

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

باسمه تعالی

آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

لانگدان داون J.L.Down در سال ۱۸۶۶ گروهی از کودکان مبتلا به عقب ماندگی ذهنی را که دارای ویژگی های فیزیکی مشخصی بودند توصیف کرد و تقریباً " ۱۰۰ سال بعد، Lejeune و همکاران (۱۹۵۹) دریافتند که عامل سندروم داون، تریزومی ۲۱ است. حدود ۹۵٪ موارد این بیماری در اثر عدم جدایی کروموزوم شماره ۲۱ مادر به وجود می آیند (۷۵ درصد در جریان میوز یک و ۲۵ درصد در جریان میوز دو). پنج درصد باقیماندهی موارد سندروم داون، حاصل موزائیسیم یا جابه جایی هستند.

برای غربالگری سندرم داون در کشورهای صنعتی آمینوسنتز و مطالعه کروموزومی جنین به طور ابتدایی به زنان در معرض خطر (زنان باردار بالا تر از ۴۰ سال، زنانی که هم اکنون دارای فرزند مبتلا به سندرم داون و یا ناقل بازآرایی کروموزومی هستند) پیشنهاد می شد. اگر انجام غربالگری، فقط به زنان باردار بیش از ۳۵ سال محدود شود، ۵ درصد از کل جمعیت زنان باردار از این نظر در گروه "پرخطر" قرار می گیرند. (۳۰ درصد کودکان مبتلا به تریزومی ۲۱ حاصل بارداری این گروه از مادران هستند. به موازات افزایش ظرفیت آزمایشگاهی، محدودیت سن زنان در این غربالگری کاهش یافته است. در جدول شماره ۱ خطر مرتبط با سن مادر از نظر بروز سندرم داون در حاملگی تک قلوئی آمده است.

جدول شماره ۱: خطر مرتبط با سن مادر از نظر بروز سندرم داون

سن مادر (سال)	خطر بروز سندرم داون (یک مورد در ...)
۱۸	۱۴۹۵
۲۰	۱۴۷۵
۲۵	۱۳۴۰
۳۰	۹۳۵
۳۵	۳۵۰
۴۰	۸۵
۴۵	۳۴

علائم سندرم داون:

این بیماران با عقب ماندگی متوسط تا شدید ذهنی، هایپوتونی و تغییرات خاص دیسمورفیک در چهره مشخص می شوند. چین های اپی کانتال با شیار های پلکی متمایل به بالا، پل صاف بینی، چانه کوچک، ماکرو گلوسیا، صورت پهن، گردن کوتاه، نقاط سفید روی عنبیه، سر کوچک همراه با ناحیه ی پس سری صاف، هایپوتونی شدید همراه با بیرون آمدن زبان از علائم این سندرم است. به طور شایع، پوست ناحیه ی پشت گردن شل است

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

و علاوه بر آن، کوتاهی انگشتان دست، خط کف دستی واحد، هیپوپلازی فالنکس میانی انگشت پنجم دست و فضایی مشخص (شکاف کفش صندل Sandal-toe-gap) بین انگشتان اول و دوم پا، و شل بودن مفاصل دیده می شود. اختلالات عمده ای که ممکن است در بررسی با سونوگرافی دیده شوند شامل ناهنجاری قلبی (بویژه نقایص بالشتک اندوکاردی Endocardial cushion defects) در ۴۰٪ موارد و ناهنجاری های گوارشی مانند آترزی دوازدهه یا هیرشپرونک در ۵٪ موارد می باشد. در کودکان مبتلا به سندرم داون، میزان بروز لوسمی (خطر ابتلا به لوسمی در دوران کودکی در مبتلایان ۲۰ برابر افراد طبیعی است) و بیماری تیروئید افزایش می یابد. به علاوه ضایعات دژنراتیو نرونال شبیه آلزایمر در بالغین مبتلا مشاهده می شود. طول عمر افراد مبتلا به سندرم داون در صورت عدم وجود ضایعات مادرزادی قلبی می تواند به ۶۰ سال یا بیشتر برسد. ضریب هوشی (IQ) این بیماران از ۲۵ تا ۵۰ متغیر است و تعداد اندکی از بیماران IQ بالاتری دارند. مهارت های اجتماعی اکثر کودکان به طور متوسط ۳-۴ سال عقب تر از سن عقلی آنهاست.

خطر عود: در صورت داشتن سابقه جنین یا فرزند مبتلا به سندرم داون ناشی از عدم جدایی کروموزومی، احتمال خطر ابتلای جنین به یکی از انواع تریزومی ها در بارداری های بعدی این زن، حدود یک به صد می باشد. این خطر افزوده تا زمانی که از خطر وابسته به سن بیشتر است، حایز اهمیت می باشد و پس از آن میزان خطر ابتلای جنین به تریزومی ها در این زنان برابر با میزان خطر وابسته به سن است. بررسی کروموزومی والدین، فقط در صورتی ضرورت دارند که تریزومی ناشی از جابجایی نامتعادل باشد.

افراد مونث مبتلا به سندرم داون دارای قدرت باروری هستند و حدود یک سوم فرزندان آنها مبتلا به سندرم داون خواهند بود. افراد مذکر مبتلا به سندرم داون دچار کاهش چشمگیر اسپرماتوزن می شوند و تقریباً همیشه نابارور هستند. البته موارد اندکی از قدرت تولید مثل در مردان گزارش شده است.

انواع شاخص های آزمایشگاهی و رادیولوژی مورد استفاده در غربالگری سندرم داون:

استراتژی پذیرفته شده به منظور تشخیص این بیماری در مرحله قبل از تولد با انجام روش های غربالگری آغاز می شود. این شاخص ها در دو گروه عمده آزمایشگاهی (بیوشیمی و مولکولی) و رادیولوژی قرار می گیرند.

❖ شاخص های آزمایشگاهی

شاخص های آزمایشگاهی که در دو گروه عمده بیوشیمیایی و مولکولی قرار می گیرند شامل موارد زیر می باشند:

الف- PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A):

گلیکوپروتئین دارای مولکول های درشت با منشاء جفت است و غلظت آن در طول مدت یک بارداری طبیعی بطور ثابت افزایش می یابد. ثابت شده که کاهش قابل توجه این ماده با اختلالات کروموزومی در جنین به خصوص سندرم داون مرتبط است و این همبستگی در هفته ۱۴-۱۰ به حداکثر خود می رسد.

ب- Free β hCG or Total hCG

این هورمون که در دوران بارداری ابتدا با منشاء جسم زرد و سپس کوریون و جفت ترشح می شود با ترشحاتی افزایش یافته به حداکثر مقدار خود در هفته ۱۰ بارداری می رسد (۲۰۰،۰۰۰-۱۰۰،۰۰۰ IU/L) و سپس در اوایل سه ماهه دوم افت نموده و در هفته ۱۸ به غلظتی در حد ۲۰،۰۰۰ IU/L می رسد. ترکیبات مختلف این هورمون یعنی Free β hCG و Intact or Total hCG را می توان در غربالگری سندرم داون

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

اندازه گیری نمود ولی باید توجه داشت که عملکرد هر کدام بسته به هفته بارداری که در آن اندازه گیری می شوند متفاوت است. نشان داده شده است که اندازه گیری $\text{Free } \beta \text{ hCG}$ در هفته ۱۱ تا پایان هفته ۱۳ بارداری بیشترین ارزش تشخیصی را در مورد سندرم داون دارد و در ترکیب با سایر مارکرها سه ماهه اول قدرت تشخیص ۳-۲٪ از Total hCG بالاتر است. این اثر در هفته ۱۳ برعکس می شود، یعنی ارزش تشخیصی فرم کامل این هورمون قوی تر می گردد. در بارداری با جنین مبتلا به سندرم داون مقدار آن بالاتر از حد مورد انتظار می باشد.

ج- uE3 (unconjugated Estriol)

مسیر متابولیک تولید این هورمون، آدرنال، کبد جنین و بافت جفت را درگیر می کند. دی هیدرواپی آندوسترون سولفات تولید شده در آدرنال جنین در کبد به فرم هیدروکسیله تبدیل می شود که در نهایت در بافت جفت متابولیزه شده و به استریول تبدیل می گردد. بخشی از این استریول وارد جریان خون مادر می شود و با توجه به اینکه تمامی مقدار استریول غیرکونژوگه در سرم مادر منشاء جنینی دارد می توان از تعیین مقدار آن در غربالگری سندرم داون استفاده نمود. در بارداری با جنین مبتلا به سندرم داون مقدار آن پایین تر از حد انتظار می باشد.

د- AFP (Alpha-Fetoprotein)

ابتدا در کیسه زرده و سپس در کبد جنین تولید و از راه جفت وارد جریان خون مادر می شود. مقدار این پروتئین در خون مادر در سه ماهه دوم افزایش می یابد. در بارداری با جنین مبتلا به سندرم داون مقدار آن کمتر از حد معمول و مورد انتظار می باشد.

ه- DIA (Dimeric Inhibin -A)

گلیکوپروتئین دایمریک متشکل از دو زنجیره آلفا و بتا است که از تخمدان ها و جفت ترشح می شود با افزایش سن بارداری به خصوص در سه ماهه آخر عمدتاً منشا جفتی دارد. در موارد ابتلای جنین به سندرم داون مقدار این ماده در خون مادر افزایش می یابد.

❖ شاخص های رادیولوژی (سونوگرافی):

اندیکاتورهایی که در اولتراسونوگرافی آنوپلوئیدی ها مطرح می باشند، شامل نقایص ساختاری، ناهمخوانی های بیومتریکی و تغییراتی در آناتومی طبیعی بدن است. مورد اخیر- مارکهای بافت نرم (soft markers)- شاخص هایی هستند که وجودشان به خصوص در مواردی که بیش از یک مورد باشد احتمال ابتلای جنین را چندین برابر می کند. موارد زیر با حساسیت و ویژگی قابل توجه، بیش از همه مطرح می باشند:

الف- $\text{Fetal Nuchal Translucency}$ (NT):

افزایش ضخامت بافت نرم خلف گردن شناخته شده ترین و پر استفاده ترین مارکر است که بسیار زود قابل تشخیص بوده و هم اکنون در الگوریتم های غربالگری بسیاری از برنامه های ملی جای دارد. ثابت شده است که با اندازه گیری میزان ترانسلوسنسسی چین خلفی گردن در جنین در نمای مید ساژیتال در فاصله هفته ۱۰-۱۳ بارداری می توان وجود ادم میان بافتی را که یکی از علایم تشخیصی به نفع سندرم داون می باشد، تشخیص داد. چنانچه این اندازه از ۳ میلی متر بیشتر باشد ارزش دارد. البته باید توجه داشت که تنها در نیمی از موارد افزایش قابل توجه ضخامت چین خلف گردن، جنین مبتلا به تریزومی ۲۱ می باشد. علل دیگری مانند Cystic Hygroma یا نقایص قلبی نیز موجب ایجاد چنین نمایی می شوند که باید در هنگام بررسی های تکمیلی در نظر گرفته شده و افتراق داده شوند.

ب- عدم تشکیل یا هیپوپلازی استخوان بینی (Nasal Bone: NB) جنین در بارداری یکی از علایم کمک کننده است.

ج- نارسایی دریچه سه لتی ($\text{Tricuspid Regurgitation}$) و مشاهده وجود ناهنجاری در شکل امواج داپلر مجرای وریدی

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

(Ductus Venosus Flow) هر دو از علایمی هستند که مشاهده آنها احتمال وجود این بیماری را در جنین تقویت می کند.



تصویر ۱ - جنین با تجمع مایع زیر جلدی در ناحیه پشت گردن. Dr Eva Pajkrt, University of Amsterdam.



تصویر ۲ - تصویر سونوگرافی یک جنین مبتلا به تریزومی ۲۱، با افزایش ضخامت NT و فقدان استخوان بینی.

در سونوگرافی جنین مبتلا به تریزومی ۲۱، در ۷۵ درصد موارد افزایش ضخامت لوسنسی پشت گردن (NT) و در ۶۰ تا ۷۰ درصد موارد فقدان استخوان بینی مشاهده می شود. (تصاویر ۱ و ۲) از سال ۲۰۰۱ مشخص شد که در ۶۰ تا ۷۰ درصد جنین های مبتلا به تریزومی ۲۱، استخوان بینی در سن بارداری ۱۱ هفته تا ۱۳ هفته و ۶ روز، قابل مشاهده نیست.

انواع روش های غربالگری:

تا اواسط دهه ی ۱۹۸۰ تست تشخیصی پره ناتال از نظر آنوپلوئیدی جنین، فقط در زانی صورت می گرفت که در هنگام زایمان ۳۵ سال یا بیشتر داشتند. پس از اینکه Merkatz و همکاران (۱۹۸۴) گزارش کردند که سندرم داون با میزان کم آلفا فیتو پروتئین (AFP) سرم مادر در هفته های ۱۵-۲۰ حاملگی همراه است، غربالگری سندرم داون در زنان جوانتر نیز صورت گرفت. در طی دو دهه گذشته حوزه تشخیص پره ناتال شاهد پیشرفت های شگرفی بوده است. با افزودن سایر آنالیزهای سرمی به روند غربالگری سه ماهه دوم، میزان تشخیص تریزومی ۲۱ سه تا چهار برابر افزایش یافته است و با تست چهار مارکری، به حدود ۸۰ درصد رسیده است (۱). احتمالاً "جالب ترین مساله این است که با سنجش ترانس لوسنسی گردن جنین همراه با اندازه گیری مارکرها ی سرمی، می توان به نتایج قابل مقایسه ای در هفته های ۱۴-۱۱ دست پیدا کرد. لذا کالج متخصصان زنان و مامایی آمریکا در سال ۲۰۰۷ توصیه کرده است در تمام زانی که قبل از هفته ۲۰ برای مراقبت های پره ناتال مراجعه می کنند غربالگری پیشنهاد شود.

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

از سال ۱۹۸۰ علاوه بر سن مادر، بررسی میزان بعضی محصولات جنینی - جنینی در جریان خون مادر مثل آلفا فیتوپروتئین (AFP)، استریول غیرکونژوگه (uE3) و Free β -hCG در نظر گرفته شد. این روش غربالگری بسیار موثرتر از سن مادر به تنهایی بود و می توانست ۵۰ تا ۷۰ درصد از جنین های مبتلا به تریزومی ۲۱ را مشخص کند.

در سال ۱۹۹۰ ترکیبی از سن مادر و ضخامت لوسنسی پشت گردن - Fetal Nuchal Translucency (NT) - در سن بارداری ۱۱ هفته تا ۱۳ هفته و ۶ روز معرفی شد که می توانست ۷۵ درصد از جنین های مبتلا را تشخیص دهد.

سن مادر در ترکیب با NT جنین و تستهای بیوشیمی مادر (Free β -hCG , PAPP-A) در سه ماهه اول بارداری در حدود ۸۵ تا ۹۰ درصد جنین های مبتلا را مشخص می کنند. استفاده از مارکر های دیگر در سونوگرافی (Soft Markers) به همراه سایر موارد می تواند میزان شناسایی (Detection Rate) را تا حد ۹۵ درصد هم افزایش دهد. (جدول ۲)

جدول ۲ - مقایسه میزان شناسایی (DR) برای روش های مختلف غربالگری سندرم داون

میزان شناسایی Detection Rate (%)	روش غربالگری
۳۰	سن مادر
۵۰ - ۷۰	سن مادر و تستهای بیوشیمی مادر در هفته ۱۵-۱۸ بارداری
۷۰ - ۸۰	سن مادر و بررسی میزان شفافیت پشت گردن جنین (NT) در هفته ۱۱-۱۴ بارداری
۸۵ - ۹۰	سن مادر و بررسی سونوگرافیک میزان شفافیت پشت گردن جنین (NT) و میزان β -hCG آزاد و PAPP-A مادر در هفته ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز بارداری
۹۰	سن مادر و بررسی سونوگرافیک میزان شفافیت پشت گردن جنین (NT) و استخوان بینی جنین (NB) در هفته ۱۱-۱۳+۶ بارداری
۹۵	سن مادر و NT و NB جنینی و میزان β -hCG آزاد و PAPP-A مادر در هفته ۱۱-۱۳+۶ بارداری

HCG: Human Chorionic Gonadotropin

NT: Fetal nuchal Translucency

NB: Fetal Nasal Bone

PAPP-A: Pregnancy-Associated Plasma Protein -A

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

همان گونه که در بالا اشاره شد، استراتژی انتخابی معمول جهت تشخیص بیماری ابتدا با انجام تست های غربالگری آغاز می شود. با ترکیب معیارهای تشخیصی ذکر شده در مراحل مختلف بارداری، و یا ایجاد یک توالی زمانی در انجام آنها روش های مختلف غربالگری ایجاد می گردد که هر یک دارای ویژگی های عملکردی مشخصی می باشند و با اجرای آنها و سپس انجام محاسبات آماری می توان احتمال معینی از خطر ابتلا جنین به آنومالی مورد نظر را محاسبه نمود. سپس براساس میزان ریسک تعیین شده برای مادران باردار برای انجام تستهای تشخیصی در مرحله بعد تصمیم گیری می شود.

در برنامه های غربالگری سندرم داون انواع روش های غربالگری برحسب استانداردهای تعیین شده عبارتند از:

۱- روش های غربالگری سه ماهه اول:

الف- اندازه گیری NT + سن مادر

ب- Double Marker شامل تعیین میزان PAPP-A و Free β hCG در سرم مادر + سن مادر

ج- Combined test شامل اندازه گیری NT در سونوگرافی به همراه تعیین میزان سرمی PAPP-A و Free β hCG + سن مادر
(در این دستورالعمل این روش برای مناطقی که دسترسی به سونوگرافی NT وجود دارد، روش انتخابی است).

۲- روش های غربالگری سه ماهه دوم:

الف- Triple marker شامل تعیین میزان Total β hCG و AFP و uE3 در سرم مادر در ۱۴w تا ۱۶w+۶d

ب- Quadruple test شامل Total β hCG و AFP و uE3 و (Inhibin -A) DIA در ۱۴w تا ۱۶w+۶d

۳- روش های غربالگری تلفیقی یا مرحله ای:

انجام تست های سه ماهه اول و دوم به شکل دو مرحله ای با وجود افزایش میزان تشخیص نسبت به اینکه به طور مستقل انجام گیرد با افزایش موارد مثبت کاذب همراه خواهد بود، استراتژی های مطرح کنونی برای برنامه های دو مرحله ای که میزان خطر نهایی را پس از بررسی هر دو مرحله تعیین می نماید، عبارتند از:

الف- **Integrated**: شامل انجام تست های Free β hCG و PAPP-A + NT در سه ماهه اول با در نظر گرفتن سن مادر و انجام

Quadruple test در سه ماهه دوم و محاسبه نهایی خطر براساس مجموعه موارد است.

ب- **Serum Integrated**: انجام تست PAPP-A در سه ماهه اول و Quadruple test در سه ماهه دوم و محاسبه خطر نهایی براساس

کلید نتایج است. (طبق دستورالعمل این روش، در مناطقی که دسترسی به سونوگرافی NT وجود ندارد، روش انتخابی است).

ج- **Stepwise sequential**: در این روش تست های سه ماهه اول انجام می گیرد و خطر محاسبه می گردد.

براساس خطر محاسبه شده افرادی که مشخصا در خطر بالا (خطر بالاتر از ۱/۵۰) قرار می گیرند مشخص شده و برای آنها مشاوره و انجام تست تشخیصی پیشنهاد می شود. سایر موارد که ریسک کمتری دارند برای انجام Quadruple test در سه ماهه دوم ارجاع می شوند و اقدامات لازم بعدی پس از محاسبه خطر نهایی و تعیین وضعیت نسبت به Cut off سه ماهه دوم صورت می پذیرد.

د- **Contingent sequential**: در این روش نیز به دنبال انجام تست های سه ماهه اول ریسک ابتلا محاسبه می گردد، اما این بار نتایج

براساس مرز بندی های مشخص و با فاصله در سه گروه خطر بالا، خطر متوسط و خطر پایین قرار می گیرند. موارد با خطر بالا برای تست های

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

تشخیصی ارجاع می شوند ، برای موارد با خطر پایین اقدام بیشتری انجام نمی شود و افراد با خطر متوسط برای انجام **Quadruple test** و یا تست های مولکولی و محاسبه خطر نهایی ارجاع می گردند.
عملکرد هر یک از الگوریتم های مورد استفاده در غربالگری براساس موارد زیر محاسبه می گردد:

- میزان شناسایی موارد مبتلا در غربالگری های به عمل آمده (**Detection rate**)
- تعداد موارد شناسایی شده به تعداد کل موارد غربالگری شده (حساسیت)
- درصد موارد سالم که به طور کاذب نتیجه غربالگری آنها مثبت شده است (**False Positive rate / Specificity**)
- شانس مثبت شدن نتیجه غربالگری در موارد ابتلای جنین یا **OAPR (Odds of Being Affected) given a Positive Result** که در واقع ارزشی معادل **PPV (Positive Predictive Value)** دارد. (موارد مبتلا که نتیجه تست در آنها مثبت شده است به موارد با نتیجه مثبت)

۴- NIPT (Non Invasive Prenatal Test) :

مبنای این روش سنجش ماده ژنتیکی جنینی آزاد در خون مادر (**Cell free DNA**) است. با استفاده از روش های **sequencing** که به دو صورت **Massive parallel shotgun** یا **Targeted** انجام می گیرد، می توان **Fetal cell /DNA** را از خون مادر جدا نمود و مورد بررسی قرار داد. در این روش، ۹۹-۹۸٪ جنین های مبتلا به سندرم داون شناسایی می شوند.

حساسیت و ویژگی بسیار بالای این روش موجب شده تعداد موارد درخواست انجام آن در غربالگری مادران باردار به طور قابل ملاحظه ای افزایش یابد. علی رغم حساسیت و ویژگی بالا، این تست با محدودیت های عملکردی همراه است که عبارتند از:

- عدم امکان تشخیص نقایص تک ژنی
- عدم توان شناسایی در تعدادی از موارد انجام شده (**no call**)
- محدودیت مطالعات انجام گرفته برای تعیین ارزش پیشگویی مثبت تست در مادران کم خطر
- هزینه بالای انجام تست

NIPT به دلیل نتایج مثبت و منفی کاذب مشاهده شده، به عنوان آزمایش غربالگری در نظر گرفته شده و آزمایش تشخیصی محسوب نمی شود. در صورتی که نتیجه این آزمایش مثبت شود، انجام آزمایش تشخیص قطعی و تعیین کاریوتایپ جنین (شمارش کروموزومی سلول های جنین)، قبل از تصمیم گیری درباره ختم یا ادامه بارداری ضرورت دارد.
با وجود این **NIPT** هم اکنون به عنوان یک روش انتخابی برای مادران دارای بارداری پرخطر در غربالگری سندرم داون مطرح می باشد.

روش های تشخیصی :

با توجه به اینکه نتیجه غربالگری مثبت تنها مطرح کننده احتمال ابتلا جنین باشد، در این شرایط می بایست از روش های تشخیص ژنتیک برای تأیید یا رد ابتلای جنین استفاده کرد. در حال حاضر از روش های مختلف شامل کاریوتایپ و روش های تشخیص سریع شامل **FISH** ، **QF-PCR** ، **MLPA** یا روش هایی مثل **Array-CGH** یا **NGS** بسته به شرایط استفاده می شود.

ضمیمه ۴- آشنایی با سندرم داون، ضرورت غربالگری بیماری و روش های آن

به منظور انجام آزمایش تشخیص ژنتیک می بایست نمونه گیری از جنین انجام شود. بسته به شرایطی از جمله نیاز به تشخیص بیماری های تک ژنی علاوه بر تشخیص ناهنجاری های کروموزومی و سن بارداری نمونه گیری از جنین بر اساس نظر متخصص زنان به یکی از روش های زیر صورت می گیرد:

۱. آمنیوسنتز: در هفته ۱۵ تا ۲۰ بارداری (با احتمال عارضه سقط در حدود ۱در ۱۰۰)

۲. نمونه برداری از پرزهای جفتی (Chorionic Villus Sampling): در ۱۱ هفته تا پایان ۱۳ هفته بارداری (با احتمال عارضه سقط در حدود ۱در ۱۰۰)

۳. نمونه گیری از خون بند ناف از طریق پوست: بعد از ۱۸ هفتگی بارداری، معمولاً آخرین انتخاب در مواردی است که نتایج سایر تست ها مبهم باشد.

تشخیص بعد از تولد:

۱. علائم بالینی: وجود این علائم احتمال ابتلا به سندرم داون را مطرح می کند: چانه کوچک، شکاف پلکی مورب با چین پوستی اپی کانتیک در گوشه داخلی چشم، تون ضعیف عضلانی، پل بینی پهن، وجود یک خط کف دستی، ماکرو گلوسیا و زبان بیرون آمده، صورت پهن، گردن کوتاه، نقاط سفید روی عنبیه، شل بودن مفاصل، فاصله زیاد بین انگشت شست پا و انگشت دوم و انگشتان کوتاه

۲. تشخیص ژنتیک با انجام کاریوتایپ: روش تشخیص قطعی در مواردی که وجود علائم فوق احتمال ابتلا به سندرم داون را مطرح می نماید، انجام تست تشخیصی کاریوتایپ است.