



TEST DIAGNOSTICI E DI SCREENING DELLE PATOLOGIE CROMOSOMICHE FETALI

- **Difetti Congeniti:** per difetto congenito si definisce un'anomalia di struttura o di funzione acquisita durante la vita intrauterina e che si presenta alla nascita. Il 3-5 % dei neonati presenta difetti congeniti.
- **Anomalie Cromosomiche:** possono riguardare il **numero** dei cromosomi (trisomie, monosomie, poliploidie) o la loro **struttura** (traslocazioni, inversioni, delezioni, microdelezioni, etc). L'anomalia cromosomica più comune è rappresentata dalla Trisomia 21 o Sindrome di Down, comparando, di media, in 1 caso su 700 nati vivi. Le anomalie cromosomiche fanno parte delle malattie genetiche non ereditarie e, nella grande maggioranza, compaiono **per caso e con un rischio che aumenta con l'aumentare dell'età materna senza però poter evidenziare un'età al di sotto della quale tale rischio non esista.**

Esempi di Malattie Cromosomiche	
<i>Sindrome di Down (Trisomia 21)</i>	<i>Frequenza: ~ 1:700</i>
<i>Sindrome di Edwards (Trisomia 18)</i>	<i>Frequenza ~ 1:8000</i>
<i>Sindrome di Patau (Trisomia 13)</i>	<i>Frequenza ~ 1:25000</i>
<i>Sindrome di Klinefelter (47,XXY)</i>	<i>Frequenza: ~1:1000 (maschi)</i>
<i>Sindrome di Turner (45,X0)</i>	<i>Frequenza: ~ 1:5000 femmine</i>

La Tabella sottostante mostra come varia il rischio cromosomico all'aumentare dell'età materna

Età Materna	Sindrome di Down	Anomalie Cromosomiche
20	1/1667	1/526
30	1/952	1/385
35	1/385	1/202
36	1/295	1/162
37	1/227	1/129
38	1/175	1/102
39	1/137	1/82
40	1/106	1/65



Presidio Ospedaliero di GARBAGNATE MILANESE

U.O. Ostetricia-Ginecologia

Direttore : Dott. M.L. Muggiasca

Indirizzo: viale Forlanini 95

Tel. 02/994302349- 2321-2431

Lo studio delle anomalie cromosomiche fetali è compito della **DIAGNOSI PRENATALE** che si avvale di tecniche **NON INVASIVE DI SCREENING** (Bitest e DNA fetale nel sangue materno) e **INVASIVE DI DIAGNOSI** (Villocentesi e Amniocentesi).

TECNICHE DI SCREENING PRENATALE NON INVASIVE:

Bitest – NIPT cFF DNA

I test di screening hanno lo scopo di individuare nella popolazione generale un gruppo di pazienti a maggior rischio alle quali proporre l'eventuale esecuzione di esami diagnostici per definire con certezza la presenza o meno della malattia ricercata.

1. BITEST / TRANSLUCENZA NUCALE – TEST COMBINATO

Il Bitest o Test combinato è indirizzato alla ricerca della Sindrome di Down, delle Trisomie 18 e 13.

Si esegue tra la 11+0 e 13+6 settimana di gravidanza e consiste nella valutazione combinata di indici materni e feto-placentari (età materna, epoca gestazionale, dati biometrici e morfologici fetali, translucenza nucale, indici biochimici –PAPP-A e Free Beta HCG -, dati biometrici e anamnestici) che verranno elaborati da un programma computerizzato certificato. L'elaborazione multifattoriale, e quindi senza più basarsi solo sul rischio legato all'età materna, consente un netto miglioramento della sensibilità del test portandola circa al 95% (con una percentuale di falsi negativi del 5%). Il risultato finale del test di screening darà informazioni **sulla probabilità di rischio** di quel feto di essere portatore della Sindrome di Down. Nei casi in cui il rischio dovesse essere superiore al valore soglia o cut-off di 1:250, si potrà offrire alla paziente l'opportunità di eseguire uno degli esami diagnostici invasivi per lo studio del cariotipo fetale, villocentesi o amniocentesi, o approfondimenti ecografici di II livello.

POSSIBILI ESITI DEL BITEST:

- ***basso rischio*** un test con un valore del test combinato $> 1:1000$
- ***alto rischio un valore ≤ 100*** dopo attento e accurato colloquio con la coppia, si proporrà l'esecuzione di un test diagnostico invasivo: Villocentesi o Amniocentesi
- ***rischio intermedio valore compreso tra 300-1000:*** verrà proposta l'esecuzione del cariotipo fetale su sangue materno (NIPT) gratuitamente.



- **rischio medio alto valore compreso tra 100-300**: si eseguirà counselling specifico con la coppia

2. **CARIOTIPO FETALE SU DNA FETALE NEL SANGUE MATERNO (cFF DNA)**

È noto già da molti anni che cellule fetali circolano nel sangue materno derivate dalle molte zone di scambio tra le due circolazioni a livello placentare. Grazie alle moderne tecniche di biologia molecolare, è stato possibile individuare, selezionare e studiare il DNA fetale presente nel circolo materno. È un esame prenatale non invasivo, **di screening**, che **valuta il rischio** di eventuali anomalie cromosomiche fetali (cromosomi 21, 18, 13 e dei cromosomi sessuali). È anche possibile studiare l'intero set cromosomico fetale sebbene con una sensibilità di molto inferiore al test di base.

Il DNA fetale è rilevabile nel sangue materno già a partire dalla 5° settimana di gestazione. La sua concentrazione aumenta nelle settimane successive e scompare subito dopo il parto. La quantità di DNA fetale circolante dalla 9°-10° settimana di gestazione è sufficiente per garantire l'elevata sensibilità del test.

La percentuale di falsi negativi è inferiore al 5% con una sensibilità superiore al 99% per la Trisomia 21. Le percentuali di falsi positivi sono <0.1%.

Nonostante l'alta sensibilità anche questo test non può considerarsi un test DIAGNOSTICO e, in caso di positività, il risultato andrà confermato attraverso le tradizionali tecniche di diagnosi prenatale invasiva (villocentesi o amniocentesi), non può quindi essere impiegato in sostituzione ad esami di citogenetica invasiva né come strumento per interrompere una gravidanza in caso di risultato ad alto rischio ottenuto dopo Bitest.

L'analisi su DNA fetale non è sostitutiva della diagnosi prenatale invasiva (Villocentesi o Amniocentesi) in caso di esito di Rischio Elevato al Bitest.

Non è possibile eseguire questo test su gravidanze gemellari o multiple, o a donne portatrici esse stesse di aneuploidie.



Presidio Ospedaliero di GARBAGNATE MILANESE

U.O. Ostetricia-Ginecologia

Direttore : Dott. M.L. Muggiasca

Indirizzo: viale Forlanini 95

Tel. 02/994302349- 2321-2431

TECNICHE DI DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA:

Villocentesi - Amniocentesi

È possibile conoscere il numero e la struttura dei cromosomi del feto attraverso il prelievo di cellule fetali ottenute dalla placenta (tramite Villocentesi) o dal liquido amniotico (tramite Amniocentesi).

1. VILLOCENTESI O PRELIEVO DEI VILLI CORIALI

I villi coriali, che costituiscono la placenta, hanno la stessa origine dell'embrione presentando le sue stesse caratteristiche genetiche.

Tecnica di prelievo: sotto guida ecografica continua, con un ago di 0.9 mm di diametro introdotto attraverso l'addome materno, si effettua l'aspirazione di pochi milligrammi (5-20 mg) di tessuto placentare (villi coriali) che rappresentano circa 1/1000 del peso placentare. Tale prelievo, della durata di pochi secondi, non necessita né di anestesia locale né di alcuna particolare preparazione in quanto poco o per nulla disturbante. Non si richiede alcun digiuno e solo un adeguato riempimento vescicale. Dopo il prelievo si consigliano a scopo precauzionale 1-2 giorni di riposo e l'astensione dai rapporti sessuali per circa 7 giorni. Il prelievo è preceduto da un'accurata ecografia al fine di valutare la vitalità, la crescita e la morfologia fetale precoce. Inoltre si valuteranno eventuali situazioni anatomiche che possono controindicare il prelievo (utero profondamente retroverso, anse intestinali sovrapposte all'utero, distacchi placentari).

Indicazioni principali: Studio del cariotipo fetale (numero e struttura dei cromosomi), Studio del DNA fetale (malattie genetiche: es. Fibrosi cistica, x-fragile, sordità congenita, microdelezioni...), Ricerca di DNA virale o altro in casi di sospetta infezione.

Epoca di effettuazione: dopo la 10a settimana di gravidanza (periodo ideale 10-12 settimane). La villocentesi è una tecnica di diagnosi prenatale precoce e consente di avere rapidi tempi di risposta da parte del laboratorio di citogenetica.

Rischi: Essendo una tecnica invasiva comporta un rischio abortivo dello 0.3-1% in più del rischio abortivo naturale spontaneo previsto per la settimana di esecuzione e del tutto sovrapponibile a quello dell'amniocentesi. La villocentesi viene eseguita a epoche gestazionali precoci nelle quali il rischio "biologico spontaneo" di abortività è ancora alto

*Presidio Ospedaliero di GARBAGNATE MILANESE***U.O. Ostetricia-Ginecologia**

Direttore : Dott. M.L. Muggiasca

Indirizzo: viale Forlanini 95

Tel. 02/994302349- 2321-2431

(circa del 3% per le epoche di esecuzione dell'esame). Per quanto riguarda i danni diretti al feto non è riconosciuto alcun maggior rischio rispetto alla popolazione delle gravide in generale per prelievi eseguiti dopo la 9a settimana di gravidanza e da professionisti attenti ed esperti. Il rischio di un fallimento del prelievo o della coltura è <1%, mentre un risultato citogenetico dubbio è possibile nell'1-2% dei prelievi (mosaico cromosomico). Per la paziente non esistono rischi e la sintomatologia avvertita è nella gran parte dei casi scarsa e transitoria.

Tempo della risposta: potendo sfruttare l'intrinseca capacità di riprodursi delle cellule placentari (citotrofoblastiche) è possibile ottenere una risposta probante entro 48-72 ore dal prelievo (Metodo Diretto). A questa risposta rapida fa seguito lo studio colturale della linea cellulare mesenchimale (sinciziale) che darà una risposta dopo circa 10-15 giorni (Metodo Indiretto). L'affidabilità diagnostica complessiva è di circa il 99%.

2. AMNIOCENTESI O PRELIEVO DI LIQUIDO AMNIOTICO

Indicazioni principali. Sono le medesime di quelle viste per la villocentesi.

Tecnica di prelievo. Sotto guida ecografica si introduce in cavità amniotica un ago di 0.7 mm di diametro, attraverso la parete addominale, e si prelevano pochi cc di liquido amniotico (15-20 cc). Il laboratorio di citogenetica provvederà alla raccolta e allo studio delle cellule fetali presenti nel liquido e provenienti dalla fisiologica desquamazione cutanea e mucosa del feto. Non sono richieste né anestesia né preparazioni particolari. Il prelievo è preceduto da un'accurata ecografia al fine di valutare la vitalità, la crescita e l'anatomia del feto. Dopo il prelievo si consigliano 1-2 giorni di riposo e l'astensione dai rapporti sessuali per circa 7 giorni.

Epoca di effettuazione: dopo la 15a settimana di gravidanza (periodo ideale 15a-16a settimana di gravidanza).

Rischi: 0,3-1% di abortività dovuta alla possibilità di rottura del sacco amniotico o infezione intra amniotica (amniosite). I rischi di fallimento del prelievo o della coltura sono < 1%, mentre il rischio di un risultato dubbio è < 0,3%. Nessun rischio invece è stimato per la paziente.

Tempo della risposta: 15-20 giorni (occorre necessariamente attendere la crescita delle cellule prelevate mediante coltura). In casi particolari saranno possibili tempi di risposta entro le 72 ore mediante tecniche citogenetiche specifiche (QF-PCR, FISH)

In quanti casi può fallire il prelievo?

Il successo complessivo del prelievo è superiore al 99%.

In quanti casi può fallire la diagnosi?

Per entrambe le tecniche in meno dell'1% dei casi.

Qual è l'attendibilità del risultato?

Le possibilità di errore sono inferiori all'1 per mille