



SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA
Azienda Ospedaliero - Universitaria di Ferrara



«Il counselling prenatale per l'entrata nel percorso nascita»

Dott.ssa Danila Morano
Prof P. Greco

Le indagini prenatali invasive



Queste linee guida riassumono le attuali conoscenze riguardanti le tempistiche, le modalità e le indicazioni all'espletamento delle procedure invasive per diagnosi prenatale .



Amniocentesis



Liquid obtained by transabdominal puncture



CVS



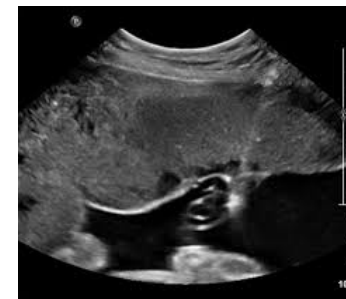
Chorionic villus obtained by through transcervical or transabdominal access

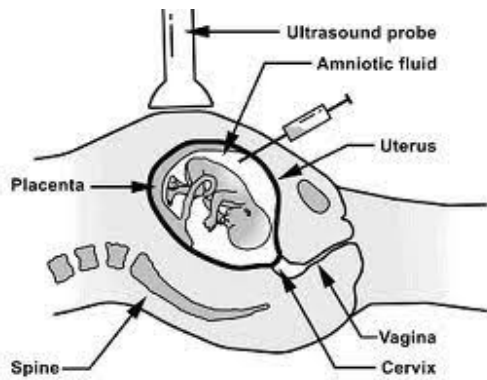


Fetal Blood Sampling (FBS)

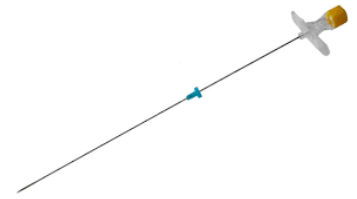


Percutaneous umbilical blood sampling (umbilical vein sampling)





AMNIOCENTESI : LA TECNICA



- Inserzione di un ago da 20/22 G per via transaddominale sotto costante sorveglianza ecografica , introdotto in modo deciso, per evitare di sollevare la membrana amniotica.
- Evitare che l'ago faccia il suo ingresso in cavità amniotica al livello del punto di inserzione placentare del cordone ombelicale e, qualora tecnicamente possibile, si consiglia di evitare del tutto il passaggio transplacentare dell'ago, soprattutto in pazienti Rh negative .
- Quando l'ago ha raggiunto la cavità amniotica, si sfila il mandrino e si procede all'aspirazione di 15-30 mL di liquido (a seconda delle indicazioni).
- In alcuni casi è possibile trovare del materiale cellulare materno all'interno dei campioni di liquido amniotico (tassi di contaminazione con cellule materne superiori al 20% del totale in un campione su due, e fino al 50% negli aspirati ematici)
- i fattori associati ad alto tasso di contaminazione sono: il passaggio transplacentare dell'ago (6.0% vs1.0%), il doppio passaggio dell'ago (27.5% vs 2.0%) e l'inesperienza dell'operatore .
- Per minimizzare la contaminazione del campione con cellule materne si raccomanda di scartare i primi 2 mL di liquido amniotico .

AMNIOCENTESI : EPOCA GESTAZIONALE

AC

<14 weeks: NEVER
14w: Exceptional
15w: if coopted membranes
> or = 16w: Ideally

High risk of PROM or
extremity malposition

Nicolaides. Lancet, 1994

Randomised trial to assess safety
and fetal outcome of early and
midtrimester amnio-centesis.
The Canadian Early and Mid-
trimester Amniocentesis Trial
(CEMAT) Group. Lancet 1998;
351: 242 – 247.

7.6% - 5.9% di anomalie fetali quali il piede torto congenito (1.3% - 0.1%) e di perdita di liquido amniotico post-procedurale (3.5% - 1.7%). Ciò potrebbe essere dovuto alla presenza del celoma extra-embryonale nel primo trimestre o alla ridotta quantità di liquido amniotico.

AMNIOCENTESI : COMPLICANZE -LE PERDITE FETALI-

Il rischio aggiuntivo di perdita fetale in donne che si sottopongono ad amniocentesi rispetto ai controlli varia tra lo 0.1 e l'1% (studi di natura osservazionale).

THE LANCET

RANDOMISED CONTROLLED TRIAL OF GENETIC
AMNIOCENTESIS IN 4606 LOW-RISK WOMEN

Ann Tabor · Mette Madsen · Erik B. Obel · John Philip · Jens Bang · Bent Nørregaard-Pedersen

Esiste un solo trial clinico randomizzato danese, che risale al 1986, condotto su 4606 gestanti con gravidanza a basso rischio, randomizzate ad effettuare amniocentesi oppure alla semplice condotta d'attesa. Il tasso di perdita fetale riscontrato nel gruppo sottoposto ad amniocentesi è risultato essere dell'1.7% e dello 0.7% nel gruppo di controllo, con un rischio netto correlato alla procedura dell'1.0% .

ULTRASOUND
in Obstetrics & Gynecology

Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis

R. Akolekar ✉, J. Beta, G. Picciarelli, C. Ogilvie, F. D'Antonio

Recente (2016) meta-analisi ha calcolato che il rischio ponderato e combinato di aborto post-amniocentesi è pari allo 0.11% (95 % CI, da -0.04 a 0.26%) .

ULTRASOUND
in Obstetrics & Gynecology

Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147 987 singleton pregnancies

C. B. Wulff ✉, T. A. Gerds, L. Rode, C. K. Ekelund, O. B. Petersen, A. Tabor, the Danish Fetal Medicine Study Group

Revisione danese del 2016 che ha preso in analisi 147987 procedure invasive ha riportato un tasso di aborto pari allo 0.56% entro 28 giorni dalla procedura ed un rischio di morte fetale in utero dello 0.09% entro 42 giorni dalla procedura .

AMNIOCENTESI : COMPLICANZE -LE PERDITE FETALI-

L'esperienza dell'operatore e la sua conoscenza della procedura riducono fortemente il rischio di perdita fetale post-amniocentesi. Il rischio di perdita fetale è aumentato nei casi in cui vengono effettuati più tentativi di passaggio dell'ago, nei casi di liquido amniotico ematico ed infine in presenza di anomalie fetali, mentre l'effetto di altri fattori di rischio è meno consistente.

AMNIOCENTESI :LE ALTRE COMPLICANZE

Obstet Gynecol. 2007 Dec;110(6):1459-67.

ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy.

American College of Obstetricians and Gynecologists.

Rottura delle membrane post-amniocentesi

Il rischio di rottura delle membrane post-amniocentesi è dell'1-2%; tuttavia in questi casi la prognosi può essere più favorevole rispetto ai casi di rottura spontanea pre-termine e prematura delle membrane (pPROM) .

Lesioni fetali da ago

La possibilità che avvengano lesioni da ago al feto è estremamente rara. Episodi sporadici di ferita al feto sono stati segnalati in alcuni case report meno recenti, soprattutto in casi di procedure non eco-guidate.

Il fallimento della coltura di amniociti

Il rischio di fallimento colturale è aumentato in presenza di campioni di liquido amniotico ematico e nelle amniocentesi tardive ed avviene nello 0.1% dei casi. Nello 0.25% delle procedure vi è riscontro di mosaicismo delle cellule amniotiche .

AMNIOCENTESI :FATTORI DI RISCHIO PER COMPLICANZE

- Sono stati documentati tassi di perdita fetale più bassi per operatori che effettuano oltre 100 procedure annuali . L'opinione di esperti suggerisce di rivalutare le competenze dell'operatore qualora il tasso di perdita fetale ecceda il valore di 4 su 100 amniocentesi consecutive
- All'aumentare del numero di passaggi dell'ago (tre o più punture), aumenta il rischio di perdita fetale. Se si rendono necessari più di due passaggi dell'ago è possibile posticipare la procedura di 24 ore .
- La presenza di anomalie fetali si associa di per sé ad un aumentato rischio di perdita fetale; tale rischio incrementa ulteriormente in seguito ad amniocentesi .
- In presenza di un campione di liquido amniotico ematico oppure dal colore alterato (es. marroncino) è ragionevole sospettare un sanguinamento intra-amniotico che si associa, in genere, ad un maggiore rischio di perdita fetale post-procedura.
- Numerosi altri fattori di rischio sono stati chiamati in causa, sebbene il loro ruolo non sia stato del tutto provato: fibromi uterini, malformazioni mülleriane, separazione corionamniotica, ematoma sottocoriale, sanguinamento materno in atto o pregresso, BMI materno >40 kg/m², multiparità (>3 parti), infezione vaginale sintomatica, tre o più aborti.

AMNIOCENTESI :LE ALTRE COMPLICANZE

Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling

Green-top Guideline No. 8

June 2010



Royal College of
Obstetricians &
Gynaecologists

What are the risks of transmission of infection?

- Severe sepsis, including maternal death, has been reported following invasive prenatal procedures. The level of risk cannot be quantified as case report literature does not provide denominator information but the risk of severe sepsis is likely to be less than 1/1000 procedures. Infection can be caused by inadvertent puncture of the bowel, skin contaminants or organisms present on the ultrasound probe or gel.
- The ultrasound probe should be enclosed in a sterile bag during any invasive prenatal procedure unless suitably audited processes for probe decontamination and gel microbiological surveillance are in place.
- Separate sterile gel should be used.

AMNIOCENTESI :LE ALTRE COMPLICANZE

Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling

Green-top Guideline No. 8
June 2010



Royal College of
Obstetricians &
Gynaecologists

What are the risks of transmission of infection?

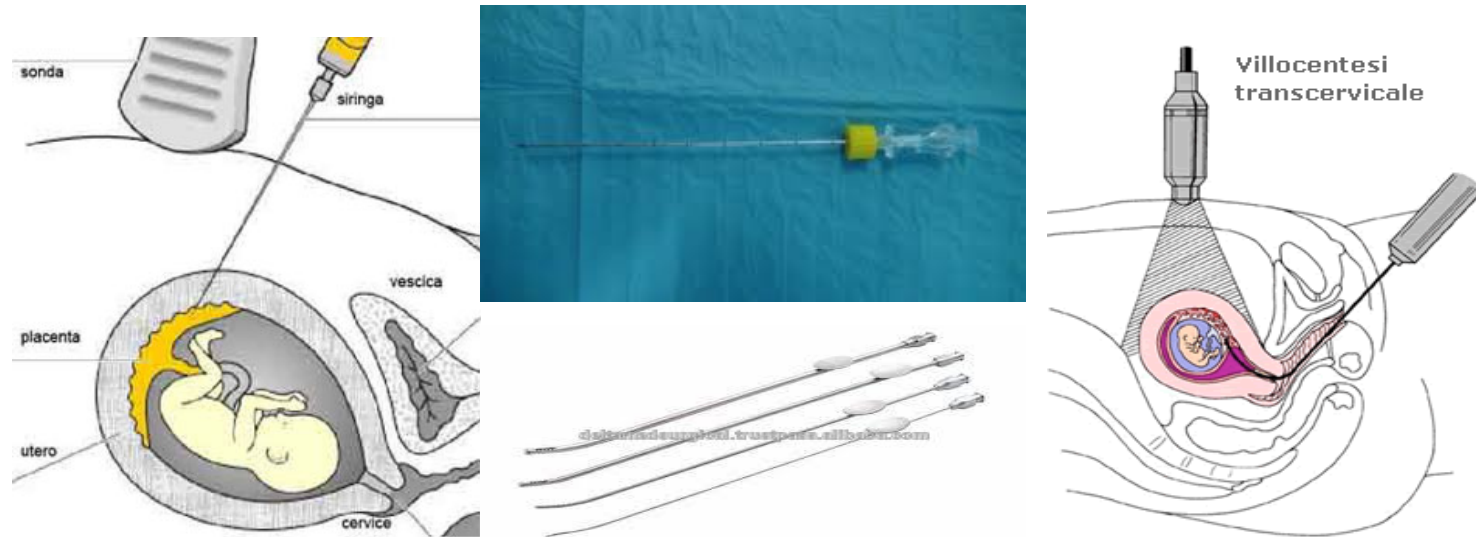
- Invasive prenatal procedures should not be carried out without reviewing available bloodborne virus screening tests (if not available inform and document the potential risk of vertical transmission of infection to the fetus) .
- Review viral load and treatment regimens prior to invasive prenatal testing in women with HIV and consider delaying the procedure until there is no detectable viral load if the woman is already on treatment. Consider antiretroviral therapy prior to prenatal invasive procedures in women not yet on treatment for HIV.
- For hepatitis B, individual studies are small but show that the evidence of transmission of hepatitis B was very low . It has been suggested that 'e' antigen status may be important and recent evidence shows that maternal viral load is more important for determining the risk of transmission (mothers who are HBeAg negative, the risk is equivalent to those not undergoing amniocentesis 5-15%).
- There are fewer data on transmission of hepatitis C but, to date, there is currently no evidence that transmission is increased following amniocentesis (The natural rate of hepatitis C (HCV) vertical transmission ranges from $\leq 1\%$ in women who are HCV RNA negative, to 5% in those who are HCV RNA positive).

AMNIOCENTESI :INFEZIONE MATERNA

- Il rischio di trasmissione verticale di HBV post-amniocentesi non è superiore in pazienti HBe-Ag negative (6.35 % e 2.53%). Tuttavia per le pazienti con alta carica virale ($\geq 7 \log_{10}$ copie/mL) sottoposte ad amniocentesi i tassi di trasmissione verticale sono risultati di molto più alti (50%) .
- Sebbene l'evidenza sia scarsa, soprattutto riguardo all'aumentato rischio trasmissivo in pazienti HBeAg positive, attualmente la "Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada" raccomanda di compiere ogni sforzo nel corso dell'amniocentesi per non inserire l'ago attraverso la placenta o vicino alla placenta, in pazienti HBV positive
- Il rischio di trasmissione verticale di HIV non è superiore in pazienti in terapia HAART ("highly active antiretroviral therapy") con tasso di trasmissione 0%, rispetto al regime di trattamento con sola zidovudina (tasso di trasmissione 6.1%) o al non trattamento (tasso di trasmissione 25%) .
- Tuttavia in pazienti HBV, HCV ed HIV positive è preferibile effettuare diagnosi prenatale non invasiva; qualora si effettui l'amniocentesi è importante compiere ogni sforzo per evitare la placenta.

In donne con infezione cronica è importante evitare il passaggio transplacentare dell'ago nel corso dell'amniocentesi. Il tasso di trasmissione al feto sembra dipendere dalla carica virale materna .

VILLOCENTESI : LA TECNICA



Approccio transaddominale

È possibile utilizzare un ago singolo da 17-20 G oppure un set di due aghi da 17/19 G esternamente e 19/20 G internamente. Quando l'ago arriva al bersaglio all'interno della placenta, è necessario eseguire da 1 a 10 movimenti di inserimento e retrazione dell'ago, mantenendo al contempo il sistema di aspirazione mentre il materiale viene aspirato manualmente da un assistente oppure tramite un sistema di aspirazione automatico.

Approccio transcervicale

Vengono inserite per via transvaginale delle pinze da biopsia che passano attraverso il canale cervicale, fino a raggiungere l'area trofoblastica. È possibile anche utilizzare un catetere con mandrino in plastica o metallo ed una siringa per aspirare. Tuttavia, la metodica con pinze da biopsia viene solitamente preferita sia dagli operatori che dalle pazienti. Ogni campione deve contenere almeno 5 mg di villi per essere diagnostico. Il fallimento del prelievo avviene nel 2.5-4.8% delle procedure.

VILLOCENTESI : EPOCA GESTAZIONALE

CVS

<10w: NEVER
10-14w: TC
> or = 11w: TA



Associated to reduction of
extremities or oromandible
hypoplasia

Dolk. Lancet, 1992

Teratology

Volume 51, Issue 1

Original Article

January 1995

Increased risk for transverse digital deficiency after chorionic villus sampling: Results of the United States multistate case-control study, 1988–1992

Studi risalenti ai primi anni novanta hanno messo in luce un rischio aumentato, rispetto alla popolazione generale, di difetti degli arti ed ipoplasia mandibolare in feti sottoposti a villocentesi prima delle 10 settimane di gestazione. Arti e mandibola del feto sembrano essere particolarmente suscettibili ad alterazioni di tipo vascolare prima delle 10 settimane.

VILLOCENTESI : COMPLICANZE -LE PERDITE FETALI-

ULTRASOUND
in Obstetrics & Gynecology

2016

Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis

R. Akolekar ✉, J. Beta, G. Picciarelli, C. Ogilvie, F. D'Antonio

Non esistono studi clinici randomizzati che mettano a confronto pazienti sottoposte a villocentesi con pazienti non sottoposte a tale procedura, per cui l'evidenza circa il rischio di aborto legato alla procedura deriva da studi di coorte retrospettivi. **Il rischio di perdita fetale legato alla villocentesi è stimato attorno allo 0.2-2%**. Tale rischio risulta inferiore nei centri di riferimento per diagnosi prenatale e diminuisce anche in presenza di operatori esperti, variando tra 1/150 e 1/500.

ULTRASOUND
in Obstetrics & Gynecology

2016

Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147 987 singleton pregnancies

C. B. Wulff ✉, T. A. Gerds, L. Rode, C. K. Ekelund, O. B. Petersen, A. Tabor, the Danish Fetal Medicine Study Group

Secondo una recente meta-analisi il rischio di perdita fetale post-villocentesi non è significativamente aumentato rispetto a quello della popolazione non esposta (il rischio complessivo <24 settimane è dello 0.22% (IC 95%, da -0.71 a 1.16%); questa stima ha preso in considerazione i risultati dello studio danese del 2016 (tasso globale di perdita fetale dell'1.9% post-villocentesi e dell'1.4% post-amniocentesi).

VILLOCENTESI : LE PERDITE FETALI TRANSADDOMINALE VS TRANSCERVICALE



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

A Randomized Comparison of Transcervical and Transabdominal Chorionic-Villous Sampling

Laird G. Jackson, M.D., Julia M. Zachary, Sarah E. Fowler, Ph.D., Robert J. Desnick, M.D., Ph.D., Mitchell S. Golbus, M.D., David H. Ledbetter, Ph.D., Maurice J. Mahoney, M.D., Eugene Pergament, M.D., Ph.D., Joe Leigh Simpson, M.D., Susan Black, M.D., and Ronald J. Wapner, M.D. the U.S. National Institute of Child Health and Human Development Chorionic-Villous Sampling and Amniocentesis Study Group*

Tassi di aborto molto simili sono stati riscontrati a seguito di uno studio clinico randomizzato di confronto tra villocentesi transcervicale e transaddominale (2.5% e 2.3%) .



Odibo AO, Dicke JM, Gray DL, Oberle B, Stamilio DM, Macones GA, Crane JP. Evaluating the rate and risk factors for fetal loss after chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2008;

Uno studio randomizzato di confronto tra villocentesi transaddominale e amniocentesi del secondo trimestre non ha trovato alcuna differenza statisticamente significativa nel tasso totale di perdita fetale tra le due metodiche (6.3% e 7%; rischio relativo (RR) 0.90 (IC 95%, 0.66-1.23).



Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 3: CD003252.

Tuttavia una meta-analisi che ha preso in considerazione 4 trial randomizzati ha dimostrato un maggior tasso globale di perdita fetale (RR 1.40 (IC 95%, 1.09-1.81)) e di aborto spontaneo (RR, 1.50 (95% CI, 1.07-2.11)) per la villocentesi transcervicale rispetto all'amniocentesi del secondo trimestre.

VILLOCENTESI : ALTRE COMPLICANZE

Sanguinamento dai genitali esterni

Nel 10% dei casi le pazienti riscontrano sanguinamento dai genitali esterni in seguito a villocentesi , particolarmente se la metodica di prelievo è transcervicale (30% di rischio di sanguinamento vaginale)

Perdita di liquido amniotico

Il rischio di perdita di liquido amniotico in seguito a villocentesi è molto basso (<0.5% dei casi).

Corionamniosite

Molto basso è anche il rischio di corionamniosite ed infezione endouterina post-villocentesi (1-2/3000) .

Complicanze materne gravi

Non sono mai stati segnalati casi di shock settico o decesso materno in pazienti sottoposte a villocentesi.

Il fallimento della coltura

Avviene in meno dello 0.5% dei casi in cui il campione sia inferiore ai 5 mg di villi coriali . Viene riscontrato mosaicismo delle cellule placentari nell' 1% dei casi . In questi casi si consiglia una consulenza genetica, e può esserci l'indicazione ad eseguire l'amniocentesi per differenziare un vero mosaicismo fetale da un mosaicismo confinato alla placenta.

VILLOCENTESI : ALTRE COMPLICANZE

Associazione con pre-eclampsia e ritardo di crescita fetale

Alcuni studi hanno messo in luce una possibile associazione tra villocentesi e sviluppo di pre-eclampsia col progredire della gravidanza, verosimilmente legata al danno placentare subito nel corso del prelievo dei villi. Tuttavia molti studi negli anni hanno a loro volta confutato questa ipotesi ed una meta-analisi non ha confermato questa associazione .

Uno studio caso-controllo del 2015 ha invece escluso l'esistenza di una associazione tra villocentesi e ritardo di crescita fetale; dall'analisi di regressione è emerso che la maggiore incidenza di pre-eclampsia nel gruppo sottoposto a villocentesi fosse in realtà dovuta a fattori di confondimento sia di origine materna sia di origine fetale (ad esempio bassi livelli di pregnancy-associated plasma protein-A PAPP-A oppure elevate resistenze vascolari a livello delle arterie uterine).

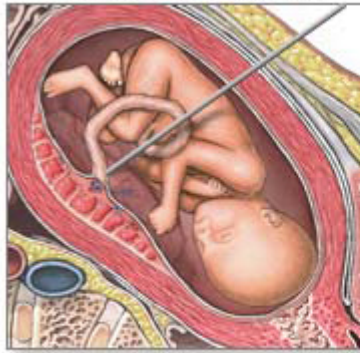
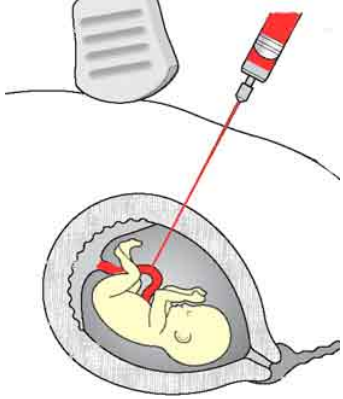
Basaran A, Basaran M, Topatan B. Chorionic villus sampling and the risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. Arch Gynecol Obstet 2011; 283: 1175 – 1181.

Sotiriadis A, Eleftheriades M, Chatzinikolaou F, Chatzistamatiou K, Assimakopou- los E, Chasiakos D. Fetal growth impairment after first-trimester chorionic villus sampling: a case– control study. J Matern Fetal Neonatal Med 2015 29: 1– 5.

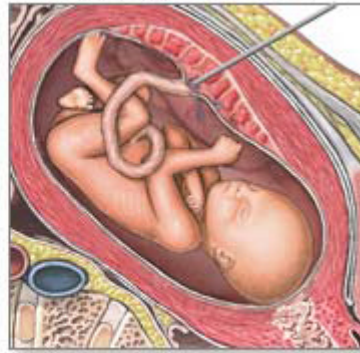
VILLOCENTESI : FATTORI DI RISCHIO PER COMPLICANZE

- Si riscontrano più bassi tassi di perdita fetale se si effettuano più di 100 procedure per anno . L'opinione di esperti suggerisce di rivalutare le competenze dell'operatore qualora il tasso di perdita fetale ecceda il valore di 8 su 100 villocentesi consecutive oppure il tasso di fallimento del campionamento ecceda il valore di 5 su 100 villocentesi consecutive .
- Un ampio studio retrospettivo ha individuato alcuni fattori di rischio associati ad aborto post-villocentesi quali appartenenza all'etnia Afro-Americana, doppio passaggio dell'ago o doppia aspirazione, severa perdita ematica nel corso della villocentesi, età materna < 25 anni, epoca gestazionale < 10 settimane.
- La presenza di anomalie strutturali del feto e di un aumentato spessore della traslucenza nucale (NT) sono associate ad un aumentato rischio di base di aborto. In questi casi la villocentesi comporta un ulteriore incremento del rischio.
- Bassi livelli sierici di PAPP-A sembrerebbero presentare un aumentato rischio d'aborto post-villocentesi, verosimilmente per l'associazione esistente tra bassi livelli di PAPP-A e disordini placentari .
- Esistono ulteriori fattori la cui influenza non è stata del tutto chiarita: miomi uterini, età materna avanzata, malformazioni uterine, separazione corion-amniotica, ematoma sottocoriale, sanguinamento materno in atto o pregresso, utero retroverso, bradicardia fetale persistente post-procedurale.

FUNICOLOCENTESI : LA TECNICA



Placenta posteriore



Placenta anteriore

Il prelievo di sangue fetale dovrebbe essere eseguito a partire dalle 18 settimane + 0 giorni, utilizzando un ago da 20-22 G per via transaddominale, sotto guida ecografica.

- Si inserisce per via transaddominale e sotto costante guida ecografica un ago da 20-22 G che viene introdotto all'interno della vena ombelicale. Solitamente viene utilizzata la tecnica a mano libera, sebbene alcuni operatori prediligano l'ago montato su guida.
- Se la placenta è anteriore si suggerisce di pungere il cordone a livello della sua inserzione placentare; in caso di placenta posteriore si suggerisce di pungere un'ansa libera del cordone oppure la porzione intra-addominale della vena ombelicale.
- Si consiglia massima cautela nell'evitare le arterie ombelicali. L'aspirazione della siringa può essere effettuata da un assistente oppure dall'operatore stesso fino a quando non si raggiunge la quantità necessaria di sangue.

FUNICOLOCENTESI : LE INDICAZIONI

SMFM Clinical Practice Guidelines

Published in Am J Obstet Gynecol / September 2013

Indications	Comment
Current common indications	
Diagnose and treat fetal severe anemia	Most common indication for FBS
Diagnose and evaluate therapeutic response in NAIT	
Evaluate nonimmune fetal hydrops	Only in selected cases ^a
Historical and less common indications	
Fetal aneuploidy for karyotyping	Rarely used in current practice; largely replaced by CVS or amniocentesis with FISH, or by NIPT
Determine fetal blood type and platelet antigen status	Largely replaced by other tests, eg, NIPT, CVS, or amniocentesis, and molecular testing
Diagnose genetic disorders (eg, hemophilia, thalassemia)	Largely replaced by CVS or amniocentesis for molecular genetic diagnosis
Measurement of biochemical or other serum markers for fetal disease (eg, fetal infection, thyroid function)	Largely replaced by amniocentesis and PCR (eg, infection); rarely needed (eg, thyroid function)
Direct intravascular therapy	Reported rarely, most commonly for failed maternal systemic treatment of fetal supraventricular tachycardia
Others	

CVS, chorionic villus sampling; FBS, fetal blood sampling; FISH, fluorescence in-situ hybridization; NAIT, neonatal alloimmune thrombocytopenia; NIPT, noninvasive prenatal testing; PCR, polymerase chain reaction.

^a Especially if middle-cerebral artery peak systolic velocity is elevated; See text for details.

FUNICOLOCENTESI : COMPLICANZE

SMFM Clinical Practice Guidelines

Published in Am J Obstet Gynecol / September 2013

Risk	Comments
Bleeding from puncture site (eg, umbilical cord)	20-30%; usually self-limited
Abnormal fetal heart rate	5-10% bradycardia; majority resolve within 5 min
Pregnancy loss	1.3% if no structural anomalies or hydrops and no placental penetration
Vertical transmission of maternal infection (eg, hepatitis B, hepatitis C, or HIV)	Insufficient information to estimate risk

FUNICOLOCENTESI : PERDITE FETALI

Il rischio di perdita fetale in seguito al prelievo di sangue fetale varia tra l'1% ed il 2 % .



March 2001 Volume 184, Issue 4, Pages 719–723

Fetal loss rate associated with cordocentesis at midgestation

[Theera Tongsong](#), MD, [Chanane Wanapirak](#), MD, [Chairat Kunavikantikul](#), MD, [Supatra Sirirchotiyakul](#), MD, [Wirawit Piyamongkol](#), MD, [Pharuhas Chanprapaph](#), MD

Un ampio studio retrospettivo basato su 1821 donne sottoposte a prelievo di sangue fetale con buon esito della procedura ha dimostrato un rischio pari al 3.2% nelle gravidanze sottoposte al prelievo di sangue fetale e dell'1.8% nel gruppo di controllo, con un tasso di perdita fetale netto pari all'1.4% .

Tra i fattori associati ad un aumento del rischio di perdita fetale post-procedura annoveriamo : le anomalie fetali, lo IUGR ed un'epoca gestazionale < 24 settimane. Questa procedura dovrebbe essere effettuata esclusivamente da operatori esperti. Sebbene non esistano specifiche evidenze a riguardo è ragionevole pensare che il rischio di complicazioni o di fallimento della procedura si riducano all'aumentare dell'esperienza dell'operatore.

GRAVIDANZA MULTIPLA

I tassi di perdita fetale post-amniocentesi e villocentesi sono simili nelle gravidanze gemellari .Studi retrospettivi di confronto tra la villocentesi e l'amniocentesi in gravidanze gemellari non hanno riportato differenze significative tra i tassi di perdita fetale post-procedura (tasso di perdita fetale del 3%).

Corionicità e mappatura

Prima di effettuare una procedura di diagnosi prenatale invasiva in una gravidanza multipla è fondamentale effettuare un mappatura della gravidanza ossia valutare con attenzione la corionicità e la placentazione, etichettare i gemelli (con diagrammi) e registrare l'eventuale discordanza del sesso .

Tecnica d'esecuzione dell'amniocentesi nella gravidanza gemellare

Gemelli bicoriali

In una gravidanza gemellare bicoriale si consiglia di prelevare liquido amniotico da entrambi i sacchi amniotici. La metodica della doppia puntura non aumenta il rischio di perdita fetale rispetto alla metodica della puntura singola .

Gemelli monocoriali biamniotici

Nelle gravidanze monocoriali biamniotiche è possibile prelevare il campione solamente da un sacco nei casi in cui la corionicità sia stata stabilita con precisione tramite una ecografia effettuata prima delle 14 settimane di gestazione ed in assenza di discordanza tra gemelli per quanto riguarda la crescita fetale e l'anatomia fetale.

Tecnica d'esecuzione della villocentesi nella gravidanza gemellare

Gemelli bicoriali

Nei gemelli bicoriali sottoposti a villocentesi per via transaddominale è possibile effettuare due punture separate, una per ogni area trofoblastica

Gemelli monocoriali

In questi casi è sufficiente effettuare un singolo prelievo attorno all'equatore amniotico.

ULTERIORI RACCOMANDAZIONI

TROMBOPROFILASSI

Attualmente non vi sono dati presenti in letteratura inerenti all'interruzione del trattamento di tromboprolifassi prima di procedure di diagnosi prenatale invasiva. Le informazioni di cui siamo in possesso derivano da dati riguardanti altre procedure invasive percutanee, ad esempio le biopsie epatiche. Attualmente non sembra clinicamente indicato consigliare alla donna di interrompere un trattamento con cardioaspirina o eparina a basso peso molecolare a dosaggi profilattici prima di sottoporsi a diagnosi prenatale invasiva, sebbene si possa consigliare alla paziente di saltare solamente una singola dose di eparina .

AUDIT

Ogni operatore dovrebbe condurre un personale controllo della qualità sul proprio operato tenendo nota dei seguenti fattori: numero di procedure effettuate ogni anno, numero di campioni con materiale insoddisfacente, numero di campioni con liquido amniotico ematico, numero di procedure che hanno richiesto più di una puntura e quanti passaggi dell'ago sono stati necessari per ottenere il campione, outcome delle gravidanze sottoposte a diagnosi prenatale (includendo il numero di gravidanze esitate in aborti e l'intervallo di tempo intercorso tra procedura ed aborto; perdite di liquido amniotico; parti prematuri; PROM) ed infine ogni altra eventuale complicanza .

TRAINING

L'apprendimento delle tecniche di diagnosi prenatale invasiva dovrebbe iniziare su simulatori o modelli. In tal modo l'operatore può esercitarsi sul mantenimento della traiettoria dell'ago all'interno della finestra ultrasonografica, in modo che l'ago sia sempre sotto visione e la procedura si svolga in sicurezza. Il numero di procedure minime che un operatore deve effettuare per ottimizzare la propria competenza ed agire in sicurezza è molto variabile in letteratura (da 45 a 300). Tuttavia, molti esperti del campo concordano nell'affermare che dopo 100 procedure effettuate .

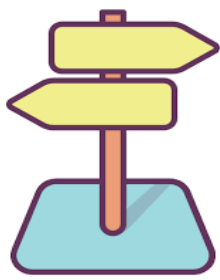


CRITERI DI ELEGGIBILITA' PER LA DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

Si consiglia di eseguire un dettagliato counselling prima dell'esecuzione di qualsiasi tipo di diagnosi prenatale invasiva, che può essere effettuato dallo specialista in ostetricia o medicina fetale che effettuerà l'esame, dal genetista oppure da un'ostetrica adeguatamente formata. Al termine di tale dettagliato processo di informazione va ottenuto dalla donna il consenso informato scritto all'esecuzione dell'esame .

Nel corso del counselling con la coppia si consiglia di approfondire i seguenti argomenti :

- rischi e benefici della diagnosi prenatale invasiva rispetto allo screening ; differenze tra amniocentesi e villocentesi in termini di accuratezza delle due metodiche;
- complicanze legate all'una o all'altra metodica, tempistiche per l'esecuzione delle due procedure e, in caso di risultato patologico, differenti modalità di interruzione della gravidanza in base alla metodica effettuata ;
- rischi di perdita fetale legati alle due metodiche tratti da stime locali e nazionali;
- l'accuratezza e le limitazioni degli esami di laboratorio che verranno eseguiti, mettendo i genitori a conoscenza dei tassi di insuccesso dell'analisi, delle tempistiche necessarie per avere il referto del laboratorio, delle modalità di comunicazione dell'esito dell'esame da parte della struttura, delle possibilità di continuare ad essere seguiti una volta ricevuto l'esito dell'esame ;
- Necessità di immunoprofilassi post-procedura per tutte le pazienti Rh negative non immunizzate.



INDICAZIONI ALLA DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

Aumentato rischio di aneuploidia fetale

Un aumentato rischio di aneuploidia fetale può derivare da un test di screening (test combinato del primo trimestre, test del cffDNA anche noto come NIPT “non invasive prenatal test”, esami biochimici del secondo trimestre quali il triplo o il quadrupolo test), da un riscontro ecografico di anomalia fetale (anomalia strutturale fetale, associata ad anomalie cromosomiche), dall’anamnesi ostetrica della paziente (precedente gravidanza con feto affetto da aneuploidia) o dall’anamnesi familiare della coppia (presenza in famiglia di una nota traslocazione o inversione bilanciata, di una aneuploidia o di un mosaicismo per aneuploidia).

Aumentato rischio di specifica malattia genetica o biochimica fetale, già nota in anamnesi

Tale aumento del rischio può derivare da una patologia ereditaria presente all’interno della famiglia, dovuta ad una mutazione genetica oppure ad un difetto metabolico già noti in anamnesi; da una madre con feto di sesso maschile, portatrice di alterazione cromosomica legata alla X ; da genitori entrambi portatori di mutazione per patologia autosomica recessiva.

Malattia infettiva materna a rischio di trasmissione fetale

In caso di infezione materna primaria o di sierconversione da toxoplasma, citomegalovirus o rosolia è indicata l’esecuzione di diagnosi prenatale invasiva per confermare o escludere la trasmissione dell’infezione al feto.

Richiesta materna

La richiesta materna da sola generalmente non costituisce un valido motivo per l’esecuzione di diagnosi prenatale invasiva, tuttavia, in casi altamente selezionati (ad esempio coppie con forte ansia) è possibile effettuare diagnosi prenatale, dopo aver eseguito un approfondito counselling.



NUOVI LEA 2017

CONDIZIONI DI ACCESSO ALLA DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA, IN ESCLUSIONE DALLA QUOTA DI PARTECIPAZIONE AL COSTO

L'accesso alla diagnosi prenatale ha due principali gruppi di indicazione, che riguardano situazioni nelle quali il rischio di patologia fetale è aumentato al di sopra dei livelli medi della popolazione generale:

- 1) Rischio procreativo prevedibile a priori in quanto correlato ad una condizione biologica-genetica presente in uno o in entrambi i genitori o nella famiglia, da valutare in sede di consulenza genetica
- 2) Rischio rilevato in corso di gravidanza: difetti fetali evidenziati mediante ecografia alterazione di parametri biochimici/molecolari rilevati con sistemi validati ed erogati presso strutture appositamente individuate dalle regioni, predittivi di patologie fetali e/o cromosomiche/geniche, patologie infettive a rischio fetale.

Le condizioni per le quali è previsto l'accesso alla diagnosi prenatale invasiva sono:

1) Per le indagini citogenetiche:

- probabilità di trisomia 21, o di altre anomalie cromosomiche $\geq 1/300$ al momento del test per la valutazione del rischio nel primo trimestre (o $\geq 1/250$ in caso di test nel secondo trimestre) calcolata secondo i metodi indicati dalle Regioni tra quelli basati sulla età materna in combinazione con altri parametri ecografici fetali e/o di laboratorio. Tale calcolo dovrà essere effettuato utilizzando specifici protocolli nell'ambito di programmi che garantiscano uniformità di accesso in tutto il territorio regionale, in Centri individuati dalle singole regioni e sottoposti a verifica continua della qualità. L'opzione da parte delle Regioni deve essere orientata all'adozione di metodi di calcolo del rischio con una maggiore sensibilità diagnostica e un minor numero di falsi positivi tenuto conto dell'evoluzione della ricerca scientifica e tecnologica.
- genitori con precedente figlio affetto da patologia cromosomica
- genitore portatore di riarrangiamento strutturale bilanciato dei cromosomi
- genitore con aneuploidia cromosomica omogenea o in mosaico
- anomalie fetali/della gravidanza evidenziate mediante ecografia

2) Per le indagini genetiche:

- genitore eterozigote per una patologia/mutazione autosomica dominante,
- genitori entrambi eterozigoti per mutazioni geniche correlate a patologie autosomiche recessive,
- madre eterozigote per mutazioni recessive legate all'X,
- madre portatrice di mutazione mitocondriale;
- segni ecografici feto-annessiali indicativi di specifiche patologie geniche
- altre condizioni di possibile rischio correlate alla storia familiare, da verificare in sede di consulenza genetica.

3) Per le indagini infettivologiche:

- condizione di rischio fetale determinato sulla base di una accertata infezione materna e/o di segni rilevati all'ecografia potenzialmente associati a patologie infettive.

Allegato 10C

“Condizioni di accesso alla diagnosi prenatale invasiva, in esclusione dalla quota di partecipazione al costo”

Descrivono nel dettaglio le condizioni per le quali è previsto l'accesso alla diagnosi prenatale invasiva.

Le seguenti prestazioni sono state introdotte ex novo rispetto al D. M. 10 settembre 1998:

- L'accesso alla diagnosi prenatale invasiva in base alla probabilità di trisomia 21, o di altre anomalie cromosomiche $\geq 1/300$ al momento del test per la valutazione del rischio nel primo trimestre (o $\geq 1/250$ in caso di test nel secondo trimestre) calcolata secondo i metodi indicati dalle Regioni ovvero quelli basati sulla età materna in combinazione con altri parametri ecografici fetali e/o di laboratorio;
- Il prelievo di sangue venoso per tutte le prestazioni previste;
- L'accesso alle indagini genetiche in base a specifiche condizioni
- L'accesso alle indagini infettivologiche in base a specifiche condizioni

Le seguenti prestazioni sono state eliminate rispetto al D. M. 10 settembre 1998:

- L'accesso alla diagnosi prenatale invasiva in base all'età materna ≥ 35 anni. Il criterio di accesso è stato sostituito dall'offerta a tutte le donne del test combinato nel primo trimestre o del triplo test nel secondo trimestre.



NUOVI LEA 2017



CHECKLIST PRE E POST-PROCEDURA DI DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

- **Verifica del gruppo sanguigno materno ed immunoprofilassi**
- **Screening materno per virus a trasmissione ematica**
- **Antibiotico profilassi**

Attualmente vi è una scarsità di evidenze scientifiche di alta qualità che consentano di valutare correttamente l'effetto dell'antibiotico profilassi prima di una procedura invasiva e per tale motivo le maggiori società scientifiche non consigliano l'antibiotico profilassi pre-procedura.

- **Ecografia (pre e post-procedura)**

Controllo ultrasonografico del numero di feti e della loro vitalità, della posizione placentare, della quantità di liquido amniotico e dell'epoca gestazionale. Generalmente un controllo ecografico viene eseguito anche dopo la procedura per il controllo della frequenza cardiaca fetale, della placenta (eventuale presenza di ematomi) e del liquido amniotico.

- **Asepsi**

Si raccomanda l'uso di un carrello con guanti sterili, garze, pinze ed aghi. Prima di eseguire la villocentesi, l'amniocentesi o il prelievo di sangue fetale per via transaddominale è necessario disinfettare la cute dell'addome con soluzione antisettica (clorexedina o iodio) e coprirla con un telo sterile. Spesso viene anche utilizzato un coprisonda sterile. In alternativa è possibile disinfettare dopo ogni utilizzo la sonda. Si consiglia inoltre di utilizzare per ogni procedura un diverso gel ecografico che sia anche sterile, per evitare contaminazione batterica. Prima dell'esecuzione della villocentesi transcervicale si inserisce uno speculum sterile e si disinfettano con soluzione antisettica le pareti vaginali e la portio.



CHECKLIST PRE E POST-PROCEDURA DI DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

- **Anestesia locale**

Non vi sono evidenze a favore dell'utilizzo di analgesici .Da un recente sondaggio britannico è emerso che l'89% degli operatori utilizza anestesia locale prima della villocentesi

- **Refertazione**

È necessario produrre un referto che descriva la procedura in modo dettagliato e consegnarlo alla paziente affinché lo porti al suo curante. All'interno di tale referto è importante inserire l'indicazione all'esame , descrivere i reperti ecografici pre-procedura , descrivere la procedura stessa, includendo: lo strumento utilizzato, il sito del passaggio dell'ago, il numero di punture effettuate, la quantità del campione prelevato, l'aspetto del campione di liquido amniotico (in caso di amniocentesi), la vitalità fetale, l'aspetto della placenta e la quantità di liquido amniotico post-procedura , l'eventuale negatività materna al fattore Rh e l'immunoprofilassi , la tipologia di indagini di laboratorio richieste .

- **Norme post-procedura**

Non è strettamente necessario limitare l'attività fisica per 12-24 ore poiché non vi sono evidenze di un reale beneficio clinico. Non è stato dimostrato alcun beneficio sugli esiti clinici dall'assunzione di progesterone o di farmaci tocolitici (es. terbutalina) post-amniocentesi o post-villocentesi.



TIPOLOGIE DI ESAME GENETICO: COSA RICERCARE

- **Cariotipo completo**

Convenzionalmente lo studio del cariotipo si basa sull'analisi in metafase degli amniociti in coltura (ottenuti tramite amniocentesi) oppure delle cellule mesenchimali placentari (ottenute tramite villocentesi). Sono necessarie due settimane per avere i risultati. L'analisi in metafase dei linfociti fetali ottenuti tramite cordocentesi richiede invece circa 2-5 giorni. Tramite la villocentesi è comunque possibile effettuare l'analisi diretta delle metafasi citotrofoblastiche in circa 5 giorni .

- **Test rapidi**

Test rapidi come la QF-PCR (più di rado la FISH) possono essere condotti su villi coriali o su liquido amniotico per analizzare determinati cromosomi (21, 13, 18, X ed Y). Con test rapidi è possibile avere risultati in 1-2 giorni ,tuttavia, talvolta, questa metodica può rivelarsi poco accurata: sono stati infatti riscontrati casi di falsi positivi o falsi negativi.La possibilità di interrompere la gravidanza a seguito di un risultato positivo ottenuto al test rapido non è offerta in tutti i paesi, varia a seconda della tipologia di sistema sanitario e si basa sui protocolli locali.

- **Diagnosi molecolare di anomalie cromosomiche**

Le tecniche di microarray (ad esempio l'ibridazione genomica comparativa su array (aCGH)) sono una recente introduzione nel campo della diagnosi prenatale.

- **Diagnosi di patologie monogeniche (Marfan, Talassemia, Fibrosi cistica , X fragile)**



SIGU

Società Italiana di Genetica Umana

SIEOG

SOCIETÀ ITALIANA DI ECOGRAFIA OSTETRICA E GINECOLOGICA
E METODOLOGIE BIOFISICHE

SEGRETERIA PERMANENTE E TECNICA - Via dei Salaria, 21 - 00144 - ROMA - TEL/FAX 06/5077109 - TEL 06/5077109 - C.F. 01484410000

*Uso appropriato delle tecniche di CMA
(Chromosomal Microarray Analysis) nella
diagnosi prenatale*

15 Mag 2017

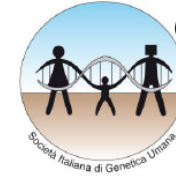
Raccomandazioni

La Commissione SIGU-SIEOG ritiene al momento complessa l'applicazione routinaria della CMA come test di primo livello nella diagnosi prenatale, in sostituzione o in affiancamento del cariotipo, al di fuori delle indicazioni approfondite in questo documento (ad es. malformazioni fetali, incremento della NT, iposviluppo fetale precoce e di origine dubbia, etc..).

- In presenza di una anomalia ecografica fetale, come sopra definita, la CMA può essere presa in considerazione dopo valutazione multidisciplinare da parte del ginecologo e del genetista clinico esperti in medicina prenatale, in un centro di secondo livello.*
- L'indicazione all'analisi deve scaturire dalla valutazione complessiva del quadro clinico, dalle informazioni scientifiche disponibili, anche in relazione alla categoria/tipologia della malformazione, dal rischio connesso all'invasività della tecnica impiegata per acquisire i tessuti fetali, dall'epoca della gravidanza, dall'utilità dell'indagine nel modificare l'evoluzione della gravidanza, dalle possibili decisioni della coppia opportunamente informata sulle caratteristiche dell'indagine.*
- Nei feti che mostrano un valore della NT $\geq 3,5$ mm (99 centile), in presenza di un cariotipo normale, la CMA può essere proposta, anche se questo segno ecografico è apparentemente isolato.*



**SUPERAMNIOCENTESI
SUPERVILLOCENTESI**



Documento
Commissione SIGU-NGS

Versione gennaio
2016

Il sequenziamento del DNA di nuova generazione: indicazioni per l'impiego clinico

- E' oggi possibile ottenere un'enorme quantità di informazioni sul patrimonio genetico individuale, rendendo più facile l'individuazione di nuovi geni responsabili di tratti fenotipici , ed aumentando considerevolmente le potenzialità dei test genetici di raggiungere la diagnosi causale di malattia.
- In particolare, con i test di nuova generazione è possibile analizzare l'intero genoma/esoma anziché limitare l'indagine ai geni più frequentemente mutati nella patologia in esame.
- Tuttavia negli anni il *next generation sequencing (NGS)*, che era stato accolto con altissime aspettative anche diagnostiche, ha mostrato alcuni limiti sia interpretativi sia tecnici.
- In un lavoro su 250 soggetti con differenti patologie (prevalentemente neurologiche) a base genetica, la *detection rate* dell'*exome sequencing* applicato in un setting diagnostico è stata del 25% (Yang et al., 2013), ridimensionata rispetto alle più ottimistiche stime iniziali.
- L'esperienza con l'analisi dell'intero esoma o anche semplicemente di pannelli contenenti più geni-malattia ha dimostrato come sia difficile interpretare un numero elevato di varianti non riportate nei database genomici e che la complessità dell'interpretazione è molto più elevata che con l'analisi di array genomici, che pure per molti anni è stata oggetto di accesi dibattiti.
- Tra le questioni emerse dalle analisi di NGS vi è l'identificazione di variazioni di sequenza a carico di geni implicati in patologie non correlate con il quadro clinico che ha suggerito l'accertamento e per l'attuale scarsa conoscenza sulla ricaduta fenotipica della maggior parte delle varianti genetiche.