

Prenatal diagnosis

A thick, horizontal yellow brushstroke with a textured, painterly appearance, extending across the width of the slide below the title.

Congenital Abnormalities



- Definition: Abnormalities of the neonate, evident at birth. (With the use of antenatal diagnostic tests, these same defects may be detected before birth, and are still classified as congenital defects)

Congenital Abnormalities



Incidence

- Major: 2-3%
- Minor: 14%
 - cause of 20% of deaths in first week of life.

Congenital Abnormalities

Suspected cause	% of total
-----------------	------------

Unknown	65-75
---------	-------

Genetic	10-25
---------	-------

Environmental	10
---------------	----

Maternal conditions	4
---------------------	---

Infectious agents	3
-------------------	---

Mechanical problems	1-2
---------------------	-----

Chemicals, radiation etc	<1
--------------------------	----

Congenital Abnormalities



- Chromosomal defects (numerical defects)
 - Down syndrome (trisomy 21)
 - 1 in 600-700 livebirths
 - Edward's syndrome (trisomy 18)
 - Patou's syndrome (trisomy 13)
 - Sex-chromosome aneuploidies
 - Turner's syndrome (45,X)
 - Klinefelter's syndrome (47,XXY)
 - 47,XXX; 47,XYY

Congenital Abnormalities



- Gene defects - inheritance
 - Autosomal recessive
 - Autosomal dominant
 - chance mutation
- Causes
 - base substitution, deletion or addition

Congenital Abnormalities



- Gene defects - examples
 - Cystic fibrosis
 - thalassemia
 - Fragile-X
 - Prader- Willi
 - etc etc

Congenital Abnormalities



- Maternal conditions
 - Diabetes
 - PKU
 - alcoholism
 - smoking
- Infectious causes (see later lecture)

Congenital Abnormalities



■ Mechanical problems

- amniotic bands / early amnion rupture sequence
- umbilical cord constraint
- lack of liquor

■ Chemicals, drugs, radiation etc (see later lecture notes)

Antenatal Diagnosis



- Methods available
 - ultrasound
 - amniocentesis
 - chorionic villous sampling
 - cordocentesis

Antenatal Diagnosis



■ **SCREENING $\neq$ DIAGNOSIS**

Antenatal Diagnosis



■ Diagnostic tests

- ultrasound
- amniocentesis
- CVS
- cordocentesis

■ Screening tests

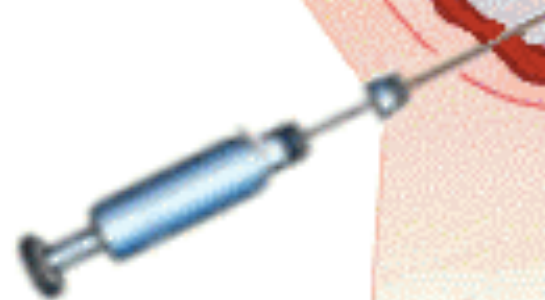
- ultrasound
 - nuchal translucency (NT)
- maternal serum
 - 2nd trimester
 - 1st trimester
- ? fetal cells in maternal circulation (in the future)

Amniocentesi e Villocentesi

Liquido amniotico

Villi coriali

Prelievo
attraverso
la parete uterina
(amniocentesi e Villocentesi)



Antenatal Diagnosis

■ Diagnostic tests - **amniocentesis**

- performed between 15-20 weeks'
- 22G needle passed into amniotic sac
- ± 20 mls of fluid obtained
 - karyotype
 - Alpha-fetoprotein (AFP) level
 - (rarely other biochemical tests)
 - PCR and FISH for rapid cytogenetic result
- Risk of miscarriage: $\pm 1\%$
- Result: 2 weeks

Amniocentesi (Classica)

Si tratta di un Prelievo di liquido amniotico mediante una puntura con ago sottile attraverso la parete addominale. sotto controllo ecografico. Non è necessaria l' anestesia. Non occorre essere digiuna.

Verrà richiesta la firma per il consenso informato.

La gestante dovrà portare copia del gruppo sanguigno documentato da un laboratorio.

Verrà eseguita la Profilassi anti D alle gestanti Rh negative.

Di solito si esegue Ambulatoriamente intorno alla 16 - 17 settimane di gravidanza.

Si Introduce un Ago sottile, attraverso la parete addominale sotto controllo Ecografico, provoca una sensazione paragonabile a quella di una iniezione intramuscolare

Antenatal Diagnosis



■ Diagnostic tests - **CVS**

- Performed between 10+ and 12 weeks',
(although placental biopsy can be used until early 3rd trimester)
- Trans abdominal or trans cervical approach
- Placental tissue obtained
 - karyotype
 - genetic testing (known gene defects)
- Risk of miscarriage: $\pm 1\%$



AMNIOCENTESI

Indicazioni:

Rischio aumentato rilevato con test di screening

Storia clinica

Amniocentesi



- A cosa Serve:
- Serve soprattutto per identificare alterazioni Numeriche e di struttura dei Cromosomi ([Cromosomopatie](#)) . Nei casi in cui venga diagnosticato una cromosomopatia la coppia può richiedere l'aborto terapeutico, anche dopo il terzo mese, qualora il proseguimento della gravidanza, costituisca un grave pericolo per la salute fisica e psichica della madre (Legge n. 194/78).

Antenatal Diagnosis



■ Diagnostic tests - **cordocentesis**

- (aka PUBS or funicentesis)
- 22G needle into the umbilical vein
- 2-3 mls of fetal blood extracted
- can be examined for
 - karyotype
 - Hb concentration (useful in fetal hydrops and Rh disease)
 - blood gases and pH (used mainly experimentally)
 - virtually any test done on human blood (but normal values not always available)
- miscarriage rate :1-2%

Antenatal Diagnosis



■ Diagnostic &/or Screening tests **Ultrasound (US)**

- No known risk to fetus
- can be performed at any stage of pregnancy (although embryo not visible until ± 5 weeks' gestation)
- requires expensive equipment and good training of personnel
- Cannot diagnose all congenital abnormalities (due to nature of abnormality, timing of US, size of mother, position of fetus, skill of operator)

Antenatal Diagnosis - ultrasound



- Diagnostic test: 18-20 week US
 - offered to all pregnant women
 - in most studies detects 50-60% of major abnormalities
 - Detects structural abnormalities, rarely functional abnormalities
 - is additionally useful in determining gestational age (± 1 week), number of fetuses and placental site

Antenatal Diagnosis - ultrasound



- Screening test: Nuchal translucency (NT)
 - performed between 10 and 14 weeks'
 - will detect 54-72% of Down Syndrome (DS) fetuses
 - enlarged NT measurement more common in fetuses with heart defects

LO SCREENING ECOGRAFICO (TRASLUCENZA NUCALE)

La traslucenza nucale è una piccola raccolta di liquido che si trova sotto la pelle della zona cervico-dorsale in tutti gli embrioni fra le 10 e le 14 settimane di gravidanza. Le ragioni della presenza di tale falda liquida non sono ancora ben chiare, ma si è visto che in presenza di un aumento dello spessore della traslucenza cresce anche il rischio che il feto sia affetto da alcune patologie congenite quali le cromosomopatie, le cardiopatie ed altre sindromi genetiche o malformative.



LO SCREENING BIOCHIMICO

- Possibilità di stimare il rischio che il feto sia affetto da una anomalia dei cromosomi, o da difetti di chiusura della colonna vertebrale come la spina bifida.
- Il calcolo si effettua dosando, nel sangue materno, delle sostanze prodotte dal feto e dalla placenta:
 - HCG, alfafetoproteina, estriolo non coniugato, **TRI TEST** individua circa il 60% dei Down, 5% di falsi positivi.
 - frazione libera beta della HCG (Free-Beta HCG), estriolo non coniugato **DUO TEST**, individua il 70% dei Down sempre con un 5% di falsi positivi.

Anni “90

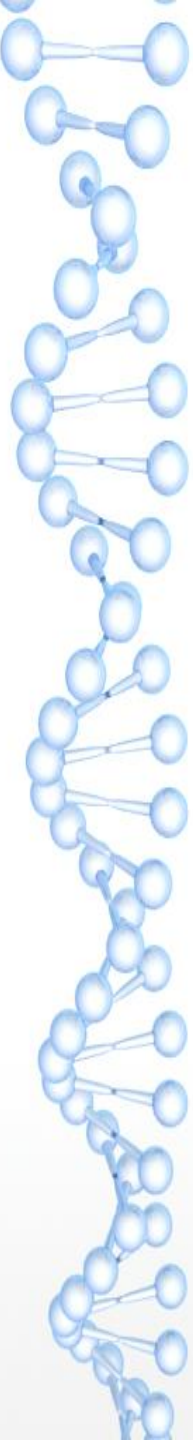
9-14a settimana di gravidanza,

Dosaggio della Free-Beta HCG e della Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A) presenti nel sangue materno come indicatori precoci del rischio nel primo trimestre

Screening Combinato del primo trimestre (**ULTRASCREEN®**),



- Programma computerizzato che consente l'integrazione dei dati relativi alla biochimica (dosaggio Free-Beta HCG e PAPP-A sul sangue materno), alla misurazione della traslucenza nucale ed all'età materna, ottenendo quello che da molti anni ed ancora oggi è il miglior metodo di screening per la ricerca dei casi a rischio per le anomalie dei cromosomi.
- 11-12 settimana
- L'ultrascreen® consente di individuare il 90% dei casi di anomalie dei cromosomi (Trisomia 21, Trisomia 18, Tris. 13, S. di Turner, et al...) con un 5% di falsi positivi



INCIDENZA SINDROME DI DOWN

ETA' MATERNA	INCIDENZA
inferiore a 30 anni	1 su 1500
30 - 34 anni	1 su 580
35 - 39 anni	1 su 280
40 - 44 anni	1 su 70
oltre 45 anni	1 su 38

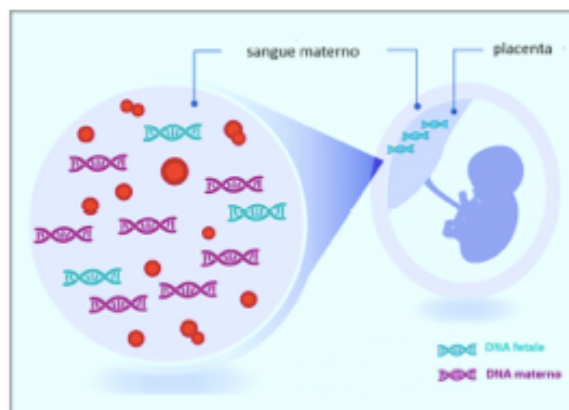
**"nessuna età materna è
risparmiata dal rischio di
avere prole con anomalie
cromosomiche"**



Ministero della Salute
Consiglio Superiore di Sanità
Sezione I

Linee-Guida

**Screening prenatale non invasivo basato sul DNA
(*Non Invasive Prenatal Testing – NIPT*)**



Nel plasma materno in gravidanza sono presenti cellule fetali nucleate e DNA libero (cfDNA)
non-cellulare proveniente dalle cellule della placenta

IN COSA CONSISTE?

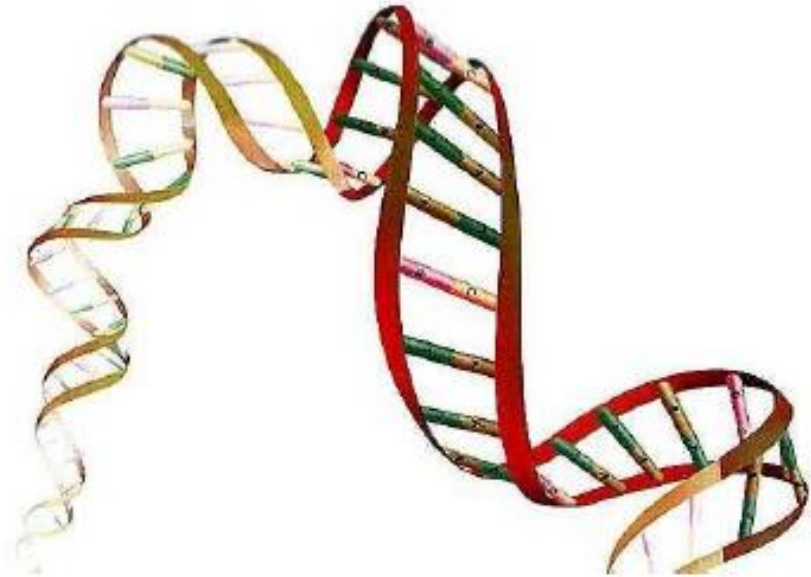
un test prenatale non invasivo
basato su analisi di DNA
FETALE LIBERO ISOLATO DAL
PLASMA MATERNO (cffDNA).



Cell-free DNA (cfDNA)

- Deriva da degradazione di cellule della placenta dovuta a processi apoptotici delle cellule del trofoblasto.

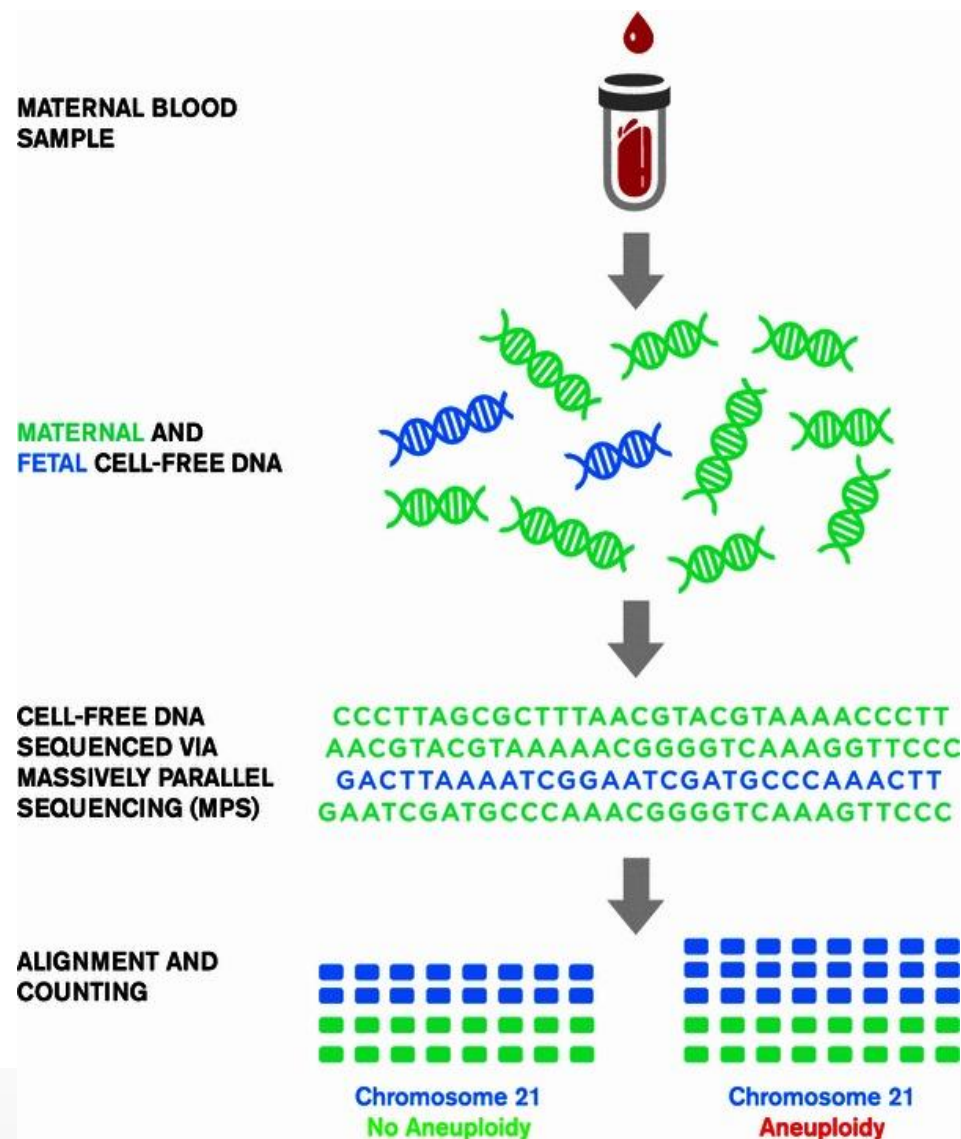
Rilasciato nel flusso sanguigno come piccoli frammenti di DNA(150-200bp)

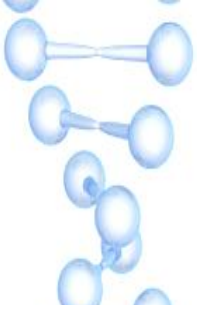


Il cf DNA è presente sin dalla V settimana di gravidanza. L'analisi del cfDNA fetale è affidabile dopo 10 settimane di gestazione cfDNA fetale non è più presente già pochi giorni dopo il parto

cfDNA test: come funziona?

Un campione di sangue a 10 settimane o più di gravidanza viene purificato dal componente del plasma di sangue intero materno. Il DNA libero viene analizzato da Next Generation Sequencing (NGS) tecnica e basata sul sequenziamento massivo di ogni cromosoma. L'analisi dei dati viene effettuata utilizzando un algoritmo bioinformatica.



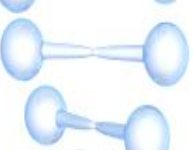


•LA DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA E' UN TEST SEMPLICE E SICURO.

•SENZA ALCUN RISCHIO DI ABORTO A DIFFERENZA DEI TEST DI DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA COME AMNIOCENTESI E LA AVILLOCENTESI.

•E' UN TEST VELOCE ESITI IN 3/7 GIORNI LAVORATIVI.





ISPD Position Statement

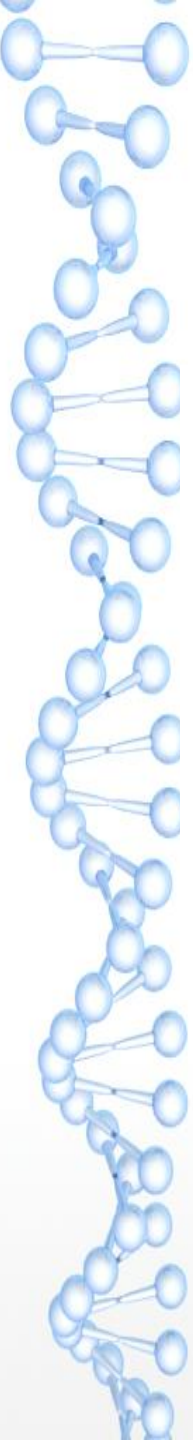
April, 2013

International Association
for Prenatal Diagnosis



- dimostrato che il test prenatale non invasivo basato sul sequenziamento massivo del DNA circolante fetale libero (cfDNA) nel plasma materno sia altamente efficace per il rilevamento aneuploidie"
- metodo più efficace per lo screening per la trisomia 21 e trisomia 18, 13"
- Sia test migliore per le gravidanze ad alto rischio





Quando il test è positivo necessita di conferma
con approccio invasivo

il test Non INVASIVO non sostituisce la DPN
che deve rimanere una opzione percorribile in caso
di anomalie ecografiche fetali



Anomalie cromosomiche rilevate

ANEUPLOIDY

- Trisomy 21 (Down Syndrome)
- Trisomy 18 (Edwards Syndrome)
- Trisomy 13 (Patau Syndrome)
- Monosomy X (Turner Syndrome)
- XXX (Trisomy X)
- XXY (Klinefelter Syndrome)
- XYY (Jacobs Syndrome)



Microdeletion Syndromes (optional)

- 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge)
- 1p36 deletion syndrome
- Angelman syndrome (15q11.2 deletion syndrome);
- Prader-Willi syndrome (15q11.2 deletion syndrome);
- Cri du Chat syndrome (5p- syndrome);
- Wolf-Hirschhorn syndrome (4p- syndrome)

Other ANEUPLOIDy (optional)

- Trisomy 9
- Trisomy 16

ATTENDIBILITA' FINO 99%