



LINEE GUIDA AOGOI

SCREENING PRENATALE PER LA TRISOMIA 21 (SINDROME DI DOWN)





LINEE GUIDA AOGOI

SCREENING PRENATALE PER LA TRISOMIA 21 (SINDROME DI DOWN)



Copyright © 2009

ISBN 88-6135-100-X
978-88-6135-100-4



Via Gennari 81, 44042 Cento (Fe)
Tel. 051.904181/903368 - Fax 051.903368
www.editeam.it info@editeam.it

Progetto Grafico: EDITEAM Gruppo Editoriale

Tutti i diritti sono riservati, nessuna parte di questa pubblicazione può essere riprodotta, trasmessa o memorizzata in qualsiasi forma e con qualsiasi mezzo senza il permesso scritto dell'Editore.

L'autore e l'Editore, declinano, dopo attenta e ripetuta correzione delle bozze, ogni responsabilità derivante da eventuali errori di stampa, peraltro, sempre possibili.

L'utilizzo in questa pubblicazione di denominazioni generiche, nomi commerciali, marchi registrati, ecc., anche se non specificatamente identificati, non implica che tali denominazioni o marchi siano protetti dalle relative leggi e regolamenti.

I contenuti del presente Volume non sostituiscono i consigli del proprio medico che va sempre consultato.

Finito di stampare nel mese di Dicembre 2009.

INDICE

SCREENING PRENATALE PER LA TRISOMIA 21 (Sindrome di Down)	pag. 1
(Daniela Dall'Amico, Elsa Viora, <i>Torino</i>)	
- Introduzione.....	“ 3
- Test diagnostici.....	“ 5
- Test di screening.....	“ 5
- Marcatori.....	“ 7
<i>Associazioni di marcatori</i>	
<i>Significato e limiti</i>	
<i>Interpretazione dei risultati dei test di screening</i>	
- Consulenza informativa.....	“ 14
- Screening “combinato” ecografico-biochimico del primo trimestre.....	“ 15
- Screening del primo trimestre più quello del secondo trimestre.....	“ 16
- Screening “integrato” del primo e del secondo trimestre.....	“ 16
- Lo screening nelle gravidanze multiple.....	“ 17
- Scelta fra le diverse strategie di screening.....	“ 18
- Altre implicazioni cliniche dello screening delle aneuploidie.....	“ 18
- Qualità.....	“ 18
- Considerazioni conclusive.....	“ 19
- Raccomandazioni.....	“ 19
- Bibliografia e sitografia.....	“ 20

SCREENING PRENATALE PER LA TRISOMIA 21 (Sindrome di Down)

Estensori

Daniela Dall'Amico

*Azienda Ospedaliera Materno-Infantile OIRM Sant'Anna, Torino
SIBioC Società Italiana di Biochimica Clinica*

Elsa Viora

Azienda Ospedaliera Materno-Infantile OIRM Sant'Anna, Torino

Revisori

Sebastiano Bianca

Ospedale Garibaldi-Nesima, Catania

Giuseppe Canzone

Ospedale di Termini Imerese, Palermo

Giuseppina D'Ottavio

Istituto Burlo Garofolo, Trieste

Giuseppe Ettore

Ospedale Garibaldi-Nesima, Catania

Carmelo Iacobello

Spedali Civili di Brescia. ELAS Italia European Ligand Assay Society

Giuseppe Lippi

Università di Verona. SIBioC Società Italiana di Biochimica Clinica

Marta Paggini

Ospedale San Donato di Arezzo. ELAS Italia European Ligand Assay Society

Clara Sacchini

Azienda USL, Parma

Giulio Vignati

Ospedale Legnano-Magenta. ELAS Italia European Ligand Assay Society

Angelica Zoppi

Ospedale Microcitamico, Cagliari

Coordinamento

Giampaolo Mandruzzato

Presidente Fondazione Confalonieri-Ragonese, Trieste

INTRODUZIONE

La Sindrome di Down (SD), nota fin dal XVI secolo, ebbe il suo inquadramento nosologico solo nel 1866 ad opera del medico inglese John Langdon Down da cui prende il nome. Nel 1959 J. Lejeune dimostrò che la SD dipende dalla presenza di tre cromosomi del tipo 21 in luogo della normale coppia e da allora viene anche definita "trisomia 21". Si tratta di un difetto cromosomico congenito non ereditario, a comparsa casuale: attualmente è la più nota e diffusa tra le anomalie del numero dei cromosomi (aneuploidie) e la sopravvivenza piuttosto lunga delle persone che ne sono portatrici ha determinato nella società la consapevolezza della sua presenza.

La trisomia 21 può essere associata a cardiopatie congenite e patologie neurosensoriali a carico di vista ed udito nel 50% dei casi, nel 15% dei casi si manifestano ipotiroidismo, patologie del sistema emopoietico e/o di quello immunocompetente.

La figura 1 mostra come il rischio di avere un figlio affetto dalla SD sia direttamente proporzionale all'età materna. Si nota infatti che, in media, il rischio di avere un figlio con SD per le donne di età più giovane è decisamente minore rispetto a quello delle donne più anziane: i neonati con trisomia 21, tuttavia, sono prevalentemente partoriti dalle madri relativamente giovani, che si riproducono di più rispetto alle donne di età maggiore.

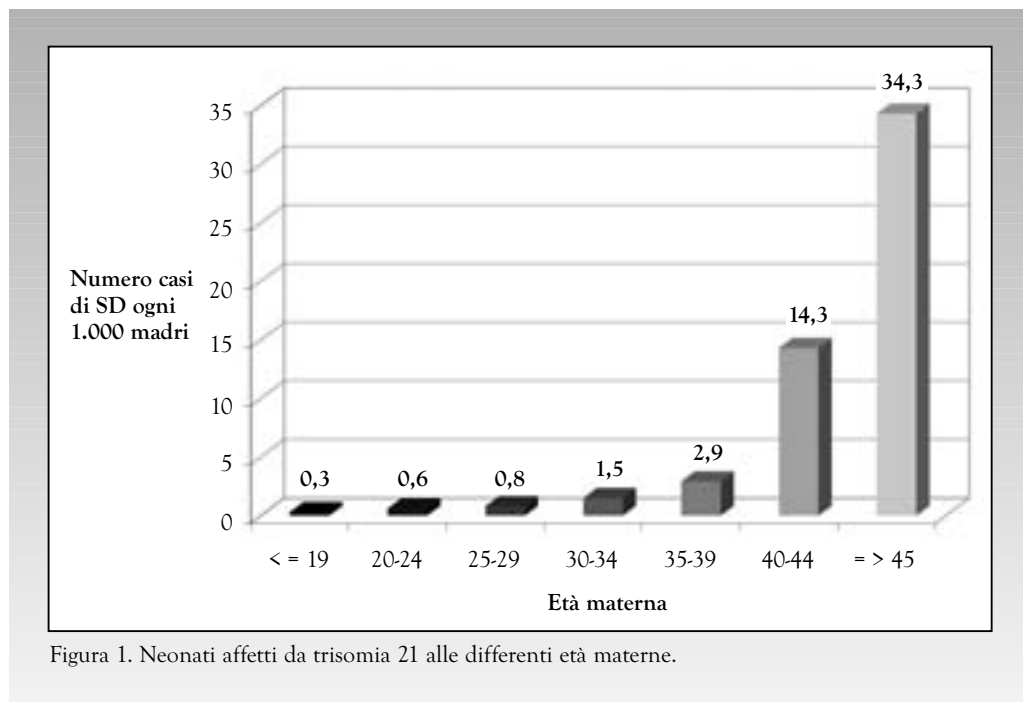


Figura 1. Neonati affetti da trisomia 21 alle differenti età materne.

Si può affermare che nella popolazione generale, priva di rischi specifici, le donne non ancora ventenni hanno una probabilità di avere un neonato con SD ogni 3.330 gravidanze, quelle tra i 20 ed i 24 anni una ogni 1.660, quelle tra i 25 ed i 29 anni una ogni 1.250, quelle tra i 30 ed i 34 anni una ogni 665, quelle tra i 35 ed i 39 an-

ni una ogni 345, quelle tra i 40 ed i 45 anni una ogni 70 e quelle oltre i 45 anni una ogni 30 gravidanze. La prevalenza attesa di nuovi casi della malattia in una popolazione dipende dall'età media delle donne di quella popolazione: è tuttora bassa nel Terzo Mondo, ma è progressivamente aumentata in tutti i Paesi industrializzati del Mondo Occidentale. Per quanto riguarda l'Italia, i dati ricavati dai Certificati di Assistenza al Parto e pubblicati dal Ministero della Salute in merito alle puerpere del 2005 rendono noto che l'età media al parto è di circa 31 anni: di conseguenza, la prevalenza attesa sarebbe di poco superiore ad un caso di SD ogni 500 parti, in assenza di interventi di prevenzione secondaria.

La SD non può essere oggetto di prevenzione primaria in quanto non è possibile evitare il concepimento di embrioni con aneuploidie, né intervenire sul loro sviluppo nelle fasi più precoci della gravidanza, né favorire l'eliminazione spontanea dei prodotti del concepimento che sono affetti da grossolane anomalie dei cromosomi. Questo fenomeno avviene naturalmente in molti casi: è noto che, se si esegue un esame citogenetico sul materiale ottenuto dagli aborti spontanei, in una notevole percentua-

TABELLA 1
PREVALENZA ATTESA DELLA SD ALLE DIVERSE SETTIMANE DI ETÀ GESTAZIONALE

Età materna	10 sett.	12 sett.	14 sett.	16 sett.	20 sett.	40 sett.
< 25	1/983	1/1068	1/1140	1/1200	1/1295	1/1527
25	1/800	1/946	1/1009	1/1062	1/1147	1/1352
30	1/576	1/626	1/668	1/703	1/759	1/895
31	1/500	1/543	1/580	1/610	1/658	1/776
32	1/424	1/461	1/492	1/518	1/559	1/659
33	1/352	1/383	1/409	1/430	1/464	1/547
34	1/287	1/312	1/333	1/350	1/378	1/446
35	1/229	1/249	1/266	1/280	1/302	1/356
36	1/180	1/196	1/209	1/220	1/238	1/280
37	1/140	1/152	1/163	1/171	1/185	1/218
38	1/108	1/117	1/125	1/131	1/142	1/167
39	1/82	1/89	1/95	1/100	1/108	1/128
40	1/62	1/68	1/72	1/76	1/82	1/97
41	1/47	1/51	1/54	1/57	1/62	1/73
42	1/35	1/38	1/41	1/43	1/46	1/55
43	1/26	1/29	1/30	1/32	1/35	1/41
44	1/20	1/21	1/23	1/24	1/26	1/30
≥ 45	1/15	1/16	1/17	1/18	1/19	1/23

(Tratta da FMF "l'ecografia a 11-14 settimane").

le di casi si trova un'anomalia cromosomica e quindi i neonati aneuploidi non sono che la punta di un iceberg, in quanto la grande maggioranza dei prodotti del concepimento con cariotipo patologico va incontro ad abortività spontanea. La tabella 1 quantifica questo aspetto per quanto riguarda la SD, sulla base delle osservazioni cliniche realizzate con la diagnosi prenatale: a partire dagli anni '70, mediante il prelievo di liquido amniotico a 16-20 settimane di gravidanza e, a partire dagli anni '80, mediante il prelievo dei villi coriali a 10-14 settimane (1).

Le osservazioni sulla prevalenza alla nascita sono, invece, più datate poiché sono state fatte nella prima metà del XX secolo, a partire da quella di Shuttleworth del 1909. Per le donne di tutte le età, la probabilità di partorire un figlio con SD è evidentemente molto più bassa della probabilità di concepirlo o di averne la diagnosi precoce, nel primo o nel secondo trimestre di gravidanza.

TEST DIAGNOSTICI

La trisomia 21 può essere individuata con certezza durante la gravidanza mediante lo studio del cariotipo fetale (esame citogenetico) ottenuto da cellule fetali prelevate mediante le metodiche di diagnosi prenatale invasiva che sono:

- prelievo dei villi coriali (CVS - *Chorionic Villous Sampling*) che si esegue nel primo trimestre di gravidanza, tra le 11 e le 13 settimane di età gestazionale;
- prelievo di liquido amniotico (amniocentesi) che si esegue nel secondo trimestre di gravidanza, tra le 15 e le 18 settimane di età gestazionale;
- prelievo di sangue fetale (cordocentesi o funicolocentesi) che si può effettuare dopo le 18 settimane di età gestazionale.

Le tecniche di diagnosi prenatale invasiva sono costose, e sono gravate da un rischio di perdita fetale relativa alla procedura, che è stimata intorno all'1% per l'amniocentesi ed il prelievo dei villi coriali e intorno al 2% per la cordocentesi (2). Per questi motivi la diagnosi prenatale invasiva non è offerta a tutte le gravide, ma ad un numero limitato di donne, quelle a rischio maggiore.

A partire dagli anni '70 l'età materna di 35 anni o superiore è stata usata come soglia per identificare un sottogruppo a più alto rischio di gravidanza affetta da SD e, a queste donne, sono stati offerti una consulenza riproduttiva e un test diagnostico. I dati relativi all'età delle gestanti di Inghilterra e Galles consentivano di ritenere che solo il 5% delle donne avesse una gravidanza oltre i 35 anni. Se l'intero sottogruppo avesse accettato la proposta, sarebbe stato possibile individuare in epoca prenatale il 30% dei casi attesi di SD.

TEST DI SCREENING

I test di screening (i cui caratteri generali sono schematizzati nella Tab. 2) consentono di selezionare, nella popolazione generale, un ristretto gruppo di persone ad alto rischio per una determinata malattia alle quali riservare l'offerta dei test diagnosti-

ci e trovano indicazione quando questi ultimi sono procedure complesse, costose e/o non prive di conseguenze indesiderate.

Queste persone ad alto rischio, informate sulla situazione, possono quindi decidere se eseguire successivi test diagnostici allo scopo di identificare la patologia da cui, sebbene in forma al momento asintomatica, potrebbero essere affette (3-5).

Nel caso specifico della identificazione in epoca prenatale della SD i test di screening consentono di selezionare, nella popolazione generale delle gestanti, un ristretto gruppo di donne ad alto rischio a cui offrire i test diagnostici invasivi.

Queste gestanti, informate sulla propria situazione di elevato rischio, possono quindi decidere se sottoporsi ai successivi test di diagnosi prenatale invasiva in modo da identificare (oppure escludere) l'anomalia cromosomica per cui il rischio è risultato aumentato.

TABELLA 2
TEST DI SCREENING: CARATTERI GENERALI

Lo screening mira alla presumibile identificazione di malattie o difetti asintomatici, per mezzo di procedure che siano applicabili rapidamente ed economicamente ad una popolazione. Un programma di screening può essere applicato sulla popolazione totale o su una popolazione selezionata sulla base di un noto rischio per la malattia (*Preventive Community Medicine*, 1981). Un test di screening non è di per sé diagnostico ma dovrebbe identificare il sottogruppo di individui tra quelli testati che sono ad aumentato rischio di avere la malattia rispetto alla popolazione originariamente testata.

Criteri di selezione della condizione patologica per cui uno screening è proponibile

1. Deve essere abbastanza frequente e severa da rappresentare un problema di sanità pubblica.
2. Deve causare un quadro sintomatico noto.
3. Deve essere suscettibile di trattamento o controllo.
4. Deve avere una prevalenza di una certa entità.
5. La prognosi deve essere migliorata se la condizione è scoperta e trattata prima del normale tempo di diagnosi.

Caratteristiche di un test di screening

1. Deve avere sufficiente sensibilità al fine di limitare i risultati falsi negativi.
2. Deve avere sufficiente specificità per limitare i risultati falsi positivi.
3. I pazienti devono trovarlo accettabile e di rapida esecuzione.
4. Non deve provocare effetti avversi.
5. Deve essere disponibile un efficace trattamento per il problema identificato.
6. Il beneficio della sua applicazione deve giustificare il costo.

Efficienza dello screening

Essa è influenzata da:

1. Sensibilità, che dipende dalle caratteristiche del test.
2. Specificità, che dipende dalle caratteristiche del test.
3. Valore predittivo positivo e negativo, che dipende dalle caratteristiche del test e dalla prevalenza della malattia.

Definizioni

Screen positive: individui con test di screening positivo.

Falsi positivi: individui con test positivo che non hanno la malattia.

Falsi negativi: individui con test negativo che hanno la malattia.

MARCATORI

I test di screening prenatale per la SD si avvalgono di marcatori.

I **marcatori** possono essere:

- “**marcatori biochimici**”, cioè sostanze prodotte dall’embrione o dal feto o dai tessuti placentari che possono essere dosate nel sangue materno e che, se è in corso una gravidanza con feto con SD, hanno livelli differenti da quelli che si trovano nelle gravidanze con feto normale;
- “**marcatori ecografici**”, cioè strutture anatomiche dell’embrione o del feto che presentano caratteristiche particolari in presenza della SD.

Marcatori biochimici

I **marcatori biochimici** più comunemente utilizzati sono:

1. la **alfa-fetoproteina (AFP)**, principale proteina del plasma fetale affine all’albumina, è prodotta dal sacco vitellino embrionale e poi dal fegato fetale; a 15-20 settimane è tipicamente più bassa (del 30% circa) nella gravidanza con feto affetto da trisomia 21 (6);
2. la **gonadotropina corionica umana (hCG)**, glicoproteina dimerica, è composta da due sub-unità α e β , ed è prodotta dal trofoblasto; a 15-20 settimane è tipicamente più elevata (circa doppia) nella gravidanza con feto affetto (7);
3. la **frazione β libera della gonadotropina corionica umana (free β hCG)** è tipicamente più elevata (circa doppia) nella gravidanza con feto affetto e rimane elevata per un lungo periodo che va dalle 10 alle 20 settimane (7);
4. l’**estriolo libero o non-coniugato (uE3)** è prodotto a livello placentare dalla trasformazione di un ormone steroideo sintetizzato dalla ghiandola surrenale fetale e idrossilato dal fegato fetale; a 15-20 settimane è tipicamente più basso (del 30% circa) nella gravidanza con feto affetto (7);
5. la **inibina A (Inh-A)**, è una glicoproteina placentare che tra le 15 e le 20 settimane ha livelli aumentati del 70-80% in caso di gravidanza con feto affetto (8);
6. la **proteina plasmatica A** associata alla gravidanza (PAPP-A), enorme macromolecola glicoproteica costituita da più frazioni, è prodotta dal trofoblasto in quantità molto minori (del 60% circa) nelle gravidanze con feto affetto (9).

Marcatori ecografici

1. **Traslucenza nucale (NT)** è il termine utilizzato per indicare i tessuti molli retronucali del feto: la misura dello spessore della NT nel primo trimestre è il marcatore ecografico di SD più diffusamente utilizzato poiché è noto che nelle gravidanze affette tale spessore è prevalentemente aumentato, circa doppio rispetto alle gravidanze con feto non affetto di pari età gestazionale (10).

La misurazione della NT deve essere eseguita tra le 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane, secondo le indicazioni della *Fetal Medicine Foundation* (11) e della *SIEOG* (23): soltanto l’uso di tecniche standardizzate per effettuare la misurazione della NT ed il rigoroso controllo della qualità delle immagini hanno consentito di utilizzare tale rilievo ecografico come marcatore della trisomia 21. Per la misura della NT è quindi necessario che la gestante venga inviata ad operatori o a Centri accreditati e sottoposti a un programma di verifica esterna della qualità (12, 23).

La NT è aumentata anche nei 3/4 dei feti con trisomia 18 e di quelli con trisomia 13, nel 90% dei casi di Sindrome di Turner (45,X), nel 60% dei casi di triploidia e nel 60% degli altri difetti cromosomici (11).

2. Altri marcatori ecografici nel primo trimestre

Sono stati studiati e proposti altri marcatori ecografici nel primo trimestre e quelli attualmente ritenuti più validi sono la valutazione dell'osso nasale, del rigurgito tricuspide, del dotto venoso e la misurazione dell'angolo facciale (*fetal facial angle*) (1, 15). Il loro utilizzo, al momento, è rivolto soprattutto ai casi risultati a rischio aumentato con la misurazione della translucenza nucale ed è limitato ai Centri di riferimento.

3. Ecografia genetica nel secondo trimestre

Segni ecografici minori (i cosiddetti "*soft markers*"), quali iperecogenicità intestinale, foci ecogeni intracardiaci e dilatazione della pelvi renale, occasionalmente individuabili nel secondo trimestre, non devono essere usati come test di screening sulla popolazione generale (17-21). Diverso significato ha il riscontro di alcune malformazioni fetali, quali quelle cardiache, che frequentemente si associano a cariotipo patologico, in specifico alla trisomia 21 (1, 16).

Non è consigliato l'utilizzo dei segni ecografici del secondo trimestre (il cosiddetto "*genetic sonogram*") come test di screening della SD (22-28).

Per i marcatori, sia ecografici che biochimici, non è possibile fornire intervalli di valori normali a cui fare riferimento, poiché tutti evolvono con l'età gestazionale; però per ogni età gestazionale (per ogni "giorno" di datazione o meglio per ogni misura ecografica della lunghezza craniocaudale dell'embrione - CRL oppure per ogni misura ecografica del diametro biparietale fetale - BPD) esiste un *valore mediano* nella distribuzione dei valori ottenuti per ogni singolo marcatore nella popolazione generale: tale valore mediano viene assunto come valore ottimale e tutte le misurazioni vengono rapportate ad esso. Il rapporto tra il valore misurato nella singola paziente ed il corrispondente *valore mediano* alla stessa epoca gestazionale è il Multiplo della Mediana (*Multiple of the Median* o MoM) (7). Per la misura della NT, la differenza con il valore mediano può essere espresso in due modi, come MoM oppure come differenza assoluta.

Tutte le differenze sopra descritte in merito al comportamento dei marcatori nelle gravidanze con feto affetto sono specifiche per il periodo gestazionale indicato, al di fuori del quale tali differenze non possono più essere rilevate, cioè i marcatori perdono il loro potere discriminante.

ASSOCIAZIONI DI MARCATORI

Poiché non esiste il "marcatore perfetto", capace di identificare da solo la maggior parte delle gravidanze affette, i marcatori indicati vengono correntemente utilizzati in associazioni predeterminate ed indicate con specifiche denominazioni, allo scopo di eseguire lo screening nel primo trimestre (duo-test e test combinato) o nel secondo trimestre (bi-test, tri-test, quad-test) o nel primo e nel secondo trimestre (test integrato biochimico, test integrato senza inibina A, test integrato completo) della gravidanza (24-28).

I più utilizzati **test di screening** prenatale per la SD sono attualmente:

1. il **test combinato**: il dosaggio della proteina plasmatica A associata alla gravidanza e della frazione β libera della hCG (PAPP-A e free- β hCG) si esegue a 11-13⁺⁶ settimane contestualmente ad un esame ecografico per la misura della lunghezza vertice-sacro dell'embrione e la misura ecografica della translucenza nucale (NT), da parte di operatore accreditato da idonea società scientifica e sottoposto a verifica esterna della qualità (VEQ);
2. il **test integrato**: alle gestanti sottoposte ad esame ecografico ed idonea misura di NT (come per test combinato), si eseguono il dosaggio di PAPP-A a 11-13 settimane e poi il tri-test (o il quad-test) a 15-18 settimane con espressione del rischio solo dopo il secondo prelievo;
3. il **test integrato biochimico**: alle gestanti sottoposte ad esame ecografico per la sola datazione nel I trimestre si eseguono dosaggio di PAPP-A a 11-13 settimane e poi il tri-test (o il quad-test) a 15-18 settimane con espressione del rischio solo dopo il secondo prelievo;
4. il **tri-test**: dosaggio di alfa-fetoproteina, estriolo libero e gonadotropina corionica (AFP, uE3 ed hCG) a 15-18 settimane di gravidanza, ecograficamente dimostrate;
5. il **quad-test**: dosaggio di alfa-fetoproteina, estriolo libero, gonadotropina corionica e inibina A (AFP, uE3, hCG e Inh-A) a 15-18 settimane di gravidanza, ecograficamente dimostrate.

Nel secondo trimestre la hCG o la sua frazione β libera possono essere usate indifferentemente.

I test di screening che comprendono il dosaggio di AFP nel secondo trimestre consentono di valutare anche il rischio per la spina bifida aperta, principale forma clinica dei difetti del tubo neurale.

I diversi tipi di test non differiscono solo per il momento della gravidanza in cui vengono eseguiti e per la diversa associazione dei marcatori, ma soprattutto perchè hanno diversa efficienza. Per esempio, i test di screening a due soli marcatori (PAPP-A e free- β hCG o “duo-test” del primo trimestre e AFP ed hCG o “bi-test” del secondo trimestre) non compaiono nell'elenco perchè non dovrebbero più essere utilizzati in quanto significativamente meno efficienti degli altri.

Le principali caratteristiche generali dei test di screening sono indicate schematicamente nella tabella 2, ma può essere utile sviluppare i concetti ripresi come esempio nella tabella 3.

La **sensibilità** è la capacità del test di identificare i soggetti che presentano la malattia e corrisponde alla proporzione di soggetti realmente ammalati identificati come tali dal test sul totale degli ammalati. I veri positivi (VP) sono i malati con test positivo: la sensibilità può essere chiamata anche *detection rate* quando il numero dei veri positivi viene rapportato al totale dei malati ed espresso in percentuale (DR%).

Se un test molto sensibile risulta negativo, si può ritenere con scarso margine di errore che la malattia non è presente e non occorre generalmente procedere con ulteriori esami.

La **specificità** è la capacità del test di identificare i soggetti che non presentano la malattia e corrisponde alla proporzione di soggetti realmente sani che sono identificati come tali dal test sul totale dei sani. I veri negativi (VN) sono i sani con test negativo.

Se un test molto specifico risulta positivo, si può ragionevolmente ritenere che la malattia sia presente e si può generalmente procedere con i trattamenti previsti.

In generale test molto sensibili sono poco specifici, cioè possono più facilmente produrre falsi positivi. Viceversa, test molto specifici sono in generale poco sensibili, cioè possono più facilmente produrre falsi negativi.

La specificità ha il suo reciproco (**aspecificità**) che è la “*incapacità*” del test di classificare correttamente una certa porzione di individui sani: quando la prevalenza della malattia è molto bassa ed il test di screening non è molto specifico, quasi tutti gli individui positivi al test di screening risulteranno negativi al test diagnostico successivo e allora il tasso dei test di screening positivi sarà quasi coincidente con il tasso dei test *falsi positivi*. E’ quanto accade in medicina prenatale in merito alla SD.

TABELLA 3

ESEMPIO DI PRESTAZIONI DI UN TEST DI SCREENING PER LA TRISOMIA 21

Si presenta la prestazione di un test di screening per la SD nell’ipotesi che:

- nella popolazione di gestanti in esame (n = 10.000) la prevalenza delle gravidanze affette sia del 2 per mille, pari a quella di una popolazione di età media intorno ai 30 anni, come quella italiana;
- il tasso di test positivi sia del 5%;
- la sensibilità sia dell’85%.

Esempio	Malattia (Sindrome di Down)		
	Presente	Assente	Totale
Positivo	a 17 VP (17/20)	b 483 FP (483/500)	a+b 500
Negativo	c 3 FN (3/9.500)	d 9.497 VN (9.497/9.500)	c+d 9.500
Totale	a+c 20 affetti (VP+FN)	b+d 9.980 non affetti (FP+VN)	a+b+c+d 10.000

In base ai risultati dell’esempio è possibile calcolare:

1. la sensibilità o *detection rate* (DR%): proporzione di gravidanze affette correttamente identificate con il test di screening = $a/(a+c) = 17/20 = 0,85 \times 100 = 85\%$;
2. la specificità: proporzione di gravidanze normali correttamente identificate con il test di screening = $d/(b+d) = 9.497/9.980 = 0,9516 \times 100 = 95,16\%$;
3. l’aspecificità: (1-specificità) = $1-0,9516 = 0,0483 \times 100 = 4,83\%$; la proporzione di gravidanze con il test falsamente positivo è molto vicina alla proporzione delle gravidanze a test positivo, 5%;
4. il Valore Predittivo Positivo (VPP): proporzione di gravidanze con il test di screening positivo che sono veramente affette = $a/(a+b) = 17/500 = 0,034 \times 100 = 3,4\%$; se espresso come OAPR (*Odds of being Affected with a Positive Result*) esso sarà 1 su 29,41, cioè ogni 29-30 gestanti con test di screening positivo, una sola ha davvero una gravidanza affetta;
5. il Valore Predittivo Negativo (VPN): proporzione di gravidanze con il test di screening negativo e feto davvero sano = $d/(c+d) = 9.497/9.500 = 0,9997 \times 100 = 99,97\%$;
6. un parametro utilizzabile per la valutazione dei falsi negativi è l’espressione di OANR (*Odds of being Affected with a Negative Result*): 3 falsi negativi ogni 9.500 test negativi cioè ogni 3.166 gestanti con test di screening negativo, una sola partorerà un neonato affetto.

E' opportuno precisare che una scelta oculata della soglia alla quale definire il test come positivo è fondamentale nel determinare l'efficacia del test stesso.

Inoltre nella pratica clinica è interessante conoscere la probabilità del test di dare l'indicazione corretta, cioè: se un test è positivo, quanto è probabile che la persona abbia davvero la malattia?

Questa informazione è data dal **Valore Predittivo Positivo (VPP)** e corrisponde alla proporzione di pazienti con un test positivo che hanno la malattia, quindi classificati correttamente come malati.

Oppure: se un test è negativo, quanto è probabile che la persona non abbia la malattia?

Questa informazione è data dal **Valore Predittivo Negativo (VPN)** e corrisponde alla proporzione di pazienti con un test negativo che non hanno la malattia, quindi classificati correttamente come sani.

Il valore predittivo, oltre ad essere legato alla sensibilità e alla specificità e quindi alle caratteristiche intrinseche del test, dipende in maniera critica dalla prevalenza della condizione studiata (a differenza di sensibilità e specificità che dipendono solo dalle proprietà del test). All'aumentare della prevalenza della condizione studiata, il valore predittivo positivo del test aumenta; al contrario, in caso di malattie piuttosto rare, come la Sindrome di Down, è il valore predittivo negativo a diventare molto elevato.

Un modo relativamente semplice per presentare il concetto del diverso "livello dell'appropriatezza" dei molteplici approcci allo screening prenatale può essere il ricorso al calcolo del valore predittivo positivo del test espresso come OAPR (*Odds of being Affected with a Positive Result*) il cui valore per le diverse tipologie di test è riportato nella tabella 4. Questo parametro indica quanti test diagnostici invasivi sono necessari per individuare un caso di Sindrome di Down tra le gestanti classificate a rischio aumentato. Non viene tralasciato il criterio dell'accertamento in base all'età materna: è un criterio di selezione e, nella sua semplicità, è storicamente il primo "screening" proposto per la Sindrome di Down.

TABELLA 4
NUMERO DI DIAGNOSI INVASIVE EFFETTUATE PER INDIVIDUARE 1 CASO AFFETTO,
CONSIDERANDO COME CUT-OFF UN RISCHIO $\geq 1/350$ A TERMINE

Tipo di test	OAPR*
Test integrato	1: 20
Test integrato biochimico	1: 30
Test combinato	1: 40
Tri-test	1: 60
Età materna (≥ 35 anni)	1: 100

* I dati numerici sono riferiti alla distribuzione per età della popolazione di gestanti dello studio SURUSS (13), in cui la prevalenza della Sindrome di Down è di un caso ogni 465 gravidanze.

A seconda dello strumento usato per la selezione del gruppo ad alto rischio, cambia il numero di test diagnostici necessari per fare una singola diagnosi.

Nella pratica clinica è di fondamentale importanza stabilire il livello di rischio da adottare come soglia (o *cut-off*) poiché questo determinerà la porzione di test positivi. La scelta terrà conto della distribuzione delle gestanti per classi di età nella popolazione cui lo screening viene offerto e dovrebbe portare ad ottenere un tasso di test positivi considerato aprioristicamente auspicabile, atto ad ottimizzare l'equilibrio tra la sensibilità e le perdite fetali correlate alle procedure invasive, ma anche compatibile con le risorse dei laboratori di citogenetica. La scelta della soglia di rischio avrà grande influenza sull'efficacia del test di screening.

Questo principio ha valenza in generale per i test di screening utilizzabili in diagnosi prenatale ed è alla base delle valutazioni di ordine organizzativo ed economico che portano alla strutturazione dell'offerta dei test di screening in politica sanitaria.

Invece, per poter confrontare i risultati degli studi sull'efficienza dei diversi test è necessario definire a *priori* un tasso fisso di test positivi e valutare la sensibilità che ne consegue: la tabella 5 presenta la sensibilità (DR%) delle diverse strategie negli studi SURUSS (13) e FASTER (14) al 5% di test positivi.

TABELLA 5
SENSIBILITÀ (DR%) DELLE DIVERSE STRATEGIE DI SCREENING
(STUDI SURUSS E FASTER)

Tipo di test	DR per un tasso di test positivi del 5%	
	SURUSS ^a	FASTER ^b
Solo età	25%	28%
Età più:		
Primo trimestre		
misura NT	60%	70%
misura NT + fβ-hCG+ PAPP-A (combinato)	83%	87%
Secondo trimestre		
Tri-test (AFP+uE ₃ +hCG)	74%	69%
Quad-test (AFP+uE ₃ +hCG+Inh-A)	81%	81%
Primo trimestre + Secondo trimestre		
Integrato (NT+PAPP-A+tri-test)	92%	
Integrato completo (NT+PAPP-A+quad-test)	93%	96%
Integrato biochimico (PAPP-A+tri-test)	85%	
Integrato biochimico completo (PAPP-A+quad-test)	89%	88%

^a 16% gestanti ≥ 35 anni, prevalenza Sindrome di Down 1/465;

^b 21,6% gestanti ≥ 35 anni, prevalenza Sindrome di Down 1/326.

Se si mettono a confronto i risultati delle diverse strategie, si nota che la misura della NT è l'unico marcatore che può offrire da solo una certa efficienza: i risultati migliori si ottengono con l'adesione degli operatori a specifici criteri di qualità. Tuttavia i recenti *trials* condotti nel Regno Unito (13) e negli Stati Uniti (14) dimostrano che la sensibilità per la SD è certamente più alta, con un basso tasso di test positivi, quando la misura della NT è combinata con i marcatori biochimici del primo trimestre (83-87% con 5% di test positivi).

La sola misura della NT può essere utile nella valutazione delle gravidanze gemelari per le quali gli screening biochimici sono meno accurati (bigemine) rispetto alle gravidanze con un feto solo, oppure quando questi non sono utilizzabili (tre feti o più).

SIGNIFICATO E LIMITI

La stima del rischio individuale di SD ottenibile con un test di screening fornisce alla paziente uno strumento che consente di prendere le decisioni il più consapevolmente possibile nell'ambito della diagnosi prenatale.

Le donne devono essere chiaramente informate che lo screening per la SD fornisce una stima individuale del rischio, ma che esso non è diagnostico e non identifica tutti i tipi di anomalia cromosomica.

Può accadere che un test diagnostico, eseguito perché un precedente test di screening ha dato un risultato di aumentato rischio per la SD, porti talvolta ad identificare anomalie cromosomiche diverse e indubbiamente più rare.

In altri casi può accadere che lo screening indichi un basso rischio anche in presenza di un feto affetto.

Al confronto con i test di screening, il principale vantaggio dei test diagnostici invasivi è che consentono di individuare le trisomie, le anomalie dei cromosomi sessuali, le delezioni ed i mosaicismi. Alcune pazienti, specialmente in presenza di un'anamnesi familiare positiva per anomalie cromosomiche o malattie genetiche o malformazioni congenite, possono giovare di un colloquio con un genetista o con uno specialista in medicina prenatale: queste gestanti, informate su vantaggi e svantaggi, possono optare per un test diagnostico anche senza eseguire un test di screening.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEI TEST DI SCREENING

Il referto di ogni test di screening deve fornire i risultati nella loro completezza (1, 23-28) e quindi comprendere:

- 1) la datazione della gravidanza (è raccomandata una datazione ecografica);
- 2) il valore assoluto dei marcatori biochimici e/o ecografico e l'espressione in multipli del valore mediano: per i primi bisognerebbe indicare se si è tenuto conto del peso della gestante e dell'abitudine al fumo;
- 3) l'espressione numerica del rischio a *priori* legato all'età;
- 4) l'espressione numerica del rischio "personalizzato" in base all'età e alla determinazione dei marcatori;
- 5) l'epoca gestazionale in relazione alla quale tali rischi sono calcolati (vedi Tab. 1).

La comunicazione di un rischio numerico dopo il test di screening consente alla

donna ed al suo partner di fare un bilancio tra il rischio di avere un bambino con quel particolare problema ed il rischio delle conseguenze delle procedure diagnostiche invasive: spesso è utile contrapporre a questo rischio personalizzato quello della popolazione generale e quello legato alla sola età, noti prima di eseguire lo screening.

Anche nel momento della comunicazione del risultato dello screening, il *counseling* non deve mai essere direttivo (17).

CONSULENZA INFORMATIVA

E' consigliabile informare tutte le donne, indipendentemente dall'età, della differenza tra un test di screening e un test diagnostico; a tutte dovrebbe essere offerta la possibilità di considerare i vantaggi e gli svantaggi dell'uno e dell'altro.

L'anamnesi, ma non l'età materna ≥ 35 anni da sola, può ancora essere considerata un criterio appropriato per consigliare il test diagnostico.

Considerata la complessità dei concetti relativi allo screening delle aneuploidie e alle metodologie impiegabili per la sua realizzazione, è opportuno che l'informazione avvenga in un momento ben preciso della gravidanza ad opera di personale sanitario esperto e coinvolto nella gestione clinica della gravidanza stessa. Si ritiene quindi che il momento migliore per l'espletamento della procedura di informazione sia individuabile nel colloquio con il ginecologo e/o ostetrica curante nel corso del primo controllo clinico in gravidanza, in modo che sia possibile riparlarne prima del momento utile per le determinazioni dei marcatori (29).

Nella pratica per le donne non è facile scegliere tra i numerosi tipi di test e le strategie che possono essere usate. Prima di decidere è quindi necessario:

- informare sulla patologia che può essere identificata con il test di screening e con il test diagnostico;
- mettere a conoscenza dei dati relativi ad ogni test (vedi Tab. 5);
- definire quale strategia vada incontro alle esigenze della specifica paziente;
- verificare quali test di screening e quali test diagnostici siano disponibili nella zona di residenza.

Nel caso in cui la gestante effettui il primo controllo clinico nel secondo trimestre la scelta è limitata al tri-test (o al quad-test), seguito dall'esame ecografico per screening malformativo da effettuarsi a 19-21 settimane di età gestazionale, mentre a chi chiede l'assistenza prenatale fin dal primo trimestre può essere offerta una strategia che associ i marcatori ecografici e biochimici del primo trimestre, eventualmente integrati con quelli biochimici del secondo trimestre.

Devono essere fornite tutte le informazioni sulla sensibilità e sulla percentuale dei test positivi, su vantaggi e svantaggi e sui limiti del test che si decide di offrire alle gestanti, così come bisogna saper dare precise indicazioni sui rischi legati alle procedure diagnostiche invasive, ma anche sulla certezza dei risultati della determinazione del cariotipo in modo che la decisione della paziente sia consapevole ed informata.

E' molto opportuno che durante la consulenza sia utilizzata una modalità operativa non direttiva e che, infine, la scelta della donna venga documentata.

SCREENING “COMBINATO” ECOGRAFICO-BIOCHIMICO DEL PRIMO TRIMESTRE

La combinazione di età materna, NT e marcatori biochimici (PAPP-A e β -hCG) nel primo trimestre è un test molto efficiente per la SD come hanno dimostrato diversi ampi studi multicentrici (13-14, 30-31) i cui risultati sono riportati nella tabella 6. Questa strategia, denominata “test combinato”, consente di ottenere nel primo trimestre una DR superiore all’80%, per le donne di età inferiore ai 35 anni, con un tasso di test positivi del 5%. Per le donne di età superiore a 35 anni la sensibilità è di circa il 90%, ma aumenta il tasso dei test positivi: 16-22% a seconda degli studi e del *cut-off* adottato. Il test combinato è molto efficace anche per la trisomia del cromosoma 18: a tutte le età, la DR per la trisomia 18 è del 90%, con un tasso di test positivi del 2% (31).

TABELLA 6
SENSIBILITÀ DEL TEST COMBINATO DEL PRIMO TRIMESTRE^a
SECONDO DIVERSI STUDI

Studio	n° gestanti	n° casi S. di Down	Detection rate ^b
SURUSS (13)	47.053	101	83%
FASTER (14)	33.557	84	83%
OSCAR (29)	15.030	82	90%
BUN (30)	8.216	61	79%
Totale	103.856	328	84%

^a la DR è calcolata al primo trimestre: ciò comporta una sovrastima dell’efficienza a causa dell’abortività spontanea elevata nelle gravidanze affette (circa 50% tra le 12 settimane ed il termine di gravidanza).

^b IC al 95%: 79,7-87,0%.

Le donne che chiedono assistenza prenatale nel corso del primo trimestre di gravidanza possono avere informazioni ed indicazioni più precocemente. Se la donna sceglie il test combinato e risulta a rischio aumentato di anomalia cromosomica può avere un *counselling* e l’offerta di un test diagnostico nel primo trimestre (CVS), se la procedura è disponibile.

Se la procedura diagnostica del primo trimestre non è disponibile la donna potrà aspettare il secondo trimestre e sottoporsi all’amniocentesi, ma questa attesa sarà indubbiamente motivo di ansia.

Il test di screening del primo trimestre non valuta il rischio per le malformazioni aperte del sistema nervoso centrale (anencefalia e spina bifida). Uno screening ecografico oppure biochimico (dosaggio di AFP su siero materno) per tali malformazioni potrebbe quindi essere offerto separatamente nel secondo trimestre alle donne che hanno scelto il test combinato.

SCREENING DEL PRIMO TRIMESTRE PIU' QUELLO DEL SECONDO TRIMESTRE

Le donne che hanno avuto un test di screening per la SD nel primo trimestre non dovrebbero sottoporsi ad un test del secondo trimestre, indipendente dal primo. Invece, le donne che vogliono essere maggiormente rassicurate possono avere un test integrato che associ i marcatori del primo e quelli del secondo trimestre in un'unica valutazione del rischio.

SCREENING "INTEGRATO" DEL PRIMO E DEL SECONDO TRIMESTRE

L'approccio "integrato" allo screening utilizza i marcatori del primo e del secondo trimestre per personalizzare il rischio di SD legato all'età materna (32). Il risultato è reso noto solo dopo il prelievo del secondo trimestre. Nello studio SURUSS (*Serum, Urine, and Ultrasound Screening Study*) (13) la sensibilità del test integrato è del 93% con 5% di test positivi. Nello studio FASTER (*First And Second Trimester Evaluation of Risk*) (14) sono descritti risultati simili (DR 96% per 5% di test positivi).

Raffinare l'interpretazione nel secondo trimestre usando ulteriori marcatori porta effettivamente ad aumentare la sensibilità e a ridurre il numero di test positivi (33) (Fig. 2).

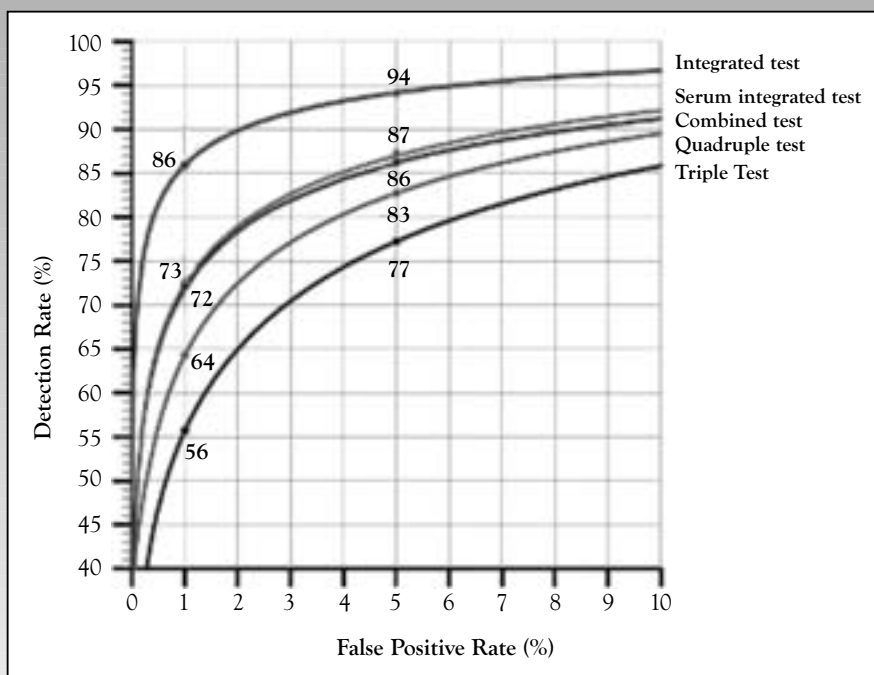


Figura 2. Curve ROC per valutare il rapporto tra FPR e DR relative alle diverse tipologie di screening (il test integrato raggiunge la sensibilità del 90% con il 2% di test positivi). La figura è tratta da LMS-Alpha.

Il test integrato può essere realizzato con i soli marcatori biochimici del primo e del secondo trimestre, senza la misura della NT, con una modesta riduzione della sensibilità (85-88% nello studio FASTER, 85-89% nello studio SURUSS). Questa possibilità è la soluzione ideale per le gestanti che non possono accedere ad una adeguata misura della NT. Un recente trial mediante il test integrato biochimico in una popolazione con limitato accesso al test diagnostico del primo trimestre ha dimostrato l'adesione della maggior parte delle donne a tale strategia (34).

Se l'obiettivo è quello di fornire la più alta sensibilità con il più basso tasso di test positivi, il test integrato è quello più efficace.

Un basso tasso di test positivi significa un minor numero di test diagnostici invasivi ed anche un minor numero di perdite fetali legate alla procedura invasiva nelle gravidanze non affette. Sebbene alcune pazienti apprezzino uno screening precoce, molte altre accettano di aspettare poche settimane, se questo si traduce in una maggior sensibilità ed in una ridotta probabilità di accedere eventualmente a procedure di diagnosi invasiva (35).

Le critiche al test integrato riguardano la possibile ansia generata dall'attesa di 3-4 settimane tra il primo ed il secondo prelievo e la mancata possibilità di sottoporsi a CVS nel caso in cui il rischio fosse aumentato già nel primo trimestre (17). Deve essere considerata tra gli svantaggi anche l'eventualità che la paziente eluda la seconda parte del test e rimanga senza alcun risultato dello screening.

LO SCREENING NELLE GRAVIDANZE MULTIPLE

Tutti i test di screening biochimici non sono altrettanto sensibili (36) nelle gravidanze bigemine o trigemine, anche perchè i dati di gravidanze multiple che comprendano un feto con SD sono così scarsi che i livelli attesi degli analiti devono essere stimati mediante modelli matematici.

Nel caso della gravidanza bicoriale i feti potrebbero avere cariotipo discordante, ma gli analiti provenienti dal feto normale e quelli provenienti dal feto affetto entreranno insieme nel circolo sanguigno materno e saranno in effetti valutati insieme, mascherando in parte i livelli anormali prodotti dal feto affetto. Perciò nelle gravidanze gemellari il *counselling* sarà più complesso e le gestanti dovranno anche considerare che cosa sceglierebbero di fare nel caso in cui uno solo dei due feti fosse affetto.

La misura della NT nel primo trimestre (che fornisce un calcolo del rischio specifico per ogni feto), con l'opzione di effettuare il prelievo dei villi coriali, può essere la strategia preferibile.

Per quanto riguarda le gravidanze monocoriali il cariotipo è in genere concordante, ma bisogna ricordare che i valori medi della NT sono più alti nelle coppie di gemelli monocoriali per vari motivi, tra cui la presenza di malformazioni o il rischio di sviluppare forme severe di sindrome da trasfusione "da gemello a gemello" (*twin-to-twin syndrome*) (37).

La misura della NT può essere eseguita anche nelle gravidanze multiple di maggiore grado (trigemine e oltre) ed utilizzata come test di screening in questi casi, anche se è consigliabile che le donne siano correttamente informate e che la diagnosi prenatale venga gestita in Centri ad alta esperienza.

SCELTA FRA LE DIVERSE STRATEGIE DI SCREENING

Lo scopo principale è offrire i test con più alta sensibilità e più basso tasso di test positivi e di mettere la donna nella condizione di fruire della procedura diagnostica che preferisce. La scelta della strategia di screening può dipendere quindi anche da fattori contingenti quali la disponibilità di personale addestrato per la misura della NT e la disponibilità locale delle diverse metodiche di diagnosi prenatale invasiva (CVS, amniocentesi). Alle donne che effettuano il primo controllo clinico presso il ginecologo/ostetrica nel corso del 1° trimestre andrebbero offerti i test di screening che integrano i marcatori ecografici e biochimici del primo trimestre, preferibilmente (considerata la diversa efficacia/efficienza) integrati con quelli biochimici del secondo trimestre.

Qualora il test diagnostico del primo trimestre non fosse disponibile, si potrebbe offrire il test integrato alle donne che si presentano nel primo trimestre per sfruttarne i vantaggi (maggiore sensibilità e minore tasso di test positivi), riservando lo screening del secondo trimestre alle donne che si presentano dopo le 13⁺⁶ settimane.

Se la misura della NT non è disponibile, un'opzione ragionevole è l'offerta del test integrato biochimico a chi si presenta nel primo trimestre e lo screening del secondo trimestre alle donne che si presentano più tardi.

Se sono disponibili tutte le strategie di screening e tutte le procedure diagnostiche, è opportuno informare la donna di tutte le opzioni e valutare con lei quale possa essere la scelta migliore in base al suo sentire.

ALTRE IMPLICAZIONI CLINICHE DELLO SCREENING DELLE ANEUPLOIDIE

Le gestanti nelle quali è stata rilevata una misura di NT aumentata cioè superiore al 99° centile, oppure a 3,5 mm, oppure a 2,5 MoM (a seconda della modalità di espressione) nel primo trimestre, anche se risultate negative allo screening o con cariotipo normale al test diagnostico, dovrebbero essere sottoposte ad ulteriori accertamenti in quanto a rischio maggiore di malformazioni strutturali e/o patologie sindromiche (38-40).

Le donne con marcatori biochimici anomali, così come quelle con NT aumentata, possono avere un aumentato rischio di esiti sfavorevoli della gravidanza come aborto spontaneo prima delle 24 settimane, morte endouterina, basso peso alla nascita, parto prematuro (41-44). Peraltro al momento non ci sono dati che indichino se e quale sorveglianza nel corso della gravidanza possa essere utile per migliorare l'esito ostetrico di queste pazienti.

QUALITA'

E' necessario che la donna venga inviata per la misura della NT a Centri (o a singoli operatori) accreditati e sottoposti ad un programma di verifica esterna della qualità (12): alcune Società Scientifiche collaborano a livello nazionale (SIEOG) (23) ed internazionale (FMF) (1) per l'implementazione di tali programmi di VEQ degli esami ecografici per la NT.

E' altrettanto importante che i marcatori biochimici vengano determinati da laboratori in grado di documentare l'adesione ad analoghi programmi per il controllo della qualità. Esistono infatti specifici programmi di VEQ internazionali e nazionali per la biochimica dello screening per la SD che consentono di valutare non solo la qualità analitica dell'esecuzione dei dosaggi dei marcatori (precisione, sensibilità, accuratezza), ma anche le prestazioni dei diversi *software* per l'interpretazione ed il calcolo del rischio personalizzato (45).

Il numero di prestazioni per ogni operatore (ed anche per ogni laboratorio) contribuisce in maniera determinante alla realizzazione di buoni livelli qualitativi.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

E' auspicabile che tutte le donne ricevano, all'inizio della gravidanza, dal ginecologo e/o ostetrica curante, in modo non direttivo, le informazioni circa i test di screening ed i test diagnostici per le anomalie cromosomiche e, nello specifico, circa il fatto che i test di screening forniscono la stima di un rischio per la trisomia 21.

La scelta di effettuare un test di screening oppure un test diagnostico va fatta dalla donna, dopo opportuna valutazione dell'informazione ricevuta che deve essere completa ed esauriente e deve tener conto:

- delle informazioni che i test di screening ed i test diagnostici possono fornire;
- dei rischi connessi ai test diagnostici;
- dei limiti dei test di screening;
- delle possibilità concrete di effettuare i test di screening ed i test diagnostici nel contesto locale.

E' preferibile che l'informazione fornita, così come la scelta della donna, sia documentata anche in forma scritta.

RACCOMANDAZIONI

1. I test di screening ed i test diagnostici dovrebbero essere presentati a tutte le donne che chiedono assistenza prenatale. Le donne dovrebbero ricevere precocemente uno specifico *counselling* per capire le differenze tra i test di screening ed i test diagnostici. **Livello di raccomandazione A (ACOG A).**
2. Lo screening del primo trimestre mediante "test combinato" (translucenza nucale più i marcatori biochimici PAPP-A e β -hCG) è un efficiente test di screening per la SD nella popolazione generale. **Livello di raccomandazione A (ACOG A).**
3. L'esame ecografico per la misura della translucenza nucale (NT) dovrebbe essere limitato ai Centri ed agli operatori accreditati e sottoposti a verifica della qualità. **Livello di raccomandazione A (ACOG A).**
4. La misura della translucenza nucale da sola è un test di screening meno efficiente rispetto al test combinato (NT più PAPP-A e β -hCG). **Livello di raccomandazione A (ACOG A).**
5. Le donne classificate a rischio aumentato di SD nel primo trimestre dovrebbero ricevere una consulenza e l'offerta del test diagnostico mediante CVS oppure, se

- la CVS non è disponibile, mediante amniocentesi nel secondo trimestre. **Livello di raccomandazione A (ACOG A).**
6. Lo screening integrato mediante marcatori biochimici ed ecografici del primo e del secondo trimestre è più sensibile con un più basso tasso di test positivi rispetto al solo screening del primo trimestre. **Livello di raccomandazione B (ACOG B).**
 7. Lo screening integrato biochimico è un'utile opzione nelle situazioni in cui la misura della NT non è disponibile. **Livello raccomandazione B (ACOG B).**
 8. La diagnosi ecografica di una malformazione maggiore nel secondo trimestre aumenta significativamente il rischio di SD o altra anomalia cromosomica e richiede un ulteriore *counselling* e l'offerta di una procedura diagnostica. **Livello raccomandazione B (ACOG B).**
 9. Le gestanti a cui nel primo trimestre è stata riscontrata una NT di 3,5 mm o superiore, dovrebbero essere sottoposte ad ulteriori accertamenti nel secondo trimestre. **Livello raccomandazione B (ACOG B).**
 10. Nelle gravidanze multiple la misura della NT può essere utilizzata come screening per la SD, ma ha una sensibilità più bassa rispetto alle gravidanze con un feto solo. **Livello raccomandazione B (ACOG B).**
 11. Nelle gravidanze multiple la valutazione del rischio per la SD mediante i marcatori biochimici del primo o del secondo trimestre è meno accurata che nelle gravidanze con un feto solo. **Livello raccomandazione B (ACOG B).**
 12. La ricerca dei *soft markers* ecografici di aneuploidie non va utilizzata come test di screening per la trisomia 21. Qualora, seppur non ricercati, essi vengano rilevati, devono essere interpretati nell'ambito del contesto clinico della paziente, tenendo conto dell'età, dell'anamnesi, del risultato della metodica di screening eventualmente impiegata preliminarmente e del tipo di marker. **Livello raccomandazione C (ACOG C).**
 13. Se è stato eseguito lo screening del primo trimestre, un successivo screening per la SD del secondo trimestre non è indicato, se non fa parte di un test integrato. **Livello raccomandazione C (ACOG C).**

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

1. www.fetalmedicine.com
2. Faris Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling. A systematic review. *Obstet. Gynecol.*, 2007; 110: 687-94. Livello III (ACOG II-2).
3. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. World Health Organization, 1968.
4. Wildschut HI, Weiner CP, Peters TJ. Screening in Ostetricia e Ginecologia. Edizione italiana a cura di M. Campogrande e E. Viora. Centro Scientifico Editore, Torino 2000.
5. Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests: predictive values. *BMJ*, 1994; 309: 102.
6. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1984; 148: 886-94. Livello V (ACOG II-2).
7. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *Health Technol. Assess.*, 1998; 2 (1): i-iv, 1-112. Livello VI (ACOG III).
8. Spencer K, Wallace EM, Ritoie S. Second-trimester dimeric inhibin-A in Down's syndrome screening. *Prenat. Diagn.*, 1996; 16: 1101-10. Livello V (ACOG II-3).
9. Malone FD, Berkowitz RL, Canick JA, D'Alton ME. First-trimester screening for aneuploidy: research or

- standard of care? *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2000; 182: 490-6. Livello V (ACOG III).
10. Nicolaides KH, Heath V, Liao AW. The 11-14 week scan. *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2000; 14: 581-94. Livello VI (ACOG III).
 11. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet*, 1998; 352: 343-6. Livello VI (ACOG III).
 12. Snijders RJ, Thom EA, Zachary JM, Platt LD, Greene N, Jackson LG et al. First-trimester trisomy screening: nuchal translucency measurement training and quality assurance to correct and unify technique. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2002; 19: 353-9. Livello VI (ACOG III).
 13. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS) [published erratum appears in *J. Med. Screen.*, 2006; 13: 51-2]. *J. Med. Screen.* 2003; 10: 56-104. Livello V (ACOG II-2).
 14. Malone F, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Buckowski R et al. First-trimester or second trimester screening, or both, for Down's syndrome. First and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. *N. Engl. J. Med.*, 2005; 353: 2001-11. Livello III (ACOG II-2).
 15. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004; 191: 45-67. Livello VI (ACOG III).
 16. Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden CM, Berry C, Campbell S. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet*, 1992; 340: 704-7. Livello V (ACOG III).
 17. Copel JA, Bahado-Singh RO. Prenatal screening for Down's syndrome: a search for the family's values. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 521-2. Livello VI (ACOG III).
 18. Smith-Bindman R, Hosmer W, Feldstein V, Deeks J, Goldberg J. Second-trimester ultrasound to detect fetuses with Down syndrome. *JAMA*, 2001; 285: 1044-55. (Metaanalysis) Livello III (ACOG II-2).
 19. Vintzileos AM, Campbell WA, Rodis JF, Guzman ER, Smulian JC, Knuppel RA. The use of second trimester genetic sonogram in guiding clinical management of patients at increased risk for fetal trisomy 21. *Obstet. Gynecol.*, 1996; 87: 948-82. Livello V (ACOG II-2).
 20. Schluter PJ, Pritchard B. Mid trimester sonographic findings for the prediction of Down syndrome in a sonographically screened population. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 10-6. Livello V (ACOG II-2).
 21. Benacerraf BR. The role of the second trimester genetic sonogram in screening for fetal Down syndrome. *Semin. Perinatol.*, 2005; 29: 386-94. Livello VI (ACOG III).
 22. Lau TK, Evans M. Second-trimester sonographic soft markers: what can we learn from the experience of first-trimester nuchal translucency screening? *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2008; 32: 123-125. Livello III (ACOG II-2).
 23. www.sieog.it
 24. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antenatal care. Routine care for the healthy pregnant woman. London: RCOG, 2003.
 25. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Antenatal screening for Down Syndrome. London: RCOG, 2003.
 26. SOGC Clinical Practice Guidelines. Prenatal screening for fetal aneuploidy. 2007; 187: 146-161.
 27. ACOG Practice Bulletin. Screening for fetal chromosomal abnormalities. 2007; 77: 217-227.
 28. www.saperidoc.it
 29. NICE Clinical Guideline; Antenatal care. March 2008.
 30. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 1999; 13: 231-7. Livello V (ACOG II-3).
 31. Wapner R, Thom E, Simpson JL, Pergament E, Silver R, Filkins K et al. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening (BUN) Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 349: 1405-13. Livello V (ACOG II-3).
 32. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 461-7. Livello VI (ACOG III).
 33. www.lmsalpha.com
 34. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Rudnicka A. SURUSS in perspective. *BJOG*, 2004; 111: 521-31. Livello V (ACOG II-2).
 35. Bishop AJ, Marteau TM, Armstrong D, Chitty LS, Longworth L, Buxton MJ et al. Women and health care professionals' preferences for Down's syndrome screening tests: a conjoint analysis study. *BJOG*, 2004; 111: 775-9. Livello VI (ACOG III).

36. Spencer K. Screening for trisomy 21 in twin pregnancies in the first trimester using free beta-hCG and PAPP-A, combined with fetal nuchal translucency thickness. *Prenat. Diagn.*, 2000; 20: 91-5. Livello V (ACOG II-3).
37. Sebire NJ, D'Ercole C, Hughes K, Carvalho M, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation as a predictor of severe twin-to-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 1997; 10: 86-9. Livello V (ACOG II-3).
38. Bahado-Singh RO, Wapner R, Thom E, Zachary J, Platt L, Mahoney MJ et al. Elevated first-trimester nuchal translucency increases the risk of congenital heart defects. *First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening Study Group. Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 1357-61. Livello V (ACOG II-3).
39. Hyett J, Perdu M, Sharland G, Snijders R, Nicolaides KH. Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10-14 weeks of gestation: population based cohort study. *BMJ*, 1999; 318: 81-5. Livello V (ACOG II-3).
40. Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency with normal karyotype [published erratum appears in *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 2096]. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005; 192: 1005-21. Livello VI (ACOG III).
41. Dugoff L, Cuckle HS, Hobbins JC, Malone FD, Belfort MA, Nyberg DA, Comstock CH, Saade GR, Edleman KA, Dar P, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, D'Alton ME; FASTER Trial Research Consortium. Prediction of patient-specific risk for fetal loss using maternal characteristics and first- and second-trimester maternal serum Down syndrome markers. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2008; 199 (3): 290.e1-290.06.
42. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH et al. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (FASTER trial). *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004; 191: 1446-51. Livello V (ACOG II-3).
43. Smith GC, Shah I, Crossley JA, Aitken DA, Pell JP, Nelson SM et al. Pregnancy-associated plasma protein A and alpha-fetoprotein and prediction of adverse perinatal outcome. *Obstet. Gynecol.*, 2006; 107: 161-6. Livello V (ACOG II-2).
44. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock JA, Désilets VA, Johnson JA, Langlois S, Summers A, Wyatt P; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Genetics Committee. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *Review. J. Obstet. Gynaecol. Can.*, 2008; 30 (10): 918-49. Livello III.
45. www.neqas.uk.com

