

Lo screening prenatale per la sindrome di Down: lo stato dell'arte (Rassegna)

Daniela C. Dall'Amico¹, Elsa Viora²

¹Dipartimento Diagnostica e Servizi, ²Dipartimento Ginecologia, AO OIRM-Sant'Anna, Torino

INTRODUZIONE

È noto dal 1909 che la nascita di un neonato affetto dalla sindrome di Down (SD) è un fenomeno più frequente nelle donne di età avanzata¹. Nel 1959 si è dimostrato che la SD è dovuta alla presenza di trisomia 21 (un cromosoma 21 in più in tutte le cellule dell'individuo affetto)² e negli anni '60 sono state fatte le prime diagnosi prenatali mediante l'esecuzione del cariotipo sulle cellule ricavate dal liquido amniotico. Nei primi anni '70 è nata nel Regno Unito, e si è diffusa nel mondo occidentale, la prassi di proporre il prelievo di liquido amniotico al sottogruppo di gestanti costituito dalle donne più anziane³. 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 tutto questo sottogruppo avesse accettato la proposta, sarebbe stato possibile individuare, in epoca prenatale, ed in tempi compatibili con un intervento di prevenzione secondaria, il 30% dei casi attesi. Tuttavia il timore di possibili effetti negativi derivanti dai test diagnostici (l'amniocentesi è gravata da un rischio di abortività indotta di circa 1%⁴⁻⁵) ne ha sempre contenuto l'applicazione anche tra le donne di età più avanzata, peraltro spesso portatrici di gravidanze ottenute con difficoltà e quindi particolarmente "preziose". D'altro canto andava aumentando la richiesta di test diagnostici da parte di donne più giovani, per le quali la percezione del livello di rischio specifico della loro età, anche se non molto elevato, appariva inconciliabile con il naturale desiderio di ottenere tutte le possibili garanzie sulla salute del feto/neonato.

Sebbene in altre aree geografiche la classe di età più

rappresentata al parto sia quella tra i 20 ed i 29 anni (in Europa dell'Est sono il 63%, in Africa il 51%, in America Centro-Meridionale il 46% ed in Asia il 57%), nel mondo occidentale le donne preferiscono posticipare la riproduzione: per quanto riguarda l'Italia, i Certificati di Assistenza al Parto (CeDAP) relativi al 2005⁶ rivelano che oltre il 60% delle 504.770 donne che hanno partorito in Italia (disponibili nel 92,2% del totale dei parti) appartiene alla classe di età compresa tra i 30 ed i 39 anni: si stima che attualmente almeno il 30% di gestanti italiane abbia un'età superiore ai 35 anni (Fig. 1).

DEFINIZIONI

Il DM 10 settembre 1998⁷ (finalmente in corso di revisione) recante "protocolli di accesso agli esami di laboratorio e di diagnostica strumentale per le donne in stato di gravidanza ed a tutela della maternità" nell'allegato C prevede, fra l'altro, le indicazioni ai test di diagnosi prenatale e, tra queste, le "indicazioni per le indagini citogenetiche per anomalie cromosomiche fetali". Tali indicazioni sono:

- età materna di 35 anni o più;
- genitori con precedente figlio affetto da patologia cromosomica, genitore portatore di riarrangiamento strutturale non associato ad effetto fenotipico, genitore con aneuploidie dei cromosomi sessuali compatibili con la fertilità;
- anomalie malformative fetali evidenziate ecograficamente;
- probabilità di 1/250 o maggiore che il feto sia affetto da SD (o alcune altre aneuploidie) sulla base di parametri biochimici valutati su sangue materno o ecografici, attuati con specifici programmi regionali in centri indivi-

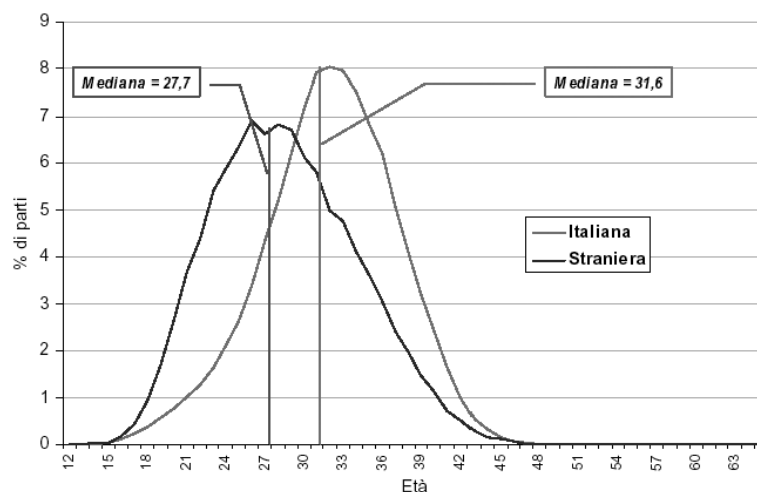


Figura 1

Distribuzione dei parti secondo l'età della madre

Si può stimare che attualmente circa il 30% delle gestanti italiane abbia un'età superiore ai 35 anni. (Da Rif. 6)

duati dalle singole Regioni e sottoposti a verifica continua della qualità.

I "parametri" biochimici o ecografici, definiti comunemente "marcatori" sono gli strumenti dei test di screening prenatale per le anomalie cromosomiche.

Può essere utile ricordare che, se un test diagnostico è definito come l'applicazione di un esame o una serie di esami ad un paziente che ha attivamente cercato prestazioni sanitarie allo scopo di identificare la causa esatta dei suoi mali⁸, un test di screening è una procedura che aiuta ad identificare, in modo organizzato, una specifica malattia o condizione fra gli individui apparentemente sani. I due approcci non si escludono reciprocamente: i test diagnostici sono applicati anche a soggetti che richiedono assistenza a causa dei risultati positivi di uno screening e quindi i test diagnostici devono essere molto accurati, mentre i test di screening, che si applicano a persone asintomatiche, devono essere semplici e rapidi da eseguire e soprattutto privi di effetti collaterali negativi. Per questo possono essere meno accurati ed avere margini di errore superiori⁹.

Il criterio "età materna avanzata" è stato proprio il primo parametro proposto ed utilizzato come test di screening prenatale per la SD ed è rimasto per oltre vent'anni l'unico strumento disponibile per l'individuazione di donne a rischio aumentato per le quali è stato possibile diagnosticare un certo numero di casi di SD durante la gravidanza. I suoi limiti, tuttavia, appaiono evidenti: nella situazione demografica attuale classificherebbe come ad alto rischio circa il 30% della popolazione di gestanti italiane.

I vari test di screening, proposti negli ultimi vent'anni per la SD, ma utili spesso anche per altre anomalie cromosomiche, si basano, oltre che sull'età materna, sulla misurazione di "marcatori", particolari parametri espressi in gravidanza dal prodotto del concepimento e rilevabili nel siero materno oppure evidenziabili con l'ecografia: si distinguono infatti marcatori biochimici e marcatori ecografici.

I marcatori biochimici sono alcuni prodotti del metabolismo feto-placentare dosabili nel sangue della gestante¹⁰⁻¹³ mentre lo spessore dei tessuti molli retronucali dell'embrione (definito dagli ecografisti Translucenza Nucale, NT) è il principale marcatore ecografico¹⁴. Sia gli uni che l'altro devono il loro utilizzo al fatto che, se si studia una popolazione di gravidanze affette, si trova una distribuzione di valori differente da quella che si ottiene studiando una popolazione costituita da gravidanze con feto sano. Per i marcatori, sia quello ecografico che quelli biochimici, non è possibile però fornire intervalli di valori normali a cui fare riferimento, poiché tutti evolvono con l'età gestazionale; per ogni età gestazionale (per ogni "giorno" di datazione o meglio per ogni misura ecografica della lunghezza cranio-caudale dell'embrione oppure per ogni misura ecografica del diametro biparietale fetale, BPD), nella distribuzione dei valori ottenuti per ogni singolo marcatore nella popolazione generale esiste un valore centrale: tale valore mediano, definito *la mediana*, viene assunto come valore ottimale e tutte le misurazioni vengono rapportate ad esso. Il rapporto tra il valore misurato nella singola paziente e la corrispondente mediana specifica per l'epoca gestazionale è il Multiplo della Mediana (*Multiple of the Median* o brevemente *MoM*).

La trasformazione logaritmica dei valori espressi in

MoM della distribuzione di ogni marcatore nelle due popolazioni, dei sani e degli affetti, consente di ricavare delle coppie di curve di distribuzione che sono delle gaussiane: il valore centrale della distribuzione nelle gravidanze affette è significativamente scostato da quello della distribuzione nelle gravidanze normali. In particolare l'AFP e l'uE3 sono più bassi di circa il 30%, la proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A) è meno della metà, la hCG e la sua frazione beta libera sono circa doppie, l'inibina A è più abbondante del 70%, la NT è circa doppia.

L'elaborazione matematica mediante analisi multivariata dei risultati espressi in MoM delle determinazioni biochimiche ed ecografiche porta al calcolo di un "coefficiente di probabilità" (*Likelihood Ratio, LR*) di SD specifico per la gravidanza in esame; questo "coefficiente di probabilità" modificherà, personalizzandolo, il rischio noto *a priori* perché legato all'età: se sarà un numero inferiore all'unità ridurrà il rischio legato all'età materna, se sarà superiore all'unità lo aumenterà^{10,15}.

Il referto di un test di screening deve quindi rigorosamente indicare una serie di valori: il rischio noto *a priori*, i marcatori utilizzati sia in valore assoluto che trasformati in MoM, il nuovo rischio "personalizzato" e il *cut-off*, cioè il livello di rischio assunto come discriminante tra alto rischio e basso rischio, cioè tra test di screening "positivo" e test di screening "negativo". Tale livello-soglia è frutto di una scelta di politica sanitaria e condizionerà i risultati della strategia di screening adottata sia nella percentuale di gestanti classificate ad alto rischio che nella percentuale di casi affetti individuati.

I test di screening possono essere proposti alle donne di tutte le età poiché, come è stato descritto, il rischio legato all'età materna non viene affatto accantonato, ma è utilizzato come punto di partenza per il calcolo del rischio "personalizzato" che tiene conto sia dell'età che dei livelli dei marcatori espressi dalla gravidanza in corso. Tali test, applicati alle donne di tutte le età, hanno efficienza più elevata rispetto al criterio "età materna"¹⁶⁻¹⁷ e, se proposti con chiarezza, sono ben accettati dalla maggior parte delle gestanti poiché sono "informativi" senza essere invasivi. In particolare, nel gruppo delle donne di età avanzata, consentono di ottenere sensibilità molto alte, limitando la diagnosi prenatale invasiva (DPI) ad una frazione modesta del gruppo.

VALUTAZIONE

È opportuno ricordare che tutti i test di screening non hanno lo scopo di identificare i soggetti malati, ma quello di selezionare un sottogruppo di individui ad alto rischio di una data malattia (positivi al test di screening, non necessariamente malati), al cui interno c'è però la maggior parte dei malati: più è alta la percentuale dei malati (veri positivi) che finisce nel sottogruppo, più il test è sensibile. Meno numeroso è il sottogruppo ad alto rischio di malattia (falsi positivi), più il test è specifico.

Per comprendere i risultati nel nostro campo di applicazione, deve essere chiaro il significato di alcune definizioni:

- la **DR** -*Detection Rate*- è la sensibilità (cioè la percentuale delle gravidanze affette individuate dallo screening sul totale delle gravidanze affette);

Screening e diagnosi prenatale

Tabella 1
Prestazioni dei diversi test di screening^a

Tipo di test	SURUSS	FASTER
Test Combinato	83%	85%
Tritest	74%	70%
Quadtest	81%	81%
Test Integrato biochimico	89%	88%
Test Integrato	93%	96%

^aStabilito pari al 5% il tasso di FPR (test falsamente positivi), i diversi tipi di test, cioè le diverse associazioni di marcatori, consentono di ottenere diversi livelli di DR (sensibilità).

- la **FPR** -*False Positive Rate*- è l'aspecificità (cioè la percentuale delle gravidanze con feto sano e test positivo sul totale delle gravidanze con feto sano);
- l'**OAPR** -*Odds of being Affected with a Positive Result*- è l'appropriatezza poiché indica in quante gravidanze classificate a rischio aumentato da un risultato positivo del test di screening una successiva procedura di DPI identificherà un feto affetto da SD;
- l'**OANR** -*Odds of being Affected with a Negative Result*- è un indice di "rassicurazione" poiché indica ogni quante gravidanze classificate a basso rischio da un risultato negativo del test di screening si verificherà la nascita di un feto affetto da SD.

TIPI DI TEST DI SCREENING

Attualmente sono disponibili molteplici test di screening che utilizzano marcatori biochimici del secondo trimestre, o combinazioni di marcatori ecografici e biochimici del primo trimestre, o marcatori ecografici e biochimici del primo e del secondo trimestre integrati tra loro.

Le più note ed utilizzate strategie di screening prenatale sono ben definite associazioni di marcatori ecografici e biochimici note con le seguenti denominazioni:

1. il **Tritest** (o Triplo test)¹⁰ che consiste nel dosaggio su siero materno di AFP, uE3 e hCG totale a 15-18 settimane di età gestazionale e con corretta datazione ecografica. Il dosaggio di AFP consente di esprimere anche il rischio di Difetti aperti del Tubo Neurale (DTN), principalmente di spina bifida.

2. il **Quadtest** (o Quadruplo o Test)¹¹ che consiste nel dosaggio su siero materno di AFP, uE₃, hCG ed inibina A (Inh-A) a 15-18 settimane di età gestazionale e con corretta datazione ecografica. Il dosaggio di AFP esprime anche il rischio di DTN.

3. il **Test combinato**^{13,18} che consiste nella *combinazione* del dosaggio su siero materno della PAPP-A (proteina plasmatica A associata alla gravidanza) e della frazione libera della sub-unità beta della hCG (free-βhCG) con la misura del marcatore ecografico NT: l'esame ecografico deve essere eseguito a 11-13 settimane da un operatore accreditato da una società scientifica e sottoposto a verifica della qualità.

4. il **Test integrato**¹⁹ che si effettua in due tempi: a 11-13 settimane si eseguono l'esame ecografico con idonea misura di NT (come per Test combinato) ed il dosaggio della PAPP-A; a 15-16 settimane essi vengono *integrati* con il Tritest (o il Quadtest). Il calcolo del rischio si esegue solo dopo il secondo prelievo.

5. il **Test integrato biochimico**²⁰ che consiste in un

esame ecografico per la sola datazione e nel dosaggio della PAPP-A a 11-13 settimane: essi vengono *integrati* con il Tritest (o il Quadtest) a 15-16 settimane. Il calcolo del rischio si esegue solo dopo il secondo prelievo.

La free-βhCG può essere usata anche nei test del secondo trimestre, in alternativa a hCG.

Il laboratorio che esegue i dosaggi dei marcatori ed il calcolo del rischio deve preoccuparsi di ottenere tutte le informazioni sui fattori che influenzano le concentrazioni dei marcatori nel siero materno e cioè:

- la datazione della gravidanza effettuata ecograficamente;
- la presenza di gemelli, cui è dedicato un paragrafo, di seguito;
- il peso della gestante poiché i marcatori si concentrano o si diluiscono a seconda della minore o maggiore massa corporea materna;
- l'abitudine al fumo poiché essa riduce la liberazione dei marcatori nel circolo materno;
- il gruppo etnico cui la gestante appartiene, poiché è noto che le donne di colore hanno livelli più elevati di AFP, di hCG e soprattutto di PAPP-A, rispetto alla donne di etnia caucasica.

I dosaggi di tutti i marcatori devono essere eseguiti esclusivamente utilizzando *kit* formulati appositamente per i peculiari livelli che i prodotti del metabolismo fetale e placentare indagati presentano nel ristretto intervallo temporale previsto e tutti i laboratori, oltre ad applicare con scrupolo "la buona pratica di laboratorio" fin dalla fase pre-analitica e a eseguire il controllo interno di qualità secondo la prassi, devono partecipare a specifici programmi di verifica esterna della qualità che comprendono il dosaggio dei marcatori, il calcolo dei MoM, il calcolo del rischio, il consiglio eventuale ad ulteriori test diagnostici. Inoltre, per ottenere una sufficiente stabilità dei valori mediani delle distribuzioni dei singoli marcatori, il laboratorio deve avere un carico di lavoro di almeno 85-100 test settimanali.

EFFICIENZA

I risultati degli studi SURUSS²⁰ e FASTER²¹ concordano nell'attribuire risultati differenti ai diversi tipi di test in termini di efficienza cioè con un miglior rapporto tra costi e benefici, intendendo come costi le procedure diagnostiche invasive e le perdite fetali correlate alle procedure e come benefici i casi individuati. Se lo screening consente di selezionare, nella popolazione generale priva di rischi specifici, un ristretto gruppo di donne (idealmente non più del 5% della popolazione) a cui riservare l'offerta dei test di diagnosi prenatale invasiva, a seconda del tipo di test si potrà

identificare dal 70% (con il classico Tritest) al 96% (con il Test integrato completo) dei casi mediante un successivo test diagnostico (Tab. 1).

La donna, informata sul reale rischio che quel feto sia affetto da SD, può decidere se eseguire un test di diagnostico. A seconda dell'età gestazionale si tratterà di:

- prelievo dei villi coriali (detto anche villocentesi) che consiste nel prelievo di tessuto coriale a 10-13 settimane di gravidanza;
- prelievo di liquido amniotico (amniocentesi) a 15-18 settimane di gravidanza;
- prelievo di sangue fetale (funicolocentesi, o cordocentesi) da 19 settimane di gravidanza.

Si tratta di procedure invasive che sono gravate da un rischio di aborto indotto⁴⁻⁵ e pertanto sono indicate solo per le donne che sono state classificate a rischio aumentato da un test di screening o che presentano uno specifico rischio anamnestico.

In base al dettato dell'allegato C del DM 10 settembre 1998 nella pratica clinica, con tutti i tipi di test di screening, si utilizza lo stesso cut-off, e quindi, con qualsiasi tipo di test, il rischio è considerato sufficientemente alto da giustificare il ricorso alla DPN se è almeno pari a 1 probabilità di feto affetto ogni 350 gravidanze all'epoca del parto; questo corrisponde a 1 probabilità di feto affetto ogni circa 250 gravidanze all'inizio del secondo trimestre, ed è il rischio legato all'età delle donne che, all'epoca del concepimento, hanno appena compiuto 35 anni. È noto che il tasso di abortività spontanea nelle gravidanze con anomalie cromosomiche è molto elevato: a tutte le età materne il rischio di concepire uno zigote con trisomia 21 è molto più alto del rischio di partorire un neonato affetto da SD²².

APPROPRIATEZZA

Lo studio SURUSS²⁰ comprende circa 47.000 gravidanze delle quali il 16% erano in donne di età \geq ai 35 anni e il 5% in donne di età \geq 38 anni. In questa popolazione è possibile valutare il livello di appropriatezza delle diverse strategie di screening, compresa quella dell'età materna: mantenendo fisso il livello di rischio-soglia per accedere ai test diagnostici, l'appropriatezza viene espressa in termini di OAPR. È evidente che più è elevata la probabilità di gravidanza affetta nel gruppo selezionato come ad alto rischio, più la strategia utilizzata per la selezione è efficiente e più l'approccio è appropriato.

Per un cut-off pari a 1/250 al secondo trimestre, corrispondente a 1/350 a termine di gravidanza, i risultati delle diverse strategie sono indicati nella tabella 2.

Tabella 2

Risultati di diverse strategie con il medesimo cut-off (pari a 1/350 nella popolazione dello studio SURUSS)

Tipo di test	DR %	FPR %	OAPR
Età \geq ai 35 anni ^a	45	16,0	1:60
Test combinato	83	4,7	1:27
Tritest	81	6,9	1:38
Quadtest	84	5,7	1:30
Test integrato biochimico	85	5,0	1:26
Test integrato	90	3,0	1:14

^ail criterio età si rivela scarsamente efficace, poco appropriato e molto aspecifico.

SICUREZZA

La perdita di feti sani a causa dei test diagnostici invasivi è certamente un effetto indesiderato del percorso prenatale: l'utilizzo dei test di screening di migliore efficienza è uno strumento per ridurre il numero delle DPI e di conseguenza degli aborti correlati alla procedura. Un percorso prenatale comprendente un test di screening migliora notevolmente la "sicurezza" per il feto.

INFORMAZIONE

Le linee guida di tutte le società scientifiche che si sono espresse in tema di screening e diagnosi prenatale concordano nell'affermare che lo screening va effettuato solo in strutture capaci di fornire un programma di diagnosi prenatale completo (informazione pre-test, esecuzione dei dosaggi, calcolo del rischio, interpretazione dei risultati, consulenza post-screening, test diagnostici e follow-up) e di produrre un *audit* periodico per l'utenza, costituita dai professionisti che operano nel percorso e dalle donne o le coppie che lo utilizzano.

Uno degli aspetti fondamentali dello screening è quello dell'informazione nei confronti della gestante e della formazione e dell'aggiornamento del personale sanitario: per garantire alla donna informazioni omogenee è estremamente importante che tutti gli operatori sanitari, attivi nelle varie tappe del percorso, ne conoscano pienamente lo svolgimento. È indispensabile che la donna, chiedendo di essere seguita in gravidanza, trovi operatori sanitari capaci di fornire, fin dal primo contatto, l'informazione sull'esistenza di un percorso di screening e di diagnosi e prevenzione secondaria delle anomalie cromosomiche, a cui tutti possono accedere poiché nessun concepimento è immune dal rischio di un difetto cromosomico. Quanto più è precoce la consapevolezza dell'esistenza del rischio, tanto più è matura la scelta tra l'ingresso attivo nel percorso oppure l'accettazione degli eventi. Tutte le donne devono poter capire i vantaggi e gli svantaggi, i rischi e i limiti degli esami cui si sottoporranno per operare una scelta consapevole.

Un limitato accesso alla dettagliata informazione in tema di screening e di diagnosi prenatale per alcune professionalità sanitarie può essere una criticità grave del percorso: se i medici di medicina generale e talvolta gli stessi ginecologi, quando la loro pratica clinica è lontana dalla medicina prenatale, non ricevono adeguata ed aggiornata informazione, non la potranno fornire alla gestante. Il primo contatto sanitario in gravidanza è uno speciale imprinting per la donna e ne condiziona le scelte in maniera irrecuperabile, dato l'arco di tempo molto limi-

tato in cui tutti i test devono essere eseguiti.

LO SCREENING PER LA SINDROME DI DOWN NELLE GRAVIDANZE GEMELLARI

Un punto in cui l'informazione è diffusamente carente è quello dello screening nelle gravidanze gemellari. Le difficoltà nell'informazione sono giustificate dalla complessità del tema: è vero che nel 20% delle gravidanze gemellari insorte spontaneamente c'è una situazione di monocorialità a cui dovrebbe corrispondere nella grande maggioranza dei casi una situazione di monozigotità e quindi di cariotipo identico nei due gemelli, tuttavia nella restante e preponderante quota di gravidanze bigemine, i due feti derivano da due diversi zigoti e quindi potrebbero avere cariotipo discordante. Un notevole aumento delle gravidanze multiple si è accompagnato in anni recenti alla diffusione delle procedure di procreazione medicalmente assistita (PMA): la possibilità di gravidanze dizigotiche con cariotipo discordante è quindi maggiore.

In teoria il metabolismo di due embrioni o due feti non affetti da SD dovrebbe portare al dosaggio di un livello di AFP, per esempio, circa doppio rispetto a quello previsto per un feto solo, sano, della stessa età gestazionale, cioè valori intorno ai 2,0 MoM. Il numero dei sacchi coriali dovrebbe influenzare i livelli dei marcatori coriali e placentari in maniera analoga, cioè nella gravidanze bicoriali con due feti normali la hCG, la free-βhCG e la PAPP-A potrebbero essere anch'essi doppi. Il maggiore afflusso ematico uterino ed i rapporti reciproci tra le due placentate possono però facilmente indurre condizioni di circolo placentare particolari e conseguenti passaggi anomali dei marcatori nel circolo materno. Queste condizioni influenzano anche i livelli di uE3, poiché è a livello placentare che il 16 OH-DEAS fetale viene trasformato in estriolo. Inoltre in caso di gemelli con cariotipo discordante gli analiti provenienti dal feto normale entrano nel circolo sanguigno materno insieme a quelli provenienti dal feto affetto e sono in effetti valutati insieme, mascherando in parte i livelli anormali prodotti dal feto affetto: sono così scarsi i dati delle gravidanze che comprendano un feto con SD, che la distribuzione attesa degli analiti deve essere stimata mediante modelli matematici.

Tutti i test di screening mediante marcatori biochimici non hanno la stessa efficienza²³ nelle gravidanze bigemine.

Mettendo a confronto i risultati ottenuti in diverse casistiche e rivalutandoli con opportuni modelli matematici²⁴ si può concludere che, mantenendo una FPR del 5%, la sensibilità risulta ridotta del 15% circa, con tutti i tipi di test, per la difficoltà di classificare correttamente ad alto rischio quelle gravidanze gemellari in cui i feti hanno cariotipo discordante.

La misura della NT nel primo trimestre, se eseguita da un operatore accreditato con calcolo del rischio specifico per ogni feto, può essere l'opzione migliore poiché se un embrione risultasse a rischio aumentato per la NT ispessita, il prelievo dei villi coriali potrebbe rapidamente consentire la diagnosi di SD per quel gemello e la donna potrebbe scegliere un'interruzione selettiva: questo intervento sembra gravato da minori conseguenze per il feto superstite se eseguito entro 13 settimane che non in fase più tardiva, anche se non vi è uniformità in letteratura.

Per quanto riguarda le gravidanze monocoriali, il cariotipo dovrebbe essere concordante, ma bisogna ricordare che i valori medi della NT sono più alti nel 38% delle coppie di gemelli monocoriali destinate a sviluppare forme severe di sindrome da trasfusione "da gemello a gemello" (*twin-to-twin syndrome*)²⁵ e che quindi il marcatore ecografico perde una parte del suo significato come test di screening.

Per le gravidanze trigemine l'esperienza è limitata, ma alcuni studi riferiscono sia la fattibilità della misura della NT che risultati quasi sovrapponibili, in termini di sensibilità, a quelli ottenuti nelle gravidanze singole.

Tuttavia, fino a quando non ci saranno esperienze più ampie, l'accertamento del rischio nelle gravidanze multiple deve essere fatto con cautela. Le pazienti che sono ad alto rischio di aneuploidia devono essere correttamente informate anche in merito ai limiti dei test diagnostici: il rischio di aborto correlato alla procedura è maggiore di quello comunemente riferito per le gravidanze con un feto solo²⁶.

In conclusione, due dati devono essere considerati fondamentali per una corretta gestione clinica:

a) la diagnosi ecografica di gemellarità e l'accertamento della corionicità devono essere molto precoci, entro 13 settimane di età gestazionale, perché l'informazione possa essere completa;

b) l'informazione pre-screening (e pre-diagnosi) in caso di gravidanza gemellare deve essere fornita da professionisti competenti in medicina prenatale.

ESPERIENZE INTERNAZIONALI

In Francia dal gennaio del 1997 alcuni articoli di legge²⁷ governano un piano nazionale per la "*Diagnostic Prénatal de la trisomie 21*" in base al quale:

a) Vengono utilizzati solo i marcatori biochimici del II trimestre: sempre AFP e hCG, totale o nella sua frazione free β, mentre è facoltativo l'uso di uE3.

b) L'esecuzione dei test di screening per la SD è consentita esclusivamente a laboratori specificamente autorizzati in base al bacino di utenza di almeno un milione di abitanti e conseguentemente un carico di lavoro non inferiore ai 5.000 test per anno: nel 1997 erano 60, oggi sono 72 in tutta la Francia. Tali laboratori devono:

- partecipare ai programmi nazionali di verifica della qualità dei quali uno è obbligatorio e gestito direttamente dal *Ministère de la Santé* (AFSSAPS), l'altro è organizzato da una società scientifica e l'adesione è volontaria (*Pro.Bio.Qual*): tali VEQ riguardano sia i dosaggi dei marcatori che la procedura per il calcolo del rischio;
- comunicare annualmente al gestore della qualità i loro risultati in termini di sensibilità e specificità (DR% e FPR%);
- conservare i campioni per un anno.

c) Il valore soglia per definire una gravidanza a rischio aumentato per la SD è fissato a 1/250 al momento dello screening del secondo trimestre (pari al rischio per età di una gestante di 35 anni compiuti il giorno del concepimento, cioè 1/350 a termine di gravidanza).

d) In assenza di screening, l'amniocentesi è gratuita solo per le gestanti di 38 anni compiuti: in alternativa possono scegliere lo screening biochimico e l'ecografia morfologica, gratuiti.

e) L'informazione ed il necessario *counselling* pre-screening sono un compito del medico che prescrive il test di screening; la gestante, debitamente informata, sottoscrive il consenso firmando un modulo predisposto dal Ministero; il referto non è consegnato alla gestante ma inviato al sanitario di cui sopra che è responsabile anche delle indicazioni da fornire alla gestante per l'accesso all'indagine invasiva. Lo stesso sanitario deve comunicare al laboratorio di biochimica il risultato dell'amniocentesi.

Il varo del programma nazionale in tema di screening e diagnosi prenatale ha indotto importanti cambiamenti che sono l'argomento del rapporto "Haute Autorité de Santé-HAS/Service évaluation économique et santé publique" del 06/12/2006 sulla situazione a cinque anni. (Tab. 3)

Dai risultati dello studio Eurocats risulta che la percentuale di casi di SD individuati nel II trimestre di gravidanza è molto aumentata: prima del 1997 era del 26,5-52,4% (a seconda dei distretti); negli anni 1997-2003 è salita al 70,4 nelle regioni orientali e al 81% nella regione di Parigi.

Recentemente (2008) la HAS ha proposto sia la graduale introduzione del Test combinato, previa organizzazione di un programma per la verifica esterna di qualità della misura della NT, sia l'abbandono della DPI gratuita per le donne oltre i 38 anni.

In Gran Bretagna il NHS ha istituito nel 1996 il *National Screening Committee* che ha varato nel 2001 uno specifico "Down's Syndrome Screening Programme": si tratta di un piano nazionale volto a realizzare la raccomandazione di offrire lo screening a tutte le donne, indipendentemente dall'età, e fa parte di una serie di iniziative atte a modernizzare l'assistenza prenatale e neonatale.

In particolare per quanto concerne la SD, il *National Screening Committee*²⁴ ha posto due traguardi:

- l'identificazione entro il 2005 di più del 60% dei casi di SD sottoponendo ad amniocentesi non più del 5% delle gestanti, obiettivo impensabile con il criterio dell'età, ma comunemente raggiungibile e diffusamente raggiunto con il Tritest, come i risultati del programma francese hanno dimostrato;
- l'identificazione entro il 2007 dell'80% dei casi (risultato irraggiungibile seguendo il criterio dell'età, ma possibile con il Tritest "classico" al prezzo di una quota del 10% di test positivi) con un numero molto limitato di procedure di diagnostica invasiva: si sottoporranno alla diagnosi prenatale circa il 3% di gestanti inglesi, quelle risultate ad alto rischio in base allo screening.

È evidente che non sarà più lo screening del II trimestre lo strumento per questo risultato: il *National Screening Committee* ha fatto propri i risultati dello studio SURUSS, pubblicati nel 2003 dal *Health Technology Assessment*, ed ha implementato l'utilizzo del Test combinato, del Test integrato e del Test integrato biochimico.

Anche in Gran Bretagna i laboratori autorizzati ed accreditati devono garantire:

a) l'adesione obbligatoria sia ad un programma di VEQ per l'attività di laboratorio (es. NEQAS, sezione MS Screening), sia ad un apposito programma per marcatori e algoritmo di calcolo (*Down's Syndrome Quality Assurance Support Service for English Laboratories*);

b) l'*audit* periodico a livello locale e regionale;

c) il carico superiore ai 5000 test/anno; più laboratori con carico tra 1.000 e 5.000 test devono accordarsi sull'adozione della stessa strategia (marcatori, software, fattori di correzione) per poter sommare risultati omogenei; i laboratori con meno di 1.000 test/anno non sono autorizzati;

d) l'esito entro tre giorni per il 95% dei test.

Il valore soglia per definire una gravidanza a rischio aumentato per la sindrome di Down è fissato a 1/250 all'epoca del parto.

Gli aggiornamenti²⁵ del 2008 prevedono che i laboratori autorizzati eseguano almeno 10.000 test/anno e che possano associarsi quelli che ne producono almeno 5.000.

Inoltre il cut-off è stato recentemente portato a 1/150 per il Test combinato ed a 1/200 per Quadtest, Test integrato e Test integrato biochimico.

Il NICE (*National Institute for Health and Clinical Excellence*) nell'aggiornamento delle linee guida per la gravidanza a basso rischio di marzo 2008 raccomanda il Test combinato alle donne che fanno la prima visita in gravidanza in tempo utile per eseguire l'ecografia per la datazione e la misura della NT.

Oltreoceano nei primi mesi del 2007 sono state pubblicate le nuove linee guida della *American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)*²⁹ e della *Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC)*³⁰. Entrambi i documenti condividono i risultati degli studi SURUSS e FASTER, sconsigliando lo screening basato sulla sola misura della NT e raccomandando le associazioni del marcatore ecografico con i marcatori biochimici; entrambi concordano sull'opportunità di offrire lo screening a tutte le donne indipendentemente dall'età per ridurre

Tabella 3

Risultati dell'incremento dell'adesione al programma nazionale francese di screening e diagnosi dall'introduzione della legge 162-16 del 1997.

Screening	1998	2003
Tasso di adesione allo screening donne < 38 anni	52%	76%
Tasso di adesione allo screening donne ≥ 38 anni	---	31%
Tasso di adesione allo screening donne di tutte le età	66,5%	79,7%
Sensibilità	70%	73%
Tasso di donne non raggiunte dall'informazione	16,2%	4,0%
Diagnosi invasiva	1998	2003
Richiesta per età ≥ 38 anni	68,5%	61,4%
Richiesta per screening positivo	6,1%	6,9%
Richiesta totale	11,1%	10,8%

re le procedure diagnostiche invasive non necessarie: ogni donna deve poter ricevere tutte le informazioni di cui ha bisogno per comprendere la differenza tra i test di screening e i test diagnostici ed anche tra i diversi tipi di test di screening e tra il prelievo dei villi coriali e l'amniocentesi. Alcune donne potrebbero preferire il Test combinato per poter sfruttare la precocità diagnostica della biopsia coriale (CVS) ed eventualmente interrompere una gravidanza affetta prima della fine del primo trimestre, altre potrebbero preferire aspettare qualche settimana in più e completare il test integrato per ridurre al minimo la possibilità di un risultato positivo del test di screening.

E in Italia?

Il 12 gennaio 1994 venne siglato un "Atto di intesa tra Stato e Regioni per la definizione del Piano Sanitario Nazionale relativo al biennio 1994-1995" (Suppl. GU 12 gennaio 1994 N° 8) che, al punto 5.A "La tutela materno-infantile", tra le altre strategie di intervento, prevedeva le misure atte a realizzare:

- a) la promozione della procreazione cosciente e responsabile e della tutela della gravidanza a rischio;
- b) la prevenzione ed il controllo delle patologie genetiche;
- c) il potenziamento e l'adeguata distribuzione territoriale dei servizi per la prevenzione e l'individuazione delle patologie genetiche e l'identificazione dei centri di riferimento regionali;
- d) l'organizzazione dei programmi di screening prenatali e/o neonatali, per l'individuazione delle patologie genetiche.

Nel Decreto Ministeriale del 22 luglio 1996 (GU, Suppl. ordinario N° 150 del 14 settembre 1996) si demandava alle Regioni l'individuazione delle strutture di riferimento per la realizzazione dei punti c) e d). Il successivo DM del 10 settembre 1998 "Aggiornamento del decreto ministeriale 14 aprile 1984 recante protocolli di accesso agli esami di laboratorio e di diagnostica prenatale per le donne in stato di gravidanza ed a tutela della maternità" oltre a sancire "l'esclusione dalla partecipazione al costo delle prestazioni di diagnostica strumentale e di laboratorio necessarie ed appropriate per la diagnosi prenatale", stabilisce tra l'altro che le valutazioni del rischio per la SD devono essere "attuati con specifici programmi regionali in centri individuati dalle singole regioni e sottoposti a verifica continua della qualità".

L'Istituto Superiore di Sanità, nella parte del Piano Nazionale Linee Guida "Evidence Based Prevention", alla Sezione 1: Screening, punto G: Malattie congenite, Capitolo 41: Screening per la sindrome di Down, presenta la raccomandazione che segue:

"Si raccomanda di offrire alle donne in gravidanza, ad alto rischio per la sindrome di Down fetale, la possibilità di eseguire amniocentesi o prelievo dei villi coriali o CVS per lo studio della mappa cromosomica. Si raccomanda inoltre di proporre a tutte le donne a basso rischio lo screening per la sindrome di Down fetale attraverso il test dei marcatori sierici multipli. Questo test può essere offerto anche alle donne ad alto rischio, come alternativa all'amniocentesi e al CVS.... L'offerta dello screening per la sindrome di Down, eseguito attraverso il test con marcatori sierici multipli alla quindicesima-diciottesima settimana, è racco-

mandato per tutte le donne in gravidanza che hanno accesso a servizi di educazione sanitaria e follow up, ad operatori esperti nel campo dell'ecografia e dell'amniocentesi ed a laboratori affidabili (raccomandazione "B")

I test dovrebbero essere proposti solo alle donne che sono seguite in strutture che dispongono di adeguati servizi di educazione sanitaria e follow up.

Alle "indicazioni cliniche" riguardo all'informazione ed al counselling si legge:

"Sulla scorta dei dati disponibili non è possibile raccomandare uno specifico protocollo di screening con marcatori sierici multipli. Il colloquio informativo relativo allo screening dovrebbe fornire informazioni sulla procedura, sulla probabilità di dover far seguire ai test l'amniocentesi, sui rischi associati a quest'ultima, ma tracciare anche un quadro completo degli esiti associati alla nascita di un bambino con sindrome di Down o all'aborto elettivo. Le donne con un test di screening positivo dovrebbero ricevere informazioni dettagliate che confrontino il rischio di morte fetale legato all'amniocentesi ed il rischio di trisomia. Nelle donne di età superiore a 35 anni, la scelta dello screening con marcatori sierici multipli o con amniocentesi o con CVS per lo studio cromosomico va compiuta in base alle preferenze della paziente e pertanto vanno illustrati dettagliatamente alla stessa i potenziali rischi e benefici di ciascuna procedura.

In particolare, la paziente dovrebbe essere informata, da una parte, della minore sensibilità del test con marcatori multipli per la sindrome di Down ed altre anomalie cromosomiche rispetto ad una diagnosi prenatale ottenuta attraverso lo studio della mappa cromosomica e, dall'altra, dell'aumentato rischio di morte o danno fetale legato all'amniocentesi o al CVS".

A oltre dieci anni dalla pubblicazione sono state molto poche le iniziative delle Regioni per dare attuazione al DM 10 settembre 1998: solo la Regione Abruzzo ha identificato da tempo un centro di riferimento regionale per l'esecuzione accentrata del dosaggio di marcatori biochimici; non mancano tuttavia esperienze di concentrazione di molti test provenienti da territori vasti in un solo laboratorio: il Piemonte è l'esempio di maggiori dimensioni ed i risultati della realtà piemontese non fanno che confermare l'efficienza dello screening, declinato nelle varie strategie.

Di screening però si ragiona molto da parte dei professionisti dell'ostetricia, della medicina prenatale, della genetica e dei laboratori e finalmente anche da parte di quelle Regioni che hanno in anni recenti predisposto il proprio "Percorso Nascita", allo scopo di omogeneizzare l'offerta di prestazioni nell'ottica dell'appropriatezza e della sobrietà assistenziale in particolare nei riguardi della gravidanza, evento fisiologico che deve perdere ogni connotazione di "malattia", ma deve mantenere il diritto di essere "accompagnato" attraverso le sue fasi con il minimo interventismo compatibile con la massima attenzione per ogni deviazione dalla fisiologia. E il "Percorso Nascita" in Piemonte, in Toscana, in Emilia Romagna prevede finalmente l'offerta attiva di ogni informazione su screening e diagnosi prenatale delle anomalie cromosomiche e anche l'esecuzione dei test.

I dati dei CeDAP 2005 confermano che le donne italiane sono molto attente al benessere proprio e del feto,

come emerge dal numero delle visite e delle ecografie eseguite in gravidanza. (Fig. 2) Anche il ricorso alla diagnosi invasiva è molto diffuso, troppo diffuso. (Tab. 4)

Sommando le prestazioni amniocentesi, CVS e funicolocentesi si trova che il 20,9% delle 504.770 donne che hanno partorito in Italia nel 2005 si è sottoposta ad un test di DPI: in realtà il loro numero è sottostimato perché:

- a) i dati del 2005 sono relativi al 92% dei parti;
- b) alcune Regioni non hanno presentato i dati;
- c) le gravidanze in cui si è verificato un aborto correlato alla procedura non sono ovviamente giunte alla compilazione del CeDAP.

È quindi verosimile che nel 2005 in Italia ci siano state ben più di 100.000 procedure invasive, eseguite spesso con indicazioni poco appropriate e purtroppo probabile

causa della perdita di ben più di 1000 feti sani.

Il confronto con l'esperienza francese è inevitabile: pur servendosi di una strategia che ormai appare datata in quanto limitata all'utilizzo dei marcatori biochimici del secondo trimestre, il programma nazionale francese deve essere un modello per tutti poiché dimostra che dove esiste un solido programma di screening mediante marcatori, con un governo rigoroso della qualità della prestazione a tutti i livelli e in tutti i momenti del percorso (informazione omogenea, determinazioni analitiche accurate, controllo delle mediane, calcolo del rischio attento ai fattori che influenzano i marcatori, cut-off privo di ambiguità, pronta comunicazione del risultato, rapida attivazione della procedura diagnostica e dell'eventuale offerta dell'intervento di prevenzione secondaria), la richiesta di DPI ha potuto at-

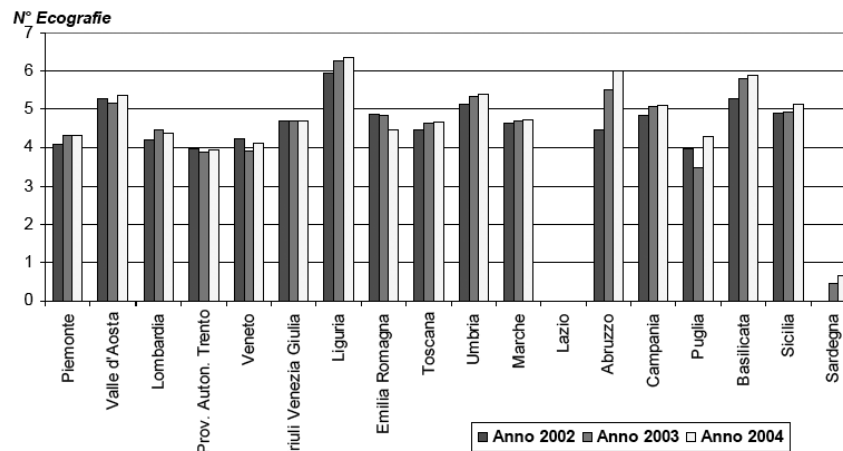


Figura 2
Numero medio di ecografie per gravidanza
Distribuzione regionale delle ecografie eseguite in gravidanza: ogni gestante si sottopone in media a 4,3 esami ecografici. (Da Rif. 6)

Tabella 4
Distribuzione regionale degli esami di diagnostica prenatale invasiva (DPI) eseguiti dalle gestanti italiane nel 2005. (% esami effettuati^a)

Regione	Villi coriali	Amniocentesi	Funicolocentesi	Totale DPI	Numero parti
Piemonte	2,37	12,9	0,6	15,87	34.963
Valle Aosta	0,90	41,9		42,80	1.106
Lombardia	5,25	14,1	0,6	19,95	91.549
Prov. Aut. Bolzano	2,92	4,7	2,8	10,42	5.551
Prov. Aut. Trento	5,06	10,0	0,2	15,26	5.022
Veneto	7,25	12,9	0,3	20,45	45.504
Friuli Venezia Giulia	2,76	20,0	0,1	22,86	10.053
Liguria	1,77	28,4	0,8	30,97	11.347
Emilia Romagna	3,74	23,8	0,9	28,44	36.840
Toscana	3,32	31,3	1,4	36,02	30.664
Umbria	0,39	23,4	0,2	23,99	7.970
Marche	9,05	10,1	0,3	19,45	13.005
Lazio	0,34	25,4		25,74	51.781
Abruzzo	0,56	11,7	0,4	12,66	10.296
Campania	0,32	10,6	0,3	11,22	61.970
Puglia	0,97	9,9	0,4	11,27	36.794
Basilicata					4.156
Sicilia	0,92	6,4	0,8	8,12	34.414
Sardegna	3,17	17,4	0,9	21,47	11.785
Totale	2,92	16,1	0,6	20,94	504.770

^aLa percentuale è calcolata sul numero dei parti per i quali è stata indicata in modo corretto l'esecuzione o meno dell'esame: per alcune regioni il dato non è indicato (Basilicata), per altre regioni non è indicato il numero dei parti (Molise, Calabria). (Da Rif. 6)

starsi intorno a 10-11% delle gravidanze e portare all'individuazione del 73% dei casi. L'applicazione, con lo stesso rigore metodologico, di strategie più moderne ed efficienti dei test di screening non potrà che migliorare in breve tempo l'appropriatezza e la sicurezza del programma riducendo le procedure diagnostiche e aumentando la sensibilità.

BIBLIOGRAFIA

1. **Shuttelworth GE.** Mongolian imbecility. *Brit Med J* 1909; 2:661
2. **Lejeune J, Gautier M, Turpin R.** Etude de chromosomes somatique de neuf enfants mongoliens. *CR Acad Sci*, 1959; 248:1721-2
3. **Tabor A, Philip J, Madsen M.** Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986;1:1287-93
4. **Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S.** Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2003, Issue 3
5. **Faris Mujezinovic F, Alfirevic Z.** Procedure-Related Complications of Amniocentesis and Chorionic Villous Sampling. A Systematic Review. *Obstet Gynecol* 2007;110:687-94
6. Ministero della Salute-Certificato di assistenza al parto-Analisi dell'evento nascita. 2007
7. Aggiornamento del Decreto Ministeriale 6 marzo 1995 concernente l'aggiornamento del DM 14 aprile 1984, GU 20 ottobre 1998
8. **Wilson JM, Jungner G.** Principles and Practice of screening for Disease. Public health papers 34 WHO, Geneva 1968
9. **Sackett DL, Holland WW.** Controversy in the detection of disease. *Lancet*, 1975, II, 357,35
10. **Wald NJ, Cuckle HS, Densum JW, et al.** Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988;297:883-7
11. **Spencer K, Wallace EM, Ritoe S.** Second trimester dimeric inhibinA in Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 1996;16:1101-10
12. **Cuckle H.** Biochemical screening for Down syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92:97-101
13. **Spencer K, Souter V, Tul N, et al.** 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
14. **Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden CM, et al.** Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet* 1992;340:704-7
15. **Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, et al.** Antenatal screening for Down's syndrome. *Health Technol Assess* 1998;2:I-IV,1-112
16. **Royal College of Obstetricians and Gynaecologists.** Antenatal care. Routine care for the healthy pregnant woman. RCOG, London 2003
17. **Royal College of Obstetricians and Gynaecologists.** Antenatal screening or Down syndrome. RCOG, London 2003
18. **Wald NJ, Hackshaw A.** Combining ultrasound and biochemistry in first trimester screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1997;17:821-9
19. **Wald NJ, Watt HC, Hackshaw A.** Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimester. *New E J Med* 1999;341:461-7
20. **Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al.** First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the serum, urine and ultrasound screening study (SURUSS). *Health Technol Assess* 2003;7:1-88
21. **Malone FD, Canick JA, Ball RH et al.** First-trimester and second-trimester screening, or both for Down syndrome. First and Second Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. *New Eng J Med* 2005;353:2001-11
22. **Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al.** 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
23. **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
24. **Wald NJ, Rish S.** Prenatal screening for Down syndrome and neural tube defects in twin pregnancies. Review. *Prenat Diagn* 2005;25:740-5
25. **Sebire NJ, D'Ercole C, Hughes K, et al.** 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
26. **Millaire M, Buiold E e altri** Mid-trimester genetic amniocentesis in twin pregnancy and the risk of fetal loss. *J Obstet Gynaecol Can* 2006 Jun;28(6):512-8
27. Arrêté du 23 janvier 1997, BO du 26/01/1997; Arrêté du 27 mai 1997, BO du 03/03/1997 ; décrets 97-578 et 97-579 du 28/05/97; Arrêté du 30/09/97, BO du 31/10/1997
28. **UK National Screening Committee.** National Down syndrome screening programme for England: London: UK LSC; 2003; update 2008
29. **ACOG Practice Bulletin.** Screening for fetal chromosomal abnormalities. 2007;77:217-27
30. **SOGC Clinical Practise guideline.** Prenatal screening for fetal aneuploidy. 2007;187:146-61

Per corrispondenza:

Dott.ssa Daniela C. Dall'Amico
AO OIRM Sant'Anna
C.so Spezia 60 - 10126 Torino
Tel.: 011 3135860 - Fax: 011 3134470
e-mail: daniela.dallamico@oirmsantanna.piemonte.it