un test diagnostico invasivo o, anche, non effettuare alcun test è quello dell'informazione

La corretta informazione su cui basare le scelte personali dovrà fornire alla coppia da un lato la consapevolezza del rischio di malattia (es. rischio di sindrome di Down per quella certa età della madre o in base ad altro test di screening), dall'altro quella del rischio di aborto connesso all'esecuzione delle indagini di diagnosi prenatale invasiva e il tipo della risposta. Inoltre, nei singoli casi, occorre tener conto della presenza di particolari condizioni di rischio aggiuntivo (es. presenza di perdite ematiche, fibromi, altre condizioni di rischio). Sebbene tali rischi siano espressi in termini numerici, di fatto essi non sono comparabili in quanto la percezione dell'entità e del tipo di rischio (rischio di avere un bambino affetto dalla sindrome di Down o di un'altra anomalia cromosomica o genetica rispetto al rischio di perdere la gravidanza con un bambino con cromosomi normali) è molto soggettiva.

Altro elemento che va a rivestire un peso importante per la decisione della coppia, e non del medico, è il confronto con le personali convinzioni e l'atteggiamento di fronte all'eventuale diagnosi di una malattia dei cromosomi a carico del feto.

In definitiva, lo screening prenatale per le maggiori anomalie dei cromosomi fornisce informazioni sul rischio individuale, per ogni donna in gravidanza, di essere portatrice di un feto affetto da una di queste anomalie. Tale rischio può essere confrontato con il rischio calcolato sulla base della sola età materna: ciò consentirà alla donna, se soddisfatta dell'esito, di proseguire più serenamente la gravidanza oppure di prendere in considerazione, in modo consapevole ed autonomo, di sottoporsi alla diagnostica prenatale invasiva per ottenere una risposta certa sui cromosomi del feto.

Infine, si sottolinea come l'esecuzione di un test di diagnosi prenatale, di screening o diagnostico che sia, non è mai obbligatoria, bensì frutto di una scelta personale e soggettiva effettuata sulla base di informazioni ricevute e di opinioni personali.



4

ECOGRAFIA
OSTETRICA

Che cosa è l'ecografia?

L'ecografia è una **tecnica non invasiva** che utilizza gli ultrasuoni, emessi da specifiche sonde ecografiche appoggiate sulla cute del paziente, per la generazione di immagini (Figura 16). Sin dalla sua introduzione nella pratica clinica, l'ecografia ostetrica è diventata una parte essenziale nel monitoraggio della gravidanza e lo strumento principale della diagnosi prenatale.

Uno dei principali scopi dell'ecografia ostetrica, è la **valutazione dell'anatomia fetale al fine di escludere o diagnosticare la presenza di malformazioni congenite.**



Figura 16.
Rappresentazione ecografica bidimensionale del profilo fetale.

Cosa sono le malformazioni congenite?

I difetti congeniti sono difetti strutturali o funzionali dovuti ad alterazione dello sviluppo prenatale che possono essere individuati durante la gravidanza, alla nascita o nel primo periodo di vita del bambino.

Congenito significa dovuto ad alterazioni che si sono verificate prima della nascita. Tuttavia, congenito non significa necessariamente genetico, poiché solo alcuni difetti congeniti sono determinati da fattori genetici.

L'esposizione della madre e del feto a fattori teratogeni noti (infettivi, fisici, chimici, patologie materne) causa circa il 9-10% dei difetti, mentre la maggior parte ha un'etiologia non nota, forse correlata a complesse interazioni tra i geni e l'ambiente.

Inoltre, **congenito non significa presenta alla nascita**, poiché alcuni difetti si evidenziano prima della nascita, ma altri si manifestano nell'arco dei primi anni di vita del bambino.

Le malformazioni congenite, considerate singolarmente, sono relativamente rare. I dati riportati dal Ministero della Salute riportano una prevalenza alla nascita di circa il 2%. La Tabella 2 rappresenta la frequenza di malformazioni congenite per sistema o apparato (dati EUROCAT).

| | Prevalenza sul totale di malformazioni |
|--------------------------|--|
| Apparato cardiovascolare | 45% |
| Anomalie comosomiche | 26% |
| Difetti degli arti | 23% |
| Apparato urinario | 18% |
| Sistema nervoso | 17% |
| Anomalie dei genitali | 16% |

Tabella 2:
Prevalenza di malformazioni congenite a seconda del sistema o apparato (Dati studio EUROCAT).

Come si possono diagnosticare le malformazioni congenite?

L'ecografia ostetrica è il principale strumento per la diagnosi di malformazioni congenite. L'accuratezza diagnostica di questo esame dipende da molteplici fattori: esperienza dell'operatore, fattori ostacolanti l'esame in epoca prenatale, epoca gestazionale di esecuzione, tipologia d'esame, indicazione all'esame ed altri fattori.

In base all'epoca gestazionale in cui vengono eseguiti gli esami ecografici vengono distinti in *ecografia del I, II e III trimestre*.

Per *tipologia di esame*, secondo il cosiddetto livello di cura, si distingue *l'ecografia di I e di II livello*. La valutazione ecografica mirata al riconoscimento della patologia malformativa fetale può essere eseguito sulla popolazione a basso rischio (*ecografia di screening, o di primo livello*) o sulla popolazione con specifici fattori di rischio, attuali o anamnestici (*ecografia su indicazione, chiamata anche "ecografia diagnostica" o di "secondo livello"*). Inoltre, per alcune condizioni particolari, potranno essere effettuati ulteriori approfondimenti (*per esempio ecocardiografia fetale, Doppler velocimetria materno-fetale, eccetera*).

A seconda di quanto specificato, cambiano le *indicazioni*, le *finalità* e le *modalità* di esecuzione dell'esame ecografico.

Che cosa si intende per ecografia di screening di I livello?

E' una valutazione ecografica destinata alla popolazione priva di particolari fattori di rischio. Si basa su una valutazione ecografica standardizzata da linee guida nazionali e internazionali. Comporta l'esame del feto al fine di escludere alcune patologie malformative. Le finalità dell'ecografia cambiano a seconda dell'epoca gestazionale in cui vengono effettuate.

Che cosa è l'ecografia di screening del II trimestre o ecografia morfologica?

Lo screening morfologico del secondo trimestre (la cosiddetta ecografia morfologica) è un esame fondamentale per lo studio dell'anatomia fetale mirato a riconoscere/escludere un certo numero di malformazioni maggiori.

Lo scopo dell'ecografia del secondo trimestre, secondo le linee guida della Società Italiana di Ecografia Ostetrico Ginecologica (SIEOG), è quella di valutare:

- la vitalità;
- l'anatomia e lo sviluppo fetale;
- la localizzazione placentare e la quantità del liquido amniotico.

La sensibilità (ovvero la capacità) dell'ecografia prenatale nel riconoscere le anomalie fetali è più elevata nel secondo trimestre e, considerando i limiti di legge per l'interruzione di gravidanza in Italia (legge 194/78), la sua esecuzione è raccomandata tra 19 e 21 settimane di gestazione.

A quest'epoca, l'accuratezza dell'ecografia morfologica varia in rapporto all'apparato in esame: i dati della letteratura medica riportano una sensibilità dello screening ecografico del secondo trimestre compresa tra il 30 e il 61% (Tabella 3).



| | S.N.C. | Gastroenterico | Urinario | Scheletro | Cardio vascolare | Sensibilità media |
|---------------|--------|----------------|----------|-----------|------------------|-------------------|
| Bernaschek | 68.3 | 46 | 73 | 53 | 30 | 50.0 |
| Anderson | 90 | 72 | 85 | 31 | 36 | 58.3 |
| Chambers | 92.1 | 24 | 88.4 | 25 | 18.4 | 50.3 |
| Stoll | 76.7 | 47.3 | 64.1 | 18.2 | 16.5 | 37.8 |
| Grandjean | 88.3 | 53.7 | 88.5 | 36.6 | 38.8** | 61.4 |
| Queisser-Luft | 68.6 | 42.3 | 24.1 | == | 5.9 | 30.3 |

Tabella 3. Sensibilità dell'ecografia morfologica nell'identificazione di malformazioni per sistema o apparato. (Linee Guida SIEOG 2015).

* la sensibilità riportata si riferisce alle malformazioni rilevate nel secondo e nel terzo trimestre in studi multicentrici

**sensibilità per le cardiopatie maggiori.

L'accuratezza dell'esame ecografico nella individuazione delle anomalie fetali può essere limitata da una serie di fattori quali:

- la posizione fetale sfavorevole;
- la riduzione del liquido amniotico;
- la presenza di cicatrici addominali;
- la gemellarità;
- la fibromatosi uterina;
- la scarsa penetrazione degli ultrasuoni attraverso la parete addominale materna (per esempio nelle gestanti obese).

Per tutti questi motivi, anche se l'esame di screening del secondo trimestre si conclude con un esito normale, non è possibile escludere del tutto la presenza di malformazioni congenite. Inoltre vi sono delle condizioni che possono rendersi manifeste solo in epoche avanzate della gravidanza, e che di conseguenza possono non essere evidenziate durante l'ecografia morfologica.

Sebbene la valutazione ecografica del secondo trimestre possa talvolta mettere in evidenza la presenza di soft markers, ovvero segni ecografici che possono aumentare il rischio per cromosomopia, è importante sottolineare che la sola valutazione ecografica non è in grado di fare diagnosi di malattie genetiche.



Che cosa è l'ecografia di screening del III trimestre o ecografia di accrescimento?

Nel terzo trimestre l'esame ecografico è volto a:

- valutazione della biometria fetale attraverso la misurazione di alcune parti del feto. Tali valori vengono confrontati con quelli delle curve di riferimento per valutare se corrispondono a quelle attese per l'epoca di gravidanza;
- valutazione di alcuni distretti anatomici di base (e non tutta l'anatomia fetale);
- valutazione del liquido amniotico;
- valutazione della sede di inserzione placentare;
- valutazione della presentazione fetale.

I nuovi Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) non comprendono più l'ecografia del III trimestre tra gli esami ecografici di routine ma ne prevedono l'esecuzione solo se presenti fattori di rischio materni e/o fetali o in caso di sospetto diagnostico.

Al momento della stesura del presente libretto, l'applicazione dei nuovi LEA in riferimento all'ecografia di screening del III trimestre di fatto non era ancora stata attuata in tutte le Regioni, compreso il Friuli Venezia Giulia, risultando ancora in vigore l'ecografia del III trimestre a 30-32 settimane come LEA. Questo argomento, tuttavia, potrebbe essere soggetto a modificazioni.

Che cosa si intende per l'ecografia di II livello (o ecografia diagnostica)?



Con il termine di ecografia diagnostica si intende un esame finalizzato all'approfondimento diagnostico, effettuato su particolare indicazione: fattori di rischio preesistenti alla gravidanza, insorti durante il suo decorso, o se un precedente esame ecografico di screening ha posto il sospetto di patologia malformativa.



Tale esame prevede anche il counseling della paziente sul management della gravidanza. Per tale motivo deve essere effettuato con apparecchi ecografici adeguati in centri di riferimento con comprovata esperienza e da personale esperto in diagnosi prenatale che potranno avvalersi anche della consulenza di altri specialisti.

L'accuratezza diagnostica di questo esame dipende dal tipo di richiesta e dalla possibilità di diagnosticare una specifica condizione patologica. L'ecografia diagnostica può essere eseguita a qualsiasi epoca della gravidanza, anche in epoche precoci o epoche più tardive, qualora insorga il sospetto di una malformazione congenita fetale, sebbene i limiti della metodica cambiano a seconda dell'epoca gestazionale in cui viene eseguita (es. *dimensioni del feto, morfogenesi non completata*).

Nonostante i notevoli progressi delle tecnologie in campo ecografico e l'aumento delle conoscenze e dell'esperienza degli operatori che operano nel campo della Medicina Fetale, la valutazione ecografica presenta ancora dei limiti in termini di accuratezza della diagnosi, legati sia a limitazioni intrinseche alla metodologia che anatomiche fetali. In alcuni casi, può essere utile affiancare alla valutazione ecografica tecniche complementari di diagnostica per immagini. In epoca prenatale, l'unico esame radiologico eseguibile è la **risonanza magnetica nucleare**. Tale esame permette una migliore valutazione di alcuni distretti fetali, come il sistema nervoso centrale, e viene eseguito su **indicazioni specifiche**, solo dopo l'esecuzione di una ecografia ostetrica approfondita e qualora l'operatore lo richieda. Presso IRCCS Burlo Garofolo viene eseguita la risonanza magnetica nucleare fetale. La Figura 17 rappresenta un esempio di risonanza magnetica nucleare fetale.

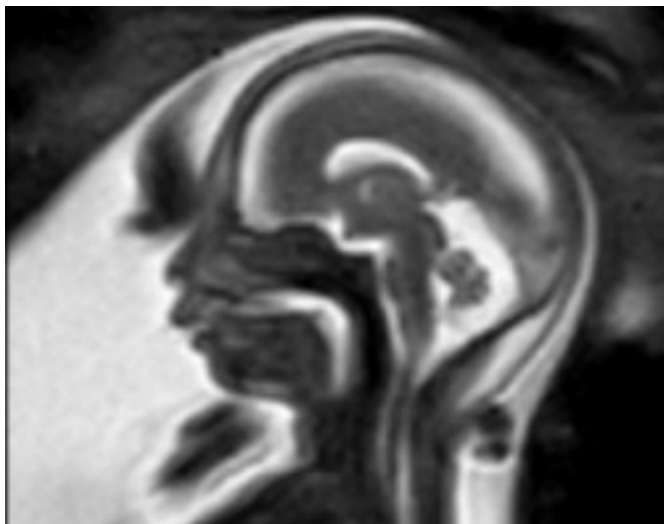


Figura 17.
Esempio di una risonanza magnetica fetale.

Che cosa è l'ecocardiografia fetale?

L'ecocardiografia fetale è un esame diretto ad una valutazione approfondita dell'anatomia cardiaca fetale e della sua funzionalità (Figura 18). È un esame di approfondimento, e non di screening, rivolto a un gruppo selezionato di gestanti, che presentano un rischio aumentato di avere un feto affetto da cardiopatia congenita.

Le linee guida SIEOG forniscono un elenco dettagliato di tali fattori di rischio. Nello specifico i fattori di rischio possono essere preesistenti alla gravidanza (es familiarità per cardiopatie, diabete insulino-dipendente), sopraggiunti durante la gravidanza (es translucenza nucale aumentata) o derivanti da un sospetto di cardiopatia insorto nel corso di un esame ecografico di screening.

Tale esame si ritiene possa identificare, in condizioni ideali, dall'80-85% delle cardiopatie fetali maggiori.



Figura 18:
Esempio di una scansione delle 4 camere cardiache.

Che cosa è l'ecografia premorfologica?

L'ecografia premorfologica viene eseguita solitamente tra la 15^a e 17^a settimana di gestazione. **La finalità è di una precoce valutazione della morfologia fetale rispetto all'ecografia morfologica.**

Questo tipo di ecografia viene eseguita su indicazioni precise.

Lo sviluppo di sonde ecografiche ad alta risoluzione combinata ad un'epoca gestazionale più avanzata rispetto al primo trimestre permette una valutazione migliore delle strutture anatomiche fetali, consentendo una valutazione più precoce dell'anatomia fetale nei casi a rischio e tempistiche adeguate per l'esecuzione di un'eventuale amniocentesi. È importante, tuttavia, sottolineare che la valutazione premorfologica non sostituisce del tutto l'ecografia morfologica eseguita in epoche più tardive della gravidanza, poiché alcune strutture non hanno ancora completato il loro sviluppo rendendo impossibile la diagnosi di alcuni difetti fetali.

Esistono altri tipi di ecografie?

In questo libretto informativo abbiamo elencato i principali esami ecografici eseguibili durante la gravidanza: tuttavia vi sono numerosi e molteplici esami e test che possono essere effettuati. Buona norma è rivolgersi al proprio Curante (ginecologo, ostetrica, medico di medicina generale) per una corretta informazione ed eventuale programmazione.

In conclusione:

- Si desidera sottolineare come le ecografie ostetriche sono consigliate, ma non obbligatorie, e la gestante, dopo essere stata informata dal sanitario curante, potrà decidere se effettuarle o meno;
- In assenza di fattori di rischio particolari, è indicata l'esecuzione di esami ecografici di screening o di I livello;
- In condizioni di rischio particolari sono indicati accertamenti più specifici o di II livello;
- Sembra opportuno evidenziare come una gestante possa decidere per volontà propria di sottoporsi ad indagini più approfondite ossia di II livello oppure anticipate.

5

ALTRE
INFORMAZIONI
UTILI

ALTRE INFORMAZIONI UTILI

RIFERIMENTI UTILI

SSDR Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale –
Dipartimento Materno Neonatale
IRCCS Burlo Garofolo - Via dell'Istria 65/1 - 34137
Trieste
Telefono: 040-3785247 (lun, mer, giov h 13.00 - 15.00);
Fax: 040-3785486
E-mail: servizio.ecografia@burlo.trieste.it

Il servizio è situato nella palazzina centrale, 1° piano
scala B.

Responsabile della Struttura:

Prof.ssa Tamara Stampalija

(tamara.stampalija@burlo.trieste.it)

Staff medico:

- Dr.ssa Valentina **Barresi**
- Dr.ssa Ilaria **Fantasia**
- Dr.ssa Stefania **Inglese**
- Dr.ssa Leila **Lo Bello**
- Dr.ssa Mariachiara **Quadrifoglio**

Comparto:

- Dr.ssa Enrica **Dovier**
- IP Alessandra **Glavina**
- IP Valentina **Lazzari**
- Signora Giovanna **Lonzar**
- IP Cristina **Tomasi**

Presso la SSSDR Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale
è possibile eseguire le seguenti prestazioni:

| | |
|--|--|
| Screening di I livello | <p>Ecografia di datazione</p> <p>Screening per le aneuploidie maggiori (trisomie 13, 18 e 21) tramite il test combinato (11-13 settimane)</p> <p>Ecografia morfologica per l'esclusione di malformazioni fetali maggiori (19-21 settimane)</p> <p>Ecografia del III trimestre di accrescimento</p> |
| Procedure diagnostiche invasive | <p>Villocentesi nelle gravidanze singole e plurigemine</p> <p>Amniocentesi nelle gravidanze singole e plurigemine</p> <p>Cordocentesi</p> |
| Prestazioni specialistiche di II livello | <p>Consulenze multidisciplinari nei casi sospetti/accertati per patologia genetica o malformativa</p> <p>Ecografia premorfologica</p> <p>Ecografia morfologica di II livello</p> <p>Ecocardiografia</p> <p>Neurosonografia</p> <p>Procedure intrauterine terapeutiche (trasfusione in utero, amnioriduzioni, eccetera)</p> |
| Colloquio collettivo informativo su percorsi in diagnosi prenatale | <p>Ogni martedì dalle 12.30 alle 13.30 in Aula Magna, Palazzina degli Ambulatori, piano terra</p> |

In collaborazione con altri Reparti dell'Istituto è possibile eseguire inoltre:

- Risonanza magnetica nucleare fetale, SC Radiologia ad indirizzo pediatrico;
- Consulenze genetiche, SC Genetica Medica;
- Consulenze multidisciplinari con gli specialisti in:
 - Cardiologia pediatrica;
 - Chirurgia pediatrica;
 - Nefrologia;
 - Neonatologia;
 - Neurologia pediatrica;
 - Ortopedia pediatrica;
 - Esperti in malattie rare.



Staff della SDR Medicina Fetale e Diagnostica Prenatale

Siti Web utili

- <http://www.sieog.it>
- <http://www.salute.gov.it>
- <http://www.sigu.net>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Bibliografia

Akolekar R, et al. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015; 45:16-26.

Giorlandino C et al. Antibiotic prophylaxis before second-trimester genetic amniocentesis (APGA): a single-centre open randomised controlled trial. *Prenat Diagn* 2009;29(6):606-12.

Gruppo di Lavoro Regionale Test Prenatali Non Invasivi (NIPT). Resoconto delle attività marzo-giugno 2015. Azienda Sanitaria e Sociale Regionale. Regione Emilia Romagna, 28.12.2015.

Istituto Superiore di Sanità. Linee Guida per la gravidanza fisiologica, 2011.

Istituto Superiore di Sanità. Linee Guida Maggio 2015. Screening prenatale non invasivo basato sul DNA.

SIEOG. Linee guida 2015. Editeam.

SIGU, Febbraio 2014. Documento di indirizzo sull'impiego di indagini prenatali non invasive.

Wulff CB, et al. Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first trimester screening for Down syndrome: a National cohort of 147 987 singleton pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol. 2016 Jan; 47 (1) 38-44.

COME RAGGIUNGERE L'IRCCS BURLO GAROFOLO?

L'ospedale si trova a Trieste in via dell'Istria 65/1, è raggiungibile in automobile dall'autostrada A4 Venezia-Trieste: superato il casello Duino-Lisert proseguite lungo la superstrada seguendo la segnaletica "Ospedale Burlo Garofolo" (circa 25 km).

