

## L'esperienza piemontese su oltre 200.000 gravidanze sottoposte a test di screening prenatale per la sindrome di Down dal 1990 al 2008: risultati con Tritest, Test integrato, Test combinato

Daniela C. Dall'Amico<sup>1</sup>, Carla Bollati<sup>1</sup>, Elisabetta Muccinelli<sup>1</sup>, Franco Altare<sup>1</sup>, Enza Pavanello<sup>1</sup>, Varvara Guaraldo<sup>1</sup>, Guglielmo Bracco<sup>1</sup>, Annarita Filippo<sup>1</sup>, Daniela Fortina<sup>1</sup>, Elsa Viora<sup>2</sup>, Simona Bastonero<sup>2</sup>, Giuseppe Errante<sup>2</sup>, Andrea Sciarrone<sup>2</sup>, Marco Pagliano<sup>2</sup>, Elena Gullino<sup>2</sup>, Maria Grazia Alemanno<sup>2</sup>, Simona Sdei<sup>2</sup>, Roberto Scali<sup>3</sup>, Pietro Gaglioti<sup>3</sup>, Tullia Todros<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Diagnostica e Servizi, SS Screening Anomalie Cromosomiche, <sup>2</sup>Dipartimento Ginecologia, SSD Ambulatori Unificati di Ecografia, <sup>3</sup>Dipartimento funzionale Ostetricia e Neonatologia, AO OIRM-Sant'Anna, Torino

**RIASSUNTO** *Differenti marcatori e differenti associazioni di marcatori sono stati proposti dalla fine degli anni '80 per fornire un efficiente screening prenatale alle donne di tutte le età allo scopo di ottenere una stima più accurata del rischio individuale di sindrome di Down. In Piemonte i test di screening sono stati offerti dal 1990 con crescenti livelli di adesione. Le caratteristiche della popolazione di gestanti e le strategie sono cambiate nel tempo. Possiamo presentare i risultati di oltre 207.000 gravidanze come tasso di test positivi, sensibilità e valore predittivo positivo. I test più moderni che associano marcatori ecografici e biochimici del primo e del secondo trimestre sono i più efficienti: la FPR si riduce e la DR migliora con l'aumentare del numero dei marcatori. Solo la precisa conoscenza della popolazione di riferimento ed il coordinamento multidisciplinare nell'applicazione delle definite strategie di screening consentono di ottenere dei risultati di alta qualità su larga scala.*

**Parole chiave:** Screening per la sindrome di Down; Marcatori; Risultati dello screening

**ABSTRACT** *Piedmont experience about more than 200.000 pregnancies submitted to prenatal screening test for down's syndrome since 1990 to 2008: results of triple test, integrated test, combined test. Different markers and markers associations have been proposed since the late '80 in order to offer efficient screening to the whole pregnant women population with the aim of obtaining a more accurate estimation of individual risk for Down's syndrome. In Piedmont screening tests have been offered since 1990 with increasing uptake. Pregnant women population features and screening strategies varied over time as innovative techniques were adopted. Here we report results on more than 207.000 pregnancies as screen positive rate, detection rate and prognostic positive value. The most modern strategies associating ultrasound markers and biochemical ones of first and of second trimester are most efficient: the FPR has been reduced and the DR was increased along with the number of markers. Only by the correct set-up and application of the established screening test by co-ordinated team work, can high quality repeatable data be obtained for large population.*

**Key words:** Down's syndrome screening; Markers; Screening results

### INTRODUZIONE

Nel 1989 il laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna di Torino, in collaborazione con le tre divisioni di Ostetricia e Ginecologia, con gli Istituti di Ostetricia e Ginecologia e con l'Istituto di Genetica Medica dell'Università di Torino, realizzò uno studio di fattibilità dello screening prenatale per la sindrome di Down (SD) mediante l'esecuzione del test di screening biochimico a tre marcatori (Tritest) a tutte le gestanti che si presentavano per eseguire la diagnosi prenatale (DPI) mediante amniocentesi presso gli ambulatori di ecografia ostetrica dell'ospedale e delle cliniche universitarie: si trattava di gestanti classificate ad alto rischio di SD per età o per motivi anamnestici a cui veniva semplicemente richiesto di sottoporsi a un prelievo di sangue subito prima dell'amniocentesi. Pochissime rifiutarono di collaborare e fu possibile arruolare 1070 donne, quasi tutte di età superiore ai 35 anni: in questa popolazione di età gestazionale confermata ecograficamente furono definite le distribuzioni dei marcatori AFP, uE3 e hCG totale ed

i valori delle rispettive mediane tra le 15 e le 18 settimane di gravidanza. L'analisi del cariotipo individuò 9 casi di SD ed i valori mediani in questa piccola popolazione di gravidanze affette confermavano quelli descritti da Wald e Cuckle nello storico lavoro del 1988<sup>1</sup> in cui gli autori proponevano anche il calcolo del rischio individuale: il rischio di SD legato alla sola età materna può venire personalizzato, cioè modificato da un "rapporto di verosimiglianza" (*Likelihood Ratio*, LR) che esprime la probabilità che una determinata combinazione di valori dei marcatori appartenga alla distribuzione degli affetti o piuttosto a quella dei non-affetti. L'applicazione di tale calcolo alla popolazione dello studio avrebbe attribuito un rischio superiore al valore soglia (cut-off) di 1:380 solamente al 23% delle donne in studio identificato come tasso di donne positive al test, (*False Positive Rate %*, FPR%), e tra queste 235 gestanti si trovavano anche quelle 9 che erano risultate portatrici di gravidanza affetta con una sensibilità (*Detection Rate %*, DR%) pari al 100%. Pur considerando i limiti imposti delle dimensioni della casistica, era un risultato molto importan-

te: era davvero possibile selezionare le donne ad alto rischio a cui proporre la DPI non in base alla sola età ma con il criterio del rischio personalizzato calcolato valutando precisi parametri espressi dalla gravidanza in corso.

Nel 1990 non vi erano alternative alla DPI per le donne oltre i 35 anni: l'esistenza di uno strumento per valutare il rischio personalizzato era invece un aiuto prezioso per le donne che chiedevano assicurazione per un'età vicina ai 35 anni, per quelle che "si sentivano" a rischio anamnestico senza esserlo davvero, per alcune ultratrentacinquenni che esitavano ad accettare la DPI temendone il rischio di abortività indotta<sup>2</sup>. Ed infatti nel corso del 1990 e 1991 le gestanti che si sottoponevano al tritest erano tutte inviate dai genetisti e la scelta di sottoporsi al test di screening era il risultato di una consulenza genetica. Il percorso informazione-test di screening-eventuale esame diagnostico si conquistò a poco a poco la fiducia delle gestanti e dei ginecologi, anche perché l'ambiente culturale torinese in cui si sviluppò era caratterizzato da figure di riferimento di grande carisma.

Nel corso degli anni 1990-1999 la richiesta di test di screening per la SD crebbe progressivamente e fu necessario che l'Ospedale Sant'Anna istituisse specifici servizi ecografici per la datazione della gravidanza e impegnasse qualche risorsa del laboratorio per l'esecuzione dei dosaggi dei marcatori e per il calcolo del rischio: quando alcune ASL/ASO della provincia di Torino e poi della Regione inoltrarono la richiesta di convenzione per l'esecuzione del test di screening iniziò un percorso virtuoso che consentiva all'Ospedale Sant'Anna di fatturare le sue prestazioni verso le altre ASL/ASO e alle gestanti residenti sul territorio regionale di trovare il test di screening tra i servizi erogati, seppure non prodotti, dalle aziende sanitarie di residenza. Tra le attività ambulatoriali delle divisioni di Ostetricia e Ginecologia del Piemonte nascevano e si moltiplicavano gli "ambulatori dedicati" allo screening con personale capace di fornire l'indispensabile informazione pre-screening, di eseguire la datazione ecografica della gravidanza, di compilare un'apposita scheda anamnestico-clinica con le necessarie informazioni sui fattori che possono influenzare le concentrazioni dei marcatori nel siero materno, di raccogliere la firma del consenso, di eseguire il prelievo e di inviarlo al Laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna a Torino in idonee condizioni di conservazione. Il test non fu comunque messo a disposizione di tutte le donne: fu limitato alle donne di età superiore ai 30 anni fino al 1997 ed alle donne di età superiore ai 27 anni nel 1998 e nel 1999.

A partire da gennaio 2000, dopo la pubblicazione del DM 10/09/1998 (allegato C)<sup>3</sup>, il cut off fu portato a 1:350 a termine (che corrisponde a 1:250 all'epoca dello screening e/o diagnosi prenatale) e fu possibile offrire il test di screening alle donne di tutte le età provenienti dagli ambulatori dedicati attivi sul territorio regionale; contemporaneamente, in collaborazione con il Centro di Ecografia e Diagnosi Prenatale dell'Ospedale Sant'Anna, iniziava uno studio di fattibilità del "Test integrato"<sup>4</sup>, che vedeva impegnati quattro centri (Londra, Oporto, Toronto e Torino) coordinati da Nicholas Wald. Il test integrato prevede la determinazione della misura ecografica della translucenza nucale (NT) e il dosaggio della proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A) a 11-13 settimane e dei marcatori del

secondo trimestre AFP, uE3 e hCG a 15-16 settimane con calcolo del rischio solo al secondo trimestre. A Torino la misurazione della translucenza nucale veniva effettuata da 5 operatori che avevano acquisito il certificato di competenza della *Fetal Medicine Foundation* (FMF)<sup>5</sup> di Londra.

A tutte le donne sottoposte ad esame ecografico con misurazione della NT veniva consegnato il referto scritto dell'ecografia: esse erano informate, quindi, del reperto di normalità o di patologia del medesimo. In caso di malformazione fetale (anencefalia, oloprosencefalia, igroma cistico, onfalocoele ecc.) veniva eseguita una consulenza sul tipo di patologia e la stessa strategia (cosiddetto "triage con la translucenza") era adottata nei casi in cui la misura della translucenza nucale fosse risultata superiore al 95° centile. Alla gestante, informata non solo del rischio aumentato per la SD (con calcolo personalizzato del rischio calcolato solo sulla base della NT con il software della FMF), ma anche del rischio di altre malformazioni e/o di esito infausto della gravidanza, veniva offerta la prenotazione di:

- esame ecografico a 16-17 settimane,
- esame ecografico mirato ed ecocardiografia fetale e 20-21 settimane.

Lo studio di fattibilità finì nel 2003 con la pubblicazione dei risultati dello studio SURUSS<sup>6</sup> e dal 2004 il test integrato può essere offerto a tutte le gestanti che si sottopongono all'ecografia per la misura della NT effettuata da un ecografista che abbia ottenuto uno specifico accreditamento.

Dal 2004 è disponibile anche il "Test combinato" del primo trimestre se la gestante si è sottoposta ad un'ecografia con adeguata misura di NT e, debitamente informata su vantaggi e svantaggi, ha scelto di eseguire un test di screening più precoce che, in caso di positività, le permetterebbe di sottoporsi ad un test diagnostico più precoce mediante il prelievo dei villi coriali ed eventualmente ad un più precoce intervento di prevenzione secondaria.

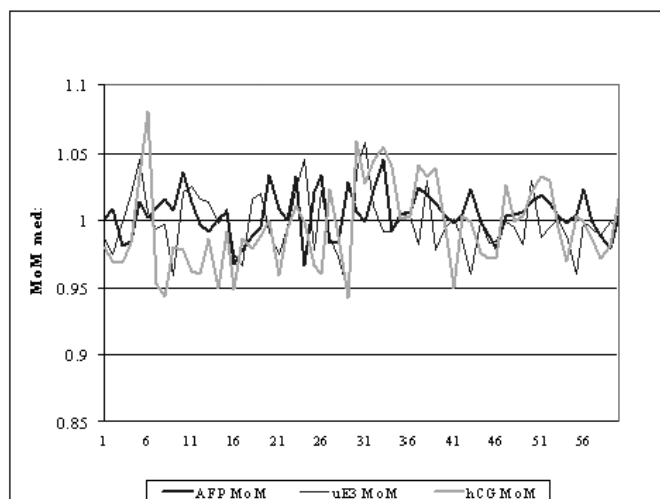
## MATERIALI E METODI

### Metodi analitici e calcoli

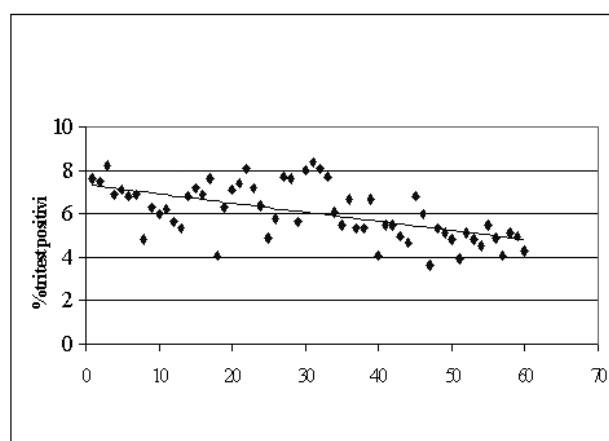
Per tutti i dosaggi dei marcatori biochimici si sono sempre usate le metodiche sul sistema AutoDelfia (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Wallac Oy, Turku Finlandia); il calcolo del rischio è sempre stato eseguito col programma Alpha (*Logical Medical System*, Londra, UK). Tutta l'attività analitica è soggetta a controllo interno di qualità e la VEQ è assicurata dalla partecipazione al programma specifico della UK NEQAS (*United Kingdom National External Quality Assessment Scheme*, UK). Vengono monitorati con continuità i parametri della verifica di qualità epidemiologica e cioè le mediane dei marcatori nella popolazione (Fig. 1), il tasso dei test positivi (Fig. 2), la sensibilità (Fig. 3), ed il valore predittivo positivo che si preferisce esprimere in modo più divulgativo come *Odds of being Affected with a Positive Result* (OAPR) (Tab. 1).

### Popolazione

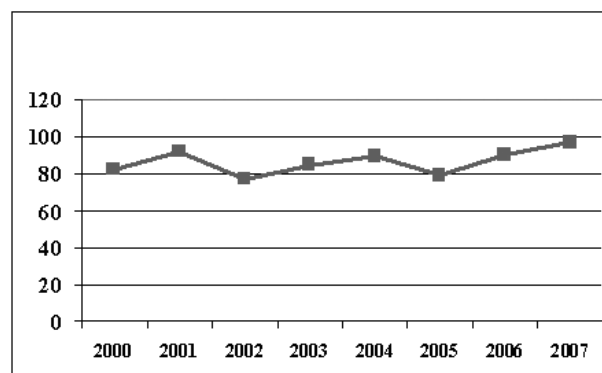
L'esperienza piemontese tra il 1990 ed il 1999 si è sviluppata su una popolazione selezionata da cui erano



**Figura 1**  
Tritest - Mediane dei marcatori nella popolazione: stabilità nel tempo (mesi da gennaio 2004 a dicembre 2008)



**Figura 2**  
Tasso dei Tritest positivi: riduzione della FPR (mesi da gennaio 2004 a dicembre 2008)



**Figura 3**  
Tritest. Sensibilità (DR%)

escluse le donne a rischio molto basso perché di età inferiore ai 30 anni (fino al 1997) o ai 27 anni (nel 1998 e 1999) ed in cui meno del 10% era di età superiore ai 35 anni. Si tratta di oltre 77.000 gravidanze con decorso della gravidanza noto.

Dal 2000 ad oggi la popolazione delle donne sottoposte a test di screening va assumendo caratteristiche sempre più simili a quelle della popolazione generale delle gestanti piemontesi poiché si assiste ad un progressivo incremento dell'interesse per lo screening per la SD da

**Tabella 1**

I risultati dello screening prenatale per la Sindrome di Down del Laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna (TO)

Tipo di test (periodo)	VN	FP	VP	FN	Totale	FPR (%)	DR (%)	OAPR (1/...)	OANR (1/...)
Tritest (90-99)	69.890	7.110	114	25	77.139	9,22	82	62	2.797
Tritest (00-07)	71.570	5.470	95	20	77.155	7,09	83	58	3.580
Test integrato (00-07)	43.363	1.413	60	8	44.844	3,15	88	24	5.421
Test integrato biochimico (00-07)	5.710	355	7	0	6.072	5,85	100	51	
Test combinato (04-07)	2.188	310	24	0	2.522	12,29	100	13	
<b>Totale (00-07)</b>	<b>122.831</b>	<b>7.548</b>	<b>186</b>	<b>28</b>	<b>130.593</b>	<b>6,14</b>	<b>87</b>	<b>42</b>	<b>4.388</b>

VN: Veri Negativi, FP: Falsi Positivi FN: Falsi Negativi

OAPR: Odds of being Affected with a Positive Result;

OANR: Odds of being Affected with a Negative Result

parte sia delle donne di età inferiore ai 27 anni, che pochi anni or sono si ritenevano ben protette dalla giovane età, sia delle donne di età superiore ai 35 anni che prima chiedevano direttamente i test di diagnosi invasiva. Nella Tabella 2 sono riportate le variazioni dell'età materna al parto in Piemonte e la relativa prevalenza di nuovi casi di SD: si può osservare un progressivo decremento numerico nelle classi di donne più giovani a vantaggio delle classi di età intermedia e/o avanzata con un effetto dirompente sulla prevalenza attesa di SD. Dal 2000 al dicembre 2007 la popolazione è costituita da oltre 130.000 gravidanze con decorso della gravidanza noto. Nel corso del 2008 sono state valutate più di 21.000 gravidanze i cui risultati completi non possono essere presentati poiché una parte di queste gestanti non ha ancora partorito: per ora possono essere riferiti solo il tasso di test positivi (4,4%), il numero dei casi noti (36 di cui 12 individuati al primo trimestre, 21 al secondo trimestre, 3 falsi negativi), la per-

centuale di donne di età pari o superiore ai 35 anni (23,7%).

### Operatori

In base al DM 10/09/1998 tutti i parametri utilizzati per la valutazione del rischio devono essere sottoposti a valutazione continua della qualità. I laboratori di analisi hanno consolidate procedure finalizzate allo scopo; gli ecografisti che misurano il marcatore NT hanno dovuto dimostrare analoghi requisiti. Per questo motivo la partecipazione allo studio di fattibilità del test integrato fu limitata al gruppo di ecografisti già in possesso dell'opportuno accreditamento e sottoposti a VEQ dalla FMF di Londra, società scientifica che ha sviluppato i criteri di standardizzazione della misura ecografica della NT, consentendole di acquisire la caratteristiche di "marcatore" della SD.

La procedura di accreditamento a qualcuno può appa-

**Tabella 2**

Variazione dell'età materna in Piemonte: variazione della prevalenza attesa di SD (periodo: 1988-2006)

anno	età materna	N° nati	%	N° SD attesi	%
1988	< 27 anni	13.109	39,3	10	20
	27-35	17.543	52,6	23	46
	36-38	1.788	5,4	7	14
	>38 anni	881	2,6	10	3,2
	totale	33.321	100	50	100
1994	< 27 anni	8.599	26	6	11,1
	27-35	21.049	63,6	27	50
	36-38	2.381	7,2	10	18,5
	>38 anni	1.042	3,2	11	20,4
	totale	33.071	100	54	100
2002	< 27 anni	6.463	18,1	5	16,6
	27-35	23.15	64,8	33	44
	36-38	4.284	12	17	22,8
	>38 anni	1.819	5,1	20	26,6
	totale	35.716	100	75	100
2006	< 27 anni	4.625	12,6	3	2,7
	27-35	20.751	56,3	32	28,3
	36-38	6.706	18,2	28	24,8
	>38 anni	4.765	12,9	50	44,2
	totale	36.847	100	113	100

rire complessa. Il laboratorio Sant'Anna ha quindi messo a punto un programma locale di VEQ per gli ecografisti piemontesi che abbiano frequentato un corso teorico pratico sulla misura della NT organizzato dalla Società Italiana di Ecografia Ostetrica e Ginecologica (SIEOG)<sup>7</sup> e superato l'esame finale. Le prestazioni di questi operatori si collocano tra quelle degli operatori FMF dell'Ospedale Sant'Anna e quelle degli operatori FMF attivi sul territorio (Fig. 4). Gli operatori sottoposti a controllo continuo della qualità sono abbastanza numerosi (103 nel 2008) ed è quindi possibile offrire il test integrato su larga scala alle donne di quasi tutto il Piemonte. Se non è possibile misurare un'adeguata NT è comunque possibile ottenere da tutti gli ecografisti ostetrici una misura della lunghezza cranio-caudale del feto a 11-13 settimane ed eseguire il prelievo per la PAPP-A, seguiti dal tritest a 15-18 settimane, per realizzare un test integrato "biochimico" o "sierico".

**Tipologie di test**

- Dal 2004 il laboratorio Sant'Anna è in grado di eseguire:
- a) il **Tritest** (o Triplo test) che consiste nel dosaggio su siero materno di AFP, uE3 e hCG a 15-18 settimane di età gestazionale con corretta datazione ecografica.
  - b) il **Test combinato** che è la "combinazione" del dosaggio su siero materno della PAPP-A e della frazione libera della sub-unità beta della hCG (free-βhCG), con la misura della NT dell'embrione, eseguita da un operatore accreditato, a 11-13 settimane. La gestante viene sempre informata dell'esito dell'esame ecografico di cui riceve il referto scritto ("trriage con la translucenza nucale").
  - c) il **Test integrato** che si effettua in due tempi: a 11-13 settimane si eseguono l'esame ecografico con misura di NT (come per il test combinato) ed il dosaggio di PAPP-A; a 15-16 settimane essi vengono "integrati" con il Tritest. Il calcolo del rischio si esegue solo dopo il secondo prelievo, ma la gestante viene sempre informata dell'esito del-

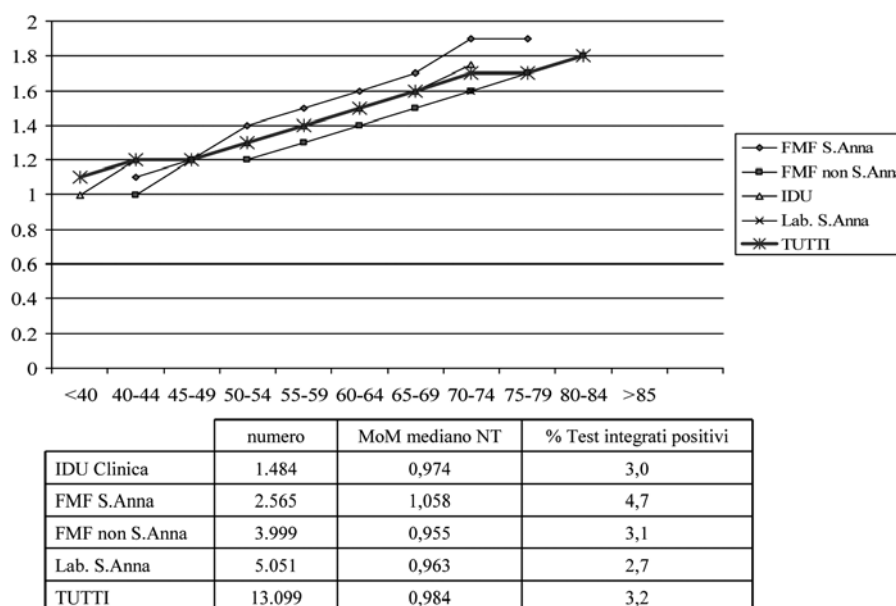
l'esame ecografico di cui riceve il referto scritto ("trriage con la translucenza nucale").

d) il **Test integrato biochimico** che si effettua in due tempi: a 11-13 settimane si eseguono l'esame ecografico per la sola datazione e il dosaggio di PAPP-A; a 15-16 settimane essi vengono "integrati" con il Tritest. Il calcolo del rischio si esegue solo dopo il secondo prelievo.

Nel corso del 2008 sono pervenute al laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna circa 36.000 campioni per l'esecuzione di circa 158.000 dosaggi di marcatori della SD nelle diverse associazioni. Per gli ambulatori dedicati è stata predisposta una scheda a lettura ottica da cui il prelevatore stacca le etichette con codice a barre con cui identificherà sia il campione che una scheda anamnestico-clinica con i dati che influenzano i livelli dei marcatori nel siero materno. Ad ogni accettazione di dosaggio PAPP-A come primo prelievo di test integrato corrisponde la creazione di un codice-paziente che, inviato all'ambulatorio di provenienza come etichetta-barcode, viene applicato sulla scheda a lettura ottica del secondo prelievo e consente di ri-identificare la stessa paziente come secondo prelievo di test integrato (e non come semplice tritest): lo scopo di questa procedura è l'estrazione simultanea dal database del laboratorio dei risultati dei dosaggi di PAPP-A, AFP, uE3 e hCG anche se eseguiti in momenti diversi e di immetterli contemporaneamente nel software Alpha.

**Informazione e counselling**

A tutte le gestanti viene fornito un colloquio informativo, a cui seguono la firma del consenso e la compilazione della specifica scheda anamnestico-clinica: la presenza di mediatrici culturali migliora l'adesione delle gestanti straniere. La comunicazione dei risultati di rischio aumentato avviene nei tre giorni lavorativi successivi all'accettazione del campione ed è un compito del sanitario che ha incontrato la gestante nel momento informativo: viene eseguito



**Figura 4**  
Regressione NT/CRL per diversi gruppi di operatori

uno specifico *counselling* post-screening per presentare il percorso diagnostico successivo con l'offerta dell'amniocentesi (o del prelievo dei villi coriali) cui è possibile accedere in tempi brevissimi, mai superiori ai tre-quattro giorni.

Oltre all'esame del cariotipo fetale dal 2000 è disponibile l'esecuzione della *Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction* (QF-PCR) per i cromosomi 21, 18 e 13: questa metodica "rapida" consente di fornire in tempi molto brevi (circa 48 ore) un primo risultato parziale e viene ormai offerta nella maggior parte degli ambulatori dedicati insieme all'esame citogenetico. Sono evidenti i vantaggi che ne derivano, di ordine psicologico per le pazienti e di tipo organizzativo per gli operatori.

La comunicazione dell'esito di un esame diagnostico patologico avviene a cura del sanitario che ha eseguito la procedura diagnostica invasiva e viene gestita, nella maggior parte dei casi, insieme al consulente psicologo.

Tutte le prestazioni sono fornite dal SSN: l'ecografia del primo trimestre è prevista senza quota a carico della paziente dal DM del 1998 (allegato B). Il Nomenclatore Tariffario Regionale, in vigore in Piemonte dal 2004<sup>8</sup> prevede tutte le prestazioni necessarie (il Tritest, il Test combinato e il dosaggio della PAPP-A), riservandone l'erogazione a strutture specialistiche specificamente riconosciute ed abilitate dalla Regione.

Nella Tabella 3 si riportano le attività degli ambulatori dedicati dal 2004, quando è stato raggiunto l'assetto attuale di ASL ed ASO in convenzione: nella primavera del 2008 si è aggregata la ASL 13, Borgomanero. L'adesione delle gestanti all'offerta dei diversi tipi di test di screening, è riportata nella Figura 5.

## RISULTATI

Il primo risultato del programma di screening per la SD è il livello di adesione.

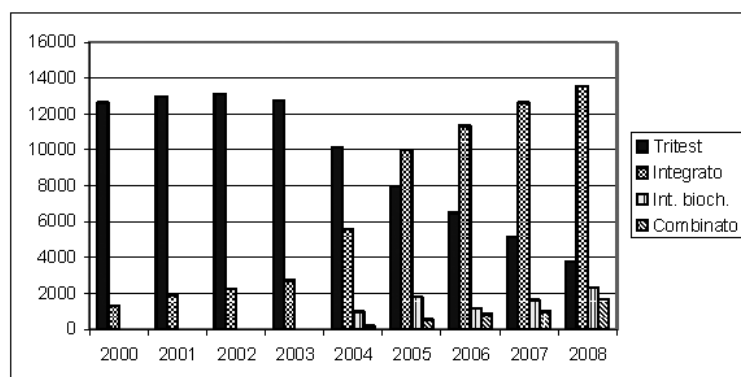
Dalla Tabella 2 si vede che in Piemonte i parti del 2006 sono stati 36.847 e nello stesso anno le gestanti che hanno avuto un test di screening del laboratorio Sant'Anna sono state 19.842: queste donne rappresentano il 53,8% dell'intera popolazione regionale. Nella Figura 6 si vede che la rete degli Ambulatori Dedicati ha coperto i due terzi del territorio regionale, in cui sono nati 28.200 bambini (il 77% del totale). Si potrebbe quindi stimare un 70% di adesione allo screening da parte delle gestanti residenti in questa area. In Piemonte però il 31% (11.450) delle donne ha più di 35 anni e il 39,6% di queste "anziane" (circa 4535) ha scelto direttamente la DPI<sup>9</sup>. Di conseguenza l'area coperta dalla rete comprende una popolazione di 24.730 gestanti che potrebbe giovare dello screening, se raggiunta da una corretta informazione. Pertanto nel corso

**Tabella 3**

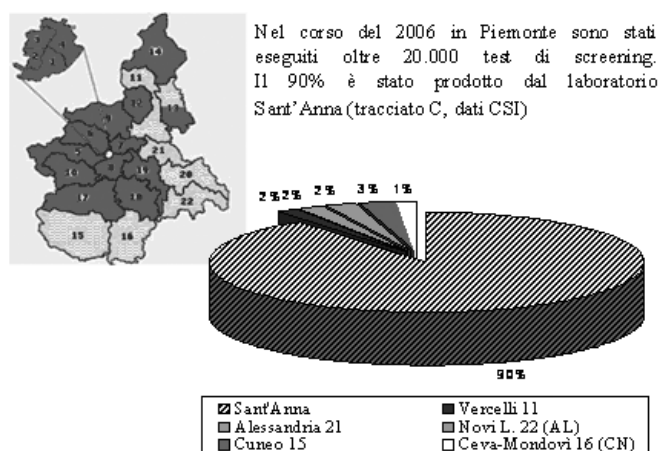
Ambulatori in cui si eseguono i test di screening afferenti al laboratorio Sant'Anna e numerosità dell'utenza dal 2004 al 2008

Sede	2004	2005	2006	2007	2008
Ambulatori Sant'Anna (TO)	7.824	7.630	7.842	7.454	7.012
Osp. Maria Vittoria (TO)	484	415	301	380	461
Osp. Martini (TO)	303	289	355	392	408
Osp. Mauriziano (TO)	320	238	272	708	818
Rivoli (TO)	539	540	543	511	597
Giaveno (TO)	259	375	427	433	367
Susa (TO)	144	171	230	221	231
Chivasso (TO)	507	423	400	302	247
Ciriè (TO)	643	1.127	1.248	1.517	1.523
Ivrea (TO)	206	230	180	207	391
Cuorgnè (TO)	452	364	321	298	334
Moncalieri (TO)	480	668	715	742	782
Carmagnola (TO)	460	588	709	703	478
Chieri (TO)	397	491	683	618	735
Pinerolo (TO)	634	640	757	781	865
Asti	838	881	771	789	1.072
Nizza M.to (AT)	120	113	137	134	187
Biella	597	740	798	878	782
VCO (BI)	48	819	739	719	658
Novara	293	443	473	368	544
Borgomanero (NO)					317*
Alba (CN)	357	319	465	632	648
Bra (CN)	189	203	200	194	221
Savigliano (CN)	142	683	772	840	934
Strutture private (3)	413	232	240	266	325
Aosta	255	269	264	326	336
<b>Totale</b>	<b>16.904</b>	<b>18.891</b>	<b>19.842</b>	<b>20.413</b>	<b>21.273</b>

\*L'ambulatorio dedicato ha iniziato la collaborazione solo in aprile 2008



**Figura 5**  
Adesione delle gestanti all'offerta dei diversi tipi di test di screening



**Figura 6**  
Rete degli ambulatori dedicati allo screening dalle varie ASL/AO

del 2006 l'adesione reale è stata esattamente dell'80%.

Sono parte integrante dell'attività del laboratorio Sant'Anna le procedure necessarie a completare la verifica di qualità epidemiologica<sup>10</sup> e cioè:

- la raccolta delle informazioni sull'accettazione delle indicazioni dello screening e sulla successiva esecuzione degli esami di DPI,
- il rapporto costante con i laboratori di citogenetica e genetica molecolare per acquisire ogni informazione sulle cromosomopatie identificate,
- le strette relazioni con i centri di diagnosi prenatale, per cui le donne che risultano a rischio aumentato, cioè con screening positivo, e che desiderano sottoporsi al test invasivo (amniocentesi/prelievo dei villi coriali) sono prenotate direttamente dall'operatore che informa la gestante ed esegue il *counselling* post-test,
- lo scambio di informazioni sull'esito delle gravidanze con le unità Operative di Ostetricia cui fanno riferimento gli ambulatori dedicati, tutte sede di Punti Nascita.

In base a questa attività di monitoraggio delle informazioni si può affermare che oltre il 90% delle donne risultate a rischio aumentato accetta di sottoporsi a successivi esami diagnostici invasivi e che la quasi totalità delle donne risultate portatrici di gravidanze con anomalia cro-

mosomica sceglie di interrompere la gravidanza: è quindi possibile presentare i risultati ottenuti nel corso degli anni dalla applicazione di un programma per la diagnosi della SD mediante test di screening ed analisi del cariotipo fetale<sup>10</sup> che prevede un approccio multidisciplinare ed un ampio bacino di utenza.

Nella Tabella 1 sono presentati i risultati a seconda che ci fosse o meno una selezione per età e a seconda del tipo di test.

Nel primo periodo di attività il rischio di *cut-off* utilizzato era 1:380. Il tasso dei test positivi risultò piuttosto elevato (9,36%) con una sensibilità dell'82% al secondo trimestre e OAPR di 1:63. L'età mediana era di 31 anni e sei mesi, la prevalenza della SD calcolata a termine era 1 caso su 682 gravidanze, valutando del 23% l'abortività spontanea delle gravidanze affette tra le 16 e le 40 settimane<sup>11</sup>.

Nel secondo periodo di attività il *cut-off* cambia e sale a 1:350; complessivamente dal gennaio 2000 al dicembre 2007 è risultato positivo al test di screening il 6,14% delle gestanti, la sensibilità è stata pari a 87% con OAPR 1:42 e la prevalenza a termine è stata 1:763, considerata l'abortività spontanea tra le 16 e le 40 settimane: però i test si

differenziano sia per l'età delle donne a cui sono stati applicati, sia per i parametri che esprimono i risultati.

Per il Tritest il tasso dei test positivi è risultato complessivamente più contenuto che nel periodo precedente, la sensibilità è stata confermata e l'OAPR è moderatamente migliorata. L'età mediana è stata di 31 anni, la prevalenza della SD calcolata a termine risulta di 1 caso su 812 gravidanze.

Il Test integrato ottiene parametri che sono indicativi di un'efficienza molto elevata: per una FPR del 3,2%, la sensibilità è pari a 88%, con OAPR 1:25. L'età mediana delle gestanti di questo gruppo è di 32 anni e la prevalenza calcolata a termine risulta 1:830.

Il Test integrato biochimico è stato utilizzato da una porzione modesta della popolazione perché è limitato al periodo in cui gli ecografisti di una data ASL/ASO stavano conseguendo l'accreditamento per la NT: tutti i parametri sono migliori rispetto a quelli del Tritest e peggiori di quelli del Test integrato; data la scarsa numerosità del gruppo, per ora non ci sono falsi negativi.

Il Test combinato è stato utilizzato per ora da una piccola popolazione di donne di età più avanzata (mediana di 33 anni): la FPR è indubbiamente la più elevata; per ora non ci sono falsi negativi, l'OAPR è ottima. La prevalenza della SD calcolata a termine risulta di 1 caso su 150 gravidanze, valutando del 31% l'abortività spontanea delle gravidanze affette da SD tra le 13 e le 40 settimane.

Un risultato interessante è quello ottenuto su due gruppi di donne di 35 anni o più, uno sottoposto a Tritest e l'altro sottoposto a Test integrato: i dati sono riportati nella Tabella 4. Da notare la sensibilità superiore al 95%, con tassi di FPR piuttosto elevati per il tritest ma decisamente bassi per il test integrato. Le OANR sono in linea con quelle della popolazione generale. La prevalenza a termine complessiva è 1:420.

Nella Tabella 5 vengono riportati i casi di altri difetti del numero dei cromosomi individuati da esami di diagnostica invasiva eseguiti in seguito al risultato positivo di un test di screening. Si riportano anche le prevalenze osservate e quelle disponibili in letteratura<sup>12</sup>.

**DISCUSSIONE**

Il grado crescente di copertura della popolazione pie-

montese è la prima valutazione di segno positivo dei risultati dello screening in Piemonte: ogni donna cerca di sapere tutto il possibile sul proprio feto e, se ben informata, è perfettamente in grado di fare le scelte più appropriate, cioè quelle che non la espongono a rischi aggiuntivi, ma che le forniscono elementi per eventuali scelte successive.

Anche le donne straniere si dimostrano pronte ad assimilare i principi della medicina prenatale: negli anni più recenti, in particolare dal 2005, le utenti del Tritest sono prevalentemente le donne straniere che spesso non fanno la prima visita in gravidanza nel corso del primo trimestre e cercano assistenza quando il momento per l'ecografia della NT è ormai passato. Le donne straniere sono mediamente un po' più giovani delle donne italiane e un'età materna più bassa concorre a ridurre il tasso di test positivi. Infatti nell'ultimo biennio la FPR del Tritest è scesa al 4.5%.

Le donne italiane, generalmente più anziane, cercano quasi tutte assistenza ostetrica fin dalle prime settimane di gestazione e sono nelle condizioni di richiedere il Test integrato: nel biennio 2007-2008 oltre il 20% delle gestanti che hanno eseguito il test integrato aveva 35 anni o più. Il Test integrato che si fa in Piemonte non è esattamente quello che ha progettato Nicholas Wald: nella forma originale il risultato dell'ecografia doveva rimanere celato alla gestante perché almeno 1 su 5 embrioni con NT aumentata a 11-13 settimane è destinato a spegnersi spontaneamente prima delle 15 settimane. Rivelare l'esistenza del segno ecografico avrebbe portato molte donne a richiedere la DPI già nel primo trimestre, con conseguente aumento delle procedure invasive. Il risultato dell'ecografia del primo trimestre per la misurazione della NT può modificare i progetti delle gestanti ed indirizzare le scelte successive: infatti succede che in presenza di una NT aumentata (superiore alla misura corrispondente al 95° centile per l'età gestazionale o ai 2 MoM) la gestante di età superiore ai 35 anni chieda l'immediata esecuzione di un test diagnostico, mediante prelievo dei villi coriali. Più spesso avviene che, a fronte di un valore di NT aumentato, soprattutto nelle donne di età inferiore ai 35 anni, l'ecografista, o un altro esperto in medicina prenatale, esegua un counseling che porterà la gestante a richiedere il test combinato per avere una risposta più precoce. Questa scelta, del tutto coerente con le recenti linee guida dell'ACOG<sup>13</sup>, giu-

**Tabella 4**  
I risultati ottenuti in due sottogruppi di gestanti di "età avanzata" (> a 35 anni)<sup>a</sup>

Età > a 35 anni:	VN	FP	VP	FN	Totale	FPR (%)	DR (%)	OAPR (1/...)	OANR (1/...)
Tritest	8.389	1.731	31	1	10.152	17,0	97	56	8.389
Test integrato	8.110	576	26	1	8.713	6,6	96	22	8.110

<sup>a</sup>età media: 35 anni e tre mesi prevalenza al 2° trimestre: 1/319 a termine: 1/420

**Tabella 5**  
Altre aneuploidie individuate con test diagnostico eseguito per positività del test di screening per la sindrome di Down

Tipo di aneuploidia	numero	%	prevalenza osservata	prevalenza descritta
Trisomia 18	33	41,3	1 su 3.940	1 su 2.500
Trisomia 13	10	12,5	1 su 13.060	1 su 7.500
Anomalie di Numero (X/Y)	14	17,5	1 su 9.330	1 su 3.000
Altre	23	28,7	1 su 5.680	
<b>Totale</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>1 su 1.630</b>	

stifica l'elevata FPR, la sensibilità apparente del 100% e la OAPR particolarmente favorevole (1:14) che si osservano nella popolazione del Test combinato: i casi di gravidanza affetta si concentrano in questo gruppo in cui la prevalenza della SD calcolata a termine è 1:150, considerando l'abortività spontanea delle gravidanze affette; questa è una prevalenza molto più elevata di quella attesa in base all'età mediana di 33 anni ossia 1:350.

È una piccola popolazione anche quella del Test integrato biochimico, offerto dove non è disponibile un'adeguata misura della NT: i risultati sono migliori di quelli del Tritest, anche se l'età mediana è un po' superiore. Può apparire strana la bassa prevalenza della SD in questo gruppo (1:1225): ma è una distorsione dovuta allo scrupoloso comportamento dell'ecografista "in formazione" il quale, rilevando una NT aumentata, molto correttamente provvede ad inviare urgentemente la gestante ad un collega accreditato il quale, confermando il dato, effettua la consulenza sulla base della misura riscontrata e propone l'iter previsto per tali situazioni:

- possibilità di continuare con il Test integrato oppure passare al Test combinato oppure direttamente al test invasivo;
- eseguire un esame ecografico mirato a 16-17 settimane,
- eseguire un esame ecografico mirato con ecocardiografia fetale a 20-21 settimane.

Nella pratica clinica odierna (sebbene si sia fatto così fin dalla fase iniziale del Test integrato) è improponibile, anche dal punto di vista deontologico, che l'ecografista non comunichi un reperto di allarme di fronte al quale sarebbe possibile scegliere un percorso diagnostico più precoce e rapido per la diagnosi della SD o altre anomalie cromosomiche. I dati di letteratura, e la nostra esperienza, confermano per quel feto un rischio maggiore anche di anomalie strutturali che possono essere identificate con un esame ecografico mirato, comprendente l'ecocardiografia fetale, che non sarebbe proposto in assenza di tale marcatore.

È inoltre vero che la comunicazione di un reperto ecografico rassicurante, che fa ipotizzare una situazione di normalità, cioè un valore di NT vicino a quello mediano, offre alle gestanti una forma di parziale, provvisoria rassicurazione che consentirà loro di arrivare con relativa tranquillità al completamento del test integrato poiché, per il momento non è davvero stato rilevato nulla di allarmante a carico del feto. In questa sua forma "piemontese", volendo vagamente "sequenziale" mediante il *triage* con la translucenza nucale, il Test integrato ha conquistato la fiducia anche di tante gestanti di età superiore ai 35 anni. In effetti, come si può comprendere dai citati risultati parziali del 2008, il test integrato riesce ad identificare i casi di SD con NT sottile poiché quelli con NT aumentata sono entrati nella popolazione del Test combinato.

I test di screening per la SD possono contribuire all'identificazione di altre, diverse aneuploidie la cui prevalenza è ritenuta così bassa da non giustificare interventi di diagnosi prenatale, se non in caso di anamnesi positiva. Considerate complessivamente nella popolazione piemontese sottoposta a screening per la SD tra il 2000 e il 2007, la prevalenza delle anomalie diverse dalla SD non è trascurabile e la loro individuazione rappresenta un beneficio senza costi aggiuntivi.

La stessa considerazione vale per i difetti di chiusura

del tubo neurale (DTN): per motivi etnici e nutrizionali le malformazioni aperte del sistema nervoso centrale hanno una prevalenza piuttosto bassa nelle popolazioni dell'Europa meridionale e uno screening di popolazione per i DTN non sarebbe giustificato. Se invece esiste un programma di screening per la SD che comprende i marcatori del secondo trimestre, il dosaggio di AFP sul siero materno permette di fornire uno screening per la spina bifida, e lo fa con qualche settimana di anticipo rispetto all'esame ecografico per screening malformativo, previsto per tutte le gestanti a 19-21 settimane.

L'organizzazione dell'intero percorso è simile in tutte le sue tappe (prenotazione dell'ecografia, informazione e consenso, prelievi, refertazione, *counselling* post-screening per la comunicazione dei risultati positivi, offerta di test diagnostici, comunicazione dei risultati, eventuale offerta di intervento di prevenzione secondaria, assistenza psicologica alla coppia) presso tutti gli ambulatori dedicati allo screening della rete che fa capo al laboratorio dell'Ospedale Sant'Anna e la realizzazione pratica richiede l'armonico intervento di molte persone con formazione e professionalità diverse. La stretta collaborazione multidisciplinare contribuisce al rispetto delle tempistiche ed al raggiungimento di un buon livello di soddisfazione. I tempi serrati sembrano particolarmente graditi alle coppie con risultati positivi dei test per le quali l'ansia dell'attesa assume dimensioni particolari.

## CONCLUSIONI

I risultati del programma piemontese di screening prenatale portano a queste considerazioni conclusive:

a) nella popolazione delle gestanti, o meglio nelle coppie in gestazione, emerge la stessa intensa richiesta di salute che proviene dalla popolazione generale ed è una richiesta a cui è doveroso dare soddisfazione: tutte le donne in gravidanza desiderano sia mantenere se stesse in buone condizioni di salute sia ricevere informazioni sulle condizioni di "normalità" del proprio bambino. Quando le donne/coppie vengono precocemente, correttamente ed efficacemente informate sui vantaggi e gli svantaggi, sul significato ed i limiti di un test innocuo, affidabile e poco costoso come lo screening per la SD, sono perfettamente in grado di decidere se accettarlo o declinarne consapevolmente l'offerta;

b) le diverse associazioni di marcatori, anche se eseguiti con la stessa tecnologia e gestite con lo stesso rigoroso controllo della qualità, danno risultati non sovrapponibili. Tutti i test di screening "vanno bene", ma è evidente che affinando le informazioni disponibili nel primo trimestre con l'aggiunta dei marcatori del secondo trimestre, vengono migliorate sia la specificità che la sensibilità. La possibilità di avere informazioni precoci, anche se incomplete, dall'esame ecografico per la valutazione della NT, può dare alla gestante un elemento di conforto che alimenta la fiduciosa attesa del referto completo. La strutturazione del Test integrato "alla maniera piemontese" non ha incrementato il ricorso alla diagnosi invasiva, ma ha creato una sorta di percorso verso la decisione di eseguire o meno un test diagnostico. In questo percorso le gestanti si sentono accompagnate da numerose figure professionali che sono impegnate a fornire messaggi informativi dai contenuti

omogenei, obiettivo fondamentale che i sanitari devono perseguire per ottenere la fiducia delle utenti;

c) la raccolta continua del *follow up* delle gravidanze concluse e dei risultati degli esami diagnostici fornisce il materiale necessario per l'elaborazione dei dati che, con cadenza annuale, vengono presentati e diffusi tra gli addetti ai lavori di tutte le ASL/ASO della rete degli ambulatori dedicati attivi sul territorio regionale: i risultati sono patrimonio comune e tutti gli operatori delle varie fasi del percorso devono poterli condividere per collaborare nel metterli a disposizione delle gestanti. Questo *audit* è il momento della verifica dell'efficacia, dell'efficienza e dell'appropriatezza, ed è anche un'occasione di riflessione e di confronto che consente di migliorare progressivamente il livello della qualità delle prestazioni nella consapevolezza che il massimo dell'accuratezza in ogni fase del percorso contribuirà non solo a diagnosticare la patologia nella quasi totalità dei casi, ma anche a ridurre al minimo il numero di feti sani perduti a causa di test invasivi evitabili.

#### BIBLIOGRAFIA

1. **Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW et al.** Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988;297:883-7
2. **Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S.** Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2003, Issue 3
3. Aggiornamento del Decreto Ministeriale 6 marzo 1995 concernente l'aggiornamento del DM 14 aprile 1984 (GU 20 ottobre 1998)
4. **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
5. [www.fetalmedicine.com](http://www.fetalmedicine.com)
6. **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
7. [www.sieog.it](http://www.sieog.it)
8. Regione Piemonte, DGR n. 73, 26/07/2004: Supplemento Ordinario n. 1 al B.U. n. 36, 2004
9. *Nascere in Piemonte, 1° rapporto sui dati del certificato di assistenza al parto*, Assessorato tutela alla salute e sanità, 2007
10. **Dall'Amico D, Perona M, Bollati C et al.** Schema di proposta di un programma per la diagnosi della sindrome di Down mediante screening biochimico ed analisi del cariotipo fetale nel 2° trimestre di gravidanza per la regione Piemonte. *Ligandassay* 2000;5:14-24
11. **Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A et al.** Antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 1997;4(4):181-246
12. **Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W et al.** Maternal age and gestational specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:167-70
13. *ACOG Practice Bulletin. Screening for fetal chromosomal abnormalities.* 2007;77:217-27

*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](mailto:daniela.dallamico@oirmsantanna.piemonte.it)