



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



Contaminazione materna nel prelievo di villi coriali nel 1° trimestre di gravidanza: impatto dei criteri di selezione del campione

E.Gautiero*, L.Coloca*, N.Marino*, M.D.Salvo*, E.Sala*, N.Villa*, F.Crosti*, S.Redaeli§, G.Cazzaniga*§
*Laboratorio di Genetica Medica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza.
§Dipartimento di Medicina e Chirurgia Università di Milano-Bicocca via Cadore 48 20900 Monza

INTRODUZIONE

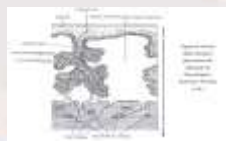
La diagnosi prenatale di malattie genetiche nel primo trimestre di gravidanza prevede l'esame di cellule fetali prelevate dalla placenta.



Il prelievo viene effettuato sotto guida ecografica ed è rappresentato da frustoli di villi coriali. Questi prelievi sono associati a rischio di perdita fetale e che ne limita la possibilità di ripetizione⁽¹⁾. L'analisi del tessuto placentare per cariotipizzazione fetale in citogenetica classica consta generalmente di 2 diverse metodiche, che consentono di raggiungere la maggiore affidabilità dei risultati: l'analisi diretta di metafasi spontanee del citotrofoblasto e quella del mesenchima coriale⁽²⁾ dopo coltura a medio termine.



Nell'analisi del mesenchima coriale la contaminazione materna (CM) può rappresentare un fattore critico, influenzando l'affidabilità dei risultati genetici. Diversi fattori, tra cui modalità di prelievo, qualità e selezione del campione, possono incidere sulla presenza di cellule materne nelle colture di tessuto fetale.



Struttura placentare

MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati, in nove mesi, 158 casi di villi coriali provenienti da 5 diversi reparti/ambulatori di ostetricia che coinvolgono 14 medici prelevatori che hanno utilizzato due metodi di prelievo: con vacutainer o con siringa. I campioni sono stati selezionati da due operatori tecnici. Vengono registrati quantità (prelievo scarso, limitato, sufficiente), qualità del campione e difficoltà di selezionamento, (presenza di decidua materna, materiale frammentato e/o coagulato). Ogni campione viene sottoposto a un lavaggio sotto cappa sterile per eliminare i globuli rossi, di seguito si procede alla selezione prima macroscopica, poi microscopica, per separare il villo coriale dall'eventuale presenza di decidua materna. I frustoli di villo vengono poi divisi: una quota per l'analisi diretta che viene effettuata grazie alle gemmazioni di citotrofoblasto in continua crescita (sprouts) e una quota per l'allestimento della coltura di mesenchima coriale dopo trattamento con proteasi per l'eliminazione o smembramento del rivestimento costituito dal citotrofoblasto.

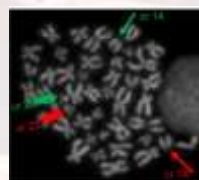


Divisione CVS per Diretto e Coltura



Materiale materno: Decidua

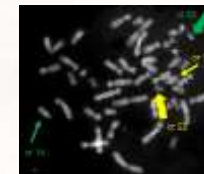
La presenza di CM, in feti di sesso femminile, è stata rilevata attraverso lo studio dei polimorfismi cromosomici (cr. 14 e 22 identificati in giallo non ereditati dal feto).



metafase diretto



metafase mesenchima fetale



metafase materna

RISULTATI

Tipologia di prelievo e CM

Le settimane di gestazione variano dalla undicesima alla diciottesima con prevalenza di 11-13 settimane ⁽³⁾. La CM è stata osservata in 16 casi su 139 (11,5%) e altri 4 casi su 19 (21%), seminati senza selezione, hanno mostrato CM. La percentuale di CM può essere sottostimato nel caso di feto di sesso femminile: pertanto, valutando solo campioni con gravidanza di sesso maschile, la CM è del 13,7% (11/80). Per quanto riguarda lo strumento utilizzato per il prelievo, si segnala che questo non sembra influenzare la presenza di CM: infatti usando la siringa si osservano 8 casi positivi a CM su 61 (13,1%) e usando vacutainer 12 casi con CM su 112 (12,4%).

Qualità del campione e CM

In un solo caso su 32 campioni con scarso o poco materiale (3,1%) si è osservata CM indicando che la quantità ridotta di tessuto non è il principale fattore di rischio.

7 casi su 16 positivi avevano materiale frammentato, coagulato o con presenza visibile di decidua materna, suggerendo che la scarsa qualità del tessuto aumenta la presenza di CM. In totale, 8 su 16 positivi (50%) provenivano da campioni con qualità scadente.



SCARSO



FRAMMENTATO



COAGULATO



IMPOSSIBILE SELEZIONE

Tecnico selezionatore

Per quanto riguarda i tecnici selezionatori, essendo dello stesso laboratorio e con la stessa anzianità di servizio, non si aspettano differenze significative.

Infatti:

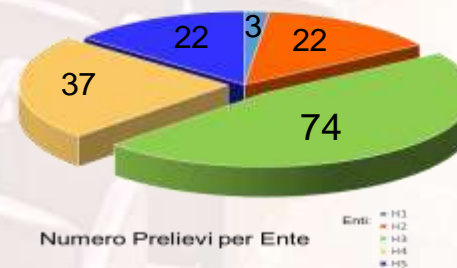
Tecnico 1: 15 positivi su 118 (12,7%).

Tecnico 2: 5 positivi su 40 (12,5%).

Si segnala inoltre che 4 casi su 19 (21%) senza selezione del campione, risultavano con CM, indicando che la selezione da parte del tecnico è un fattore determinante e ha un ruolo protettivo per ridurre il rischio di CM

Struttura di provenienza.

Gli ospedali da cui provengono i prelievi sono stati anonimizzati da H1 a H5.



Numero Prelievi per Ente



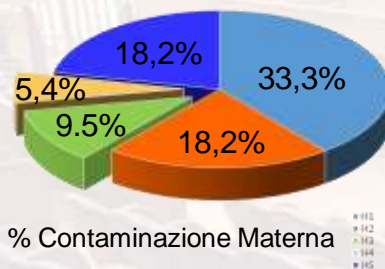
III Convegno Nazionale SITLaB 7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



% Contaminazione materna (CM)

H1 ha il minor numero di prelievi e la più alta percentuale di CM (1 positivo su 3= **33,3%**), mentre H2 e H5 presentano lo stesso livello di CM (4 positivi su 22= **18,2%**). H3 presenta 7 positivi su 74= **9,5%** e H4 presenta 2 positivi su 37= **5,4%**. Valori percentuali tanto diversi tra strutture invianti potrebbero riflettere differenze nell'esperienza nei protocolli attuati in sede di prelievo, nonché differenze nell'esperienza dei singoli operatori.



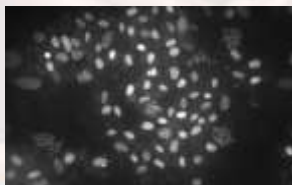
% Contaminazione Materna

Sesso fetale e CM

11 maschi su 80 (13,75%) e 9 femmine su 78 (11,5%) contenevano decidua materna.

Coltura

In tutti i casi è stata allestita la coltura di mesenchima anche in presenza di materiale con scarsa qualità. In tutti 158 campioni oggetto dello studio sono state ottenute metafasi di origine fetale.



CONCLUSIONI

L'analisi dei dati raccolti permette di correlare l'esperienza del centro prelievi con la percentuale di CM. I centri con alto numero di prelievi presentano tassi di CM più contenuti ⁽⁴⁾ rispetto a quelli con un ridotto numero di casi. Nel primo gruppo di ospedali inoltre, la CM risulta inferiore indipendentemente dalla tecnica utilizzata (vacutainer e/o siringa). Questo suggerisce che la frequenza della pratica migliora l'accuratezza del prelievo e riduce di conseguenza la contaminazione materna. La centralizzazione dei prelievi in centri con maggiore esperienza potrebbe migliorare ulteriormente l'affidabilità della diagnosi prenatale nel primo trimestre. La scelta di allestire comunque la coltura del mesenchima coriale anche per quei campioni al limite della inadeguatezza, è da preferire, poiché l'analisi delle metafasi da coltura di mesenchima coriale aumenta in modo importante l'affidabilità del risultato ⁽⁵⁾.

Bibliografia:

- 1 Lauc KT, Leung YT, Fung YT, Chan LW, Sahota DS, Leung NT Outcome of 1,355 consecutive transabdominal chorionic villus samplings in 1351 patients; Chin Med J (Engl) 2005 oct 20; 118(20): 1675-81
- 2 Anatomia Umana Bramati A.
- 3 Kuliev AM, Modell B, Jackson L, et al. Risk evaluation of CVS. Prenatal Diagn 1993; 13:197. Bramati B, Tului L, Cislighi C et al. First 10.000 chorionic villus samplings performed on singleton pregnancies by a single operator. Prenat Diagn 1997; 18:255
- 4 Chorionic villus sampling: technique and training Blumenfeld YJ, Chueh S Source: Department of obstetrics and Gynecology, Division on Maternal-Fetal Medicine, Stanford University Medical Center, Stanford, California, USA.
- 5 Bramati B, Tului L, Cislighi C, et al. First 10000 chorionic villus samplings performed on singleton pregnancies by a single operator. Prenat Diagn 1997; 18:317